



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Uso de *Erythrina edulis* en dietas
como fuente de lectinas inhibidoras
de adherencia de *Streptococcus
agalactiae* al intestino de tilapias
(*Oreochromis niloticus*)**

HERNAN ALBERTO VELA MELO

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Departamento de Producción Animal
Bogotá, Colombia

2024

Uso de *Erythrina edulis* en dietas como fuente de lectinas-inhibidoras de adherencia de *Streptococcus agalactiae* al intestino de tilapias (*Oreochromis niloticus*)

HERNAN ALBERTO VELA MELO

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título
Magister en Salud y Producción Animal

Directora:

Dra. Adriana Patricia Muñoz Ramírez

Codirectora:

Dra. Paola Andrea Barato Gómez

Línea de Investigación:

Nutrición y alimentación animal

Grupo de Investigación: UN-ACUICTIO

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Departamento Producción Animal
Bogotá, Colombia

2024

Este trabajo lo dedico a mis padres, que siempre me apoyan incondicionalmente con todo su amor a lo largo de mi vida. A mis hermanas y sus familias, fruto del amor. A mi hija, motor de mi vida. A mi familia quienes siempre estuvieron con su incondicional amor. A la familia Gorrón Quintero por su apoyo y cariño.

A mi Bonita quien me inspiro a tomar valor en este camino hasta el final con su amor, paciencia y sabiduría.

Agradezco a mis asesores y profesores que no solo me acompañaron a lo largo de este proceso, sino que también me ayudaron a ampliar mi visión de la investigación y ponerla a disposición de los demás.

Declaración de obra original

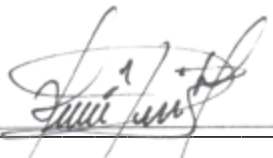
Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Hernán Alberto Vela Melo

Fecha 30/01/2024

Agradecimientos

- Dra. Paola Andrea Barato Gómez, por su gran apoyo científico y humano en el desarrollo de la investigación.
- Dra. Adriana Patricia Muñoz Ramírez, por su gran apoyo académico y humano en el desarrollo de la investigación.
- Dr. Carlos Arturo Iregui Castro, por su gran apoyo científico y humano en el desarrollo de la investigación.
- Dr. Héctor Alejandro Ramírez Sierra por su gran apoyo profesional y humano en el desarrollo de la investigación.
- Dr. Jairo Gregorio Carvajal Jiménez por su gran apoyo científico, profesional y humano en el desarrollo de la investigación.
- Dr. Diego Alberto Rodríguez Avella por su gran apoyo académico profesional y humano en el desarrollo de la investigación.
- A ITALCOL S.A. por el patrocinio, tiempo y apoyo en el desarrollo de la investigación.
- Al equipo de CORPAVET y MOLECULAR VET por su paciencia, tiempo y apoyo en el desarrollo de la investigación.
- Y muy especialmente a mi familia y tribu INDA-JANI, porque sin ellos no habría logrado la valentía de tomar este camino: Fernanda, Carolina, Laura, Jessenia, Diana, Maka, Paola, Manuel, Jorge, Kami, Juan L., Juan F. ¡¡AGUA!!

Resumen

USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)

La estreptococosis es la enfermedad bacteriana más importante de la tilapia (*Oreochromis* sp.), que es la segunda especie de peces de aleta más producida mundialmente y primera en Colombia. Aún no es posible controlar los brotes a pesar del uso de antibióticos, vacunas y manejo de factores ambientales de riesgo. Es por ello que se ha propuesto el uso de glicoinhibidores de adherencia del *Streptococcus agalactiae* al intestino de tilapia, como parte de la patente concedida a la Universidad Nacional de Colombia. Basado en este desarrollo, el objetivo de esta investigación fue estudiar la incorporación de harina de *Erythrina edulis* en dietas prácticas para tilapia nilótica (*O. niloticus*) como fuente de lectinas glicoinhibidoras de adherencia a *S. agalactiae*. Se caracterizó taxonómica y bromatológicamente la *E. edulis* proveniente de San Agustín, Huila, Colombia. Las lectinas de la harina de semillas de *E. edulis* fueron suficientes y funcionales pre y post extrusión para ser incluidas en dietas prácticas. Las dietas prácticas fueron inocuas para los alevinos, no se presentaron lesiones ni reducción de su crecimiento. A la infección experimental intragástrica con *S. agalactiae* Ib en tilapias alimentadas con la dieta práctica no se desarrolló enfermedad y se encontró un patrón lectinohistoquímico diferencial entre los grupos experimentales.

En conclusión, se comprobó disponibilidad, inocuidad y funcionalidad de lectinas de harina de semillas de *E. edulis*, para ser incluida en dietas funcionales de tilapia con el objetivo de reducir la adherencia de *S. agalactiae*. Se requieren posteriores ensayos *in vivo* para evaluar su efecto ante la estreptococosis experimental y natural.

Palabras clave: Adherencia, *Erythrina*, estreptococosis, glicoinhibidores, *Oreochromis* sp., *Streptococcus agalactiae*.

Abstract

USE OF *Erythrina edulis* IN DIETS AS A SOURCE OF LECTINS INHIBITING ADHERENCE OF *Streptococcus agalactiae* TO THE INTESTINE OF TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)

Streptococcosis is the most important bacterial disease of tilapia (*Oreochromis* sp.), which is the second most produced species of finfish worldwide and first in Colombia. It is not yet possible to control outbreaks despite the use of antibiotics, vaccines, and management of environmental risk factors. Glyco-inhibitors of adhesion of *Streptococcus agalactiae* to the tilapia intestine have been proposed, as part of the patent granted to the Universidad Nacional de Colombia. Based on this development, the objective of this research was to study the incorporation of *Erythrina edulis* flour in practical diets for Nilotic tilapia (*O. niloticus*) as a source of glyco-inhibitory lectins of adherence to *S. agalactiae*. *E. edulis* from San Agustín, Huila, Colombia, was taxonomically and bromatologically characterized. The lectins of *E. edulis* seed flour were sufficient and functional pre- and post-extrusion to be included in practical diets. The practical diets were harmless for the fry, there were no lesions or reduction of their growth. Experimental intragastric infection with *S. agalactiae* lb in tilapias fed the practical diet did not develop disease and a differential lectin histochemical pattern was found between the experimental groups.

In conclusion, the availability, safety and functionality of lectins from *E. edulis* seed meal were verified to be included in functional tilapia diets with the aim of reducing the adherence of *S. agalactiae*. Further *in vivo* tests are required to evaluate its effect on experimental and natural streptococcosis.

Keywords: Adherence, *Erythrina*, glyco-inhibitors, *Oreochromis* sp., streptococcosis, *Streptococcus agalactiae*.

Contenido

	Pág.
RESUMEN	6
LISTA DE FIGURAS.....	14
LISTA DE TABLAS	19
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	22
INTRODUCCIÓN	25
1.CAPÍTULO 1. ENFERMEDADES BACTERIANAS EN PECES, IMPACTO Y POSIBILIDADES DE PREVENCIÓN Y CONTROL DIETÉTICO.....	28
1.1 RESUMEN	28
1.2 INTRODUCCIÓN	29
1.3 INFECCIONES BACTERIANAS	33
1.5 OPCIONES DE CONTROL Y PREVENCIÓN	40
1.5.1. Vacunas.....	40
1.5.2. Probióticos y prebióticos	41
1.5.3. Fitobióticos.....	42
1.5.4. Glicoinhibidores.....	44
1.6 REFERENCIAS.....	45
2. CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA, BROMATOLÓGICA Y FUNCIONAL DE ERYTHRINA EDULIS.....	56
2.1 RESUMEN	56
2.2 INTRODUCCIÓN	57
2.3 MATERIALES Y MÉTODOS	60

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

2.3.1	<i>Identificación geográfica, recolección e identificación botánica de la fuente vegetal</i>	60
2.3.2	<i>Procesamiento, preparación y extrusión de la harina de las semillas de <i>Erythrina edulis</i></i>	62
2.3.3	<i>Caracterización proximal de la harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> pre y post extrusión</i>	66
2.3.4	<i>Caracterización de presencia de lectina funcional en harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> pre y post extrusión por cromatografía</i>	67
2.4	RESULTADOS	69
2.4.1	<i>Recolección e identificación botánica de la fuente vegetal</i>	69
2.4.2	<i>Procesamiento, preparación y extrusión de la harina de las semillas de <i>Erythrina edulis</i></i>	70
2.4.3	<i>Caracterización proximal de la harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i></i>	71
2.4.4	<i>Caracterización de presencia de lectina funcional en harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> pre y post extrusión por cromatografía</i>	73
2.5	DISCUSIÓN	76
2.5.1	<i>Identificación de material vegetal</i>	76
2.5.2	<i>Composición nutricional de diferentes harinas de semillas de <i>Erythrina edulis</i></i>	78
2.5.3	<i>Caracterización de presencia de lectina en harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> pre y post extrusión por cromatografía</i>	83
2.6	CONCLUSIONES	85
2.7	REFERENCIAS	86
3.	CAPÍTULO 3. EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i> EN ALEVINOS DE TILAPIA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>)	93
3.1	RESUMEN	93
3.2	INTRODUCCIÓN	94
3.3	MATERIALES Y MÉTODOS	96
3.3.1	<i>Cría de larvas de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) en el bioterio certificado de CORPAVET®- MOLECULARVET®</i>	96
3.3.2	<i>Evaluación de la toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de la harina pre y postextrusión de semillas de <i>Erythrina edulis</i> como prueba piloto en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>)</i>	99
3.3.3	<i>Formulación y procesamiento de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en 4 dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml)</i>	105
3.3.4	<i>Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas <i>Erythrina edulis</i> con cuatro dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml) y lectina de <i>E. crista-galli</i> (ECL 30ug/ml) en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>)</i>	107

3.3.5 Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas <i>Erythrina edulis</i> con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	112
3.3.6 Evaluación histopatológica de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas <i>Erythrina edulis</i> con cuatro dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).	117
3.4 RESULTADOS.....	119
3.4.1. Calidad de agua.....	119
3.4.2. Estado sanitario de tilapias nilóticas (<i>Oreochromis niloticus</i>) usadas en todas las evaluaciones de toxicidad aguda de <i>Erythrina edulis</i>	120
3.4.3. Pruebas piloto evaluación de la toxicidad de la harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	122
3.4.4. Pruebas piloto evaluación de la toxicidad de la harina EXTRUIDA de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).	125
3.4.5. Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas <i>Erythrina edulis</i> con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	127
3.4.6. Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas <i>Erythrina edulis</i> con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	129
3.4.7. Composición nutricional de las materias primas de las dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en 4 dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml).....	131
3.4.7. Evaluación histopatológica de la toxicidad aguda	132
3.5 DISCUSIÓN	134
3.5.1. Cría de larvas de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	134
3.5.2. Formulación y procesamiento de dietas con inclusión de harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i>	136
3.6 CONCLUSIONES.....	139
3.7 REFERENCIAS.....	140
4.CAPÍTULO 4. RETO EXPERIMENTAL CON <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i> EN ALEVINOS DE TILAPIA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>), PARA LA EVALUACIÓN DE DIETAS CON INCLUSIÓN DE HARINA DE SEMILLAS <i>ERYTHRINA EDULIS</i>.....	144
4.1 RESUMEN.....	144
4.2 INTRODUCCIÓN.....	145

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS	148
4.3.1 Adaptación de alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) para el reto experimental	148
4.3.2 Procesamiento de dos dietas prácticas, una sin inclusión de harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> y otra con una inclusión de lectina de (300 µg/ml).....	150
4.3.3 Condiciones experimentales.....	154
4.4 RESULTADOS.....	160
4.4.1. Mortalidad del ensayo por grupo etario.....	160
4.4.2. Evaluación histopatológica.....	161
4.4.3. Evaluación inmunohistoquímica	163
4.4.4. Evaluación lectinohistoquímica	164
4.5 DISCUSIÓN	166
4.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	168
REFERENCIAS	169
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	175
5.1 DISCUSIÓN	175
5.2 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	177
5.3 REFERENCIAS.....	179
ANEXO A. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i>.....	180
ANEXO B. RESULTADOS PROXIMALES DE LAS MUESTRAS DE HARINA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i>.....	181
ANEXO C. RESULTADOS DE EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS, PURIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LECTINA PURIFICADA EN MUESTRAS DE HARINA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i>.....	185
ANEXO D. REGISTRO PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS DE LA CALIDAD DE AGUA EN LA PRUEBA PILOTO CON HARINA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i>	188
ANEXO E. REGISTRO DE RACIONES, ALIMENTO Y CANTIDAD DE HECES RECUPERADO E LA PRUEBA PILOTO CON HARINA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i>	189
ANEXO F. FORMATO DE REGISTRO DE ANIMALES QUE CONSUMEN (AC), REPITEN (AR) Y REGURGITAN LA HARINA EXTRUIDA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i>	190
ANEXO G. REGISTRO DE ESPECIFICACIONES DE CALIDAD DE MATERIA PRIMA USADA EN LA PREPARACIÓN DE DIETAS PRÁCTICAS	191
ANEXO H. CERTIFICADO DE BEST AQUACULTURE PRACTICES BAP DE ITALCOL S.A. PLANTA PALERMO HUILA	192

ANEXO I. RESULTADOS DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO DE LOTES DE LARVAS DE TILAPIA NILÓTICA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>) RECEPCIONADAS EN BIOTERIO.....	193
ANEXO J. RESULTADOS FINALES DE LA PRUEBA PILOTO DEL ASEGURAMIENTO DEL CONSUMO Y EVALUACIÓN DE TOXICIDAD DE LA HARINA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i> EN ALEVINOS DE TILAPIA NILÓTICA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>)	196
ANEXO K. CALIFICACIÓN DE MUERTE CELULAR EPITELIAL, INFLAMACIÓN Y NECROSIS EN ANÁLISIS DE TOXICIDAD AGUDA EN DIETAS PRÁCTICAS CON 15UG, 30UG, 150UG Y 300UG DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i> LECTINA (EEL) Y DIETA COMERCIAL CONTROL.....	197
ANEXO L. RESULTADOS FINALES DE LA PRUEBA PILOTO DEL ASEGURAMIENTO DEL CONSUMO Y EVALUACIÓN DE TOXICIDAD DE LA HARINA EXTRUIDA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i> EN ALEVINOS DE TILAPIA NILÓTICA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>)	200
ANEXO M. RESULTADOS FINALES DE LA EVALUACIÓN DE TOXICIDAD DE DIETAS PRÁCTICAS CON INCLUSIÓN DE HARINA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i> CON DOS DOSIS DIFERENTES DE LECTINA (150 Y 300 MG) EN ALEVINOS DE TILAPIA NILÓTICA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>).....	201
ANEXO N. RESULTADOS FINALES DE LA EVALUACIÓN DE TOXICIDAD DE DIETAS PRÁCTICAS CON INCLUSIÓN DE HARINA DE SEMILLAS DE <i>ERYTHRINA EDULIS</i> CON DOS DOSIS DIFERENTES DE LECTINA (15 Y 30 MG) Y LECTINA ECL (30 ML/ML) EN ALEVINOS DE TILAPIA NILÓTICA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>)	202

Lista de figuras

- Figura 1. Muestras de Erythrina edulis (balú) obtenidas en la vereda Zelanda del municipio de San Agustín, Huila. Imagen: A. Coordenadas ubicación muestra. B. Fruto. C. Hoja. D. Flor. Fuente: Vela H. 2021* _____ 60
- Figura 2. Muestras de Erythrina edulis (Balú) entregadas al Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia – Bogotá. Imagen: A. Muestra de hojas, tallo, vaina y semilla. B. Muestra de hojas, flor y pétalos. Fuente: Vela H. 2021* _____ 61
- Figura 3. Formato de etiqueta de Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia – Bogotá. Imagen: Etiqueta de entrega de la muestra. Fuente: Vela H. 2021* _____ 62
- Figura 4. Secuencia de procesos para la selección, lavado, desinfección y corte de semillas de Erythrina edulis (balú). A. Vainas. B. Revisión de vainas con semilla. C. Desgrane de semillas. D. Selección de semillas. E. Desinfección y lavado de semillas. F. Corte de semillas. G. Recolección de materia prima para proceso. Fuente: Vela, H. 2021* _____ 64
- Figura 5. Secuencia de procesos para la obtención de harina de semillas de Erythrina edulis (balú). A. Pesaje de la semilla seca. B. Molino. C. Llenado de tolva del molino. D. Molienda. E. Harina de balú. F. Empaque e identificación del lote. Fuente: Vela H., 2021* _____ 65
- Figura 6. Proceso para la obtención de extruido a partir de harina de semillas de Erythrina edulis (balú) del lote V. A. Pesaje de harina. B. Hidratación C. Extrusora D. Estabilización de temperatura. E, F y G. Proceso de extrusión. H. Producto inicial extruido. I. Grano extruido de balú. J. Medida de los pellets extruidos. Fuente: Vela, H. 2022.* _____ 66
- Figura 7. Flores y vainas de Erythrina edulis (Balú) obtenidas en la vereda Zelanda del municipio de San Agustín, Huila. A. Flor. B. Vaina con semillas. C. Semillas de balú. Fuente: Vela, H. 2021* _____ 69
- Figura 8. Semillas de Erythrina edulis (balú) obtenidas en la vereda Zelanda del municipio de San Agustín, Huila. A. Desgrane y selección de semillas. B. Variedad de color de acuerdo al grado de madurez de la semilla de balú. Fuente: Vela, H. 2021.* _____ 70

Figura 9. SDS PAGE de harina pre y post extruida de semillas de *E. edulis*. **A.** SDS PAGE – Tricina 10% de harina de semillas de *E. edulis*. 1. Patrón de peso molecular. 3. Patrón de lectina de *E. edulis*: 14ug. 5. Fracción precipitada 0-60%: 100ug. 6. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 15ug (réplica 1). 7. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 14ug (réplica 2). **B.** SDS PAGE – Tricina 10% de harina extruida de semillas de *E. edulis*. 1. Patrón de peso molecular. 2. Lisozima: 200ug. 4. Patrón de lectina de *E. edulis*: 50ug. 6. Fracción precipitada 0-60%: 125ug. 8. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 30ug (réplica 1). 9. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 50ug (réplica 2). _____ 75

Figura 10. Cromatografía de afinidad: Lactosa-Sepharosa de harina pre y post extruida de semillas de *E. edulis*. **A.** Harina pre extrusión de *E. edulis* en sepharosa 4Blactosa, fracción purificada 0-60%, réplica 1. **B.** Harina post extrusión de *E. edulis* en lactosa-SEPHAROSA, fracción purificada 0-60%, réplica 1. _____ 75

Figura 11. Adecuación del bioterio en la Corporación Patológica Veterinaria CORPAVET-MOLECULARVET. **A.** Tanque recepción agua-lluvia. **B-C.** Tanques recepción larvas de tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*). **D.** Toma de medida de pH. **E.** Toma de medida de oxígeno. Fuente: Vela H. 2021 _____ 96

Figura 12. Equipos para toma de datos de parámetros físico – químicos del agua para las larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en bioterio. **A.** Kit FF1A. **B.** Oxímetro EcoSense DO200A (OD) YSI. **C.** Oxímetro 550A YSI (%). **D.** pH - metro EcoSense pH/EC1030 YSI. Fuente: Vela H. 2022 _____ 97

Figura 13. Alimentación de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) con alimento de reversión en el bioterio. **A.** Larvas sin alimentar. **B.** Larvas en columna de agua. **C.** Aro corral **D.** Alimento. **E.** Pesaje de alimento - ración. **F.** Instalación de aros. **G y H.** Larvas alimentándose con alimento de reversión. Fuente: Vela H. 2022. _____ 99

Figura 14. Pesaje de alimento a suministrar, alimento recuperado y alimento no consumido más heces suministro a tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*). **A - B.** Pesaje raciones para cada tratamiento. **C - D.** Pesaje alimento recuperado. **E.** Heces y alimento no consumido recuperado. **F.** Alimento no consumido y heces en proceso de secado. **G.** Alimento no consumido y heces seco. Fuente: Vela H. 2022 _____ 102

Figura 15. Pesaje de alimento extruido. **A.** Pesaje de alimento extruido inicial. **B.** Clasificación a través de malla de 1 mm del alimento extruido. **C.** Pesaje alimento a suministrar a los animales. Fuente: Vela H. 2022 _____ 103

Figura 16. Proceso de pesaje y preparación de dietas prácticas con inclusión de lectina en cuatro dosis diferentes (15, 30, 150 y 300 µg/ml). **A - B.** Pesaje de micronutrientes. **C.** Balanza analítica OHAUS PX84/E. **D - E.** Pesaje macronutrientes en una balanza RADWAG WPT 6C/1. **F.** Adición de harina de balú _____

a la mezcla de la dieta con 300 µg/ml. **G - H.** Pesaje y empaque de dietas para refrigerar. Fuente: Vela H. 2022 _____ 107

Figura 17. Proceso de pesaje, selección y distribución de animales para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Pesaje de alevinos de tilapia. **B - C.** Distribución de tanques y tratamientos de la evaluación. **D.** Alevinos de tilapia. **E - F.** Tanques con divisiones en malla para evitar ataques de territorialidad.

Fuente: Vela H. 2022 _____ 109

Figura 18. Primera alimentación vía intragástrica de animales para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Pesaje de raciones de cada dieta práctica. **B - C.** Mezcla de alimento con Vortex Thermo Scientific M37615. **D.** Solución stock Eugenol. **E.** Punta de micropipeta con dosis primera comida (50µl). **F a H.**

Alimentación vía intragástrica de alevinos. Fuente: Vela H. 2022 _____ 110

Figura 19. Preparación de alimento para la 2.^a y 3.^a comida del día para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A - E.** Mezcla dieta práctica con agua relación 1:4 respectivamente. **G a H.** Embalaje de la papilla en jeringa de 5 ml. **I.** Suministro de alimento. Fuente: Vela H. 2022 _____ 111

Figura 20. Preparación de alimento para la 1.^a comida del día vía intragástrica, para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Pesaje dieta práctica. **B.** Solución Salina Estéril (9ml) **C.** Alimento preparado. **D.** Mezcla de alimento Vortex. **E -F.** Sedación alevinos stock Eugenol. **G a I.** Suministro primera

alimentación vía intragástrica. Fuente: Vela H. 2022. _____ 114

Figura 21. Preparación del alimento del tratamiento V, con lectina *Erythrina crista galli* (ECL) (30 µl/ml) para en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Muestra de SSE (100 ml) . **B.** Micropipeta con lectina (300 µl) **C - D.** Lectina de Vectorlabs (ECL). **E.** Mezcla de lectina en SSE. **F.** Pesaje de harina 45% para mezclar con lectina. Fuente: Vela H. 2022. _____ 115

Figura 22. Preparación de alimento para la 2.^a y 3.^a comida del día para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/mL) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Tanques. **B.** Pesaje de las dietas prácticas. **C.** Alimento preparado. **D.** Pesaje dieta práctica. **E - F.**

Mezcla de alimento con SSE. **G.** Papilla de alimento preparado. **H.** Alimento embalado en jeringa 5 mL. **I.** Alimentación de alevinos de tilapia. Fuente: Vela H. 2022. _____ 116

Figura 23. Curva de crecimiento de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en _____ 122

Figura 24. Estómago e intestino de alevinos de tilapia nilótica tras el consumo de dieta control (A y E) y dietas prácticas con inclusión de *Erythrina edulis lectina* (EEL) en concentración de 15ug/ml (F), 30ug/ml, 150ug/ml (B) y 300ug/ml (C y D), H&E. **A.** Estructura normal del estómago de un alevino del grupo control. Se observa la linealidad del epitelio y conformación normal del tejido glandular de la submucosa. **B.** Estructura normal del intestino de un alevino del grupo alimentado con dieta práctica con inclusión de 150ug/ml de EEL. Se observa normalidad en la arquitectura del tejido con linealidad del epitelio y grosor normal de las capas musculares de la pared intestinal. **C.** Estómago de alevino alimentado con dieta práctica con inclusión de 300ug/ml de EEL. Se observa pérdida de continuidad del epitelio gástrico, con foco de necrosis, infiltrado inflamatorio principalmente linfocítico de forma leve a moderada y multifocal. **D.** Estómago de alevinos de tilapia con dieta práctica con inclusión de 300ug/ml de EEL. Se observa necrosis y pérdida de continuidad del epitelio, infiltrado principalmente linfocítico en mucosa y submucosa y dilatación de las glándulas gástricas. **E.** Intestino de alevinos de tilapia con dieta control. Conservación de la linealidad del epitelio intestinal con moderada muerte celular epitelial e infiltrado linfocítico multifocal en mucosa y submucosa. **F.** Intestino de alevinos de tilapia alimentados con dieta práctica con inclusión de 15ug/ml de EEL. Se observa muerte celular epitelial, necrosis e infiltrado linfocítico severo de la mucosa y submucosa con fotos de hemorragia. Fuente: Barato P. 2022 _____ 133

Figura 25. Evidencia de consumo de harina y harina extruida de semillas de *Erythrina edulis* de alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Contenido estomacal. **B.** Observación al microscopio de intestino de tilapia **C.** Fracción de intestino con contenido alimenticio **D.** Observación al microscopio de intestino de tilapia Fuente: Vela H. 2022 _____ 137

Figura 26. Material biológico y físico para adaptación para el reto experimental. **A.** Alevinos tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) criadas en Bioterio – CORPAVET. **B.** Tanques para los tratamientos y sus réplicas para el reto experimental. Fuente: Vela H. 2022 _____ 150

Figura 27. Materia prima para dietas prácticas para el reto experimental. **A.** Semillas de Balú. Lote VII. **B.** Semillas de Balú cortadas para proceso de secado. **C.** Harina de Balú. Lote VII. **D.** Tiempos de almacenamiento de materia prima de origen animal y vegetal. ITALCOL S.A. **E.** Materia prima para dietas prácticas. Fuente: Vela H. 2022 _____ 151

Figura 28. Proceso de mezcla de materias primas para dietas experimentales. **A.** mezcladora MZ50 1F 50LT JAVAR 9. **B.** Materia prima para mezcla. **C.** Materia prima en proceso de mezcla por 20 minutos. **D.**

<i>Mezclas homogéneas de materia prima para cada dieta. E. Adición de agua al 22%. Fuente: Vela H. 2022</i>	153
<hr/>	
<i>Figura 29. Procesamiento de materias primas para preparar dietas experimentales para el reto. A. Materia prima molida. B. Materia prima molida y pesada. C. Tamiz 250 micrones. D. Tamizaje de materia prima. E. Pesaje en balanza RADWAG WPT. Fuente: Vela H. 2022</i>	153
<i>Figura 30. Tanques utilizados para la prueba de reto experimental. Fuente: Vela H. 2022</i>	154
<i>Figura 31. Parámetros físico químicos de los tanques de la prueba experimental. A. Oxímetros EcoSense DO200A – T° 31,5°C - OD: 2,99 mg/l. B. Oxímetros EcoSense DO200A – T° 31,3°C. C. Tanque con animales en reto infeccioso. Fuente: Vela H. 2022</i>	155
<i>Figura 32. Toma de muestras para análisis sanitarios de animales del reto experimental. A - B. Alevinos tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) muertos. C. Toma de muestras. D. Extracción de cerebro. E. Muestras para histopatología. F. Pool de tejidos para qPCR – Lectinohistoquímica – Inmunohistoquímica. Fuente: Vela H. 2022.</i>	156
<i>Figura 33. Reactivos usados en la prueba de inmunohistoquímica. A. Xilol. B. Agua destilada. C. Alcohol Etilico Absoluto. D. TBS IHC Wash Buffer. E. TBS (pH 7,6). F. Ácido clorhídrico (5 mol). G. Peróxido de Hidrógeno, 30%. H. Kit VECTASTAIN Elite ABC Universal -- Peroxidase (Horse Anti-Mouse/Rabbit IgG). I. Agua Amoniaca. J - K. Streptococcus Grupo B tipo Ib – SSI Diagnostica. K. GBS Ib. Fuente: Vela H. 2022.</i>	157
<hr/>	
<i>Figura 34. Materiales y equipos usados en la prueba de inmunohistoquímica. A. Incubadora IMICROQ in-QFast rocker. B. Vortex M37615 Thermo Scientific. C. pH-metro EcoSense pH/EC1030 YSI. D. Canastilla metálica porta-laminas. E - F. Micropipetas Transferpette (1000 µl) graduadas. G. Beaker 209 ml y Probeta 1000ml. Fuente: Vela H. 2022.</i>	157
<i>Figura 35. Estómago e intestino de alevinos de tilapia nilótica tras el consumo de dieta control y dieta práctica con inclusión de <i>Erythrina edulis</i> lectina (EEL) en concentración de 300ug/ml y posterior infección con <i>S. agalactiae</i> Ib (SaTiBe0818).</i>	165

Lista de tablas

	Pág.
<i>Tabla 1. Datos de lotes de semillas de Erythrina edulis recolectados para fabricación de harina</i>	63
<i>Tabla 2. Cantidades para la elaboración de extruido a partir de harina de semillas de Erythrina edulis del lote I, con adición de 20% de agua.....</i>	71
<i>Tabla 3. Composición nutricional analizada de harinas pre y post-extrusión de semillas de Erythrina edulis</i>	72
<i>Tabla 4. Resultados de extracción y cuantificación de proteína, actividad de aglutinación, detección y cuantificación de lectina purificada en muestras de harinas de Erythrina edulis.</i>	74
<i>Tabla 5. Descripción taxonómica de Erythrina edulis (Balú).....</i>	76
<i>Tabla 6. Contenido de nutrientes de hojas y semillas de Erythrina edulis (balú) (% en la materia seca) ...</i>	79
<i>Tabla 7. Contenido de macrominerales de hojas y semillas de Erythrina edulis (Balú) (% en la materia seca).....</i>	79
<i>Tabla 8. Composición química de la semilla de Erythrina edulis – En base seca.....</i>	80
<i>Tabla 9. Composición nutricional y promedio de diferentes harinas de semillas de Erythrina edulis – En base seca</i>	81
<i>Tabla 10. Carbohidratos inhibidores de aglutinación de la lectina de Erythrina edulis</i>	84
<i>Tabla 11. Inhibición de varios azúcares de la actividad hemaglutinante de la lectina de Erythrina cristagalli con eritrocitos humanos (0)</i>	84
<i>Tabla 12. Grupos experimentales y parámetros iniciales prueba de toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de la harina pre y postextrusión de semillas de Erythrina edulis en larvas de alevinos de tilapia nilótica (Oreochromis niloticus) criadas en el Bioterio CORPAVET®.....</i>	100

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 13. Materias primas usadas para la formulación de dietas prácticas con inclusión de harina de balú (<i>Erythrina edulis</i>) para evaluación de toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>), excepto la dieta control.....	106
Tabla 14. Parámetros iniciales evaluación de toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en cuatro dosis diferentes de lectinas (15, 30, 150 y 300 µg/ml) y ECL 30ul/ml, en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	108
Tabla 15. Parámetros iniciales evaluación de toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en dos dosis diferentes de lectinas (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL, en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>)	113
Tabla 16. Datos para la preparación del alimento del tratamiento V, con Lectina <i>Erythrina crista-galli</i> (ECL) (30 µl/ml) para en alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	115
Tabla 17. Parámetros Físico-Químicos del agua de tanques para la cría de los ocho lotes de larvas de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) criadas en el bioterio.	119
Tabla 18. T - Student. Límites Inferior y Superior de los intervalos de confianza de la diferencia de los parámetros físico químicos del agua en la cría de larvas de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) en el Bioterio de CORPAVET®.....	120
Tabla 19. Resultados de laboratorio del estado sanitario de los lotes de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) criadas en el Bioterio.....	121
Tabla 20. Resultados de la prueba de normalidad de los datos de consumo de harina de semillas <i>E. edulis</i>	123
Tabla 21. ANOVA. Consumo de harina de semillas <i>E. edulis</i> en los tratamientos con respecto al día de suministro.	123
Tabla 22. ANOVA. Consumo de harina de semillas <i>E. edulis</i> en los tratamientos con respecto a la hora de suministro.	123
Tabla 23. ANOVA. Diferencia de peso de los alevinos de tilapia nilótica por consumo de harina de semillas de <i>E. edulis</i> en los tratamientos.	124
Tabla 24. ANOVA. Diferencia de variables de los alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) por consumo, repetición y regurgitación de harina EXTRUIDA de semillas de <i>E. edulis</i>	125
Tabla 25. ANOVA. Diferencia de consumo de la harina EXTRUIDA de semillas de <i>E. edulis</i> por los alevinos de tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>) en los tratamientos.....	126
Tabla 26. ANOVA. Consumo de dietas prácticas sin dosis y con dosis de 150 y 300 µg/ml de lectina a través de harina de semillas de <i>E. edulis</i> por alevinos de tilapia nilótica.	127
Tabla 27. ANOVA. Ganancia de peso de alevinos de tilapia nilótica alimentados con dietas prácticas sin dosis y con dosis de 150 y 300 µg/ml de lectina a través de harina de semillas de <i>E. edulis</i>	128

<i>Tabla 28. ANOVA. Consumo de dietas prácticas con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica.</i>	<i>129</i>
<i>Tabla 29. ANOVA. Ganancia de peso de alevinos de tilapia nilótica alimentados con dietas prácticas con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL.</i>	<i>130</i>
<i>Tabla 30. Composición nutricional de las materias primas utilizadas en la formulación de dietas prácticas para la evaluación de la toxicidad de la harina de semillas de Erythrina edulis en alevinos de tilapia nilótica.</i>	<i>131</i>
<i>Tabla 31. Composición nutricional de las dietas utilizadas para la evaluación de la toxicidad de la harina de semillas de Erythrina edulis en alevinos de tilapia nilótica.</i>	<i>132</i>
<i>Tabla 32. Parámetros físico-químicos del agua ideales para el cultivo de tilapias.</i>	<i>134</i>
<i>Tabla 33. Usos del Balú (Erythrina edulis) en alimentación animal.</i>	<i>137</i>
<i>Tabla 34. Parámetros iniciales del reto experimental con Streptococcus agalactiae en alevinos de tilapia (Oreochromis niloticus), para la evaluación de dietas con inclusión de harina de semillas Erythrina edulis.</i>	<i>149</i>
<i>Tabla 35. Caducidad de la Materia Prima utilizada en el Reto experimental con Streptococcus agalactiae en alevinos de tilapia (Oreochromis niloticus), para la evaluación de dietas con inclusión de harina de semillas Erythrina edulis.</i>	<i>151</i>
<i>Tabla 36. Materias primas usadas para la formulación de dietas experimentales con inclusión de harina de balú (Erythrina edulis) para el reto experimental con Streptococcus agalactiae en alevinos de tilapia (Oreochromis niloticus),</i>	<i>152</i>
<i>Tabla 37. Datos para la preparación del alimento del tratamiento III, con Lectina Erythrina crista-galli (ECL) (10 µl/ml) para alevinos de tilapia nilótica (Oreochromis niloticus)</i>	<i>156</i>
<i>Tabla 38. Datos y cálculo para aplicación del anticuerpo primario en BSA al 10% en las láminas obtenidas en la investigación.</i>	<i>158</i>
<i>Tabla 39. Supervivencia (%) observada durante el reto experimental con Streptococcus agalactiae Ib en tilapias (Oreochromis niloticus)</i>	<i>160</i>
<i>Tabla 40. Porcentaje de presentación de infiltrado inflamatorio linfocítico en el estómago de las tilapias de cada grupo experimental.</i>	<i>161</i>
<i>Tabla 41. Porcentaje de presentación de infiltrado inflamatorio linfocítico en el intestino de las tilapias de cada grupo experimental.</i>	<i>162</i>
<i>Tabla 42. Porcentaje de presentación de lipidosis hepática de las tilapias de cada grupo experimental.</i>	<i>162</i>
<i>Tabla 43. Porcentaje de presentación de inmunomarcación en la superficie y lámina propia del gástrica de las tilapias de cada grupo experimental.</i>	<i>163</i>

Tabla 44. Porcentaje de presentación de inmunomarcación en la superficie y lámina propia del intestino de las tilapias de cada grupo experimental..... 164

Tabla 45. Porcentaje de presentación de lectinomarcación (LHC) para ECL en la superficie intestinal de las tilapias de cada grupo experimental..... 165

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolo	Término
<i>T</i>	Temperatura
°C	Grados centígrados
<i>L</i>	Litros
<i>h</i>	hora
min	minutos
>	Mayor que
s	Segundos
%	Porcentaje
<i>P</i>	Probabilidad
Cm	Centímetros
KDa	Kilodalton
<i>N</i>	Nitrógeno
<i>P</i>	Fósforo
<i>pH</i>	Potencial de hidrogeno
<i>Ca</i>	Calcio
<i>mm</i>	Milímetros
<i>mg</i>	miligramo
μ g	Microgramo
μ l	Microlitro

<i>Kg</i>	Kilogramo
<i>Tn</i>	Tonelada
<i>g</i>	Gramo
<i>sp</i>	Especie
±	Más o menos
NaCl	Cloruro de sodio
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfato de amonio

Subíndices

Subíndice	Término
ns	Diferencia no significativa
®	Marca registrada

Abreviaturas

Abreviatura	Término
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
<i>Mg</i>	Miligramo
<i>pH</i>	Potencial de hidrógeno
<i>mm</i>	Milímetros
<i>µg</i>	Microgramo
<i>µl</i>	Microlitro
<i>Kg</i>	Kilogramo
<i>Tn</i>	Tonelada
<i>g</i>	Gramo
<i>TIU</i>	Unidad inhibidora de Tripsina
ANOVA	Análisis de varianza
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
UPA	Unidad de Procesamiento de Alimentos
<i>E. edulis</i>	<i>Erythrina edulis</i> , (erythros) color rojo (edulis) comestible
<i>E. crista-galli</i>	<i>Erythrina edulis</i> , (erythros) color rojo (crista-galli) cresta de gallo

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

ECL	Lectina de <i>Erythrina crista-galli</i>
AC	Alimento consumido
AS	Alimento suministrado
CA	Consumo aparente
TR	Total recolectado
HE	Heces
DB	Densidad baja
DM	Densidad media
AR	Repetición de consumo
AG	Regurgitación de alimento
Allix3	Software de formulación para alimentación
IAFFD	International Aquaculture Feed Formulation Database
ITALVIT	Premezcla vitamínica Itacol S.A.
ITALMIN	Premezcla mineral Itacol S.A.
Gal	Galactosa
SDS PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio
VB	Valor biológico
CIM	Concentración inhibitoria mínima

Introducción

La globalización ha logrado mejorar los sistemas de logística y de instalaciones comerciales, que proporcionan un entorno favorable para el crecimiento de la industria acuícola, además de optimizar los sistemas de producción, las prácticas sostenibles y la diversificación de especies (White, 2018).

La tendencia actual de la acuicultura mundial es de incremento exponencial de acuerdo con el aumento de la población humana, pues requerirá de proteína saludable de buena calidad de origen animal para su alimentación. Se estima que el tamaño del mercado de la acuicultura crecerá a una tasa de crecimiento anual del 4,43 % entre 2022 y 2027. Se prevé que el tamaño del mercado aumente en USD 56.930 millones (Technavio, 2023).

En 2030, el 90% de toda la producción de animales acuáticos se destinará al consumo humano, un incremento general del 15% en comparación con 2020. Esto significa que el consumo per cápita anual aumentará de 20,2 kg en 2020 a 21,4 kg en 2030, un resultado de la elevada demanda provocada por el aumento de los ingresos y la urbanización (FAO, 2022)

Según Tacon (2023), la producción acuícola mundial en 2021 alcanzó un récord de 126 millones de toneladas, las cuales incluían 59,42 millones de toneladas (Mt) de peces de aleta (47,1%), 18,42 Mt de moluscos (14,6%), 11,88 Mt de crustáceos (9,4%) y 35,17 Mt

plantas acuáticas (27,9%) por un valor de 296,5 billones de USD, US\$ 156,2 billones, US\$ 31,0 billones, US\$ 85,5 billones y US\$ 15,4 billones respectivamente.

En estos datos de crecimiento recientes y actualizados, se encuentra la tilapia, como la segunda especie de peces de aleta más cultivada en agua dulce en el mundo, después de la carpa. De la producción mundial acuícola y de las principales especies acuícolas, la tilapia representó el 12,5% del total de peces de aleta producidos durante el 2020 (FAO, 2022).

Se prevé que la intensificación de la producción de esta especie crezca aún más en un futuro muy cercano, representando un desafío para la sanidad de los peces, aumentando en los próximos años la vulnerabilidad a enfermedades causadas por virus acuícolas, bacterias, parásitos y hongos (Abdel-Latif et al., 2020). La tilapia no es ajena a esta situación y de las enfermedades bacterianas que afectan a esta especie, la principal infección para esta especie está dada por *Streptococcus agalactiae* (FAO, 2021). Esta especie es altamente susceptible a esta infección cuando las condiciones de cultivo varían, particularmente relacionadas con el aumento de densidades por unidad de área, incremento de temperatura, reducción del oxígeno disuelto y a un pH ácido del agua (Phuoc et al., 2021).

La estreptococosis es la enfermedad bacteriana más importante en la industria del cultivo de tilapia, generando en el mundo mortalidades masivas y altas pérdidas económicas en el sector (FAO, 2021). En 1997 esta enfermedad causó más de USD \$15 millones en pérdidas anuales representados en tratamientos, morbilidades y mortalidades; para el 2008 este valor aumentó a US \$ 250 millones (Barato et al., 2015; Klesius et al., 2008).

En Colombia una empresa exportadora de filete de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) reportó que la estreptococosis en peces en jaulas, para un ciclo productivo de siete meses, generó pérdidas estimadas entre 30% y 35%, lo que ocasiona que las conversiones alimenticias se aumenten y por consiguiente los costos de producción por kilo (González, 2018). Adicionalmente, en el primer semestre de 2023 se presentó una mortalidad alta por

S. agalactiae la2021ST7, Ib y coinfección con TiLV, generando mortalidades entre 10 a 50%, dependiendo del sistema de producción (Barato, 2023).

Para el manejo y control de la estreptococosis hoy en día se realiza tratamientos con antibióticos, suplementación con fitoextractos, probióticos y simbiótica, uso de animales genéticamente mejorados, implementación de vacunas, reducción de densidades de siembra y en los casos en que es posible, se modifican las condiciones del agua (reducción de temperatura con recambios o incremento de oxígeno con aireación artificial). Sin embargo, a pesar de estas estrategias, no se logra aun controlar las mortalidades, por lo que se requiere desarrollar mecanismos más efectivos que eviten la infección de los peces. Dentro de los logros a destacar, se encuentra la patente registrada por la Universidad Nacional de Colombia para el uso de lectinas, proteínas que se unen a azúcares con una elevada especificidad, presentes en las leguminosas del género *Erythrina*, como aditivos funcionales, para la inhibición *in vitro* de la adherencia del *S. agalactiae* a los azúcares del intestino de las tilapias, como una estrategia glicobiológica que evita la infección (Iregui Castro & Barato, 2017).

Las plantas del género *Erythrina* son leguminosas distribuidas en Centro y Sudamérica. *Erythrina crista-galli* es el árbol nacional de Argentina; en Colombia es abundante *Erythrina edulis*, conocida comúnmente como chachafruto, la cual posee lectinas con afinidades por carbohidratos similares a los de *Erythrina crista-galli* (Pérez, 1984).

En este contexto, el objetivo de esta investigación fue estudiar la incorporación de harina de *Erythrina edulis* en dietas prácticas para tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) como fuente de lectinas glicoinhibidoras de adherencia a *S. agalactiae*. Se diseñaron dietas prácticas con diferentes niveles crecientes de inclusión de harina de semilla de *Erythrina edulis* para crecimiento de tilapia, evaluando parámetros sanitarios y zootécnicos ante desafíos de infección con la bacteria.

1.CAPÍTULO 1. Enfermedades bacterianas en peces, impacto y posibilidades de prevención y control dietético

1.1 Resumen

La acuicultura al ritmo de crecimiento sostenido que hoy en día tiene, en los próximos años será la base de la oferta de proteína animal para una población que viene en constante aumento. El recurso agua y la energía que se requiere para lograr una producción acuícola intensificada sostenible, serán clave para lograr resultados satisfactorios por unidad de área. En este mismo sentido, el cambio climático es un factor determinante que se debe tener en cuenta para lograr estos resultados. Así, la temperatura es la principal magnitud física que afectará directamente e indirectamente en la acuicultura y jugará un papel importante para el bienestar y salud de los animales de producción, principalmente cultivos en aguas cálidas, como lo son los de la tilapia. El aumento del rango de temperatura acelerará los procesos fisiológicos de los animales afectando su comportamiento, crecimiento, inmunocompetencia y propagando rápidamente enfermedades infecciosas por parásitos, bacterias y virus que han llevado a grandes pérdidas económicas. La estreptococosis es la enfermedad bacteriana que más afecta mundialmente a la tilapia, siendo más infecciosa en relación con el aumento de temperatura. Para prevenirla y controlarla se cuenta con tecnologías como vacunas, probióticos y fitobióticos, uso controlado de antibióticos, disminución de la carga de producción por unidad de área,

recambios y aumento de oxígeno por aireación mecánica. En este campo, se conoce que una lectina presente en las semillas de la *Erythrina edulis* tiene afinidad a los azúcares de la superficie de la bacteria, convirtiéndose en glicoproteínas inhibidoras de la adherencia de *S. agalactiae* al epitelio intestinal de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Palabras clave: *Erythrina*, estreptococosis, lectina, *Streptococcus agalactiae*, tilapia.

1.2 Introducción

Para el 2025 el aumento de la población al ritmo actual será de más de 8 200 millones de habitantes, por lo cual se prevé que la demanda de proteína animal como fuente de alimento seguirá aumentando y ejercerá presiones adicionales sobre producción de alimentos en la limitada tierra utilizable. Según Lio-Po et al. (2023), los peces de aleta son una excelente solución como fuente de proteína animal, a pesar de que las poblaciones naturales de peces se han reducido significativamente debido a pescas excesivas e indiscriminadas. Es por lo anterior que la acuicultura sigue siendo el sector alimentario de más rápido crecimiento y se espera que satisfaga la demanda mundial de suministro de alimentos acuáticos.

Las perspectivas de la FAO sobre la pesca y la acuicultura en 2030 apuntan a un incremento de la producción, el consumo y el comercio, con crecimientos de producción de animales acuáticos alrededor de 202 millones de toneladas en 2030, gracias principalmente a un aumento sostenido de la acuicultura, que se prevé que se situó en 100 millones de toneladas por primera vez en 2027 y 106 millones de toneladas en 2030 (FAO, 2022).

Hoy en día la acuicultura produce peces a través de varios sistemas de cultivo, en los cuales se usan diferentes prácticas de producción extensivas, semiintensivas, intensivas y/o superintensivas en agua dulce. Estos sistemas se identifican por sus operaciones a pequeña escala y baja tecnología hasta sistemas industriales modernos y con alta tecnología, buscando siempre el aumento de su productividad por unidad de área en los

diferentes sistemas de producción, que dependen del recurso agua, tanto en calidad y cantidad y la energía empleada para obtener buenos resultados (Valladão et al., 2018)

Una variable que afecta estas producciones es indiscutiblemente el clima, que se refiere a los patrones climáticos a lo largo de un plazo que caracterizan a un lugar, ya sea un aumento de temperatura, un evento hidrológico o una anomalía en la circulación del aire, que se aleje de la fluctuación regular, se convierte en una incidencia extrema y un potencial de producir una variabilidad climática que afecta tanto directamente como indirectamente a la acuicultura (IPCC, 2023). Maulu et al. (2021) evaluaron los efectos del cambio climático en la productividad de la acuicultura y sus implicaciones para la sostenibilidad, la mitigación y la adaptación; además examinaron diversos elementos de un clima cambiante, como el aumento de la temperatura, el aumento del nivel del mar, las enfermedades y la proliferación de algas nocivas, los cambios en los patrones de precipitaciones, la incertidumbre de insumos externos y los cambios climáticos graves.

