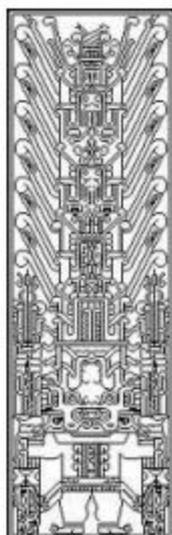


**UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL**

FACULTAD DE OCEANOGRAFIA, PESQUERIA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y

ACUICULTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN ACUICULTURA



ENRIQUECIMIENTO DE *Artemia franciscana* (Kellog, 1906) CON MICROENCAPSULADO  
DE SUBPRODUCTOS DE ANCHOVETA PARA ALIMENTACIÓN DE LARVAS DE  
LENGUADO *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867).

**TESIS**

Para optar al Título Profesional de:

**INGENIERO PESQUERO ACUICULTOR**

Presentado por:

**ANGELICA MARIA CASTRO FUENTES**

LIMA – PERÚ

2014

A mi amiga y compañera mi madre María Luisa por todos los esfuerzos y apoyo incondicional junto a mi padre Federico que siempre ha tenido una palabra de aliento, a mis hermanos Iam & Federico por su confianza y a Mika.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por darme unos padres maravillosos y la oportunidad de poder realizar una etapa importante en la vida profesional que es la realización de esta tesis.

A mi asesora la Ing. Lili Carrera por parte del IMARPE quien me brindó su apoyo, orientación y confianza por hacer posible la realización de esta tesis, la cual espero no defraudar. Al ing. Carlos Llontop asesor de la universidad, que desde la época de estudiante siempre me dio un consejo y apoyo, muchas gracias por brindarme su confianza y paciencia para poder culminar esta tesis.

A mi padre, Federico, por sus palabras de aliento. A sus curiosidades que permiten que aprenda cada día que a pesar de todo siempre ve el lado positivo.

A mi madre, María, que sin su apoyo tal vez este no sería mi camino, por eso esta tesis está dedicada a ella.

A mis hermanos, Iam por estar ahí cuando necesito un consejo y a mi hermanito Federico que a pesar de la distancia siempre está a mi lado. A Mika la nueva integrante de la familia que con su ternura nos llena de esperanzas.

A mis abuelos Leonor y Daniel, tíos, primos, sobrinos, sobrinos nietos Celinda, Celia, Lucha, Manuel, Jorge, Juana, Martha, Juan, Patricia, Alicia, Walter, Jessica, Vilma siempre los tengo presente en mi vida, gracias por su apoyo.

A los integrantes del C.I.A. Humboldt, mis amigos que aprendo a conocer desde que llegue al IMARPE, a Noemí que fue mi consejera y apoyo en el momento de la elaboración, redacción y sobre todo por sus enseñanzas en la parte estadística, a Joel por sus consejos y apoyo en la parte práctica, a Gheraldine por sus consejos siempre en los mejores momentos, a todos ellos muchas gracias por la compañía, enseñanza, tolerancia y confianza, por brindarme las facilidades para poder realizar esta tesis. A todas esas personas que siempre están ahí en el momento indicado.

Al laboratorio de análisis instrumental por su apoyo en el procesamiento de las muestras de la tesis, muchas gracias Leenin Flores y Giovanna Sotil. A Cecil que me brindó su apoyo durante toda la tesis, gracias por tus consejos.

A mis amigos, por ser parte de mi vida, de mis momentos tristes y alegres, por apoyarme, por nunca dejarme caer. A José, Ridberth, Silvia y Diana por todos los momentos que me ayudaron a crecer profesionalmente, gracias por las experiencias.

A los ingenieros de la facultad de Oceanografía por los años de estudio, a la Ing. Gabriela gracias por ser una buena profesora y amiga, al Ing. Guzmán y la Srta. Milna que me brindaron la primera experiencia laboral en la época de estudiante en el laboratorio de microbiología, al Ing. Peña por sus enseñanzas, muchas gracias.

A la empresa Diamante S.A.C. por las muestras del concentrado soluble de pescado, sobre todo al Sr. Ibarra que gentilmente me proporciono la confianza y la muestra de este producto.

## ÍNDICE

	Pág.
<b>Dedicatoria.....</b>	<b>ii</b>
<b>Agradecimientos.....</b>	<b>iii</b>
<b>Índice.....</b>	<b>v</b>
<b>Índice de tablas.....</b>	<b>ix</b>
<b>Índice de figuras.....</b>	<b>xi</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>xiv</b>
<b>Abstrac.....</b>	<b>xv</b>
<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO I: EL PROBLEMA</b>	
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Formulación del problema.....	4
1.2.1. A nivel general.....	4
1.2.2.- A nivel específico.....	4
1.3. Formulación de los objetivos.....	5
1.3.1. Objetivo general.....	5
1.3.2. Objetivo específico.....	5
1.4. Hipotesis.....	5
1.5. Justificación e importancia.....	6
<b>CAPITULO II: MARCO TEORICO</b>	
2.1 Antecedentes.....	15
2.2. Aspectos biológicos del lenguado.....	20

2.2.1. Taxonomía del lenguado.....	20
2.2.2. Habidad y ecología.....	20
2.2.3. Alimentación.....	21
2.2.4. Características morfológicas.....	22
2.2.5. Reproducción.....	23
2.2.6. Valor de la especie para cultivo.....	24
2.3. Cultivo larval de Lenguado.....	25
2.3.1. Desarrollo biológico.....	25
2.3.2. Nutrición larval.....	26
2.3.3. Alimentación larval.....	27
2.3.4. Uso de sistemas de recirculación.....	30
2.3.5. Parámetros fisicoquímicos.....	31
2.4. Cultivo de artemia.....	32
2.4.1. Técnica de cultivo.....	33
2.5. Enriquecimiento de Artemia.....	37
2.6. Concentrado soluble de pescado .....	40
2.7. Selco (Producto comercial).....	43
2.8. Ensilado de pescado.....	46
2.9. Microencapsulado.....	47
2.9.1. Componentes del microencapsulado.....	49
2.9.1.1. Núcleo.....	49
2.9.1.2. Recubrimiento.....	49
2.9.2. Técnicas de microencapsulado.....	50
2.9.2.1. Deshidratación por atomización.....	50
2.9.2.2. Enfriamiento y refrigeración de aspersiones.....	51

2.9.2.3. Cobertura de lecho fluido.....	51
2.9.2.4. Extrusión.....	51
2.9.2.5. Liofilización.....	52
2.9.2.6. Coacervación.....	52

**CAPITULO III: METODOLOGIA**

3.1. Lugar de ejecución.....	54
3.2. Tipo de investigación.....	54
3.3 Variables de estudio.....	54
3.4 Materiales, equipos y otros.....	54
3.4.1. Material biológico.....	55
3.4.2 Materiales para la elaboración del enriquecedor.....	55
3.4.3. Material para el sistema de recirculación.....	55
3.4.4. Materiales para la recolección de datos.....	56
3.4.5. Materiales para alimentación .....	57
3.4.6. Materiales de oficina.....	57
3.4.7. Materiales para los controles.....	57
3.5. Procedimiento de la etapa experimental.....	57
3.5.1. Elaboración del enriquecedor.....	61
3.5.1.1.- Tiempo y dosis del enriquecedor.....	61
3.5.2. Enriquecimiento de <i>Artemia</i> .....	64
3.5.2.1. Eclosión de quistes.....	64
3.5.2.2. Enriquecimiento de <i>Artemia</i> .....	67
3.5.3 Obtención de larvas.....	70
3.5.3.1. Protocolo de alimentación.....	73
3.5.3.2.-Condiciones físico –químicas durante el cultivo.....	74

3.5.4 Muestreos y análisis.....	74
3.5.4.1. Longitud y peso seco.....	74
3.5.4.2. Tasa específica de crecimiento.....	76
3.5.4.3. Supervivencia.....	77
3.5.4.4. Muestra.....	78
3.5.4.4. Análisis bioquímicos.....	79
3.5.4.5.- Diseño experimental.....	79

#### **CAPITULO IV: RESULTADOS**

4.1 Tasa específica de crecimiento.....	81
4.2. Peso (g).....	85
4.3. Supervivencia.....	86
4.4. Análisis bioquímicos.....	90
4.5. Parámetros de calidad de agua.....	95
4.6. Costos.....	98
<b>V. DISCUSIONES.....</b>	<b>99</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>103</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>104</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>105</b>
<b>VI. ANEXOS.....</b>	<b>114</b>

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición proximal de filetes de <i>P. orbignyana</i> .....	25
Tabla 2. Consideraciones relevantes, respecto a la especie y la presa durante el crecimiento larvario de peces marinos.....	27
Tabla 3. Parámetros biométricos entre longitud total, tamaño de boca y tamaño de presa en larvas de turbot (Cunha y Planas, 1999).....	29
Tabla 4. Composición química de nauplios de Artemia.....	33
Tabla 5. Composición de ácidos grasos (%) de nauplios recién eclosionados de Artemia.....	36
Tabla 6. Niveles de ácidos grasos en (mg/ml peso seco) de algunos enriquecedores comerciales.....	38
Tabla 7. Matriz nutricional del producto Concentrado soluble de pescado. Perfil típico de Aminoácidos (g/100g de proteína).....	41
Tabla 8. Análisis proximal del concentrado soluble de pescado Producto Comercial (CSP) .....	43
Tabla 9. Matriz nutricional del producto comercial- Selco. Perfil típico de Aminoácidos (% del total de proteínas).....	44
Tabla 10. Análisis proximal del producto comercial- Selco.....	45
Tabla 11. Composición nutricional del ensilado de pescado.....	47
Tabla 12. Tipos de núcleo del microencapsulado.....	49
Tabla 13. Tipos de recubrimiento del microencapsulado.....	50
Tabla 14. Ingredientes utilizados para la elaboración del microencapsulado en 100 de muestra.....	58
Tabla 15. Tamaño por hora de la <i>Artemia franciscana</i> a 19°C.....	62

Tabla 16. Comparación de la tasa específica de tratamiento (T.C.E.) de las larvas de “lenguado” <i>P. adspersus</i> alimentados con tres tratamientos de nauplios de Artemia enriquecido con microencapsulado de ensilado, concentrado soluble de pescado y comparados con el producto comercial selco.....	82
Tabla 17. Peso de las larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> después de ser enriquecidas con nauplios de Artemia.....	85
Tabla 18. Supervivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Selco (B)	87
Tabla 19. Supervivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Concentrado soluble de pescado (CSP).....	88
Tabla 20. Supervivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Ensilado (E) .....	89
Tabla 21. Resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos mayoritarios del nauplio de Artemia enriquecidos por 2,5 y 7 horas.....	91
Tabla 22. Resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos mayoritarios de los enriquecedores en base del ensilado (e), concentrado soluble de pescado (c) y Selco (b) por 24 días.....	92
Tabla 23. Resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos mayoritarios de las larvas de “lenguado” <i>P. adspersus</i> enriquecidas con ensilado (E), concentrado soluble de pescado (C) y Selco (B) por 24 días.....	94

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Producción en toneladas de rodaballo <i>P. maxima</i> en Galicia.....	07
Figura 2. Dimensiones de la boca de <i>Centropomus undecimalis</i> .....	28
Figura 3. Microencapsulado desarrollado en el Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Cádiz.....	53
Figura 4. Formas y tipos de microcápsulas.....	53
Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración del microencapsulado .....	59
Figura 6. Producto terminado de los enriquecedores.....	60
Figura 7 (a) y (b). Microencapsulado de Ensilado y de Concentrado soluble de pescado respectivamente.....	60
Figura 8. Baldes con enriquecedores de <i>Artemia</i> con diferentes concentraciones..	61
Figura 9. Consumo por horas de los nauplios de <i>Artemia</i> por el enriquecedor a base de ensilado .....	63
Figura 10. Consumo por horas de los nauplios de <i>Artemia</i> por el enriquecedor a base de CSP.....	63
Figura 11. Hidratación de quistes de <i>Artemia</i> . .....	64
Figura 12 (a) y (b). Tamizado del agua potable y descapsulación de quistes de <i>Artemia</i> .....	65
Figura 13. Lavado de quistes de <i>Artemia</i> .....	66
Figura 14. Trasvase de quistes de <i>Artemia</i> . .....	66
Figura 15. Sembrado de tanques para la eclosión de <i>Artemia</i> .....	67
Figura 16. Proceso de enriquecimiento.....	69
Figura 17. Reproductores de lenguado <i>P. Asdpersus</i> . .....	70

Figura 18 (a) y (b). Larva de lenguado <i>P. Asdpersus</i> a los 15 y 38 dph .....	71
Figura 19. Biofiltros, conexiones, tanques “pulmón” del sistema de recirculación.....	72
Figura 20. Cunos y lámpara de radiación ultravioleta del sistema de recirculación.....	72
Figura 21. Protocolo de alimentación en los tanques de cultivo de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> .....	73
Figura 22. Toma de longitud de las larvas del lenguado <i>P. adspersus</i> .....	75
Figura 23. Pesado de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> .....	76
Figura 24. Tasa específica de crecimiento (T.C.E.) de larvas de “lenguado” <i>P. adspersus</i> alimentadas con <i>Artemia</i> enriquecidas con microencapsulado .....	81
Figura 25. Comparación de crecimiento entre los diferentes tratamientos realizado a las larvas de lenguado <i>P.adspersus</i> .....	83
Figura 26 Crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el concentrado soluble de pescado (C) según la línea exponencial. ....	83
Figura 27. Crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el ensilado (E) según la línea exponencial.....	84
Figura 28. Crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el Selco (B) según la línea exponencial .....	85
Figura 29. Incremento en peso de las larvas sometidas al tratamiento con el ensilado (E) el cual al inicio del experimento, el Concentrado soluble de pescado (C) y Selco (B).....	86

Figura 30. Supervivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el ensilado (E) el cual al inicio del experimento, el Concentrado soluble de pescado (C) y Selco (B) .....	87
Figura 31. Supervivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el selco (B)	88
Figura 32. Supervivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Concentrado soluble de pescado (CSP).....	89
Figura 33. Supervivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Ensilado (E).....	90
Figura 34. Contenido de los diferentes niveles más importantes de ácidos grasos contenidos de los diferentes enriquecedores utilizados para la alimentación de las larvas de "lenguado" <i>P. adspersus</i> .....	93
Figura 35. Contenido de los diferentes niveles más importantes de ácidos grasos contenidos en las larvas de <i>P. adspersus</i> que fueron sometidas a los diferentes tratamientos.....	95
Figura 36. Comparación de la temperatura °C en los tanques de cultivo de las larvas de <i>P. adspersus</i> en los sistemas de recirculación durante los 24 días ..	96
Figura 37. Comparación del pH en los tanques de cultivo de las larvas de <i>P. adspersus</i> en el sistema de recirculación durante los 24 días.....	96
Figura 38. Comparación del oxígeno mg/l en los tanques de cultivo de las larvas de <i>P. adspersus</i> en el sistema de recirculación durante los 24 días.....	97
Figura 39. Comparación de la cantidad de iluminación (lux) en los tanques de cultivo de las larvas de <i>P. adspersus</i> en el sistema de recirculación durante los 24 días.....	97

## RESUMEN

Siendo el “lenguado” *Paralichthys adspersus* una de las especies endémicas del litoral peruano, además de ser una especie con un alto valor comercial por su contenido de carne comparado con otras especies marinas y siendo una de las especies que han sido promovidas como potencial acuícola según el Plan Nacional de Acuicultura 2013-2021. Los peces marinos son incapaces de sintetizar directamente los ácidos grasos de cadena larga altamente insaturados, transformar el ácido linolénico (18:3n-3) a ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), como es el docosahexaenoico DHA y eicosapentanoico EPA requeridos para su desarrollo digestivo y pigmentación, por tanto, tienen la necesidad de incorporar en la dieta estos últimos para un normal crecimiento. Es así que surge la necesidad de incorporar estos ácidos grasos en el alimento vivo mediante el uso de enriquecedores con objeto de mejorar la alimentación y aumentar la producción de larvas, puesto que es el paso previo para la puesta de un cultivo a una escala comercial. El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Cultivo de Peces del Instituto del Mar del Perú, consistió en evaluar el enriquecimiento de *Artemia* sp. con microencapsulado de subproductos de anchoveta para la alimentación de larvas de lenguado *Paralichthys adspersus* y conocer si es posible que ellas puedan asimilar las artemias enriquecidas. Las larvas fueron mantenidas en un sistema de recirculación, se tomaron los parámetros físicos y químicos. Para la elaboración del microencapsulado en base de ensilado de pescado y de concentrado soluble de pescado se utilizó la técnica de coacervación simple, el tiempo de enriquecimiento fue de 2,5 y 7 horas, la dosis fue de 1g de enriquecedor /200000 nauplios de artemias por ml. El experimento duró 24 días, luego de este se realizaron pruebas bioquímicas, sobrevivencia, incremento de talla

y peso a las larvas dando como resultado el enriquecedor en base del ensilado mostro la mayor cantidad de EPA con 19,4% de todos los tratamientos y el porcentaje de DHA de 13.4% con una relación DHA/EPA de 0.7. El enriquecedor en base del concentrado soluble de pescado fue el que obtuvo 17.2 % de EPA y la menor cantidad de DHA con 7.3 % de los tres tratamientos con una relación casi nula de DHA/EPA de 0.4 que fue la menor de todos como era de esperarse por su bajo contenido de lípidos en la preparación del microencapsulado. En enriquecedor en base del Selco obtuvo la menor cantidad de EPA con 8.1% de los tres tratamientos y una cantidad de DHA de 22.2 % que fue la mayor en los tres tratamientos aunque la relación de DHA/EPA fue de 2.8 que también fue la mayor de todos. En cuanto a los resultados, se alcanzó la talla promedio de 8,2 mm, el peso promedio en 0.05 g y la mejor sobrevivencia de 99 % con el concentrado soluble de pescado. Adicionalmente se analizó los costos de elaboración de los enriquecedores llegado el ensilado a 35 nuevos soles, el selco a 240 soles y el concentrado soluble de pescado a 32 soles.

