

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE EXTRACTO DE AJO (*Allium sativum*) EN UNA RACIÓN BALANCEADA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA SOBREVIVENCIA EN EL CULTIVO DE GOLDFISH (*Carassius auratus*).

Por

Andrés Sebastián RYNKOWSKI REY

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias Orientación: Higiene, Inspección-Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal

MODALIDAD Ensayo Experimental



**MONTEVIDEO
URUGUAY
2010**



PÁGINA DE APROBACIÓN

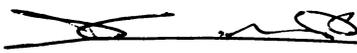
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



Dra. Analía Perez

Segundo miembro (Tutor):



Dr. Daniel Carnevia

Tercer miembro del tribunal:



Dra. Estela Delgado

Fecha: 01/11/2010



Autor:



Andrés Rynkowski

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con ...06 (seis) ...

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por todo el apoyo brindado a lo largo de mi carrera.

A mi tutor Dr. Daniel Carnevia y al Instituto de Investigaciones Pesqueras por brindarme sus instalaciones.

A la Cátedra de Estadística y, especialmente, al Dr. José Piaggio.

A mis tíos: Ricardo Rey, por su ayuda con las traducciones de los textos en inglés y Mónica Rey, con el manejo de las herramientas informáticas.

A todos aquellos que de alguna u otra manera, han hecho posible el desarrollo de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	VI
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
4.1. ASPECTOS GENERALES SOBRE ACUICULTURA EN URUGUAY.....	4
4.2. ACUICULTURA DE PESES ORNAMENTALES EN URUGUAY...	4
<u>4.2.1. Aspectos generales</u>	4
<u>4.2.2. Aspectos comerciales</u>	4
<u>4.2.3. Requerimientos necesarios para el cultivo</u>	4
4.3. PRINCIPALES CARACTERISTICAS DE LA ESPECIE	5
4.3.1. <u>Características de la cría de <i>Carassius auratus</i></u>	5
4.3.2. <u>Principales características de la ración</u>	5
4.4. COMPOSICION DEL AJO (<i>Allium sativum</i>)	5
4.5. ANTECEDENTES DE LA UTILIZACIÓN DE AJO EN MEDICINA	6
4.6. ANTECEDENTES DE LA UTILIZACIÓN DE AJO EN LOS ALIMENTOS	6
4.7. ANTECEDENTES DE LA UTILIZACIÓN DE AJO EN LA ACUICULTURA	6
4.7.1. <u>El ajo como suplemento en la ración en</u> <u><i>Carassius auratus</i></u>	7
4.7.2. <u>Otras formas de administración del ajo</u>	7
4.7.3. <u>Otras formas de administración del ajo</u>	8
4.7.4. <u>Estudios <i>in vitro</i> realizados con el ajo</u>	9
5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	9
5.1. HIPÓTESIS	9
5.2. OBJETIVO GENERAL	9

5.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
6. MATERIALES Y MÉTODOS	10
6.1. LUGAR FÍSICO DONDE SE DESARROLLÓ LA EXPERIENCIA .	10
6.2. ESPECIE SELECCIONADA PARA LA EXPERIENCIA	10
6.3. FORMULACION Y ELABORACIÓN DE LA RACIÓN	10
6.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	11
6.4.1. <u>Parámetros controlados en el agua</u>.....	12
6.4.2. <u>Mediciones, cálculos y análisis estadísticos</u>.....	12
7. RESULTADOS	13
8. DISCUSIÓN	16
9. CONCLUSIONES	17
10. BIBLIOGRAFÍA	18
11. ANEXO I	21
11.1 PLANILLA DE REGISTRO DE TEMPERATURA Y pH, UTILIZADA DURANTE EL EXPERIMENTO.....	21
12. ANEXO II	22
12.1 DATOS OBTENIDOS DE LARGO Y PESO POR INDIVIDUO AL FINAL DE LA EXPERIENCIA.....	22

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS

Cuadro 1: Composición de la ración base utilizada durante toda la experiencia, según datos extraídos de las tablas nutricionales, proporcionadas por los proveedores de la materia prima utilizada	10
Cuadro 2: Porcentaje de biomasa utilizado para el cálculo de ración diaria suministrada durante la experiencia.....	11
Cuadro 3: Peso, largo, sobrevivencia e índice de conversión en peces suplementados con 2% de ajo, 4% de ajo o sin suplementación.....	13

FIGURAS

Figura I: Peso final promedio de <i>C. auratus</i> por tanque, alimentados con una ración con la adición de diferente cantidad de ajo	14
Figura II: Largo final promedio de <i>C. auratus</i> por tanque alimentados con una ración con diferentes cantidades de ajo.....	14
Figura III: Índice de conversión promedio por tanque, para <i>C. auratus</i> alimentados con una ración con la inclusión de diferentes cantidades de ajo.....	15
Figura IV: Porcentaje de sobrevivencia promedio por tanque, para <i>C. auratus</i> alimentados con una ración con diferentes cantidades de ajo	15

1. RESUMEN

-
Deptr

El cultivo de peces ornamentales es comercialmente rentable en Uruguay. Debido a las grandes pérdidas de peces por enfermedades, es necesario investigar sustancias naturales que mejoren la inmunidad, el crecimiento y la sobrevivencia de los peces. El ajo (*Allium sativum*), por su efecto bactericida e inmunoestimulante, entre otros, está siendo utilizado en cultivo de peces y camarones en varias partes del mundo. El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión de ajo en una ración balanceada, sobre el crecimiento y la sobrevivencia de juveniles de goldfish, *Carassius auratus*. Los peces provenientes de un mismo desove, acondicionados en estanques de fibrocemento fueron separados en tres grupos: uno control, uno alimentado con 2% y otro con 4% de ajo en la ración, con tres repeticiones cada uno. Los parámetros registrados fueron porcentaje de sobrevivencia, índice de conversión, peso y largo final. Pese a que el análisis estadístico de los resultados no muestra diferencias significativas entre grupos sobre los parámetros evaluados, se demuestra que la inclusión de ajo en raciones balanceadas no afecta la sobrevivencia y tiene buena palatabilidad.

Palabras clave: *Carassius auratus*, *Allium sativum*, crecimiento, sobrevivencia.

2. SUMMARY

Ornamental fish farming is a profitable commercial in Uruguay. Due to the large losses of fish caused by disease, research is needed natural substances that improve immunity, growth and survival of fish. Garlic (*Allium sativum*), for its antibacterial effects and immune and others, are being used in fish and shrimp farming in various parts of the world. The goal of this work was to study the effect of the inclusion of garlic in a balanced ration on growth and survival of juvenile goldfish, *Carassius auratus*. The same fish from spawning, packed in cement tanks were separated into three groups: one control, one fed with 2% and other 4% with garlic in the diet, with three replicates each. The parameters recorded were survival rate, feed conversion, final weight and length. Although the statistical analysis of results shows no significant differences between groups on these parameters, it is shown that including garlic in balanced rations will not affect the survival and has good palatability.