Todos esos elementos pueden afectar y actuar en forma independiente o en conjunto, por lo que se vuelve difícil predecir su impacto, el cual dependerá de la zona geográfica donde se encuentre el centro de producción, la época del año, que va muy relacionada con el tiempo de mayor oferta y demanda de la producción, el tamaño de las piscifactorías y su grado de tecnificación, tipo de cultivo (monocultivo / policultivo), personas en el manejo del sistema, volúmenes de los recintos acuícolas, especie, genética, densidad de producción por unidad de área, calidad del alimento balanceado ofrecido y lo fundamental, calidad de agua, salud y bienestar animal. Según lo mencionado por Martos-Sitcha et al. (2020) la relación entre los sistemas de cultivo y el medio ambiente es una característica clave porque el agua, el alimento, los tratamientos químicos y los productos de desecho pueden moverse libremente a través de los sistemas y el aumento de los incidentes climáticos extremos plantean riesgos considerables para la salud de los peces aumentando sus niveles de estrés.

Lo peces euritermales o peces de aguas cálidas son aquellos que pueden tolerar una amplia gama de temperaturas. Aunque no hay consenso sobre la definición de especie de

aguas cálidas, varios autores las consideran especies que prefieren temperaturas de agua alrededor de 27°C (Howard, 2019). Las especies de aguas cálidas tienen mayor capacidad que las de aguas frías para descargar oxígeno a nivel de los tejidos, la cual es una de las principales razones por las que las especies de agua frías requieren una mayor concentración de oxígeno disuelto (Boyd, 2020). El mismo autor menciona que la temperatura tiene una influencia importante en la velocidad de los procesos químicos, físicos y biológicos, afectando el movimiento molecular de las reacciones fisiológicas de los organismos acuáticos, provocando fluctuaciones directas en la calidad de agua. Estos organismos a su vez tienen un rango de temperatura específico en el cual pueden sobrevivir y un rango más estrecho en el cual funcionan de manera eficiente y no sufren estrés térmico.

Por consiguiente, el estrés térmico prolongado puede afectar la productividad de la acuicultura de varias maneras centradas en una menor producción, afectando por ejemplo, como lo citan Maulu et al. (2021), los sistemas neuroendocrino y osmorregulador, alterando el rendimiento cardiorrespiratorio y el alcance aeróbico, así como las respuestas inmunes de varias especies económicamente importantes, como por ejemplo las tilapias. Además, es probable que se vean afectados el metabolismo y la fisiología, así como el comportamiento al consumo del alimento y el crecimiento de la mayoría de las especies de peces.

Teniendo en cuenta los posibles efectos de las altas temperaturas sobre la inmunidad de los teleosteos y los efectos de los cambios rápidos de temperatura por el cambio climático global, recién se está centrando la investigación en la inmunología de los peces con el fin de comprender la reducción de la inmunocompetencia de los vertebrados y potencialmente la propagación de enfermedades infecciosas (Scharsack & Franke, 2022). El sistema inmunológico innato es la primera línea de defensa, con una serie de moléculas evolutivas altamente conservadas para el reconocimiento, la opsonización y la eliminación de patógenos. La segunda línea de defensa es la inmunidad adaptativa (o adquirida), que genera respuestas de anticuerpos altamente específicas y una memoria inmunológica duradera; así, la eficiencia de las dos líneas de defensa está determinada por la temperatura (Flajnik, 1996; Grayfer et al., 2018; Barraza et al., 2021).

Si bien existe una gran cantidad de información sobre las enfermedades de los peces silvestres y los cultivados en jaulas en agua dulce cálida, las cuales se dan con más frecuencia que en estanques, las poblaciones cautivas están expuestas a los mismos patógenos de los peces silvestres y a un mayor número de huéspedes intermediarios (Shinn et al., 2023). Las enfermedades de los organismos acuáticos limitan seriamente la expansión y el desarrollo de la acuicultura sostenible mundial, sin una vigilancia epidemiológica adecuada y planificada; así, un patógeno no reportado previamente puede causar una infección nueva y desconocida que se propague rápidamente e incluso a través de fronteras nacionales, causando importantes pérdidas de producción (FAO, 2022).

La tilapia como el grupo de peces de mayor importancia comercial después de la carpa, segunda especie de peces de aleta producida en agua dulce y en climas cálidos, es uno de esos casos donde se ha exacerbado las pérdidas económicas por infecciones de patógenos emergentes y reemergentes, por la intensificación de su cultivo, a pesar de que fue percibida como resistente a las enfermedades. Según la FAO (2022), la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) se cultiva en más de 140 países, con una producción mundial para el 2020 de 5,58 millones de toneladas métricas (MMT). En Colombia la producción de tilapia fue para el 2023 de 114,744 toneladas, siendo este valor el 58% de la producción total del país (MDR & DANE, 2024).

Respecto a las enfermedades infecciosas a nivel mundial, se estima que las pérdidas relacionadas con enfermedades en el sector de la acuicultura superaron los 6 mil millones de dólares en el 2017; solo el cultivo de peces de aleta sufrió pérdidas anuales que oscilan entre 1,05 y 9,58 mil millones de dólares por año (Dong et al., 2023). Según los mismos autores, estas pérdidas millonarias son producto de graves enfermedades causadas por parásitos, bacterias y virus. Haenen et al. (2023) mencionan que comparar pérdidas económicas debido a enfermedades en el cultivo de tilapia y la de otras especies tiene un alto grado de complejidad, por las diferentes variables en la producción como especie, sistema de producción, país, costos, entre otros. Lo cierto es que el cambio climático, fundamentalmente en aumentos de temperatura, traerá muchas pérdidas económicas en

la acuicultura si no se prevé y se tiene un alto conocimiento de la interacción entre el huésped, patógeno y ambiente, como bien lo representa el círculo de Snieszko.

En este contexto, es importante resaltar que, de los siguientes patógenos que afectan la producción acuícola, como son virus, bacterias, hongos y parásitos, la infección por *S. agalactiae* en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) es de relevancia no solamente nacional, sino en el ámbito mundial.

1.3 Infecciones Bacterianas

Las bacterias son los patógenos infecciosos más graves que afectan a los peces producidos por la acuicultura; muy pocas veces actúan como patógenos primarios y se desarrollan como oportunistas en animales huéspedes gravemente lesionados, algunas acompañadas por variación de temperatura, deterioro de la calidad de agua, pero sobre todo las altas densidades de siembra en los sistemas de producción, entre otros.

Las principales infecciones bacterianas entre los peces de agua dulce cálidas son la estreptococosis, edwardsiellosis, francisellosis, aeromoniasis, flavobacteriosis y mycobacteriosis. Como parte del mecanismo patobiológico de algunos de estos patógenos bacterianos, liberan enzimas que facilitan su entrada/invasión en los tejidos del pez huésped (Woo & Subasinghe, 2023). Es importante resaltar que las tilapias son susceptibles a una amplia gama de infecciones bacterianas que prevalecen en la industria acuícola de cultivo, causando graves infecciones en cualquier etapa de la vida de los peces.

Entre las bacterias conocidas, *Flavobacterium columnare*, se caracteriza por ser filamentosa delgada y gramnegativa; fue descubierta en 1922 y ha sido reconocida como el agente causal de la enfermedad columnaris, una de las afecciones más antiguas que infecta a varias especies de peces de agua dulce. Ha sido documentada como la enfermedad del pedúnculo caudal, pudrición de aletas, enfermedad del algodón o necrosis de la mancha negra. Tiene una distribución mundial, provocando pérdidas económicas

notables (Dong et al., 2015). Afecta en cualquier etapa, sin embargo, se detecta con mayor frecuencia en peces pequeños (MacKinnon et al., 2023). Este microorganismo recientemente fue segregado en cuatro especies por las diferencias de virulencia y huésped, por lo que se propone que el aislado del grupo 4 recuperado en América del Sur (tipo cepa Costa Rica) y su asociación con tilapia sea reconocido como *Flavobacterium oreochromis* para aquellas bacterias que infectan particularmente a tilapia (LaFrenz et al., 2022).

Otro grupo de bacterias relevante son las aeromonas (*Aeromonas hydrophila*, *A. veronii*, *A. jandaei*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. schubertii* y *A. dhakensis*), las cuales comprenden bacilos o cocobacilos gramnegativos que causan la enfermedad por aeromonas móviles (MAS). Es considerada un patógeno condicional, porque invade al huésped y se multiplica rápidamente cuando se expone a cambios repentinos externos como el exceso de manipulación, aumento de temperatura, reducción de oxígeno y actividades que ocasionan estrés en el animal (MacKinnon et al., 2023). Estas bacterias pueden ser patógenas, no solo para peces, sino también para humanos, es decir causa enfermedades zoonóticas (AlYahya et al., 2018). Son bacterias mesófilas de vida con rango de crecimiento entre los 20° y 45°C, y se encuentran en lodos de fondos, arroyos, agua potable y residuales; inclusive, se asocian con el microbiota normal de los peces y se ha aislado tanto de peces sanos como enfermos (Lio-Po, Subasinghe, et al., 2023).

La aeromoniasis, conocida como septicemia hemorrágica, peste roja o enfermedad de la llaga roja, esta afecta el apetito de los peces, se vuelven letárgicos y nadan cerca de la superficie, ocasionando exoftalmia, abdomen distendido, erosión de aletas, hemorragia cutánea, ulceraciones y pérdida de escamas. Internamente el pez presenta ascitis, órganos inflamados, con acumulación de líquido y gas amarillento en el intestino (Dong et al., 2017).

La mycobacteriosis es causada por bacterias pertenecientes a la familia *Mycobacteriaceae*, género *Mycobacterium*, que incluye 188 especies reconocidas o

propuestas. Estos son bacilos aeróbicos, no formadores de esporas, Gram positivos y acidorresistentes. IPCC. (2023)

La transmisión horizontal por contacto directo y la ingestión de piensos infectados o a través de agua contaminada son las causas más probables de propagación de la enfermedad. Se ha informado de transmisión vertical en algunas especies de peces vivíparos (Whipps et al., 2020).

La enfermedad tiene un largo período de incubación y los peces infectados y subclínicos pueden ser propagadores de la enfermedad en un sitio de cultivo semanas antes de la detección. Los peces infectados pueden no presentar signos clínicos durante varios años después de la infección (Erkinharju et al., 2021).

La mycobacteriosis (tuberculosis de los peces) es una enfermedad crónica progresiva, con diversos signos externos, que incluyen emaciación, inflamación de la piel, exoftalmia, lesiones abiertas, ulceraciones y puede atacar a muchas especies de peces. Internamente, se desarrollan granulomas en varios órganos, particularmente el hígado, el riñón, el corazón y el bazo. Además, se puede observar pudrición de aletas y cola y pérdida de escamas. (Austin & Austin, 2007)

Se ha informado que cientos de especies de peces son susceptibles a diversas *Mycobacterium sp.*, lo que sugiere que prácticamente todas las especies de peces pueden infectarse.

Otra afectación relevante es la *Edwardsiellosis* (*E. tarda*, *E. piscicida*, *E. anguillarum* y *E. ictaluri*), la cual es muy bien conocida como un género que alberga bacterias patógenas graves que afectan la acuicultura mundial con varias especies de peces e incluso humanos. Entre los peces se incluye la tilapia, durante la producción de esta especie la infección por *Edwardsiellosis* genera pérdidas económicas en la producción de alimentos a través de la acuicultura, por lo que para el caso de *E. tarda* se constituye como un riesgo a la salud pública y animal (Cortés-Sánchez et al., 2019).

Se conoce además por ser una bacteria anaeróbica facultativa, gramnegativa, corta, con forma de bastón, móvil, pueden sobrevivir a una salinidad de 4%, pH de 4 a 10 y una temperatura de 14° a 45°, logrando también progresar como una bacteria epizoótica y zoonótica (Park et al., 2012). Los peces infectados muestran un comportamiento de natación anormal en forma de espiral, pérdida de pigmentación, granulomas en el bazo y el riñón anterior, exoftalmia, opacidad de los ojos, hinchazón de la parte abdominal, hemorragia petequiral en las aletas y la piel, hernia rectal, excesiva secreción de mucus, erosión de escamas y úlceras (Park et al., 2012; Soto et al., 2012; MacKinnon et al., 2023).

Otra enfermedad de importancia en peces es la *Francisellosis* (*F. orientalis*, *F. noatunensis*), causada por bacteria facultativa gramnegativa, en forma de cocos-bacilos; es una enfermedad importante que afecta al sector de la tilapia por *F. orientalis*, con reportes desde 1990. Puede lograr su transmisión tanto horizontal como vertical, infección crónica con alta morbilidad y mortalidad mayor al 90% en granjas de tilapia en todo el mundo, resultando brotes generalmente en temperaturas del agua entre 23° y 26°C, lo que resulta en una mortalidad del 50 al 60% en cultivos de tilapia (Nguyen et al., 2016).

Los peces clínicamente afectados presentan color cuerpo pálido, presencia de granulomas en branquias y órganos internos como bazo, riñón anterior, hígado, intestino y músculos; también se observan otros signos no específicos como palidez corporal, letargo y anemia (Austin & Austin, 2007; Nguyen et al., 2016; Soto et al., 2009).

La lactococosis en peces se ha asociado con *Lactococcus garvieae* y el recientemente descrito *L. petauri*. Sin embargo, la relevancia de estos patógenos de peces emergentes para la tilapia del Nilo aún requiere una comprensión profunda (Egger et al., 2023) Según el mismo autor, estas bacterias parecen causar signos clínicos similares en los peces y ambos patógenos bacterianos son responsables de importantes pérdidas económicas debido a la alta mortalidad de los peces, la reducción del crecimiento y los costos de tratamiento durante los brotes en las piscifactorías.

Los signos clínicos de la infección por *L. garvieae* en la tilapia del Nilo incluyen natación errática, disminución de la ingesta de alimentos, letargo, pigmentación oscura de la piel, exoftalmia, opacidad corneal, hemorragia intraocular y heridas corporales/úlceras cutáneas (Bwalya et al., 2020a, 2020b; Osman et al., 2017)

Las infecciones por *L. garvieae* en tilapia del Nilo se han diagnosticado con mayor frecuencia en los últimos años y, en consecuencia, este patógeno se ha vuelto más relevante (Egger et al., 2023). Sin embargo, la mayoría de los casos se notificaron antes de que se describiera *L. petauri*; por lo tanto, se debe evaluar más a fondo la relevancia de *L. petauri* como bacteria patógena para esta especie de pez.

Por último la estreptococosis, causada por bacterias del género *Streptococcus*, en particular *S. agalactiae* y *S. iniae*, es la enfermedad bacteriana más grave e importante de la tilapia cultivada en todo el mundo, cuyas infecciones resultan en pérdidas económicas significativas (A. Shinn et al., 2018). Por ejemplo, en 2012 China, se produjo un brote a gran escala de *Streptococcus sp.* que causó entre un 30% y 80% de mortalidad de tilapia, con una pérdida económica directa de aproximadamente entre 1.000 y 1.500 millones de dólares estadounidenses (Debnath et al., 2023). *Streptococcus sp.* son bacterias grampositivas, inmóviles y no formadoras de esporas, anaeróbicas facultativas y catalasa y oxidas negativas, en forma de cocos ovoides o esféricos forman pares o cadenas en medios líquidos y colonias de color blanco a blanquecino, ligeramente translúcidos en medios sólidos. *S. agalactiae* (GBS) se pueden dividir en diez serotipos (Ia, Ib, II, III – IX) según los polisacáridos capsulares. Se han identificado cinco serotipos representativos en animales acuáticos que son Ia, Ib, II, III y IX. La secuencia GBS tipo 283 (GBS ST823) es un tipo zoonótico reportado que está ampliamente distribuido en el sudeste asiático (Barkham et al., 2019).

Existe una relación significativa entre la densidad de población, la dosis infecciosa de *Streptococcus* en tilapia nilótica cultivada, agua de mala calidad y temperaturas del agua superiores a 28°C (Ndashe et al., 2023). Del mismo modo lo mencionan Zhao et al. (2023), que indican que las temperaturas altas son una de los principales factores de riesgo asociados al brote de enfermedad estreptocócica de la tilapia. Ejemplares de esta especie infectadas con *S. agalactiae* tuvieron una mayor mortalidad a temperaturas de 35°C;

posteriormente los efectos de la alta temperatura estarían altamente involucrados en procesos metabólicos, incluidos los de glucosa, lípidos y metabolismo de aminoácidos, indicando que el *S. agalactiae* tiene una vitalidad más fuerte y es probable que sea más infecciosa a altas temperaturas.

Se ha revelado que *S. agalactiae* se adhiere a la porción apical de los pliegues intestinales e invade a través de la ruta transepitelial, lo cual es un patrón importante para infectar a la tilapia (Vásquez-Machado et al., 2019). La colonización de superficies de la mucosa intestinal con microbiota normal tiene un efecto positivo en la regulación inmunológica de las funciones del intestino. Perturbar este microbiota puede afectar la resistencia inmune intestinal y contribuyen a la aparición de diversas enfermedades en los peces (Pérez et al., 2010).

Los signos clínicos de la infección por *S. agalactiae* en peces, es una combinación de anomalías del comportamiento con cambios en los órganos externos e internos de los peces infectados; las lesiones macroscópicas e histopatológicas dependen de la especie del huésped, la edad del pez y el estadio de la infección (FAO, 2021). También indica que los peces enfermos muestran signos de letargo, melanosis, anorexia, ataxia (natación errática), exoftalmia unilateral o bilateral, opacidad corneal y hemorragias periorbitales o cutáneas, además de distensión abdominal como consecuencia de ascitis.

Mientras que los signos en la tilapia, por la infección de *S. iniae* produce panoftalmitis y meningitis con sólo cambios patológicos menores en otros órganos (Eldar et al., 1995). Otros signos comunes son el oscurecimiento del cuerpo, la natación errática, la hemorragia en el intestino, el hígado, el bazo y los riñones y la distensión abdominal. También se ha informado necrosis en el corazón, branquias, piel, bazo y ojo (Woo, 2002)

Según lo manifiesta (Taukhid et al., 2023), desde el punto de vista de laboratorio, la infección por *S. agalactiae* en tilapia se considera aguda, mientras que la infección por *S. iniae* es más crónica. Esto indicó que *S. agalactiae* tiene más potencial como causa más grave de estreptococosis en la acuicultura de tilapia.

La transmisión experimental se produce por inmersión, inyección o por vía oral o por convivencia y se ve reforzada por lesiones en la piel o por un entorno estresante. La infección a través de las fosas nasales es una ruta potencial de infección en la tilapia (Evans et al., 2000). De igual manera Iregui et al. (2016) sugieren que el principal sitio de entrada del *S. agalactiae* en tilapia es el epitelio gastrointestinal; el mucus parece desempeñar un papel defensivo importante y las condiciones ambientales pueden ser un factor predisponente importante para la infección. Sumado a esto, las fuentes de transmisión para la infección son el lodo, los alimentos contaminados o los peces portadores; también se ha demostrado que la estreptococosis se transmite de padres a hijos (Woo & Subasinghe, 2023).

Hasta hace un tiempo se desconocían los primeros pasos de la interacción entre los peces y las bacterias, patogénesis, aunque se conocen numerosos genes que codifican adhesinas de GBS de aislamientos humanos y de otros mamíferos terrestres, no se habían encontrado en cepas para peces, que se unen a secuencias de oligosacáridos específicas en las superficies de células animales (Lindahl et al., 2005; Dramsi et al., 2006).

Recientemente se demostró la detección de azúcares en la superficie del estreptococo tipo B (GBS), como en su cápsula y la pared celular; sus correspondientes receptores en el intestino de los peces podrían brindar información valiosa sobre el papel que estos carbohidratos podrían tener en la adhesión durante la patogénesis. Estos carbohidratos patógenos y los glicoconjugados o lectinas del huésped tienen una alta especificidad y una mayor afinidad de unión (Imberty & Varrot, 2008; Iregui et al., 2016).

Iregui & Barato (2017), mediante la patente WO 2017/109587 A1, lograron describir glicoinhibidores de la adherencia de *S. agalactiae* a monosacáridos específicos presentes en glicoconjugados naturales como glicoproteínas y glicolípidos en la superficie del epitelio intestinal de tilapia, además de describir azúcares específicos y una lectina que bloquean la unión de *S. agalactiae* al epitelio intestinal de la tilapia cultivada en un modelo en vivo.

1.5 Opciones de control y prevención

1.5.1. Vacunas

La vacunación es una de las herramientas más importantes para el manejo de enfermedades infecciosas en la piscicultura, debido a la capacidad de la vacuna para estimular la inmunidad protectora y producir una respuesta de memoria en los peces vacunados (Wang et al., 2022). En este sentido, para superar los brotes patógenos en la piscicultura, el método más eficaz para controlar las enfermedades infecciosas en lugar de antibióticos y terapias químicas es la vacunación. Hasta ahora las vacunas para peces se pueden desarrollar utilizando varios enfoques, incluidas tecnologías convencionales y alternativas. En el caso de las vacunas convencionales para peces, generalmente se han desarrollado basándose en la vacuna viva atenuada y la vacuna de células enteras inactivadas que aportan notablemente una alta eficacia para la protección de enfermedades (Pumchan et al., 2022).

Aunque existen varias vías para administrar las vacunas formuladas en peces, incluidos los métodos de inmersión, oral y de inyección, la mayoría de las vacunas desarrolladas se administran mediante el método de inyección (Bedekar & Kole, 2022). El mismo autor expresa que la ruta de inyección proporciona una potencia significativa, también genera algunos inconvenientes y limitaciones, por ejemplo, estimula el estrés de los peces, crea dificultades en el manejo de peces pequeños y requiere mano de obra para los peces de cultivo a gran escala.

Las vacunas por inmersión son apreciadas para peces pequeños a gran escala. Normalmente se realiza de dos maneras, por inmersión de peces en agua que contiene antígenos de la vacuna, siendo rápida porque se sumergen en agua con dosis relativamente alta de antígeno y por inmersión de los peces que reciben un antígeno de vacuna más diluida durante un periodo más largo (Bøgwald & Dalmo, 2019).

Según Munang'andu et al. (2015) la eficacia de la mayoría de las vacunas de inmersión sigue siendo de baja a moderada, debido a diversos factores como la dosis del antígeno, el costo elevado, la duración de la inmersión, la temperatura, la integridad de la mucosa, el tamaño del pez, la osmolaridad, entre otros. Una vacuna ideal para peces es aquella que es segura para los animales y el medio ambiente, económica para la producción a gran escala, fácil de administrar, capaz de inducir una fuerte inmunidad durante los períodos de mayor susceptibilidad y que demuestra efectos secundarios mínimos Ma et al. (2019).

1.5.2. Probióticos y prebióticos

Suministrar a los peces probióticos es una forma eficaz y atractiva de modular la composición microbiana intestinal y de mantener y promover la salud del huésped. Estos son complementos microbianos vivos que tienen un efecto beneficioso sobre los principales mecanismos de acción que ofrecen tales como mejorar la función de la barrera epitelial, adhesión a las células intestinales e inhibir patógenos al ocupar los sitios de adhesión, producción de sustancias antibacterianas y la activación de la inmunidad humoral celular (Xia et al., 2020). Específicamente, se han descrito los beneficios de alimentar con probióticos para mejorar las respuestas inmunes innatas de la tilapia, pues estas bacterias mejoran la supervivencia de los peces al modular las funciones inmunes del huésped (Telli et al., 2014).

Se ha demostrado que bacterias del género *Bacillus*, *Lactobacillus* y *Pseudomonas* mejoran el estado de salud y la resistencia a las enfermedades de la tilapia nilótica, facilitan la función de células fagocitas y aumentan su actividad bactericida, estimula las células asesinas naturales y respuestas de anticuerpos de la tilapia (Iwashita et al., 2015). Al suministrar estos probióticos en el alimento a la tilapia, se logró tener una alta resistencia a la infección por *S. agalactiae*. (Wang et al., 2023).

Los prebióticos son carbohidratos complejos no digeribles, que proporcionan beneficios para la salud estimulando el crecimiento y la actividad de las bacterias dentro del intestino

del pez, siendo metabolizados por las bacterias intestinales y logran estimular las respuestas innatas de las tilapias. (Cavalcante et al., 2020). Mencionan además, que los probióticos y los prebióticos logran crear una simbiótica que influye en la actividad y crecimiento del probiótico. Los β -glucanos son los inmunoestimulantes más utilizados en la acuicultura, especialmente los β -glucanos ((β -1,3 y 1,6 glucanos) derivados de la pared celular de la levadura *S. cerevisiae*, los cuales aumentan la resistencia de los peces a las enfermedades de inmunosupresión (Thompson, 2017).

De hecho, Koch et al. (2021) encontraron una mejora de hasta un 66 % en la supervivencia de tilapia del Nilo alimentadas con dietas suplementadas con β -glucanos y expuestas a *Streptococcus agalactiae* y *Aeromonas sobria*.

1.5.3. Fitobióticos

El uso recurrente de químicos, antibióticos, quimioterapéuticos y desinfectantes para tratar enfermedades en los peces compromete de manera negativa la inmunidad animal, lo que puede provocar contaminación ambiental, residualidad en los productos acuícolas de consumo humano y provoca la aparición de cepas de bacterias resistentes a los antibióticos, volviéndose cada vez más virulentas y citotóxicas (Delgado et al., 2024).

La fitoterapia es la atención sanitaria con plantas más antigua de la humanidad para el tratamiento de humanos y animales; se ha logrado incluirla como complemento de los alimentos balanceados para peces que han beneficiado para curar enfermedades, así como a los seres humanos (Raman, 2017). Los pigmentos, flavonoides, aceites esenciales, alcaloides, taninos, esteroides, terpenoides, fenólicos y lectinas son los principales componentes bioactivos de las plantas, y son conocidos por su capacidad para mejorar el crecimiento de los peces, la inmunidad y ayudar en la resistencia a las enfermedades (Zhu, 2020).

Existen cantidad de estudios fitoquímicos que han demostrado una gran variedad de fitoconstituyentes, que al ser suplementados en las dietas de los peces como inmunoestimulantes de tilapias, podrían ser un enfoque prometedor para reducir el riesgo de brotes de enfermedades y reducir el uso de productos químicos durante el ciclo de producción en cultivo. Tal es el caso de productos como la canela (*Cinnamomun zeylanicum*), cúrcuma (*Cúrcuma longa*) y el ajo (*Allium sativum*) (Wang et al., 2023).

Algunas características estudiadas del ajo (*Allium sativum*) son poseer propiedades antimicrobianas, compuestos sulfurosos como la alicina, que tiene propiedades antimicrobianas, estimula el sistema inmunológico y tiene efectos relajantes, lo que contribuye a reducir el impacto negativo del estrés en la salud y contribuye al crecimiento de los organismos acuáticos, mejora del apetito, la digestión y control de parásitos (Rodríguez D., 2023) (D. L. C. Delgado et al., 2023)

De igual manera hay diversos estudios fitoquímicos que han demostrado una variedad de fitoconstituyentes en el género *Erythrina*. Hussain et al. (2016) mencionan que a 15 especies se le han analizado 155 moléculas de metabolitos secundarios, muchas de los cuales tienen propiedades medicinales. Estudios fitoquímicos de la *Erythrina crystagalli* reportaron aislamiento de pterocarpanos, alcaloides y flavonoides; de sus hojas aislaron seis triterpenos conocidos, un fitoesteroide y glúcido flavonoide (Miño et al., 2002).

Erythrina edulis es una leguminosa arbórea, cuyas características nutricionales de sus hoja y semillas hacen que se convierta en una alternativa de uso fitobiótico (Hernández et al., 2010). Pérez G. et al. (1979) mencionaron en su momento que esta leguminosa ha sido poco estudiada, encontrando que solo se ha efectuado el análisis de composición porcentual y la determinación del contenido de alcaloides de las semillas. Años más tarde el mismo autor aisló una lectina específica de galactosa de las semillas de la *Erythrina edulis* y mencionó la capacidad de la lectina a unirse con galactosa (Pérez G., 1984).

1.5.4. Glicoinhibidores

Según lo reportado por Iregui & Barato (2017) en su patente, se pueden utilizar azúcares específicos y una lectina, que bloquean la adherencia del GBS al epitelio intestinal de la tilapia cultivada, logrando prevenir la adhesión e invasión bacteriana en los peces. El concepto se desarrolló en Colombia, donde se ha informado que en peces los glicoinhibidores de la adherencia de *Streptococcus agalactiae* del grupo B de antígenos del sistema de Lancefield (GBS) son una medida eficaz para evitar la infección por GBS en tilapia, aunque aún deben realizarse estudios similares (FAO, 2021). Así, la lectina presente en las semillas de la *Erythrina edulis*, presenta afinidad a los azúcares de la superficie de la bacteria, convirtiéndose en una glicoproteína inhibidora de la adherencia de *S. agalactiae* al epitelio intestinal de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

1.6 Referencias

- AlYahya, S. A., Ameen, F., Al-Niaem, K. S., Al-Sa'adi, B. A., Hadi, S., & Mostafa, A. A. (2018). Histopathological studies of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in blue tilapia, (*Oreochromis aureus*) Saudi Journal of Biological Sciences, 25(1), 182-185. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.10.019>
- Abdel-Latif, Mahmoud A. O. Dawood, Simon Menanteau-Ledouble, & Mansour El-Matbouli. (2020). The nature and consequences of co-infections in tilapia: A review. *Journal of Fish Diseases*. <https://sci-hub.ru/10.1111/jfd.13164>
- Austin, B., & Austin, D. A. (2007). Bacterial fish pathogens: Disease of farmed and wild fish (4th ed). Springer ; Published in association with Praxis Pub.
- Barato, P., Martins, E. R., Melo-Cristino, J., Iregui, C. A., & Ramirez, M. (2015). Persistence of a single clone of *Streptococcus agalactiae* causing disease in tilapia (*Oreochromis sp.*) cultured in Colombia over 8 years. *Journal of Fish Diseases*, 38(12), 1083-1087. <https://doi.org/10.1111/jfd.12337>
- Barato, P. (2023). Identificado origen del problema sanitario en Betania. *Acuicultores*, 1(9), 8-13. https://fedeacua.org/files/acuicultores_9_compressed.pdf
- Barkham, T., Zadoks, R. N., Azmai, M. N. A., & Baker, S. (2019). One hypervirulent clone, sequence type 283, accounts for a large proportion of invasive *Streptococcus agalactiae* isolated from humans and diseased tilapia in Southeast Asia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(6), e0007421. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007421>
- Barraza, F., Montero, R., Wong-Benito, V., Valenzuela, H., Godoy-Guzmán, C., Guzmán, F., Köllner, B., Wang, T., Secombes, C. J., Maisey, K., & Imarai, M. (2021). Revisiting the Teleost Thymus: Current Knowledge and Future Perspectives. *Biology*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/biology10010008>
- Bedekar, M., & Kole, S. (2022). Fundamentals of Fish Vaccination. En *Methods in*

molecular biology (Clifton, N.J.) (Vol. 2411, pp. 147-173).
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1888-2_9

Bøgdal, J., & Dalmo, R. A. (2019). Review on Immersion Vaccines for Fish: An Update 2019. *Microorganisms*, 7(12), 627. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120627>

Boyd, C. E. (2020). *Water Quality: An Introduction*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-23335-8>

Cavalcante, R. B., Telli, G. S., Tachibana, L., Dias, D. D. C., Oshiro, E., Natori, M. M., Silva, W. F. D., & Ranzani-Paiva, M. J. (2020). Probiotics, Prebiotics and Synbiotics for Nile tilapia: Growth performance and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture Reports*, 17, 100343. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100343>

Chen, S. L. (2019). One hypervirulent clone, sequence type 283, accounts for a large proportion of invasive *Streptococcus agalactiae* isolated from humans and diseased tilapia in Southeast Asia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(6), e0007421. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007421>

Contreras, H., Vallejo, A., Mattar, S., Ruiz, L., Guzmán, C., & Calderón, A. (2021). First report of tilapia lake virus emergence in fish farms in the department of Córdoba, Colombia. *Veterinary World*, 14(4), 865-872. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.865-872>

Cortés-Sánchez, A. D. J., Díaz-Ramírez, M., Cruz-Monterrosa, R. G., Rayas-Amor, A., Miranda-De La Lama, G., García-Garibay, M., & Salgado-Cruz, M. P. (2019). *Edwardsiella tarda* Ewing y McWhorter 1965: Alimentos y pescado. *Agro Productividad*, 12(11). <https://doi.org/10.32854/agrop.vi0.1501>

Debnath, S. C., McMurtrie, J., Temperton, B., Delamare-Deboutteville, J., Mohan, C. V., & Tyler, C. R. (2023). Tilapia aquaculture, emerging diseases, and the roles of the skin microbiomes in health and disease. *Aquaculture International*, 31(5), 2945-2976. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01117-4>

-
- Delgado, J. G., Ruiz, W. K., Fernández, N. G. N., Domínguez-Odio, A., & Cala-Delgado, D. L. (2024). Antimicrobianos en la salmonicultura global: Resistencia, efecto en la salud humana y medio ambiente, y perspectivas futuras. *Scientia Agropecuaria*, *15*(1), Article 1. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2024.007>
- Delgado, D. L. C., Caceres, L. L. C., Gómez, S. A. C., & Odio, A. D. (2023). Effect of dietary garlic (*Allium sativum*) on the zootechnical performance and health indicators of aquatic animals: A mini-review. *Veterinary World*, 965-976. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.965-976>
- Dong, H. T., Chaijarasphong, T., Barnes, A. C., Delamare-Deboutteville, J., Lee, P. A., Senapin, S., Mohan, C. V., Tang, K. F. J., McGladdery, S. E., & Bondad-Reantaso, M. G. (2023). From the basics to emerging diagnostic technologies: What is on the horizon for tilapia disease diagnostics? *Reviews in Aquaculture*, *15*(S1), 186-212. <https://doi.org/10.1111/raq.12734>
- Dong, H. T., LaFrentz, B., Pirarat, N., & Rodkhum, C. (2015). Phenotypic characterization and genetic diversity of *Flavobacterium columnare* isolated from red tilapia, *Oreochromis* sp., in Thailand. *Journal of Fish Diseases*, *38*(10), 901-913. <https://doi.org/10.1111/jfd.12304>
- Dong, H. T., Sangpo, P., Dien, L. T., Mai, T. T., Linh, N. V., Del-Pozo, J., Salin, K. R., & Senapin, S. (2022). Usefulness of the pancreas as a prime target for histopathological diagnosis of Tilapia parvovirus (TiPV) infection in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Fish Diseases*, *45*(9), 1323-1331. <https://doi.org/10.1111/jfd.13663>
- Dong, H. T., Techatanakitarnan, C., Jindakittikul, P., Thaiprayoon, A., Taengphu, S., Charoensapsri, W., Khunrae, P., Rattanarojpong, T., & Senapin, S. (2017). *Aeromonas jandaei* and *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*) (L.). *Journal of Fish Diseases*, *40* (10), 1395-1403. <https://doi.org/10.1111/jfd.12617>

- Dramsi, S., Caliot, E., Bonne, I., Guadagnini, S., Prévost, M.-C., Kojadinovic, M., Lalioui, L., Poyart, C., & Trieu-Cuot, P. (2006). Assembly and role of pili in group B streptococci. *Molecular Microbiology*, 60(6), 1401-1413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05190.x>
- Evans, J. J., Shoemaker, C. A., & Klesius, P. H. (2000). Experimental *Streptococcus iniae* infection of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) by nares inoculation. *Aquaculture*, 189(3-4), 197-210. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00376-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00376-8)
- Egger, R., Camara, J., Benites, S., & Oliveira, F. (2023). Emerging fish pathogens *Lactococcus petauri* and *L. garvieae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farmed in Brazil. *Aquaculture*, 565(739093). <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739093>
- Eyngor, M., Zamostiano, R., Kembou Tsofack, J. E., Berkowitz, A., Bercovier, H., Tinman, S., Lev, M., Hurvitz, A., Galeotti, M., Bacharach, E., & Eldar, A. (2014). Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(12), 4137-4146. <https://doi.org/10.1128/JCM.00827-14>
- FAO. (2021). *Risk profile—Group B Streptococcus (GBS) – Streptococcus agalactiae sequence type (ST) 283 in freshwater fish*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb5067en>
- FAO, 2022. (2022). *FAO. 2022. El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- Ferguson, H. W., Kabuusu, R., Beltran, S., Reyes, E., Lince, J. A., & Del Pozo, J. (2014). Syncytial hepatitis of farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): A case report. *Journal of Fish Diseases*, 37(6), 583-589. <https://doi.org/10.1111/jfd.12142>
- Flajnik, M. F. (1996). The immune system of ectothermic vertebrates. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 54(1), 145-150. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(96\)05685-1](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(96)05685-1)

-
- Gonzalez, X. (2018). *Aquavac Strep Sa, la primera vacuna para tilapia que msd salud animal trajo al país*. <https://www.agronegocios.co/ganaderia/aquavac-strep-sa-la-primer-vacuna-para-tilapia-que-msd-salud-animal-trajo-al-pais-2753075>
- Grayfer, L., Kerimoglu, B., Yaparla, A., Hodgkinson, J. W., Xie, J., & Belosevic, M. (2018). Mechanisms of Fish Macrophage Antimicrobial Immunity. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01105>
- Haenen, O. L. M., Dong, H. T., Hoai, T. D., Crumlish, M., Karunasagar, I., Barkham, T., Chen, S. L., Zadoks, R., Kiermeier, A., Wang, B., Gamarro, E. G., Takeuchi, M., Azmai, M. N. A., Fouz, B., Pakingking, R., Wei, Z. W., & Bondad-Reantaso, M. G. (2023). Bacterial diseases of tilapia, their zoonotic potential and risk of antimicrobial resistance. *Reviews in Aquaculture*, 15(S1), 154-185. <https://doi.org/10.1111/raq.12743>
- Hernández, J., Casstillo, M., Garay, V., Mora, A., Caamaño, J., & Urbina, A. (2010). Efecto de la harina de chachafruto (*Erythrina edulis triana ex micheli*) como suplemento en la alimentación de truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). 2010, 18, 13-15.
- Howard, J. (2019). *Fish Biology and Fisheries*. Scientific e-Resources.
- Hussain, M. M., Tuhin, M. T. H., Akter, F., & Rashid, M. A. (2016). Constituents of *Erythrina* - a Potential Source of Secondary Metabolites: A Review. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 19(2), 237-253. <https://doi.org/10.3329/bpj.v19i2.29287>
- Imberty, A., & Varrot, A. (2008). Microbial recognition of human cell surface glycoconjugates. *Current Opinion in Structural Biology*, 18(5), 567-576. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2008.08.001>
- IPCC. (2023). *Climate Change 2021 – The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (1.^a ed.). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009157896>
- Iregui, C. A., & Barato, P. A. (2017). «*Glycoinhibitors of Adherence*» of *Streptococcus in*

Fish.

<https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?jsessionid=6D79EDF3D1E8E4E41116FEA96C5C1997.wapp2nB?docId=WO2017109587&recNum=73&office=&queryString=%28GBS%29&prevFilter=&sortOption=Pub+Date+Desc&maxRec=9612>

- Iregui, C. A., Comas, J., Vásquez, G. M., & Verján, N. (2016). Experimental early pathogenesis of *Streptococcus agalactiae* infection in red tilapia (*Oreochromis sp.*). *Journal of Fish Diseases*, 39(2), 205-215. <https://doi.org/10.1111/jfd.12347>
- Iwashita, M. K. P., Nakandakare, I. B., Terhune, J. S., Wood, T., & Ranzani-Paiva, M. J. T. (2015). Dietary supplementation with *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* enhance immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* infection in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 43(1), 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.12.008>
- Klesius, P. H., Shoemaker, C., & Evans, J. J. (2008). Streptococcosis: A worldwide fish health problem. *Streptococcosis: A Worldwide Fish Health Problem*, 1, 83-107. <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=233226>
- Liamnimitr, P., Thammatorn, W., U-thoornporn, S., Tattiyapong, P., & Surachetpong, W. (2018). Non-lethal sampling for Tilapia Lake Virus detection by RT-qPCR and cell culture. *Aquaculture*, 486, 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.015>
- Lindahl, G., Stålhammar-Carlemalm, M., & Areschoug, T. (2005). Surface Proteins of *Streptococcus agalactiae* and Related Proteins in Other Bacterial Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(1), 102-127. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.1.102-127.2005>
- Lio-Po, G., Subasinghe, R. P., & Tien, N. (Eds.). (2023). *Climate Change on Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture* (3.^a ed.). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781800621640.0000>
- Liu, W., Zhang, Y., Ma, J., Jiang, N., Fan, Y., Zhou, Y., Cain, K., Yi, M., Jia, K., Wen, H.,

-
- Liu, W., Guan, W., & Zeng, L. (2020). Determination of a novel parvovirus pathogen associated with massive mortality in adult tilapia. *PLOS Pathogens*, *16*(9), e1008765. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008765>
- Ma, J., Bruce, T. J., Jones, E. M., & Caín, K. D. (2019). A Review of Fish Vaccine Development Strategies: Conventional Methods and Modern Biotechnological Approaches. *Microorganisms*, *7*(11), 569. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110569>
- Mackinnon, B., Debnath, P. P., Bondad-Reantaso, M. G., Fridman, S., Bin, H., & Nekouei, O. (2023). Improving tilapia biosecurity through a value chain approach. *Reviews in Aquaculture*, *15*(S1), 57-91. <https://doi.org/10.1111/raq.12776>
- Martos-Sitcha, J. A., Mancera, J. M., Prunet, P., & Magnoni, L. J. (2020). Editorial: Welfare and Stressors in Fish: Challenges Facing Aquaculture. *Frontiers in Physiology*, *11*, 162. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00162>
- Maulu, S., Hasimuna, O. J., Haambiya, L. H., Monde, C., Musuka, C. G., Makorwa, T. H., Munganga, B. P., Phiri, K. J., & Nsekanabo, J. D. (2021). Climate Change Effects on Aquaculture Production: Sustainability Implications, Mitigation, and Adaptations. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *5*, 609097. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.609097>
- MDR, & DANE. (2023). *Bullets Acuicultura Cuarto Trimestre 2023*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Miño, J., Gorzalczany, S., Moscatelli, V., Ferraro, G., Acevedo, C., & Hnatyszyn, O. (2002). Actividad Antinociceptiva y Antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. ("Ceibo"). *acta farmacéutica bonaerense*, *21*.
- Munang'andu, H. M., Mutoloki, S., & Evensen, Ø. (2015). An Overview of Challenges Limiting the Design of Protective Mucosal Vaccines for Finfish. *Frontiers in Immunology*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00542>
- Ndashe, K., Hang'ombe, B. M., Changula, K., Yabe, J., Samutela, M. T., Songe, M. M.,

- Kefi, A. S., Njobvu Chilufya, L., & Sukkel, M. (2023). An Assessment of the Risk Factors Associated with Disease Outbreaks across Tilapia Farms in Central and Southern Zambia. *Fishes*, 8(1), 49. <https://doi.org/10.3390/fishes8010049>
- Nguyen, V. V., Dong, H. T., Senapin, S., Pirarat, N., & Rodkhum, C. (2016). *Francisella noatunensis* subsp. *Orientalis*, an emerging bacterial pathogen affecting cultured red tilapia (*Oreochromis sp.*) in Thailand. *Aquaculture Research*, 47(11), 3697-3702. <https://doi.org/10.1111/are.12802>
- Páez, D. J., Powers, R. L., Jia, P., Ballesteros, N., Kurath, G., Naish, K. A., & Purcell, M. K. (2021). Temperature Variation and Host Immunity Regulate Viral Persistence in a Salmonid Host. *Pathogens*, 10(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/pathogens10070855>
- Park, S. B., Aoki, T., & Jung, T. S. (2012). Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research*, 43(1), 67. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-67>
- Pathovet. (2023). *Boletim Sanitário da Tilápia Edição 01*.
- Pérez G. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina Edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229-1232. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80431-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80431-8)
- Pérez G., Martínez, C., & Diaz, E. (1979). Evaluación de la calidad de la proteína de la *Erythrina edulis* (BALU). 1979, 1.
- Pérez, T., Balcázar, J. L., Ruiz-Zarzuela, I., Halaihel, N., Vendrell, D., De Blas, I., & Múzquiz, J. L. (2010). Host–microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem. *Mucosal Immunology*, 3(4), 355-360. <https://doi.org/10.1038/mi.2010.12>
- Phuoc, N. N., Linh, N. T. H., Crestani, C., & Zadoks, R. N. (2021). Effect of strain and environmental conditions on the virulence of *Streptococcus agalactiae* (Group B

-
- Streptococcus; GBS) in red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*, 534, 736256.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736256>
- Pumchan, A., Sae-Ueng, U., Prasittichai, C., Sirisuay, S., Areechon, N., & Unajak, S. (2022). A Novel Efficient Piscine Oral Nano-Vaccine Delivery System: Modified Halloysite Nanotubes (HNTs) Preventing Streptococcosis Disease in Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Vaccines*, 10(8), Article 8.
<https://doi.org/10.3390/vaccines10081180>
- Raman, R. P. (2017). Applicability, Feasibility and Efficacy of Phytotherapy in Aquatic Animal Health Management. *American Journal of Plant Sciences*, 08(02), 257-287.
<https://doi.org/10.4236/ajps.2017.82019>
- Rodriguez D. (2023). *Portafolio Línea Acuicultura con Inclusión de Ajo (Allium sativum)*.
- Scharsack, J. P., & Franke, F. (2022). Temperature effects on teleost immunity in the light of climate change. *Journal of Fish Biology*, 101(4), 780-796.
<https://doi.org/10.1111/jfb.15163>
- Shinn, A. P., Avenant-Oldewage, A., Bondad-Reantaso, M. G., Cruz-Laufer, A. J., García-Vásquez, A., Hernández-Orts, J. S., Kuchta, R., Longshaw, M., Metselaar, M., Pariselle, A., Pérez-Ponce de León, G., Pradhan, P. K., Rubio-Godoy, M., Sood, N., Vanhove, M. P. M., & Deveney, M. R. (2023). A global review of problematic and pathogenic parasites of farmed tilapia. *Reviews in Aquaculture*, 15(S1), 92-153.
<https://doi.org/10.1111/raq.12742>
- Shinn, A., Pratoomyot, J., Metselaar, M., & Gomes, G. (2018). *Diseases in aquaculture—Counting the costs of the top 100*.
- Soto, E., Griffin, M., Arauz, M., Riofrio, A., Martinez, A., & Cabrejos, M. E. (2012). *Edwardsiella ictaluri* as the Causative Agent of Mortality in Cultured Nile Tilapia. *Journal of Aquatic Animal Health*, 24(2), 81-90.
<https://doi.org/10.1080/08997659.2012.675931>
- Soto, E., Hawke, J. P., Fernández, D., & A Morales, J. (2009). *Francisella* sp., an emerging

- pathogen of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in Costa Rica. *Journal of Fish Diseases*, 32(8), 713-722. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01070.x>
- Surachetpong, W., Roy, S. R. K., & Nicholson, P. (2020). Tilapia lake virus: The story so far. *Journal of Fish Diseases*, 43(10), 1115-1132. <https://doi.org/10.1111/jfd.13237>
- Tacon, A. G. (2023). *Sustainable Aquaculture Feeds*. LACQUA23, Panamá.
- Telli, G. S., Ranzani-Paiva, M. J. T., Días, D. D. C., Sussel, F. R., Ishikawa, C. M., & Tachibana, L. (2014). Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish & Shellfish Immunology*, 39(2), 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.025>
- Technavio. (2023). *Tamaño del mercado de acuicultura, participación, crecimiento, tendencias, pronóstico de análisis de la industria 2027*. <https://www.technavio.com/report/aquaculture-market-industry-analysis>
- Thompson, K. D. (2017). Immunology. En *Fish Diseases* (pp. 1-17). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804564-0.00001-6>
- Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., & Pilarski, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- Vásquez-Machado, G., Barato-Gómez, P., & Iregui-Castro, C. (2019). Morphological characterization of the adherence and invasion of *Streptococcus agalactiae* to the intestinal mucosa of tilapia (*Oreochromis sp.*): An in vitro model. *Journal of Fish Diseases*, 42(9), 1223-1231. <https://doi.org/10.1111/jfd.13042>
- Wang, B., Thompson, K. D., Wangkahart, E., Yamkasem, J., Bondad-Reantaso, M. G., Tattiyapong, P., Jian, J., & Surachetpong, W. (2022). Strategies to enhance tilapia immunity to improve their health in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 15(S1), 41-56. <https://doi.org/10.1111/raq.12731>

-
- Wang, B., Thompson, K. D., Wangkahart, E., Yamkasem, J., Bondad-Reantaso, M. G., Tattiyapong, P., Jian, J., & Surachetpong, W. (2023). Strategies to enhance tilapia immunity to improve their health in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 15(S1), 41-56. <https://doi.org/10.1111/raq.12731>
- White, C. (2018). *Technavio report: Global aquaculture market's growth accelerating through 2022*. <https://www.seafoodsource.com/features/technavio-report-global-aquaculture-markets-growth-accelerating-through-2022>
- Woo, P. T. K., & Subasinghe, R. P. (Eds.). (2023). *Climate Change on Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture* (3.^a ed.). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781800621640.0000>
- Woo, P. T. K. (Ed.). (2002). *Diseases and disorders of finfish in cage culture*. CABI Publ.
- Xia, Y., Wang, M., Gao, F., Lu, M., & Chen, G. (2020). Effects of dietary probiotic supplementation on the growth, gut health and disease resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Nutrition*, 6(1), 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.07.002>
- Yamkasem, J., Tattiyapong, P., Kamlangdee, A., & Surachetpong, W. (2019). Evidence of potential vertical transmission of tilapia lake virus. *Journal of Fish Diseases*, 42(9), 1293-1300. <https://doi.org/10.1111/jfd.13050>
- Zhao, Z., Zou, Q., Han, S., Shi, J., Yan, H., Hu, D., & Yi, Y. (2023). Omics analysis revealed the possible mechanism of streptococcus disease outbreak in tilapia under high temperature. *Fish & Shellfish Immunology*, 134, 108639. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108639>
- Zhu, F. (2020). A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. *Aquaculture*, 526, 735422. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735422>

2. Capítulo 2. Caracterización taxonómica, bromatológica y funcional de *Erythrina edulis*

2.1 Resumen

El género *Erythrina* hace parte de la subfamilia *Papilionacea*, que son plantas con flores de la familia de las leguminosas (*Fabaceae*), con más de 200 especies, que crecen en zonas tropicales y templadas del mundo. Se les atribuye bioactividades médicas, como de *E. crista-galli*, de la cual se ha reportado su capacidad inhibidora de adherencia *in vitro* de *Streptococcus agalactiae* al intestino de tilapia. *Erythrina crista-galli* es abundante en Argentina, pero no se encuentra en Colombia y su uso como fuente natural de lectinas es deseable para la formulación de dietas funcionales que reduzcan la presentación de estreptococosis en tilapias. Tomando en consideración esta situación y la abundancia de *E. edulis* en la región sur del departamento del Huila, Colombia, el objetivo de este estudio fue identificar botánicamente la fuente vegetal, procesar sus semillas y caracterización de lectinas en harina de semillas de *E. edulis*, pre y post extrusión, para la formulación de dietas prácticas para alimentación de tilapias. La harina de semillas de *E. edulis* posee una composición adecuada para ser incluida en dietas prácticas para tilapias y se identificaron lectinas funcionales con alta afinidad por galactosa y actividad aglutinadora postextrusión, esto favorece su inclusión en dietas comerciales de los peces.