**Palabras claves:** *Paralichthys adspersus*, lenguado, larvas, microencapsulado, ácidos grasos

## ABSTRACT

Being the "sole" *Paralichthys adspersus* one of the endemic species of the Peruvian coast, as well as being a species with a high commercial value for its meat content compared to other marine species and is one of the species that have been promoted as aquaculture potential as National Aquaculture Plan 2013-2021. Marine fish are unable to synthesize fatty acids directly long chain highly unsaturated transform linolenic acid (18:3 n-3) highly unsaturated fatty acids (HUFA) such as DHA and eicosapentaenoic docosahexaenoic EPA digestive required for development pigmentation and therefore have the need to include in the latter diet for normal growth. Thus arises the need to incorporate these fatty acids in live food by using enriching to improve diet and increase the production of larvae, since it is the first step to start a crop on a commercial scale. This research was conducted in the laboratory of the Instituto del Mar Perú, consisted of evaluating the enrichment of *Artemia* sp. with microencapsulated products for anchovy larvae feeding flounder *Paralichthys adspersus* and see if it is possible for them to assimilate enriched *Artemia* sp. The larvae were kept in a recirculating system, the physical and chemical parameters were. To prepare the base microencapsulated fish silage and fish soluble concentrate Simple coacervation technique was used, the enrichment time was 2, 5 and 7 hours, the dose was enriching 1g / 200000 artemias nauplii per ml. The experiment took 24 days, after this biochemical tests, survival, increase in size and weight to the larvae resulting in enriching based silage showed the highest amount of EPA with 19.4% of all treatments were performed and DHA percentage of 13.4% with a DHA / EPA ratio of 0.7. The base rich in fish soluble concentrate which was obtained 17.2% EPA and DHA with fewer 7.3% in the three treatments with almost no relationship DHA / EPA of 0.4 that was the least of all as was

expected because of their low content of lipids in the preparation of microencapsulated . In rich in base Selco scored the least amount of EPA with 8.1 % in the three treatments and a total of DHA of 22.2 % which was the highest in the three treatments but the ratio of DHA / EPA was 2.8 which was also the largest of all. As the results , the average size of 8.2 mm , the average weight 0.05 g and the best survival of 99% with the soluble concentrate of fish was achieved. Further processing costs come from enriching silage to 35 soles, soles 240 selco and fish soluble concentrate was analyzed at 32 soles .

**Keywords :** *Paralichthys adspersus* , flounder larvae , microencapsulated fatty acids

## INTRODUCCION

La alimentación durante el crecimiento larvario debe ser capaz de producir larvas nutricionalmente capacitadas para lograr una alta sobrevivencia y un óptimo crecimiento durante su desarrollo, constituyéndose esto en el mayor problema en todo hatchery productivo y más aún, en aquellos que intentan desarrollar nuevas tecnologías (Dantagnan & Lazo, 2007).

La obtención de larvas con buen crecimiento y una adecuada composición bioquímica es de gran importancia para la obtención de alevines de buena calidad e influye de manera considerable en la rentabilidad del engorde de esta especie (Lazo, 2000). La elaboración de dietas artificiales es otro de los aspectos que se ha abordado intensamente con vistas a reducir los costos de producción y garantizar una adecuada nutrición de los organismos. Una variante es la modificación nutricional del alimento vivo mediante las técnicas de bioencapsulación, que permiten la incorporación de elementos esenciales en la dieta, y en algunos casos, estimulan respuestas como el crecimiento, sobrevivencia, desarrollo y resistencia a condiciones estresantes comúnmente presentadas en las actividades de cultivo (Sakamoyto *et al.*, 1982; Clawson & Lovell 1992; Gómez-Gil *et al.*, 2001). Algunos investigadores han estudiado el enriquecimiento del alimento vivo con emulsiones lipídicas cuyos componentes principales son aceites ricos en ácidos grasos polinsaturados de cadena larga extraídos de peces como el bacalao y lo recomiendan como alternativa para incorporar en el alimento vivo nutrientes que no son tradicionalmente encontrados en su composición (Smith *et al.*, 2002).

## **CAPÍTULO I: EL PROBLEMA**

### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las malformaciones esqueléticas y problemas pigmentarios son uno de los mayores problemas de la producción intensiva de juveniles de peces marinos en el sector de la acuicultura, al reducir la calidad del ejemplar, pues afectan su morfología, apariencia externa, crecimiento, y sobrevivencia. En este sentido, diversos estudios han demostrado que existe una marcada relación entre la nutrición larval durante el periodo comprendido desde el inicio de la alimentación exógena y de la metamorfosis con la aparición de malformaciones esqueléticas y problemas de mala pigmentación en ejemplares juveniles de teleósteos marinos como es el caso del “lenguado” (Ozcan, 2010).

El “lenguado común” *Paralichthys adspersus* es una especie que por sus características biológicas y su gran valor comercial en el mercado está considerado como una especie potencial para acuicultura (Plan Nacional de Acuicultura 2013-2021). La obtención de larvas con buenas tasas de sobrevivencia y crecimiento rápido son unos de los factores más importantes en el cultivo de esta especie y la nutrición de estas representa uno de los principales problemas en la producción de peces (Rivera & Botero, 2009).

La calidad del alimento suministrado en esta fase del cultivo larvario es determinante, tanto para un correcto desarrollo de las larvas como para incrementar su posterior sobrevivencia (Sáenz *et al.*, 2005).

En la etapa larval, estas se alimentan de “presas” vivas de diferentes tamaños dependiendo de las dimensiones de la boca y entre sus variedades tenemos a los rotíferos

*Brachionus sp* (50-250  $\mu\text{m}$ ) y micro crustáceos como la Artemia; (200-500  $\mu\text{m}$ ); siendo esta última la más empleada, en su estadio naupliar, para la alimentación de larvas de peces y crustáceos (Civera *et al.*, 2004).

Para lo cual, la cantidad óptima de alimento que debe ser suministrada, estará en función de los parámetros, tales como: densidad de larvas, estado de desarrollo de las larvas, temperatura del agua en el cultivo, entre otros. Ello hace que la dosificación sea una labor importante (Monroig, 2006).

Los peces marinos son incapaces de sintetizar directamente los ácidos grasos de cadena larga altamente insaturados, transformar el ácido linolénico (18:3n-3) a ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), como es el docosahexaenoico DHA y eicosapentanoico EPA requeridos para su desarrollo digestivo y pigmentación, por tanto, tienen la necesidad de incorporar en la dieta estos últimos para un normal crecimiento Sargent *et al.* 1989 & Stottrup (1993, citados por Lazo, 2000).

Es así que surge la necesidad de incorporar estos ácidos grasos en el alimento vivo mediante el uso de enriquecedores con objeto de mejorar la alimentación y aumentar la producción de larvas, puesto que es el paso previo para la puesta de un cultivo a una escala comercial (Brintrup *et al.*, 2012).

Los enriquecedores usados para el alimento vivo de larvas de peces son productos importados entre ellos están: Selco, Aquazul, Inve, etc. Su importación es de alto costo (\$90 por 1Kg).

## 1.2.- FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

### 1.2.1.- A nivel general

¿Cuáles serán los efectos de la inclusión de dos tipos de emulsiones de pescado (ensilado de pescado, concentrado soluble de pescado) mediante la técnica del microencapsulado en relación a un producto comercial, en el crecimiento y sobrevivencia de las larvas de lenguado *Paralichthys adspersus*, durante el enriquecimiento de nauplios de Artemia?

### 1.2.2.- A nivel específico

- › ¿Cuál de las emulsiones mediante la técnica del microencapsulado favorecerá el crecimiento de las larvas de “lenguado” *Paralichthys adspersus*?
- › ¿Con cuál de las emulsiones mediante la técnica del microencapsulado se lograra la mayor sobrevivencia de las larvas de “lenguado” *Paralichthys adspersus*?
- › ¿Cuál será el tiempo óptimo de enriquecimiento de nauplios de artemia para las emulsiones mediante la técnica del microencapsulado?

## 1.3.- FORMULACIÓN DE OBJETIVOS

### 1.3.1.- Objetivo general

- ✓ Evaluar el enriquecimiento de Artemia con microencapsulado de subproductos de anchoveta para la alimentación de larvas de lenguado *Paralichthys adspersus*.

### **1.3.2.- Objetivos específicos**

- Elaborar enriquecedores para alimentar a la Artemia que serán consumidas por las larvas.
- Determinar el tiempo óptimo de enriquecimiento.
- Conocer el efecto del microencapsulado en las larvas de lenguado *Paralichthys adspersus*, evaluando ganancia de peso y talla.
- Comparar los enriquecedores nacionales con el importado y considerar una alternativa de bajo costo como sustituto al importado.

## **1.4.- HIPÓTESIS**

### **1.4.1.-A nivel general**

Es posible que las larvas de lenguado *Paralichthys adspersus* pueden asimilar las Artemias enriquecidas con subproductos de anchoveta.

### **1.4.2.- A nivel específico**

- ✓ Con los enriquecedores se obtendrá mayor crecimiento y sobrevivencia de las larvas de lenguado *Paralichthys adspersus* durante el desarrollo del experimento.
- ✓ Los tiempos de enriquecimiento menores a 24 horas serán los más adecuados.
- ✓ La incorporación de estos enriquecedores (ensilado de anchoveta y el concentrado soluble de pescado) será una alternativa de bajo costo.

## 1.5.- JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La acuicultura, posiblemente el sector de producción de alimentos de crecimiento más acelerado, hoy representa casi el 50% de los productos pesqueros mundiales destinados a la alimentación. La producción de peces marinos mediante su cultivo, ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años tanto en Europa como en Asia (FAO, 2009).

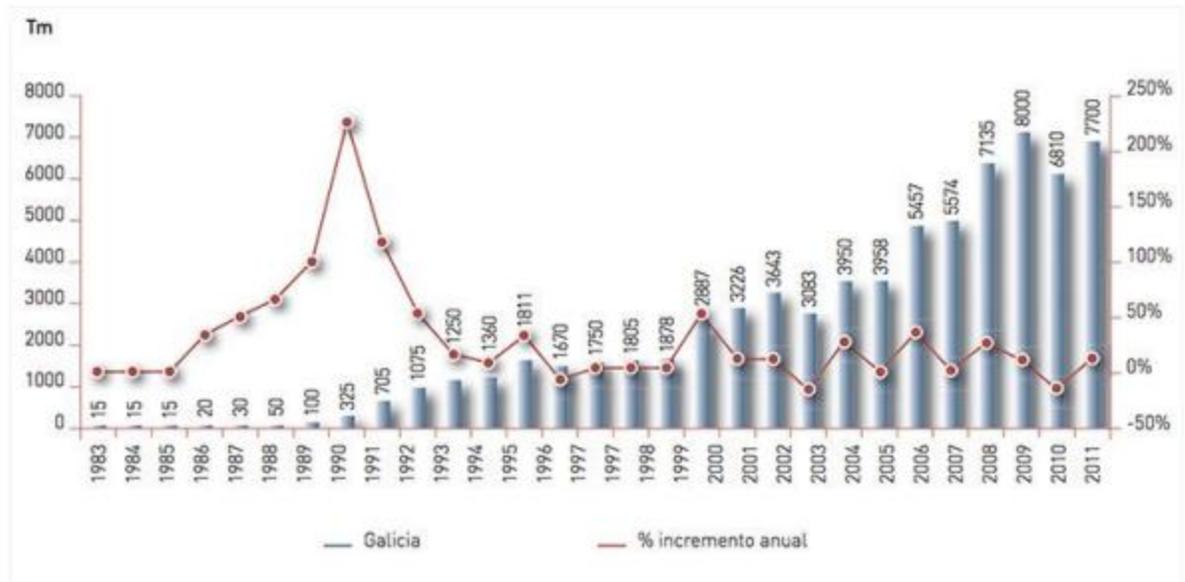
La pesca de captura y la acuicultura suministraron al mundo unos 148 millones de toneladas de pescado en el 2010 (con un valor total de 217 500 millones de USD). De ellos, aproximadamente 128 millones de toneladas se destinaron al consumo humano y, según datos preliminares para 2011, la producción se incrementó hasta alcanzar los 154 millones de toneladas, de los que 131 millones de toneladas se destinaron a alimentos (FAO, 2012).

En Acuicultura, uno de los factores limitantes es la obtención y producción de alimentos que cubran todos los requerimientos para las especies de cultivo y que resulten costeables. Torrentera & Tacon (1989; citado por Clemente *et al.*, 2009).

Diferentes países, entre ellos España, México, Chile, Ecuador y Perú a través de sus centros de investigación, han desarrollado la cría del lenguado en cautiverio como un medio de desarrollo y comercialización de esta especie, siendo su carne muy apreciada (JACUMAR, 2010)

La producción total de “rodaballo” *Psetta maxima* de acuicultura en Europa en 2012 ha sido de 12.842 toneladas, un 18,8% superior a la de 2011. La producción de rodaballo *P. maxima* en España en 2012 fue de 7.970 toneladas, un 2,8% mayor que

la de 2011. Galicia es la principal comunidad autónoma productora de rodaballo *P. máxima* en España con 99,2% (FAO, 2012).



**Figura 1.** Producción en toneladas de rodaballo *P. maxima* en Galicia

Fuente: Fernández (2013)

Francia es el segundo productor europeo de “turbot” *S. maximus*, el principal operador es France Turbot (550 TM) filial del grupo Adrien, que posee un centro de producción de alevinos y dos centros de engorde ubicados en las regiones de Loira y Bretaña. Otra empresa importante en Francia, es la Societé Aquacole de Lile de Ré, con dos centros de engorde (FONDEPES, 2007).

En América Latina, Chile se ha colocado entre los más importantes productores de “turbot” *S. maximus* cultivados, ubicándose en el tercer lugar en el mundo, luego de España y Francia. Las principales empresas que están produciendo y exportando turbot en Chile son:

- ✓ Granjamar S.A: fue creada en 1990 para la producción y comercialización de “turbot”, tanto en sus etapas embrionarias, larvarias, juveniles como

adultos. Para ello cuenta con un hatchery con capacidad de producción de 160 mil juveniles/año. Un plantel de reproductores acondicionados que le permiten producir ovas y larvas durante todo el año; y una engorda con una capacidad de 40 toneladas al año de turbot adulto, que se comercializa en la forma de fresco, entero o eviscerado (Granjamar S.A, 2011).

- ✓ Seafood Resources Chile S.A: inició sus actividades en 1992 evolucionando con la técnica europea hasta una moderna tecnología propia. En la actualidad es uno de los principales productores de “turbot” en el mundo y el mayor de Latinoamérica, cuenta con un sistema de hatchery y un sistema de engorde con una capacidad productiva de 330 toneladas al año. Para el año 2000 construyó su propia planta de proceso, finalizando así la integración vertical de todos los procesos productivos de turbot (Seafood Resources Chile S.A, 2011).

En Argentina, según la Dirección de Economía Pesquera en el 2012 se exportó la suma de 2.255 toneladas de “lenguado” *Catachyridium jenynsi* que equivale a 12.441 mil dólares y estos representan el 1% de sus exportaciones pesqueras.

En el Ecuador según el Banco Central del Ecuador se exportaron 21 toneladas del “Halibut fletan” *Hippoglossus hippoglossus* que representó el 0,22% de sus exportaciones para el 2012.

En el Perú, el Fondo de Desarrollo Pesquero-FONDEPES realizó la introducción de “turbot” en el año de 1998, en el centro de Acuicultura Morro Sama, ubicado en la región Tacna (zona propicia para el cultivo por factores de temperatura),

abasteciéndose de semilla desde Chile. Se desarrollaron ensayos técnicos-experimentales para la validación de la tecnología, logrando establecer los parámetros de cultivo intensivo de la etapa de engorde (FONDEPES, 2007).

El Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicola del Ministerio de la Producción, en el 2009, presenta como componentes del Programa a las líneas de acción prioritarias para la investigación, la transferencia y la innovación tecnológica de la acuicultura en el Perú como segundo componente de prioridad se incluyen sistemas de cultivo en producción o que tienen potencial para el desarrollo pero que no cuentan con paquetes tecnológicos elaborados y en tercera prioridad se incluyen sistemas de cultivo que han mostrado potencial para convertirse en cultivos comerciales, pero que requieren apoyo científico técnico para su desarrollo. Entre la lista de especies se encuentran la obtención de semillas y nutrición del “lenguado nativo” *Paralichthys adspersus*; la reproducción inducida para la obtención de semilla de “concha negra” *Anadara tuberculosa*, así como el desarrollo de paquetes tecnológicos para el cultivo de macroalgas del género *Macrocystis* y del “cochayuyo” (*Chondracanthus chamissoi*), los cuales incluyen el desarrollo tecnológico de procesos post cosecha para darle valor agregado a varios productos de algas. Es así que el Instituto del Mar del Perú- IMARPE en el 2009 desarrolla el proyecto “Producción de semilla del lenguado *Paralichthys adspersus* en cautiverio: I Mejoramiento de la calidad y cantidad de desoves”- Contrato N°051-FINCYT-PIBAP-2009”, controlando los desoves para realizar posteriormente el desarrollo larval y obtención de juveniles de “lenguado” *P. adspersus*.

Las instituciones que realizan investigaciones en temas de acuicultura dependientes del Viceministerio de Pesquería son: El Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Fondo de Desarrollo Pesquero (FONDEPES) e Instituto Tecnológico de Producción (ITP) y el Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana (IIAP) orientados los estudios al desarrollo de esta actividad (FAO, 2012).

En el Perú, se comercializa a precios del orden de \$10 a \$20 USD por kilogramo, dependiendo de su presentación por la empresa empresa Pacific Deep Frozen S.A.C (Morales, 2012).

El éxito de una dieta en la sobrevivencia y el crecimiento larvario, viene determinado por el balance entre el esfuerzo de captura y el valor energético y nutritivo que adquiere la larva con su ingestión. Los requerimientos bioenergéticos aportados por las dietas, para llevar a cabo el desarrollo, tanto de la fase larvaria como la fase juvenil, e incluso adulta, se consiguen si se tiene un alimento nutricionalmente balanceado y adaptado a las sucesivas transformaciones morfo-lógicas, entre ellas el incremento en talla. De esto se desprende que la alimentación durante el crecimiento larvario debe ser capaz de producir larvas nutricionalmente capacitadas para lograr una alta sobrevivencia y un óptimo crecimiento durante su desarrollo, constituyéndose esto en el mayor problema en todo hatchery productivo y más aún, en aquellos que intentan desarrollar nuevas tecnologías (Dantagnan & Lazo, 2007).

La producción sucesiva de ejemplares adaptados al cautiverio, así como la tecnificación de su cultivo podría contribuir al incremento de las tasas de crecimiento, tal como ocurrió con el “turbot” *Scophthalmus maximus* que en la década del 90 requería de un periodo de 4 años (1 año de nursery + 3 de engorde) para alcanzar

1000g (Coll, 1991), y actualmente poco más de dos años (25 meses) (Vásquez *et al.*, 2002).

El tamaño de la boca determina la cantidad y el tipo de presas consumidas por la larva del *P. adspersus*. En una primera etapa, se suministran rotíferos del género *Brachionus plicatilis* (microorganismos de unas 100 micras) enriquecidos con aceites de pescado para mejorar su calidad nutricional. Este régimen comienza a partir del tercer día de vida de la larva y dura hasta el día 10. A partir del día 7 se inicia la alimentación con *Artemia*, un crustáceo que mide aproximadamente 300 micras, y que también es enriquecido con aceites de pescado (JACUMAR, 2010).

En la etapa larvaria de los peces marinos un procedimiento indispensable es el enriquecimiento del alimento “presas” vivas, dada la necesidad de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) serie n-3 en orden del peso seco (Gatesoupe, 1990). Estos son muy importantes en la composición de las membranas celulares, hígado, etc., para estos enriquecimientos se han utilizado diferentes compuestos u organismos, a saber: hidrolizados de pescado (aceite de hígado de bacalao + vitaminas + sales minerales), lactobacterias + levaduras + aceite de hígado de bacalao + vitaminas + minerales, algas (*Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana*, *Nanochloris*, etc.) + levaduras + lactobacterias y aminoácidos como el triptófano y arginina (Castelló, 1993).

La elección del alimento vivo, radica en su composición bioquímica, ya que contiene la mayoría de los elementos nutritivos que garantizan la sobrevivencia y el óptimo desarrollo (Prieto *et al.*, 2006). Adicionalmente a todo lo mencionado, el alimento vivo tiene cualidades que no tiene un alimento inerte, como es el movimiento que estimula a ser atrapado por el depredador y el color que es atractivo

para su captura. Por otra parte, no afecta la calidad del agua, debido a que es consumido antes de llegar al fondo, a diferencia del inerte (Muñoz, 2007). Por lo que el alimento artificial o suplementario todavía no podrá reemplazar en su totalidad al alimento vivo natural sobre todo cuando este se cultiva en adecuadas condiciones para mantenerlo libre de patógenos y rico en nutrientes (Villamar, 2004).

Es en esta etapa larvaria donde el microcrustáceo *Artemia* juega un papel importante, ya que es un alimento con gran demanda por parte de las especies en cultivo y prácticamente insustituible en las etapas larvarias de camarones y peces (Castro *et al* 2003).

La *Artemia* es un filtrador no-selectivo y se alimenta filtrando materia particulada de origen biológico (detritus orgánicos) así como también de organismos vivos (bacterias y algas microscópicas) razón por la cual es utilizada como una biocápsula para que contenga el enriquecedor y utilice como alimento de larvas de peces marinos.

Una forma de suministrar este enriquecedor a la *Artemia* es mediante la técnica del microencapsulado, las microcápsulas tienen como objetivo encapsular nutrientes que se requiera para el desarrollo de los peces en sus fases larvarias. Estas poseen unas dimensiones de 7- 8  $\mu\text{m}$  las cuales hacen que puedan ser capturadas por la artemia. Estas son suministradas en forma “indirecta” al alimento vivo bioencapsulante (*Artemia*) y en forma “directa” en forma de micro pellet como lo realizan en el Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC), en Cádiz, que ha obtenido y patentado alimento microencapsulado para larvas de peces desde el 2003, así como el procedimiento para su elaboración. El producto se ha concebido

para minimizar las dificultades de esta etapa crítica del proceso de acuicultura, que es la alimentación durante las primeras etapas de vida en la cría de peces marinos.

Nutricionalmente la *Artemia* es altamente digerible y aparentemente cubre la mayoría de los requerimientos de macro y micro nutrientes de larvas de peces y crustáceos. Los diferentes tipos y orígenes de cada *Artemia* determinan la calidad de los mismos; el único punto en el cual coinciden todos los tipos es en la existencia de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), la cantidad que contengan será determinante en la sobrevivencia y crecimiento de las larvas (Rivera & Botero 2009).

La obtención de larvas con buen crecimiento y una adecuada composición bioquímica será de gran importancia para la obtención de alevines de buena calidad e influirá de manera considerable en la rentabilidad del engorde de esta especie (Lazo, 2000). La elaboración de dietas artificiales es otro de los aspectos que se ha abordado intensamente con vistas a reducir los costos de producción y garantizar una adecuada nutrición de los organismos. Una variante es la modificación nutricional del alimento vivo mediante las técnicas de bioencapsulación, que permiten la incorporación de elementos esenciales en la dieta, y en algunos casos, estimulan respuestas como el crecimiento, sobrevivencia, desarrollo y resistencia a condiciones estresantes comúnmente presentadas en las actividades de cultivo (Sakamoyto *et al.*, 1982; Clawson & Lovell 1992; Gómez-Gil *et al.*, 2001). Algunos investigadores han estudiado el enriquecimiento del alimento vivo con emulsiones lipídicas cuyos componentes principales son aceites ricos en ácidos grasos polinsaturados de cadena larga extraídos de peces como el bacalao y lo recomiendan como alternativa para

incorporar en el alimento vivo nutrientes que no son tradicionalmente encontrados en su composición (Smith *et al.*, 2002).

A medida que se va desarrollando la larva, ésta tiene la capacidad de ingerir otro tipo de alimento y posee otros requerimientos nutricionales, estos requerimientos son cubiertos con alimento vivo enriquecido. Entre los alimentos vivos más conocidos esta la Artemia que representa una excelente fuente de ácidos grasos y su utilización está ampliamente difundida en el área; se cuenta con grandes distribuidores comerciales de quiste de Artemia (Bio-Marine, San Francisco Bay, Sanders y Great Salt Lake) siendo el principal país de origen los Estados Unidos de Norteamérica (FAO, 2009).

Una manera de aumentar el nivel nutricional de la Artemia (pudiéndose incorporar por este método también profilácticos, pigmentos, terapéuticos y vitaminas) es por medio del bioenriquecimiento (FAO 2009). Así mismo deficiencias nutricionales en el alimento vivo pueden ser complementadas mediante enriquecimiento con ácidos grasos esenciales en los procesos de pigmentación, producción de prostaglandinas, respuesta inmunológica, desarrollo retinal entre otras (Rivera, 2009).

Adicionalmente a todo lo mencionado, el alimento vivo tiene cualidades que no tiene un alimento inerte, como es el movimiento que estimula a ser atrapado por el depredador y el color que es atractivo para su captura.

Los enriquecedores que se utilizan para el alimento vivo se importan con un alto valor económico por ello la importancia de formular un enriquecedor que contengan insumos nacionales con un bajo costo pero que obtengan el mismo o mayor resultado que los enriquecedores importados.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

El “lenguado” *Paralichthys adspersus*, es un pez plano que constituye una de las especies que sustentan la pesquería artesanal en el Perú, no solo por su importancia comercial y por los tonelajes desembarcados, sino también por la preferencia del consumidor debido a su exquisitez, alcanzando altos precios en el mercado local (Samamé & Castañeda 1999).

El tamaño de la boca determina la cantidad y el tipo de presas consumidas por la larva, además otras características morfológicas asociadas al aparato mandibular, como presencia de faringe y boca protráctil. Igualmente ojos pigmentados, sistema digestivo funcional (hígado y páncreas) y una buena capacidad natatoria favorecen la captura, la ingestión y la asimilación de las presas (Meza & Figueroa, 2002).

Lozano *et al* (2004 citado por Rivera *et al.*, 2009), evaluaron el crecimiento de larvas de hurta (*Pagrus auriga*) alimentadas con Artemia y con alimento inerte, del 20 hasta el 30 día post- eclosión (dph), encontrando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en ganancia de peso individual entre las larvas alimentadas con Artemia y las alimentadas con pienso 2 598,54 y 1 121,88 microgramos ( $\mu\text{g}$ ), respectivamente.

Silva (1999) señala que el uso de las microalgas como enriquecedores y como parte de la técnica de cultivo, incrementa significativamente el crecimiento, sobrevivencia, desarrollo y calidad de las larvas de lenguado durante su primera fase de cultivo, dado su efecto nutricional sobre las presas y el mejoramiento de la calidad del medio de cultivo.

Villalta (2007), en su tesis “Requerimientos en ácidos grasos esenciales y organogénesis de la larva del lenguado senegalés, *Solea senegalensis* (Kaup 1858)” evaluó, que contenidos elevados del ácido graso araquidónico (20:4n-6) en la dieta provocan retrasos en la metamorfosis e inducen mala pigmentación en las larvas. Respecto al ácido docosahexaenoico (22:6n-3), las larvas de esta especie tienen un nulo o muy bajo requerimiento nutricional por este ácido graso. El 20:5n-3 no afecta al crecimiento de las larvas, pero si la cantidad ingerida no es suficiente provocará anomalías pigmentarias.

El ácido docosahexaenoico (DHA) es encontrado mayoritariamente en tejidos neurales de peces con pigmentación normal que en aquellos peces no pigmentados, bajos niveles en la dieta de DHA puede interferir en la síntesis de rodopsina en la retina (Copeman *et al.*, 2002). Esta deficiencia puede interrumpir la transmisión desde la retina al sistema nervioso central. Sin esta señal endocrina, la síntesis de melanina no puede continuar, dando como resultado deficiencias en la pigmentación (Estévez, 1996).

No existen antecedentes precisos sobre los requerimientos nutricionales de las larvas de *P. adspersus*, sin embargo Silva (1999) obtuvo buena sobrevivencia larval entre 18 y 38 días de cultivo, utilizando rotíferos con una relación de ácidos grasos: ácido docosahexaenoico y el ácido eicosapentanoico (DHA/EPA) entre 1,33 y 2,08. Esto indica la importancia de proveer adecuadas cantidades de estos ácidos grasos poliinsaturados en el alimento larval para asegurar su óptimo desarrollo. Igualmente, experimentos preliminares sobre las necesidades de ácidos grasos poliinsaturados (n-3 HUFA) para el desarrollo larval de lenguado indican que niveles de 0,7-1% en

rotíferos, mejoran los resultados de crecimiento, sobrevivencia y calidad larval (Silva, 2001).

La Artemia tiene una gran desventaja en cuanto a su calidad nutricional, dado que es relativamente pobre en ácido eicosapentanoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), el cual es esencial para muchas especies de peces. Con el fin de mejorar esta deficiencia, se ha venido realizando técnicas de enriquecimiento para el mejoramiento del valor nutritivo.

El empleo del alimento vivo como bioencapsulante es común en acuicultura y se basa en aprovechar las características filtradoras del alimento vivo mediante la cual, incorpora en su cuerpo, los nutrientes de la sustancia enriquecedora, sirviendo como vehículo hacia los peces. Es así que Castro (2003) concluyó que los antibióticos cloranfenicol, ciprofloxacina y nitrofurantoina presentaron áreas de inhibición contra la bacteria *Aeromonas hydrophila*; que el periodo de cuatro horas es suficiente para llenar el tracto digestivo de los metanauplios, juveniles, adultos y saturar a los nauplios de Artemia con los antibióticos cloranfenicol y ciprofloxacina; en cuanto al antibiótico nitrofurantoina sólo se tuvo resultados positivos en la etapa de nauplios. Aunque se alcancen mayores concentraciones de antibiótico en el tracto digestivo de Artemia, al dejarla más tiempo en la solución enriquecedora, su sobrevivencia se ve afectada.

El empleo de nauplios de Artemia ofrece, respecto a otras presas vivas, la ventaja de una rápida y sencilla disponibilidad. Los nauplios de Artemia se obtienen de forma muy sencilla a partir de los quistes. Basta con una incubación de los mismos durante un periodo aproximado de 24h en agua de salinidad cercana a la de agua de mar, en

un sistema provisto con agitación-oxigenación, temperatura e iluminación, destinado a la activación del embrión. Así se obtienen nauplios vivos recién eclosionados a razón de unos 200,000 individuos por gramo de quistes deshidratados (Van Stappen, 1996).

Después de la eclosión, el nauplio de *Artemia* tiene la capacidad de nadar libremente y se alimenta de las reservas vitelínicas con las que está dotado al nacer (estadio Instar I). Su talla varía entre 400 y 600  $\mu\text{m}$  en función de la especie y de la población de procedencia. Tras la primera muda se pasa a los estadios metanaupliares (Schrehardt, 1987), ya con alimentación exógena, tras los cuales se accede a las fases juvenil y adulta (Van Stappen, 1996).

Además de la fácil disponibilidad, los nauplios de *Artemia* cumplen gran parte de las características exigidas en una presa viva, como son una buena digestibilidad, delgada cutícula, movimiento constante, ausencia de respuesta de escape y de color llamativo.

Debido a su gran capacidad de filtración se han desarrollado técnicas para enriquecer su composición nutricional con diferentes productos, satisfaciendo aún más los requerimientos nutricionales de las larvas de peces y crustáceos. Referente al enriquecimiento Hernández (2009), demostró que el tiempo óptimo va a depender del tipo de enriquecedor que se utilice, así si éstos son emulsiones con un periodo mayor a 18 horas se obtienen mejores niveles de DHA (22: 6n-3). Otra conclusión importante a la que llegó el autor es que, el enjuague de los nauplios post cosecha, no afecta significativamente al enriquecimiento.

En cuanto a la naturaleza, tiempo y dosis de la sustancia enriquecedora, Monroig (2006), manifiesta que los nauplios enriquecidos con liposomas (pequeñas esferas con fosfolípidos) presentan contenidos porcentuales superiores a los enriquecidos con la emulsión comercial rica en lípidos neutros. A pesar de que los liposomas se componen únicamente de fosfolípidos, las diferencias son mínimas debido posiblemente a una transformación del nauplio sobre el producto enriquecedor. Siendo el protocolo óptimo de uso de este producto enriquecedor en una incubación de unas 21 horas, una densidad naupliar de 300 individuos por mililitro (ml) y una concentración de material enriquecedor de 0,50 gramos de lípido por litro administrado en una única dosis al inicio de la incubación.

Una de las numerosas técnicas para obtener enriquecedores, es el microencapsulado. La microencapsulación se define como un proceso en el que partículas de materiales sólidos, líquidos o gaseosos está rodeadas por una cápsula cerrada herméticamente (López 2010; Smith & Charter 2010).