Key words: *Carassius auratus*, *Allium sativum*, growth, survival.

3. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la acuicultura posee un desarrollo rápido y sostenido, contando con un gran futuro en cuanto a rendimientos, especies apropiadas de ser cultivadas y comercialización de productos (Sanz, 2001). En Uruguay una de las acuiculturas desarrolladas a escala comercial es la de peces ornamentales. La principal especie que se cría y comercializa es el goldfish (*Carassius auratus*), (Carnevia y Rosso, 2001). Tanto en la fase de cría como en la de comercialización ocurren frecuentes epizootias con gran mortalidad de peces (Carnevia *et al.*, 1990).

El progreso de la acuicultura de peces ornamentales ha incrementado el uso de sustancias que favorecen el crecimiento, la ganancia de peso y el desarrollo inmunitario. Dichas sustancias, principalmente antibióticos, son cuestionadas por generar resistencia por parte de microorganismos, contaminación hacia el medio ambiente y presencia como residuo en el alimento (Shalaby *et al.*, 2006).

Debido a esta problemática, surgió la necesidad de estudiar otras sustancias que generen similares beneficios y reduzcan los efectos negativos. Entre estas sustancias, el ajo ha demostrado efectos bactericida, fungicida, antiviral, inmunoestimulante, regulador de la flora intestinal, cardioprotector, hipotensor, antiinflamatorio y posiblemente presente efectos anticancerígenos. entre otras cosas (García Gómez y Sánchez-Muniz, 2000).

Si bien el ajo se ha utilizado como aditivo en raciones de acuicultura, su efecto en diferentes especies es todavía controversial (Colorni *et al.*, 1998; Sasmal *et al.*, 2005).

Por lo expuesto anteriormente resulta de interés estudiar los posibles efectos de la inclusión de ajo en las raciones de peces ornamentales, en particular de la especie *Carassius auratus* en Uruguay.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

D - FAC

4.1. ASPECTOS GENERALES SOBRE ACUICULTURA EN URUGUAY.

La acuicultura puede definirse como el cultivo de organismos acuáticos en áreas continentales o costeras. Esto implica, por un lado, la intervención en el proceso de crianza, con el fin de mejorar la producción y, por otro, la propiedad individual o empresarial del *stock* cultivado (DINARA, 2010).

Desde el año 1957, se han desarrollado diversos proyectos comerciales y experimentales de cultivo de diferentes especies de peces, crustáceos, moluscos, anuros y macrófitas acuáticas. Sin embargo, recién en el año 1996, se declaró la acuicultura, como una actividad de interés en el Uruguay. Por lo que el desarrollo de la acuicultura a nivel nacional, está recién iniciándose (DINARA, 2010).

4.2. ACUICULTURA DE PECES ORNAMENTALES EN URUGUAY.

4.2.1. Aspectos generales.

En el Uruguay, a nivel privado, existe una producción desarrollada de peces ornamentales, llevada a cabo por pequeños productores a escala artesanal (Carnevia, 2008).

Se reconocen tres grupos de peces ornamentales: un grupo constituido por los peces exóticos tropicales (en este momento se crían 16 especies pertenecientes a este grupo), otro constituido por peces exóticos de clima templado (*Carassius auratus* y *Cyprinus carpio koï*) y el tercer grupo está constituido por peces autóctonos, los cuales son capturados y criados por aficionados y no se comercializan (Carnevia, 2008).

4.2.2. Aspectos comerciales.

Existe un mercado interno relativamente pequeño, con unos 500.000 peces/año, de los cuales aproximadamente 300.000 son exóticos de clima templado, 280.000 son exóticos tropicales y 20.000 son autóctonos. A nivel regional, principalmente Brasil y en menor medida Argentina, captan tanto peces exóticos de clima templado como de clima tropical. A nivel internacional, los principales productores son Estados Unidos, Europa y Japón, que captan principalmente peces autóctonos (Carnevia 2008).

4.2.3. Requerimientos necesarios para el cultivo.

Nuestro país presenta condiciones naturales favorables para el cultivo de peces ornamentales y los conocimientos suficientes como para poder desarrollar el cultivo de exóticos de agua templada. Además, es posible criar peces exóticos tropicales, pero con elevados costos de producción, que sólo harían viable cultivos de especies de gran calidad zootécnica, con un alto valor. Respecto a los peces autóctonos, éstos pueden ser cultivados como peces ornamentales para exportación. Éste es un

tipo de cultivo interesante por la relativa facilidad del mismo, el bajo costo de producción y el elevado precio de venta (Carnevia, 2008).

4.3. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE *Carassius auratus*.

Los peces de esta especie se cultivan en China desde hace más de 1000 años con fines ornamentales. En la actualidad pueden reconocerse unas 50 razas y más de 100 variedades. Son peces omnívoros que pueden alimentarse de fitoplancton, zooplancton (fundamentalmente cladóceros), zoobentos (larvas de insectos), pequeños caracoles, vegetales acuáticos, detritus y que además aceptan raciones comerciales balanceadas. Soportan temperaturas de 0 a 35 °C, presentando un crecimiento óptimo entre los 20 y 28°C. Pese a que son muy resistentes, necesitan una concentración de oxígeno superior a 4 ppm y un pH entre 6,5 y 7 (Carnevia, 2008).

4.3.1 Características de la cría de *Carassius auratus*

En general, los reproductores que se utilizan son de uno o dos años de edad. Los mismos se mantienen separados durante el invierno. Cuando la temperatura alcanza los 15 a 25°C (en primavera), se colocan en estanques de desove y se suministran *kakabans* confeccionados con plantas acuáticas o plástico, ya que los huevos son adhesivos. Las hembras pueden producir entre 500 a 2000 huevos por desove. En uno a tres días se produce el desove y se sacan los *kakabans*. Luego se ponen los mismos en tanques de nacimiento y larvicultura, con una densidad aproximada de 10.000 huevos cada 7.000 litros. Se incuban de 3 a 7 días, a 20°C, y una vez nacidos ingieren alimentos vivos (infusorios y cladóceros; o nauplios de artemia) y ración en polvo con un 40% de Proteína Bruta (PB). A los 20 días se pueden pasar a estanques fertilizados con abundante zooplancton (cladóceros). Para su crecimiento se utilizan estanques de tierra de 0,2 a 1 há, encalados y abonados, para proveer una cantidad abundante de alimento natural. Se siembran unos 100 peces/m² y se alimentan a razón de 2 a 3 % de la biomasa por día, con raciones balanceadas durante 60 días. Las mejores raciones son las que contienen de 28 a 30% de PB, de la cual hasta un 60% puede ser de origen vegetal, y un alto porcentaje de carbohidratos, tales como almidón soluble o fibra. También pueden añadirse pigmentos (astaxantinas) para mejorar el color, con lo cual se puede incrementar el precio de venta de los peces. Luego se clasifican y se resiembran (50 a 70 peces por m²) y se crían durante 60 días más. En esta etapa la sobrevivencia es del 80%. Cuando los peces alcanzan un tamaño de 4 a 8 centímetros, pueden ser comercializados (Carnevia, 2008).