Palabras clave: Chachafruto, estreptococosis, lectina, *S. agalactiae*, tilapia.

2.2 Introducción

Existe evidencia de una gran variedad de bioensayos con diferentes tipos de plantas, de las cuales se incluyen hojas, flores, tallos y frutos, en los cuales se han aislado y evaluado la bioactividad de sus metabolitos secundarios en manejo de enfermedades en animales tanto terrestres como acuáticos, que dan certeza de la importancia que juegan hoy en día estos fitoquímicos en la salud de los animales y en humanos, sin dejar atrás la detección de efectos agudos o letales de estos metabolitos (Mateos et al., 2000).

Dentro de las plantas objeto de estudio de sus actividades biomédicas se encuentra el género *Erythrina* (ερυθρός (erythros) = "rojo"), que hace parte de la subfamilia *Papilionacea*, de las plantas con flores de la familia de las leguminosas (*Fabaceae*), que tiene más de 200 especies y contribuye en gran medida a la medicina popular e incluye una gran variedad morfológica y diversidad ecológica. Este género se encuentra en las zonas tropicales así como en zonas templadas del mundo (Neill, 1988).

Según Fabian & Germishuizen (1997) hay veintiocho especies y tres subespecies de *Erythrina* en México, veintiséis especies en América Central, cinco especies en las Indias Occidentales y veintidós especies en América del Sur. Los estudios fitoquímicos han demostrado una variedad de fitoconstituyentes en el género *Erythrina*, que incluyen terpenos y alcaloides, así como flavonoides, especialmente isoflavonas, pterocarpanos y flavanonas (Chawla & Kapoor, 1995).

Debido a esta amplia variación en los constituyentes activos, las bioactividades documentadas de metabolitos aislados mostraron una amplia gama de usos medicinales, incluida la actividad antimicrobiana con alta eficacia contra organismos resistentes y actividades antiinflamatorias, antidiabéticas, antidepresivas, citotóxicas y relajantes musculares (Anupama V. et al., 2012). Las actividades antimicrobianas y antiinflamatorias

han sido descritas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Candida mycoderma* (Chacha et al., 2005; Miño et al., 2002; Mitscher et. Al., 1988).

Adicionalmente, también se ha observado su efecto inhibitorio de las sustancias eritrínicas en las actividades de los plasmodios como *Plasmodium falciparum*, así como su efecto antiviral contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Andayi et al., 2006; McKee et al., 1997).

La actividad de sus lectinas, así como el aislamiento de pterocarpanos, alcaloides, flavonoides y cafeil derivados se observa en especies como *E. crista-galli*, *E. velutina*, *E. americana*, entre otras (Ito & Tanaka, 1974; Mitscher et al., 1988; Miño et al., 2002; Todoroki et al., 2021).

Particularmente *E. crista-galli* se encuentran al sur de Brasil, también se distribuye de forma natural en Paraguay, sur de Bolivia y en todo el territorio uruguayo y norte argentino, donde se conoce como ceibo y es considerado el árbol símbolo de estos dos últimos países (Lozano & Zapater, 2010; Nesom, 2015). Las lectinas de *E. crista-galli* han mostrado eficiencia *in vitro* en la inhibición de la adherencia del *Streptococcus agalactiae* al intestino de la tilapia (Iregui & Barato, 2017). Esta actividad se debe a su alta afinidad a la galactosa, que es abundante en el intestino de la tilapia, particularmente durante la presentación de estreptococosis (Iregui & Barato, 2017).

Erythrina crista-galli no se encuentra en Colombia, mientras otras *Erythrina* son abundantes en varias regiones del país, como es la *E. edulis*. Esta última especie es conocida en Colombia como chachafruto o balú y es usada en la alimentación humana y animal. Aunque no existen reportes recientes, la lectina de *E. edulis* también ha sido caracterizada en su afinidad a la galactosa. En 1974 Montes de Gómez y Pérez describieron la capacidad de unión a la galactosa de una lectina presente en las semillas de *E. edulis*. Posteriormente, Pérez describió que la mayor afinidad de la lectina de *E. edulis* era, en orden de concentración mínima inhibitoria del azúcar así: D-lactosa (1,8 mM), p-Nitrophenyl-β-D-galactosido (3,2 mM), GalNac (5,3 mM), Methyl-α-D-galactosido (6,1

mM) y Methyl- β -D-galactosido (12,4 mM), entre otras (Pérez, 1984). El autor también menciona que la lectina de *E. edulis* tiene capacidad para aglutinar eritrocitos y otras células como linfocitos y plaquetas. Por esta razón, es esperable que su actividad inhibitoria de adherencia contra *S. agalactiae* al intestino de la tilapia sea similar a la descrita y observada en las lectinas de *E. crista-galli*.

Por otro lado, las lectinas, no solo de las leguminosas sino de otras plantas, han sido descritas como antinutricionales. Existen algunas semillas de las leguminosas que contienen lectinas tóxicas como por ejemplo la abrina (chochitos de indio), una toxalbumina que se puede encontrar en las semillas de la planta *Abrus precatorius*. Los cuadros de intoxicación por abrina se caracterizan por alteraciones hidroelectrolíticas, gastrointestinales, entre otras (Nidhina & Muthukumar, 2015). Según García-Mateos (2001), en las especies del género *Erythrina* existen inhibidores de proteasas (tripsina y quimotripsina), goitrogenos y antivitaminas. Por ejemplo, los inhibidores de proteasas, tripsina y quimotripsina alteran la asimilación de las proteínas, impidiendo la acción de las enzimas digestivas que se enfocan hacia la hidrólisis de las proteínas de la dieta.

Teniendo en cuenta, tanto las condiciones bioactivas de las lectinas de *Erythrina* como sus características de toxicidad, el objetivo de este estudio fue caracterizar una fuente vegetal local de lectinas con actividad similar a la de *E. crista-galli* mediante la clasificación taxonómica de la planta, composición bromatológica de las semillas y funcional de sus lectinas en condiciones de pre y post-extrusión.

2.3 Materiales y métodos

2.3.1 Identificación geográfica, recolección e identificación botánica de la fuente vegetal

En el Huila, departamento ubicado al sur de Colombia, se encuentra el municipio de San Agustín, localizado en la región del macizo colombiano, a 1.730 msnm y con temperatura promedio de 18°C (DNP, 2020). El “balú”, “poroto” o el “chachafruto”, que son nombres comunes de la *Erythrina edulis*, está presente en esta región. Las muestras para la identificación de esta especie vegetal, incluidas sus hojas, fruto, semilla y flores como se observa en la figura 1, se adquirieron el 21 de Junio de 2021 en la vereda Zelanda, Municipio de San Agustín (Coordenadas 1° 53' 28" N 76° 17' 13" O).



Figura 1. Muestras de *Erythrina edulis* (balú) obtenidas en la vereda Zelanda del municipio de San Agustín, Huila. Imagen: **A.** Coordenadas ubicación muestra. **B.** Fruto. **C.** Hoja. **D.** Flor. Fuente: Vela H. 2021

Las muestras recolectadas incluyeron ramas terminales con hojas, flores y frutos, las cuales se prensaron con tablas lisas y ladrillos que ejercían peso y se guardaron en hojas de periódico las cuales se cambiaban cada dos días para evitar que con la humedad se presentara nacimiento de hongos y lograr que esté totalmente seca antes de la entrega al Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia, como se observa en la figura 2.

Para la entrega se usó una hoja de cartulina doblada no mayor a 40 x 30 cm, prensada y con etiquetas de identificación institucional, que incluía nombre común usado en la región, usos, descripción del árbol, ubicación geográfica y altitud, entre otros como, lo indica la figura 3 .



Figura 2. Muestras de *Erythrina edulis* (Balú) entregadas al Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia – Bogotá. Imagen: **A**. Muestra de hojas, tallo, vaina y semilla. **B**. Muestra de hojas, flor y pétalos.

Fuente: Vela H. 2021

El herbario recibió la muestra de acuerdo a las Instrucciones para la entrega de colecciones botánicas para determinación de angiospermas, plantas que tienen semillas envueltas en un fruto carnoso y son el único grupo que desarrollan flor y fruto (Pérez, 1984). Allí los ejemplares fueron codificados con código de barras, después de fotografiarlos bajo condiciones estandarizadas con una cámara de 21,1 megapíxeles, lo cual acelera el proceso de descubrimiento de especies. Todos los datos de la etiqueta fueron capturados, incluidos el hábitat y datos descriptivos de la morfología, en la base de datos del programa para colecciones biológicas Specify 6 (<https://www.specifysoftware.org/products/specify-6/>).

**FLORA DE COLOMBIA
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO**

Nombre común: “Chachafruto, puruto, balú, nupas, nopases, sachaporoto, mopás, frijol gigante, poroto, pajuro”.

Descripción: Árbol de color marrón oscuro, 6 a 8 mts de altura, flores color naranja, semillas en vaina color verde, entre 5 y 6 por vaina, presenta espinas en todo el tronco y tallos, abundante a la altura de San Agustín.

Localización: COLOMBIA. Huila, San Agustín, Vda Zelanda. 1°53'26"N 76°17'40"W

Altitud: 1760 m.s.n.m

Colector: Hernán Alberto Vela M

No.: 1 Fecha de colección: 15 de noviembre de 2021

Figura 3. Formato de etiqueta de Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia – Bogotá. Imagen: Etiqueta de entrega de la muestra. Fuente: Vela H. 2021

2.3.2 Procesamiento, preparación y extrusión de la harina de las semillas de *Erythrina edulis*

Entre mayo de 2019 y septiembre de 2022 se realizaron cinco colectas de semillas de *E. edulis*, tres en municipios de Cundinamarca y dos en el Huila, más precisamente en la vereda Zelanda, Municipio de San Agustín, en las coordenadas 1° 53' 28" N 76° 17' 13" O. Se identificó cada colecta como un lote para su procesamiento y posterior procesamiento en harina, como se evidencia en la Tabla 1.

Tabla 1. Datos de lotes de semillas de *Erythrina edulis* recolectados para fabricación de harina

Fecha	Lote	Erythrina	Peso Inicial (g)	Peso Harina (g)	Materia Seco (%)	Agua (%)
11/05/19	I	EDULIS	1.196	278	24,4%	75,6%
15/10/19	II	EDULIS	7.110	1.210	20,1%	79,9%
12/03/20	III	EDULIS	8.000	1.568	21,4%	78,6%
19/10/20	IV	EDULIS	9.000	1.500	17,0%	83,0%
2/09/22	V	EDULIS	3.300	540	19,4%	80,6%
Total			28.606,5	5.096,2	20,5%	79,54%

*Promedio - Fuente: Vela H. 2021

La tabla 1 indica las fechas de la recolección de los lotes, los cuales se fueron transformando a harina a medida que se presentó el espacio para el desplazamiento hasta la Unidad de Procesamiento de Alimentos del Laboratorio de Nutrición Acuícola de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, implicando un cambio de zona, altura sobre el nivel del mar y clima.

En la figura 4 se presentan las imágenes de los procesos con las muestras de semillas recolectadas, para obtención de las harinas integrales, es decir elaboradas conservando todas las porciones de la semilla, para posteriormente realizar los análisis bromatológicos de las muestras seleccionadas.

Las semillas fueron retiradas de sus vainas, lavadas y seleccionadas manualmente por sus atributos físicos. Se descartaron las semillas que tenían defectos detectables a simple vista como agujeros, color amarillo, pudrición o insectos. La desinfección se realizó por 15 minutos, mediante adición de hipoclorito de sodio (cloro comercial del 2 al 5%) diluido en agua para obtener una solución no menos de 0,5%, de acuerdo a lo recomendado por Lizarraga R. et al. (1991). Posteriormente se lavaron las semillas con abundante agua (Espinoza, 2018).

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**



Figura 4. Secuencia de procesos para la selección, lavado, desinfección y corte de semillas de *Erythrina edulis* (balú). **A.** Vainas. **B.** Revisión de vainas con semilla. **C.** Desgrane de semillas. **D.** Selección de semillas. **E.** Desinfección y lavado de semillas. **F.** Corte de semillas. **G.** Recolección de materia prima para proceso. Fuente: Vela, H. 2021

El material fresco de cada lote se cortó manualmente en rodajas de aproximadamente 2 mm para lograr una buena deshidratación. Posteriormente se llevó a secado en bandejas de acero inoxidable con medidas de 80 x 40 x 15 cm al horno de convección forzada Shellab Modelo FX 28-2 a 65 °C, por 24 horas. Posteriormente las semillas secas se pesaron y trituraron en molino de pines (Aguillón molinos) con una criba de un milímetro (1mm). El producto de la molienda fue empacado, identificado y almacenado a temperatura ambiente como lo muestra la figura 5.

Todos estos procesos se llevaron a cabo en la Unidad de Procesamiento de Alimentos (UPA), del Laboratorio de Nutrición Acuícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.



Figura 5. Secuencia de procesos para la obtención de harina de semillas de *Erythrina edulis* (balú). **A.** Pesaje de la semilla seca. **B.** Molino. **C.** Llenado de tolva del molino. **D.** Molienda. **E.** Harina de balú. **F.** Empaque e identificación del lote. Fuente: Vela H., 2021

Para la obtención del extruido de semillas de *Erythrina edulis*, se destinaron muestras de los lotes de harina I, IV y V ver en la tabla 1, que fueron procesadas por micro-extrusora para laboratorio Exteec® (Exteec máquinas, Brasil), bajo el protocolo de la Unidad de Procesamiento de Alimentos (UPA), del mismo Laboratorio de Nutrición Acuícola como lo indica la figura 6.

En primer lugar se realizó el pesaje de harina de balú a procesar e hidratación con 20% de agua a temperatura ambiente. Teniendo en cuenta que la extrusora no contaba con acondicionador, se buscó lograr una adecuada incorporación de agua mediante mezclado manual. La hidratación es considerada como una de las más importantes variables del procesamiento (Honcú et al., 2016). Posteriormente se realizó el proceso de extruido, el cual consistió en procesar la harina hidratada en la extrusora, cuando la temperatura del tornillo, antes de la resistencia, alcanzó 70 °C. Finalmente, los granos extruidos fueron secados en horno de convección forzada, así como fue descrito previamente.

El tamaño del producto final del pellet extruido se definió teniendo en cuenta la talla de las tilapias experimentales a usar para las pruebas de toxicidad de estudios posteriores (Ver capítulo 3 - peso vivo 10 g \pm 0,5 a 40 g \pm 0,7).



Figura 6. Proceso para la obtención de extruido a partir de harina de semillas de *Erythrina edulis* (balú) del lote V. **A.** Pesaje de harina. **B.** Hidratación **C.** Extrusora **D.** Estabilización de temperatura. **E, F y G.** Proceso de extrusión. **H.** Producto inicial extruido. **I.** Grano extruido de balú. **J.** Medida de los pellets extruidos. Fuente: Vela, H. 2022.

2.3.3 Caracterización proximal de la harina de semillas de *Erythrina edulis* pre y post extrusión

Con el objetivo de determinar la caracterización del valor nutricional de la harina y la harina extruida de semillas de *Erythrina edulis* (balú), se realizaron análisis bromatológicos en el Laboratorio Central de la empresa ITALCOL® S.A., ubicado en el Municipio de Funza (Cundinamarca, Colombia). Se analizaron siete muestras, cada una de 300 ± 200 g del material en harina sin extruir (5) y extruido (2), estas últimas de los lotes recolectados de acuerdo con lo presentado previamente en la tabla 1. Los métodos utilizados fueron ISO 6496:1999 para humedad (g/100 g), ISO 5983-2:2009 para proteína (g/100 g), AOAC 922.06 para grasa (hidrólisis ácida) (g/100 g), ISO 5984:2002 para cenizas (g/100 g), ISO 6490-1:1985 para calcio (g/100 g), ISO 6491:1998 para fósforo total (g/100 g) e ISO Ba 12a-20 para inhibidores de tripsina (TIU/mg) y los procedimientos para análisis allí adoptados.

2.3.4. Caracterización de presencia de lectina funcional en harina de semillas de *Erythrina edulis* pre y post extrusión por cromatografía

La caracterización de azúcares por afinidad de lectinas presentes en la harina de semillas de *Erythrina edulis*, pre y post extrusión, fue determinado en el Laboratorio 201-1 por el grupo de investigación en proteínas (GRIP) del departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. El procedimiento realizado incluyó las siguientes actividades:

- **Extracción de proteínas (tres extracciones) - Obtención de extracto total**

Brevemente se realizó una extracción por duplicado sobre 5 g de harina usando 50 mL de buffer fosfatos por cada gramo de harina a 4°C durante 8 h en agitación constante. Transcurrido este periodo de tiempo, el extracto fue centrifugado a 10000 rpm durante 30 min a 4°C; el sobrenadante fue transferido a un tubo falcón y sobre el pellet se repitió el proceso de extracción dos veces más. La cuantificación de proteína se hizo por el método de micro-Kjeldahl siguiendo los métodos propuestos por la (AOAC, 1990). La actividad se evaluó mediante ensayos de aglutinación con eritrocitos humanos tipo A. La actividad aglutinante se reportó usando una escala cualitativa según el grado de aglutinación, de (-) no aglutinación a (+4), que es la máxima aglutinación. Los resultados fueron verificados al microscopio mediante un frotis en placa, bajo el objetivo 10 y 40X. Las pruebas fueron realizadas por triplicado.

- **Precipitación fraccionada de proteínas y purificación de lectina**

Los *pools* de cada una de las extracciones (unión de las tres extracciones) fueron sometidos a una precipitación fraccionada con sulfato de amonio entre el 0-60% a 4 °C. Los precipitados de proteínas fueron solubilizados en 10 ml de buffer fosfato y posterior diálisis usando una membrana de 10 kDa (MW Cut off) contra agua desionizada y bicarbonato de amonio 20 mM. Las muestras fueron liofilizadas y resuspendidas en buffer fosfato para determinar concentración de proteína, actividad y título de aglutinación, según métodos descritos previamente.

Aproximadamente 50 mg del precipitado 0-60 % se colocaron en una columna de Poli (ALiGal) (alfa-D-galactosil poliacrilamida). La elución de la fracción no retenida se realizó con la solución de equilibrio y la fracción retenida con la misma conteniendo Galactosa (Gal) 0,1 M. La fracción retenida, se dializó contra agua desionizada, y bicarbonato de amonio. Finalmente, la lectina fue liofilizada y evaluada por SDS PAGE previa cuantificación y evaluación del título de aglutinación.

- **Determinación de la cantidad de lectina en la fracción de proteínas solubles**

Para determinar la cantidad exacta de lectina que se encontraba en la fracción de proteínas precipitada entre 0-60%, se realizó una cromatografía de afinidad sobre Sepharosa 4B lactosa.

2.4 Resultados

2.4.1 Recolección e identificación botánica de la fuente vegetal

La fuente vegetal identificada fue la *Erythrina edulis*, también conocida como balú o baluy (Cundinamarca), chachafruto (Antioquia, Quindío, Valle Tolima y Huila), poroto (Nariño), sachaporoto (Putumayo) y usual (Alto Cauca) (Acero L. & Bernal H., 2000).

En las figuras 7 y 8 se presentan imágenes las porciones de las plantas recolectadas (Vereda Zelanda, Municipio de San Agustín, Huila, Colombia, 1°53'26" N 76°17' 40" O).

En la figura 7A se observa la flor de *E. edulis* de 3 cm de largo con 4 pétalos y 9 estambres, en las figuras 7B y 7C se observa la vaina, con 27 cm de largo por 4 cm de diámetro desigual, de forma segmentada o de nudos y con 6 semillas arriñonadas (de forma cóncava-convexa) de color rojo vivo, respectivamente.



Figura 7. Flores y vainas de *Erythrina edulis* (Balú) obtenidas en la vereda Zelanda del municipio de San Agustín, Huila. **A.** Flor. **B.** Vaina con semillas. **C.** Semillas de balú. Fuente: Vela, H. 2021

Las semillas de las vainas obtenidas, como se observa en la figura 8, presentaron varias formas, variando entre tamaños y colores de acuerdo con su estadio de maduración, por lo cual se realizó selección de las semillas de color vino tinto con un grado más alto de maduración, que es el producto final de consumo.



Figura 8. Semillas de *Erythrina edulis* (balú) obtenidas en la vereda Zelanda del municipio de San Agustín, Huila. **A.** Desgrane y selección de semillas. **B.** Variedad de color de acuerdo al grado de madurez de la semilla de balú. Fuente: Vela, H. 2021.

El Herbario Nacional Colombiano del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia identificó la muestra como *Erythrina edulis* Tr. de la familia Fabaceae, bajo el certificado de identificación taxonómica Herbario COL No. 615386/87. Ver Anexo A.

2.4.2 Procesamiento, preparación y extrusión de la harina de las semillas de *Erythrina edulis*

A partir de los datos presentados en la tabla 1, se registró un total de 28,60 Kg de semillas, de los cuales se obtuvieron 5,96 Kg de harina con un rendimiento de promedio de 20,5% y una pérdida de agua por proceso y secado en promedio del 79,4%.

La harina obtenida fue sometida a proceso de extrusión, de acuerdo con el procesamiento previamente descrito. La harina de los lotes I, IV y V se usó para la elaboración del extruido. Del lote I se utilizaron 7,11 Kg de semilla, se desecharon 133,29 g, obteniendo 6,97 kg. Después del corte y secado se procesaron 1,43 Kg muestra seca para obtener 1,22 Kg de harina, la cual se hidrató al 20% para obtener 1,30 kg de producto extruido, de acuerdo a lo presentado en tabla 2.

Tabla 2. Cantidades para la elaboración de extruido a partir de harina de semillas de *Erythrina edulis* del lote I, con adición de 20% de agua.

Semillas (g)	Descarte (g)	Semillas para corte (g)	Semillas secas (g)	Harina semillas (g)	Agua (%)	Agua (mL)	Mezcla extrusión (g)	Extruido de semillas (g)
7110	133,29	6976,71	1430	1222	20	242	1466	1303,46

Fuente: Vela H. 2021

Tomando como referencia los resultados de la extrusión de la harina de semillas de *E. edulis* del lote I, se realizó de la misma forma la extrusión de los lotes IV y V. El tamaño de los pellets extruidos del lote V fue de 2 mm de diámetro y 4-5 mm de largo, con una flotabilidad media, lo que permitió un manejo adecuado para la alimentación y consumo posterior de los peces del ensayo presentado en el capítulo 3 y descrito en la figura 5.

2.4.3 Caracterización proximal de la harina de semillas de *Erythrina edulis*.

En la tabla 3 se presentan los resultados del análisis proximal de las muestras de harina pre y post-extrusión de semillas de *E. edulis*. Se observa un rango de contenido de proteína bruta de la harina del 16,44% al 20,27% y de las muestras extruidas de 18,74% y 19,95%. La concentración de grasa en las muestras de harina varió entre 0,23 a 0,96%, en comparación con el material extruido que presentó grasa del 0,17% en el lote IV y del 0,51% en el lote I. El porcentaje de ceniza en los lotes no extruidos estuvo entre el 5,64% al 7,3% y en los extruidos fue del 6,7% y 7,52%. En aquellos lotes donde se evaluó la fibra cruda, la harina no extruida presentó valores del 7,11% y 7,89%, en comparación con el lote extruido con una concentración de 6,7%. La fibra detergente neutra fue del 14,29% y 16,29% en lotes de harina sin extrusión y del 14,33% en el extruido. El contenido de fibra detergente ácido fue de 10,95% para la harina extruida y 10,15% y 11,9% en aquellos lotes no extruidos. El calcio varió entre 0,05 a 0,17% en lotes de harina y fue del 0,05% en la muestra extruida. El fósforo total fue similar en lotes tanto extruidos como no extruidos.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

La medición de inhibidores de tripsina tuvo variaciones amplias entre lotes, independientemente de si fue o no extruida la muestra. La concentración de la harina no extruida varió entre 6,05 a 60,64 TIU/mg y en las muestras extruidas del lote I se encontraron valores de 27,3 TIU/mg; para el lote IV fue de 8,83 TIU/mg. Ver Anexo B.

Tabla 3. Composición nutricional analizada de harinas pre y post-extrusión de semillas de *Erythrina edulis*

Parámetro	Muestra	58886	58885	58883	58884	57060	57054	57047
		Harina Lote I	<u>Extruida</u> Lote I	Harina Lote II	Harina Lote III	Harina Lote IV	<u>Extruida</u> Lote IV	Harina Lote V
Humedad (%)		9,11	9,34	10,13	6,97	9,29	7,94	8,14
Materia seca (%)		90,89	90,66	89,87	93,03	90,71	92,06	91,86
Proteína (%)		17,96	18,74	17,69	19,77	16,44	19,95	20,27
Grasa (hidrólisis ácida)(%)		0,23	0,51	0,96	0,50	0,55	0,17	0,81
Fibra cruda (%)		-	-	-	-	7,89	6,70	7,11
Ceniza (%)		6,39	6,70	6,10	7,30	5,64	7,52	6,76
Extracto no nitrogenado (%)**		66,31	64,71	65,12	65,46	68,08	64,42	64,02
Fibra detergente neutro (%)		-	-	-	-	16,29	14,33	14,29
Fibra detergente ácido (%)		-	-	-	-	11,90	10,95	10,15
Almidón (%)		-	-	-	-	43,40	30,93	37,92
Calcio (%)		0,05	0,05	0,11	0,17	-	-	-
Fósforo total (%)		0,35	0,35	0,35	0,38	-	-	-
Inhibidores de tripsina (TIU/mg)		54,20	27,30	60,64	58,00	47,92	8,83	6,05

*Componente g/100g

**Extracto no nitrogenado = MS – proteína – grasa – fibra cruda – cenizas

Fuente: Vela H. 2021

2.4.4. Caracterización de presencia de lectina funcional en harina de semillas de *Erythrina edulis* pre y post extrusión por cromatografía

En las muestras de harina pre y post-extrusión se encontró actividad aglutinante, lo que indicó que la lectina estaba activa en cada una de las etapas de purificación. Ver Anexo C. Adicionalmente se observó cómo se incrementó su actividad, con un título específico de 100 veces. La solución de lectina obtenida se puede diluir 500 veces para observar actividad de aglutinación. Estos resultados se verificaron con lo obtenido mediante SDS PAGE, donde el perfil de bandas es característico para esta lectina, como se observa en la figura 9. Para la muestra de harinas sin extrusión se observó una banda alrededor de los 30 kDa; cuando se incrementó la cantidad de lectina, se observó el doblete característico de dos subunidades diferentes con pesos moleculares muy cercanos o en algunos casos isoelectinas. Además se observaron asociaciones de alto peso molecular, formas diméricas y tetraméricas, que se dan por fuerzas intermoleculares débiles, como se ve en la figura 9 A. Sin embargo, para la muestra extruida, la cantidad de proteína fue menor en el precipitado de 0-60%, dado que se observó que no toda era soluble, como se evidencia en la tabla 4. Por SDS PAGE, en la figura 9 B, el perfil de bandas obtenido es característico para esta lectina, donde se observa una banda difusa alrededor de los 30 kDa. El contenido de proteína total en la muestra de harina sin extrusión fue del 20% y de la harina extruida del 19,5%, de los cuales el 30% correspondió a proteínas solubles (extraen) en solución salina (NaCl 1%) en la muestra de harina sin extrusión. En la harina extruida el 8,5% correspondió a la proteína soluble. Esta cuantificación de proteína se realizó por el método de micro-Kjeldahl siguiendo los métodos propuestos por AOAC 1990.

Con el precipitado de sulfato de amonio (0-60%) y a través de cromatografía sobre una columna de Sepharosa 4B con lactosa, se buscó si la lectina tenía afinidad específica por

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

este azúcar y podía quedar retenida después del lavado de los demás componentes. Este proceso se desarrolló en tres etapas fundamentales como son: la equilibración, donde se ajustan las condiciones iniciales deseadas; aplicación y lavado de muestras, con el objetivo de unir la molécula deseada y elución, donde las biomoléculas son adsorbidas por el ligando específico de las muestras de la harina pre y post extrusión como indica la figura 10. En la harina sin extruir precipitaron el 58 % de globulinas y albuminas; el 21% correspondió a la lectina; en el caso del extruido, precipitaron el 69 % de globulinas y albuminas y el 19 % correspondió a la lectina. Así, la cantidad de lectina activa en la muestra de harina fue de 0,7% y en el extruido del 0,2%, como se evidencia en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de extracción y cuantificación de proteína, actividad de aglutinación, detección y cuantificación de lectina purificada en muestras de harinas de *Erythrina edulis*.

Nº Muestra	Nombre	Tipo	Cantidad muestra (g)	Contenido total proteína (%)	Proteína soluble (%) *	(NH ₄) ₂ SO ₄ Fracción (0-60% _s)	Lectina ** %	Lectina *** %
1	balú	Harina	50	20	30	58	21	0,7
2	balú	Hna. de extruido	50	19,5	8,5	69	19	0,2

*En NaCl al 1% a partir de tres extracciones / harina

** Proteína en la fracción 0-60%_s

*** Lectina activa en la muestra de harina:

1. 5 g de harina hay 35 mg de lectina

2. 5 g de harina hay 11 mg de lectina

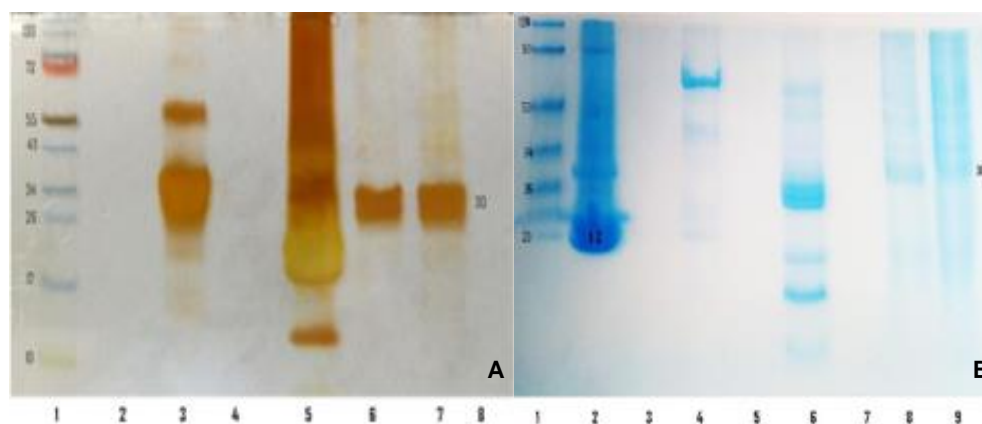


Figura 9. SDS PAGE de harina pre y post extruida de semillas de *E. edulis*. **A.** SDS PAGE – Tricina 10% de harina de semillas de *E. edulis*. 1. Patrón de peso molecular. 3. Patrón de lectina de *E. edulis*: 14ug. 5. Fracción precipitada 0-60%: 100ug. 6. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 15ug (réplica 1). 7. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 14ug (réplica 2). **B.** SDS PAGE – Tricina 10% de harina extruida de semillas de *E. edulis*. 1. Patrón de peso molecular. 2. Lisozima: 200ug. 4. Patrón de lectina de *E. edulis*: 50ug. 6. Fracción precipitada 0-60%: 125ug. 8. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 30ug (réplica 1). 9. Lectina aislada por cromatografía de afinidad a partir de la muestra de estudio 50ug (réplica 2).

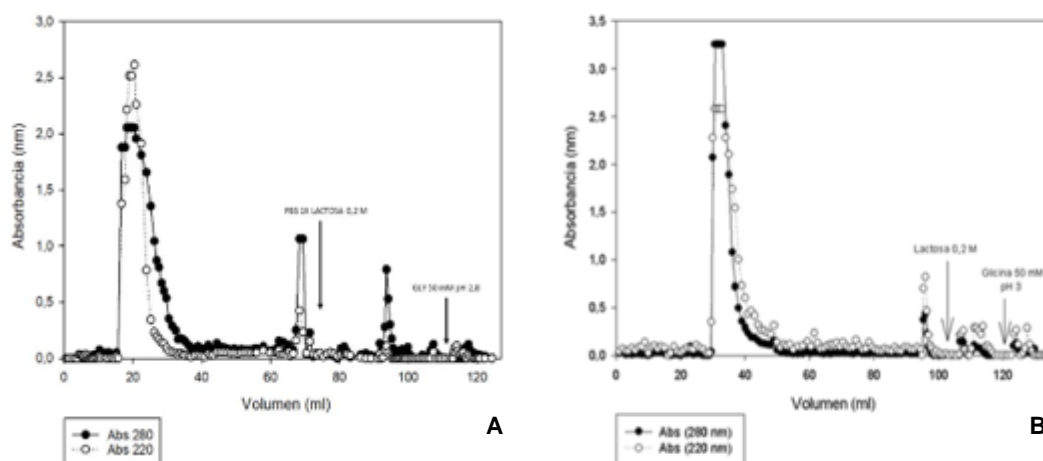


Figura 10. Cromatografía de afinidad: Lactosa-Sepharosa de harina pre y post extruida de semillas de *E. edulis*. **A.** Harina pre extrusión de *E. edulis* en sepharosa 4Blactosa, fracción purificada 0-60%*s*, réplica 1. **B.** Harina post extrusión de *E. edulis* en lactosa-SEPHAROSA, fracción purificada 0-60%*s*, réplica 1.

2.5 Discusión

2.5.1. Identificación de material vegetal

La taxonomía del género *Erythrina* es compleja debido a la hibridación ocasional de especies simpátricas, por lo que se reportan otras clasificaciones al género en subgéneros y secciones, considerando la morfología y la biogeografía de las especies (Avendaño & Castillo 2014). La categorización más actual del género fue propuesta por Krukoff & Barneby en 1974, los cuales la dividieron en cinco subgéneros y 26 secciones (Quezada, 2021). La especie identificada en la muestra colectada y usada para el estudio fue *Erythrina edulis* Tr. En la tabla 5 se indica la descripción taxonómica de *E. edulis* reportada en la literatura.

Tabla 5. Descripción taxonómica de *Erythrina edulis* (Balú)

Clasificación	Descripción
Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Subclase	Rosidae
Familia	Fabaceae
Sub-Familia	Papilionatae
Género	<i>Erythrina</i>
Epíteto específico	<i>Edulis</i>
Especie	<i>Erythrina edulis</i>

Fuente: (Espinoza G., 2018)

Esta planta tiene como hábito de crecimiento arbóreo, con una altura máxima de 10 – 14 metros, diámetro de 60 cm, densidad de follaje alta, con atributos foliares de 30 cm de

largo por 20 cm de ancho, folios de forma triangular que terminan en punta, lisos y coriáceos, atributos florales de 3 cm de largo con 4 pétalos y 9 estambres, con una estación de floración en época seca, tasa de crecimiento rápida y con una longevidad media de entre 30 y 60 años, que es compatible con lo observado en las muestras tomadas en campo, tanto para la identificación, como durante la colección de los 7 lotes analizados registrados en las figuras 1, 2, 7 y 8 y reportado por Arroyave y Posada (2014).

El árbol tiene espinas, florece en racimos de color rojo oscuro y rojo anaranjado (inflorescencias con 2 ó 3 racimos) de 30 – 45 cm de longitud y cada racimo tiene un promedio de 190 flores. Aproximadamente entre el 5 y 10% de las flores fructifica en racimos de legumbres o vainas aproximadamente cilíndricas que van desde los 8 hasta unos 50 cm de largo por 3 ó 4 cm de diámetro desigual, de forma segmentada o de nudos, como se indica en la figura 7. La transformación de flor a legumbre ocurre en aproximadamente 65 días. Estas vainas pueden tener de 1 hasta 12 semillas arriñonadas (de forma cóncava-convexa), de color café, formada por dos cotiledones de color blanco verdoso. La testa de la semilla es lisa y según el proceso de maduración y la variedad, va del color rosado a un tono vino tinto, como se indica en la Figura 7 y puede medir cada una entre 2 a 5 cm de largo, 2 a 3 cm de grosor y pesar unos 30 gramos (Barrera et al., 2010). *Erythrina edulis* no tolera períodos extensos de sequía ni heladas frecuentes. El chachafruto empieza a producir frutos a los tres años aproximadamente, pero estabiliza la productividad a los seis años a un número promedio de 62 semillas por kilo (Acero Duarte et al., 2000).

Una de las tantas utilidades de este árbol es brindar sombras en sistemas agroforestales, en conjunto con cafetales y cercas vivas, lo cual resulta igualmente efectivo método de protección de cuencas hidrográficas. Es una planta bastante apropiada para la recuperación de áreas agrícolas empobrecidas y degradadas, pues tiene la peculiaridad de nitrificar el suelo (Cardenas E., 2014). Las partes más usadas del árbol del balú para curar enfermedades son la corteza del tallo, la corteza de la raíz, la raíz, las flores, las semillas y las hojas. Entre las posibles patologías que cura el balú están las alergias, sarpullido, granos, varicela, sarampión, viruela, micosis, inflamaciones e infecciones urinarias (Espinoza G., 2018).

En la piscicultura también se ven los beneficios nutricionales y como alternativa económica para el desarrollo de dietas alimenticias para especies de aguas cálidas. Morillo et al. (2013) afirman que una sustitución total de la harina de pescado por harina de balú y torta de soya conducirá a buenos resultados para la alimentación de alevinos de *Colossoma macropomum* (cachama negra). En este mismo sentido, desde la nutrición humana, se menciona que la alimentación a base del balú que se lleva a cabo en varias zonas del país, es saludable para los seres humanos, lo cual ha sido mencionado por la fundación CIESAM. Pérez (2017) ha determinado que un solo árbol de balú puede producir toda la proteína que requiere un adulto por un año.

2.5.2. Composición nutricional de diferentes harinas de semillas de *Erythrina edulis*

La composición bromatológica de la harina pre y post-extrusión de las semillas de *E. edulis* evaluadas en este estudio, indica que su composición permitirá la formulación de dietas de acuerdo con los requerimientos nutricionales de la tilapia, principalmente como fuente de carbohidratos y en algún grado de proteína.

El balú tiene una composición diferenciada de nutrientes en sus hojas, vainas y semillas. En la tabla 6 se presentan los resultados de composición nutricional de hojas y semillas de la *E. edulis* reportados por Huarcaya M. (2020). En este mismo sentido, se presenta en la tabla 7 los componentes de minerales de las mismas porciones vegetales, con el fin de tener una idea de los valores de calcio y fósforo de la semilla antes de un proceso de secado y extrusión, de los cuales se obtuvieron resultados expuestos en la tabla 3, sin una gran diferencia, pues son parte del resultado de las cenizas en un análisis proximal. De igual manera, como lo menciona Fuentes (2018), los macrominerales que se encuentran en menor porcentaje de la semilla de *E. edulis* son el calcio (0,03%), fósforo (0,55%), magnesio (0,24%) y sodio (0,00%); estos valores dependen del tiempo de maduración de la semilla, por ejemplo, en la más joven se obtuvo una proteína del 26,16% y de la madura 23,57%, siendo que esta última fue cosechada a los 60 días de floración. Además, se

deben considerar factores externos como calidad de suelo, temperatura y humedad, entre otros. Estos datos son los que la hacen a la *E. edulis* una fuente de gran valor nutritivo, lo que permite ser una fuente de alimentación a base de sus semillas y de la parte forrajera en diferentes dietas para animales.

Tabla 6. Contenido de nutrientes de hojas y semillas de *Erythrina edulis* (balú) (% en la materia seca)

Origen	M.S. (%)	Humedad (%)	Ceniza (%)	Proteína Bruta (%)	Grasa Bruta (%)	Fibra Bruta (%)	Carbohidratos (%)
Hojas de balú	25,39	80,16	1,29	7,65	0,31	7,35	10,53
Semillas de balú	35,49	78,46	1,19	5,07	0,12	5,62	15,4

Fuente: Huarcaya M., 2020

Tabla 7. Contenido de macrominerales de hojas y semillas de *Erythrina edulis* (Balú) (% en la materia seca)

Origen	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)	Azufre (%)	Sodio (%)
Hojas de balú	4,06	0,33	1,17	2,53	0,33	0,18	0,02
Semillas de balú	2,86	0,31	1,9	0,24	0,15	0,14	0,01

Fuente: Huarcaya M., 2020

El contenido de proteína de la semilla de balú, según Acero y Bernal (2000), oscila entre 21,6% y 22,7%, siendo este superior en calidad al contenido promedio de proteína del frijol, arveja, lentejas y habas, además con menor costo por kilogramo. Ese estudio también sugiere que el valor biológico de la proteína (VB) del balú, el cual es un indicador de calidad en función de la tasa de absorción y facilidad de asimilación de los aminoácidos esenciales, considerando su cantidad y proporción, es 70,9/100 superior al de la lenteja 44,6/100, el frijol 58,0/100, la arveja 63,7/100 y el haba 54,8/100. Adicionalmente, mencionan que la harina que se obtiene de las semillas del balú se puede usar industrialmente. En este mismo sentido, Quezada (2021) presenta datos de composición de balú de diferentes orígenes, analizados y presentados en base seca, como indica la tabla 8. Como reporta el autor y en concordancia con lo observado en el presente estudio, la diferencia en algunos

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

componentes posiblemente se deba a las diferentes épocas y el tiempo de maduración al momento de su recolección para análisis.

Tabla 8. Composición química de la semilla de *Erythrina edulis* – En base seca

	Espinoza (2018)	Delgado (2018)	Fuentes (2018)	Acero (2002)	Delgado et al. (2020)	Hurcaya (2020)	Promedio
Origen	Perú	Perú	Ecuador	Colombia	Perú	Perú	
Humedad (%)	87,2	86,92	-	84	66	78,46	80,52
Proteína (%)	35,27	21,6	22,7	21	21,1	14,29	22,66
Grasa (%)	1,64	-	0,8	1	0,54	0,34	0,86
Ceniza (%)	11,59	4,91	6,62	5	4,91	3,35	6,06
Fibra (%)	1,42	2,86	7,27	8	2,86	15,84	6,38
Carbohidratos (%)	50,08	70,59	62,61	51	70,59	43,39	58,04

Fuente (Quezada E., 2021)

La harina del balú es altamente nutritiva por su contenido en proteína, lo cual se ha demostrado en varias investigaciones y es mencionado por Soriano et al. (2022), cuando describen que, teniendo en cuenta los valores de proteína cruda, se puede calificar a las semillas de esta leguminosa como “excelente fuente de proteínas”, teniendo en cuenta la calificación del sistema empleado en la Unión Europea, cuyo principal requisito exige que más del 20% de la energía provenga de la proteína cruda.

Según los resultados sobre elaboración de harina a base de semillas de balú, su contenido de proteína es mayor que el de las harinas de trigo (9,62%), amaranto (13,4%), cañihua (14,06%), maca (15,93%) y quinua (11,21%) (Espinoza, 2018). Así, la harina de balú se podría usar para elevar o complementar el contenido nutricional de dichas harinas, cubriendo de esta manera las necesidades proteicas del consumidor (Espinoza, 2018). Ahora bien, la harina obtenida de las semillas de *E. edulis* en los procesos agroindustriales sirve a su vez para complementar y enriquecer las harinas (Marín, 2002).