Vélez (2012) utilizó rotíferos y Artemia enriquecida con productos importados y de alta calidad para el proyecto “Re poblamiento de lenguado: Una solución tecnológica para la pesca artesanal en la IV regio, Etapa 2” en la etapa larval en Chile.

Tomando como base los trabajos de estos autores se pretende replicar la experiencia, usando como medios de enriquecimiento dos tipos de hidrolizados de pescado, el primero de ellos elaborado con concentrado soluble de pescado y el segundo a base de ensilado de pescado comparándolo con el producto comercial importado conocido como Selco, su composición son proteínas refinadas, péptidos

originados de la hidrólisis de proteínas, catalizada por agentes químicos o por enzimas.

## 2.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS DEL LENGUADO

### 2.2.1.- Clasificación taxonómica

Reino	: Animalia
Phylum	: Chordata
Clase	: Actinopterygii
Orden	: Pleuronectiformes
Familia	: Paralichthyidae
Género	: Paralichthys
Especie	: <i>Paralichthys adspersus</i> (Steindachner, 1867)

### 2.2.2.- Hábitat y ecología

El lenguado común *Paralichthys adspersus*, pertenece a una de las muchas de las especies de peces planos que viven en océanos tropicales y subtropicales. Se distribuye desde la localidad de Paita (norte de Perú) hasta el golfo de Arauco (Chile), incluyendo el archipiélago de Juan Fernández (Chirichigno & Vélez, 1974).

Su hábitat común corresponde a golfos y bahías someras, con fondos blandos de arena, al igual que otras especies de lenguados como *P. dentatus* y *P. californicus*, básicamente buscando protección frente a la depredación, temperaturas más adecuadas y abundancia de alimento (Silva & Oliva 2010).

### 2.2.3.- Alimentación

Los “lenguados” son peces carnívoros que consumen presas activas pelágicas y bentónicas. Su alimentación está compuesta básicamente por peces, crustáceos y moluscos, difiriendo la importancia de cada presa, de la localidad donde se encuentre la población y de las fluctuaciones estacionales en la abundancia de los organismos (Silva, 2010).

Zúñiga (1988) indica que en la zona central *P. adpersus* consume preferentemente “anchoveta” *Engraulis ringens* y “mísidos” *Metamysidopsis* sp. señala además, una marcada diferencia en la dieta entre juveniles y adultos, desde la presencia de numerosas presas pequeñas de la epifauna en juveniles, a pocas presas pelágicas grandes en ejemplares adultos. Por su parte, Kong *et al.*, (1995) señalan que en la zona norte consume principalmente peces de media agua como la “anchoveta” *Engraulis ringens* y ocasionalmente, crustáceos bentónicos como el “muy muy” *Emerita analoga*.

En cultivo, esta especie acepta y se alimenta bien indistintamente de pellet húmedo y seco de diferentes calibres, según su tamaño. Comparado con otras especies, *P. adpersus* se alimenta lentamente, tanto en la columna de agua como en el fondo, presentado diferentes patrones de alimentación dependiendo del tipo de alimento y de su movimiento en el agua. Asimismo, se ha detectado que su consumo es variable dependiendo de su tamaño y estación del año. Así el “lenguado chileno” muestra consumos a saciedad que van de 11% a 9% de su

biomasa día-1 entre los 2 y 5 g de peso, y entre 2,7 y 1,4% de su biomasa día-1 a partir de los 46 g de peso (Silva *et al.*, 2001).

#### **2.2.4.- Características morfológicas**

Al igual que otros peces planos, el lenguado es ovalado, aplanado por los lados y posee una boca dentada con labios protractiles. Tras algunas semanas, al aplanarse el cuerpo, los ojos se desplazan hacia un lado del cuerpo y el pez pasa a vivir junto al fondo, nadando apoyado sobre su vientre plano. Debido a esto, el ojo izquierdo, que corresponde al lado que está en contacto con el fondo, migra al lado derecho de la cabeza en las primeras fases de su desarrollo, y los pocos dientes que tiene en su boca pequeña y torcida se desplazan al lado ciego (JACUMAR, 2010).

El costado superior del lenguado toma un color arenoso oscuro, para mimetizarse con el fondo marino, mientras que el otro, en contacto con el fondo del mar, es blanco. La cabeza es pequeña y redondeada con ojos pequeños. Cerca de la boca posee unas pequeñas excrescencias de piel. Posee una mancha negruzca en la aleta pectoral más clara en esta especie que en otras especies de lenguado. Aunque su estacionalidad se reduce a los meses más fríos del año, su presencia en el mercado es continua debido fundamentalmente al comercio internacional (JACUMAR, 2010).

Si bien en el medio natural el lenguado *P. adspersus* alcanzaría talla comercial entre los 3 y 4 años (770 - 1400 gr) las experiencias de cultivo realizadas a la fecha indican que alcanzaría su talla comercial (1000 gr) en 2,8 años (Silva, 2001).

### 2.2.5.- Reproducción

La diferenciación sexual entre los individuos, se da porque los machos solo presentan dos orificios que corresponde al anal y el urogenital mientras que las hembras presentaron los 3 orificios separadamente. Esta diferencia en el número de orificios permite realizar una separación confiable de individuos por sexo (Ángeles & Mendo 2005).

Las hembras de *P. adspersus* presentan ovarios de gran tamaño, que ocupan hasta la región caudal del cuerpo. Tiene un desove parcial o fraccionado, con presencia de oocitos en diferentes estados de desarrollo durante la mayor parte del año. Desova con mayor intensidad desde fines de invierno a inicios de primavera (Acuña & Cid, 1995), cuando las temperaturas oscilan de 10,3-16,8°C.

Se estima que la talla de primera madurez es a los 24 cm de longitud total con un peso aproximado de 220 g (Zúñiga, 1988), tamaño que de acuerdo a observaciones en cultivo, se alcanzaría a los 21 meses de edad. Las hembras predominan en las capturas en la mayor parte del año (Acuña & Cid, 1995).

*P. adspersus* es un desovador parcial asincrónico, su época de reproducción se registra en la estación de primavera-verano en los meses de octubre-febrero. Presenta una talla de primera madurez gonadal de 21 cm y una talla media de desove de 60,4 cm para las hembras y 43,1 para machos. Sus ovocitos maduros presentan un diámetro entre 665 y 805  $\mu\text{m}$  (Angeles & Mendo, 2005).

La fecundidad total promedio se estima en 2,125.000 ovocitos por kg, con un promedio de 1,500 ovocitos por gramo de pez (Ángeles & Mendo, 2005). No

presenta dimorfismo sexual marcado, salvo durante el proceso de maduración sexual cuando la hembra muestra un vientre abultado fácilmente identificable y los machos presencia de semen al ser manipulados. Sin embargo, Ángeles & Mendo (2005) reportan la presencia de un orificio genital en hembras sobre la línea media detrás del ano, inexistente en machos, que permitiría separarlos por sexos. Además, señalan un claro dimorfismo sexual respecto al crecimiento, alcanzando las hembras un mayor tamaño que los machos.

Los ovocitos fecundados (huevos) pueden obtenerse a través de tres métodos distintos: naturalmente, mediante el control de la de luz y temperatura de los estanques con lenguados adultos para inducir su proceso reproductivo, por fertilización in vitro y mediante la inyección de hormonas en lenguados adultos, para inducir la reproducción. Así pues, las llamadas semillas de lenguado son peces juveniles cultivados a partir de los huevos fertilizados. Una vez obtenidos los huevos fértiles, éstos se incuban entre 24 y 48 horas a una temperatura de 18°C hasta la eclosión. De ahí, las larvas de “lenguado” deben ser cultivadas y alimentadas hasta alcanzar la etapa juvenil, que se logra al completarse la metamorfosis (JACUMAR, 2010).

#### **2.2.6.- Valor de la especie para cultivo**

*P. adspersus* es una especie interesante para el cultivo, no sólo por su carácter endémico, mercado, valor o avance tecnológico obtenido sino también por ser una especie perteneciente a un grupo interesante para el resto de Latinoamérica que poseen similares especies y que están evaluando el desarrollo del cultivo de peces marinos (Silva & Oliva, 2010). Es una especie con tasas de crecimiento

similares a otros peces planos, con diferencias marcadas entre hembras y machos, siendo las hembras las que alcanzan los mayores valores de talla y peso, con diferencias sexuales reconocibles y un alto potencial de fecundidad (Ángeles & Mendo, 2005).

Este pez posee una carne blanca y magra, por lo que es muy apreciado, entre los peces marinos, es uno de los que tiene mayor valor tanto económico como nutricional. Esto se aprecia en la tabla 1.

**Tabla 1.** Composición proximal de filetes de *P. orbignyanus*.

	Lenguado cultivado	Lenguado salvaje
<b>Proteínas</b>	17,09	17,37
<b>Lípidos</b>	6,5	1,6
<b>Cenizas</b>	1	1,08
<b>Humedad</b>	77,22	80,92

Fuente: Müller *et al.* (2006)

## 2.3 CULTIVO LARVAL DEL “LENGUADO”

### 2.3.1- Desarrollo biológico

Durante la eclosión las larvas con saco miden entre 1,7 y 2,0 mm de longitud total. Tienen características pelágicas y son muy primitivas ya que no han completado el desarrollo de los ojos ni del tracto digestivo y su sobrevivencia depende exclusivamente de su saco vitelino. Después de 4 a 5 días según la temperatura y con un tamaño promedio de 3,7 mm, la larva ha consumido totalmente su saco vitelino y completa el desarrollo de sus ojos y su tracto digestivo es funcional (Silva, 2010)

Durante esta primera etapa, no se producen mayores mortalidades si se mantienen las condiciones higiénicas adecuadas, obteniéndose sobrevivencias de 80-90 % (Silva, 2001). Tampoco presenta rutinariamente problemas de deformaciones, aunque se ha observado un incidente de deformación de mandíbula en larvas asociado presuntamente a deficiencias nutricionales de la dieta de reproductores durante su acondicionamiento (Silva *et al.*, 1989).

El desarrollo del tracto digestivo en las larvas de peces está condicionado por aspectos de tipo anatómico-fisiológico, que permiten a la postlarva adaptarse bioquímica e histológicamente a los períodos de transición entre la finalización de la reabsorción del vitelo y el inicio del consumo de alimento vivo, y en la transición de alimento vivo a dieta comercial balanceada (Rivera, 2009).

### **2.3.2. Nutrición larval**

En especies como la “dorada europea” *Sparus aurata*, el “turbot” *Scophthalmus maximus* u otras especies de lenguados, en las que la larva mide alrededor de 3 mm al comienzo de la alimentación exógena, el tamaño típico de partícula para estos pequeños estados larvales va en un rango de 50 a 150  $\mu\text{m}$  (Ronnestad, 2002).

Los requerimientos de ácidos grasos, difieren tanto en tipo como en cantidad entre especies, y más aún entre especies de agua dulce y marinas. Además, suelen ser diferentes entre larvas y juveniles de una misma especie, siendo normalmente el requerimiento de las larvas el doble que el de los juveniles (Izquierdo, 1996).

Todos los estudios al respecto indican que los ácidos grasos esenciales más importantes y requeridos en los peces, para un normal crecimiento y sobrevivencia son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), dentro de ellos principalmente con cadena larga como son el EPA (20:5n-3), el DHA (22:6n-3) y el ácido ARA (20:4n-6). Izquierdo *et al.* 1989; Izquierdo *et al.*, 1992; Rodríguez *et al.*, 1993; Mourente *et al.*, 1993; Salhi *et al.*, (1994 citados por Lazo, 2000).

### **2.3.3.- Alimentación larval**

El momento en el que termina la fase vitelina y comienza la alimentación exógena es crítico, debido a las limitaciones morfológicas, como el tamaño de la boca y a limitaciones fisiológicas, como el incompleto desarrollo de las glándulas digestivas que permitan la digestión de los alimentos artificiales (Meza & Figueroa, 2002; Sánchez *et al.*, 2005); pero al mismo tiempo la larva está capacitada para perseguir, capturar, tragar y digerir el alimento vivo (Rivera, 2009). Se puede tener en cuenta algunas consideraciones respecto a la especie y la presas a continuación en la tabla 2.

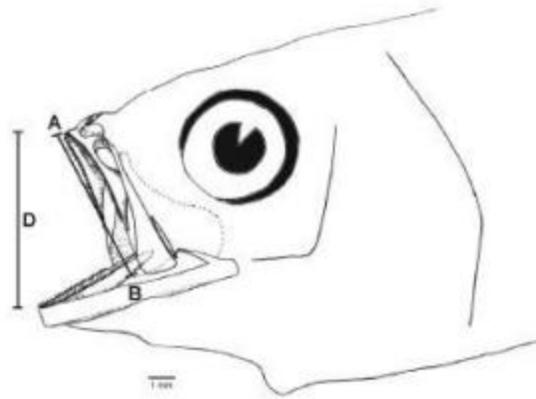
**Tabla 2.** Consideraciones relevantes, respecto a la especie y la presa durante el crecimiento larvario de peces marinos.

Aspectos propios de la especie	Aspectos propios de las presas
Requerimientos anatómicos y fisiológicos	Tamaño y forma
Comportamientos y eficiencia en la captura del alimento	Movilidad
Requerimientos de biomasa	Concentración (disponibilidad)
Requerimientos nutricionales	Contenido de nutrientes (facilidad de enriquecimiento)
Respuesta y tolerancia a factores ambientales	

Fuente: Dantagnan & Lazo (2007).

Desde el punto de vista de la alimentación, la larva se enfrenta a la necesidad de capturar su alimento con rapidez, lo que se dificulta al no tener su sistema locomotriz completamente formado. Durante este periodo, el desarrollo del canal alimentario abarca cambios morfológicos, fisiológicos e histológicos que están sincronizados por procesos genéticos y ambientales (Civera *et al.*, 2004).

Con el fin de estimar el tamaño de la boca de larvas, se aplicara la metodología propuesta por Shirota (1970), a través de la siguiente fórmula,  $D = \sqrt{2AB}$  donde D es el tamaño de la boca y AB es la medición de la longitud del maxilar superior. Se describe en la figura 2 a continuación.



**Figura 2.** Dimensiones de la boca de *Centropomus undecimalis*

Fuente: Shirota (1970)

La relación entre el tamaño de la boca de la larva, tipo y tamaño de la presa, es considerada como uno de los factores más decisivos en la capacidad de la larva para su alimentación, y la determinación del tamaño de presa o tamaño de partícula más adecuado de acuerdo al crecimiento de la larva, resulta relevante para su sobrevivencia (Dantagnan &Lazo, 2007). A continuación en la tabla 3 se muestra algunos parámetros biométricos entre la longitud total, tamaño de la boca y presa.

**Tabla 3.** Parámetros biométricos entre longitud total, tamaño de boca y tamaño de presa en larvas de turbot (Cunha y Planas, 1999).

Día	Longitud total (mm)	Ancho boca (µm)	Alto boca (µm)	Relación ancho/alto	Ancho presa (µm)	Alto presa (µm)	Relación ancho presa/ancho boca
2	3,78 +0,08	314 +25	394 +26	0,79	144	209	0,45
4	4,27 +0,18	392 +35	446 +47	0,87	161	243	0,41
6	4,79 +0,19	466 +61	501 +65	0,93	176	275	0,38
8	5,34 +0,22	536 +74	560 +77	0,95	206	364	0,38
10	6,01 +0,52	612 +84	631 +86	0,96	225	423	0,36

Fuente: Citados en Dantagnan & Lazo (2007)

El cultivo larval se desarrolla en estanques circulares con densidades iniciales de 20-30 larvas/l. El intercambio diario de agua de mar microfiltrada y esterilizada es creciente de 0 a 100 % entre los días 4 y 20 de cultivo.

Se agregan diariamente microalgas (*Isochrysis* y *Nannochloropsis*) en concentraciones de 150.000 a 200.000 cel/ml, en caso de utilizar la técnica de “agua verde”. La primera fase de alimentación (15-20 días) se realiza utilizando rotíferos (*Brachionus plicatilis*) en proporciones de 5-10 ind/ml dos veces al día, enriquecidos con una mezcla de microalgas (80 % *Isochrysis* y 20 % *Nannochloris*) o bien con enriquecedores comerciales (Algamac, DHA Selco).

Posteriormente, se complementa con nauplios de *Artemia* en concentración de 0,5 a 1 ind/ml conjuntamente con los rotíferos, los cuales se reducen progresivamente hasta el día 20, momento a partir del cual se comienza a alimentar con metanauplius de *Artemia* enriquecidos a razón de 1 a 3 metanauplios/ml y posteriormente, en forma simultánea con micropellet (100-400  $\mu$ ) hasta el día 60. A esta edad, los ejemplares fluctúan entre 15 (67 %) y 20 mm (33 %), ya han completado su metamorfosis y alcanzado las características de juveniles bentónicos.

Las sobrevivencias alcanzadas hasta esta etapa varían entre 10 y 25 % (Silva, 2001). Los resultados obtenidos en estas etapas indican que el crecimiento, calidad y sobrevivencia larval dependen principalmente de

factores relacionados con la calidad nutricional del alimento, temperatura y calidad del medio de cultivo.