4.4. COMPOSICIÓN DEL AJO (*Allium sativum*)

El ajo está compuesto por alrededor de 30 sustancias que le confieren sus propiedades. Esas sustancias son: compuestos azufrados, entre los cuales se encuentran: aliína, ajoeno, alicina, tiosulfatos, alil mercaptano y sulfuro de dialilo, y compuestos no azufrados: adenosina, fructanos (escorodosa), fracción proteica F-4, quercitina, saponinas (gitonina F, eurobósico B), escordina, selenio y ácidos fenólicos (García Gómez y Sánchez Muniz, 2000). Además, el ajo contiene azúcares

constituidos por glucosa, fructosa, almidón y dextrina. También contiene aminoácidos, entre los cuales los más abundantes son: arginina, ácido aspártico, esparraguina, histidina, leucina, metionina, fenil-alanina, prolina, serina, treonina, triptófano y valina (Iglesias, 2008).

4.5. ANTECEDENTES DE LA UTILIZACIÓN DE AJO EN MEDICINA

Se han desarrollado diversos suplementos nutricionales para el hombre a partir de extracto de ajo combinado con otros derivados biológicos. Estos suplementos disminuyen el colesterol y triglicéridos en sangre y mejoran la relación entre las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Hsia. y Fan, 2001). La utilización de ajo y aceite de pescado en conjunto, promueve cambios en las sub-fracciones de lípidos, mejorando la proporción lípidos/HDL, lo que disminuye el riesgo de padecer enfermedades coronarias (Morcos, 1997). El ajo puede tener efectos positivos, según demuestran García Gómez y Sánchez-Muniz (2000), reduciendo la hiperlipidemia, la hipertensión, y previniendo la formación de trombos.

4.6. ANTECEDENTES DE LA UTILIZACIÓN DE AJO EN LA ELABORACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS.

El ajo, como aditivo, ha sido efectivo para aumentar la vida útil de los alimentos. En el almacenamiento del calamar *Todarodes pacificus*, Kim *et al.* (1994), estudiaron los efectos del incremento en las concentraciones de ajo sobre la formación de Óxido de Trimetilamina, Trimetilamina, recuento de bacterias ácido lácticas, psicotrofos y hongos. Estos autores encontraron que en las etapas iniciales del período de almacenamiento algunos de estos factores se incrementaron mientras que, en las etapas posteriores del período de almacenamiento, éstos disminuyeron.

Cuando el ajo fue utilizado como conservante del mackarel (*Scomber scombrus*) ahumado, en forma de pasta, sólo y mezclado con jengibre (*Zingiber officinale*), las muestras tratadas con ajo sólo o combinado con el jengibre fueron microbiológicamente más estables y tuvieron una mayor vida útil respecto a las muestras de control (Ikeme y Bhandary, 2001).

En el mismo sentido, la utilización de aceite de ajo como conservante de la carne de carpa no sólo disminuyó su microflora bacteriana, sino que se encontró en el grupo de los aceites que mejores resultados produjeron, comparado con otros 9 componentes de aceites esenciales (Mahmoud, et al., 2004).

Por otro lado, la utilización de ajo en 5 concentraciones diferentes durante 43 días provocó un incremento en las concentraciones de selenio y seleniometionina en los filetes del bagre africano (*Clarias gariepinus*) (Schram, et al., 2008). Un alto contenido de selenio orgánico resulta beneficioso por sus propiedades anticarcinogénicas.

4.7. ANTECEDENTES DE LA UTILIZACIÓN DE AJO EN ACUICULTURA.

Shalaby et al. (2006), trabajaron con la Tilapia del Nilo alimentadas con una raciones con ajo al 1%, 2%, 3% y 4% y suplementadas con cloranfenicol (15, 30 y 45). Los

resultados obtenidos fueron un mayor crecimiento, sobrevida e índice de conversión en los peses alimentados con la ración suplementada con un 3 % de ajo.

En el mismo sentido, Diab, *et al.* (2008), compararon los efectos del ajo, semilla negra (*Nigella sativa*) y de un inmunoestimulante comercial, también en la Tilapia del Nilo, y encontraron un mayor crecimiento, sobrevida, mejor condición, mayor resistencia al estrés y menor mortalidad inespecífica en todos los grupos que recibieron inmunoestimulantes, excepto biógeno, y una menor mortalidad en individuos que fueron inoculados con *Pseudomona fluorecsens*. Además, Das *et al.*, (2007) trabajando con *Labeo rohita*, suplementada con ajo en concentraciones de 0,1% , 0,5% y 1% en la ración e inoculada con *Aeromonas hydrophyla*, registraron una mayor sobrevida en los grupos suplementados con ajo en las tres concentraciones, respecto al grupo control.

La utilización de ajo al 0.1%, 0,15% y 0,2%, en la ración del pacú, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae), disminuyó la presencia de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) en las branquias y aumentó en número de eritrocitos, leucocitos, hemoglobina, trombocitos y hematocrito, luego del día cuarenta y cinco de suplementación (Martins *et al.*, 2002). De forma similar, el uso de ajo como aditivo en la ración, en combinación con hierbas con principios activos biológicamente similares, como las saponinas, en el camarón (*Panaeus chinensis*) infectado con *Vibrio alginolyticus*, produjo un incremento en la función inmunitaria, y otorgó un considerable efecto protector (Aifang, *et al.* 1997).

Por otro lado, el ajo también ha sido utilizado en el tratamiento contra piojos del género *Argulus*, en el Salmón. Boxaspen y Holm. (1991), adicionaron un 10% de ajo en una ración húmeda, y encontraron que el ajo fue más eficaz que el extracto de cebolla, aunque fue menos eficaz que los piretroides utilizados frecuentemente como insecticidas.

4.7.1. El ajo como suplemento en la ración en *Carassius auratus*.

En diferentes trabajos, el ajo ha sido utilizado como suplemento en la dieta del *Carassius auratus*. Entre ellos, Sasmal *et al.* (2005) estudiaron el efecto del ajo sobre el crecimiento de esta especie. En este trabajo, los peces alimentados con una ración suplementada con un 1% de ajo, mostraron la mayor ganancia de peso e índice de conversión y no mostraron un efecto inhibitorio considerable sobre la microflora intestinal.