La mayor participación nutricional en la harina de semillas de *E. edulis* son los carbohidratos, seguidos de las proteínas; las grasas presentan bajo porcentaje (<1%), como la mayoría de las leguminosas en general, que no sobrepasan el 3% a excepción del frijol soya que contiene >17%. La fibra es mayor en la harina, resultante de los azúcares

reductores provenientes de los carbohidratos; la ceniza, con un bajo contenido, produce el blanco más intenso de la harina. Quezada (2021) presenta una recopilación de contenido nutricional de diferentes harinas de semillas de balú, reportados en diferentes estudios, como lo indica la tabla 9.

Tabla 9. Composición nutricional y promedio de diferentes harinas de semillas de *Erythrina edulis* – En base seca

	Quintero et al. (2012)	Álzate et al. (2013)	Delgado (2014)	Villena (2016)	Espinoza (2018)	Silva et al. (2020)	Toapanta (2023)	Promedio
Origen	Colombia	Colombia	Colombia	Perú	Perú	Colombia	Ecuador	
Humedad (%)	12,50	12,50	9,00	10,80	2,57	8,17	9,03	9,22
Proteína (%)	18,50	18,50	22,81	21,30	17,10	11,90	21,13	18,75
Grasa (%)	2,50	2,50	0,70	1,52	0,89	0,42	1,42	1,42
Ceniza (%)	1,50	1,50	5,35	2,90	5,84	6,44	3,80	3,90
Fibra (%)	0,50	0,50	1,20	0,94	6,25	0,96	2,24	1,80
Carbohidratos (%)	-	64,50	74,23	61,54	69,89	80,26	65,09	69,25

Fuente: (Quezada, 2021)

Los resultados del presente estudio son similares a los referidos por Quezada (2021), con valores de humedad de 8,73% en las harinas crudas y 8,64% en las harinas extruidas. Valores cercanos de harinas de semilla de balú fueron obtenidos por otros investigadores como Topanta (2023) con 8,17% e inferior por Molano (2005) con 6,2%. Así, el promedio de contenido proteico para las harinas del presente estudio fue 18,43%, similar a lo expuesto por Quezada (2021), quien reportó un valor promedio de estudios de 18,75%. El autor encontró que Topanta (2023) reportó proteína de 11,90%, mientras que el mayor valor fue reportado por Molano (2005) con 21,3%.

El valor de grasa promedio del presente estudio fue de 0,61%, el cual que fue cercano al valor reportado por Delgado (2014) con 0,7% y por Molano (2005) con 0,78%. El promedio de lo expuesto por Quezada (2021) indica un valor mucho más alto, con 1,42%. Por el contrario, el valor mencionado por Topanta (2023) fue inferior, con 0,42%.

El contenido de cenizas de la harina del presente estudio fue de 6,44% en harinas sin extraer, similar a las mencionadas por Molano (2005) de 6,2% y 6,44%. Por otro lado, los valores de la fibra son variables, con porcentajes de 8,3%, 1,8% y 0,96%, reportados por Molano (2005), Quezada (2021) y Topanta (2023) respectivamente, contra el valor promedio de 6,44% para las harinas estudiadas.

Las mencionadas diferencias se pueden atribuir a diversos factores, tales como la ubicación del producto, condiciones agronómicas del cultivo, maduración de la semilla, el método y manejo de extracción empleado, tipo de corte de la semilla, tipo y temperaturas de secado, el tamaño de la partícula de la harina (tamizaje) y el contenido de humedad de la harina, entre otras. Además de los anteriores factores mencionados, se suma el proceso de extrusión, que es el método de procesamiento más utilizado en la actualidad para la elaboración de dietas para peces y mascotas (Rodríguez, 2019). En este procesamiento, las partículas son aglomeradas, compactadas, acomodadas y orientadas, permitiendo la obtención de nuevas estructuras (Camargo et al., 1988).

La extrusión, en donde se logran nuevas estructuras, es utilizada para introducir energía térmica y mecánica a un alimento o un ingrediente, forzando los componentes básicos de los ingredientes como almidón y proteína a sufrir cambios físicos y químicos (Riaz, 2000). Según Rodríguez (2019), el procesamiento de la dieta es uno de los factores que también tiene influencia en la disponibilidad de los nutrientes y en la utilización del alimento, ya que interfiere en la estabilidad, dureza, plasticidad y orientación de las estructuras en función, principalmente, del calor y de la humedad, cuando se menciona por ejemplo la extrusión. A pesar de la gran experiencia que se tiene en la Unidad de Procesamiento de Alimentos del Laboratorio de Nutrición Acuícola y el manejo del proceso de extrusión, cabe anotar que se requiere más información de este proceso aplicado a una fuente vegetal como la *E. edulis*, o en general del género *Erythrina*. Es necesario conocer el tiempo de cosecha, grado de maduración del fruto e información relevante como la mencionada por Delgado (2018), como las propiedades morfológicas y fisicoquímica de las semillas, además de la variación de temperatura y humedad, en la que comparte las diferencias significativas por

efecto de la interacción entre estos factores ($P>0,05$), ante la extrusión de harinas de semilla de *Erythrina edulis*.

2.5.3 Caracterización de presencia de lectina en harina de semillas de *Erythrina edulis* pre y post extrusión por cromatografía

Boyd et al (1961) demostraron la presencia de lectinas en especies del género *Erythrina*. Otros investigadores ampliaron a 14 el número de especies de *Erythrina* que contenían lectinas, pero no se intentó en estos estudios la caracterización de las proteínas (Martin & Bomchil, 1966). En 1974, Montes y Pérez informaron algunas propiedades de una lectina presente en las semillas de *E. edulis*, incluida su capacidad de unión a la galactosa. Posteriormente, Goldstein & Hayes (1978) mencionaron que la lectina de *E. edulis* tiene capacidad para aglutinar eritrocitos y otras células como linfocitos y plaquetas.

En este mismo sentido, Iglesias et al. (1982) reportaron que la actividad de aglutinación de una clase purificada de lectina de *E. edulis* fue inhibida por diversos carbohidratos probados como se muestra en la tabla 10. Entre los diversos carbohidratos que han sido estudiados, y como reafirmante a los resultados obtenidos en la cromatografía de este estudio, la lactosa fue el inhibidor más potente (Concentración inhibitoria mínima, CIM = 1,8 mM) seguido de p-Nitrofenil- β -D-galactoside (CIM = 3,2 mM). En conjunto, los valores de CIM son similares a los determinados con otras lecturas de lectinas de *Erythrinas*, como se presenta en la tabla 11.

Se conoce que la N-Acetilgalactosamina es más potente e inhibe completamente cuatro unidades de la lectina a una concentración de 0,4 mM. La lactosa y la galactosa son 5 y 35 veces menos activas respectivamente.

La actividad inhibitoria de la N-Acetilgalactosamina se encuentra entre la de la lactosa y la de la galactosa (Iglesias et al., 1982).

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 10. Carbohidratos inhibidores de aglutinación de la lectina de *Erythrina edulis*

Carbohidrato	Concentración Inhibitoria Mínima (mM)
D- Galactosa	269
D- Galactosamina	105.0
N-Acetilgalactosamina	53
Methyl- α -D-galactoside	61
Methyl- β -D-galactoside	12.4
p-Nitrofenil- β -D-galactoside	3.2
D-Lactosa	1.8
D-Rafinosa	54.5

Fuente: Pérez, G. 1983

Tabla 11. Inhibición de varios azúcares de la actividad hemaglutinante de la lectina de *Erythrina crista-galli* con eritrocitos humanos (0)

Inhibidor	Concentración Inhibitoria Mínima (mM)
N-Acetilgalactosamina	0.4
Lactosa	2.0
p-Nitrofenil- β -D-galactoside	2.0
p-Nitrofenil- α -D-galactoside	4.0
N-Acetilgalactosamina	6.5
Methyl- α -galactoside	4.8
Methyl- β -galactoside	13.5
Galactosa	13.5
D-Fructosa	18.0
Rafinosa	7.2
Galactosamina	20.0

Fuente: Iglesias, J. 1981

2.6 Conclusiones

Se identificó y caracterizó la *Erythrina edulis*, encontrando que las harinas de su semilla, poseen una composición adecuada y podrían ser incluidas como fuentes de proteínas y carbohidratos en dietas prácticas para peces .

Fue determinado que las lectinas de la harina tienen alta afinidad por galactosa y no pierden su actividad aglutinadora post-extrusión, lo que significa que es funcional para su inclusión en dietas para peces.

2.7 Referencias

- Acero Duarte, L. E., Bernal, H. Y., & Rodríguez Montenegro, L. (2000). *Muestra agroindustrial de especies promisorias-BIOCAB*. Convenio Andrés Bello, Santafé de Bogotá (Colombia).
- Acero L. & Bernal H. (2000). *Guía para el cultivo y aprovechamiento del Chachafruto o Balú: Erythrina edulis triana ex micheli*.
<https://babel.banrepcultural.org/digital/collection/p17054coll10/id/1300>
- Andayi, A. W., Yenesew, A., Derese, S., Midiwo, J. O., Gitu, P. M., Jondiko, O. J., Akala, H., Liyala, P., Wangui, J., Waters, N. C., Heydenreich, M., & Peter, M. G. (2006). Antiplasmodial Flavonoids from *Erythrina sacleuxii*. *Planta Medica*, 72(2), 187-189.
<https://doi.org/10.1055/s-2005-873200>
- Anupama V., Narmadja R., Gopalakrishnan VK., & Devaki K. (2012). Enzymatic alteration in the vital organs of streptozotocin diabetic rats treated with aqueous extract of *Erythrina variegata* bark. 2012, 4.
- AOAC. (1990). AOAC: Official Methods of Analysis (Volume 1). *Association of Official Analytical Chemists Inc.*
<https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>
- Arnold, F. H., Blanch, H. W., & Wilke, C. R. (1985). Analysis of affinity separations. *The Chemical Engineering Journal*, 30(2), B9-B23. [https://doi.org/10.1016/0300-9467\(85\)80016-2](https://doi.org/10.1016/0300-9467(85)80016-2)
- Arroyave, M. P., Posada, M. E. (2014). *Catálogo virtual de flora del Valle de Aburrá*. Universidad EIA. <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/species/203>
- Avendaño, N., & Castillo, A. (2014). El género *Erythrina* L. (Leguminosae-Faboideae) en Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica*, 37(2), 123-164.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86243121002>

-
- Barrera Marin Nancy, Gómez Zambrano Jairo, Gómez Eyder Daniel, & Mejía Leudo Mercedes. (2010). *Nuevas Investigaciones para un Adecuado Manejo del Chachafruto Erythrina edulis Especie para la Alimentación del Hombre y de los animales domésticos*. Dokumen. Tips. <https://dokumen.tips/documents/nuevas-investigaciones-para-un-adequado-manejo-del-chachafruto.html>
- Bedoya, A. O., Bolaños Patiño, V., Ricaurte García, D., Caicedo, M., & Guerrero, Y. (2012). Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*). *Universidad y Salud*, 14(2), 161-167. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0124-71072012000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Boyd, W. C., Waszczenko-Zacharczenko, E., & Goldwasser, S. M. (1961). List of Plants Tested for Hemagglutinating Activity. *Transfusion*, 1(6), 374-382. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.1961.tb00078.x>
- Camargo, C., Diaz, N., & Gutiérrez, R. (1988). *Tecnología de extrusión: Productos texturizados e expandidos*. Paginación irregular.
- Cardenas E., S. (2014). El Pajuro (*Erythrina edulis*) alimento andino en extinción. *Investigaciones Sociales*, 16(28), 97-104. <https://doi.org/10.15381/is.v16i28.7389>
- Chacha, M., Bojasemoleta, G., & Majinda, R. (2005). Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of. *Phytochemistry*, 66(1), 99-104. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.10.013>
- Chawla, A. S., & Kapoor, V. K. (1995). Erythrina Alkaloids. En *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives* (Vol. 9, pp. 85-153). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-042089-9.50010-3>
- Dehghan-Shoar, Z., Hardacre, A. K., & Brennan, C. S. (2010). The physico-chemical characteristics of extruded snacks enriched with tomato lycopene. *Food Chemistry*, 123(4), 1117-1122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.071>
- Delgado, V (2014). *Evaluación de harinas de Chachafruto (Erythrina edulis) y Quinua*

(Chenopodium Quinoa W) como extensores en el proceso de elaboración de salchichas tipo Frankfurt.

- Delgado, V. (2018). Calidad Proteica de las Semillas de Pajuro (*Erythrina edulis*) sometidas a cocción tradicional y extrusión [universidad nacional agraria la molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3149/delgado-soriano-victor-daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Deloisa, M., Martínez, M., & Plaomares, R. (2012). Técnicas cromatográficas y su aplicación a estudios de cambios conformacionales, estabilidad y replegamiento de proteínas. 2012, 11(3). <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v11n3/v11n3a6.pdf>
- DNP, D. (2020). *TerriData: DNP*. Terridata. <https://terridata.dnp.gov.co/index-app.html#/perfiles/41668>
- Espinoza G. (2018). *Análisis químico proximal de granos y harina de "Pajuro" (Erythrina edulis) y elaboración de una bebida proteica con sabor a chocolate* [universidad peruana cayetano Heredia facultad de ciencias y filosofía "Alberto Cazorla Talleri"]. https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/3764/Analisis_EspinozaCordova_Gaby.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Fabian, A., & Germishuizen, G. (1997). *Wild flowers of northern South Africa*. Fernwood Press. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Wild+flowers+of+northern+South+Africa&author=Fabian%2C+Anita.&publication_year=1997
- García-Mateos, R., Soto-Hernández, M., & Vibrans, H. (2001). *Erythrina Americana* Miller ("Colorín"; Fabaceae), a versatile resource from México: A Review. *Economic Botany*, 55(3), 391-400. <https://doi.org/10.1007/BF02866562>
- Goldstein, I. J., & Hayes, C. E. (1978). The Lectins: Carbohydrate-Binding Proteins of Plants and Animals. En *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (Vol. 35, pp. 127-340). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2318\(08\)60220-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(08)60220-6)

-
- Honcú, I., Sluková, M., Vaculová, K., Sedláčková, I., Wiege, B., & Fehling, E. (2016). The effects of extrusion on the content and properties of dietary fibre components in various barley cultivars. *Journal of Cereal Science*, 68, 132-139. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.01.012>
- Huarcaya M., R. P. (2020). *Las hojas y frutos del antiporoto (erythrina edulis) en la alimentación animal en kerapata tamburco abancay*. Universidad Tecnológica de los Andes. <https://repositorio.utea.edu.pe/handle/utea/260>
- Iglesias, J. L., Lis, H., & Sharon, N. (1982). Purification and Properties of a d-Galactose/N-Acetyl-d- galactosamine-Specific Lectin from *Erythrina crista-galli*. *European Journal of Biochemistry*, 123(2), 247-252. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1982.tb19760.x>
- Iregui, C. A., & Barato, P. A. (2017). «*Glyco-inhibitors of Adherence*» of *Streptococcus in Fish*. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?jsessionid=6D79EDF3D1E8E4E41116FEA96C5C1997.wapp2nB?docId=WO2017109587&recNum=73&office=&queryString=%28GBS%29&prevFilter=&sortOption=Pub+Date+Desc&maxRec=9612>
- Ito, K., & Tanaka, H. (1974). Studies on the erythrina alkaloids. VIII. Alkaloids of *Erythrina X bidwillii* Lindl. (4). Synthesis of erybidine by photochemical reaction. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 22(9), 2108-2112. <https://doi.org/10.1248/cpb.22.2108>
- Lizarraga R., Jayasinghe U., U., & Dodds, J. (1991). Cultivo de tejidos para la eliminación de patógenos. 1991, 9. https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNABJ739.pdf
- Lozano, E. C., & Zapater, M. A. (2010). *El género erythrina (Leguminosae) en argentina*.
- Marín N., N. B. (2002). *Origen e historia del balú colombia.pdf*. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/11485/59718_57789.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Martin, T., & Bomchil, G. (1966). Haemagglutinins in Argentinean Leguminosae Seeds. *Vox Sanguinis*, 11(1), 54-58. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1966.tb04201.x>

- Mateos, R. G., Hernández, M.-S., & Vázquez, Y. M. M. (2000). *Toxicidad de los extractos de las semillas de Erythrina americana*. 7.
- McKee, T. C., Bokesch, H. R., McCormick, J. L., Rashid, M. A., Spielvogel, D., Gustafson, K. R., Alavanja, M. M., Cardellina, J. H., & Boyd, M. R. (1997). Isolation and Characterization of New Anti-HIV and Cytotoxic Leads from Plants, Marine, and Microbial Organisms. *Journal of Natural Products*, 60(5), 431-438. <https://doi.org/10.1021/np970031g>
- Miño, J., Gorzalczany, S., Moscatelli, V., Ferraro, G., Acevedo, C., & Hnatyszyn, O. (2002). Actividad Antinociceptiva y Antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. ("Ceibo"). *acta farmacéutica bonaerense*, 21.
- Mitscher, L. A., Gollapudi, S. R., Gerlach, D. C., Drake, S. D., Ve´liz, E. A., & Ward, J. A. (1988). Erycristin, a new antimicrobial petrocarpan from *Erythrina crista-galli*. *Phytochemistry*, 27(2), 381-385. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)83103-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)83103-0)
- Molano, A. (2005). *Obtención y caracterización fisicoquímica y funcional de la harina integral de Erythrina edulis (chachafruto) para su aplicación como alimento nutricional, diseño preliminar de la planta de producción*. Universidad de los Andes.
- Morillo, M., Visbal, T., Rial, L., Ovalles, F., & Aguirre, P. (2013). *Alimentación de alevines de Colossoma macropomum con dietas a base de Erythrina edulis Y SOYA*. 38.
- Neill, D. A. (1988). Experimental Studies on Species Relationships in *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75(3), 886. <https://doi.org/10.2307/2399377>
- Nesom, G. L. (2015). Key to native and cultivated species of erythrina (Fabaceae) in the USA and comments on naturalization of the *Crista-galli*. 2015, 1-8.
- Nidhina, N., & Muthukumar, S. P. (2015). Antinutritional factors and functionality of protein-rich fractions of industrial guar meal as affected by heat processing. *Food Chemistry*, 173, 920-926. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.071>

-
- Pérez, G. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina Edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229-1232. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80431-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80431-8)
- Pérez, G. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229-1232. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80431-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80431-8)
- Pérez, G., Martínez, C., & Díaz, E. (1979). Evaluación de la calidad de la proteína de la *Erythrina edulis* (BALU). 1979, 1.
- Quezada. (2021). *Aplicaciones potenciales del chachafruto (Erythrina edulis) en la alimentación animal* [Escuela superior Politécnica]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15626/1/17T01654.pdf>
- Quezada E. (2021). *Aplicaciones potenciales del chachafruto (Erythrina edulis) en la alimentación animal* [Escuela superior Politécnica]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15626/1/17T01654.pdf>
- Riaz, M. N. (2000). *Extruders in food applications: Vol. I* (2000.^a ed.). Taylor & Francis Group.
file:///Users/hernanavelam/Downloads/Riaz_M_2000_Extruders_in_Food_Application.pdf
- Rodríguez, D. (2019). *Nutrición y alimentación en acuicultura* (Vol. 3).
- Soriano, V. D., Cortés, P., Guevara, A., & Vílchez, C. (2022). Digestibilidad proteica de semillas de Pajuro (*Erythrina edulis* Triana) sometidas a cocción tradicional. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 24(2), 75-83. <https://doi.org/10.18271/ria.2022.333>
- Todoroki, K., Funasaki, M., Etoh, T., Matsuzaki, K., & Ohsaki, A. (2021). Two *Erythrina* alkaloids and three diarylpropanoids from *Erythrina velutina*. *Tetrahedron*, 96, 132383. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2021.132383>

Topanta, A. (2023). *Análisis comparativo de la composición nutricional del chocho, quinua y chachafruto y su aplicación en la elaboración de pan*. Escuela superior Politécnica.

3. CAPÍTULO 3. Evaluación de la toxicidad aguda de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia (*Oreochromis niloticus*)

3.1 Resumen

La tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es una especie de gran importancia en la acuicultura, debido a su rusticidad, tolerancia a cambios bruscos en la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua, resistencia a enfermedades, al manejo y a la alta densidad de siembra. Este último elemento, junto con una deficiente calidad de agua y de alimentación, incrementan el canibalismo en etapas tempranas que se convierte en un factor de riesgo para la transmisión de enfermedades. Uno de los microorganismos que más eficientemente se transmite por canibalismo es el *Streptococcus agalactiae*, uno de los agentes etiológicos que causa estreptococosis. Es por ello que evaluar estrategias que reduzcan el riesgo de infección de esta bacteria en la superficie gástrica e intestinal de la tilapia es estratégico para evitar el desarrollo de la enfermedad. Las dietas para las tilapias, por ser omnívoras, permite la inclusión en sus dietas de materias primas de origen vegetal como la *Erythrina edulis*, a la cual se le ha atribuido bioactividad inhibitoria de adherencia de *S. agalactiae* al intestino de los peces. En esta investigación se realizó la cría de larvas de tilapias nilóticas y se evaluó la toxicidad de dietas con harina y harina extruida de semillas de *E. edulis*, como fuente natural de lectinas glicoinhibidoras de adherencia para evitar la estreptococosis. *E. edulis* no presentó toxicidad aguda en las diferentes dietas ofrecidas a los alevinos de tilapia.

Palabras clave: Tilapia, canibalismo, extrusión, lectina, toxicidad.

3.2 Introducción

Según la FAO, las diferentes especies de pescado son fuentes de alta calidad de proteína de origen animal, grasas y nutrientes para alimentar la creciente población que se calcula que alcanzará los nueve mil millones para el 2050. Así, la acuicultura continental desempeñará un papel importante en las próximas décadas, garantizando la seguridad alimentaria y nutricional, el alivio de la pobreza y el bienestar social con el aumento del suministro de pescado (Mashav, 2023).

De estas las especies cultivadas, la tilapia (*Oreochromis* sp.) es después de las carpas, la especie con mayor producción mundial, concentrando la atención del mundo por su producción actual en más de 140 países, estando la mayoría de ellos situados en clima tropical y subtropical como es el caso de Colombia, donde se cultiva principalmente la especie *Oreochromis niloticus*. Muchos de estos países están exportando tilapia de manera activa a los Estados Unidos y la Unión Europea. En Colombia, para el 2023, la tilapia representó el 58% de la producción piscícola nacional y exportó alrededor de 15.464 toneladas de filete fresco y pez entero por un valor de \$USD 97.534 millones. (MDR & DANE, 2024).

Específicamente la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es una especie de gran importancia en la acuicultura, debido a su rusticidad y resistencia a enfermedades, manejo, resistencia a cambios de temperatura y bajos niveles de oxígeno; tolera alta densidad, tiene hábitos omnívoros y es de fácil reproducción (Vicente & Elias, 2014).

Esta resistencia a enfermedades, que depende entre otras variables del bienestar del pez, reflejado en óptimas condiciones de calidad de agua, adecuados sistemas de producción, genética y buenas dietas para alimentación, no excluye la presencia de patologías emergentes que perjudican a los peces en los sistemas de producción, generalmente

intensivos y superintensivos, por lo que se hace prioritario investigar a profundidad alternativas para la sanidad acuícola, teniendo como primicia que las condiciones antes mencionadas generan estrés, el cual debilita el sistema inmunológico, favoreciendo la presentación de patologías (Roosta y Hoseinifar, 2016). Por lo mencionado anteriormente, diagnosticar y tratar enfermedades juega un papel importante en el mantenimiento de la acuicultura comercial y la prevención de pérdidas económicas.

Una de las alternativas evaluadas actualmente para reducir el uso de antibióticos y poder mitigar el impacto de las enfermedades de origen bacteriano es el uso de plantas medicinales y probióticos como suplementos en la alimentación, para mejorar la condición física, del sistema inmunológico de los peces y por su actividad inhibitoria en la adherencia bacteriana (Gopalraaj et al., 2023). En este sentido, el uso de plantas medicinales que curan a humanos ha sido evaluado en la alimentación de peces (Raman, 2017). Pigmentos, flavonoides, aceites esenciales, alcaloides, taninos, esteroides, terpenoides y fenoles son los principales componentes bioactivos de las plantas; son reconocidos por su capacidad de mejorar los índices productivos de los peces, mejorar su inmunidad y su resistencia a enfermedades (Rashidian et al., 2021).

El género *Erythrina* contiene un gran número de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, antiparasitaria, antiinflamatoria, analgésica, antifúngica y anti efecto citotóxico, como alcaloides, flavonoides, lectinas y pterocarpanos (Pino-Rodriguez et al., 2004). Uno de los componentes bioactivos de las semillas de *Erythrina edulis*, es su lectina (Pérez, 1984). La lectina de *E. edulis* tiene potencial uso como glicoinhibidor de adherencia de *S. agalactiae* en el intestino de la tilapia para ser incluido en dietas comerciales que favorezcan la reducción de la presentación de la estreptococosis (Iregui & Barato, 2017). En un estudio previo, la lectina de *E. edulis* fue caracterizada de la harina de semilla de la planta y su bioactividad aglutinadora, así como su concentración, en el producto pre y post extruido; fue demostrada su biodisponibilidad para ser incluida en potenciales dietas. Se sabe que las lectinas tienen propiedades antinutricionales y/o tóxicas en algunos animales, por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar la toxicidad aguda de la harina de semilla de *E. edulis* con lectina bioactiva y disponible en alevinos de tilapia (*Oreochromis* sp.) alimentados con el producto pre y postextruido.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Cría de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en el bioterio certificado de CORPAVET®- MOLECULARVET®

El experimento fue realizado en el bioterio para peces de agua dulce de la Corporación Patología Veterinaria CORPAVET®- MOLECULARVET®, ubicado a una altura de 2625 m.s.n.m y con un rango de temperatura ambiente de 18°C/8°C día y noche respectivamente.

Se adecuaron en el bioterio cuatro tanques plásticos de 50 L, con agua del acueducto y/o agua lluvia, que previamente se recolectó en un tanque de 250 lts para dejarla reposar por 24 horas, limpiando su fondo y transfiriendo el agua a los tanques de 50 L. Cada tanque con agua contenía un filtro interno con guata y carbón activado, tres piedras difusoras con diámetro de 30 mm, conectados por una manguera de 4/6" a un blower (AirPumb Resun LP-100) para su aireación por 5 días y con termostatos (modelo AP50W Aqueon) para mantener la temperatura del agua entre 28°C y 30°C, oxígeno disuelto > 4mg/L, saturación >60% y pH neutro como se evidencia en la figura 11. Ver Anexo D

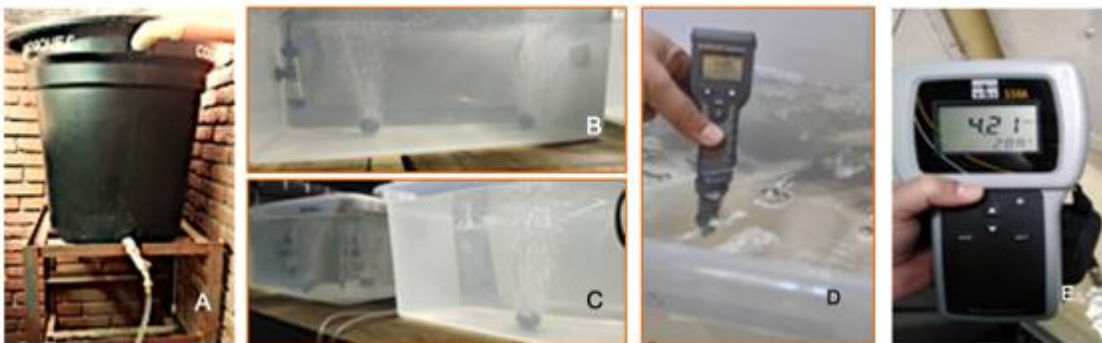


Figura 11. Adecuación del bioterio en la Corporación Patológica Veterinaria CORPAVET-MOLECULARVET. **A.** Tanque recepción agua-lluvia. **B-C.** Tanques recepción larvas de tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*). **D.** Toma de medida de pH. **E.** Toma de medida de oxígeno.

Fuente: Vela H. 2021

En estas condiciones se recibieron larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) para cría hasta alcanzar un peso promedio de $10 \text{ g} \pm 5 \text{ g}$ para la prueba piloto de toxicidad aguda. Los parámetros físico-químicos de agua correspondientes a temperatura, oxígeno y pH se monitorearon durante la cría de las larvas de tilapia nilótica y el periodo experimental de toxicidad. Fueron utilizados los siguientes equipos previamente calibrados: oxímetros EcoSense DO200A y YSI 550A; pH-metro EcoSense pH/EC1030 YSI. Los parámetros fueron evaluados 3 veces a la semana en la cría de larvas y todos los días durante las evaluaciones de toxicidad. Finalmente durante la prueba de toxicidad agua se registró el nitrógeno amoniacal total (TAN) y dureza una vez por semana con el kit HACH FF1A como se demuestra en la figura 12.



Figura 12. Equipos para toma de datos de parámetros físico – químicos del agua para las larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en bioasno. **A.** Kit FF1A. **B.** Oxímetro EcoSense DO200A (OD) YSI. **C.** Oxímetro 550A YSI (%). **D.** pH - metro EcoSense pH/EC1030 YSI. Fuente: Vela H. 2022

Los tanques se sifonearon y se limpiaron junto con los filtros diaria o semanalmente, de acuerdo con la turbidez del agua posterior a la alimentación; diariamente se recogió la mortalidad y se repuso el agua por pérdidas de evaporación y salpicaduras por la aireación. El agua resultante de los recambios se trató con EcoPro[®], activado previamente por un periodo no menos de 24 horas con aireación constante, para degradar la materia orgánica producida por el alimento no consumido y heces de los animales, antes de descartarlo al sistema de alcantarillado del bioasno.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Las larvas de tilapia nilótica fueron obtenidas de una granja piscícola comercial de producción intensiva del departamento del Huila, con historial de óptima condición sanitaria. Se recibieron larvas en bolsas con oxígeno y agua en relación 3:1 y en un tiempo máximo 24 horas entre la granja y el bioterio. Al momento de la recepción de los lotes, se les realizó análisis en fresco, histopatología, RT-PCR para virus de la tilapia del lago (TiLV) y aislamiento bacteriológico para evaluar su estado sanitario.

Entre 2020 al 2022 se recibieron 10 lotes de larvas de los cuales los lotes IX y X tuvieron buen estado sanitario, se criaron hasta el peso ideal para el ensayo de la evaluación de toxicidad oral aguda 96 horas con la harina de semillas de *Erythrina edulis* en diferentes dosis.

Fueron adquiridas 1000 larvas, con peso promedio de $0,015 \pm 0,02$ g, que fueron ubicadas en 2 tanques (500 larvas/tanque) de 50 litros, con carga de 0,15 g/litro, con filtros y aireación. Se llevaron las larvas a un peso aproximado de $1 \pm 0,3$ gramos por 30 ± 1 días, alimentándolas al 20% de biomasa, con ITALREV® (Mojarras, Itacol®) para reversión sexual, que contiene 17 – α Metil Testosterona a una concentración de 60 mg/kg. Se garantizó el consumo de la hormona, con aros de manguera de 10 cm de diámetro ubicados en la superficie del agua del tanque, en el que suministró el alimento para evitar su dispersión y así no deteriorar la calidad de agua y lograr un solo punto de consumo para los animales como se ve en la figura 13. Las larvas fueron alimentadas de 3 a 4 veces en el día.

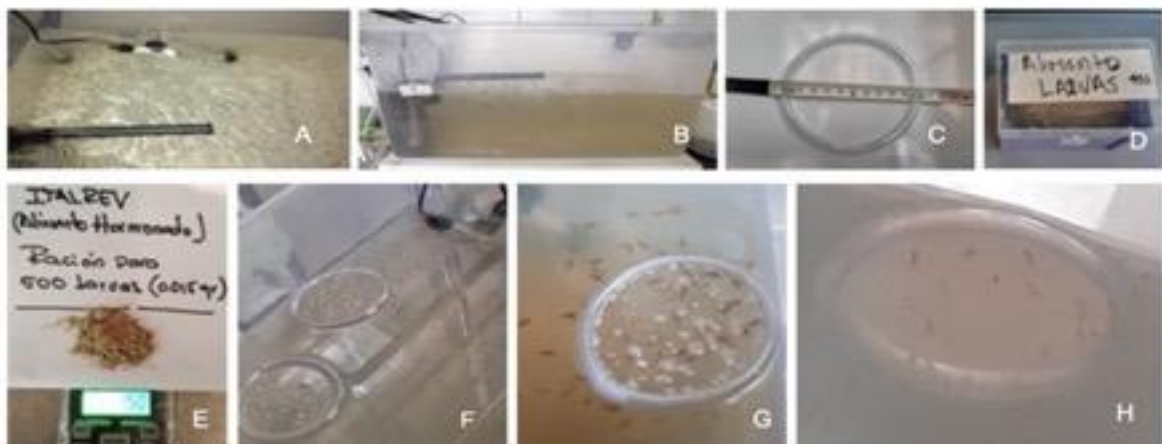


Figura 13. Alimentación de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) con alimento de reversión en el bioterio. **A.** Larvas sin alimentar. **B.** Larvas en columna de agua. **C.** Aro corral **D.** Alimento. **E.** Pesaje de alimento - ración. **F.** Instalación de aros. **G y H.** Larvas alimentándose con alimento de reversión. Fuente: Vela H. 2022.

Para el ensayo de toxicidad aguda se usó un sistema estático con instalación de 9 tanques de plástico transparente, recomendado para tal fin según OECD (2019), ya que son químicamente inertes y evitan la absorción de químicos que puedan alterar o crear problemas en las pruebas. Estos tanques con 20 litros de agua fueron ubicados al azar en la zona A del bioterio, espacio pruebas y protegidos de ruidos excesivos, vibraciones y luz directa, que pudieran afectar a los animales de prueba.

3.3.2 Evaluación de la toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de la harina pre y postextrusión de semillas de *Erythrina edulis* como prueba piloto en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

La evaluación de la toxicidad aguda de la harina de semilla de *E. edulis*, pre y postextrusión, como prueba piloto, se desarrolló en el Bioterio de la Corporación Patología Veterinaria CORPAVET®, basada en las directrices de OECD (2019) y avalado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, sede Bogotá. Los peces se expusieron a la harina natural y extruida de semillas de *Erythrina edulis* por un periodo de 96 horas, en sistemas estáticos. La harina y su proceso de extrusión se describen con detalle en el capítulo 2. Se registraron las mortalidades y los signos clínicos relacionadas con la apariencia y el comportamiento de las tilapias nilóticas durante las 96 horas posteriores al suministro de la harina. En la tabla 12 se presentan los grupos experimentales de la evaluación de toxicidad aguda de la harina pre y postextrusión de semillas de *E. edulis* en alevinos de tilapia roja.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 12. Grupos experimentales y parámetros iniciales prueba de toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de la harina pre y postextrusión de semillas de *Erythrina edulis* en larvas de alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) criadas en el Bioterio CORPAVET®

Parámetros	HARINA PRE EXTRUSIÓN			HARINA POSTEXTRUSIÓN	
	Tx I	Tx II	Control (Hna. 45% Itacol)	Tx I Extruido Edulis	Control (Ext. 45% Itacol)
Nº Peces Iniciales	20	10	15	6	4
Peso inicial (g/pez)	1,91	2,1	2	9,27	12,07
Nº días prueba	4	4	4	4	4
Biomasa inicial (g)	38,2	20,67	30	24	16
% Alimento/Biomasa	10	10	10	8	8
Ración/día	3,82	2,07	1,8	1,92	1,28
Nº Comidas/día	4	4	4	3	3
Biomasa (g/l)	2,05	1,1	1,5	1,2	0,8
Repeticiones x Tratamientos	3	3	1	3	3

Fuente: Vela H. 2022

Para la harina pre extrusión se utilizaron dos tratamientos con tres replicas para cada uno, así: Tratamiento I (Harina de semillas de *Erythrina edulis* Alta Densidad), Tratamiento II (Harina de semillas de *Erythrina edulis* Baja Densidad) y un tanque control (Harina 45% Itacol S.A.). La harina postextrusión se asignó el tratamiento I (Harina extruida de semillas de *Erythrina edulis*) y un control (Harina extruida de 45% Itacol S.A.), cada uno con tres réplicas.

Todas las unidades de cultivo contaron con las adecuaciones mencionadas en el levante y cría de larvas, que incluye previamente tres piedras difusoras conectas por una manguera 4/6" a un blower (AirPumb Resun LP-100) para su aireación y termostatos (modelo AP50W Aqueon) para lograr establecer parámetros fisicoquímicos ideales del agua de temperatura (°C), oxígeno disuelto, saturación y pH como los más relevantes para el mantenimiento y crecimiento de tilapia nilótica.

Se dispuso de un aro de 10 cm de diámetro y se procedió a suministrar la harina pre y post extruida de *E. edulis* a los alevinos de tilapia.

Los animales de esta prueba hacen parte de los lotes de larvas criadas en bioterio, con buen estado sanitario y con un periodo mínimo de adaptación a los tanques de 10 días y con 24 horas de ayuno, descartando excedentes de comida y heces antes de dar inicio a la prueba para lograr una prueba bajo las directrices de la (OECD, 2019). A cada tratamiento se le realizó pesaje de alimento suministrado por ración, de acuerdo al porcentaje de biomasa de un cultivo comercial intensivo del diez por ciento (10%) recomendado por la mayoría de casas comerciales en sus tablas de alimentación guías.

En el caso de la harina pre extruida, después de suministrar la harina de semillas de *Erythrina edulis*, el lote II obtenido en la Unidad de Procesamiento de Alimentos (UPA), de acuerdo al protocolo mencionado anteriormente, para evitar desperdicio y contaminación del agua por la harina, se procedió a dejar secar este alimento recuperado con el colador de malla fina en cada uno de los tanques y por cada ración; al final de la prueba se dejó sedimentar cada tanques y se procedió a recuperar las heces más el alimento no consumido durante la prueba, como lo muestra la figura 14.

Posteriormente se realizó el siguiente cálculo experimental para determinar el porcentaje aproximado de consumo de harina de semillas de *Erythrina edulis*.



Figura 14. Pesaje de alimento a suministrar, alimento recuperado y alimento no consumido más heces suministro a tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*). **A - B.** Pesaje raciones para cada tratamiento. **C - D.** Pesaje alimento recuperado. **E.** Heces y alimento no consumido recuperado. **F.** Alimento no consumido y heces en proceso de secado. **G.** Alimento no consumido y heces seco. Fuente: Vela H. 2022

Para la harina pre extrusión se calculó de manera experimental el porcentaje del Alimento Consumido (AC) por los animales, donde participó: el total del Alimento suministrado (AS), Consumo aparente (CA) que es el alimento suministrado por día (AS) menos la sumatoria del alimento no consumido. Total Recolectado (TR) más el peso seco de las Heces (HE). (ver Ecuación (1) y (2). El Anexo E presenta los registros de este cálculo.

$$AC = \frac{AS(g)}{CA(g)} = \% \quad (1)$$

$$AC = AS(g) - [TR(g) + HE(g)] = g \quad (2)$$

Donde:

AC: Alimento Consumido (%)

AS: Alimento Suministrado/ día (g)

CA: Consumo Aparente (g)

TR: Total Recolectado (g)

HE: Heces + edulis (HE) (g)

Para la harina extruida, a cada tratamiento se le realizó pesaje de alimento del lote III, que fue procesado por una micro-extrusora para laboratorio Exteec[®] (Exteec máquinas, Brasil), bajo el protocolo de la Unidad de Procesamiento de Alimentos (UPA). Este alimento fue suministrado siguiendo lo recomendado para alimentación de un cultivo comercial intensivo, al ocho por ciento (8%), evitando el desperdicio, deterioro de calidad de agua y por el peso de animales usados.

El alimento antes del suministro, fue cernido a través de una malla de 1 mm para obtener granos extruidos de tamaño relativamente acorde con el tamaño de los animales para ayudar a su consumo, de aproximadamente 1 mm. Esta medida buscó acercarse a la presentación más pequeña del alimento comercial, en este caso 1,2 mm de 45% de Itacol S.A., alimento que se usó como control, como se muestra en la figura 15.

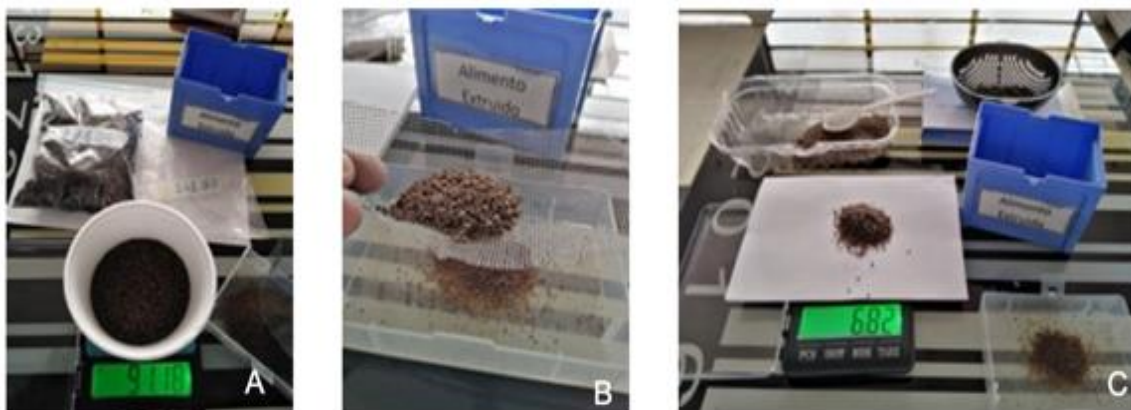


Figura 15. Pesaje de alimento extruido. **A.** Pesaje de alimento extruido inicial. **B.** Clasificación a través de malla de 1 mm del alimento extruido. **C.** Pesaje alimento a suministrar a los animales.

Fuente: Vela H. 2022

Para la harina postextrusión se observaron los Animales que Consumían el alimento (AC), Animales que Repetían el consumo (AR) y los Animales que Regurgitaban el alimento (AG) y/o rechazaban. Con videos de 3 minutos por ración, se rectificó lo observado en cada tanque y se diligenciaron los registros por tanque. Ver Anexo F.

En esta prueba no se tuvo en cuenta el cálculo de manera experimental del porcentaje del Alimento Consumido (AC), total del Alimento Suministrado (AS) ni el Consumo Aparente (CA) como en la anterior prueba, dado que el alimento extruido se logra observar directamente si es consumido o no por el animal.

Finalmente se realizó sacrificio de los animales mediante sobredosis de anestesia con Eugenol y corte de la médula espinal para luego realizar observación en fresco de todos sus órganos, especialmente estomago e intestino, donde se espera observar consumo del alimento ofrecido.

▪ **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos del aseguramiento del consumo de harina pre y postextrusión de semillas *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) según día y hora, y el peso de los animales, se sometieron a una ANOVA y la normalidad de los residuos se comprobó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Así mismo, los datos se sometieron a una comparación de medias usando la prueba Tukey HSD con probabilidad de $p < 0,05$. Para el análisis de los datos se utilizó el software estadístico IBM SPSS Statistics.

3.3.3 Formulación y procesamiento de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis* en 4 dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml).

Las dietas prácticas se formularon utilizando el software de alimentación Allix³, atendiendo los requerimientos nutricionales para tilapias en la fase de crecimiento, con un 45% de proteína. El conocimiento sobre requerimientos ha venido incrementándose muy rápidamente, en los últimos 10 años, donde se han desarrollado una serie de artículos, libros e investigaciones como la presentada por la National Research Council 2011, las Tablas Brasileñas para la Nutrición de Tilapia publicadas en el 2010 y más recientemente desde 2015, la iniciativa denominada IAFFD (International Aquaculture Feed Formulation Database), liderada por las distintas asociaciones de productores de soya de los Estados Unidos y el laboratorio de Investigación en Nutrición de Peces de la universidad de Guelph, donde se ha recopilado información práctica de la composición de materias primas para acuicultura, así como los requerimientos nutricionales de las principales especies de peces y camarones de producción acuícola a nivel mundial (Rodríguez, 2019)

Las materias primas que conformaron las dietas prácticas fueron de origen vegetal, animal, así como también premezclas de vitaminas y minerales, con el fin de obtener los niveles deseados de nutrientes y energía requeridos por la especie (tabla 13). Las materias primas usadas para la formulación de las dietas fueron insumos de alta calidad con sus respectivas certificaciones de calidad, donde se indicaron las condiciones de recibo, requisitos químicos y microbiológicos, las recomendaciones de almacenamiento, entre otras. Ver Anexo G. Estas materias primas fueron suministradas por la planta de procesamiento para la fabricación de alimentos balanceados para animales ITALCOL S.A. certificada por BAP (Best Aquaculture Practices) Ver Anexo H, planta ubicada en el municipio de Palermo, Huila.

La harina de balú usada para la formulación de las cuatro dietas con lectina, correspondió al lote VI descrito en el capítulo 2 de este trabajo, que se almacenó a 4°C hasta su uso. A

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

partir de la patente número WO 2017/109587 AI donde menciona que la dosis de 30 µg/ml de lectinas obtenida de *Erythrina crista-galli*, redujo la adhesión de *S. agalactiae* IbST260 al epitelio intestinal (Iregui & Barato, 2017) y el resultado del grupo de investigación en proteínas (GRIP) del departamento de química de la UNAL que confirmó la presencia de lectina en la harina de *Erythrina edulis*, se calcularon y diseñaron dietas prácticas con inclusión de diferentes dosis de lectina (15, 30, 150 y 300 µg) para alevinos de tilapia.

Tabla 13. Materias primas usadas para la formulación de dietas prácticas con inclusión de harina de balú (*Erythrina edulis*) para evaluación de toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), excepto la dieta control.

MATERIA PRIMA / NUTRIENTE (%)	Dietas prácticas – dosis lectina <i>E. edulis</i>				
	CONTROL	15 µg	30 µg	150 µg	300 µg
Harina de vísceras de pollo	30,22	30,24	30,27	30,51	30,82
Torta de soya americana	27,00	27,00	27,00	27,00	27,00
Arroz cristal	18,25	18,03	17,78	15,82	13,35
Harina de pescado atún	17,93	17,93	17,93	17,93	17,93
Hemoglobina	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Aceite de soya	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Harina de balú	0,00	0,21	0,43	2,14	4,29
DL Metionina 99%	0,202	0,202	0,201	0,207	0,217
Premezcla Vitamínica ITALVIT 1.5Kg/Tn	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Premezclas minerales ITALMIN 1Kg/Tn	0,120	0,120	0,120	0,120	0,120
Cloruro de colina 60%	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Antioxidante	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025

Fuente: Vela H. 2022

Las dietas fueron procesadas en la Unidad de Procesamiento de Alimento (UPA) del Laboratorio de Nutrición Acuícola de la Facultad de Medicina Veterinaria de Zootecnia. Los ingredientes de cada una de las dietas (micronutrientes, la harina de balú y las premezclas de vitaminas y minerales) fueron pesados individualmente, en una balanza analítica de precisión de $\pm 0.0002g$ (OHAUS PX84/E). Para los macronutrientes se usó una balanza de precisión de $\pm 0,1 g$ (RADWAG WPT 6C/1). Los ingredientes fueron molidos y tamizados para obtener producto homogéneo sin impurezas y luego mezclados en seco, iniciando con la harina de arroz cristal, vitaminas, minerales y la harina de balú, excepto la dieta control, y finalmente los macronutrientes para lograr una mezcla homogénea.