#### **2.3.4.- Uso de sistemas de recirculación**

Los sistemas intensivos en acuicultura son ampliamente conocidos y consisten principalmente en el cultivo de peces con utilización de un alto flujo abierto de agua cuyo objeto abarca dos propósitos:

- a) Proporcionar oxígeno a los peces, elemento indispensable para su vida y bienestar
- b) Retirar los productos de desechos del metabolismo de los animales, para que no se acumulen en el propio cultivo, ni en sus alrededores.

Estos sistemas pueden utilizar cerramientos como tanques, ciertos raceways, silos y todos aquellos sistemas donde el agua sea reutilizada.

En el Sistema de Recirculación en Acuicultura - SRA, el ambiente es totalmente controlado, el agua circula a través del sistema, y solamente a veces un pequeño porcentaje de agua es reemplazado diariamente. La temperatura, salinidad, pH, alcalinidad, composición química y el oxígeno son monitoreados y continuamente controlados.

Los residuos sólidos son filtrados y removidos, se incorpora oxígeno para mantener concentraciones suficientes para la densidad de peces en cultivo, y por último el efluente es tratado en biofiltro para la conversión biológica del nitrógeno amoniacal a nitrato luego puede pasar por un sistema

de tuberías con radiación ultravioleta para regresar al tanque (Galli & Miguel, 2007).

### **2.3.5.- Parámetros fisicoquímicos del cultivo larvario**

En el cultivo de larvas de lenguado se deben de tener en cuenta algunos parámetros de calidad de agua (Merino *et al.*, 2010) estos son:

- ✓ Temperatura : 18 a 23 °C
- ✓ Alcalinidad de 110 a 160 mg/l como CaCO<sub>3</sub>
- ✓ Salinidad de 28 a 35 ppm
- ✓ Nitrito desde 0,4 a 1,5 mg/L
- ✓ Oxígeno disuelto > 5 mg/L
- ✓ pH > 7.5

## **2.4 CULTIVO DE Artemia**

Salgado (2001), menciona dos tipos de métodos de cultivo para la Artemia: Método intensivo y método extensivo. Teniendo el primero base científica y tecnológica, mientras que el segundo por condiciones favorables que se presentan en un tiempo y zona determinada.

- a. Método intensivo:** Este método permite realizar de manera controlada altas densidades, haciendo indispensable el uso de equipos y técnicas apropiadas, además de un alimento especial. Busca mantener constante los parámetros de cultivo.

- b. Método extensivo:** Se caracteriza por emplearse en lugares donde las condiciones climáticas lo permiten. Estas condiciones permiten efectuar el cultivo de Artemia al aire libre en estanques de tierra, a bajas densidades, sin mucha tecnología y con alimentación natural (microalgas, plancton).

Existen técnicas estandarizadas utilizadas en la producción de nauplios de Artemia. para su cultivo. Estas son simples, cuando se trata de pequeñas cantidades a nivel de laboratorio, teniendo en cuenta los factores abióticos que deben acompañar a la eclosión; sin embargo, cuando se trata de niveles mayores que son utilizados en instalaciones comerciales de larvicultura, se hace necesario ajustar parámetros a fin de asegurar mayores eficiencias en la eclosión de quistes (Caballero, 2013).

#### **2.4.1.- Técnica de eclosión - incubación**

Sorgeloos *et al* (1986), describe algunos parámetros que pueden ser críticos para asegurar una eclosión máxima, siendo estos, de manera resumida, los siguientes:

- ✓ **Temperatura:** Recomienda efectuar la eclosión entre 25 a 30 °C. Por debajo de 25 °C, la eclosión se hace lenta y por encima de 30 °C, el metabolismo interno se detiene irreversiblemente.
- ✓ **Salinidad:** Por la practicidad, comúnmente recomienda utilizar agua de mar (35 ‰), sin embargo manifiesta que con algunas cepas se puede obtener aumentos en la tasa de eclosión, a salinidades menores (hasta 5 ‰), pudiéndose trabajar dentro de estos límites.

- ✓ **Oxígeno:** A fin de lograr una eclosión máxima, recomienda mantener los niveles de oxígeno por encima de 2 miligramo por litro. Las tasas óptimas de aireación han sido controladas localmente en función del tamaño del tanque y de la densidad de quistes incubados.
- ✓ **Densidad:** En cuanto a la densidad recomienda no sobrepasar los 5 gramos de quistes por litro, especialmente cuando se trabaja con grandes cantidades.
- ✓ **Potencial de Hidrógeno (pH):** Con el fin de mantener la calidad del agua, recomienda un pH entre 7 y 8. Para niveles comerciales de densidades de 5 gramos de quiste por litro, será necesario agregar 2 gramos por litro de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ).
- ✓ **Iluminación:** Es esencial, sobre todo en las primeras horas tras su hidratación, para lograr una eclosión máxima. El autor recomienda mantener una iluminación de aproximadamente unos 2000 lux en la superficie del agua, siendo adecuado el uso de tanques transparentes, y proporcionando luz artificial empleando dos tubos fluorescentes de 40 watts.
- ✓ **Descapsulación:** Con el fin de mejorar la calidad de los nauplios, se realiza el método de descapsulación de los quistes, el cual consiste en la eliminación del corión empleando una solución descapsulante. El procedimiento consta de tres pasos: hidratación, tratamiento con la solución descapsulante y lavado.

**a. Hidratación:**

La hidratación tiene la finalidad de conseguir la esfericidad homogénea de los quistes y asegurar la eliminación completa del corión. El procedimiento consiste en colocar los quistes en un recipiente de forma cónica con agua potable y aireación constante la cual debe ser suministrada desde el fondo. El tiempo óptimo sugerido es de dos horas.

**b. Tratamiento con la solución descapsulante:**

El producto activo de la solución descapsuladora es el hipoclorito, usándose lejía - Hipoclorito de sodio (NaClO). El peso de producto activo en el volumen de la solución decapsuladora por gramos de quistes secos a tratar es de 35 ml de hipoclorito por gramo de quistes y 70 ml de agua potable por gramo de quiste.

Luego de la hidratación los quistes, éstos son tamizados y colocados en otro recipiente cónico que contiene la solución descapsulante, con aireación fuerte suministrada desde el fondo para mantener la suspensión de los quistes. Durante este proceso se produce una reacción exotérmica, formándose espuma, y conforme transcurre el tiempo el color de los quistes va cambiando desde marrón hasta naranja, el cual indica el fin de la descapsulación. El tiempo de exposición oscila entre tres y cinco minutos, y la temperatura se debe mantener a menos de 40°C; se recomienda el uso de hielo para este fin.

**c. Lavado – desactivación:**

Tan pronto el corion ha sido disuelto, los quistes son filtrados, para ser enjuagados con abundante agua dulce, hasta eliminar el olor a

cloro. Los residuos de cloro adheridos a los quistes serán desactivados en un baño de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) a una concentración de 0,1 %, por un periodo de un minuto. Se enjuagarán con agua dulce o salada, antes de ser incubados.

El valor nutritivo de los nauplios recién eclosionados es muy alto; este valor decrece en ausencia de alimento. Si el metanauplio y/o nauplio es alimentado adecuadamente, podemos obtener un enriquecimiento de nutrientes esenciales en un sustrato de microalgas (vivas o secas), o en una mezcla artificial de nutrientes (lípidos, aminoácidos, ácidos grasos, etc.) Tacon (1987; citado por Torrentera *et al.*, 1989). En la tabla 4 se muestra la composición química de nauplios de Artemia.

**Tabla 4.** Composición química de nauplios de Artemia.

COMPUESTO	RANGO
Humedad (%)	88,2 – 90,9
Proteína (%)	6,1 – 6,8
Grasa (%)	1,6 – 2,1
Ceniza (%)	1,0 – 1,5
Calcio (mg/g)*	0,23 – 0,41
Magnesio (mg/g)*	0,20 – 0,68
Fósforo (mg/g)*	1,21 – 1,44
Sodio (mg/g)*	1,43 – 4,93
Potasio (mg/g)*	0,96 – 1,16
Hierro ( $\mu$ /g)*	52,2 – 294,6
Zinc (mg/g)*	16,1 – 24,1
Manganeso (mg/g)*	2,1 – 3,7
Cobre (mg/g)*	0,6 – 1,9

\*mg/g = miligramo por gramo.

Fuente: Watanabe *et al.* (1983; citado por Torrentera *et al.*, 1989).

En la tabla 5 se muestra la composición porcentual de ácidos grasos presentes en nauplios de *Artemia*, recién eclosionados.

**Tabla 5.** Composición de ácidos grasos (%) de nauplios recién eclosionados de *Artemia*.

ÁCIDOS GRASOS	PORCENTAJE TOTAL
Ácido mirístico (14:0)	0,43 – 1,80
Ácido miristoleico (14:1)	1,67 – 3,03
Ácido palmítico (16:0)	7,79 – 11,90
Ácido palmitoleico (16:1 ω 7)	5,24 – 19,06
Ácido margaroleico (16:3 ω 4/ 17:1ω8)	1,47 – 2,54
Ácido esteárico (18:0)	3,08 – 5,12
Ácido oleico (18:1 ω 9)	24,73 – 29,15
Ácido linoleico (18:2 ω 6*)	4,60 – 7,95
Ácido linolénico (18:3 ω 3*)	7,38 – 33,59
Ácido estearidónico (18:4 ω 3)	1,26 – 4,88
Ácidos eicosadienoico ( 20:2 ω 6/ 20:3 ω 6)	0,15 – 1,13
Ácido araquidónico (20:3 ω 3/ 20:4 ω 6)	1,48 – 4,21
Ácido eicosapentanoico (20:5 ω 3 **)	1,68 – 15,35

\* Ácidos grasos esenciales para peces de agua dulce

\*\* Ácidos grasos esenciales para peces marinos.

Fuente: Klein-Macphee *et al* (1982; citado por Torrentera *et al.*, 1989).

## 2.5 ENRIQUECIMIENTO DE *Artemia*

Las técnicas de enriquecimiento con *Artemia*, varían de acuerdo al tiempo de enriquecimiento y a las condiciones ambientales (temperatura, salinidad, pH).

Mejores niveles de enriquecimiento cuando se utilizan emulsiones concentradas (Castro, 2005).

Existe una gama amplia de productos para ser usados como enriquecedores. En la tabla 6, se puede apreciar el contenido de ácidos grasos en algunos productos comerciales. Siendo las emulsiones con bases en aceites de pescado o en derivados de algas y/o plantas, ricas en determinados ácidos grasos (ARA, DHA, EPA). Esta variedad de productos, ofrece más posibilidades para cubrir las necesidades de las diferentes especies (Ando *et al.*, 2003; citado por Hernández, 2009).

**Tabla 6.** Niveles de ácidos grasos en (mg/ml peso seco) de algunos enriquecedores comerciales.

<b>Enriquecedores</b>	<b>DHA</b>	<b>EPA (el <math>\omega</math>-3)</b>	<b>HUFA</b>
Selco excelente (INVE Aquaculture NV)	14.0	28.6	50.3
DHA Selco (INVE Aquaculture NV)	17.7	10.8	32.7
Superartemia (Catvis)	9.7	13.2	26.3
SuperHUFA (Torre de la Sal)	16.4	21.0	41.1

Fuente: Tomado de Dehert *et al* (1993)

Hernández (2009) en la tesis “Efecto de *Artemia* franciscana enriquecida con diferentes proporciones de  $\omega$ -3 DHA/EPA sobre juveniles de pez blanco *Menidia estor*”, el tiempo que utilizo fue de 18 a 24 h, obteniendo una relación de EPA/DHA de 4, la cantidad de 45 g de quistes de Artemia para obtener una densidad de 200 000 art/L. La dosis que obtuvo mejor resultado del enriquecedor fue de 0,6 g/200000nauplios/L. El efecto de las dietas se reflejó en el crecimiento y

sobrevivencia de juveniles de pez blanco que fueron alimentados nauplios de *Artemia* enriquecida.

Además de los ácidos grasos, otros nutrientes como las vitaminas y pigmentos pueden incorporarse en *Artemia*. Vitaminas solubles en lípidos (sobre todo la vitamina A y la E) se han reportado que pueden acumularse en *Artemia* en un corto tiempo (9 h). Los niveles de vitamina A se pueden incrementar desde valores de 1 IU/mg peso húmedo, hasta por arriba de 16 IU/mg, y los niveles de vitamina E de 20  $\mu\text{g}/\text{mg}$  hasta aproximadamente 250  $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Recientemente también se han dirigido pruebas para incorporar ácido ascórbico en el alimento vivo (Sorgeloos *et al.*, 1986).

Inmanuel (2007) utilizo *Artemia franciscana* a una densidad de 100 nauplio/ml enriquecida cada 6, 12, 18 y 24 h con aceite de pescado, vitamina C, vitamina E y levadura para observar cual era el mejor tiempo de asimilación de ácidos grasos esenciales - HUFA logrando mejores resultados enriqueciéndolo por 6 h.

Monroig (2006), se refiere al dinoflagelado heterótrofo *Cryptocodinium cohnii* y al hongo *Schizochytrium* sp. , previo tratamiento, como alternativa de medio enriquecedor.

En cuanto a técnicas empleadas varios autores toman como referencia a Torrentera (1989), quien plantea un requerimiento de 2,5 a 5 gramos de la fuente enriquecedora, para un millón de nauplios, advirtiendo que el tiempo de exposición no debe ser menor a seis horas.

Referente a esto Monroig (2006), describe una técnica de enriquecimiento en la que los nauplios de *Artemia* recién eclosionados se mantienen en una probeta con

agua de mar y aireación vigorosa, para asegurar la dispersión homogénea de los nauplios. Por un tiempo de 18 a 21 horas. Se estima los nauplios recién eclosionados disponibles en la probeta tomando seis alícuotas de 100 microlitros ( $\mu\text{l}$ ) con una pipeta automática. Los nauplios vivos son contabilizados, obteniéndose la media de todas las alícuotas, tras desestimar los conteos máximo y mínimo. Con la estimación de la densidad de nauplios, se calcula el volumen que debe ser transferido a cada tubo de enriquecimiento para conseguir la densidad de nauplios deseada. La densidad de nauplios aproximada en la que se realizan los enriquecimientos es de 300 nauplios por ml obtenidos de 4g de quistes.

El proceso de enriquecimiento consiste en la incubación de los nauplios recién eclosionados en agua de mar con el producto enriquecedor. Los productos enriquecedores son dispensados en los tubos de enriquecimiento con los nauplios recién eclosionados utilizando pipetas automáticas en el caso de los liposomas o pesando previamente la cantidad deseada de producto enriquecedor, posteriormente, se dispersa en un pequeño volumen de agua de mar mediante una batidora doméstica antes de añadirla a los tubos de enriquecimiento. Dichos tubos se llenan con agua de mar hasta completar el volumen final en el que se lleva a cabo el enriquecimiento (entre 700 y 1000 ml).

La temperatura de enriquecimiento se fija en  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , utilizando un baño idéntico al utilizado para la eclosión de quistes. La incubación de los nauplios en el medio con enriquecedor se prolonga durante un tiempo nunca superior a 24 horas, aunque la duración de las incubaciones cambia de unos experimentos a otros. Los

nauplios de Artemia son recogidos en una malla de plancton de luz de 100  $\mu\text{m}$ , donde se enjuagan con agua corriente abundante para eliminar restos de enriquecedor.

## 2.6 CONCENTRADO SOLUBLE DE PESCADO

El concentrado soluble de pescado es elaborado usando la base del agua de cola, que son excedentes de la fabricación de harina de pescado principalmente de “anchoveta” *Engraulis ringens* fresca con un mínimo de proteína del 48% (Cabana, 2006). El agua de cola procede a ser prensado, evaporado y filtrado, reteniendo las impurezas, para obtener un concentrado del orden del 60 % a 70 %, según las características físico químicas de materia prima (Rebaza, 2014).

El soluble de pescado es un producto semisólido, con una fuente de vitaminas del complejo B. Debido a su alta digestibilidad (98%) está constituido por proteína soluble altamente concentrada, con aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales y nucleótidos, que resultan ser efectivos atractantes en dietas para especies acuáticas (Llontop *et al.*, 2013).

El concentrado soluble de pescado es un alimento natural que no solo refuerza el sistema inmunológico (nucleótidos) de las especies cultivadas sino que también hace atractivo cualquier clase de alimento balanceado. Es un fuerte attractante, puede ser utilizado en las dietas de peces estimulando la asimilación del alimento. Algunas de sus propiedades son:

- ✓ Fuente rica de proteína ligante y reforzador de la palatabilidad, orientados a la formulación de piensos para animales.

- ✓ Ligante de pellet, ampliando el tiempo de la dispersión debajo del agua (acuicultura).
- ✓ Excelente eficacia del nivel de entrada en dietas de extrusado, asegurando una retención máxima de aceites marinos valiosos.
- ✓ Resaltador de la palatabilidad que trabaja como un fuerte saborizante para muchas formulaciones en alimentación animal.