Por otro lado, Ji, *et al.* (2008) utilizó extracto crudo de ajo, cáscara disecada de mandarina (*Pericarpium citrus Reticulatae*), pinocha (*Pinus tabulace Formis*) y clavo de olor (*Syringa oblata*) para evaluar la capacidad de atracción de estos componentes sobre el Goldfish (*Carassius auratus*). Tanto la cáscara de mandarina, como el extracto de ajo y la pinocha presentaron propiedades de atracción sobre el goldfish, mientras que el clavo de olor no tuvo efecto.

4.7.2. Otras formas de administración del ajo.

El ajo ha sido utilizado, aunque sin éxito, en *Dicentrarchus labrax*, sólo y en combinación con estreptomycin, inyectado por vía intraperitoneal con la finalidad de evitar la formación de granuloma por *Micobacterium marinum* (Colorni, *et al.*, 1998).

Por otro lado, Soko y Barker (2004) estudiaron el efecto del ajo molido (3g/litro) y del jugo de limón administrados en baños, para el tratamiento de la enfermedad del punto blanco producida por un protozoo ciliado (*Ichthyophthirius multifiliis*). Estos autores encontraron un mejor resultado del ajo molido comparado con el jugo de limón.

4.7.3. Estudios realizados *in vitro* con el ajo.

Los efectos del ajo han sido estudiados en diversos trabajos realizados *in vitro*. Buchmann, *et al.* (2003), si bien encontraron que el ajo fue efectivo en combatir la enfermedad del punto blanco (de elevada incidencia en peces de agua fría), el tiempo y las concentraciones requeridas para lograrlo fueron superiores, comparado con la acción del percarbonato de sodio y verde de malaquita. No obstante, estas dos últimas sustancias han resultado carcinogénicas.

El extracto de ajo también ha sido efectivo, al igual que el metronidazol, contra el *Neoparamoeba pemaquidens* (Peyghan, *et al.*, 2003) y, al igual que el ácido p-cumárico, inhibió el crecimiento bacteriano de las siguientes cepas: *Escherichia coli* pSB401 y pSB536, *Agrobacterium tumefaciens* NTL4, *Chromobacterium violaceum* 5999 y wt 494, *Pseudomonas pútrida* IsoF-gfp y *Pseudomonas chlororaphis* (Bodini *et al.*, 2009).

Por otra parte el extracto de ajo, al igual que la cáscara disecada de mandarina (*Pericarpium citrus Reticulatae*) y la pinocha (*Pinus tabulae Formis*) presentaron la capacidad de atraer al goldfish, a diferencia del clavo de olor (Ji, *et al.*, 2008).

5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

5.1 HIPÓTESIS

Los peces alimentados con una ración suplementada con ajo tendrán mejor desempeño en el cultivo, medido como porcentaje de sobrevivencia, crecimiento e índice de conversión, que los peces sin suplementación.

5.2 OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de 2 niveles de inclusión de ajo en una ración balanceada sobre diferentes parámetros productivos en peces ornamentales.

5.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar el crecimiento, índice de conversión y porcentaje de sobrevivencia en cultivos alimentados con raciones suplementadas con ajo, en comparación con cultivos alimentados con raciones no suplementadas.

Comparar el efecto de dos concentraciones diferentes de ajo en la ración sobre los diferentes parámetros productivos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 LUGAR FÍSICO DONDE SE DESARROLLÓ LA EXPERIENCIA

La experiencia se realizó en el Instituto de Investigaciones Pesqueras “Prof. Dr. Víctor H. Bertullo”, entre los meses de diciembre del 2007 a octubre del 2008. Los peces se acondicionaron en tanques de fibrocemento en el exterior del Instituto.

6.2. ESPECIE SELECCIONADA PARA LA EXPERIENCIA

Se utilizó como sujeto de experimentación a la especie *Carasius auratus*, provenientes de un mismo desove, con el fin de partir de una homogeneidad genética aceptable. La elección de esta especie se basó en que es la principal especie criada en Uruguay y su rusticidad en cuanto a la temperatura que permite realizar experiencias al aire libre.

6.3 FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE LA RACIÓN

La ración se formuló teniendo presente los requerimientos nutricionales de la especie mencionados por Sealey *et al.* (1998) y Sales y Janssens (2003), utilizando insumos disponibles en plaza (ver cuadro N°1).

La ración se elaboró, una única vez, en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Pesqueras utilizando una mezcladora y una picadora que permitió obtener un “spaguetti” que fue secado en aire caliente a 40 °C, obteniéndose un “pellet” de aproximadamente 3 mm de diámetro.

Luego de elaborada la ración base, cuya composición se muestra en el Cuadro N° 1, se dividió en tres partes iguales, a dos de las cuales se les adicionó ajo en polvo al 2% y 4%, en base fresca, quedando el tercero sin suplementar. El ajo utilizado fue traído de China como suplemento para raciones de camarón.

Cuadro N° 1: Composición de la ración base utilizada durante toda la experiencia, según datos extraídos de las tablas nutricionales, proporcionadas por los proveedores de la materia prima utilizada.

Ingredientes	Harina de pescado	Harina de Soja	Harina de Maíz	Harina de Trigo	Semitín	Aceite de Maíz	TOTAL
Porcentajes en la ración	28%	34%	7%	24%	2%	5%	100
% Proteínas	55	40	13	12	14	0	33,07
% Grasas	6	9	2	1,1	2	100	10,18
% H. de C*	2	28	73,5	77,4	64	0	35,08
% Minerales	28	9	1,5	0,5	5	0	11,22
% Humedad	9	9	9	9	9	0	8,55
% Fibra**	0	5	1	0	6	0	1,89
total	100	100	100	100	100	100	100

* Hidratos de carbono no estructurales ** Hidratos de carbono estructurales

6.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se desarrolló en estanques ubicados en la parte externa del Instituto, sometidos a las variaciones climáticas del entorno. Fueron utilizados nueve estanques de fibrocemento de 450 litros de capacidad, dispuestos en línea, juntos entre sí, en similares condiciones ambientales. Se adjudicaron números entre el 1 y el 9 en forma aleatoria a los estanques. Se diseñó una experiencia de tres tratamientos con tres repeticiones. Mientras que tres tanques oficiaron como grupo control (grupo 1), otros tres estanques oficiaron como grupo con 2 % de ajo en la ración (grupo 2), y tres estanques como grupo con 4 % de ajo en la ración (grupo 3).