Se continuó con la adición de aceite de soya y un 22% de agua según protocolo de la UPA. Finalmente se pesó cada dieta y se almacenaron refrigeradas a 4°C en bolsas herméticas para su posterior uso como se ve en la figura 16.

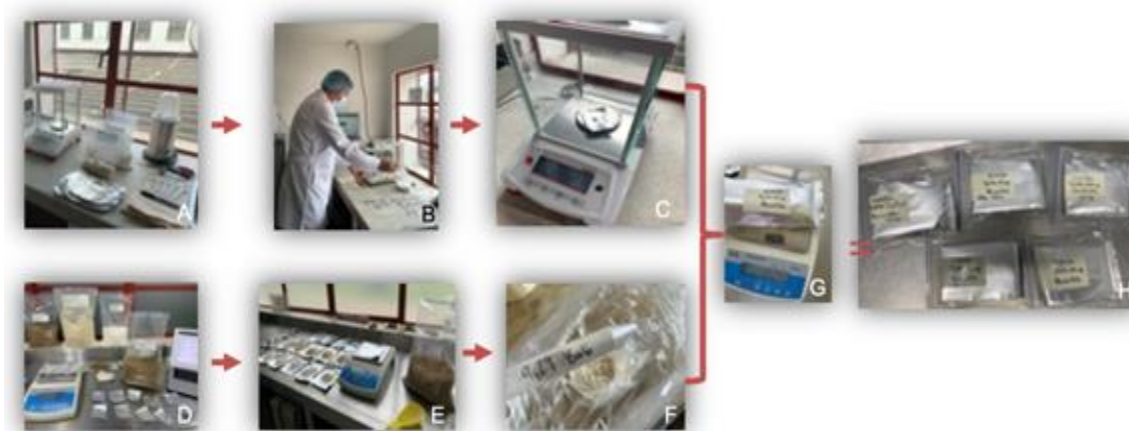


Figura 16. Proceso de pesaje y preparación de dietas prácticas con inclusión de lectina en cuatro dosis diferentes (15, 30, 150 y 300 µg/ml). **A - B.** Pesaje de micronutrientes. **C.** Balanza analítica OHAUS PX84/E. **D - E.** Pesaje macronutrientes en una balanza RADWAG WPT 6C/1. **F.** Adición de harina de balú a la mezcla de la dieta con 300 µg/ml. **G - H.** Pesaje y empaque de dietas para refrigerar. Fuente: Vela H. 2022

3.3.4 Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con cuatro dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml) y lectina de *E. crista-galli* (ECL 30ug/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

La prueba se realizó en el Bioterio de la Corporación Patológica Veterinaria CORPAVET®-MOLECULARVET®, basada en las directrices de (OECD, 2019). Se utilizaron 163 alevinos de tilapias de los lotes IV, V, VI y X de larvas criadas en bioterio, con un peso promedio inicial de $8,0 \pm 6,0$ g/pez, distribuidos en 22 tanques con 20 litros de agua, con sistema estático, en algunos con divisiones en malla para evitar los ataques producto de la territorialidad como se observa en la figura 17. Se balanceó la biomasa logrando una

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

densidad entre $2,86 \pm 1,65$ g/L a $3,45 \pm 1,08$ g/L de acuerdo con las recomendaciones de la OECD 2019, de no sobrepasar los 5 g/L. Los parámetros iniciales de esta prueba se presentan en la tabla 14.

Los alevinos seleccionados para los ensayos contaban con buen estado sanitario y con un periodo mínimo de adaptación a los tanques de 10 días, con sifones, limpieza de filtros y recambios de agua del 10% y finalmente con 24 horas de ayuno, descartando excedentes de comida y heces antes de dar inicio a la prueba para lograr una prueba bajo las directrices de la (OECD, 2019),

Los peces se expusieron por 96 horas a las dietas prácticas con 15, 30, 150 y 300ug/l de adición de lectina de harina de semilla de *E. edulis* (EEL) y a 30ug/l de lectina de *E. cristagalli* no conjugada (ECL L-1140-10, Vector Lab) mezclada con el alimento comercial suministrado al grupo control. Se registraron las mortalidades y las anomalías visibles relacionadas con la apariencia y el comportamiento de las tilapias nilóticas.

Tabla 14. Parámetros iniciales evaluación de toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis* en cuatro dosis diferentes de lectinas (15, 30, 150 y 300 µg/ml) y ECL 30ul/ml, en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

PARÁMETROS	Tx I 15 µg EEL	Tx II 30 µg EEL	Tx III 150 µg EEL	Tx IV 300 µg EEL	Harina 45% 30 µl/ml ECL	Harina Control sin lectina	Dieta Práctica sin lectina	Harina 45% Italcol S.A.
Nº Peces Iniciales	8	8	6	6	8	6	7	10
Peso inicial (g)	7,8	7,6	7,7	9	8,2	7,3	7,4	6,4
Biomasa inicial (g)	60,8	60,3	46,2	54	62,2	43,8	51,8	64
% Alimento/Biomasa	8	8	6	6	8	6	8	8
Ración/día (g)	4,86	4,82	2,77	3,24	4,98	2,63	4,14	5,12
Nº Comidas/día	3	3	3	3	3	3	3	3
Biomasa (g/l)	3,04	3,02	2,31	2,7	3,11	2,19	2,59	3,2
Repeticiones x Tratamientos	3	3	3	3	3	3	2	2

Fuente: Vela H. 2022

En esta prueba se establecen tres tratamientos con tres replicas para cada uno, así; Tratamiento I (Dieta Práctica Control sin harina de semillas de *Erythrina edulis*), Tratamiento II (Dieta Práctica Dosis 150 μg con harina de semillas de *Erythrina edulis*) y Tratamiento III (Dieta Práctica Dosis 300 μg con harina de semillas de *Erythrina edulis*). Todas las unidades de cultivo contaron con las adecuaciones mencionadas en el levante y cría de larvas y se estableció parámetros físico químicos del agua en todos los tanques.

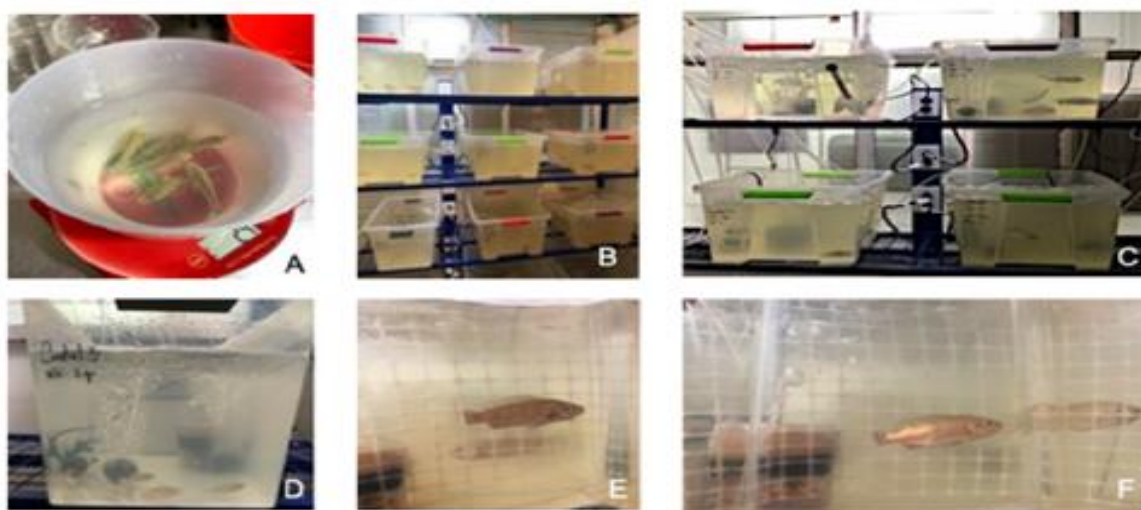


Figura 17. Proceso de pesaje, selección y distribución de animales para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Pesaje de alevinos de tilapia. **B – C.** Distribución de tanques y tratamientos de la evaluación. **D.** Alevinos de tilapia. **E – F.** Tanques con divisiones en malla para evitar ataques de territorialidad. Fuente: Vela H. 2022

La alimentación de los animales de cada tratamiento se llevó a cabo tres veces por día, durante 4 días, lo cual correspondió al periodo de la evaluación. El primer suministro del día se realizó vía intragástrica, con una micropipeta NICHIRYO 5000 graduada de 200 μl , asegurando el ingreso de una papilla limpia, cremosa y homogénea, producto de la mezcla de la dieta y agua a una relación de 1:4 respectivamente en el estómago. Esta mezcla se realizó en un tubo Falcon de 15 ml y se mezcló con la ayuda de un Vortex Thermo Scientific M37615. Para esta primera alimentación se anestesiaron a los animales con una solución stock de 100mg/ml de Aceite de clavo – Eugenol por un litro de agua. Se tomaron 50 μl de

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

la papilla y se ofreció vía intragástrica a los alevinos, los cuales fueron tomados de la parte dorsal y expuestos ventralmente para la introducción de la punta con el alimento, como se evidencia en la figura 18. No se presentaron daños o mortalidades por este procedimiento. Para las otras dos comidas del día se pesó la cantidad calculada de cada dieta, se mezcló con agua a una relación de 1:3 respectivamente, logrando una papilla que se introdujo en una jeringa de 5 ml para suministrarla a los animales, cortando el suministro aproximadamente cada 5 mm aproximadamente como se ve en la figura 19, asimilando un pellet y evitando el deterioro del agua si se suministra en harina. Hubo consumo total del alimento por parte de los animales de los 9 tanques.

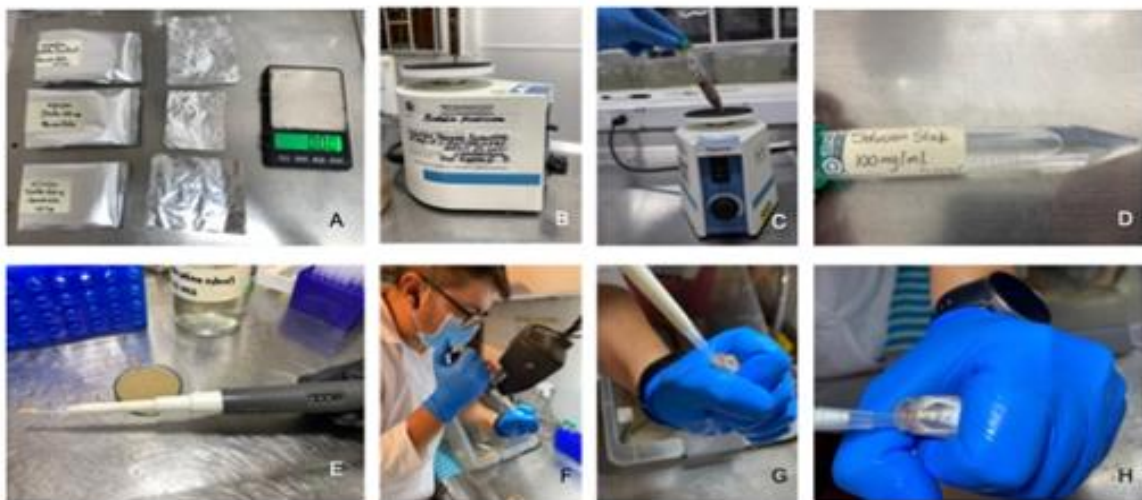


Figura 18. Primera alimentación vía intragástrica de animales para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 $\mu\text{g/ml}$) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Pesaje de raciones de cada dieta práctica. **B – C.** Mezcla de alimento con Vortex Thermo Scientific M37615. **D.** Solución stock Eugenol. **E.** Punta de micropipeta con dosis primera comida (50 μl). **F a H.** Alimentación vía intragástrica de alevinos. Fuente: Vela H. 2022



Figura 19. Preparación de alimento para la 2.^a y 3.^a comida del día para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A - E.** Mezcla dieta práctica con agua relación 1:4 respectivamente. **G a H.** Embalaje de la papilla en jeringa de 5 ml. **I.** Suministro de alimento. Fuente: Vela H. 2022

En esta evaluación se realizó observación de los peces que Consumían el alimento (AC), peces que Repetían el consumo (AR) y los peces que Regurgitaban (AG) y/o rechazaban, en las dos últimas comidas del día. No se tuvo en cuenta el cálculo de manera experimental del porcentaje del Alimento Consumido (AC), total del Alimento Suministrado (AS) ni el Consumo Aparente (CA), dado que el alimento preparado se logra observar que es consumido o no por el animal.

Los principales parámetros físico-químicos de agua se mantuvieron estables durante la evaluación.

Finalmente se realizó sacrificio de los animales mediante sobredosis de anestesia con Eugenol y corte de la médula espinal para luego realizar observación en fresco de todos sus órganos, especialmente estómago e intestino, donde se espera observar consumo del alimento ofrecido. Se enviaron muestras de tracto gastrointestinal a análisis para descartar posibles lesiones macro e histopatológicas.

▪ Análisis estadístico

Los datos obtenidos del aseguramiento del consumo de dietas prácticas sin dosis y con dosis de 150 y 300 µg/ml de lectina a través de harina de semillas *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), como peces que consumieron, peces que repitieron, peces que regurgitaron y el peso obtenido entre tratamientos, se sometieron a una ANOVA y la normalidad de los residuos se evaluó y confirmó mediante la prueba de Shapiro Wilk. Así mismo, los datos se sometieron a una comparación de medias usando la prueba Tukey HSD con probabilidad de $p < 0,05$. Para el análisis de los datos se utilizó el software estadístico IBM SPSS Statistics.

3.3.5 Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Esta evaluación se desarrolló bajo las mismas directrices de (OECD, 2019) que se usaron en las pruebas anteriores y se llevó a cabo en el Bioterio de la Corporación Patológica Veterinaria CORPAVET®- MOLECULARVET®. A diferencia de las anteriores se usaron dos dietas prácticas con inclusión de dosis más bajas de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina biotinilada de *Erythrina crista-galli* (ECL) a una concentración de (30 µg/ml) según los resultados presentados en la patente número WO 2017/109587 AI (Iregui & Barato, 2017).

Con un total de 109 tilapias nilóticas resultantes de los lotes VI y X de larvas criadas en el Bioterio, con peso promedio inicial de $7,8 \pm 3,8$ g/pez, con buen estado sanitario y con un periodo mínimo de adaptación a los tanques de 10 días y con 24 horas de ayuno, descartando excedentes de comida y heces antes de dar inicio a la prueba para lograr una prueba bajo las directrices de la (OECD, 2019), se distribuyeron en un sistema estático de 13 tanques con 20 litros de agua, en algunos con divisiones en malla para evitar los

ataques producto de la territorialidad y con cargas por unidad de volumen no mayor a 3,45 \pm 1,08 g/l, con número de animales y de peso similar, evitando sobrepasar los 5 g/l de densidad, de acuerdo a las recomendaciones de la (OECD, 2019), como lo evidencia la tabla 15, donde se registran los datos iniciales de los tratamientos que se usaron en esta prueba.

Los tratamientos definidos para esta prueba fueron cinco: Tratamiento I (Control harina 45% comercial ITALCOL S.A.), Tratamiento II (Dieta práctica Dosis 0), Tratamiento III (Dieta Práctica Dosis 15 μ g) con tres replicas, Tratamiento IV (Dieta Práctica Dosis 30 μ g) con tres replicas y Tratamiento V (Dieta Práctica Dosis ECL 30 μ l/ml) con tres replicas; todas las unidades de cultivo contaron con las adecuaciones mencionadas en el levante y cría de larvas y se midieron parámetros físico químicos del agua en todos los tanques.

Tabla 15. Parámetros iniciales evaluación de toxicidad oral aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis* en dos dosis diferentes de lectinas (15 y 30 μ g/ml) y lectina ECL, en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

PARÁMETROS	Tratamiento I Harina 45% Italcol S.A.	Tratamiento II Dieta Práctica Dosis (0 μ g)	Tratamiento III Dieta Práctica Dosis (15 μ g)	Tratamiento IV Dieta Práctica Dosis (30 μ g)	Tratamiento V Harina 45% Dosis (30 μ l/ml) Lectina ECL
Nº Peces Iniciales	10	7	8,3	8,3	8,3
Peso inicial (gr)	6,4	7,4	7,8	7,6	8,2
Nº Días prueba piloto	4	4	4	4	4
Biomasa inicial (gr)	64,0	51,8	60,8	60,3	62,2
% Alimento/Biomasa	8	8	8	8	8
Ración/día	5,12	4,14	4,86	4,82	4,98
Nº Comidas/día	3	3	3	3	3
1ra Comida (50 μ l) (gr)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Volumen (lts)	20	20	20	20	20
Densidad (gr/lts)	3,20	2,59	3,04	3,02	3,11
Repeticiones x Tratamientos	2	2	3	3	3

Fuente: Vela H. 2022

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

De las tres comidas que se ofrecieron a los cinco tratamientos, la primera comida del día se hizo vía intragástrica, con una micropipeta NICHIRYO 5000 graduada de 200 μ l, asegurando el ingreso de una papilla limpia, cremosa y homogénea, producto de la mezcla de la dieta y agua a una relación de 1:4 respectivamente, en el estómago. Esta mezcla se realizó en un tubo Falcon de 15 ml y se mezcló con la ayuda de un Vortex Thermo Scientific M37615. Para esta primera alimentación se anestesió a los animales con una solución stock de 100mg/ml de Aceite de clavo – Eugenol por un litro de agua. Se tomó 50 μ l de la papilla y se ofreció vía intragástrica a los alevinos, los cuales fueron tomados de la parte dorsal y expuestos ventralmente para la introducción de la punta con el alimento, como se evidencia en la figura 20. No se presentaron daños o mortalidades por este procedimiento.

Para la alimentación de los tratamientos I y II, los cuales contaban con una sola réplica, fue ofrecida la primera comida vía intragástrica y la otra se suministró normalmente.

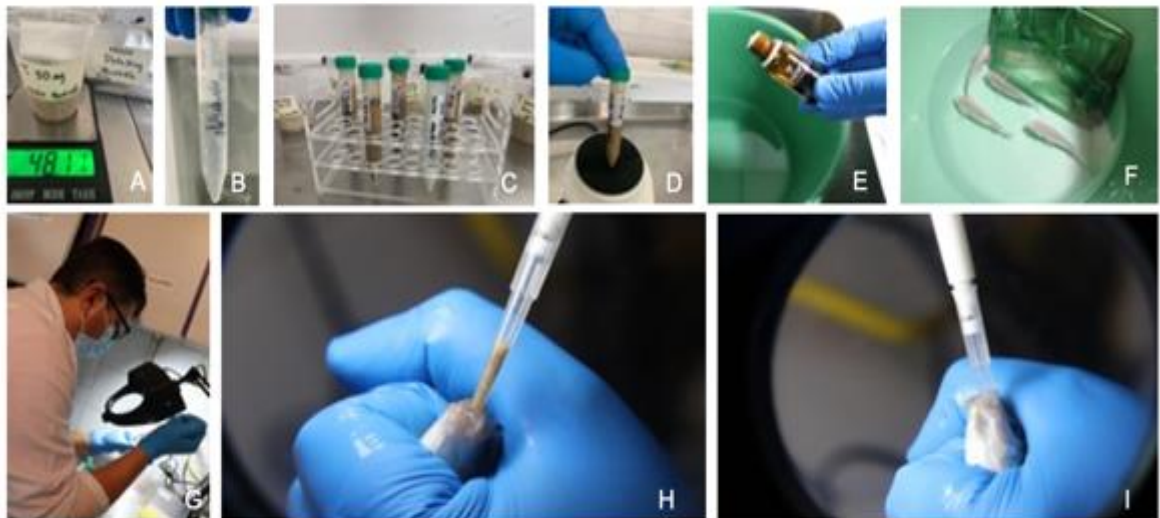


Figura 20. Preparación de alimento para la 1.^a comida del día vía intragástrica, para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 μ g/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Pesaje dieta práctica. **B.** Solución Salina Estéril (9ml) **C.** Alimento preparado. **D.** Mezcla de alimento Vortex. **E -F.** Sedación alevinos stock Eugenol. **G a I.** Suministro primera alimentación vía intragástrica. Fuente: Vela H. 2022.

La preparación del alimento para el tratamiento V se basó en el cálculo de la ración diaria de harina 45% comercial Itacol de las tres replicas, como lo muestra la tabla 16. Se tomaron 300 μ l de ECL Biotinilada de Vectorlabs y se mezcló con suero fisiológico estéril a una relación de 1:3, a razón de la dosis (30 μ g/ml) mencionada en la patente número WO 2017/109587 A1 (Iregui & Barato, 2017), como se observa en la figura 21. La papilla tanto para la primera alimentación intragástrica y las dos restantes comidas se mezclaron también a una relación de 1:3 de harina 45% comercial y la ECL en solución salina estéril respectivamente. En la figura 22 se evidencia la preparación de las siguientes raciones.

Tabla 16. Datos para la preparación del alimento del tratamiento V, con Lectina *Erythrina crista-galli* (ECL) (30 μ l/ml) para en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Tanque	Ración/ día Hna. 45% Itacol (gr)	Dosis Patente ECL (30 μ l/ml)	ECL/Tanque (μ g)	ECL/Tanque (μ l)
R1	13,00	30	455	91,00
R2	16,00	30	560	112
R3	13,00	30	455	91
TOTAL			1470	294,00

Fuente: Vela H. 2022



Figura 21. Preparación del alimento del tratamiento V, con lectina *Erythrina crista galli* (ECL) (30 μ l/ml) para en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Muestra de SSE (100 ml) . **B.** Micropipeta con lectina (300 μ l) **C - D.** Lectina de Vectorlabs (ECL). **E.** Mezcla de lectina en SSE. **F.** Pesaje de harina 45% para mezclar con lectina. Fuente: Vela H. 2022.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Las otras dos comidas del día fueron ofertadas de la misma manera como se describe en la prueba inmediatamente anterior, con una jeringa de 5 mL, como lo presenta la figura 22. Hubo consumo total del alimento por parte de los animales de los 12 tanques.

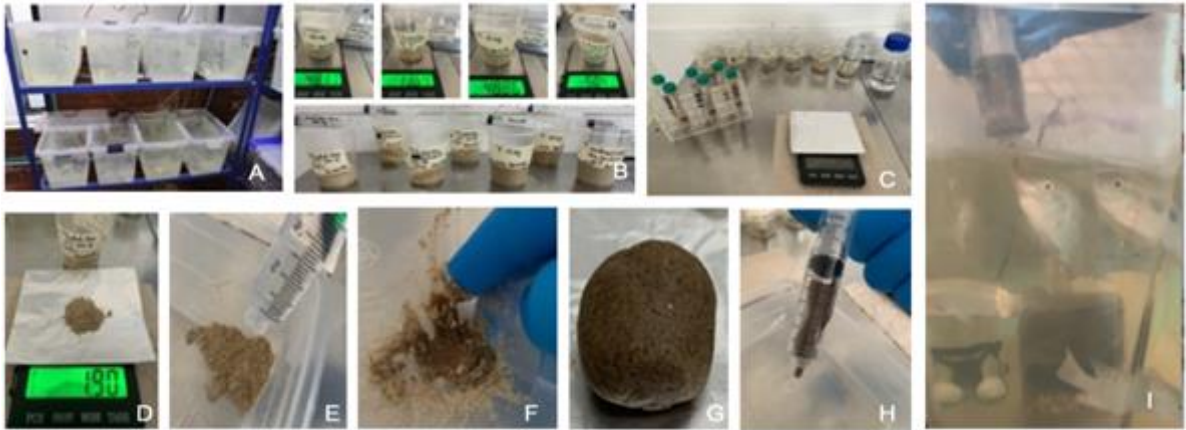


Figura 22. Preparación de alimento para la 2.^a y 3.^a comida del día para la evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/mL) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Tanques. **B.** Pesaje de las dietas prácticas. **C.** Alimento preparado. **D.** Pesaje dieta práctica. **E - F.** Mezcla de alimento con SSE. **G.** Papilla de alimento preparado. **H.** Alimento embalado en jeringa 5 mL. **I.** Alimentación de alevinos de tilapia. Fuente: Vela H. 2022.

En esta evaluación se realizó observación de los peces que Consumían el alimento (AC), peces que Repetían el consumo (AR) y los peces que Regurgitaban (AG) y/o rechazaban, en las dos últimas comidas del día. No se tuvo en cuenta el cálculo de manera experimental del porcentaje del Alimento Consumido (AC), total del Alimento Suministrado (AS) ni el Consumo Aparente (CA), dado que el alimento preparado se logra observar que es consumido o no por el animal.

Los principales parámetros físico-químicos de agua se mantuvieron estables durante la evaluación. Finalmente se realizó sacrificio de los animales mediante sobredosis de anestesia con eugenol y corte de la médula espinal para luego realizar observación en fresco de todos sus órganos, especialmente estómago e intestino, donde se buscó verificar

el consumo del alimento ofrecido; los tejidos se enviaron a análisis para descartar posibles lesiones macro e histopatológicas de tracto gastrointestinal.

▪ **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de la inclusión de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), como peces que consumieron, peces que repitieron, peces que regurgitaron y mortalidad, se sometieron a un ANOVA de una vía con arreglo factorial 2 x 5, donde se estudiaron dos tipos de harinas y cinco niveles de inclusión. El supuesto de homogeneidad de varianzas se verificó mediante la prueba de Levene y la normalidad de los residuos se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Para cada modelo se verificó distribución normal. Así mismo, los datos se sometieron a una comparación de medias usando la prueba Tukey HSD con probabilidad de $p < 0,05$. Para el análisis de los datos se utilizó el software estadístico IBM SPSS Statistics.

Para la evaluación histopatológica se analizaron las diferencias con estadística no paramétrica al asignar a variables cualitativas calificadores cuantitativos (Kruskal-Wallis)

3.3.6 Evaluación histopatológica de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con cuatro dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Se tomaron muestras de cerebro, ojo, branquias, hígado, riñón, bazo, estómago e intestino de los peces alimentados con las dietas prácticas al inicio y final del ensayo que fueron fijados en formol buferado al 10% y con posterior procesamiento histotécnico para obtener

láminas con coloración H&E para evaluación histopatológica. Se construyó un sistema de puntuación de lesiones que incluyó la evaluación de los siguientes cambios microscópicos con calificación de severidad y extensión, así:

Lesiones a evaluar:

En tracto gastrointestinal (TGI):

1. Muerte celular epitelial
2. Hiperplasia epitelial
3. Degeneración de las capas musculares

Adicionalmente, tanto en (TGI) como en los demás órganos se calificó:

4. Inflamación
5. Necrosis

Calificación de lesiones:

- 0: Severidad y extensión ausente
1: Severidad leve y extensión focal
2: Severidad moderada y extensión multifocal
3: Severidad moderada a severa y lesión extensa
4: Severo y generalizado

3.4 Resultados

3.4.1. Calidad de agua

Los principales parámetros físico-químicos de agua utilizada en todas las pruebas donde se sembraron las larvas de tilapias se mantuvieron estables durante la evaluación (Tabla 17).

Tabla 17. Parámetros Físico-Químicos del agua de tanques para la cría de los ocho lotes de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) criadas en el bioterio.

PARÁMETROS CALIDAD DE AGUA					
LOTES	Fecha	Temperatura (°C)	OD (ppm)	% Saturación	pH
LOTE I	15/01/20	28,68	4,78	57,63	7,43
LOTE II	3/10/20	28,58	4,68	58,21	7,37
LOTE III	1/02/21	28,59	4,8	58,64	7,51
LOTE IV	21/06/21	28,66	4,63	57,91	7,32
LOTE V	6/08/21	28,65	4,65	58,56	7,23
LOTE VI	27/08/21	28,58	4,74	57,65	7,36
LOTE X	9/03/22	28,68	4,76	59,73	7,5
LOTE XI	16/05/22	28,68	4,52	58,93	7,38
PROMEDIOS		28,64	4,70	58,41	7,39

Fuente: Vela H. 2022

En la tabla 18 se muestran los intervalos de confianza mediante una prueba de T- Student para comparar las medias de cada parámetro físicoquímico del agua contenida en los tanques durante la cría de larvas. En ella se observa los límites inferior y superior de cada parámetro. No fueron encontradas diferencias de los datos obtenidos, tanto para temperatura (°C), oxígeno disuelto (OD), porcentaje de saturación de oxígeno (%) y pH.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Los parámetros estuvieron dentro del rango para la cría de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) y no se encontraron diferencia significativa entre lotes.

Tabla 18. T - Student. Límites Inferior y Superior de los intervalos de confianza de la diferencia de los parámetros físico químicos del agua en la cría de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en el Bioterio de CORPAVET®.

Parámetros	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Temperatura	1752,703764	7	0,000	28,638	28,599	28,676
Oxígenos Disuelto	141,5595763	7	0,000	4,695	4,617	4,773
Saturación	231,5179373	7	0,000	58,408	57,811	59,004
pH	225,7859501	7	0,000	7,388	7,310	7,465

No fueron encontradas diferencias significativas para los parámetros físico químicos del agua de todas las pruebas realizadas con respecto al consumo (ANOVA) y evaluación histopatológica de toxicidad aguda de *E. edulis* (Prueba de Kruskal-Wallis).

3.4.2. Estado sanitario de tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) usadas en todas las evaluaciones de toxicidad aguda de *Erythrina edulis*.

Al momento de la recepción de las larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en el Bioterio de la corporación veterinaria CORPAVET, se realizó análisis en fresco, de histopatología, RT-PCR para virus de la tilapia del lago (TiLV) y aislamiento bacteriológico

para evaluar su estado sanitario. Todos los lotes con los que se trabajaron las evaluaciones y pruebas piloto de toxicidad presentaron **resultados negativos**, como se evidencia en la tabla 19 y Anexo I.

Tabla 19. Resultados de laboratorio del estado sanitario de los lotes de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) criadas en el Bioterio.

LOTE LARVAS	ORIGEN	INGRESO	BIOLOGIA MOLECULAR	RESULTADO
		LABORATORIO FECHA	RESULTADO N° REGISTO	
I	HUILA	15/01/20	CM-20-009	NEGATIVO - ARN TiLV
II	HULA	3/10/20	CM-20-0610	NEGATIVO - ARN TiLV
III	HULA	1/02/21	CM-21-066	NEGATIVO - ARN TiLV
			CM-21-067	
IV	HULA	21/06/21	CM-21-068	NEGATIVO - ARN TiLV
			CM-21-344	
V	HULA	6/08/21	CM-21-471	NEGATIVO - ARN TiLV
			CM-21-472	
VI	HULA	27/08/21	CM-21-473	NEGATIVO - ARN TiLV
			CM-21-492	
			CM-21-493	
X	HUILA	9/03/22	CM-21-494	NEGATIVO - ARN TiLV
XI	HUILA	16/05/22	CM-22-0083	NEGATIVO - ARN TiLV
			CM-22-0178	NEGATIVO - ARN TiLV

Fuente: Vela H. 2022

Los primeros seis lotes con resultado negativo para RT-PCR para virus de la tilapia del lago (TiLV) y buen estado sanitarios. En el 2022 se realizó la cría de los dos últimos lotes, 9 de marzo (Lote X) y del 13 de mayo (Lote XI), lotes con resultado negativo para RT-PCR para virus de la tilapia del lago (TiLV).

En la figura 23 se registra la curva de crecimiento de larvas del lote II 02-10-20 de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en el Bioterio de CORPAVET®.

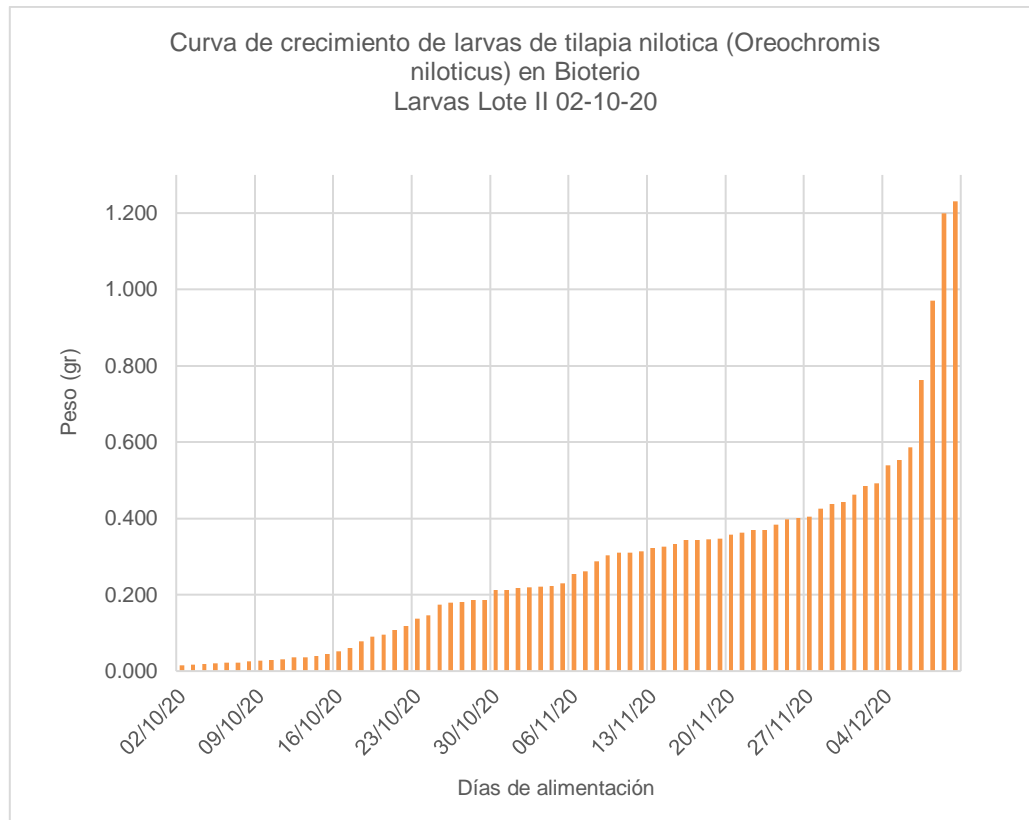


Figura 23. Curva de crecimiento de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en Bioterio de CORPAVET®. Larvas Lote II 02-10-20 – Peso: >1,2 g. Por Hernán A. Vela M.

3.4.3. Prueba piloto evaluación de la toxicidad de la harina de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

- **Consumo harina**

La prueba de normalidad Shapiro-Wilk mostró comportamiento normal de los datos, ver tabla 20. Fue realizado Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía, con test de Tukey, con respecto al día y la hora del suministro de la harina, ver tabla 21 y 22.

Tabla 20. Resultados de la prueba de normalidad de los datos de consumo de harina de semillas *E. edulis*.

Tratamientos	Kolmogórov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Consumo porcentual aparente tratamiento 1	0,182	10	,200*	0,927	10	0,422
Consumo porcentual aparente tratamiento 2	0,183	10	,200*	0,942	10	0,572

Tabla 21. ANOVA. Consumo de harina de semillas *E. edulis* en los tratamientos con respecto al día de suministro.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Consumo porcentual aparente Tratamiento 1	Entre grupos	9,223	3	3,074	0,134	0,936
	Dentro de grupos	137,683	6	22,947		
Consumo porcentual aparente Tratamiento 2	Entre grupos	100,595	3	33,532	1,277	0,364
	Dentro de grupos	157,518	6	26,253		

Tabla 22. ANOVA. Consumo de harina de semillas *E. edulis* en los tratamientos con respecto a la hora de suministro.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Consumo porcentual aparente Tratamiento 1	Entre grupos	57,247	2	28,624	2,235	0,178
	Dentro de grupos	89,659	7	12,808		
Consumo porcentual aparente Tratamiento 2	Entre grupos	99,215	2	49,607	2,185	0,183
	Dentro de grupos	158,898	7	22,700		

Para el consumo aparente de harina en los dos tratamientos (I y II) no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$), ni con respecto al día ni a la hora en que fue suministrado el alimento. Fue verificado que hubo consumo de la harina preparada de semillas de *Erythrina edulis* por parte de alevinos de cada uno de los tratamientos.

▪ **Peso Final**

La ganancia de peso de los alevinos de tilapia nilótica de los tratamientos alimentados con harina de semillas de *E. edulis*, no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$), ver tabla 23.

Tabla 23. ANOVA. Diferencia de peso de los alevinos de tilapia nilótica por consumo de harina de semillas de *E. edulis* en los tratamientos.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Peso neto Tilapias nilóticas (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Entre grupos	0,000	1	0,000	0,100	0,768
	Dentro de grupos	0,001	4	0,000		
	Total	0,001	5			

▪ **Sobrevivencia**

No se presentaron mortalidades en ninguno de los dos tratamientos mientras se realizó la prueba piloto de toxicidad de la harina de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica.

3.4.4. Prueba piloto de evaluación de la toxicidad de la harina EXTRUIDA de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

▪ Consumo harina extruida

Para esta prueba se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía con test de Tukey con respecto al porcentaje de Consumo del alimento (AC), porcentaje de Repetición del consumo (AR), porcentaje de Regurgitación o rechazo del alimento (AG) representada en la tabla 24, además del porcentaje de consumo de harina extruida de *E. edulis* entre tratamientos, ver tabla 25. Para ninguna de las variables se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$), verificando que todos los animales consumieron el alimento extruido de harina de semillas de *E. edulis*.

Tabla 24. ANOVA. Diferencia de variables de los alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) por consumo, repetición y regurgitación de harina EXTRUIDA de semillas de *E. edulis*.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Peces que consumieron alimento (AC)	Entre grupos	8,17	1	8,167	0,188	0,687
	Dentro de grupos	173,33	4	43,333		
	Total	181,50	5			
Peces que repitieron alimento (AC)	Entre grupos	24,00	1	24,000	0,172	0,699
	Dentro de grupos	557,33	4	139,333		
	Total	581,33	5			
Peces que regurgitaron alimento (AC)	Entre grupos	40,33	1	40,333	0,976	0,427
	Dentro de grupos	82,67	2	41,333		
	Total	123,00	3			

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 25. ANOVA. Diferencia de consumo de la harina EXTRUIDA de semillas de *E. edulis* por los alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en los tratamientos.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Consumo de harina extruida entre tratamientos	Entre grupos	1014,78	1	1014,780	1,573	0,278
	Dentro de grupos	2579,80	4	644,950		
	Total	3594,58	5			

▪ **Peso Final**

La ganancia de peso de los alevinos de tilapia nilótica de los tratamientos alimentados con harina extruida de semillas de *E. edulis* y harina control comercial no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$).

▪ **Sobrevivencia**

No se presentaron mortalidades en ninguno de los dos tratamientos mientras duró la prueba piloto de toxicidad de la harina extruida de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica.

Los principales parámetros físico-químicos de agua se mantuvieron estables durante la prueba piloto. En el Anexo J se encuentra el registro de los parámetros obtenidos durante la prueba.

3.4.5. Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

▪ Consumo dietas prácticas

Para los tres tratamientos, dieta práctica sin inclusión de dosis de lectina y dietas con dosis de 150 y 300 µg/ml a través de la harina de semillas de *E. edulis*, se realizó una Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía con test de Tukey con respecto al consumo y no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos (Tabla 26). Todos los animales de cada tratamiento consumieron dieta práctica.

Tabla 26. ANOVA. Consumo de dietas prácticas sin dosis y con dosis de 150 y 300 µg/ml de lectina a través de harina de semillas de *E. edulis* por alevinos de tilapia nilótica.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Consumo de dietas prácticas sin dosis, con 150 y 300 µg/ml	Entre grupos	0,118	2	0,059	0,103	0,904
	Dentro de grupos	3,466	6	0,578		
	Total	3,584	8			

▪ **Peso Final**

Para la ganancia de peso de los alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) de los tratamientos alimentados con dietas prácticas con inclusión de lectina con harina de semillas de *E. edulis*, se realizó una Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía con test de Tukey con respecto al consumo y no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos, ver tabla 27.

Tabla 27. ANOVA. Ganancia de peso de alevinos de tilapia nilótica alimentados con dietas prácticas sin dosis y con dosis de 150 y 300 $\mu\text{g/ml}$ de lectina a través de harina de semillas de *E. edulis*.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
	Entre grupos	0,247	2	0,123	2,814	0,137
Ganancia de pesos	Dentro de grupos	0,263	6	0,044		
	Total	0,510	8			

▪ **Sobrevivencia**

No se presentaron mortalidades en ninguno de los tres tratamientos mientras se realizó la evaluación de toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 $\mu\text{g/ml}$) en alevinos de tilapia nilótica.

3.4.6. Evaluación de la toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

▪ Consumo dietas prácticas

Se realizó una Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía con test de Tukey con respecto al consumo y no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos, ver tabla 28. Los animales de los tratamientos consumieron las dietas prácticas con su respectiva dosis de lectina y la lectina ECL, fuera de la alimentación intragástrica que se les ofreció.

Tabla 28. ANOVA. Consumo de dietas prácticas con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL en alevinos de tilapia nilótica.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Consumo de dietas prácticas con dosis de lectina 15 y 30 µg/ml y lectina ECL	Entre grupos	1,059	4	0,265	1,000	0,461
	Dentro de grupos	2,117	8	0,265		
	Total	3,176	12			

▪ Peso Final

En la diferencia de peso entre los alevinos de tilapia nilótica de los tratamientos alimentados con dietas prácticas con inclusión de lectina en dosis de 15 y 30 µg/ml y con lectina de *Erythrina crista-galli* (30 µg/ml) no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$), esto a través de una prueba de Shapiro-Wilk y un Análisis de Varianza (ANOVA). Ver tabla 29.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 29. ANOVA. Ganancia de peso de alevinos de tilapia nilótica alimentados con dietas prácticas con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y lectina ECL.

Tratamientos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Ganancia de pesos	Entre grupos	5,586	4	1,396	2,423	0,133
	Dentro de grupos	4,611	8	0,576		
	Total	10,197	12			

▪ **Sobrevivencia**

No se presentaron mortalidades en ninguno de los tres tratamientos mientras se realizó la evaluación de toxicidad aguda (96 horas)(OECD, 2019) de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica.

3.4.7. Composición nutricional de las materias primas de las dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis* en 4 dosis diferentes de lectina (15, 30, 150 y 300 µg/ml).

Tabla 30. Composición nutricional de las materias primas utilizadas en la formulación de dietas prácticas para la evaluación de la toxicidad de la harina de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica.

Nutriente	Vísceras Pollo	Harina Pescado	Hemoglobina	Arroz Cristal	Torta de Soya Americana	Balú
Humedad (%)	4,71	6,57	5,02	11,69	11,55	8,14
Energía Bruta (Kcal/kg)	3964,2	4 241.64	5 295.47	3 782.63	4 184.75	3 856.35
Proteína Cruda (%)	63,4	57,46	91,58	6,91	46,48	20,27
Extracto Etéreo (%)	12,38	7,76	0,51	1,41	1,43	0,81
Fibra cruda (%)	0,29	1	0,6	0,55	3,82	7,11
E.L.N. (%)	7,85	11,35	5,09	90,56	41,9	65,05
Cenizas (%)	16,08	22,43	2,22	0,57	6,37	6,76
Calcio (%)	4,5	6,28	1,49	0,04	0,27	0,05
Fósforo Total (%)	1,7	3,14	0,23	0,26	0,62	0,26 *
fósforo Disponible (%)	1,4	3,04	0,0027	1,7	0,65	0,81
Lisina (%)	2,72	3,79	9,89	0,29	2,86	1,4
Metionina (%)	1,02	1,49	1,17	0,17	0,61	0,27
Treonina (%)	1,75	2,27	4,21	0,26	1,89	1,18
Triptófano (%)	0,4	0,63	1,25	0,12	0,68	0,13
Arginina (%)	3,7	3,33	3,57	0,55	3,42	1,14
Valina (%)	2,08	2,52	8,88	0,4	2,36	1,13
Isoleucina (%)	1,79	2,23	1,01	0,31	2,23	1,05
Leucina (%)	3,91	3,76	13,25	0,55	3,57	1,67

Fuente: NCR, 2011 * (Espinoza et al., 2021; Quintero et al., 2013)

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 31. Composición nutricional de las dietas utilizadas para la evaluación de la toxicidad de la harina de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica.

Nutriente	Control	15 µg	30 µg	150 µg	300 µg
Energía Bruta (Kcal/Kg)	4471,631	4471,987	4472,54	4476,57	4481,557
ED Tilapia (Kcal/Kg)	3656,103	3656,124	3656,242	3656,844	3657,53
Proteína Cruda (%)	47,48	47,517	47,563	47,933	48,399
Extracto Etéreo (%)	7,685	7,685	7,687	7,703	7,723
Ac. Linoleico (C18:2n6) (%)	1,111	1,11	1,11	1,106	1,102
Fibra Cruda (%)	1,39	1,404	1,418	1,53	1,67
Cenizas (%)	10,205	10,221	10,239	10,382	10,563
Calcio (%)	2,421	2,422	2,423	2,434	2,448
Fosforo Total (%)	1,36	1,361	1,361	1,366	1,372
Lisina (%)	2,956	2,958	2,962	2,988	3,022
Metionina (%)	1,09	1,09	1,09	1,1	1,115
Treonina (%)	1,825	1,827	1,829	1,85	1,876

Fuente: (Rodríguez, 2022)

3.4.7. Evaluación histopatológica de la toxicidad aguda

En cerebro, ojo, branquias, hígado, riñón y bazo no se observaron lesiones relevantes en ninguno de los grupos experimentales, ni en el control.

En estómago e intestino las lesiones de hiperplasia epitelial y degeneración de las capas musculares no se observaron en ninguno de los grupos experimentales, ni en los controles, ni en los tratados como evidencia las figuras 24 A y B.

En estómago e intestino tanto del grupo control negativo, cómo de los 4 grupos experimentales (15ug/ml, 30ug/ml, 150ug/ml y 300ug/ml de EEL) se observó presencia de muerte celular epitelial, inflamación y necrosis como se observa en la figura 24, en grados de severidad y extensión calificados entre 1 y 3, Ver Anexo K.

No se observaron diferencias entre los grupos experimental y controles con lesiones relacionadas con la toxicidad de las dietas prácticas.