Los inmunoestimulantes son sustancias que activan los glóbulos blancos otorgándoles a los animales una mayor resistencia a las infecciones. Los nucleótidos tienen un rol importante en la producción de energía y metabolismo, son esenciales para las funciones corporales y es fundamental en el desarrollo y la biosíntesis de proteínas y enzimas (Llontop *et al.*, 2013)

Calificado por el Ministerio de Salud, el concentrado soluble fue utilizado, en sopas y caldos, en la elaboración de panes, galletas, fideos, y expuesto exitosamente en las grandes Ferias del Pacífico. Incluso utilizado en la dieta de pacientes del hospital Larco Herrera, se logró disminuir su agresividad, oxigenando su sangre e irrigando mejor su cerebro, tratándose de un producto estable y fácil de conservar, no requiere refrigeración; además de la ventaja de su reducido costo (Rebaza, 2014).

En la Tabla 7, se describe los aminoácidos presentes y el valor porcentual proteico en el concentrado soluble de pescado.

**Tabla 7.** Matriz nutricional del producto Concentrado soluble de pescado. Perfil típico de Aminoácidos (g/100g de proteína).

AMINOÁCIDO	PROTEÍNA
Alanina	6,37
Arginina	6,81
Ácido aspártico	6,66
Cistina	4,51
Ácido glutámico	14,04
Glicina	6,92
Histidina	9,15
Isoleucina	5,14
Leucina	6,56
Lisina	6,30
Metionina	5,04
Fenilalanina	5,05
Prolina	5,71
Serina	5,44
Taurina	3,44
Treonina	5,32
Tirosina	4,79
Valina	5,40
	100,0

Fuente: Empresa pesquera DIAMANTE SAC  
(2013)

En la Tabla 8, se observan los datos del Análisis proximal del Concentrado soluble de pescado comercial en 100 g de producto.

**Tabla 8.** Análisis proximal del concentrado soluble de pescado Producto Comercial.

COMPONENTE	UNIDAD
	(%)
Humedad	3,49
Proteína	68,63
Proteína soluble	43,05
Cenizas	24,78
Grasa	2.99
Solidos totales	93.52

Fuente: Empresa pesquera DIAMANTE SAC (2013)

## 2.7 PRODUCTO COMERCIAL (SELCO )

El Producto Comercial, es un hidrolizado proteico enzimático, a base de pescado “anchoveta” *Engraulis ringens* el cual ha sido desengrasado. Es decir, sólo proteína purificada, sin presencia de lípidos.

### 2.7.1.- Composición química

Según las características proporcionadas por el productor LACP Perú, este producto posee *Fish Protein Isolates* (proteína de pescado aislada Fpi), es líquido con una concentración al 40 %, su tamaño de partícula es de 0 a 10 Kilo Dalton, presenta péptidos y aminoácidos de alta digestibilidad, lo cual demuestra una mejor conversión alimenticia de 5 a 8 %. Se usa en agua o alimento, posee buena atractabilidad y palatabilidad, además de usarse como aditivo y con subproductos; su aporte de energía es de 3 299 kg por caloría en materia seca.

Para enriquecer con esta emulsión, a los nauplios de *Artemia* recién eclosionados, éstos se colocan en un tanque de enriquecimiento, a una densidad de 100 a 300 nauplios/ml (en periodos de más de 24 h); el medio de enriquecimiento consiste en agua de mar desinfectada a 35 a 40 g/L de salinidad, a una temperatura de 25 °C.

La emulsión de enriquecimiento normalmente se agrega en dosis consecutivas de 300 mg/ml cada 12 h con una aeración fuerte y constante, para mantener los niveles de oxígeno disuelto en 4 mg/ml y evitar altas mortalidades, los nauplios enriquecidos se cosechan después de 24 h (a veces aun después de 48 h), se enjuagan y se dan como alimento de forma inmediata a peces o crustáceos en cultivo ó se guardan en refrigeración por debajo de 10 °C.

Para minimizar el metabolismo posterior de la administración de los HUFA, ya que se ha observado que los niveles de HUFA se reducen entre un 0-30 % después de 24 h a 10 °C (Gómez *et al.*, 2001).

En la Tabla 9, se describe los aminoácidos presentes y el valor porcentual proteico en el producto comercial- Selco.

**Tabla 9.** Matriz nutricional del producto comercial- Selco. Perfil típico de Aminoácidos (% del total de proteínas).

AMINOÁCIDO	PROTEÍNA	PROPORCIONADO
Alanina	5,95	2,38
Arginina	4,88	1,95
Ácido aspártico	9,35	3,74
Cistina	0,74	0,30
Ácido glutámico	14,04	5,62
Glicina	7,13	2,85
Histidina	4,36	1,74
Isoleucina	4,42	1,77
Leucina	6,66	2,66
Lisina	8,21	3,28
Metionina	2,01	0,80
Metionina /Cistina	2,75	1,10
Fenilalanina	2,95	1,18
Prolina	5,17	2,07
Serina	3,65	1,46
Taurina	3,44	1,37
Treonina	4,16	1,66
Triptófano	0,77	0,31
Tirosina	2,77	1,11
Valina	4,98	1,99
	100,0	40,0

Fuente: LACP PERU

En la Tabla 10, se observan los datos del Análisis proximal del hidrolizado de pescado comercial- Selco.

**Tabla 10.** Análisis proximal del Producto Comercial- Selco.

<b>COMPONENTE</b>	<b>UNIDAD</b>
Humedad	50%
Proteína	40%
Cenizas	10%
Fosforo	0,43 %
Calcio	0,11 %
Selenio	5,4 ppm
Hierro	60 ppm
Zinc	50 ppm

Fuente: LACP PERU

## **2.8 ENSILADO DE PESCADO**

Es una masa homogénea de consistencia pastosa, con olor a fruta fermentada, ligeramente ácida, que es obtenido a partir de residuos de pescado, mediante un proceso de fermentación controlado con bacterias lácticas y carbohidratos.

El proceso inicia con el acopio y cocción de los residuos sólidos de pescado (cabezas, víceras, huesos), que son luego sometidos a un proceso de molienda para obtener una pasta, que es mezclada y homogenizada con bacterias lácticas y melaza para proceder con la fase de incubación por un periodo de 48h. Transcurrido el tiempo de fermentación junto con un descenso significativo de pH, el producto que da listo para ser envasado bajo diferentes presentaciones. Su vida útil es de 6 meses a temperatura ambiente bajo sombra (ITP, 2007).

Algunas ventajas de la utilización del ensilado son:

- ✓ Larga vida de almacenamiento a temperatura ambiente (No requiere de refrigeración)
- ✓ Producto microbiológicamente controlado y estable.
- ✓ Probado eficientemente como sustituto de insumos proteicos en dietas para animales.
- ✓ Mínimos requerimientos energéticos en los procesos de producción.
- ✓ Utiliza residuos o materias primas de bajo costo subutilizadas comercialmente.
- ✓ Proceso industrial que no contamina al medio ambiente.

En la tabla 11, se muestra la composición nutricional del ensilado de pescado.

**Tabla 11.** Composición Nutricional del ensilado de pescado

<b>COMPONENTE</b>	<b>En 100 gramos</b>
Proteínas (g)	<b>43</b>
Grasa total (g)	<b>20</b>
Carbohidratos totales (g)	<b>0</b>
Cenizas (g)	<b>7</b>
Energía (kcal)	193,71
Humedad (g)	<b>30</b>

**Fuente:** Instituto tecnológico pesquero (2007)

## **2.9.- MICROENCAPSULADO**

Las microcápsulas obtenidas tienen un tamaño y textura óptima para ser utilizadas por larvas de peces marinos, presentan una composición similar en principios

inmediatos, siendo aceptadas y digeridas tanto por larvas de especies pelágicas como bentónicas, y aparecen visiblemente disgregadas en su tubo digestivo. Las microcápsulas conseguidas se dispersan fácilmente en agua y se pueden almacenar en seco durante largos periodos sin que se vean modificadas sus características (Llontop, 2004).

Actualmente se utiliza en la microencapsulación mediante un proceso de gelación interna de una dieta formulada que puede ser usada como alimento a las larvas de peces marinos. Cuando la dieta formulada, junto a un compuesto gelificante, es mezclado con un líquido hidrofóbico se produce una emulsión de la mezcla con la formación de microgotas.

El alginato presente en la solución inicial reacciona con sales de calcio mediante un proceso de polimerización iónica formando geles que sometidos a bajo pH permite la formación de ácido algínico (compuesto éste insoluble en agua). Con la solidificación de dichas gotas se obtienen micropartículas aisladas y estables que son las microcápsulas ya formadas.

Dichas partículas pueden congelarse y posteriormente liofilizarse manteniendo sus propiedades, obteniéndose un producto final en forma de polvo seco que permite su almacenamiento prolongado (Llontop, 2004).

Los compuestos empleados en la elaboración de las microcápsulas del presente invento además de ser digeribles, pueden ser utilizados en alimentación animal, son de fácil disponibilidad en el mercado y de bajo costo (Llontop, 2004).

Así, es posible incluir compuestos tanto solubles en agua o en aceite, de diferente peso molecular, materiales inorgánicos así como células y mantenerlos dentro de la estructura de la partícula, inalterables durante horas de permanencia en agua de mar.

La tecnología de la microencapsulación se puede resumir en dos tipos de proceso químico y físico; el proceso químico se efectúa en un medio líquido para realizar una fase de separación, y el proceso físico usa material de cobertura fluida que es retenido por varios medios después de la formación de la cápsula. Tales métodos son muy eficientes y permiten la formación de la cobertura por medio de varios polímeros sintéticos, gomas naturales, ceras, resinas, además de sistemas multicomponentes (Anaya *et al.* 1995).

## **2.9.1.- Componentes de un microencapsulado**

### **2.9.1.1.- Núcleo**

Ingrediente o principio activo, al que se pretende dotar (Casas *et al.*, 2010). En la tabla 12 se muestran los diferentes tipos de núcleo de un microencapsulado.

**Tabla 12.** Tipos de núcleo del microencapsulado.

<b>Vitaminas y minerales</b>	Vit. A, B (B1,B2,B12),Vit C, Fe, Cu, Mg, Zn.
<b>Aceites y ácidos grasos</b>	Omega 3 (EPA/DHA), aceite de pescado, aceites esenciales.
<b>Extractos y compuestos bioactivos</b>	aminoácidos
<b>Aromas</b>	menta, limón, albahaca, tomillo
<b>Enzimas</b>	colesterol oxidasa, lacasa

Fuente: Casas *et al* (2010)

#### 2.9.1.2.- Recubrimiento:

Materiales mediante los cuales se aporta al núcleo estas características concretas en el proceso. Efecto final del producto (Casas *et al.*, 2010).

**Tabla 13.** Tipos de recubrimiento del microencapsulado.

<b>Gomas</b>	goma arábica, agar, alginato, carragenatos
<b>Carbohidratos</b>	almidón, amilosa
<b>Celulosas</b>	Carboximetil-celulosa, metilcelulosa, etilcelulosa
<b>Lípidos y ácidos grasos</b>	ceras, parafinas, tristearina, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, aceites, grasas
<b>Proteínas</b>	gluten, caseína, albumina

Fuente: Casas *et al* (2010)

## **2.9.2.- Técnicas de microencapsulado**

Existen diversos procesos que pueden ser utilizados para producir microcápsulas. La selección de la técnica de microencapsulación depende de las propiedades deseadas en el producto final: vida útil, propiedades de liberación, el formato de la microcápsula y su aplicación final (Sanguansri & Augustin, 2007).

### **2.9.2.1.- Deshidratación por atomización.**

La deshidratación por aspersión es una operación unitaria mediante la cual se pulveriza un producto líquido (emulsión o/w) por el contacto con una corriente de gas caliente (generalmente aire) para obtener un polvo instantáneo (Quispe *et al.*, 2011).

### **2.9.2.2.- Enfriamiento y refrigeración de aspersiones.**

En este proceso, la dispersión se atomiza con aire a temperatura ambiente o de refrigeración. El aire frío hace que la pared de encapsulación solidifique entorno al núcleo. Este proceso es similar al de deshidratación por atomización, la diferencia radica en que no se evapora agua alguna (temperaturas bajas). Las microcápsulas producidas por este método son insolubles en agua debido a su cobertura lipídica (Quispe *et al.*, 2011).

### **2.9.2.3.- Cobertura en lecho fluidizado**

Llamada también recubrimiento en suspensión de aire o proceso Wunster (Rahman ,2003). En este proceso se utiliza un lecho fluidizado para las partículas sólidas suspendidas en el aire y el material encapsulante se pulveriza sobre las partículas, formando una capa (Quispe *et al.*, 2011).

### **2.9.2.4.- Extrusión**

Consiste en forzar el compuesto del núcleo en una masa de carbohidratos a través de una serie de matrices hacia un baño líquido deshidratante, obteniéndose así productos de alta densidad. Las presiones y temperaturas empleadas suelen ser menores a 670 KPa y raramente exceden de 115°C, respectivamente. El líquido generalmente usado en el proceso es el alcohol isopropílico (Quispe *et al.*, 2011).

### **2.9.2.5.- Liofilización**

La liofilización o desecación en estado congelado (sublimación) es un proceso utilizado para la deshidratación de casi todos los materiales y aromas termosensibles. Las microcápsulas liofilizadas presentan una estructura más porosa que las atomizadas (Quispe *et al.*, 2011).

### 2.9.2.6.- La coacervación

La coacervación se define como la separación de dos fases líquidas en sistemas coloidales. Implica la separación de una fase líquida del material de cobertura de una disolución polimérica mediante el revestimiento de dicha fase como una capa uniforme en torno a las partículas del núcleo en suspensión (Quispe *et al.*, 2011). Seguidamente es solidificada la cubierta. Hay dos tipos de coacervación, estas son:

**A.- La coacervación simple** se refiere a sistemas que solo tienen un soluto coloidal (ej, gelatina).

**B.-La coacervación compleja** trata de sistemas conteniendo más de un soluto (ej. gelatina y goma acacia).

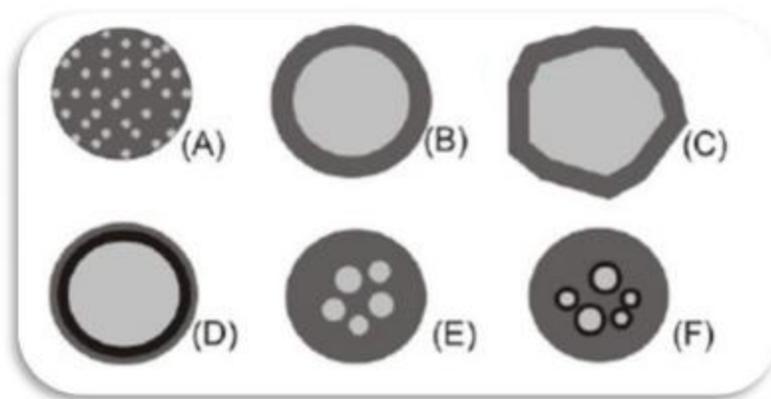
A continuación se muestra una fotografía (figura 3) del microencapsulado desarrollada en el Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Cádiz.



**Figura 3.** Microencapsulado desarrollado en el Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Cádiz

Fuente: ICMAN-CSIC (2006)

Existen varias formas y tipos de microcápsulas (A) de microesferas (B) la simple microcápsulas (C) microcápsulas sencilla irregular (D) microcápsulas de dos paredes (E) de microcápsulas de múltiples núcleos (F) de agrupación de microcápsulas (Arshady, 1993) como se observa en la figura 4.



**Figura 4.** Formas y tipos de microcápsulas.

Fuente: Arshady (1993)

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1 Lugar de ejecución**

Laboratorio de Cultivo de Peces del Centro de Investigaciones Acuícolas Alexander Von Humboldt del Instituto del Mar del Perú- ubicado en Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito Callao. Lima.

### **3.2 Tipo de investigación**

La investigación fue de tipo experimental. En la que se evaluó el efecto de las dietas enriquecedoras en los nauplios de Artemia. Para lo cual se emplearon tres tratamientos (Ensilado, Concentrado soluble de pescado y Selco), con tres réplicas cada uno, empleando diseño completamente aleatorio y distribución al azar.

### **3.3 Variables de estudio**

#### **3.3.1. Variables Independientes**

- Volumen de inclusión del ensilado
- Volumen de inclusión del concentrado soluble de pescado
- Volumen de inclusión del producto comercial
- Tiempo de enriquecimiento.