Para distribuir los peces en los estanques se procedió primeramente a dividirlos en dos grupos, según el tamaño, con la finalidad de lograr una distribución más uniforme dentro de cada grupo y controlar un factor (tamaño inicial) que podría afectar la interpretación de los resultados. El primero, integrado por noventa individuos con un promedio de peso y largo de 0.275g y 22.8mm respectivamente, y el segundo, integrado por ciento ochenta individuos de 0.09g y 15.8mm en promedio. Los individuos de mayor tamaño fueron distribuidos al azar en los tanques uno, cuatro y siete, con treinta peces por tanque. El segundo grupo integrado por peces de menor tamaño se ubicaron en los estanques dos, tres, cinco, seis, ocho y nueve, con igual número de individuos por tanque.

Para el llenado de los tanques, se utilizó agua de OSE proveniente de grifos ubicados sobre la superficie, en la parte posterior de cada tanque, la renovación de la misma se realizó por goteo permanente con una cantidad de 1/3 del volumen por día, aproximadamente. Con una frecuencia semanal, se realizó un sifoneado del fondo de cada tanque, con un cambio del 25% del agua.

Cada tanque fue cubierto con una malla protectora (malla sombra) para evitar el acceso a pájaros ictiófagos y la caída de hojas.

Todos los días se registró el número de peces muertos (si los hubiera) en cada tanque.

La cantidad de alimento suministrado se calculó según la biomasa de cada grupo. A lo largo de la experiencia el porcentaje de biomasa utilizado para calcular la cantidad de alimento a suministrar se redujo debido a la disminución de la temperatura, asumiendo que el consumo de ración depende directamente de la temperatura.

El siguiente cuadro muestra la evolución en el porcentaje de biomasa utilizado para calcular la cantidad de ración suministrada por día:

Cuadro N° 2: Porcentaje de biomasa utilizado para el cálculo de ración diaria suministrada durante la experiencia.

Fecha del Muestreo	Porcentaje de biomasa utilizado
28/01/08	10%
26/02/08	6%
28/03/08	5%
04/05/08	3%
02/06/08	Muestreo final

6.4.1 Parámetros evaluados en el agua

La temperatura se midió con una frecuencia diaria; el pH se midió cada 72 horas. Los datos fueron registrados en la tabla de control de temperatura y pH. (ANEXO I)

6.4.2 Mediciones, cálculos y análisis estadísticos

La cantidad (en gramos) de ración a dosificar por estanque, se calculó de la siguiente manera: $(\text{Biomasa} \times \text{Porcentaje de biomasa utilizado}) / 100 = \text{Gramos de ración}$.

Los muestreos se realizaron tomando muestras representativas en forma aleatoria. Se realizaron cuatro muestreos durante la experiencia a efectos de corregir la cantidad de comida en función de la biomasa y un muestreo al final. El tiempo transcurrido entre los muestreos fue aproximadamente treinta días. El número de individuos utilizados por estanque, para los primeros 4 muestreos, se aproximó a 1/3 de la población. En el muestreo final se registraron los pesos y longitudes, en forma individual, en la totalidad de los individuos de cada estanque.

Para la medición del largo total se utilizó un ictiómetro, mientras que para el pesaje se utilizó una balanza digital calibrada.

El porcentaje de sobrevivencia de cada tanque se calculó el según la fórmula:

$$(\text{Número final de individuos} \times 100) / \text{Número inicial de individuos.}$$

Se calculó el índice de conversión para cada tanque según la fórmula:

$$\text{Peso total de alimento suministrado al tanque} / (\text{biomasa final} - \text{biomasa inicial})$$

Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el programa Stata 11.0 (StataCorp. 2009. Stata: Release 11. Statistical Software. College Station, TX: StataCorp LP). Los datos de largo, peso, e índice de conversión, fueron comparados entre tratamientos mediante análisis de varianza (ANOVA) a dos vías, utilizando un alfa de 0,05. Se consideraron los efectos de los tratamientos (las tres raciones) y de los bloques por tamaño.

Los datos de sobrevivencia en los estanques fueron comparados entre tratamientos mediante un modelo mixto de regresión logística utilizando un alfa de 0,05.

7. RESULTADOS

El Cuadro 3 muestra los promedios de largo y peso, el índice de conversión y el porcentaje de sobrevivencia, calculados por tanque al final de la experiencia. Las medidas individuales de los peces se muestran en el anexo II.

Cuadro 3 - Peso, largo, sobrevivencia e índice de conversión en peces suplementados con 2% de ajo, 4% de ajo o sin suplementación.

Estanque	Tratamiento	Peso Promedio (gr)	Largo promedio (cm)	Sobrevivencia (%)	Índice de conversión
1	0 %	2.26	4.24	56.7	3.41
2	0 %	1.88	3.63	60	1.58
3	0 %	1.6	3.6	73.3	1.7
4	2%	1.9	4.2	90	2.65
5	2%	1.5	3.6	80	1.6
6	2%	1.5	3.8	56.7	2.4
7	4%	2.3	4.4	50	3.97
8	4%	2.15	3.6	56.7	1.7
9	4%	1.57	3.8	90	1.3

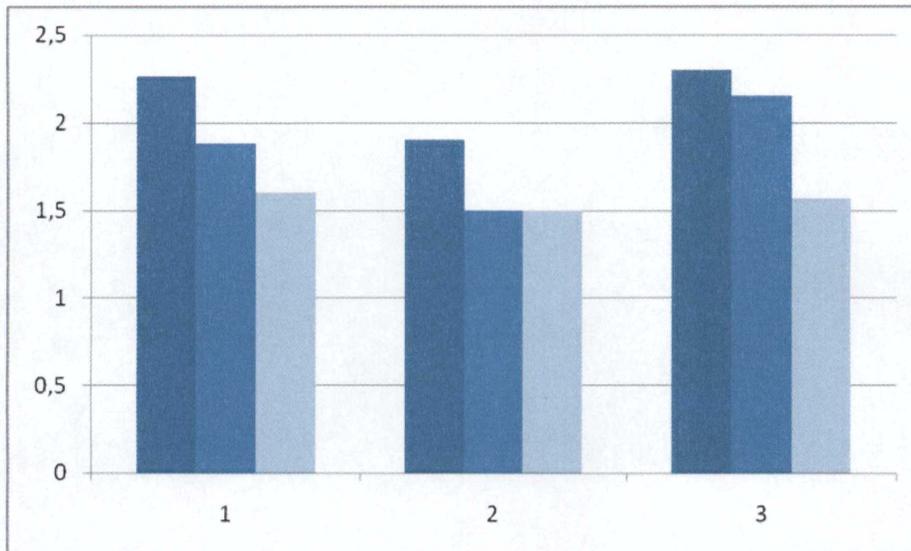
Con respecto al peso final, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F= 0,16$ con $\text{prob}>F= 0,8565$ y 8, 2 g.l.). Los valores promedio de peso variaron entre 1,5 y 2.26 g. Cuando se analizaron los datos de esta variable se confirmaron las diferencias entre los bloques (tamaño inicial) ($F= 6,26$ con $\text{prob}>F= 0,0133$ y 8,1 g.l.).