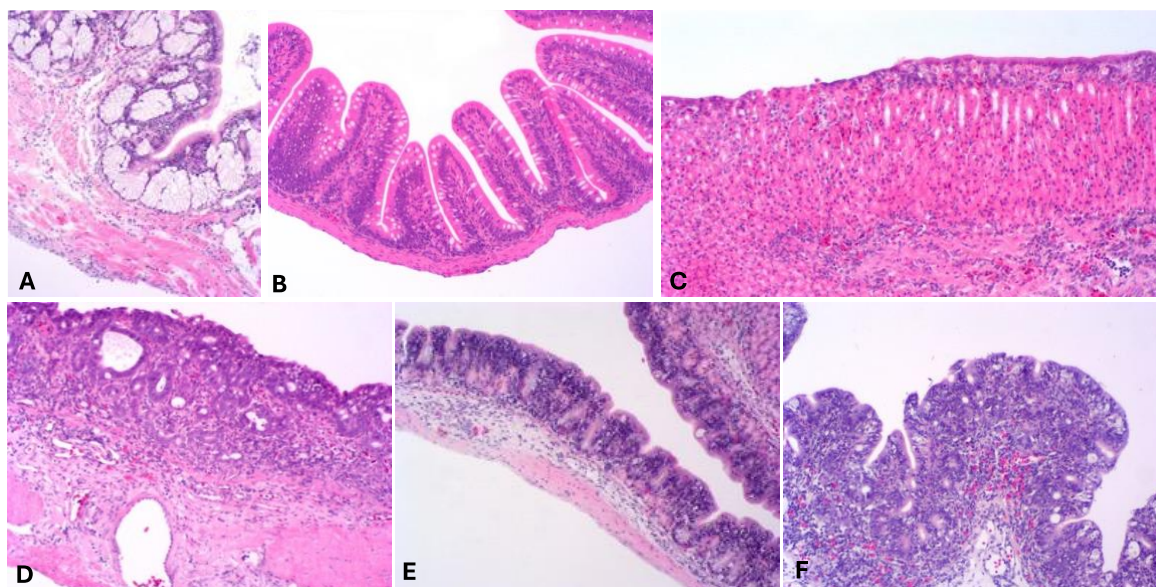


Figura 24. Estómago e intestino de alevinos de tilapia nilótica tras el consumo de dieta control (A y E) y dietas prácticas con inclusión de *Erythrina edulis* lectina (EEL) en concentración de 15ug/ml (F), 30ug/ml, 150ug/ml (B) y 300ug/ml (C y D), H&E. **A.** Estructura normal del estómago de un alevino del grupo control. Se observa la linealidad del epitelio y conformación normal del tejido glandular de la submucosa. **B.** Estructura normal del intestino de un alevino del grupo alimentado con dieta práctica con inclusión de 150ug/ml de EEL. Se observa normalidad en la arquitectura del tejido con linealidad del epitelio y grosor normal de las capas musculares de la pared intestinal. **C.** Estómago de alevino alimentado con dieta práctica con inclusión de 300ug/ml de EEL. Se observa pérdida de continuidad del epitelio gástrico, con foco de necrosis, infiltrado inflamatorio principalmente linfocítico de forma leve a moderada y multifocal. **D.** Estómago de alevinos de tilapia con dieta práctica con inclusión de 300ug/ml de EEL. Se observa necrosis y pérdida de continuidad del epitelio, infiltrado principalmente linfocítico en mucosa y submucosa y dilatación de las glándulas gástricas. **E.** Intestino de alevinos de tilapia con dieta control. Conservación de la linealidad del epitelio intestinal con moderada muerte celular epitelial e infiltrado linfocítico multifocal en mucosa y submucosa. **F.** Intestino de alevinos de tilapia alimentados con dieta práctica con inclusión de 15ug/ml de EEL. Se observa muerte celular epitelial, necrosis e infiltrado linfocítico severo de la mucosa y submucosa con fotos de hemorragia. Fuente: Barato P. 2022

3.5 Discusión

3.5.1. Cría de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

En las investigaciones desarrolladas en acuicultura es común observar cambios constantes en temperatura (°C), oxígeno disuelto (OD), porcentaje de saturación de oxígeno (%) y pH, por una gran variedad de factores, iniciando por los mismos animales, por lo que la toxicidad de sustancias que estén en contacto con el agua también presentará cambios en sus concentraciones.

Boyd & Tucker (1998) definen la calidad de agua como el conjunto de las variables físicas y químicas que influyen en la producción de especies acuáticas, siendo que, las prácticas de manejo de cultivo de peces tienen como objetivo mantener esas variables en el rango adecuado. Las variables monitoreadas en esta investigación son elementos determinantes para la buena calidad y de la evolución del crecimiento de los peces. Salazar & Flores (2015) hacen referencia a ciertos parámetros ideales para la especie, que son descritos en la tabla 32.

Tabla 32. Parámetros físico-químicos del agua ideales para el cultivo de tilapias

PARÁMETROS CALIDAD DE AGUA	
Parámetro	Rango
Temperatura de agua	Mínima: > 24 °C
Oxígeno disuelto	> 4,5 mg.L-1
pH óptimo	6,5 – 9
Visibilidad óptima	30-45 cm
Dureza (CaCO ₃)	50-350 ppm
Amonio tóxico NH ₃	0,01-0,1 mg.L-1
CO ₂	< 20 mg.L-1
Sulfatos	< 18 mg.L-1
Cloruros	< 5 mg.L-1
Fosfatos	0.6-1,5 mg.L-1
Alcalinidad	0,1-0,2 mg.L-1

Fuente: (Salazar & Flores, 2015)

Los datos obtenidos en estas evaluaciones de toxicidad indican que, si bien no existen diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos y de calidad de agua, no hay efectos negativos en los animales y es posible adicionar al alimento como fuente de nutrientes la *Erythrina edulis*. Los parámetros se encontraron dentro de los rangos óptimos para el cultivo y bienestar de la tilapia.

La tilapia es un animal relativamente resistente a enfermedades y susceptible a los parásitos protozoarios y algunas bacterias; asimismo, la calidad de agua, densidad y la alimentación ofrecida son detonantes para desatar estrés en los animales, ocasionando el inicio de un proceso infeccioso que conlleva a perder individuos de una población de estudio. Wang et al. (2022) mencionan que el estrés es un factor importante que afecta el bienestar de un animal, incluido los peces; también crea una situación fisiológica que va más allá del nivel normal de tolerancia, comprometiendo así las defensas naturales de los peces y aumentando su susceptibilidad a los patógenos.

En los experimentos que involucraron larvas y alevinos de tilapia nilótica utilizados en las diferentes pruebas de toxicidad, se redujo en lo posible todo factor que ocasionara estrés y canibalismo, logrando una sobrevivencia más del 30% en la etapa de reversión y más del 25% en alevinaje en los lotes trabajados, sin presencia de ningún signo clínico de enfermedad o mortalidad. Por lo anterior, se consideraron animales sanos, representados en resultados de evaluación en fresco, para descartar la presencia de ectoparásitos, observaciones macroscópicas externas e internas, microbiología, histopatología y PCR para TiLV.

Las lesiones histopatológicas observadas de muerte celular epitelial, necrosis e inflamación en el 100% de individuos de los grupos experimentales de las dietas prácticas y controles, están asociadas con el efecto de la calidad de las materias primas usadas para la preparación de las mismas. A pesar de que su efecto no llevó a lesiones severas que condujeran a la muerte, si evidenció la necesidad de garantizar la calidad del almacenamiento de las materias primas antes de cualquier investigación en laboratorio.

Estas lesiones agudas de toxicidad han sido reportadas en tilapia, relacionadas con el efecto de la rancidez de la dieta; sin embargo, la severidad observada en nuestro estudio es inferior a la demostrada en la literatura ante la exposición prolongada de estos componentes (Tacon, 1996).

A pesar de la presencia de las lesiones agudas por las materias primas de la dieta, no se observó ni hiperplasia epitelial y/o degeneración de las capas musculares, ni se observó mortalidad en los peces experimentales, por lo que se determina segura la dieta práctica. Se consideran estos aspectos de la calidad de las materias primas para la preparación de las dietas a usar en los ensayos posteriores (Capítulo 4).

3.5.2. Formulación y procesamiento de dietas con inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis*.

Una vez obtenidas las materias primas para el procesamiento de dietas, es necesario verificar que las materias primas a trabajar se encuentren en forma de harina, incluidas las harinas de las semillas de *Erythrina edulis*.

En este estudio se evaluaron los efectos nutricionales, hasta la toxicidad de la harina de semillas de *Erythrina edulis* en la etapa de alevinaje, donde se evidenció la voracidad y aceptación con la que consumieron cada una de las dietas ofrecidas en todas las evaluaciones, tanto de harina y harina extruida. En la figura 25 se observa el contenido gastrointestinal con material particulado compatible con material vegetal de la harina de semillas de *Erythrina edulis* suministrada, demostrando que los porcentajes de inclusión en las dietas no afectaron la palatabilidad del alimento e indica que la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) tolera bien esta materia prima; además, el uso de esta legumbre no generó diferencias significativas en crecimiento y porcentaje de sobrevivencia (100%) de los animales.

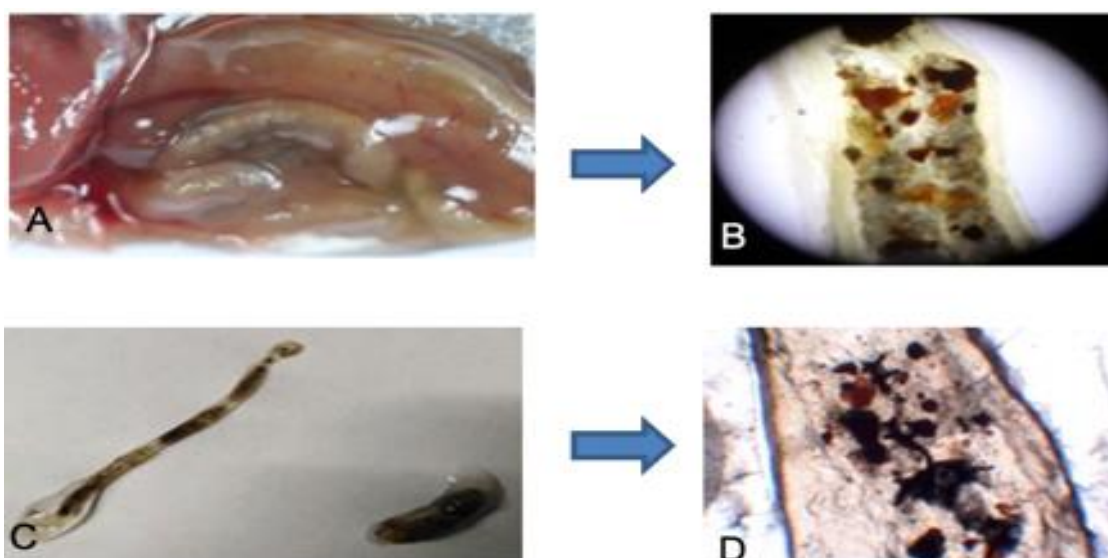


Figura 25. Evidencia de consumo de harina y harina extruida de semillas de *Erythrina edulis* de alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **A.** Contenido estomacal. **B.** Observación al microscopio de intestino de tilapia **C.** Fracción de intestino con contenido alimenticio **D.** Observación al microscopio de intestino de tilapia Fuente: Vela H. 2022

Es escasa la información referente al uso del balú (*Erythrina edulis*) en dietas para alimentación animal (Tabla 33). No existen reportes donde se hayan realizado estudios utilizando esta fuente vegetal en dietas para la alimentación de alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Tabla 33. Usos del Balú (*Erythrina edulis*) en alimentación animal

Autor	Origen	Especie	Fase	Uso
Rodrigo. (2017)	Colombia	Pollos (Cobb 500)	Engorde	Harina/Balanceado
Anaconda et al. (2018)	Perú	Cuyes mejorados	Engorde	Forraje
Delgado et al. (2019)	Colombia	Conejos	Crecimiento y engorde	Alimento paletizado
García. (2014)	Perú	Cuyes mejorados	Crecimiento y engorde	Forraje
Morrillo et al. (2013)	Venezuela	Cachaza negra	Crecimiento y engorde	Harina/Balanceado
Guevara et al. (2013)	Perú	Cuyes mejorados	Crecimiento y engorde	Harina/Balanceado
Sánchez. (2015)	Perú	Cuyes mejorados	Crecimiento y engorde	Forraje/ Balanceado

Fuente: (Quezada, 2021)

Valdez-Gonzales et al. (2021) mencionan que cuando de requerimientos proteínicos se trata, es necesario considerar la calidad de las proteínas, el contenido de energía y la digestibilidad de los ingredientes, por lo que al incluir una mezcla de cereal/leguminosa en las raciones para tilapia, se garantice que puedan contar con una cantidad importante de proteína de alto valor biológico, que se traduce en una adecuada disponibilidad de aminoácidos esenciales, ácidos grasos y alta digestibilidad de la proteína. Así, Quezada (2021) resalta el alto valor biológico de la proteína del balú, cuya proteína contribuye aproximadamente al 20% de la energía total más. El anterior valor, establecido bajo la regulación de la Unión Europea, llegando a aportar hasta el 27% de la energía total (Parlamento Europeo, Reglamento (CE) N° 1924/2006).

Nidhina & Muthukumar (2015) mencionan que en las legumbres los compuestos antinutricionales más comunes son los inhibidores enzimáticos, como tripsina, quimotripsina y α -amilasa. Los inhibidores de tripsina, son los antinutrientes más estudiados en legumbres. Estos antinutricionales se pueden controlar o eliminar con procesos de cocción, con condiciones de calentamiento (combinación tiempo-temperatura), procesos que son importantes para que se aumente la biodisponibilidad de los nutrientes, pero sin provocar una degradación significativa (Mehta, 2015).

Como lo mencionan Llanes & Toledo (2011), la inhibición de las proteasas digestivas por varias harinas vegetales (torta de soya, gluten de maíz y salvado de trigo) puede suceder en tilapia del Nilo, ya que al especie mostró gran sensibilidad a los inhibidores de las proteasas presentes en estos alimentos. Lo anterior se torna sorprendente, si se tiene en cuenta el hábito omnívoro de la especie. No obstante, los autores observaron alta resistencia de las proteasas digestivas a la inhibición que produjo la torta de soya, lo que indicó que esta fuente de proteína en tilapias tiene menos restricciones que para otros peces.

En el proceso para la obtención de la harina se realizó el secado de las semillas del balú a través de procesamiento térmico, lo que seguramente ayuda a su digestibilidad de sus proteínas, afectando o destruyendo los niveles antinutritivos, aunque la lectina, la que fue confirmada luego de todo el proceso de producción de harina y extruido, estuvo presente en las dietas prácticas utilizadas y no se presentó toxicidad de ningún tipo.

3.6 Conclusiones

La harina de semillas de *Erythrina edulis*, la harina extruida y las dietas prácticas con la inclusión de 0,21%, 0,43%, 2,14% y 4,23% de harina de *Erythrina edulis* no generaron toxicidad aguda para los alevines de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Se logró la adaptación y operación de un sistema estático para la evaluación de dietas para peces de aguas tropicales en el Bioterio de CORPAVET en la ciudad de Bogotá.

La presencia de factores antinutricionales es otra característica que se debe evaluar más a profundidad para la inclusión y formulación en dietas para tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Se debe conocer los parámetros físico-químicos del agua para asignar la causa de una toxicidad a una concentración conocida de metabolitos secundarios en sistemas de piscicultura pues siempre habrá fluctuaciones de las variables de las concentraciones de temperatura (T°), oxígeno disuelto (OD), saturación (%) y el pH que regularan esta toxicidad.

3.7 Referencias

- Boyd, C. E. (2019). Toxicidad de las sustancias químicas en la acuicultura. 2019. <https://www.globalseafood.org/advocate/toxicidad-de-las-sustancias-quimicas-en-la-acuicultura/>
- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5407-3>
- Espinoza, G., Rojas, R., & Espinoza Montesinos, F. (2021). Análisis químico proximal de granos y harina de Pajuro (*Erythrina edulis*) para elaborar bebidas proteicas. *Revista Alfa*, 5(14), 297-318. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i14.119>
- Gopalraaj, J., Jeevan, S., Suresh, M., Dyapanagoudar, P., & Pappuswamy, M. (2023). *Selected Medicinal Herbs as immunity boosters and growth promoters in Aquaculture-A Systematic Review*. 12. <https://doi.org/10.31032/IJBPAS/2023/12.6.7195>
- Iregui, C. A., & Barato, P. A. (2017). «*Glyco inhibitors of Adherence*» of *Streptococcus in Fish*. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?jsessionid=6D79EDF3D1E8E4E41116FEA96C5C1997.wapp2nB?docId=WO2017109587&recNum=73&office=&queryString=%28GBS%29&prevFilter=&sortOption=Pub+Date+Desc&maxRec=9612>
- Llanes, J., & Toledo, J. (2011). Desempeño productivo de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con la inclusión de altos niveles de harina de soya en la dieta. 2011, 45(2). <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193022245015.pdf>
- Mashav. (2023). *Intensive Fish Farming*. <https://www.sena.edu.co/es-co/Noticias/Documents/Piscicultura%20intensiva.pdf>
- MDR, & DANE. (2023). *Bullets Acuicultura Cuarto Trimestre 2023*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

-
- Mehta, B. M. (2015). Nutritional and Toxicological Aspects of the Chemical Changes of Food Components and Nutrients During Heating and Cooking. En P. C. K. Cheung & B. M. Mehta (Eds.), *Handbook of Food Chemistry* (pp. 897-936). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5_1
- Nidhina, N., & Muthukumar, S. P. (2015). Antinutritional factors and functionality of protein-rich fractions of industrial guar meal as affected by heat processing. *Food Chemistry*, 173, 920-926. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.071>
- OECD. (2019). *Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test*. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264069961-en>
- Páez, A. P. M. (2022). *Efecto de ácidos grasos poliinsaturados en el metabolismo*. Universidad de Córdoba.
- Pereira, L. S., Agostinho, A. A., & Winemiller, K. O. (2017). Revisiting cannibalism in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 27(3), 499-513. <https://doi.org/10.1007/s11160-017-9469-y>
- Pérez, G. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina Edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229-1232. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80431-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80431-8)
- Pino-Rodríguez, S., Prieto-González, S., & Pérez-Rodríguez, M. E. (2004). Género *Erythrina*: Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica. *acta farmacéutica bonaerense*, 23.
- Quezada. (2021). *Aplicaciones potenciales del chachafruto (Erythrina edulis) en la alimentación animal* [Escuela superior Politécnica]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15626/1/17T01654.pdf>
- Quintero, V., Lucas, J., & Álzate, E. (2013). Determinación de las propiedades térmicas y composicionales de la harina y almidón de chachafruto. *2012*, 14(28), 16-32.

- Raman, R. P. (2017). Applicability, Feasibility and Efficacy of Phytotherapy in Aquatic Animal Health Management. *American Journal of Plant Sciences*, 08(02), 257-287. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.82019>
- Rashidian, G., Rainis, S., Prokić, M. D., & Faggio, C. (2021). Effects of different levels of carotenoids and light sources on swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) growth, survival rate and reproductive parameters. *Natural Product Research*, 35(21), 3675-3686. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1723091>
- Rodríguez. (2022). *Allix³: Feed Formulation Software—Dietas prácticas para evaluación de toxicidad de la harina de semillas de Erythrina edulis.*
- Rodríguez, D. (2019). *Nutrición y Alimentación en Acuicultura—Fundamentos de Acuicultura continental* (Vol. 3).
- Roosta, Z., & Hoseinifar, S. H. (2016). The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of tiger barb (*Puntius tetrazona*). *Aquaculture Research*, 47(5), 1682-1686. <https://doi.org/10.1111/are.12616>
- Salazar, C., & Flores, C. (2015). Evaluación de los parámetros de crecimiento de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) Con dietas enriquecidas con dos aceites esenciales [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8736/1/UPS-QT06658.pdf>
- Tacon, A. G. J. (1996). Lipid nutritional pathology in farmed fish. *Archiv Für Tierernaehrung*, 49(1), 33-39. <https://doi.org/10.1080/17450399609381861>
- Valdez-Gonzales, Iram, Cordero Ramírez, Cuevas, & Soto. (2021). Efecto de la bioconversión de semillas de jaca (*Artocarpus heterophyllus*) en digestibilidad y rendimiento productivo en dietas para tilapia (*Oreochromis niloticus*). 2021.

Vicente, I. S. T., & Elías, F. (2014). Perspectivas da produção de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. *2014*.

Wang, B., Thompson, K. D., Wangkahart, E., Yamkasem, J., Bondad-Reantaso, M. G., Tattiyapong, P., Jian, J., & Surachetpong, W. (2022). Strategies to enhance tilapia immunity to improve their health in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, *15*(S1), 41-56. <https://doi.org/10.1111/raq.12731>

4.CAPÍTULO 4. Reto experimental con *Streptococcus agalactiae* en alevinos de tilapia (*Oreochromis niloticus*), para la evaluación de dietas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis*

4.1 Resumen

Las enfermedades de los peces de aguas cálidas están aumentando por las altas temperaturas y de paso por la resistencia bacteriana a los antibióticos que está haciendo de estas un problema de salud pública a nivel mundial. La tilapia es susceptible a bacterias como el *Streptococcus agalactiae* por la alteración de las variables que componen la producción intensiva de esta especie. La transmisión de esta enfermedad es horizontal, por contacto directo de peces infectados a través del tracto digestivo y la vía oral como la principal ruta de ingreso del patógeno al hospedero. Estos patógenos se unen a secuencias específicas de oligosacáridos en la superficie de las células animales, invadiendo, causando la infección y luego la enfermedad. En esta investigación se desarrolló el reto experimental con *S. agalactiae* de tipo salvaje WT (SaTiBe08-18) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), los cuales se alimentaron con una dieta práctica con inclusión de lectina de *Erythrina edulis* (ECL) y una lectina biotinilada de *Erythrina crista-galli* comercial. En peces la terapia glicobiológica antiadhesiva está en

desarrollo, por lo cual se requieren estudios sobre la formulación de dietas con fuentes naturales de lectinas.

Palabras clave: Dieta, inoculación, glicoinhibidores de adherencia, *Streptococcus*, tilapia.

4.2 Introducción

El cambio climático, el incremento poblacional y la intensificación en la producción acuícola mundial, más específicamente en los cultivos superintensivos, favorecen la presentación de factores de riesgo y representan un desafío para la sanidad de los peces. La tilapia es altamente susceptible a infecciones cuando las condiciones de cultivo varían, particularmente relacionadas con el aumento de temperatura, la cual incrementa la susceptibilidad a bacterias y provoca muertes, con las altas densidades de siembra, la reducción del oxígeno disuelto del agua del cultivo y el pH ácido, lo que se traduce en una alta mortalidad, sobre todo en etapas de finalización, causando lesiones que afectan la calidad de la canal, con pérdidas económicas significativas para los piscicultores (Zhao et al., 2023a). En una de las principales empresas exportadoras de tilapia en Colombia, que cuenta con una producción anual aproximada de 8000 Ton y se ha observado que la mortalidad por estreptococosis es del 30 al 35%, estimándose pérdidas por un valor de \$5 millones de dólares anuales (González, 2018). La situación anterior genera la necesidad de investigar estrategias biotecnológicas para la prevención y control de la enfermedad en la especie.

La tilapia del Nilo es considerada un pez cosmopolita, encontrándose en casi todas las regiones del mundo (Assis et al., 2017); asimismo no es ajena a esta situación y de las enfermedades bacterianas que afectan a la especie, la estreptococosis es la primera enfermedad bacteriana de peces de agua dulce, y es principalmente causada por *Streptococcus* (Akhlaghi et al., 1996). En Colombia en varias regiones del país y en el periodo de 2003 a 2013 se caracterizaron los *Streptococcus* que inducían infección en

tilapias y se demostró un 98,8% de correspondencia genómica con *S. agalactiae*, además de un genotipo clonal estable en el país, denominado ST260, CC553, serotipo Ib que es hasta el momento el único *Streptococcus* de peces reportado en Colombia (Barato et al., 2015). Sin embargo, desde marzo del 2023 se presentó la emergencia de *S. agalactiae* la2021ST7 que afecta todos los grupos etarios de tilapia y que ha representado un desafío para el sector piscícola (Barato, 2023).

Para el manejo y control de la estreptococosis se realiza tratamiento antibiótico, vacunaciones y en los casos en que es posible, se modifican las condiciones del agua (reducción de temperatura con recambios o incremento de oxígeno con aireación artificial). Sin embargo, a pesar de estas estrategias, no se logra aun controlar las mortalidades, por lo que se requiere desarrollar mecanismos más efectivos que eviten la infección de los peces.

La transmisión de *S. agalactiae* es horizontal, por contacto directo con peces infectados a través del tracto gastrointestinal (Iregui et al., 2016; Iregui & Barato, 2017). Esto se ha comprobado experimentalmente a través de ensayos de inmersión, inoculación intragástrica y cohabitación de peces sanos con enfermos (Iregui et al., 2016; Perera et al., 1997; Shoemaker et al., 2000). Se conoce que para ingresar al hospedero algunas bacterias patógenas deben adherirse e invadir a través de los epitelios de mucosas (Barato et al., 2015). En el caso de *Streptococcus agalactiae* en peces, Iregui et al. (2016) observaron la adherencia e invasión de la bacteria a través del epitelio gastrointestinal, proponiendo la vía oral como la principal ruta de ingreso del patógeno al hospedero. (Barato et al., 2016); además demostraron que la cápsula inhibe la adherencia del *S. agalactiae* en el intestino de la tilapia, por lo que proponen que la bacteria retira esta envoltura para permitir su interacción con las adhesinas del hospedero. Los patógenos se unen a secuencias específicas de oligosacáridos en las superficies de las células animales. Así, se debe considerar los hallazgos de la patente, desarrollada por la Universidad Nacional de Colombia para el uso de lectinas, proteínas que se unen a oligosacáridos con una elevada especificidad, presentes en las leguminosas del género *Erythrina*, como aditivos funcionales, para la inhibición in vitro de la adherencia del *S. agalactiae* a los

azúcares del intestino de las tilapias, como una estrategia glicobiológica que evita la infección (Iregui & Barato, 2017).

Las erythrinas son leguminosas distribuidas en Centro y Sudamérica. *E. crista-galli* es el árbol nacional de Argentina; en Colombia es abundante *Erythrina edulis*, conocida comúnmente como chachafruto, balú, poroto entre otros, la cual posee lectinas con afinidades por carbohidratos similares a los de *Erythrina crista-galli* (Pérez, 1984).

Los estreptococos han desarrollado mecanismos para utilizar residuos de galactosa para la adherencia; específicamente las lectinas de *Erythrina crista-galli* han mostrado eficiencia en la inhibición de este mecanismo entre el *S. agalactiae* y el intestino de la tilapia (Iregui & Barato, 2017). Esto quiere decir que *S. agalactiae* tendría estructuras similares a lectinas tipo *Erythrina crista-galli* para hacer interacción con azúcares con conformación β 1,4-Gal, β 1,4-GalNac, Lac y LacNac que estarían presentes en la superficie de la mucosa intestinal de la tilapia para hacer la interacción de adherencia antes de su ingreso al organismo del pez (Barato et al., 2016).

En peces la terapia glicobiológica antiadhesiva no ha sido estudiada y el medio acuático representa un desafío para asegurar la interacción final entre los azúcares y los patógenos. Por lo anterior se requieren estudios sobre la formulación de dietas con fuentes naturales de lectinas para evaluar su eficiencia en la inhibición de adherencia de *S. agalactiae* al epitelio intestinal y por ende la prevención de la estreptococosis en tilapia.

En este contexto, el objetivo de esta investigación fue estudiar la incorporación de harina de *Erythrina edulis* en dietas para tilapia como fuente de lectinas glicoinhibidoras de adherencia a *S. agalactiae*. Se diseñaron dietas experimentales con inclusión de harina de semilla de *Erythrina edulis* para crecimiento de tilapia, evaluando parámetros sanitarios y zootécnicos ante desafíos de infección con la bacteria.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Adaptación de alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) para el reto experimental

En el bioterio de agua dulce de la Corporación Patológica Veterinaria CORPAVET®-MOLECULARVET®, se adecuó un sistema estático con doce (12) tanques plásticos con 20 litros de agua tratada en el mismo bioterio, cada uno con tres piedras difusoras con diámetro de 30 mm conectas por una manguera de 4/6" a un blower (AirPumb Resun LP-100) para su aireación y termostatos (modelo AP50W Aqueon) para establecer parámetros físico químicos ideales del agua como temperatura entre 28°C y 30°C, oxígeno disuelto > 4mg/L y porcentaje de saturación >60% respectivamente, como los más relevantes para la adaptación de los alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Para este reto se trabajó con alevinos de los lotes X y XI, material biológico que se obtuvo de la cría de larvas que se llevó a cabo en el mismo bioterio para las diferentes fases de la investigación como se observa en la figura 26. El peso inicial de los alevinos fue de 30 g \pm 15 g, por lo que la distribución experimental se realizó de tal manera que el peso de los animales, el número de unidades biológicas y las cargas por unidad de volumen, no presentaran diferencias entre los grupos a evaluar. Animales con buen estado sanitario y con un periodo mínimo de adaptación a los tanques de 10 días, con recambio del 10% y con 24 horas de ayuno antes de dar inicio a la prueba, descartando excedentes de comida y heces para lograr una prueba bajo las directrices de la (OECD, 2019). En la tabla 34 se observa los parámetros iniciales de esta prueba.

Los principales parámetros físico-químicos de agua se mantuvieron estables en el periodo de adaptación. En el tiempo de la prueba, no se realizó recambios de agua, se aumentó y se mantuvo la temperatura entre los 30°C y 33°C (Zhao et al., 2023) y el oxígeno disuelto <3 mg/L (Assis et al., 2017), como determinantes para la infección por *S. agalactiae* lb.

Tabla 34. Parámetros iniciales del reto experimental con *Streptococcus agalactiae* en alevinos de tilapia (*Oreochromis niloticus*), para la evaluación de dietas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis*.

PARÁMETROS	Tratamiento I CONTROL (+) Reto con GBS	Tratamiento II CONTROL (-) Reto sin GBS	Tratamiento III 10µl/ml ECL Reto con GBS	Tratamiento IV 300 µg/ml EEL Reto con GBS
Nº Peces Iniciales	6	6	6	6
Peso inicial Prom. (gr)	28	27	26,3	25,0
Nº Días prueba piloto	13	13	13	13
Biomasa inicial (gr)	168,0	162,0	157,8	150,0
% Alimento/Biomasa	6	6	6	6
Ración/Día	10,1	9,7	9,5	9,0
Nº Comidas/Día	3	3	3	3
Volumen (lts)	20	20	20	20
Densidad (gr/lts)	8,40	8,10	7,89	7,50
Repeticiones x Tratamiento	3	3	3	3

Fuente: Vela H. 2022

Los equipos con los que se monitorearon los parámetros fueron previamente calibrados, Oxímetros EcoSense DO200A y un YSI 550A para la toma de parámetros de temperatura, oxígeno disuelto (OD) y el porcentaje de saturación de oxígeno (%), el pH con un pH-metro EcoSense pH/EC1030 YSI, parámetros medidos 3 veces a la semana durante el periodo de la prueba.

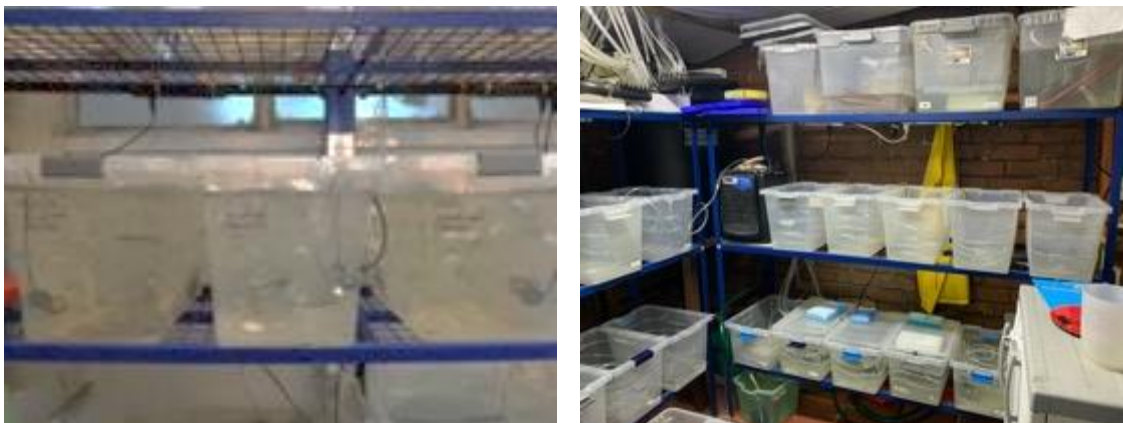


Figura 26. Material biológico y físico para adaptación para el reto experimental. **A.** Alevinos tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) criadas en Bioterio – CORPAVET. **B.** Tanques para los tratamientos y sus réplicas para el reto experimental. Fuente: Vela H. 2022

4.3.2 Procesamiento de dos dietas prácticas, una sin inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis* y otra con una inclusión de lectina de (300 µg/ml)

De acuerdo con la formulación de las dietas práctica de las anteriores evaluaciones y atendiendo a los requerimientos nutricionales de las tilapias, las dietas se formularon para contener aproximadamente un 45% de proteína cruda para satisfacer los requerimientos nutricionales de la tilapia del Nilo según NRC (2011), además por la talla y pesos de los animales utilizados para este reto experimental. La materia prima para estas dietas se adquirió nuevamente en la planta de alimentos balanceados ITALCOL S.A., la cual contaba con poco tiempo de llegada a la planta, y cumplía los tiempos de caducidad que normalmente verifica el departamento de control de calidad de la compañía. En la tabla 35 se observa la información entregada por el proveedor; se calculó los días de acuerdo a la temperatura de Bogotá para el periodo máximo de almacenamiento. En la figura 27 se observa la materia prima obtenida y tiempos máximos de almacenamiento ITALCOL S.A.

Tabla 35. Caducidad de la Materia Prima utilizada en el Reto experimental con *Streptococcus agalactiae* en alevinos de tilapia (*Oreochromis niloticus*), para la evaluación de dietas con inclusión de harina de semillas *Erythrina edulis*.

Materia Prima	Kilos	Lote	Fecha	Días*	Vence
Harina vísceras pollo 396	5	BUGC000451	6/08/22	90	4/11/22
Harina pescado atún	4	08235C2	16/08/22	90	14/11/22
Hemoglobina	4	05222C1	6/08/22	90	4/11/22
Arroz cristal	4	0826C35	18/08/22	90	16/11/22
Torta de Soya Americana	5	PISCINA - 7	23/08/22	90	21/11/22

*Climas menores a 25°C periodo máximo de almacenamiento - Fuente: Vela H. 2022

Cabe anotar que la preparación de las dietas experimentales se desarrolló para la primera semana de septiembre del 2022, después de entregado el Lote VII de Balú, procesado el 5 de septiembre del 2022 en la Unidad de Procesamiento de Alimentos (UPA).



Figura 27. Materia prima para dietas prácticas para el reto experimental. **A.** Semillas de Balú. Lote VII. **B.** Semillas de Balú cortadas para proceso de secado. **C.** Harina de Balú. Lote VII. **D.** Tiempos de almacenamiento de materia prima de origen animal y vegetal. ITALCOL S.A. **E.** Materia prima para dietas prácticas. Fuente: Vela H. 2022

Como se indica en la tabla 36, las dietas experimentales fueron: un control (sin harina de balú) y una dieta con inclusión de (300 µg/ml) de lectina a través de la harina de semillas de *E. edulis*. La preparación de estas dietas se desarrolló con el mismo procedimiento y protocolo de las evaluaciones de toxicidad aguda de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia (*Oreochromis niloticus*), en la en la Unidad de Procesamiento de Alimento (UPA) de la Facultad de Medicina Veterinaria de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 36. Materias primas usadas para la formulación de dietas experimentales con inclusión de harina de balú (*Erythrina edulis*) para el reto experimental con *Streptococcus agalactiae* en alevinos de tilapia (*Oreochromis niloticus*),

MATERIA PRIMA / NUTRIENTE	Dosis Lectina	
	CONTROL	300 µg
Harina vísceras de pollo	30,22	30,82
Torta de soya americana	27,00	27,00
Arroz cristal	18,25	13,35
Harina de pescado atún	17,93	17,93
Hemoglobina	4,00	4,00
Aceite de soya	2,00	2,00
Harina de balú	<u>0,00</u>	<u>4,29</u>
DL Metionina 99%	0,202	0,217
Premezcla Vitamínica ITALVIT 1.5Kg/Tn	0,200	0,200
Premezclas minerales ITALMIN 1Kg/Tn	0,120	0,120
Cloruro de Colina 60%	0,050	0,050
Antioxidante	0,025	0,025

Fuente: Vela H. 2022

Las materias primas fueron previamente molidas en un molino de pines con malla de 500 mm, se tamizaron a través de un tamiz de 250 micrones para obtener producto homogéneo sin impurezas, se pesaron las cantidades de macronutrientes correspondientes a cada dieta con una balanza RADWAG WPT 6C/1 con precisión de $\pm 0,1$ gr y los micronutrientes, harina de balú, metionina, cloruro de colina 60%, antioxidante y las premezclas de vitaminas ITALVIT ACUICULTURA y minerales ITALMIN ACUICULTURA con una balanza analítica OHAUS PX84/E con precisión de $\pm 0,0002$ g evidenciado en la figura 28.



Figura 29. Procesamiento de materias primas para preparar dietas experimentales para el roto. A. Materia prima molida. B. Materia prima molida y pesada. C. Tamiz 250 micrones. D. Tamizaje de materia prima. E. Pesaje en balanza RADWAG WPT. Fuente: Vela H. 2022

Se inició el mezclado con la harina de arroz cristal más las vitaminas, minerales y la harina de balú, excepto la dieta control, con el fin de lograr una distribución homogénea de los micronutrientes en toda la mezcla, por 5 minutos manualmente y posteriormente el resto de los macronutrientes con un 2% de aceite de soya en una mezcladora MZ50 1F 50LT JAVAR 9 por 20 minutos logrando una mezcla homogénea, brillante y de color uniforme como se ve en la figura 29. Luego se incorporó 22% de agua según protocolo de la Unidad de Procesamiento de Alimentos para el proceso de extrusión, en una micro-extrusora para laboratorio Exteec® (Exteec máquinas, Brasil), con un rango de temperatura entre los 65 a 73°C, controlándola con circulación externa de agua para evitar sobrecalentamiento del producto y con un plato de 2 mm, tamaño adecuado para los animales dispuestos para la prueba. Para el tratamiento III se dejó una cantidad suficiente de harina sin extrusión. Finalmente se pesaron las cantidades de cada dieta y se almacenaron en bolsas herméticas para su refrigeración a 4°C para su posterior uso.

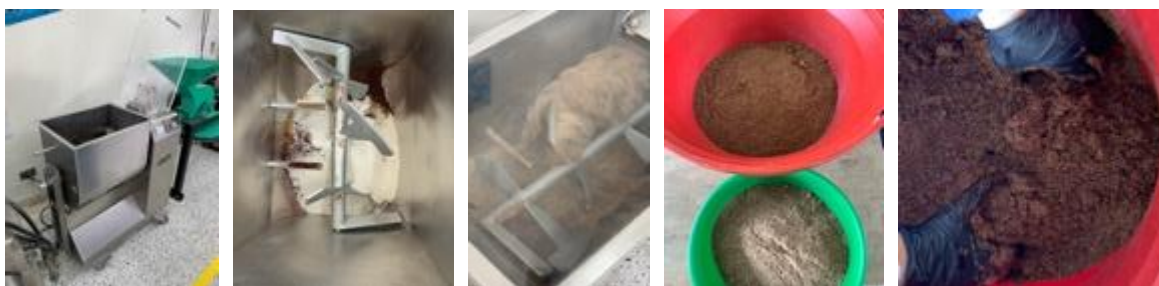


Figura 28. Proceso de mezcla de materias primas para dietas experimentales. A. mezcladora MZ50 1F 50LT JAVAR 9. B. Materia prima para mezcla. C. Materia prima en proceso de mezcla por 20 minutos. D. Mezclas homogéneas de materia prima para cada dieta. E. Adición de agua al 22%. Fuente: Vela H. 2022

4.3.3 Condiciones experimentales

Se utilizaron 72 alevinos de tilapia nilótica con un peso promedio de 30 g \pm 15 g, dispuestos en 12 tanques (15L; 6 peces/tanque, 3 tanques/tratamiento) y se definieron los siguientes tratamientos: Tratamiento TI Control Positivo (+) Reto con GBS; Tratamiento TII Control Negativo (-) Reto sin GBS; Tratamiento TIII Control ECL – Reto con GBS y Tratamiento VI Dieta Práctica (300 μ g/ml) Reto con GBS como se ve en la figura 30.

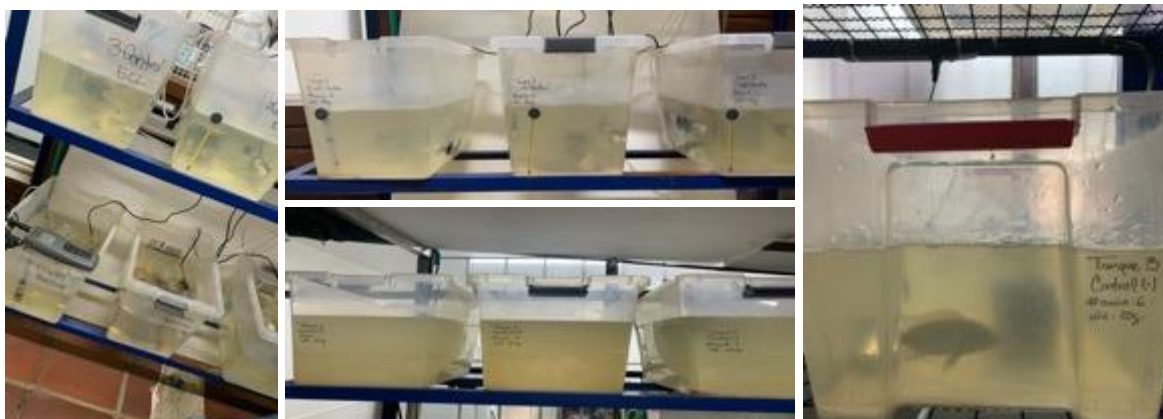


Figura 30. Tanques utilizados para la prueba de reto experimental. Fuente: Vela H. 2022

La cepa SaTiBe0818 de *Streptococcus agalactiae* se aisló de un brote natural de enfermedad en tilapia roja (*Oreochromis* sp). Esta cepa se comparó con el banco de aislamientos obtenidos durante un periodo de 8 años de los que se caracterizó el serotipo, perfiles de genes de proteínas de superficie, perfiles de genes asociados a pilus, y métodos de tipificación basados en ADN, como los perfiles electroforéticos en gel de campo pulsado (PFGE) y la tipificación multilocus de secuencias (MLTS) demostrando la homogeneidad del mismo clon de *S. agalactiae* Ib que infecta a las tilapias en Colombia (Barato et al., 2015). La bacteria se descongeló y se cultivó en agar de infusión cerebro – corazón (BHI) enriquecido con sangre ovina desfibrilada al 5% y se incubó a 28°C durante 24h.

Los animales de los tratamientos del I y IV se anestesiaron mediante inmersión en un baño que contenía aceite de clavo – Eugenol a una relación de 0,10 ml/litro de agua. Treinta y seis alevinos fueron desafiados con inyección intraperitoneal con 0,1 ml de inóculo de

Streptococcus agalactiae SaTiBe 0818 en dilución de 7×10^7 UFC/ml y los peces del grupo control Negativo (TII) con 0,1 ml de solución salina fisiológica (PSS), todo esto según el protocolo de la Corporación patológica Veterinaria CORPAVET. El tratamiento TIII fue sometido al mismo protocolo después de 7 días de iniciar con la dieta práctica que contenía lectina de *Erythrina crystagalli* (ECL) hasta el final de la prueba.

Al inicio de la prueba se ajustó la temperatura del agua entre $>30 - 33^\circ\text{C}$ de acuerdo a lo recomendado por Rodkhum et al. (2011) y se dejó una de tres piedras difusoras para reducir la aireación del agua y bajar los niveles de oxígeno disuelto $< 3\text{mg/L}$ como evidencia la figura 31. Estas variables son detonantes y puntos críticos que causan stress a los peces y por ende son más susceptibles a la enfermedad. Estos parámetros de agua se utilizaron para todos los experimentos posteriores.



Figura 31. Parámetros físico químicos de los tanques de la prueba experimental. A. Oxímetros EcoSense DO200A – $T^\circ 31,5^\circ\text{C}$ - OD: 2,99 mg/l. B. Oxímetros EcoSense DO200A – $T^\circ 31,3^\circ\text{C}$. C. Tanque con animales en reto infeccioso. Fuente: Vela H. 2022

La preparación del alimento para el tratamiento III se basó en el cálculo de la ración diaria de harina control de las tres réplicas (Tabla 37). Se tomaron 10 μl de ECL Biotinilada de Vectorlabs y se mezcló con suero fisiológico estéril a una relación de 1:3, a razón de la dosis (10 $\mu\text{g/ml}$) mencionada en la patente número WO 2017/109587 A1 (Iregui & Barato, 2017). Tanto la papilla para la primera alimentación intragástrica y las dos restantes comidas se mezclaron también a una relación de 1:3 de harina control y la ECL en solución salina estéril respectivamente.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 37. Datos para la preparación del alimento del tratamiento III, con *Lectina Erythrina crista-galli* (ECL) (10 µl/ml) para alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Tanque	Ración/ día Dieta Práctica (gr)	Dosis Patente ECL (10 µl/ml)	ECL/Tanque (µg)	ECL/Tanque (µl)
R1	117,64	10	1076	234
R2	177,84	10	1778	355,68
R3	45,20	10	452	90,4
TOTAL			3307	680,08

Fuente: Vela H. 2022

Se registraron signos clínicos y la mortalidad de los peces de cada tratamiento durante un periodo de 15 días. Los peces muertos fueron retirados de los tanques, se les realizó inspección externa como se observa en la figura 32 y se evaluaron los siguientes parámetros sanitarios después de la recolección de órganos internos (hígado, bazo, riñón, cerebro y ojo): aislamiento microbiológico, histopatología, PCR, inmunohistoquímica para *S. agalactiae* y lectinohistoquímica para ECL en intestino de tilapia. También parámetros zootécnicos como: mortalidad post-inoculación, peso y ganancia de peso.

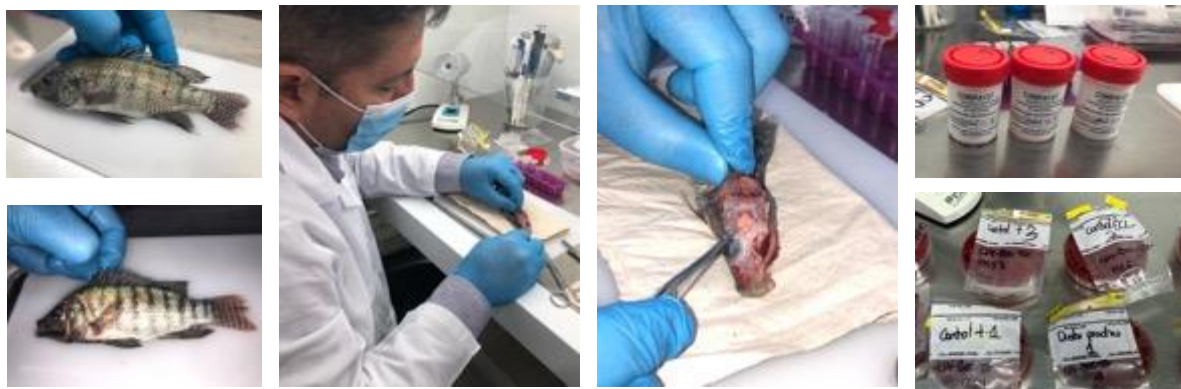


Figura 32. Toma de muestras para análisis sanitarios de animales del reto experimental. A - B. Alevinos tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) muertos. C. Toma de muestras. D. Extracción de cerebro. E. Muestras para histopatología. F. Pool de tejidos para qPCR – Lectinohistoquímica – Inmunohistoquímica. Fuente: Vela H. 2022.

▪ Inmunohistoquímica para *S. agalactiae*

Se montaron secciones de encéfalo, corazón, hígado, bazo, riñón, estómago e intestino de 5 μm de espesor aproximadamente, de los animales moribundos. Se hizo procesamiento histotécnico mediante el protocolo de la Corporación Patológica Veterinaria CORPAVET® con algunas modificaciones: Los tejidos se desparafinaron a 60°C x 4 horas, se sumergieron tres veces en xilol, etanol al 90%, 70% y 50% por 3 minutos y agua destilada. Para el desenmascaramiento del antígeno se indujo por calor y TBS ICH Wash Buffer 2x con agua destilada a una relación de 1:20, para finalmente lavar con abundante agua. Se observa en las figuras 33 y 34 los materiales usados en la técnica.