#### **3.3.2. Variables dependientes**

- Crecimiento
- Supervivencia
- Calidad de agua

### **3.3.3. Variables constantes**

- Temperatura
- Concentración de dietas

## **3.4 Materiales, equipos y otros**

### **3.4.1.- Material biológico**

- Larvas de *Paralichthys adspersus*
- Quiste de *Artemia franciscana*

### **3.4.2.- Materiales para la elaboración del enriquecedor (microencapsulado)**

- Ensilado de pescado (5kg)
- Concentrado soluble de pescado (5 Kg)
- Lecitina de Soya en polvo (100g)
- Cápsulas de aceite de pescado (20 unidades)
- Albúmina (1Kg)
- Vitamina C (30g)
- Vitamina E (30g)
- Licuadora industrial
- Hervidor eléctrico MIRAY de 1L
- Papel toalla Elite (2 rollos)
- Balanza electrónica METTER TOLEDO de 5Kg de capacidad (precisión con 0.1g)

### **3.4.3.- Materiales del sistema de recirculación**

- Bombas de agua de mar M-PM27 IWAKI (2 unid)
- Bombas de calor M-DSHP8 DELTA STAR (2 unid)
- Compresor de aire (1 unid)
- Esterilizador de luz ultravioleta –UV (2 unid)
- Lector multiparámetro THERMO SCIENTIFIC
- Aire acondicionado YORK
- Tanques de fibra de vidrio de 150 L de forma circular (9 unid)
- Tanques de fibra de vidrio rectangular vertical (2 unid)
- Piedras difusoras (16 unid)
- Mangueras siliconadas (6m)
- Conexiones hidráulicas (tuberías)
- Biofiltros (2 unid)

### **3.4.4.-Materiales para la recolección de datos**

- Microscopio trinocular electrónico LEYCA
- Estereoscopio trinocular electrónico LEYCA
- Laptop HP
- Cámara Neubauer
- Jeringas (1 ml)

#### **3.4.5.- Materiales para la alimentación**

- Tubos falcón (Bolsa 25 und)
- Cistos de Artemia salina Salt creek (Lata de 1 libra)
- Balde de plástico transparente de 5 litros (9)

#### **3.4.6.-Materiales de oficina**

- Cámara Digital Canon
- Materiales de oficina

#### **3.4.7.-Materiales para los Controles**

- Papel bond A4 75 g (1 millar)
- Lapiceros y tinta

### **3.5.- PROCEDIMIENTO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL**

#### **3.5.1.- Elaboración del enriquecedor**

Para la elaboración del enriquecedor se utilizara la técnica de microencapsulado de coacervación simple. En el cual, el núcleo del microencapsulado será el ensilado o el concentrado soluble de pescado con vitaminas, aceite de pescado y el recubrimiento será otorgado por la albúmina. Los ingredientes y la cantidad de estos para 100 g de producto se encuentran

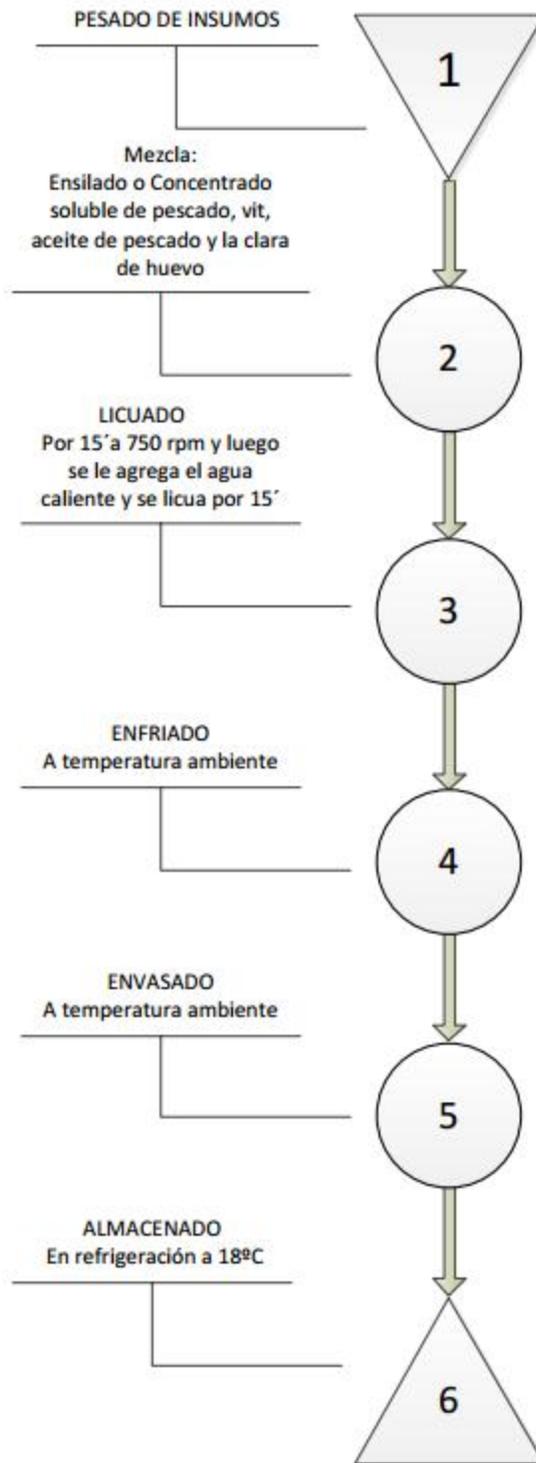
en la tabla 14 y a continuación se describe el diagrama de flujo para la elaboración del microencapsulado.

**Tabla 14.** Ingredientes utilizados para la elaboración del microencapsulado en 100 de muestra.

<b>Ingrediente</b>	<b>Microencapsulado de Ensilado</b>	<b>Microencapsulado Concentrado soluble de pescado</b>
Peso del ingrediente nuclear (g)	57	57
Vit E	0,5	0,5
Vit C	0,5	0,5
Aceite de pescado	1,0	1,0
Lecitina de soya	1,0	1,0
Clara de huevo	35	35
Agua (ml)	30	30

Fuente: Elaboración propia

A continuación se presenta el diagrama de flujo para la elaboración del microencapsulado en la figura 5 y en la figura 6 se muestra el resultado de los enriquecedores elaborados en base de “anchoveta”.



**Figura 5.** Diagrama de flujo para la elaboración del microencapsulado

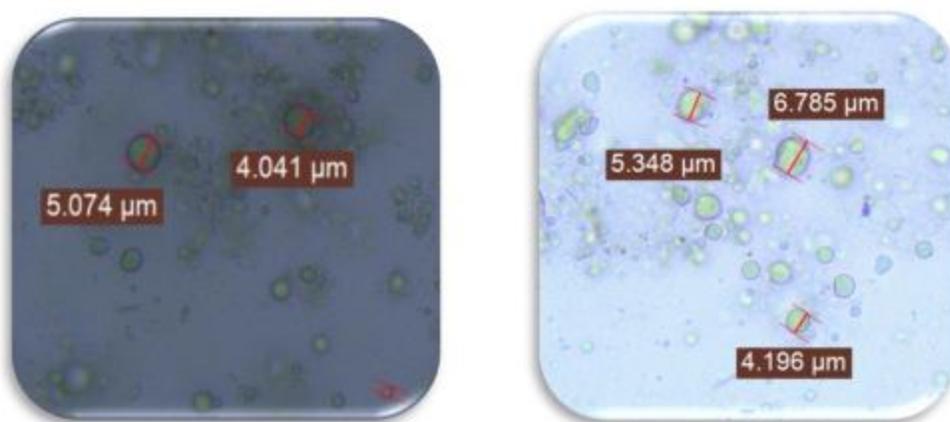
Fuente: Elaboración propia



**Figura 6.** Productos terminado de los enriquecedores

Fuente: Elaboración propia

Luego de elaborar el microencapsulado se observa al microscopio para evaluar la formación del microencapsulado. El tamaño promedio del microencapsulado con ensilado es de 4,55  $\mu\text{m}$  y el del concentrado soluble de pescado es de 5,44  $\mu\text{m}$ . Este se aprecia en la figura 7.

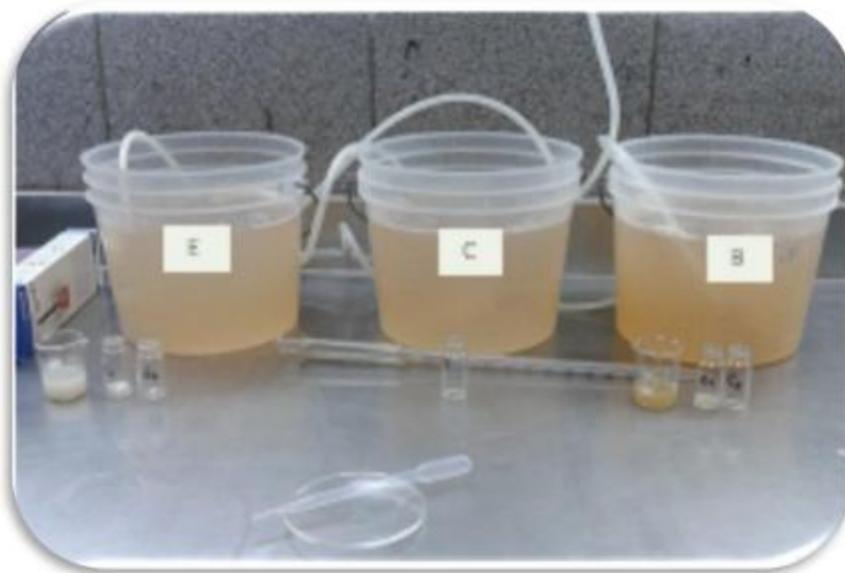


**Figura 7** (a) y (b). Microencapsulado de Ensilado y de Concentrado soluble de pescado respectivamente

Fuente: Elaboración propia

### 3.5.1.1.- Tiempo y dosis del enriquecedor

Para estimar la dosis del enriquecedor se utilizó el procedimiento de Monroig (2007), la dosis dependerá del contenido de nauplios de Artemia / ml para el caso de los enriquecedores a base de Ensilado y Concentrado soluble de pescado (CSP), mientras que para el Selco se realizará bajo las instrucciones del producto comercial. En la figura 8 se observa los enriquecedores con la Artemia. y en la figura 9 y 10 se observan el consumo de Artemia por horas de acuerdo a los diferentes enriquecedores.



**Figura 8.** Baldes con enriquecedores de Artemia con diferentes concentraciones.

Fuente: Elaboración propia

Para estimar el tiempo adecuado de enriquecimiento se tendrá en cuenta el tamaño del naupliar de la Artemia y de la boca de la larva de lenguado, utilizando la fórmula de Shirota (1970). El tamaño de la boca de las larvas de lenguado al iniciar el experimento fue de 688  $\mu\text{m}$  y al final con 912 $\mu\text{m}$ . Sobre el tamaño de los nauplios de Artemia a 19 °C se observa en la tabla 15 el crecimiento de la Artemia por horas debido al resultado se hicieron los enriquecimientos a las 2,5 y 7 h.

**Tabla 15.** Tamaño por hora de la *Artemia franciscana* a 19°C

Tiempo por horas	Tamaño de los nauplios de Artemia ( $\mu\text{m}$ )
1	489,236
2	500,002
3	502,214
4	508,019
5	564,312
7	683,020
16	784,977
24	933,540

Fuente: Elaboración propia

Se observara al microscopio Leica la presencia del microencapsulado en el tracto digestivo de la Artemia luego se respalda con una prueba bioquímica.



**Figura 9.** Consumo por horas de los nauplios de Artemia por el enriquecedor a base de ensilado.

Fuente: Elaboración propia



**Figura 10.** Consumo por horas de los nauplios de Artemia por el enriquecedor a base de CSP.

Fuente: Elaboracion propia

Luego de realizar estas pruebas la dosis del enriquecedor final fue de:

- ✓ Ensilado de pescado: 1g/200 000 nauplios de Artemia
- ✓ Concentrado soluble de pescado: 1g/200 000 nauplios de Artemia
- ✓ Selco (producto comercial-control): 1g/300 000 nauplios de Artemia

### 3.5.2.- Enriquecimiento de la Artemia previo a la alimentación

#### 3.5.2.1.- Eclosión de quistes

**A.- Hidratación,** se pesan los quistes en una balanza METLER TOLEDO y se colocan en un balde con agua dulce por 4 horas. Esto se muestra en la figura 11.



**Figura 11.** Hidratación de quistes de Artemia.

Fuente: Elaboración propia

**B.- Descapsulación,** se prepara una solución de hipoclorito de sodio al 96% con una mezcla de agua dulce. Se tamiza el agua potable de los quistes de Artemia (figura 12). Se mezcla con los quistes

hidratados hasta esperar un cambio de coloración anaranjado sin dejar de agitar y luego filtrarlo para eliminar el cloro para proceder al lavado. Con la siguiente relación de por cada gramo de quiste se le añade 70 ml de cloro y 35 ml de agua potable. En la figura 12 se aprecia la descapsulación de los quistes de Artemia.



**Figura 12 (a) y (b).** Tamizado del agua potable y descapsulación de quistes de Artemia.

Fuente: Elaboración propia

**C.- Lavado,** Se lava con abundante agua dulce para eliminar los restos de hipoclorito de sodio en los quistes de Artemia, como se observa en la figura 13 a continuación.



**Figura 13.** Lavado de quistes de Artemia.

Fuente: Elaboración propia

Los quistes se trasvasan a un balde con agua de mar filtrada y esterilizada para luego vaciarlos al tanque para su eclosión, como se observa en la figura 14 a continuación.



**Figura 14.** Traslase de quistes de Artemia.

Fuente: Elaboración propia

**D.-Eclosión,** luego del lavado de los quistes decapsulados se trasvasan a unos tanques cilindrocónicos con abundante aireación a una temperatura de 27°C por un tiempo de 18h.



**Figura 15.** Sembrado de tanques para la eclosión de Artemia.

Fuente: Elaboración propia

### **3.5.2.2.- Enriquecimiento de Artemia**

Se empleara para el experimento será *Artemia franciscana* de la marca Salt Creek proveniente de California, EEUU, la cual corresponde geográficamente al Great Salt Lake VT 84104 (USA).

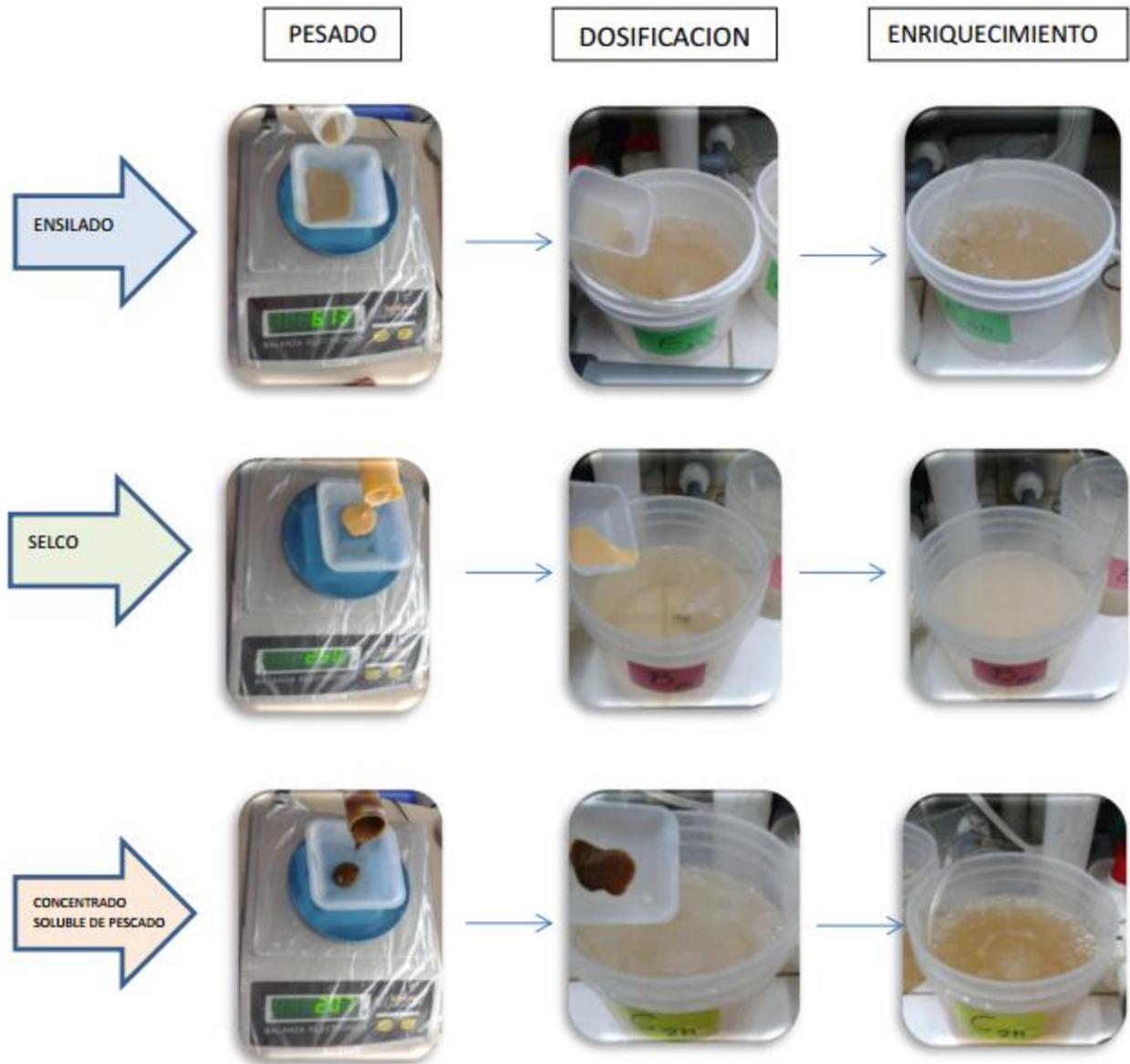
Diariamente se calculó la cantidad de quistes de Artemia. a poner a eclosionar y a enriquecer en días posteriores. Según el protocolo de alimentación del laboratorio de Cultivo de peces. Se realizaron varias alícuotas de 1ml para hacer un recuento de la cantidad de nauplios de Artemia eclosionada y así calcular la cantidad (el volumen) de nauplios de Artemia necesaria diariamente para cada tratamiento.