El largo final, varió entre 3,6 y 4,24 cm, pero tampoco fue afectado por los tratamientos ($F= 0,04$ con $\text{prob}>F= 0,9622$ y 8,2 g.l.). Cuando se analizaron los datos de esta variable también se confirmaron las diferencias entre los bloques (tamaño inicial) ($F= 5,85$ con $\text{prob}>F= 0,0168$ y 8,1 g.l.).

En relación a los índices de conversión, tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F= 0,03$ con $\text{prob}>F= 0,9677$ y 3, 2 g.l.) y se encontraron diferencias entre los bloques (tamaño inicial) ($F= 17,35$ con $\text{prob}>F= 0,008$ y 3, 1 g.l.).

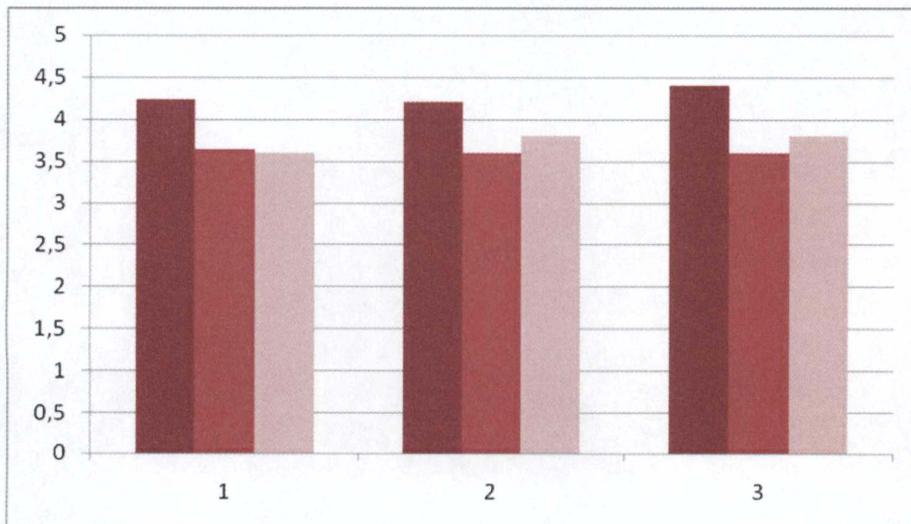
Finalmente, la sobrevivencia de los animales fue similar entre tratamientos ($p>0,05$) y se registró una sobrevivencia de 68,2 % en promedio.

En las Figuras I a IV, se muestran los resultados en forma gráfica para visualizar mejor los resultados obtenidos para los diferentes grupos. Los promedios finales de peso y largo por estanque, se muestran en las figuras I y II, respectivamente. El índice de conversión y el porcentaje de sobrevivencia por estanque, se muestran en las figuras III y IV, respectivamente.



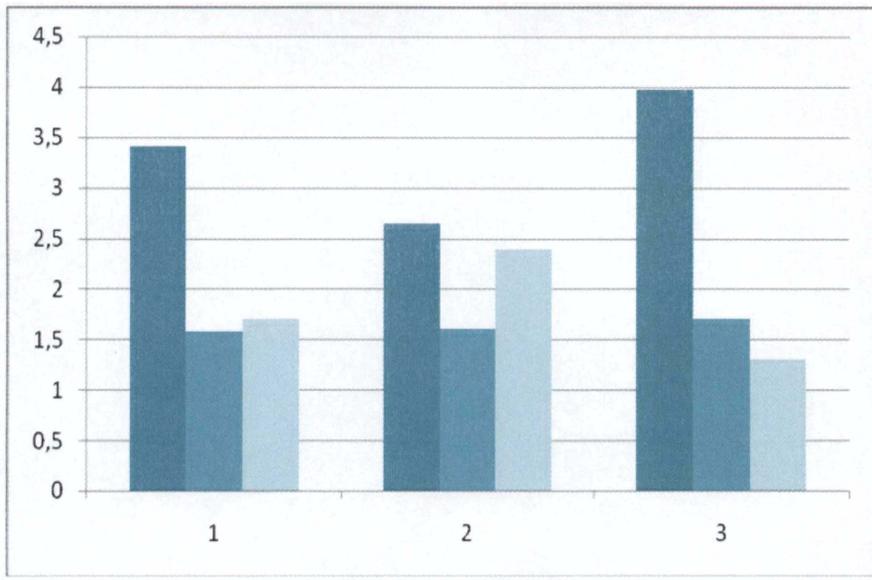
1- Grupo control. 2- Grupo con ajo al 2%. 3- Grupo con ajo al 4%.

Figura I: Peso final promedio de *C. auratus* por tanque, alimentados con una ración con la adición de diferente cantidad de ajo.



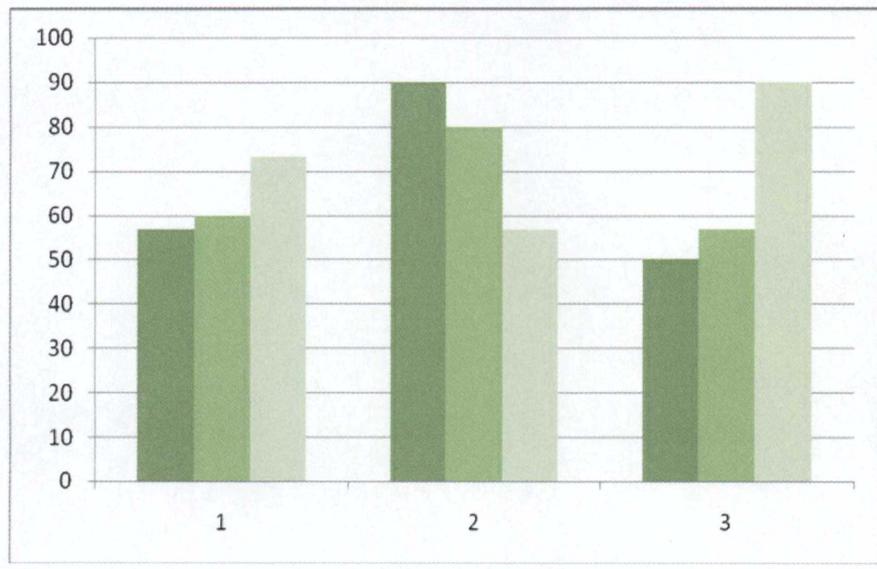
1- Grupo control. 2- Grupo con ajo al 2%. 3- Grupo con ajo al 4%.

Figura II: Largo final promedio de *C. auratus* por tanque alimentados con una ración con diferentes cantidades de ajo



1- Grupo control. 2- Grupo con ajo al 2%. 3- Grupo con ajo al 4%.

Figura III: Índice de conversión promedio por tanque, para *C. auratus* alimentados con una ración con la inclusión de diferentes cantidades de ajo.