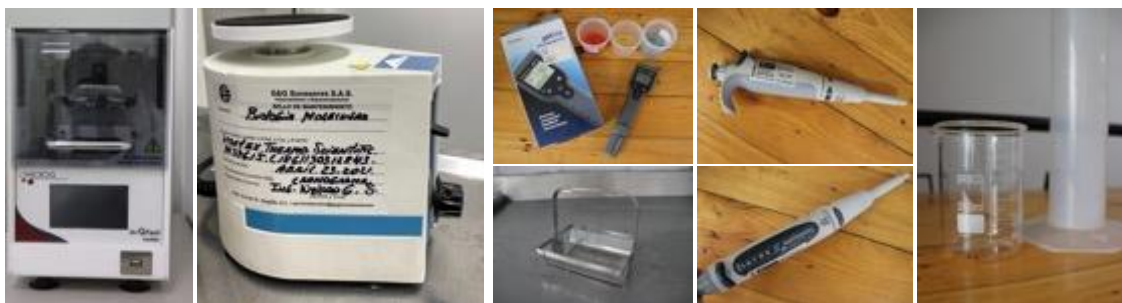


Figura 34. Materiales y equipos usados en la prueba de inmunohistoquímica. A. Incubadora IMICROQ in-QFast rocker. B. Vortex M37615 Thermo Scientific. C. pH-metro EcoSense pH/EC1030 YSI. D. Canastilla metálica porta-laminas. E - F. Micropipetas Transferpette (1000 μl) graduadas. G. Beaker 209 ml y Probeta 1000ml. Fuente: Vela H. 2022.



Figura 33. Reactivos usados en la prueba de inmunohistoquímica. A. Xilol. B. Agua destilada. C. Alcohol Etilico Absoluto. D. TBS IHC Wash Buffer. E. TBS (pH 7,6). F. Ácido clorhídrico (5 mol). G. Peróxido de Hidrógeno, 30%. H. Kit VECTASTAIN Elite ABC Universal — Peroxidase (Horse Anti-Mouse/Rabbit IgG). I. Agua Amoniacal J - K. Streptococcus Grupo B tipo Ib – SSI Diagnostica. K. GBS Ib. Fuente: Vela H. 2022.

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Para la tinción inmunohistoquímica se usó un agitador Vortex M37615 Thermo Scientific para el lavado de las láminas con TBS ICH Buffer 20x, se bloquearon los sitios inespecíficos con BSA al 10% en TBS x 2 horas a temperatura ambiente. Se aplicó el anticuerpo primario en BSA al 10% descritos en la tabla 38. Se incubó por 1 hora a 37°C, lavado con TBS IHC Wash Buffer 20x, seguidamente la peroxidasa se bloqueó por 15 minutos con peróxido de Hidrogeno al 0,3% en metanol. Se incubó durante 30 minutos con anticuerpo secundario IgG de caballo anti ratón/conejo biotinilado de VECTASTAIN Elite ABC Universal PLUS. Se mezcló la solución ImmPACT® DAB EqV Substrate Kit, Peroxidase (HRP) en una proporción 1:1. Lavado con agua corriente.

Tabla 38. Datos y cálculo para aplicación del anticuerpo primario en BSA al 10% en las láminas obtenidas en la investigación.

ANTICUERPOS PRIMARIOS	CONCENTRACIÓN USO Ac	DILUCIONES BSA 10%	Ac (µl)	BSA10% TBS (µl)	Laminas	Vol.Total Ac (µl)	Vol. Total BSA 10% TBS (µl)	Vol.Total Diluciones (µl)	Vol. Total Diluciones (ml)
GBS 1b	1:250	1µl Ac / 249µl BSA 10%	1	249	25	25	6225	6250	6,25

Fuente: Vela H. 2022

Para la tinción de contraste y rehidratación del tejido, las láminas se sumergieron en hematoxilina durante 5 minutos, se lavaron con agua corriente y se sumergieron e inmediatamente se retiraron del alcohol ácido (1%); igualmente en agua amoniacal hasta que los tejidos tornen color azul y finalmente se ubicaron bajo agua corriente para luego deshidratarlas con alcoholes de concentración ascendente por 3 minutos por cada uno. Se añadió una gota de Entellan sobre los tejidos y se dejó secar, para observar posteriormente en microscopio.

▪ **Lectinohistoquímica para Lectina *Erythrina crystagalli* (ECL)**

Brevemente, el procedimiento para lectinohistoquímica sigue el mismo orden de la inmunohistoquímica, cambiando la aplicación del anticuerpo primario por la lectina biotinilada ECL (Vector labs, B-1145-5). El sistema de revelado fue el mismo, dado el uso del VECTASTAIN Elite ABC Universal PLUS.

▪ Evaluación histopatológica

Se tomaron muestras de cerebro, ojo, branquias, hígado, riñón, bazo, estómago e intestino a la muerte o al final del ensayo (15 días PI de *S. agalactiae* Ib) de los peces cada grupo experimental desafiados con *S. agalactiae* y los grupos control. Los tejidos fueron fijados en formol buferado al 10% para posterior procesamiento histotécnico con coloración H&E. Se construyó un sistema de puntuación de lesiones que incluyó la evaluación de cambios microscópicos asociados con estreptococosis en todos los órganos que incluía la presencia de granulomas maduros, con o sin cocos intralesionales. Adicionalmente y particularmente para el intestino y estómago se evaluó la inflamación y en el hígado la presencia de lipidosis.

Las lesiones fueron calificadas así:

- 0: Severidad y extensión ausente
- 1: Severidad leve y extensión focal
- 2: Severidad moderada y extensión multifocal
- 3: Severidad moderada a severa y lesión extensa
- 4: Severo y generalizado

Para la inmunohistoquímica y lectinohistoquímica se evaluó la presencia o ausencia de inmuno o lectinomarcación en todos los órganos evaluados, con la misma calificación de severidad y extensión usada para la evaluación histopatológica.

▪ Análisis Estadístico

Se realizó análisis estadístico descriptivo determinando frecuencia de presencia o ausencia de lesiones, de inmuno y/o lectinomarcación. Se realizó chi cuadrado ($P < 0,05$) para ver diferencias entre frecuencias de grupos y si posteriormente análisis de Kruskal Wallis para los valores no paramétricos.

4.4 Resultados

4.4.1. Mortalidad del ensayo por grupo etario

Durante el tiempo de investigación se realizaron observaciones del comportamiento de los animales de todos los tratamientos y sus réplicas. Fuera de las condiciones adversas de calidad de agua, los animales también presentaron agresividad entre ellos, por su comportamiento territorialista. En la tabla 39 se presentan los datos observados de sobrevivencia. Los ejemplares retirados por mortalidad, fueron sometidos a análisis de histopatología y microbiología. Se observa diferencia estadísticamente significativa ($P=0,04$) entre el grupo control positivo (Tx I) y los grupos control negativo (Tx II) y dieta práctica (Tx IV). El grupo control positivo tuvo la misma mortalidad del grupo tratado con ECL (Tx III).

Tabla 39. Sobrevivencia (%) observada durante el reto experimental con *Streptococcus agalactiae* Ib en tilapias (*Oreochromis niloticus*)

GRUPO EXPERIMENTAL	Alevinos Iniciales por réplica	Replicas por tratamientos	Total alevinos por grupo	Total animales muertos	Sobrevivencia (%)
Tratamiento TI Control Positivo (+) Reto con GBS	6	3	18	10	44,4 ^b
Tratamiento TII Control Negativo (-) Reto sin GBS	6	3	18	7	61,1 ^a
Tratamiento TIII Control ECL Reto con GBS	6	3	18	10	44,4 ^b
Tratamiento IV Dieta Práctica 300µg/ml EEL Reto con GBS	6	3	18	7	61,1 ^a

^{a-b} Diferencia estadísticamente significativa (P 0,04)

4.4.2. Evaluación histopatológica

A la evaluación histopatológica se observó que el 40% de los peces inoculados con *S. agalactiae* Ib del grupo de control positivo, presentó lesiones compatibles con estreptococosis. El otro 60% no tuvo lesiones asociadas a la presentación de la enfermedad.

La inflamación linfocítica del estómago y del intestino, fueron las lesiones más relevantes histopatológicamente, que mostraron diferencias entre grupos experimentales. El 100% de los peces evaluados del control positivo tuvieron inflamación moderada del estómago, el grupo inoculado con ECL también presentó el 100% inflamación moderada linfocítica del estómago, ver tabla 40. El 50% del grupo control negativo tuvo la inflamación moderada gástrica, seguida por el 33% moderada a severa y el 17% no presentó la lesión. El grupo de la dieta práctica mostró inflamación gástrica moderada en el 42% de los casos evaluados, moderada a severa en el 28%, leve en el 15% y el restante 15% no presentó la lesión ver tabla 40.

Tabla 40. Porcentaje de presentación de infiltrado inflamatorio linfocítico en el estómago de las tilapias de cada grupo experimental.

GRUPO EXPERIMENTAL			Inflamación estómago (%)				
			Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Reto con GBS	Control Positivo	(+)	0	0	100	0	0
Tratamiento TII Reto sin GBS	Control Negativo	(-)	17	0	50	33	0
Tratamiento TIII Reto con GBS	Control ECL		0	0	100	0	0
Tratamiento IV Reto con GBS	Dieta Práctica 300µg/ml EEL		15	15	42	28	0

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

En la evaluación intestinal, el grupo control positivo presentó inflamación linfocítica en el 50% de los casos evaluados, el control negativo fue del 60% y en el grupo de la dieta práctica fue del 40% moderada, 20% leve y el 40% restantes sin lesión ver tabla 41.

Tabla 41. Porcentaje de presentación de infiltrado inflamatorio linfocítico en el intestino de las tilapias de cada grupo experimental.

GRUPO EXPERIMENTAL			Inflamación del intestino (%)				
			Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Reto con GBS	Control Positivo (+)		50	0	50	0	0
Tratamiento TII Reto sin GBS	Control Negativo (-)		40	0	60	0	0
Tratamiento TIII Reto con GBS	Control ECL		100	0	0	0	0
Tratamiento IV Reto con GBS	Dieta Práctica 300µg/ml EEL		40	20	40	0	0

La lipidosis hepática fue otra de las lesiones relevantes a la evaluación histopatológica. El 100% del grupo control positivo presentó esta lesión con la mayor severidad (4). El control negativo tuvo un 33% de casos con lipidosis hepática moderada a severa, un 33% moderada y el 34% de los casos no mostró la lesión. El grupo de adición de ECL tuvo un 50% de lesión moderada y un 50% sin lesión evidente. El grupo con la dieta práctica con *E. edulis* mostró un 40% de lesión moderada a severa, un 40% de lesión moderada y un 20% de lipidosis hepática severa ver tabla 42.

Tabla 42. Porcentaje de presentación de lipidosis hepática de las tilapias de cada grupo experimental.

GRUPO EXPERIMENTAL			Lipidosis hepática (%)				
			Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Reto con GBS	Control Positivo (+)		0	0	0	0	100

Tratamiento TII Reto sin GBS	Control Negativo (-)	34	0	33	33	0
Tratamiento TIII Reto con GBS	Control ECL	50	0	50	0	0
Tratamiento IV Reto con GBS	Dieta Práctica 300µg/ml EEL	0	0	40	40	20

4.4.3. Evaluación inmunohistoquímica

El 25% de los peces inoculados con *S. agalactiae* Ib del grupo control positivo mostraron la presencia de la bacteria en la superficie y en la lámina propia del estómago. Los peces de los demás grupos etarios fueron negativos para la detección del patógeno por inmunohistoquímica ($P < 0,005$), ver tabla 43 y figura 35.

Tabla 43. Porcentaje de presentación de inmunomarcación en la superficie y lámina propia del gástrica de las tilapias de cada grupo experimental.

GRUPO EXPERIMENTAL		IHC - Presencia GBS Ib en superficie y lámina propia gástrica (%)				
		Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Reto con GBS	Control Positivo (+)	75	0	25 ^a	0	0
Tratamiento TII Reto sin GBS	Control Negativo (-)	100	0	0 ^b	0	0
Tratamiento TIII Reto con GBS	Control ECL	100	0	0 ^b	0	0
Tratamiento IV Reto con GBS	Dieta Práctica 300µg/ml EEL	100	0	0 ^b	0	0

^{a-b} Diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,005$)

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

El 25% de los peces inoculados con *S. agalactiae* lb del grupo control positivo mostraron la presencia de la bacteria en la lámina propia del intestino ($P < 0,005$). Los peces de los demás grupos etarios fueron negativos para la detección del patógeno por inmunohistoquímica ver la tabla 44. Ninguno de los peces mostró presencia del patógeno en la superficie intestinal.

Tabla 44. Porcentaje de presentación de inmunomarcación en la superficie y lámina propia del intestino de las tilapias de cada grupo experimental.

GRUPO EXPERIMENTAL			IHC - Presencia GBS lb en lámina propia intestinal (%)				
			Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Reto con GBS	Control Positivo (+)		75	0	25 ^a	0	0
Tratamiento TII Reto sin GBS	Control Negativo (-)		100	0	0 ^b	0	0
Tratamiento TIII Reto con GBS	Control ECL		100	0	0 ^b	0	0
Tratamiento IV Reto con GBS	Dieta Práctica 300µg/ml EEL		100	0	0 ^b	0	0

^{a-b} Diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,005$)

4.4.4. Evaluación lectinohistoquímica

El 50% de los peces inoculados con *S. agalactiae* lb del grupo control positivo mostraron lectinohistoquímica positiva para ECL en la superficie gástrica. El 40% del grupo experimental al que se le suministró la dieta práctica, también presentó lectinomarcación gástrica para ECL. Los peces de los demás grupos etarios fueron negativos para esta prueba ver tabla 45.

Tabla 45. Porcentaje de presentación de lectinomarcación (LHC) para ECL en la superficie intestinal de las tilapias de cada grupo experimental.

GRUPO EXPERIMENTAL			LHC - ECL marcación en superficie gástrica (%)				
			Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI	Control Positivo (+)		50	50	0	0	0
Tratamiento TII	Control Negativo (-)		100	0	0	0	0
Tratamiento TIII	Control ECL		100	0	0	0	0
Tratamiento IV	Dieta Práctica 300µg/ml EEL		60	40	0	0	0

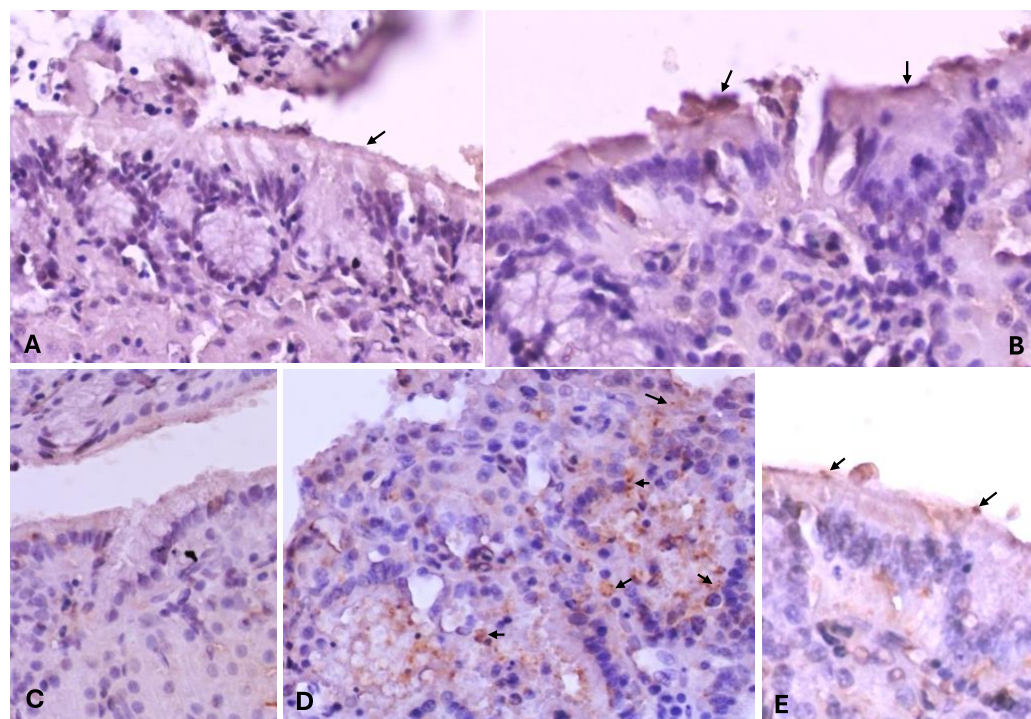


Figura 35. Estómago e intestino de alevinos de tilapia nilótica tras el consumo de dieta control y dieta práctica con inclusión de *Erythrina edulis* lectina (EEL) en concentración de 300 µg/ml y posterior infección con *S. agalactiae* Ib (SaTiBe0818). Lectinohistoquímica para *Erythrina crista-galli* lectina (ECL) e inmunohistoquímica contra *Streptococcus agalactiae* Ib (SaTiBe0818). **A.** Lectinohistoquímica del estómago de un alevino del grupo control negativo. No se observa lectinomarcación en la superficie de la mucosa gástrica

(flecha). **B.** Lectinohistoquímica del estómago de un alevino del grupo control positivo (inoculado con SaTiBe0818). Se observa lectinomarcación positiva leve con ECL en varias áreas de la superficie de la mucosa gástrica (flechas). **C.** Inmunohistoquímica del estómago de un alevino del grupo control negativo. No se observa inmunomarcación contra *S. agalactiae* Ib en la superficie de la mucosa gástrica. **D.** Intestino de alevinos de tilapia control positivo con infección por *S. agalactiae* Ib. Se observan múltiples cocos intracitoplasmáticos en enterocitos y en lámina propia (flechas). **E.** Intestino de alevinos de tilapia control positivo con infección por *S. agalactiae* Ib. Se observan escasos cocos adheridos a la superficie de la mucosa intestinal (flechas). Fuente: Barato P. 2022

4.5 Discusión

El modelo experimental propuesto de evaluación a la muerte o al final del ensayo (15 días PI de *S. agalactiae* Ib) por histopatología, inmunohistoquímica y lectinohistoquímica, permitió evaluar la eficiencia de la dieta práctica en la presentación de lesiones compatibles con estreptococosis, la presencia del *S. agalactiae* en la superficie y lámina propia intestinal y/o gástrica y la lectinomarcación con ECL en la superficie intestinal y gástrica de los peces de cada grupo experimental.

Al final del ensayo, se evidenciaron lesiones compatibles con estreptococosis en el 40% de los peces evaluados del control positivo y ninguna presencia de lesiones en los otros grupos experimentales, lo que sugiere que las intervenciones generadas con la adición de ECL en la dieta y la dieta práctica con *E. edulis* redujeron el desarrollo de la estreptococosis en los peces evaluados. Ante la exposición crónica experimental de *S. agalactiae* Ib en tilapias, se requiere favorecer la presentación de factores de riesgo como incremento de temperatura del agua por encima de 30°C, pH ácido y/o reducción de la concentración de oxígeno disuelto para el desarrollo de la enfermedad (Iregui et al., 2016). La sola presencia del microorganismo no genera enfermedad, dada la interrelación entre hospedero, patógeno y ambiente.

Adicionalmente, el periodo experimental usado en este ensayo (15 días PI), puede permitir que en el transcurso del tiempo, el sistema inmune del pez, logre controlar la infección al reducir la presencia del microorganismo inoculado, así evitando que la enfermedad se desarrollara (Kannika et al., 2022). A esta hipótesis se une la evidencia de la frecuencia de

infiltrado linfocítico intestinal y gástrico observado en los diferentes grupos experimentales al final del ensayo como se ve en las tablas 39 y 40, lo que demuestra que el estímulo antigénico favoreció una respuesta inmune celular eficiente en los grupos experimentales inoculados (Ke et al., 2021).

La lipidosis hepática observada de forma severa en el 100% de los ejemplares evaluados del grupo control positivo con infección por *S. agalactiae* Ib y en el 40% de forma moderada a severa en el grupo tratado con la dieta experimental, sugiere que el efecto de la infección pudo generar daños y cambios regresivos en el hígado, evidentes con este tipo de degeneración (Rey et al., 2020).

La presencia del *S. agalactiae* Ib en la superficie y lámina propia del intestino en el 25% de los peces inoculados en el grupo del control positivo, demuestra que el microorganismo se mantiene en esta superficie por un periodo prolongado, en baja proporción de la población infectada. En modelos experimentales ex vivo con explantes de intestino de tilapia, los tiempos de análisis de la adherencia bacteriana fueron mucho más cortos y se evidenció con el tiempo (48 horas PI) que se mantenía la adherencia bacteriana en los tejidos inoculados con *S. agalactiae* Ib en dichos intestinos (Barato et al., 2016). Adicionalmente, este hallazgo ratifica la infección generada por la inoculación en este modelo experimental.

Los grupos experimentales con ECL y con la dieta práctica con *E. edulis* no presentaron presencia en el tiempo de *S. agalactiae* Ib adherida a la superficie gástrica y/o intestinal, lo que podría sugerir, en comparación con el grupo control positivo, que el efecto de la lectina adicionada a la dieta (ECL) y la lectina funcional de la dieta práctica con *E. edulis* podrían estar jugando un rol en el mantenimiento de la inhibición de la adherencia del *S. agalactiae* Ib.

Adicional al anterior hallazgo, solo en el grupo experimental del control positivo, fue posible detectar residuos de galactosa al contacto con la ECL de la lectinohistoquímica. Esto significa, que tanto la suplementación con ECL en la dieta, como la dieta práctica con lectinas de *E. edulis* podrían estar jugando un papel en la ocupación de potenciales

receptores con conformación beta galactosa en la superficie del intestino para el *S. agalactiae* (Iregui & Barato, 2017). Posteriores estudios con análisis más temprano del fenómeno de adherencia bacteriana, podrían dilucidar mejor el papel de la lectina de la dieta práctica sobre el intestino inhibiendo la adherencia del *S. agalactiae*.

4.6 Conclusiones y Recomendaciones

El modelo experimental propuesto de evaluación al final del ensayo (15 días PI de *S. agalactiae* Ib), por histopatología, inmunohistoquímica y lectinohistoquímica, permitió evaluar, presencia de *S. agalactiae*, lectinomarcación con ECL en la superficie intestinal y la eficiencia de la dieta gástrica en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Los grupos experimentales con suplementación de ECL en la dieta, así como dieta práctica *E. edulis* (300 µg/ml), no presentaron presencia en el tiempo de *S. agalactiae* Ib adherida a la superficie gástrica y/o intestinal, lo que podría sugerir, en comparación con el grupo control positivo, que el efecto de la lectina adicionada a la dieta (ECL) y la lectina funcional de la dieta práctica con *E. edulis* podrían estar jugando un rol en el mantenimiento de la inhibición de la adherencia del *S. agalactiae* Ib, ocupando los potenciales receptores con conformación beta galactosa en la superficie del intestino de tilapia.

Posteriores estudios con análisis más temprano del fenómeno de adherencia bacteriana, podrían dilucidar mejor el papel de la lectina de la dieta práctica sobre el intestino inhibiendo la adherencia del *S. agalactiae*.

Referencias

- Acero L. & Bernal H. (2000). Guía para el cultivo y aprovechamiento del Chachafruto o Balú: *Erythrina edulis* triana ex micheli. <https://babel.banrepcultural.org/digital/collection/p17054coll10/id/1300>
- Akhlaghi, M., Munday, B. L., & Whittington, R. J. (1996). Comparison of passive and active immunization of fish against streptococcosis (enterococcosis). *Journal of Fish Diseases*, 19(3), 251-258. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1996.tb00132.x>
- Assis, G. B. N., Tavares, G. C., Pereira, F. L., Figueiredo, H. C. P., & Leal, C. A. G. (2017). Natural coinfection by *Streptococcus agalactiae* and *Francisella noatunensis* subsp . *Orientalis* in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Fish Diseases*, 40(1), 51-63. <https://doi.org/10.1111/jfd.12493>
- Barato, P., Martins, E. R., Melo-Cristino, J., Iregui, C. A., & Ramirez, M. (2015). Persistence of a single clone of *S.* causing disease in tilapia (*Oreochromis sp.*) cultured in Colombia over 8 years. *Journal of Fish Diseases*, 38(12), 1083-1087. <https://doi.org/10.1111/jfd.12337>
- Barato, P., Martins, E. R., Vásquez, G. M., Ramirez, M., Melo-Cristino, J., Martínez, N., & Iregui, C. (2016). Capsule impairs efficient adherence of *Streptococcus agalactiae* to intestinal epithelium in tilapias *Oreochromis sp.* *Microbial Pathogenesis*, 100, 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.08.040>
- Barato. (2023). *Memorias XXIX Jornada de Acuicultura nov.pdf*.
- Barrera, J., Gómez E., & Mejía M. (2010). Nuevas Investigaciones para un Adecuado Manejo del Chachafruto *Erythrina edulis* Especie para la Alimentcion del Hombre y de los animales domésticos. *Dokumen.Tips*. <https://dokumen.tips/documents/nuevas-investigaciones-para-un-ade-cuado-manejo-del-chachafruto.html>

- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (1998). Pond Aquaculture Water Quality Management. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5407-3>
- Delgado, V. (2018). *Calidad Proteica de las Semillas de Pajuro (Erythrina edulis) sometidas a cocción tradicional y extrusión* [Universidad nacional agraria la molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3149/delgado-soriano-victor-daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Espinoza, G., Rojas, R., & Espinoza Montesinos, F. (2021). Análisis químico proximal de granos y harina de Pajuro (*Erythrina edulis*) para elaborar bebidas proteicas. *Revista Alfa*, 5(14), 297-318. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i14.119>
- Fuentes, Q. (2018). Caracterización nutricional del porotón (*Erythrina edulis*) en dos etapas fenológicas y su potencial productivo en el cantón Rumiñahui. Universidad de las Fuerza Armadas.
- González, X. (2018). Aquavac Strep Sa, la primera vacuna para tilapia que msd salud animal trajo al país. <https://www.agronegocios.co/ganaderia/aquavac-strep-sa-la-primer-vacuna-para-tilapia-que-msd-salud-animal-trajo-al-pais-2753075>
- Gopalraaj, J., Jeevan, S., Suresh, M., Dyapanagoudar, P., & Pappuswamy, M. (2023). Selected Medicinal Herbs as immunity boosters and growth promoters in Aquaculture-A Systematic Review. 12. <https://doi.org/10.31032/IJBPAS/2023/12.6.7195>
- Hořejší, V., Tichá, M., Novotný, J., & Kocourek, J. (1980). Studies on lectins XLVII. Some properties of d-galactose binding lectins isolated from the seeds of butea frondosa, erythrina indica and momordica charantia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 623(2), 439-448. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(80\)90273-1](https://doi.org/10.1016/0005-2795(80)90273-1)
- Iglesias, J. L., Lis, H., & Sharon, N. (1982). Purification and Properties of a d-Galactose/N-Acetyl-d- galactosamine-Specific Lectin from *Erythrina crystagalli*. *European Journal of Biochemistry*, 123(2), 247-252. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1982.tb19760.x>

-
- Iregui, C. A., & Barato, P. A. (2017). «Glyco-inhibitors of Adherence» of *Streptococcus* in Fish.
<https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf;jsessionid=6D79EDF3D1E8E4E41116FEA96C5C1997.wapp2nB?docId=WO2017109587&recNum=73&office=&queryString=%28GBS%29&prevFilter=&sortOption=Pub+Date+Desc&maxRec=9612>
- Iregui, C. A., Comas, J., Vásquez, G. M., & Verján, N. (2016). Experimental early pathogenesis of *Streptococcus agalactiae* infection in red tilapia *Oreochromis spp.* *Journal of Fish Diseases*, 39(2), 205-215. <https://doi.org/10.1111/jfd.12347>
- Kannika, K., Sirisuay, S., Kondo, H., Hirono, I., Areechon, N., & Unajak, S. (2022). Trial Evaluation of Protection and Immunogenicity of Piscine Bivalent Streptococcal Vaccine: From the Lab to the Farms. *Vaccines*, 10(10), 1625. <https://doi.org/10.3390/vaccines10101625>
- Ke, X., Liu, Z., Chen, S., Chen, Z., Zhang, D., Gao, F., & Lu, M. (2021). The immune efficacy of a *Streptococcus agalactiae* immersion vaccine for different sizes of young tilapia. *Aquaculture*, 534, 736289. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736289>
- Llanes, J., & Toledo, J. (2011). Desempeño productivo de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con la inclusión de altos niveles de harina de soya en la dieta. 2011, 45(2). <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193022245015.pdf>
- Mashav. (2023). *Intensive Fish Farming*. <https://www.sena.edu.co/es-co/Noticias/Documents/Pisicultura%20intensiva.pdf>
- MDR, & DANE. (2024). *Bullets Acuicultura Cuarto Trimestre 2022*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Mehta, B. M. (2015). Nutritional and Toxicological Aspects of the Chemical Changes of Food Components and Nutrients During Heating and Cooking. En P. C. K. Cheung & B. M. Mehta (Eds.), *Handbook of Food Chemistry* (pp. 897-936). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5_1

- Morillo, M., Visbal, T., Rial, L., Ovalles, F., & Aguirre, P. (2013). Alimentación de alevines de *Colossoma macropomum* con dietas a base de *erythrina edulis* y soya. 38.
- Nidhina, N., & Muthukumar, S. P. (2015). Antinutritional factors and functionality of protein-rich fractions of industrial guar meal as affected by heat processing. *Food Chemistry*, 173, 920-926. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.071>
- NRC. (2011). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp.
- OECD. (2019). *Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test*. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264069961-en>
- Perera, R. P., Johnson, S. K., & Lewis, D. H. (1997). Epizootiological aspects of *Streptococcus iniae* affecting tilapia in Texas. *Aquaculture*, 152(1), 25-33. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01450-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01450-0)
- Pérez, G. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina Edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229-1232. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80431-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80431-8)
- Pérez, G. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229-1232. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80431-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80431-8)
- Pérez, O. (2017). *Manual del Miso de Chachafruto Hacia una Dietética Cuántica para la Nueva Era Solar*. CIESAM.
- Pino-Rodríguez, S., Prieto-González, S., & Pérez-Rodríguez, M. E. (2004). Género *Erythrina*: Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica. *acta farmacéutica bonaerense*, 23.
- Quezada. (2021). *Aplicaciones potenciales del chachafruto (*Erythrina edulis*) en la alimentación animal* [Escuela superior Politécnica]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15626/1/17T01654.pdf>

-
- Quintero, V., Lucas, J., & Álzate, E. (2013). Determinación de las propiedades térmicas y composicionales de la harina y almidón de chachafruto. *2012*, *14*(28), 16-32.
- Raman, R. P. (2017). Applicability, Feasibility and Efficacy of Phytotherapy in Aquatic Animal Health Management. *American Journal of Plant Sciences*, *08*(02), 257-287. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.82019>
- Rashidian, G., Rainis, S., Prokić, M. D., & Faggio, C. (2021). Effects of different levels of carotenoids and light sources on swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) growth, survival rate and reproductive parameters. *Natural Product Research*, *35*(21), 3675-3686. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1723091>
- Rey, A. L., Asín, J., Ruiz Zarzuela, I., Luján, L., Iregui, C. A., & de Blas, I. (2020). A proposal of standardization for histopathological lesions to characterize fish diseases. *Reviews in Aquaculture*, *12*(4), 2304-2315. <https://doi.org/10.1111/raq.12435>
- Rodkhum, C., Kayansamruaj, P., & Pirarat, N. (2011). Effect of Water Temperature on Susceptibility to *Streptococcus agalactiae* Serotype Ia Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, *41*(3), 309-314. <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/tjvm/article/view/9557>
- Rodríguez. (2022). *Allix³: Feed Formulation Software*—Dietas prácticas para evaluación de toxicidad de la harina de semillas de *Erythrina edulis*.
- Rodríguez, D. (2019). *Nutrición y Alimentación en Acuicultura—Fundamentos de Acuicultura continental* (Vol. 3).
- Roosta, Z., & Hoseinifar, S. H. (2016). The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of tiger barb (*Puntius tetrazona*). *Aquaculture Research*, *47*(5), 1682-1686. <https://doi.org/10.1111/are.12616>
- Salazar, C., & Flores, C. (2015). Evaluación de los parámetros de crecimiento de alevines de tilapia roja (*oreochromis sp.*) Con dietas enriquecidas con dos aceites esenciales

[Universidad Politécnica Salesiana].
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8736/1/UPS-QT06658.pdf>

Shoemaker, C. A., Evans, J. J., & Klesius, P. H. (2000). Density and dose: Factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 188(3), 229-235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00346-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00346-X)

Susilawati, E., Levita, J., Susilawati, Y., & Sumiwi, S. A. (2023). Pharmacology activity, toxicity, and clinical trials of *Erythrina* genus plants (Fabaceae): An evidence-based review. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1281150. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1281150>

Valdez-Gonzales, Iram, Cordero Ramírez, Cuevas, & Soto. (2021). Efecto de la bioconversión de semillas de jaca (*Artocarpus heterophyllus*) en digestibilidad y rendimiento productivo en dietas para tilapia (*Oreochromis niloticus*). 2021.

Vicente, I. S. T., & Elias, F. (2014). Perspectivas da produção de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. 2014.

Wang, B., Thompson, K. D., Wangkahart, E., Yamkasem, J., Bondad-Reantaso, M. G., Tattiyapong, P., Jian, J., & Surachetpong, W. (2022). Strategies to enhance tilapia immunity to improve their health in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 15(S1), 41-56. <https://doi.org/10.1111/raq.12731>

Zhao, Z., Zou, Q., Han, S., Shi, J., Yan, H., Hu, D., & Yi, Y. (2023a). Omics analysis revealed the possible mechanism of streptococcus disease outbreak in tilapia under high temperature. *Fish & Shellfish Immunology*, 134, 108639. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108639>

Zhao, Z., Zou, Q., Han, S., Shi, J., Yan, H., Hu, D., & Yi, Y. (2023b). Omics analysis revealed the possible mechanism of streptococcus disease outbreak in tilapia under high temperature. *Fish & Shellfish Immunology*, 134, 108639. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108639>

Capítulo 5. Discusión, conclusiones y recomendaciones

5.1 Discusión

La acuicultura viene en un rápido crecimiento a pesar del cambio climático global y de las enfermedades que traen consigo, es por esto que se debe estar realizando investigaciones de los ingredientes que se utilizan en la fabricación de alimentos para los peces que sean factibles, sensibles sobre el medio acuático y de preferencia con propiedades fitobióticas para la salud del animal. Este es el caso del género *Erythrina*, con sus componentes fitoquímicos muy estudiados pero con muy poca aplicabilidad al sector piscícola. Hay 16 de las 120 especies de plantas del género con actividades farmacológicas confirmadas, de las cuales las más estudiadas fueron antibacterianas y anticancerígenas; adicionalmente se han aislado sesenta y tres metabolitos de varias partes de la planta y extractos de plantas (Susilawati et al., 2023).

Por mucho tiempo se tiene el conocimiento de la presencia de actividad aglutinante en las diferentes semillas de *Erythrina*; estas aglutinaciones se dan por la presencia de lectinas que tienen especificidad por carbohidratos y sus interacciones con diferentes células, y la lectina de la *Erythrina crista-galli* tiene especificidad por ciertos azúcares, por lo que ha sido estudiada con respecto a su estructura, composición y actividades biológicas (Iglesias et al., 1982). Esta lectina fue usada en la patente que relata el uso de lectinas y glúcidos para prevenir la adhesión de *Streptococcus agalactiae* al epitelio intestinal de las tilapias

(*Oreochromis sp.*) (Iregui & Barato, 2017). *Erythrina crista-galli* es un árbol endémico de la región Uruguaya y Argentina, y no se encuentra con facilidad en Colombia, solo o con más presencia en el departamento de Antioquia.

En el mismo campo, la *Erythrina edulis* se cultiva en diferentes zonas del país, desde los 1200 hasta los 2600 m.s.n.m., y es un árbol multipropósito, con muchos beneficios nutricionales y medicinales como su género. En 1983 se realizó el aislamiento y caracterización de una lectina a partir de las semillas y se obtuvieron resultados similares al de la *E. crista-galli*, afinidad por los mismo azúcares (Pérez G., 1984). En esta investigación se recolectaron diferentes lotes de semilla de *E. edulis* de la región del Huila y se sometieron al mismo proceso de identificación de lectinas a partir de sus semillas.

Los resultados obtenidos en los ejercicios de aislamiento de lectina mencionados anteriormente fueron 9,1 mg; 38 mg; 12 mg; 6,6 mg; y 6,6 mg de lectina por cada 5,5 gr de semilla secas (Iglesias et al., 1982), en harina y harina extruida desarrolladas en esta investigación, (Hořejší et al., 1980) y (Pérez G., 1984) respetivamente, y este último autor menciona que en otras especies de *Erythrina* el contenido de lectina varía entre los 2 a 180 gr de semillas secas.

Muy pocos resultados e investigaciones se han desarrollado en la piscicultura con la inclusión de harina de semillas de *E. edulis* a excepción de cachama (*Colossoma macropomum*) y trucha, pero este último con el uso de las hojas. El primero con una inclusión de harina de semillas de hasta el 40% en las dietas experimentales vs dietas con harina de pescado, en peces con pesos entre 1,8 y 2,08 g que presentaron una alta voracidad y aceptación del alimento. Menciona el autor que no hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) (Morillo et al., 2013). Lo anterior está de acuerdo con los hallazgos de esta investigación, puesto que después de hacer pruebas de toxicidad aguda (96 horas) (OECD, 2019) de harina pre y post extrusión de semillas de balú, en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) con pesos entre los 8 y 25 gr, presentaron voracidad y consumo del alimento natural. De igual forma, se formularon y fabricaron dietas prácticas con diferentes porcentajes de inclusión de harina de semillas, basados patente número

WO 2017/109587 A1. Allí se menciona que la dosis de 30 µg/ml de lectinas obtenida de *Erythrina crista-galli*, redujo la adhesión de bacterias al epitelio intestinal (Iregui & Barato, 2017). Las pruebas de toxicidad como las dietas prácticas no presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos, tampoco en peso final y con una sobrevivencia del 100%.

Para el reto experimental final con *Streptococcus agalactiae* en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), se procesó dieta práctica con inclusión de lectina de (300 µg/ml) de *E. edulis* (EEL) y dieta práctica con 10 µl de lectina de *E. crista-galli* (ECL) y se retó a los animales con la cepa salvaje WT SaTiBe 0818 de *Streptococcus agalactiae* (7×10^7 UFC/ml), bajo condiciones extremas de calidad de agua. Posteriormente se tomaron muestras para aislamiento microbiológico, histopatología, qPCR, inmunohistoquímica para *S. agalactiae* y lectinohistoquímica para ECL.

5.2 Conclusiones y Recomendaciones

Como conclusiones generales se logró la identificación y caracterización de la *Erythrina edulis*, el contenido nutricional de sus semillas que podría favorecer su inclusión en dietas para peces y una lectina activa que permitió determinar la afinidad por galactosa sin perder su actividad aglutinadora post-extrusión en las dietas prácticas, las cuales en los retos de toxicidad aguda los animales no presentaron mortalidades por lo que la convierte en una materia prima segura y no causa lesiones en tilapia nilótica. En estas dietas, la suplementación con *E. crista-galli* (ECL) y *E. edulis* (EEL) podrían estar jugando un papel en la ocupación de potenciales receptores con conformación beta galactosa en la superficie del intestino para el *S. agalactiae*, inhibiendo su adherencia, por lo que posteriores estudios con análisis más temprano del fenómeno de adherencia bacteriana, podrían dilucidar mejor el papel de la lectina de la dieta práctica sobre el intestino inhibiendo la adherencia del *S. agalactiae*.


**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Se recomienda hacer escalable la experimentación de esta investigación en campo, la cual no fue posible desarrollarla por inconvenientes derivados de la pandemia COVID-19, y se cuenta con dietas prácticas formuladas con inclusión de *E. edulis* y tiene una lectina potencialmente disponible para hacer la eficiencia de la inhibición de la adherencia del *S. agalactiae* en tilapias, por lo cual se requieren posteriores evaluaciones.

5.3 Referencias

- Hořejší, V., Tichá, M., Novotný, J., & Kocourek, J. (1980). Studies on lectins XLVII. Some properties of d-galactose binding lectins isolated from the seeds of *butea frondosa*, *erythrina indica* and *momordica charantia*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 623(2), 439-448. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(80\)90273-1](https://doi.org/10.1016/0005-2795(80)90273-1)
- Iglesias, J. L., Lis, H., & Sharon, N. (1982). Purification and Properties of a d-Galactose/N-Acetyl-d- galactosamine-Specific Lectin from *Erythrina crystagalli*. *European Journal of Biochemistry*, 123(2), 247-252. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1982.tb19760.x>
- Iregui, C. A., & Barato, P. A. (2017). «Glycoinhibitors of Adherence» of *Streptococcus* in Fish. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf;jsessionid=6D79EDF3D1E8E4E41116FEA96C5C1997.wapp2nB?docId=WO2017109587&recNum=73&office=&queryString=%28GBS%29&prevFilter=&sortOption=Pub+Date+Desc&maxRec=9612>
- OECD. (2019). *Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test*. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264069961-en>
- Pérez G. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina Edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229-1232. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80431-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80431-8)
- Susilawati, E., Levita, J., Susilawati, Y., & Sumiwi, S. A. (2023). Pharmacology activity, toxicity, and clinical trials of *Erythrina genus* plants (Fabaceae): An evidence-based review. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1281150. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1281150>

Anexo A. Identificación Taxonómica de *Erythrina edulis*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE CIENCIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

Bogotá D.C., 09 de diciembre de 2021 B.ICN-134-2021

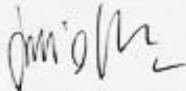
Estudiante de Maestría
Hernán Alberto Vela M.
Universidad Nacional de Colombia
La ciudad

Asunto: **Identificación taxonómica de muestra botánica**

Cordial saludo. Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

Nombre	FAMILIA	No de Colecta	No. COL	Colector	Determinó
<i>Erythra edulis</i> Tr.	Fabaceae Lindl.	1	615386 615387	Hernán Alberto Vela	J. Betancur /2021

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) testigo(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.

Cordialmente, 

Prof. JULIO C. BETANCUR-BETANCUR
Director
Herbario Nacional Colombiano -COL
Universidad Nacional de Colombia
E-mail: herbacol_fcbog@unal.edu.co
Copia - Archivo COL

Carrera 30 No. 45-03, INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES,
"HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)" Edificio 425- piso 2º, Oficina 222
Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext.11538 – 11518 Fax: 11538
Correo electrónico: herbacol_fcbog@unal.edu.co
Bogotá, Colombia, Sur América

Anexo B. Resultados proximales de las muestras de harina de semillas de Erythrina edulis



INFORME DE RESULTADOS



No. Informe 58883-V-1

CLIENTE: Ventas de alimento producto terminado
SEDE: Palermo, Huila
CONTACTO: Hernán Alberto Vela M.
CARGO: Gerente de zona Neiva - Especialista en Acuicultura
TELÉFONO: 313 886 2444
DIRECCIÓN: KM 2 vía Neiva -Palermo, Huila
CORREO: hernanvela@italcol.com

FECHA DE INGRESO: 2020-10-20
FECHA DE ANÁLISIS: 2020-10-27
FECHA DE INFORME: 2020-10-29

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

No. MUESTRA: 58883
PRODUCTO: Chachafruto
PROVEEDOR/CLIENTE: N.E.
LOTE: 11/03/2020 lote 3
FECHA FABRICACIÓN: N.E.
FECHA VENCIMIENTO: N.E.
OBSERVACIONES: Secado y molido

ASPECTO: Harina
COLOR: Café oscuro
OLOR: Característico
TEMPERATURA: 20 °C
CANTIDAD DE MUESTRA: 550 g

ANÁLISIS	UNIDAD	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	MÉTODO	CONCEPTO
Humedad	g/100 g	N.E.	10,13	Basado en ISO 6496:1999	N.A.
Proteína	g/100 g	N.E.	17,69	Basado en ISO 5983-2:2009	N.A.
Grasa (hidrólisis ácida)	g/100 g	N.E.	0,96	Basado en AOAC 922.06	N.A.
Ceniza	g/100 g	N.E.	6,10	Basado en ISO 5984:2002	N.A.
Calcio	g/100 g	N.E.	0,11	Basado en ISO 6490-1:1985	N.A.
Fósforo total	g/100 g	N.E.	0,35	Basado en ISO 6491:1998	N.A.
Inhibidores de tripsina	TIU/mg	N.E.	60,64	Basado en Ba 12a-20	N.A.

N.A.: No aplica N.E.: No especifica v: Vigente ND: No detectado BH: Base húmeda BS: Base seca

Draft

NOTA:

El muestreo fue realizado por el cliente.

Este certificado no puede ser reproducido sin previa autorización escrita de la dirección técnica de Italcol. Los resultados sólo son válidos para la muestra recibida.

Analista responsable:

Maicol Choconta Carreño
Analista Junior

Revisado por:

Alexandra Lozano Franco
Directora Técnica LCI

--- Fin del informe ---

Página 1 de 1
LCI-FR-086-V-5

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**



INFORME DE RESULTADOS



No. Informe 58884-V-1

CLIENTE: Ventas de alimento producto terminado
SEDE: Palermo, Huila
CONTACTO: Hernán Alberto Vela M.
CARGO: Gerente de zona Neiva - Especialista en Acuicultura
TELÉFONO: 313 886 2444
DIRECCIÓN: KM 2 vía Neiva -Palermo, Huila
CORREO: hernanvela@italcol.com

FECHA DE INGRESO: 2020-10-20
FECHA DE ANÁLISIS: 2020-10-27
FECHA DE INFORME: 2020-10-29

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

No. MUESTRA: 58884
PRODUCTO: Chachafruto
PROVEEDOR/CLIENTE: N.E.
LOTE: 4
FECHA FABRICACIÓN: N.E.
FECHA VENCIMIENTO: N.E.
OBSERVACIONES: Peso: 9 Kg, frasco - 1.53 Kg, seco - 1.5 Kg, molido

ASPECTO: Harina
COLOR: Café oscuro
OLOR: Característico
TEMPERATURA: 20 °C
CANTIDAD DE MUESTRA: 570 g

ANÁLISIS	UNIDAD	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	MÉTODO	CONCEPTO
Humedad	g/100 g	N.E.	6,97	Basado en ISO 6496:1999	N.A.
Proteína	g/100 g	N.E.	19,77	Basado en ISO 5983-2:2009	N.A.
Grasa (hidrólisis ácida)	g/100 g	N.E.	0,50	Basado en AOAC 922.06	N.A.
Ceniza	g/100 g	N.E.	7,30	Basado en ISO 5984:2002	N.A.
Calcio	g/100 g	N.E.	0,17	Basado en ISO 6490-1:1985	N.A.
Fósforo total	g/100 g	N.E.	0,38	Basado en ISO 6491:1998	N.A.
Inhibidores de tripsina	TIU/mg	N.E.	58,00	Basado en Ba 12a-20	N.A.

N.A.: No aplica N.E.: No especifica v: Vigente ND: No detectado BH: Base húmeda BS: Base seca

Draft

NOTA:

El muestreo fue realizado por el cliente.

Este certificado no puede ser reproducido sin previa autorización escrita de la dirección técnica de Italcol. Los resultados sólo son válidos para la muestra recibida.

Analista responsable:

Maicol Choconta Carreño
Analista Junior

Revisado por:

Alexandra Lozano Franco
Directora Técnica LCI

-- -Fin del informe- - -

Página 1 de 1
LCI-FR-086-V-5



INFORME DE RESULTADOS



No. Informe 58885-V-1

CLIENTE: Ventas de alimento producto terminado
SEDE: Palermo, Huila
CONTACTO: Hernán Alberto Vela M.
CARGO: Gerente de zona Neiva - Especialista en Acuicultura
TELÉFONO: 313 886 2444
DIRECCIÓN: KM 2 vía Neiva -Palermo, Huila
CORREO: hermanvela@italcol.com

FECHA DE INGRESO: 2020-10-20
FECHA DE ANÁLISIS: 2020-10-27
FECHA DE INFORME: 2020-10-29

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

No. MUESTRA: 58885
PRODUCTO: Chachafruto
PROVEEDOR/CLIENTE: N.E.
LOTE: 15/10/19 lote 2
FECHA FABRICACIÓN: N.E.
FECHA VENCIMIENTO: N.E.
OBSERVACIONES: Extruido

ASPECTO: Harina
COLOR: Café oscuro
OLOR: Característico
TEMPERATURA: 20 °C
CANTIDAD DE MUESTRA: 600 g

ANÁLISIS	UNIDAD	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	MÉTODO	CONCEPTO
Humedad	g/100 g	N.E.	9,34	Basado en ISO 6496:1999	N.A.
Proteína	g/100 g	N.E.	18,74	Basado en ISO 5983-2:2009	N.A.
Grasa (hidrólisis ácida)	g/100 g	N.E.	0,51	Basado en AOAC 922.06	N.A.
Ceniza	g/100 g	N.E.	6,70	Basado en ISO 5984:2002	N.A.
Calcio	g/100 g	N.E.	0,05	Basado en ISO 6490-1:1985	N.A.
Fósforo total	g/100 g	N.E.	0,35	Basado en ISO 6491:1998	N.A.
Inhibidores de tripsina	TIU/mg	N.E.	27,30	Basado en Ba 12a-20	N.A.

N.A.: No aplica N.E.: No especifica v: Vigente ND: No detectado BH: Base húmeda BS: Base seca

Draft

NOTA:

El muestreo fue realizado por el cliente.

Este certificado no puede ser reproducido sin previa autorización escrita de la dirección técnica de Italcol. Los resultados sólo son válidos para la muestra recibida.

Analista responsable:

Maicol Choconta Carreño
Analista Junior

Revisado por:

Alexandra Lozano Franco
Directora Técnica LCI

-- Fin del informe --

Página 1 de 1

LCI-FR-086-V-5

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**



INFORME DE RESULTADOS



No. Informe 58886-V-1

CLIENTE: Ventas de alimento producto terminado
SEDE: Palermo, Huila
CONTACTO: Hernán Alberto Vela M.
CARGO: Gerente de zona Neiva - Especialista en Acuicultura
TELÉFONO: 313 886 2444
DIRECCIÓN: KM 2 vía Neiva -Palermo, Huila
CORREO: hernanvela@italcol.com

FECHA DE INGRESO: 2020-10-20
FECHA DE ANÁLISIS: 2020-10-27
FECHA DE INFORME: 2020-10-29

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

No. MUESTRA: 58886
PRODUCTO: Chachafruto
PROVEEDOR/CLIENTE: N.E.
LOTE: 31/05/19
FECHA FABRICACIÓN: N.E.
FECHA VENCIMIENTO: N.E.
OBSERVACIONES: Lote 1 y 3

ASPECTO: Harina
COLOR: Café oscuro
OLOR: Característico
TEMPERATURA: 20 °C
CANTIDAD DE MUESTRA: 550 g

ANÁLISIS	UNIDAD	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	MÉTODO	CONCEPTO
Humedad	g/100 g	N.E.	9,11	Basado en ISO 6496:1999	N.A.
Proteína	g/100 g	N.E.	17,96	Basado en ISO 5983-2:2009	N.A.
Grasa (hidrólisis ácida)	g/100 g	N.E.	0,23	Basado en AOAC 922.06	N.A.
Ceniza	g/100 g	N.E.	6,39	Basado en ISO 5984:2002	N.A.
Calcio	g/100 g	N.E.	0,05	Basado en ISO 6490-1:1985	N.A.
Fósforo total	g/100 g	N.E.	0,35	Basado en ISO 6491:1998	N.A.
Inhibidores de tripsina	TIU/mg	N.E.	54,20	Basado en Ba 12a-20	N.A.

N.A.: No aplica N.E.: No especifica v: Vigente ND: No detectado BH: Base húmeda BS: Base seca

Draft

NOTA:

El muestreo fue realizado por el cliente.

Este certificado no puede ser reproducido sin previa autorización escrita de la dirección técnica de Italcol. Los resultados sólo son válidos para la muestra recibida.

Analista responsable:

Maicol Choconta Carreño
Analista Junior

Revisado por:

Alexandra Lozano Franco
Directora Técnica LCI

--Fin del informe--

Página 1 de 1
LCI-FR-086-V-5

Anexo C. Resultados de Extracción de proteínas, purificación y cuantificación de Lectina purificada en muestras de harina de semillas de *Erythrina edulis*

<i>I. Contenido de proteína /lectina</i>	
Muestra	%
Harina	20
Proteína soluble*	30
Fracción 0-60% ^s	58
Lectina**	21
Lectina***	0.7

*En NaCl al 1% a partir de tres extracciones / harina

** Proteína en la fracción 0-60%^s.

*** Lectina activa en la muestra de harina, en 5 g de harina hay 35 mg de lectina.

Conclusión

En la muestra de harina se detectó la presencia de actividad aglutinante lo que demuestra que la lectina esta activa en cada una de las etapas de purificación (Tabla I, II). Se observa como se incrementa su actividad (Tabla I, II y III), con un título específico de 100 veces. La solución de lectina obtenida se puede diluir 500 veces para observar actividad de aglutinación. Estos resultados se corroboran con lo obtenido por SDS PAGE donde el perfil de bandas obtenido es característico para esta lectina. Se observa una banda alrededor de los 30 kDa (figuras 3,4,5) y cuando se incrementa la cantidad de lectina se ve el doblete característico de dos subunidades diferentes con pesos moleculares muy cercanos o en algunos casos isolectinas. Además, se observan asociaciones de alto peso molecular, formas diméricas y tetraméricas, que se dan por fuerzas intermoleculares débiles. El contenido de proteína total en la harina es del 20%, de los cuales el 30 % corresponde a proteínas solubles (extraen) en solución salina (NaCl 1%). Con sulfato de amonio (0-60%^s) precipitan el 58 % de globulinas y albuminas; el 21% corresponde a la lectina. Se reporta que la cantidad de lectina activa en la muestra de harina es del 0.7%.

Se llevaron a cabo dos socializaciones de los ensayos realizados a la muestra.

BIBLIOGRAFIA

Gerardo, P. (1984). Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Erythrina Edulis*. *Phytochemistry*, 23(6), 1229–1232. doi:10.1016/s0031-9422(00)80431-8

Elaboró:



Nohora Angélica Vega Castro
Profesor Asociado
Departamento de Química
Grupo de investigación en proteínas (GRIP)
Universidad Nacional de Colombia

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Contenido de proteína/lectina	
Muestra	%
<i>Harina</i>	19.5
<i>Proteína soluble</i>	8.5
<i>Fracción 0-60%<i>s</i></i>	69
<i>Lectina **</i>	19
<i>Lectina ***</i>	0.2

*En NaCl al 1% a partir de tres extracciones / harina

** Proteína en la fracción 0-60%*s*.

*** En la muestra de harina, en 5 g, hay 11 mg de lectina activa.

Conclusión

En la muestra de harina se detectó la presencia de actividad aglutinante lo que demuestra que la lectina esta activa en cada una de las etapas de purificación (Tabla I , II). Se observa como se incrementa su actividad (Tabla I, II), con un título específico mayor a 100. Sin embargo, la cantidad de proteína es menor en el precipitado de 0-60% dado que se observa que no toda es soluble. Por SDS PAGE, el perfil de bandas obtenido es característico para esta lectina, se observa una banda difusa alrededor de los 30 kDa (figura 3), sin embargo, las bandas no son de buena calidad. El contenido de proteína total en la harina es del 19.5 %, de los cuales el 8.5 % corresponde a proteínas solubles en solución salina (NaCl 1%). Con sulfato de amonio (0-60%*s*) precipitan el 69 % de globulinas y albuminas; el 19 % corresponde a la lectina. Se reporta que la cantidad de lectina activa en la muestra de harina es del 0.2% (Figuras 1, 2).

Elaboró:



Nohora Angélica Vega Castro
Profesor Asociado
Departamento de Química
Grupo de investigación en proteínas (GRIP)
Universidad Nacional de Colombia

TABLA IV. PORCENTAJE (%) DE PROTEINA

MUESTRA	Dieta práctica (%)	Control (%)	Control ECL (%)
HARINA	38.9	41.7	42.2
PROTEÍNAS SOLUBLES	11.7	10.7	12.6
FRACCIÓN 0-60%S	37.9	33.9	28.7
LECTINA **	45.4	55.3	15.7
LECTINA ***	0.808 ²	0.840 ³	0.240 ⁴

*En NaCl al 1% a partir de tres extracciones / harina

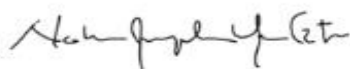
** % de lectina en la fracción de proteínas obtenidas al 0-60%_s

1. Por cada 5 g de harina "Dieta practica" hay 39.4 mg de lectina activa 2. Por cada 5 g de harina "Control" hay 42 mg de lectina activa. 3. Por cada 5 g de harina "Control ECL" hay 12 mg de lectina activa. ***Lo anterior equivale al 0.8 % de lectina en la harina rotulada como Dieta práctica y Control; 0.24% para la harina control ECL.

En las 3 muestras de harina se detectó la presencia de actividad aglutinante lo que demuestra que la lectina esta activa. El contenido de proteína total en la harina "Dieta practica" es del 38.93 %, de los cuales el 11.71 % corresponde a proteínas solubles en solución salina (NaCl 1%). Con sulfato de amonio (0-60%_s) precipitan el 37.96 % de globulinas y albuminas; el 46.67 % corresponde a la lectina. Se reporta que la cantidad de lectina activa en la muestra de harina es del 0.8%. En el caso de la muestra "Control" El contenido de proteína total fue del 41.8 %, de los cuales el 10.71 % corresponde a proteínas solubles en solución salina (NaCl 1%). Con sulfato de amonio (0-60%_s) precipitan el 33.93 % de globulinas y albuminas; el 55.26% corresponde a la lectina. Se reporta que la cantidad de lectina activa en la muestra de harina es del 0.84%. Para la muestra Control ECL contiene 42.54% de proteína total en la harina, de los cuales un 12.51% es proteína soluble, con sulfato de amonio (0-60%_s) un 28.70% de proteínas tipo globulinas y albuminas precipitan; el 15.71% corresponde a la lectina. En este caso la cantidad de lectina en la harina fue del 0.2%. Se presentan los perfiles de electroforesis donde la banda de 30 kDa corresponde al monómero de la lectina.

Quedamos atentos a resolver cualquier inquietud,

Elaboró:



Nohora Angélica Vega Castro
Profesor Asociado
Departamento de Química
Grupo de investigación en proteínas (GRIP)
Tel 3165000 extensión 14465
Celular 3233946748
Universidad Nacional de Colombia

Anexo D. Registro parámetros fisicoquímicos de la calidad de agua en la prueba piloto con harina de semillas de *Erythrina edulis*

PARÁMETROS CALIDAD DE AGUA							
Tratamientos	Fecha	Temperatura (°C)	OD (ppm)	% Saturación	pH	Dureza	TAN
A1	18/11/20	28,41	5,38	56,00	7,53	51,30	0,00
	19/11/20	28,50	5,42	58,60	7,50	51,30	0,00
	20/11/20	28,50	5,00	60,80	7,58	68,40	0,00
	21/11/20	28,30	5,50	55,30	7,50	68,40	0,00
A2	18/11/20	28,40	5,00	58,00	7,54	68,40	0,00
	19/11/20	28,56	5,31	57,20	7,50	51,30	0,00
	20/11/20	28,48	5,20	58,10	7,52	51,30	0,00
	21/11/20	28,50	4,90	60,50	7,50	85,50	0,20
A3	18/11/20	28,40	5,16	56,60	7,50	51,30	0,00
	19/11/20	28,50	4,99	58,20	7,52	51,30	0,00
	20/11/20	28,40	4,73	56,80	7,50	68,40	0,20
	21/11/20	28,30	4,95	55,50	7,49	68,40	0,00
B1	18/11/20	28,40	4,97	59,90	7,50	51,30	0,00
	19/11/20	28,30	4,81	58,80	7,48	51,30	0,00
	20/11/20	28,50	5,00	56,30	7,57	68,40	0,10
	21/11/20	28,20	5,00	59,00	7,51	68,40	0,00
B2	18/11/20	28,38	4,90	60,00	7,52	51,30	0,00
	19/11/20	28,40	5,40	59,40	7,49	64,30	0,10
	20/11/20	28,47	4,80	60,40	7,51	68,40	0,20
	21/11/20	28,30	4,90	59,90	7,51	68,40	0,10
B3	18/11/20	28,30	4,76	58,40	7,51	51,30	0,00
	19/11/20	28,35	5,00	59,80	7,51	51,30	0,00
	20/11/20	28,40	4,76	60,40	7,53	68,40	0,10
	21/11/20	28,30	4,80	60,00	7,51	68,40	0,20
PROMEDIO PRUEBA		28,40	5,03	58,50	7,51	61,10	0,05

Anexo E. Registro de raciones, alimento y cantidad de heces recuperado e la prueba piloto con harina de semillas de *Erythrina edulis*

TRATAMIENTO I				
Alimento suministrado (gr)				
TANQUE	A1	A2	A3	
DIA - HORA	(gr)	(gr)	(gr)	
19/11/20	10:00 a.m.	0,97	0,96	0,95
	2:00 p.m.	0,97	0,96	0,95
	4:00 p.m.	0,97	0,96	0,95
20/11/20	10:00 a.m.	0,97	0,96	0,95
	2:00 p.m.	0,97	0,96	0,95
	4:00 p.m.	0,97	0,96	0,95
21/11/20	10:00 a.m.	0,97	0,96	0,95
	2:00 p.m.	0,97	0,96	0,95
	4:00 p.m.	0,97	0,96	0,95
22/11/20	10:00 a.m.	0,97	0,96	0,95
	2:00 p.m.	0	0	0
	4:00 p.m.	0	0	0
PROMEDIO	0,81	0,80	0,79	
TOTAL	9,70	9,60	9,50	

2. Alimento recuperado por colador (gr)				
TANQUE	A1	A2	A3	
DIA - HORA	(gr)	(gr)	(gr)	
19/11/20	10:00 a.m.	0,18	0	0,13
	2:00 p.m.	0,1	0,23	0,23
	4:00 p.m.	0,19	0,1	0,1
20/11/20	10:00 a.m.	0,21	0,24	0,18
	2:00 p.m.	0,11	0,2	0,08
	4:00 p.m.	0,13	0,07	0,1
21/11/20	10:00 a.m.	0,08	0,22	0,18
	2:00 p.m.	0,2	0,22	0,12
	4:00 p.m.	0,13	0,1	0,1
22/11/20	10:00 a.m.	0,21	0,09	0,22
	2:00 p.m.	0	0	0
	4:00 p.m.	0	0	0
PROMEDIO	0,13	0,12	0,12	
TOTAL	1,54	1,47	1,44	

3. (Alimento + Heces (gr)) - peso filtro (0,85 gr)				
TANQUE	A1	A2	A3	
DIA	(gr)	(gr)	(gr)	
24/11/20	Heces + Hna (gr)	1,48	2,17	2,6
	Peso Filtro (gr)	0,85	0,85	0,85
	Diferencia	0,63	1,32	1,75
TOTAL	0,63	1,32	1,75	

TRATAMIENTO II				
1. Alimento suministrado (gr)				
TANQUE	B1	B2	B3	
DIA - HORA	(gr)	(gr)	(gr)	
19/11/20	10:00 a.m.	0,62	0,60	0,50
	2:00 p.m.	0,62	0,60	0,50
	4:00 p.m.	0,62	0,60	0,50
20/11/20	10:00 a.m.	0,62	0,60	0,50
	2:00 p.m.	0,62	0,60	0,50
	4:00 p.m.	0,62	0,60	0,50
21/11/20	10:00 a.m.	0,62	0,60	0,50
	2:00 p.m.	0,62	0,60	0,50
	4:00 p.m.	0,62	0,60	0,50
22/11/20	10:00 a.m.	0,62	0,60	0,50
	2:00 p.m.	0,62	0,60	0,50
	4:00 p.m.	0	0	0
PROMEDIO	0,57	0,55	0,46	
TOTAL	6,82	6,60	5,50	

2. Alimento recuperado por colador (gr)				
TANQUE	B1	B2	B3	
DIA - HORA	(gr)	(gr)	(gr)	
19/11/20	10:00 a.m.	0	0,08	0,1
	2:00 p.m.	0,11	0,05	0,09
	4:00 p.m.	0,08	0,18	0,16
20/11/20	10:00 a.m.	0,05	0,08	0,1
	2:00 p.m.	0,03	0,15	0,07
	4:00 p.m.	0,09	0,14	0,11
21/11/20	10:00 a.m.	0,15	0,17	0,1
	2:00 p.m.	0,07	0,11	0,14
	4:00 p.m.	0,03	0,33	0,09
22/11/20	10:00 a.m.	0,2	0,07	0,09
	2:00 p.m.	0	0	0
	4:00 p.m.	0	0	0
PROMEDIO	0,07	0,11	0,09	
TOTAL	0,81	1,36	1,05	

3. (Alimento + Heces (gr)) - peso filtro (0,85 gr)				
TANQUE	B1	B2	B3	
DIA	(gr)	(gr)	(gr)	
24/11/20	Heces + Hna (gr)	1,47	1,3	1,3
	Peso Filtro (gr)	0,85	0,85	0,85
	Diferencia	0,62	0,45	0,45
TOTAL	0,62	0,45	0,45	

Anexo F. Formato de registro de animales que consumen (AC), repiten (AR) y regurgitan la harina extruida de semillas de *Erythrina edulis*

Tanque 9 **TRATAMIENTO I - EXTRUIDO DE SEMILLAS DE *Erythrina edulis***
No. inicial de peces 8 **Peso** 3,5 **Cálculo ración 8% de la biomasa**

Fecha	Hora	Ración (gr)	OBSERVACIÓN - VIDEO 3min			NO CONSUMO RACIÓN (g)	Mortalidad (n peces)	Peso animal muerto (g)	Sobrevivencia (n peces)
			# Animales que consumen alimento (AC)	# Animales que repiten alimento (AR)	# Animales que regurgitan alimento				
10/05/2021	8:00 a.m.	0,75	8	8	1		0		8
	11:00 a.m.	0,75	8	8	6		0		8
	3.00 p.m.	0,75	8	8	5		0		8
11/05/2021	8:00 a.m.	0,75	8	8	4		0		8
	11:00 a.m.	0,75	8	8	4		0		8
	3.00 p.m.	0,75	8	8	5		0		8
12/05/2021	8:00 a.m.	0,75	8	8	4		0		8
	11:00 a.m.	0,75	8	8	5		0		8
	3.00 p.m.	0,75	8	8	5		0		8
13/05/2021	8:00 a.m.	0,75	8	8	1		0		8
	11:00 a.m.	0,75	8	8	3		0		8
	3.00 p.m.	0,75	8	8	3		0		8

Anexo G. Registro de especificaciones de calidad de materia prima usada en la preparación de dietas prácticas



ESPECIFICACIÓN DE CALIDAD HEMOGLOBINA

1. DEFINICIÓN

Es un subproducto del rendering de la sangre de especies animales (bovinos, porcinos, pollos), resultante de la extracción del plasma.



2. DESCRIPCIÓN

La sangre es extraída a partir del proceso de faenado en las plantas de sacrificio, se le adiciona anticoagulante y se enfría, posteriormente pasa a un proceso de centrifugación donde se separa el plasma y los glóbulos rojos o hemoglobina y generalmente se deseca por el proceso "Spray Drying" para empacar. El ingrediente obtenido es polvo fino, oscuro y seco.

3. REQUISITOS FÍSICOS

ANÁLISIS	REQUISITO	TOLERANCIA	MÉTODO DE ANÁLISIS	CÓDIGO
Color	Rojo oscuro	Inobjetable	Visual	
Olor	Característico del producto	Inobjetable	Organoléptico	
Temperatura	Máx. 5 °C por encima de la temp. ambiente	Máx. 7 °C por encima de la temp. ambiente	Termómetro 0 °C a 50 °C	
Identificación por Microscopía	Identificación de partes propias del proceso	Contaminación máxima de 1,0%, de M.P no propios del proceso	Visual	
Densidad	400 - 500 Kg/m ³	N.A	Determinación de Densidad en sólidos	DN-IS-AC-008
Humedad	5,0 - 8,0 %	Máx. 9,0 %	Determinación de Humedad	LCI-TA-003

4. REQUISITOS QUÍMICOS

ANÁLISIS	REQUISITO	TOLERANCIA	*MÉTODO DE ANÁLISIS	CÓDIGO
Proteína	90,0 - 95,0 %	Min. 89,0 %	Determinación de Nitrógeno y Proteína C.	LCI-TA-001
Grasa	0,5 - 1,0 %	Máx. 1,5 %	Determinación de Grasa	LCI-TA-002
Cenizas	5,0 %	Máx. 6,0 %	Determinación de Cenizas	LCI-TA-004
Digestibilidad 0,0002%	Min. 92,0 %	Min. 90,0 %	Determinación de Digestibilidad en pepsina	LCI-TA-011

Estos son parámetros estándar para este ingrediente, los resultados también deben ser comparados con la ficha técnica del proveedor según la negociación y consultados con la dirección técnica para una valoración específica en la formulación.

* El método de análisis puede ser químico como se relaciona en la tabla o por Ecuaciones NIRS.

Anexo H. Certificado de Best Aquaculture Practices BAP de ITALCOL S.A. Planta Palermo Huila



BEST AQUACULTURE PRACTICES VALIDATION LETTER

Italcol S.A.

Feed Mill(s)

Km 2 Via Neiva-Palermo, Huila 412001 Colombia

Location of Feed Mill(s)

NSF - NSF SF 23177

ISO CB & Registration Number

M10131

BAP Number

Aquaculture Feed

Species

27 May 2024

Expiration of Authorization

Unannounced Audit

This document, in conjunction with a valid ISO Certification Body Certificate for compliance with GSA/BAP Feed Mill Standard and a current listing on the BAP website www.bapcertification.org, validates the claim of BAP Certification by the facility named herein.

Keiko Pasterczyk, *Director of Certification Operations*

Anexo I. Resultados de diagnóstico veterinario de lotes de larvas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) recepcionadas en Bioterio



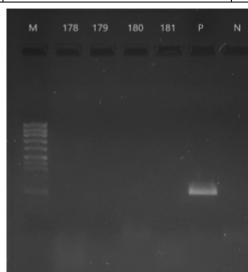
CORPORACIÓN PATOLOGÍA VETERINARIA
No. Registro ICA 099992
Fecha de vencimiento del registro ICA 02/07/2031
MOLECULARVET SAS
No. Registro ICA 099993
Fecha de vencimiento del registro ICA 02/07/2031

REPORTE DE RESULTADO

ANÁLISIS BIOLOGÍA MOLECULAR ANIMALES DE PRODUCCIÓN									
NO. REPORTE	MOL-22-0178			No. Consecutivo Patología		NA			
Fecha de ingreso:	13/05/2022	Fecha toma de muestra:	12/05/2022	Fecha de análisis:	16/05/2022	Fecha de emisión:	16/05/2022		
Nombre:	LARVAS CORPAVET 12/05/2022	Especie:	Tilapia nilótica	Raza o Linea:	<i>Oreochromis niloticus</i>	Sexo:	No aplica	Edad:	Larvas
Granja:	CORPAVET	Departamento:	Cundinamarca	Municipio:	Bogota	Propietario:	CORPAVET		
Remitente:	CORPAVET	Lote:	LARVAS CORPAVET 12/05/2022	E-mail:	asistentetecnico@corpavet.com	Teléfono:	311 8496279		
Servicio solicitado:	M25- Detección de Virus de la tilapia del lago (TILV) RT-PCR								

DESCRIPCIÓN BREVE DE LA HISTORIA CLÍNICA
NO APLICA

ANÁLISIS BIOLOGÍA MOLECULAR			
CONSECUTIVO	TIPO DE MUESTRA	RESULTADO ANÁLISIS MOLECULAR	CARRIL FOTOGRAFÍA
CM-22-0178	Pool órganos (higado, bazo, encéfalo, ojo)	Negativo para detección del ARN de TILV	178



DATOS DEL MÉTODO			
Método analítico:	DETECCIÓN DEL SEGMENTO 3 DEL ARN DE TILV (VIRUS DE LA TILAPIA DEL LAGO) MEDIANTE RT-PCR		
Código:	MA- 11	Versión	1
Agente:	Virus de la Tilapia del Lago - TILV (Segmento 3 RNA)		
Técnica:	amplificación ácidos nucleicos RT-PCR		
Referencia:	Eyngor et al., 2014		

M: Marcador de peso molecular (50 - 1000bp)

P: Control positivo CE: Control de extracción N: Control negativo

Observaciones:	
Alcance: Este resultado solo aplica a las muestras recibidas en el laboratorio	Nota: Este informe no se debe reproducir o copiar sin previa autorización por escrito de Corpavet-MolecularVet

Paola Andrea Barato
Directora científica

V.*B.* analista

FINAL DEL INFORME

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**



CORPORACIÓN PATOLOGÍA VETERINARIA -
CORPAVET
Registro Res. ICA No.099992
Fecha de vencimiento del registro ICA 02/07/2031
MOLECULARVET SAS
Registro Res. ICA No.099993
Fecha de vencimiento del registro ICA 02/07/2031

REPORTE DE RESULTADOS

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DE PECES							
No. de Registro:	CPV-22-0395	Fecha de ingreso:	16/05/2022	Fecha de emisión:	06/06/2022	No. del Reporte :	PAT-22-0395
Especie:	Peces	Raza o Línea:	<i>Oreochromis niloticus</i>	Edad o grupo etéreo:	Larvas	Sexo:	No aplica
Remitente:	Hernán Vela	E-mail:	hvela@italcol.com	Teléfono:	No informa	Fecha de toma muestra:	16/05/2022
Departamento:	Huila	Municipio:	Hobo	Empresa:	Penjamo SAS	Propietario:	Piscícola Penjamo
Tipo de muestra recibida:		Animal vivo		Tipo de servicio solicitado:		P17- Análisis histopatológico de tejidos provenientes de necropsia de peces	
Nombre de la Granja:	No informa	Lote:		Fecha del análisis	06/06/2022	Datos del método:	Lectura lámina con tinción H&E
HISTORIA							
Animales afectados:	Ninguno	Mortalidad:	Ninguno	Signos:	Ninguno		
Actividades de manejo recientes: Monitoreo para ingreso a bioterio				Prácticas de bioseguridad o sanitarias y tratamientos actuales o recientes: No informa			
Agua: Parámetros físico-químicos (alteración o problemas recientes):			No informa				
DESCRIPCIÓN DE LA NECROPSIA							
Apariencia externa:	Sin cambios patológicos aparentes						
Sistema digestivo, hígado, bazo, páncreas, TGI:	Sin cambios patológicos aparentes						
Sistema urinario:	Sin cambios patológicos aparentes						
Sistema reproductivo:	Sin cambios patológicos aparentes						
Sistema cardiovascular:	Sin cambios patológicos aparentes						
Sistema respiratorio:	Sin cambios patológicos aparentes						
Sistema nervioso:	Sin cambios patológicos aparentes						
Sistema muscular y óseo:	Sin cambios patológicos aparentes						
Órganos linfoides:	Sin cambios patológicos aparentes						
Otros:	Sin cambios patológicos aparentes						
ANÁLISIS FINAL DE NECROPSIA:	Sin cambios patológicos aparentes						
DIAGNÓSTICO DE NECROPSIA							
Sin cambios patológicos aparentes							
DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA							

Encefalo: Sin cambios relevantes
 Ojo: Sin cambios relevantes
 Branquias: Leve presencia de trichodinas en la superficie branquial
 Corazón: Sin cambios relevantes
 Hígado: Sin cambios relevantes
 Bazo: Sin cambios relevantes
 Riñón: Sin cambios relevantes
 Estómago: Sin cambios relevantes
 Intestino: Sin cambios relevantes
 Gónadas: Sin cambios relevantes
 Piel: Sin cambios relevantes

ANÁLISIS DEFINITIVO

Parasitismo branquial leve por trichodinas. Animales en condición sanitaria aceptable

RECOMENDACIONES

1. Mantener monitoreo sanitario semestral (mínimo histopatología, RT-PCR para TILV y aislamiento de *Streptococcus agalactiae*) para detectar tempranamente eventos de enfermedad
2. Registrar y retirar permanentemente la mortalidad del sistema. Recoger y sacrificar permanentemente los animales enfermos (nado en círculo o como locos, animales que tengan exoftalmia o cualquier signo de comportamiento anormal) ya que se convierten en reservorios de los microorganismos.
3. Monitorear y reducir la carga de materia orgánica del sistema de cultivo. Evaluar diariamente la turbidez con el disco de Sechi y mínimo semanalmente niveles de amonio y nitritos. Usar bioremediadores para reducir la carga de materia orgánica en el sistema de cultivo.
4. Implementar y/o monitorear el sistema de bioseguridad de la granja y el programa sanitario

Seguir las recomendaciones dictadas por el ICA, Resolución 020186, del 26 de Dic de 2016

MICROFOTOGRAFÍAS

NO APLICA

Alcance: Este resultado solo aplica a la muestra recibida en el laboratorio.

Nota: Este informe no se debe reproducir o copiar sin previa autorización por escrito de Corpavet-MolecularVet.



RICARDO J PIÑEROS DUQUE
 Coordinador del servicio de diagnóstico



PAOLA A. BARATO G.
 Directora científica

FINAL DEL REPORTE

Anexo J. Resultados finales de la prueba piloto del aseguramiento del consumo y evaluación de toxicidad de la harina de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Prueba piloto para aseguramiento del consumo del alimento en harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i>.							
Tratamiento Control: Harina 45% Itacol S.A. Tratamiento I y II : Harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i>							
PARÁMETROS	TRATAMIENTO "I"			TRATAMIENTO "II"			TRATAMIENTO CONTROL**
	TANQUE A1	TANQUE A2	TANQUE A3	TANQUE B1	TANQUE B2	TANQUE B3	(Hna. 45% Itacol)
Nº Peces Iniciales	20	20	20	10	10	10	15
Nº Peces Finales	20	20	20	10	10	10	15
Peso inicial (gr)	1,93	1,91	1,89	2,19	2,01	2	2
Peso Final (gr)	2,06	2,05	2,04	2,33	2,16	2,12	2,89
Nº Dias prueba piloto	4	4	4	4	4	4	4
Ganancia peso (gr)/Día	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,30
Biomasa inicial (gr)	38,6	38,2	37,8	21,9	20,1	20	30,0
Biomasa final (gr)	41,2	41	40,8	23,3	21,6	21,2	43,35
% Alimento/Biomasa	10	10	10	10	10	10	10
Ración/Día	3,86	3,82	3,78	2,19	2,01	2	1,80
Nº Comidas/Día	4	4	4	4	4	4	4
Grs/Comida	0,97	0,96	0,95	0,55	0,50	0,50	0,45
Alimento total suministrado (gr)	9,70	9,60	9,50	6,8	6,6	5,5	22,77
Alimento consumo aparente (gr)*	7,53	6,81	6,31	5,39	4,79	4,00	21,49
Volúmen (lts)	20	20	20	20	20	20	20
Densidad (grs/lts)	2,06	2,05	2,04	1,17	1,08	1,06	2,17
Nº aros	1	1	1	1	1	1	1
Repeticiones x Tratamientos	3	3	3	3	3	3	3
Nº Peces que comieron (Promedio/Grupo)	20	20	20	10	10	10	15
Porcentaje Peces comieron (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Nº Peces que repitieron (Promedio/Grupo)	20	20	20	10	10	10	15
Porcentaje Peces repitieron (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Nº Peces que regurgitaron (Promedio/Grupo)	0	0	0	0	0	0	0
Porcentaje Peces regurgitaron (%)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Mortalidad	0	0	0	0	0	0	0
% Supervivencia	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
% Consumo de harina de edulis sobre los suministrado	77,6%	70,9%	66,4%	79,0%	72,6%	72,7%	94,38%

*Alimento suministrado - (Alimento no consumido (Recolectado)+heces)

** Datos tomados de campo/Tabla Alimento Mojarras ITALCOL S.A.

Anexo K. Calificación de muerte celular epitelial, inflamación y necrosis en análisis de toxicidad aguda en dietas prácticas con 15ug, 30ug, 150ug y 300ug de *Erythrina edulis* lectina (EEL) y dieta comercial control

Tabla 1. Muerte celular epitelial en estómago

GRUPO EXPERIMENTAL	Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Dieta práctica inclusión 15mg EEL	100	0	0	0	0
Tratamiento TII Dieta práctica inclusión 35mg EEL	100	0	0	0	0
Tratamiento TIII Dieta práctica inclusión 150mg EEL	100	0	0	0	0
Tratamiento TIV Dieta práctica inclusión 300mg EEL	100	0	0	0	0
Tratamiento TI Control Negativo (-) Dieta comercial	0	50	50	0	0

Tabla 2. Inflamación linfocítica en estómago

GRUPO EXPERIMENTAL	Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Dieta práctica inclusión 15mg EEL	0	0	33	33	34
Tratamiento TII Dieta práctica inclusión 35mg EEL	0	0	34	66	0
Tratamiento TIII Dieta práctica inclusión 150mg EEL	0	0	0	66	34
Tratamiento TIV Dieta práctica inclusión 300mg EEL	33	0	33	34	0
Tratamiento TI Control Negativo (-) Dieta comercial	0	0	25	75	0

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Tabla 3. Necrosis en estómago

GRUPO EXPERIMENTAL	Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Dieta práctica inclusión 15mg EEL	0	0	33	33	34
Tratamiento TII Dieta práctica inclusión 35mg EEL	0	0	34	66	0
Tratamiento TIII Dieta práctica inclusión 150mg EEL	0	0	0	66	34
Tratamiento TIV Dieta práctica inclusión 300mg EEL	33	0	33	34	0
Tratamiento TI Control Negativo (-) Dieta comercial	0	0	25	75	0

Tabla 4. Muerte celular epitelial en intestino

GRUPO EXPERIMENTAL	Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Dieta práctica inclusión 15mg EEL	33	33	34	0	0
Tratamiento TII Dieta práctica inclusión 35mg EEL	0	66	34	0	0
Tratamiento TIII Dieta práctica inclusión 150mg EEL	0	66	34	0	0
Tratamiento TIV Dieta práctica inclusión 300mg EEL	33	33	34	0	0
Tratamiento TI Control Negativo (-) Dieta comercial	0	75	25	0	0

Tabla 5. Inflamación linfocítica en intestino

GRUPO EXPERIMENTAL	Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Dieta práctica inclusión 15mg EEL	33	0	33	34	0
Tratamiento TII Dieta práctica inclusión 35mg EEL	0	66	0	34	0
Tratamiento TIII Dieta práctica inclusión 150mg EEL	0	33	33	34	0
Tratamiento TIV Dieta práctica inclusión 300mg EEL	0	66	34	0	0
Tratamiento TI Control Negativo (-) Dieta comercial	0	0	100	0	0

Tabla 6. Necrosis en intestino

GRUPO EXPERIMENTAL	Sin lesión (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Moderado a severo (3)	Severo (4)
Tratamiento TI Dieta práctica inclusión 15mg EEL	33	0	33	34	0
Tratamiento TII Dieta práctica inclusión 35mg EEL	0	66	0	34	0
Tratamiento TIII Dieta práctica inclusión 150mg EEL	0	33	33	34	0
Tratamiento TIV Dieta práctica inclusión 300mg EEL	0	66	34	0	0
Tratamiento TI Control Negativo (-) Dieta comercial	0	0	100	0	0

Anexo L. Resultados finales de la prueba piloto del aseguramiento del consumo y evaluación de toxicidad de la harina extruida de semillas de *Erythrina edulis* en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Prueba piloto para aseguramiento del consumo del alimento extruido de semillas de <i>Erythrina edulis</i> .						
Tratamiento Control I, II y III: Extruido 45% 1,2 mm Itacol S.A.						
Tratamientos I, II y III: Extruido de harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> .						
PARÁMETROS	TRATAMIENTO I			TRATAMIENTO I - CONTROL		
	TRATAMIENTO "I" (Ext. edulis)	TRATAMIENTO "II" (Ext. edulis)	TRATAMIENTO "III" (Ext. edulis)	T. CONTROL "I" (Ext. 45% 1,2 mm Itacol)	T. CONTROL "II" (Ext. 45% 1,2 mm Itacol)	T. CONTROL "III" (Ext. 45% 1,2 mm Itacol)
Nº Peces Iniciales	8	7	3	5	6	2
Nº Peces Finales	8	7	3	5	6	2
Peso Inicial (gr)	3,5	5,7	18,63	5,07	9,7	21,46
Peso Final (gr)	3,59	5,9	19	8,9	11,7	27
Nº Dias prueba piloto	4	4	4	4	4	4
Ganancia peso (gr)/Día	0,03	0,07	0,12	1,28	0,67	1,65
Biomasa Inicial (gr)	28	39,9	55,89	25,35	58,2	42,92
Biomasa final (gr)	28,72	41,3	57	44,5	70,2	54
% Alimento/Biomasa	8	8	8	8	8	8
Ración/Día	2,24	3,19	4,47	2,03	4,66	3,43
Nº Comidas/Día	3	3	3	3	3	3
Grs/Comida	0,75	1,06	1,49	0,68	1,55	1,14
Alimento total suministrado (gr)	8,96	12,768	17,8848	8,112	18,624	13,7344
Alimento consumo aparente (gr)*	3,03	7,2	19,4	8,00	18,00	9,7
Volúmen (lts)	20	20	20	20	20	20
Densidad (gr/lts)	1,44	2,07	2,85	2,23	3,51	2,70
Nº aros	1	1	1	1	1	1
Flujo aire (lts/s)	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115
Repeticiones x Tratamientos	1	1	2	1	1	3
Nº Peces que comieron (Promedio/Grupo)	8	6,66	2,66	4,25	6	1,83
Porcentaje Peces comieron (%)	100%	95%	89%	85%	100%	92%
Nº Peces que repitieron (Promedio/Grupo)	8	6,66	2,45	3,66	6	1,83
Porcentaje Peces repitieron (%)	100%	95%	82%	73%	100%	92%
Nº Peces que regurgitaron (Promedio/Grupo)	3,83	3,25	1,08	0	0	0
Porcentaje Peces regurgitaron (%)	48%	46%	36%	0%	0%	0%
Mortalidad	0	0	0	0	0	0
Sobrevivencia (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Consumo de harinas sobre los suministrado (%)	33,8%	56,4%	108,7%	98,6%	96,6%	70,63%

*Alimento suministrado - Alimento no consumido (Recolectado)

Anexo M. Resultados finales de la evaluación de toxicidad de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (150 y 300 µg/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Evaluación de la toxicidad oral aguda (96 horas) (OECD, 2020) de la harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en dietas prácticas con 2 dosis diferentes (150 y 300 µg).									
Tratamiento control "T": Harina dieta práctica de investigación sin dosis de Glicoproteína. Tratamientos "I" y "II": Dietas prácticas de investigación con diferentes dosis de Glicoproteínas. (150 µg y 300 µg)									
PARÁMETROS	TRATAMIENTO I			TRATAMIENTO II			TRATAMIENTO III		
	HNA, CONTROL DOSIS 0 µg TANQUE 1	HNA, CONTROL DOSIS 0 µg TANQUE 2	HNA, CONTROL DOSIS 0 µg TANQUE 3	DOSIS 150 µg TANQUE 1	DOSIS 150 µg TANQUE 2	DOSIS 150 µg TANQUE 3	DOSIS 300 µg TANQUE 1	DOSIS 300 µg TANQUE 2	DOSIS 300 µg TANQUE 3
N° Peces Iniciales	6	6	7	6	5	6	6	6	6
N° Peces Finales	6	6	7	6	5	6	6	6	6
Peso inicial (gr)	13,0	7,0	2,0	11,0	8,0	4,0	9,0	4,0	14,0
Peso Final (gr)	14,7	8,8	3,8	12,5	9,1	5,6	10,76	5,96	15,48
N° Dias prueba piloto	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Ganancia peso (gr)/Dia	0,57	0,60	0,60	0,50	0,37	0,53	0,59	0,65	0,49
Biomasa inicial (gr)	78	42	14	66	40	24	54	24	84
Biomasa final (gr)	88,2	52,8	26,6	75	45,5	33,6	64,56	35,76	92,88
% Alimento/Biomasa	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Ración/Día	4,68	2,52	0,84	3,96	2,40	1,44	3,24	1,44	5,04
N° Comidas/Día	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Grs/Comida	1,56	0,84	0,28	1,32	0,80	0,48	1,08	0,48	1,68
Alimento total suministrado (gr)	14,04	7,56	2,52	11,88	7,20	4,32	9,72	4,32	15,12
Alimento consumo aparente (gr)	12,68	6,92	2,44	10,76	6,60	4,04	8,8	4,04	13,6
Volúmen (lts)	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Densidad (gr/lts)	4,41	2,64	1,33	3,75	2,28	1,68	3,23	1,79	4,64
Flujo aire (lts/s)	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115
Repeticiones x tratamientos	1	1	1	1	1	1	1	1	1
N° Peces que comieron (Promedio/Grupo)	6	6	7	6	5	6	6	6	6
Porcentaje Peces comieron (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
N° Peces que repitieron (Promedio/Grupo)	6	6	7	6	5	6	6	6	6
Porcentaje Peces repitieron (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
N° Peces que regurgitaron (Promedio/Grupo)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Porcentaje Peces regurgitaron (%)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Mortalidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Supervivencia (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Consumo de harinas sobre los suministrado (%)*	90,3%	91,5%	96,8%	90,6%	91,7%	93,5%	90,9%	93,5%	90,2%

*Harina + SSE.

Solucion Stock 100mg/ml Eugenol

**USO DE *Erythrina edulis* EN DIETAS COMO FUENTE DE LECTINAS
INHIBIDORAS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus agalactiae* AL INTESTINO
DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)**

Anexo N. Resultados finales de la evaluación de toxicidad de dietas prácticas con inclusión de harina de semillas de *Erythrina edulis* con dos dosis diferentes de lectina (15 y 30 µg/ml) y Lectina ECL (30 µl/ml) en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Evaluación de la toxicidad oral aguda (96 horas) (OECD, 2020) de la harina de semillas de <i>Erythrina edulis</i> en dietas prácticas con 2 dosis diferentes (15 µg y 30 µg) y Lectina ECL ((30 µl/ml).													
Tratamiento "I": Control. Harina 45% Itacol sin IG - Harina 45% Itacol con IG (Suministro de alimento INTRAGASTRICO (IG)) Tratamiento "II": Control. Harina dieta practica de investigación sin dosis de Glicoproteína sin IG - Harina dieta practica de investigación sin dosis de Glicoproteína con IG Tratamiento "III": Dieta práctica de investigación con dosis de Glicoproteínas. (15 µg) Tratamiento "IV": Dieta práctica de investigación con dosis de Glicoproteínas. (30 µg) Tratamiento "V": Harina 45% Itacol con Glicoproteína Comercial ECL.													
PARÁMETROS	TRATAMIENTO I		TRATAMIENTO II		TRATAMIENTO III			TRATAMIENTO IV			TRATAMIENTO V		
	CONTROL Hna. 45% Itacol	CONTROL Hna. 45% Itacol INTRAGASTRICA	CONTROL Hna. Práctica Dosis (0 µg)	CONTROL Hna. Práctica Dosis (0 µg) INTRAGASTRICA	Dosis (15 µg) Replica I	Dosis (15 µg) Replica II	Dosis (15 µg) Replica III	Dosis (30 µg) Replica I	Dosis (30 µg) Replica II	Dosis (30 µg) Replica III	Dieta Comercial 45% Lectina ECL (30 µl/ml) Replica I	Dieta Comercial 45% Lectina ECL (30 µl/ml) Replica II	Dieta Comercial 45% Lectina ECL (30 µl/ml) Replica III
N° Peces Iniciales	10	10	7	7	10	10	5	10	10	5	10	10	5
N° Peces Finales	10	10	7	7	10	10	5	10	10	5	10	10	5
Peso inicial (gr)	5.6	7.2	7.3	7.4	5.7	7.5	10.1	5.7	7.6	9.5	5.6	7.2	11.7
Peso Final (gr)	9.52	8.1	7.61	7.45	6.58	8.29	10.9	6.5	8.46	10.38	6.45	8.04	12.43
N° Dias prueba piloto	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Ganancia peso (gr)/Dia	1.31	0.30	0.10	0.02	0.29	0.26	0.27	0.27	0.29	0.29	0.28	0.28	0.24
Biomasa inicial (gr)	56	72	51.1	51.8	57	75	50.5	57	76	47.5	56.0	72	58.5
Biomasa final (gr)	95.2	81	53.27	52.15	65.8	82.9	54.5	65	84.6	51.9	64.5	80.4	62.15
% Alimento/Biomasa	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Raciovivida	4.48	5.78	4.09	4.14	4.56	6.00	4.04	4.56	6.08	3.80	4.48	5.76	4.68
N° Comidas/día	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Gras/Comida	1.49	1.92	1.36	1.38	1.52	2.00	1.35	1.52	2.03	1.27	1.49	1.92	1.56
Alimento 1ra comida (50µg) (gr)	1.49	0.05	1.49	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Alimento total suministrado (gr)	22.80	19.50	20.60	13.90	12.36	16.20	10.97	12.34	16.30	10.33	12.15	15.56	12.88
Alimento consumo aparente (gr)*	22.00	19.20	20.40	13.60	12.36	16.20	10.97	12.00	16.00	10.30	12.0	15.0	12.0
Volumen (lts)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Densidad (gr/lts)	4.76	4.05	2.66	2.61	3.29	4.15	2.73	3.25	4.23	2.60	3.23	4.02	3.11
Flujo aire (lts/s)	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115
Repeticiones x tratamientos	1	1	1	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
N° Peces que comieron (Promedio/Grupo)	10	10	7	7	10	10	5	10	10	5	10	10	5
Porcentaje Peces comieron (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	200%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
N° Peces que repitieron (Promedio/Grupo)	10	10	7	7	10	10	5	10	10	5	10	10	5
Porcentaje Peces repitieron (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	200%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
N° Peces que regurgitaron (Promedio/Grupo)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Porcentaje Peces regurgitaron (%)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Mortalidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sobrevivencia (%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Consumo de raciones sobre los suministrado (Lts.)	96.5%	98.5%	99.0%	97.8%	100.0%	100.0%	100.0%	97.2%	98.2%	99.7%	98.8%	96.4%	94.6%

*Alimento suministrado - Alimento no consumido (Recolectado)