1-Grupo control. 2- Grupo con ajo al 2%. 3- Grupo con ajo al 4%

Figura IV: Porcentaje de sobrevivencia promedio por tanque, para *C. auratus* alimentados con una ración con diferentes cantidades de ajo.

8. DISCUSIÓN

Diversos trabajos realizados para evaluar la acción del ajo sobre distintos parámetros en el cultivo de diferentes especies de peces, han presentado resultados ambiguos. Algunos investigadores encontraron diferencias significativas en crecimiento de los peces utilizando el ajo en niveles de 1 % y 2 % (Diab *et al.*, 2008), o solamente al 1 % (Sasmal *et al.*, 2005) o niveles entre 1% y 4% (Shalaby *et al.*, 2006). Mientras que otros no encontraron efectos del uso del ajo al 1% ni al 2% (Martins *et al.*, 2002). En nuestro caso, no encontramos diferencias significativas atribuibles a los tratamientos en ninguno de los niveles de inclusión de ajo utilizados. Esto podría deberse a la utilización de niveles de ajo demasiado altos para la especie (2% y 4%). Al respecto, Sasmal (2005), trabajando con la misma especie, encontró que la concentración más efectiva fue la de 1 %. Otra posible explicación es que quizás la duración del experimento fue muy breve como para que se expresaran diferencias. Las menores temperaturas registradas al final de nuestra experiencia posiblemente generó un enlentecimiento en el crecimiento y podría haber enmascarado los efectos del tratamiento. Un aspecto también importante a considerar en el presente experimento es la influencia de la densidad sobre el crecimiento de los peces. En grupos donde la sobrevivencia fue del 50 % (Estanques 1, 6, 7 y 8), el crecimiento de los peces fue mayor, debido a la disponibilidad de mayor cantidad de agua por animal. Este hecho podría haber enmascarado también el efecto del ajo en cuanto al crecimiento de los peces.

Los resultados de nuestro trabajo, en cuanto a los índices de conversión, difieren de los obtenidos por Shalaby *et al.* (2006). Estos autores reportaron índices de conversión menores en los grupos alimentados con ajo, y menor aún en aquellos alimentados con un 3% de ajo en la ración. Sasmal *et al.* (2005), también encontraron una mejora en el índice de conversión en los grupos alimentados con 1% de ajo en la ración.

En cuanto a la sobrevivencia, nuestros resultados coinciden con aquellos reportados por Shalaby *et al.* (2006), trabajando con tilapias, quienes tampoco encontraron diferencias entre grupos. Sin embargo, Diab *et al.* (2008) obtuvieron una mayor sobrevivencia en tilapias (inoculadas con *Pseudomonas fluorescens*) suplementadas con ajo en la ración. En el mismo sentido, Sahu *et al.* (2007) obtuvieron una mayor sobrevivencia de *Labeo rohita* (inoculados con *Aeromonas hydrophila*) en los grupos alimentados con 0.1, 0.5 y 1 % de ajo en la ración, respecto al grupo control.

9. CONCLUSIONES

La utilización de ajo en la dieta de peces ornamentales de la especie *Carassius auratus*, no afectó el desempeño en el cultivo.

A pesar de que en nuestro trabajo no se obtuvieron beneficios de la utilización de ajo, es posible elaborar raciones balanceadas suplementadas con ajo para la especie, ya que no fueron rechazadas por los peces.

Si bien los beneficios esperados al incluir ajo en la ración de peces ornamentales, no se pudieron comprobar en esta experiencia, y debido a los escasos y contradictorios antecedentes, serían necesarios más estudios (utilizando mayores rangos de dosis, y un mayor número de repeticiones por tratamiento), para evaluar mejor los efectos de diferentes niveles de inclusión de ajo en la dieta de peces ornamentales.

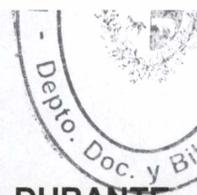
10. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Aifang, D.U., Junan, Y., Lian, Y. (1997) Immunopotential activities of garlic oil compound as a feed additive in *Penaeus chinensis*. J. Zhejiang Agric. Univ. 23:317-320 (abstract).
- 2) Bodini, S.F., Manfredini, S., Epp, M., Valentini, S., Santori, F. (2009) Quorum sensing inhibition activity of garlic extract and p-coumaric acid. Lett. Appl. Microbiol. 49:551-555 (abstract).
- 3) Boxaspen, K., Holm, J.C. (1991) New biocides used against sea lice compared to organophosphorus compounds. En: De Pauw, N., Joyce, J. Aquaculture and the environment. Aquaculture Society Special Publication No.16, Ghent, Gent, Belgium. p.393-402 (abstract).
- 4) Buchmann, K., Jensen P.B., Kruse K.D. (2003) Effects of Sodium Percarbonate and Garlic Extract on *Ichthyophthirius multifiliis* theronts and tomocysts: in vitro experiments. N. Am. J. Aquac. 65: 21-24 (abstract).
- 5) Carnevia, D. (2008) Análisis de las oportunidades de cultivo de especies acuáticas en Uruguay. Montevideo, DINARA – FAO. 68p.
- 6) Carnevia, D., Roso, A. (2001) Relevamiento de Pisciculturas de peces ornamentales en Uruguay: Datos productivos. VII Congr. Nac. Vet., 19 – 22 Noviembre, Montevideo, Uruguay, CD-ROM.
- 7) Carnevia, D., Rosso, A., Eastman, T. (1990) Enfermedades de los peces ornamentales en el Uruguay. Aspectos epizootológicos. Anais do VI Simposio Latinoamericano de Acuicultura, Florianopolis, Brazil. p. 294-298.
- 8) Colorni, A., Avtalion, R., Knibb, W., Berger, E., Colorni, B., Timan, B. (1998) Histopathology of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) experimentally infected with *Mycobacterium marinum* and treated with streptomycin and garlic (*Allium sativum*) extract. Aquaculture 160: 1-17 (abstract).
- 9) Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., Sarangi, N. (2007) Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. J. Appl. Ichthyol. Z. Angew. Ichthyol. 23: 80-86.
- 10) Diab, A.S., Aly, S.M., John, G., Abde-Hadi, Y., Mohammed, M.F. (2008) Effect of garlic, black seed and Biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. Afr. J. Aquat. Sci. 33: 63-68.
- 11) DINARA, Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (2010). Disponible en: http://www.dinara.gub.uy/web_dinara/index.php?option=com_content&view=category&id=39&Itemid=58. Fecha de consulta: 10/03/2010.
- 12) García Gómez, L.J., Sánchez Muniz, F.J. (2000) Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). Arch. Latinoam. Nutr. 50: 219-229.
- 13) Hsia, S., Fan, D. (2001) Method of decreasing cholesterol and triglycerides levels with a composition containing fish oil, garlic, rutin, and capsaicin. Viva Life Science, US Patent: 6326031 (abstract).

- 14) Iglesias Enríquez, I, Fraga Fernández, R., Menéndez, T., Nuñez, M., Prieto, X. (2008) Prevención de algunas enfermedades con el consumo de ajo y cebolla. Disponible en: <http://www.16deabril.sld.cu/rev/226/profe.html>. Fecha de consulta 13/08/2010.
- 15) Ikeme, A.I., Bhandary, C.S. (2001) Effect of spice treatment on the quality of hot-smoked mackerel (*Scomber scombrus*). Consultation d'experts FAO sur la technologie du poisson en Afrique. Saly-Mbour, Republique du Senegal, FAO Fish. Rep no. 712. p. 125-130 (abstract).
- 16) Ji, H., Li, H.M., Zhou, J.S., Liu, L.F. (2008) Feeding attraction of four kinds of plant crude extraction to goldfish (*Carassius auratus*). Fish. Sci. Shuichan Kexue. 27: 67-70.
- 17) Kim, S.M., Bank, O.D., Lee, K.T. (1994) The development of squid *Todarodes pacificus* sik-hae in the Kang-Nung district 3. The effects of garlic concentrations on the properties of sik-hae. J. Korean Fish Soc. 27:357-365 (abstract).
- 18) Mahmoud, B., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C., Suzuki, T. (2004) Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiol. 21: 657-666 (abstract).
- 19) Martins, M.L., Moraes, F.R., Miyazaki, D.M., Brum, C.D., Onaka, E.M., Fenerick, J.J., Bozzo, F.R. (2002) Alternative treatment for *Anacanthorus penilabiatu*s (Monogenea: *Dactylogyridae*) infection in cultivated pacu, *Piarctus mesopotamicus* (Osteichthyes: *Characidae*) in Brazil and its haematological effects. Parasite 9:175-180.
- 20) Morcos, N.C. (1997) Modulation of lipid profile by fish oil and garlic combination. J. Nat. Med. Assoc. 89:673-678 (abstract).
- 21) Sales, J., Janssens, G. (2003) Nutrient requirements of ornamental fish. Aquat. Living Resource. 16: 533-540.
- 22) Sanz, F. (2001) La alimentación en Piscicultura. En: Rebollar, G., de Blas, C., Mateos, G. (eds.) XVII Curso de Especialización: Avances en nutrición y alimentación animal. Madrid, FEDNA. p. 317-327.
- 23) Sasmal, D., Babu, C.S., Abraham, T.J. (2005) Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on the growth and disease resistance of *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). Indian J. Fish. 52:207-214 (abstract).
- 24) Schram, E., Pedrero, Z., Camara, C., Heul, J.W., Luten, J.B. (2008) Enrichment of African catfish with functional selenium originating from garlic. Aquacult. Res. 39:850-860 (abstract).
- 25) Sealey, W., Barziza, D., Davis, J., Gatlin, D. (1998) Dietary protein and lipid requirements of golden shinner and goldfish. SRAC Public. Nº 124. Disponible en: http://aquanic.org/pubicat/usda_rac/efc/srac/124fs.pdf. Fecha de consulta 11/01/2008.
- 26) Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Rahman, A.M. (2006) Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Venom. Anim. Tox. 12:172-201.

27) Soko, C.K., Barker, D.E. (2005) Efficacy of crushed garlic and lemon juice as bio-product treatments for Ichthyophthirius multifiliis ('Ich') infections among juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Proceedings of the Contributed Papers of the 21st Annual Meeting of the Aquaculture Association of Canada, Quebec City. 9 p. 108-110. AAC special publication series (abstract).

11. ANEXO I



11.1 PLANILLA DE REGISTRO DE TEMPERATURA Y pH, UTILIZADA DURANTE EL EXPERIMENTO.

Fecha	T ^a (°C)	pH									
28/01/20	22	7	01/03/20	24		03/04/20	18		06/05/20	14	
29/01/20	23		02/03/20	23.5		04/04/20	15.5		07/05/20	13.5	7
30/01/20	24.5		03/03/20	22	7	05/04/20	19.5	7	08/05/20	14	
31/01/20	24		04/03/20	21		06/04/20	20.5		09/05/20	13	
01/02/20	21.5	7	05/03/20	21		07/04/20	20.5		10/05/20	14	
02/02/20	22		06/03/20			08/04/20	19.5		11/05/20	15.5	7
03/02/20	22		07/03/20	21		09/04/20	20	7	12/05/20	16	
04/02/20	19		08/03/20	20	7	10/04/20	19.5		13/05/20	16	
05/02/20	25		09/03/20	24.5		11/04/20	20		14/05/20	15	
06/02/20	22.5	7	10/03/20	22		12/04/20	20.5		15/05/20	13	7
07/02/20	24.2		11/03/20	23		13/04/20	19	7	16/05/20	13	
08/02/20	21.5		12/03/20	21		14/04/20	19		17/05/20	12.5	
09/02/20	22		13/03/20	20	7	15/04/20	16		18/05/20	15	
10/02/20			14/03/20	21		16/04/20	13		19/05/20	15	
11/02/20	19	7	15/03/20	19,5		17/04/20	13		20/05/20	15	7
12/02/20	19		16/03/20	22		18/04/20	14	7	21/05/20	14	
13/02/20	21		17/03/20	19,5		19/04/20	12.5		22/05/20	14	
14/02/20	27		18/03/20		7	20/04/20	12.5		23/05/20	15	
15/02/20	27		19/03/20	24		21/04/20	16		24/05/20	17	7
16/02/20	26	7	20/03/20			22/04/20	15.5		25/05/20	19	
17/02/20	28		21/03/20			23/04/20	18.3	7	26/05/20	18.5	
18/02/20	24.5		22/03/20	23	7	24/04/20	16.5		27/05/20	16	
19/02/20			23/03/20			25/04/20	17		28/05/20	16	
20/02/20			24/03/20	24		26/04/20	13		29/05/20	15	7
21/02/20	29	7	25/03/20			27/04/20	13	7	30/05/20	17	
22/02/20	24		26/03/20	21	7	28/04/20	11		31/05/20	15	
23/02/20	26		27/03/20	23		29/04/20	10		01/06/20	16	
24/02/20	24		28/03/20	19.5		30/04/20	0		02/06/20	16	7
25/02/20	24	7	29/03/20	21		01/05/20	10				
26/02/20	23		30/03/20	19.5	7	02/05/20	12.5	7			
27/02/20	23		31/03/20	20		03/05/20	14.5				
28/02/20	24.5		01/04/20	20.5		04/05/20	15				
29/02/20	22	7	02/04/20	18		05/05/20	15				