Una vez que se obtuvo la densidad de nauplios de Artemia, se realizó el enriquecimiento por triplicado de la siguiente manera:

1. Ensilado de pescado (E).....Tratamiento 1
2. Concentrado soluble de pescado (C)....Tratamiento 2
3. Producto comercial (B).....Control

Los nauplios recién eclosionados se obtuvieron por simple decantación y se transfirieron a 9 baldes plásticos de 5 L cada uno, provistos de agua de mar filtrada y esterilizada con rayos ultravioleta, con aireación constante y fueron enriquecidos durante 2, 5 y 7 horas a 19 °C de temperatura del agua y con una temperatura ambiente de 22°C.

Para determinar el volumen de inclusión del enriquecedor se determinó la densidad de nauplios de Artemia por mililitro, según las pruebas del tiempo y dosis de los enriquecedores por horas. Esto se observa en la siguiente figura 16.



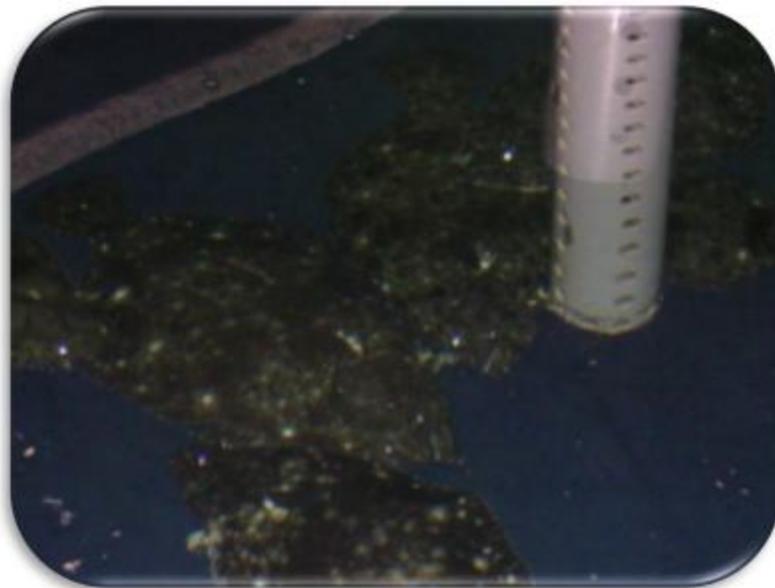
**Figura 16.** Proceso de enriquecimiento.

Fuente: Elaboración propia

Una vez enriquecidos, los nauplios se lavaron con agua de mar filtrada y esterilizada para eliminar exceso de grasa (emulsión / enriquecimiento) y posible carga bacteriana. Luego del lavado se procede a alimentar a las larvas de “lenguado”.

### 3.5.3.- Obtención y cultivo de larvas de “lenguado”

Las larvas de “lenguado” *P. adsperus* fueron obtenidas a partir del desove de reproductores (figura 17) mantenidos en las instalaciones del Laboratorio de Cultivo de peces del Instituto del Mar del Perú. Sede Callao. Se utilizaron larvas de “lenguado” *Paralichthys adsperus* de 15 a 38 días post eclosión (dph) se puede observar en la figura 18, a una densidad de 23 larvas/litro, en tanques de 100 L provistos de un sistema de recirculación de acuicultura (SRA).



**Figura 17.** Reproductores de lenguado *P. Asdpersus*

**Fuente:** IMARPE (2013)



**Figura 18 (a) y (b).** Larva de lenguado *P. Asdpersus* a los 15 y 38 dph

**Fuente:** IMARPE (2013)

El cultivo larvario se realizó en sistemas de recirculación en acuicultura (SRA), en tanques circulares de fibra de vidrio de 150 litros cada uno. Cada sistema consta de 5 tanques + 1 de bypass para controlar el volumen y amortiguar el ingreso de agua a los biofiltros, con un flujo de agua constante (0,5 L por minuto), las bombas de calor permiten mantener a una temperatura constante y homogénea en los tanques de cultivo, los sistemas de filtración biológica (biofiltros) y un esterilizador ultra violeta (UV) para el tratamiento del agua de mar.

El SRA que constara de 2 tanques de almacenamiento (tanques “pulmón”) de 0,70 m<sup>3</sup> de fibra de vidrio, 2 biofiltros que se observan en la figura 19, 2 bombas de calor M-DSHP8 DELTA STAR, 2 bombas de agua M-PM27 IWAKI, lámpara de esterilización ultra violeta (UV) en la figura 20, panel de control con luces indicadoras de operación del sistema,

botoneras de mando (arranque y parada), voltímetro para control de tensión energética y el control para sistema de iluminación lateral.



**Figura 19.** Biofiltros, conexiones, tanques “pulmón” del sistema de recirculación.

**Fuente:** IMARPE (2013)



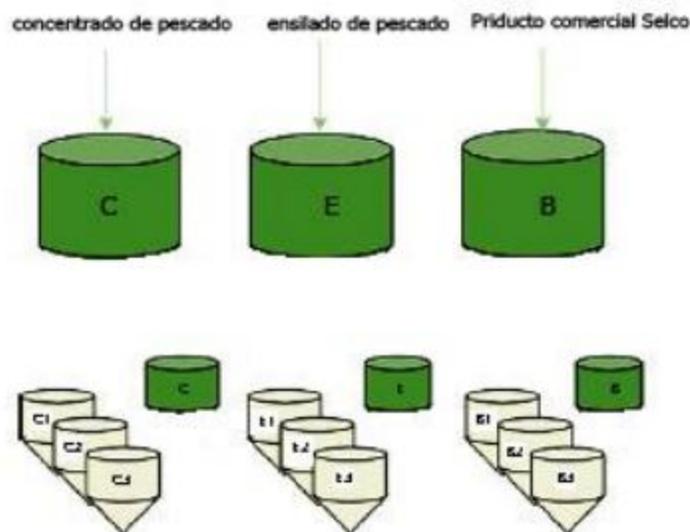
**Figura 20.** Cunos y lámpara de radiación ultravioleta del sistema de recirculación.

**Fuente:** IMARPE (2013)

### 3.5.3.1.-Protocolo de alimentación larvaria

El régimen alimentario utilizado para el cultivo larvario del “lenguado” es muy variado, habiendo diversas pautas de alimentación para el cultivo larvario de esta especie. Teniendo en cuenta las pautas de alimentación utilizadas por Cañavate *et al* (2006) y Villalta (2007) y teniendo en cuenta los estadios de desarrollo.

Los nauplios de *Artemia*, fueron utilizados como segunda presa en la secuencia de alimentación larvaria. Estos fueron añadidos a todos los tanques de cultivo a una densidad de 135 nauplios/ml desde el día 15 post eclosión hasta el día 38 post eclosión disminuyendo la densidad a 60 nauplios/ml (Manejo del laboratorio de Cultivo de Peces). La alimentación fue de 3 veces por diferentes tiempos de enriquecimiento (2, 5 y 7h).



**Figura 21.** Protocolo de alimentación en los tanques de cultivo de larvas de lenguado *P. adspersus*

**Fuente:** Elaboración propia

### **3.5.3.2.-Condiciones físico –químicas durante el cultivo**

Los parámetros ambientales que se analizaron fueron temperatura ambiental y del agua de los tanques de cultivo, pH, Oxígeno disuelto, amonio, nitrito, nitrato e intensidad de luz (lux). La toma de parámetros de calidad de agua fue diaria. Se utilizó un multiparámetro THERMO SCIENTIFIC.

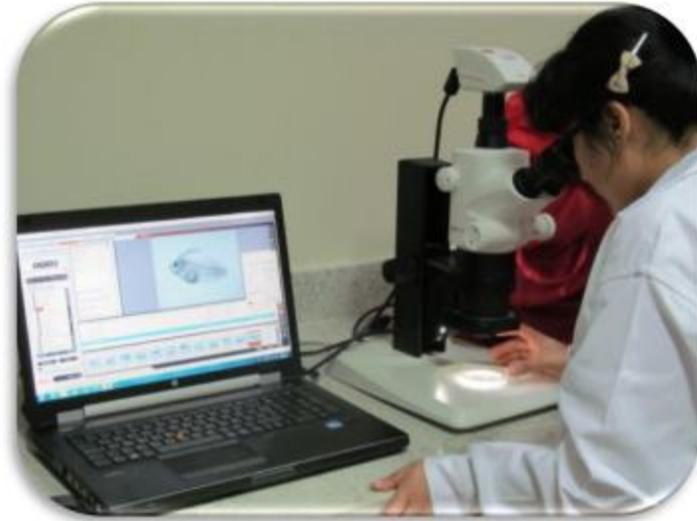
El fotoperiodo utilizado fue de 10:14 (desde las 7h de la mañana hasta las 17h). Además de las luces existentes en la sala del cultivo larvario, los tanques estaban iluminados con luces laterales en cada tanque. La intensidad de la luz en el centro de la superficie del agua de los tanques era de 1100 lux.

### **3.5.4.- Muestras y análisis**

#### **3.5.4.1.-Longitud y peso seco**

Al día 15 y 38 post eclosión se tomaron muestras de 30 larvas de cada uno de los tanques que se destinaron al análisis del peso seco, para estimar la longitud total se tomaron muestras interdiarias de larvas de “lenguado”.

La longitud estándar se realizó mediante un software de medición LAS v.4.3 y con una cámara digital Leica acoplada a un estereoscopio Leica. Con el software se puede calcular el tamaño de la larva para los monitoreos (figura 22).



**Figura 22.** Toma de longitud de las larvas del lenguado *P. adspersus*

Fuente: Elaboración propia

Para calcular el peso seco, las larvas se dispusieron en cubre objetos de vidrio previamente pesados. Seguidamente se colocaron los cubreobjetos con las larvas dentro de una estufa MENMERT de 20l de capacidad a 65°C durante 24h (Pepin, 1995). El peso seco se midió con una precisión de 1  $\mu\text{g}$  a con una balanza KERN ABJ. A continuación se muestra en la figura 23 el pesado de larvas de “lenguado”.



**Figura 23.** Pesado de larvas de lenguado *P. adspersus*

Fotos: Elaboración propia

#### **3.5.4.2.- Tasa específica de crecimiento**

La evaluación del crecimiento, al final de la experiencia se realizó un muestreo de 30 larvas de lenguado por tratamiento, registrando la longitud total (mm) con la ayuda del estereoscopio Leica. Los resultados de crecimiento fueron expresados como la tasa de crecimiento específico (T.C.E.) y se calculó de acuerdo a Ricker (1975), de la siguiente manera:

$$T.C.E. = \left( \frac{\ln(Lt_{final}) - \ln(Lt_{inicial})}{\Delta t} \right) \times 100$$

Donde:

T. C.E. : Tasa de crecimiento específico

$Lt_{inicial}$  : Longitud inicial (mm)

$Lt_{final}$  : Longitud final (mm)

$\Delta t$  : duración en días de la experiencia

### 3.5.4.3.- Sobrevivencia

La sobrevivencia se determinó al final de la experiencia, mediante el conteo de los individuos supervivientes en relación al número inicial introducido en cada tanque y teniendo en cuenta las muestras tomadas a lo largo del experimento.

Para hallar la sobrevivencia se calculó por la diferencia entre la cantidad final e inicial de ellas a los 24 días que duro el experimento, este se expresó en términos de porcentaje, utilizando la siguiente formula:

$$\% S = \left[ \frac{N_f}{N_i} \right] * 100$$

Donde:

%S : Porcentaje de sobrevivencia

$N_f$  : Número final de larvas

$N_i$  : Numero inicial de larvas

#### 3.5.4.4 Muestra

En el presente trabajo de investigación se utilizó el muestreo aleatorio simple, donde cada muestra aleatoria escogida para el monitoreo tenga igual probabilidad de ser seleccionada como parte de la muestra. Este muestreo de selección aleatoria, utiliza el azar como instrumento de selección, pudiéndose calcular de antemano la probabilidad de que cada elemento sea incluido en la muestra.

Este tipo de muestreo es el que alcanza mayor rigor científico, y se caracteriza porque se cumple el principio de la equiprobabilidad, según el cual todos los elementos de la población tienen la misma probabilidad de salir elegidos en una muestra.

Para la determinación de la muestra representativa se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{k^2 \times p \times q \times N}{(e^2 \times (N - 1)) + k^2 \times p \times q}$$

Dónde:

N= Total de la población

K = 1,962 (la seguridad es del 95%)

P = Proporción esperada (para este caso es 5% = 0,05)

q = 1 – p (en este caso es 1-0,05 = 95%)

e = 3% (Nivel de confianza)

n = muestra a determinar

#### **3.5.4.5-Análisis bioquímicos**

Los resultados bioquímicos se realizaron en el laboratorio de Análisis Instrumental del CIA Von Humboldt. Se llevaron a cabo pruebas de humedad a 90°C por 24h en la estufa MENMERTH, lípidos según Folch (1957), los ácidos grasos según Ken'ichi Ichihara & Yumeto Fukubayashi (2010) se evaluaron en el cromatógrafo VARIAN CP3800, carbohidratos según Dubois *et al* (1956) y proteínas según Lowry (1951) se evaluaron en el espectrofotómetro VARIAN 50 BIO. Se analizaron a las larvas antes y después del enriquecimiento y con los enriquecedores.

#### **3.5.4.6.- Análisis estadísticos**

Las variables de longitud de larvas de “lenguado” durante el desarrollo del experimento son representadas con su desviación estándar.

Se utilizó el ANOVA de una vía para determinar y validar las réplicas utilizadas en el estudio. Además se utilizó para determinar diferencias estadísticas significativas en la Tasa de crecimiento específico (T.C.E.). Todos los datos antes de ser analizados fueron sometidos al test de normalidad Kolmogorov-Smirnov, a fin de

cumplir con la premisa del ANOVA y determinar diferencias estadísticas entre los distintos tratamientos. Para realizar las comparaciones entre diferentes tasas de crecimiento se utilizó el siguiente ajuste en base a lo descrito por Zar (1999).

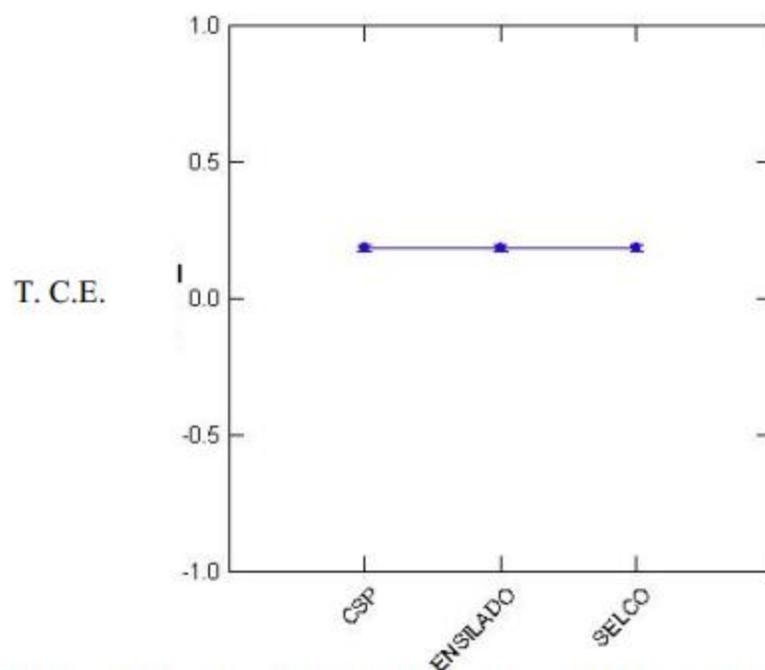
$$\text{DATO AJUSTADO} = \text{ARCSENO} \sqrt{\frac{\text{PORCENTAJE O TASA}}{100}}$$

## CAPITULO IV: RESULTADOS

De los resultados obtenidos se analizaron las réplicas de cada uno de los tratamientos mediante una ANOVA de una vía, no encontrándose diferencias significativas entre estas ( $p > 0,05$ ), eso permitió su validación.

### 4.1.- TASA ESPECÍFICA DE CRECIMIENTO (T.C.E.)

Los resultados del efecto de distintos enriquecedores sobre el crecimiento en longitud comparado con el producto Selco (Blanco o Control), no mostraron diferencias estadísticas significativas ( $p = 0,997$ ), donde la T.C.E. concentrado soluble de pescado (CSP) fue de 0.247 % presentando una ligera diferencia estadística entre el ensilado y el selco con 0.358 y 0.385 % respectivamente las cuales no mostraron diferencias significativas.



**Figura 24.** Tasa específica de crecimiento (T.C.E.) de larvas de “lenguado” *P. adspersus* alimentadas con Artemia enriquecidas con microencapsulado

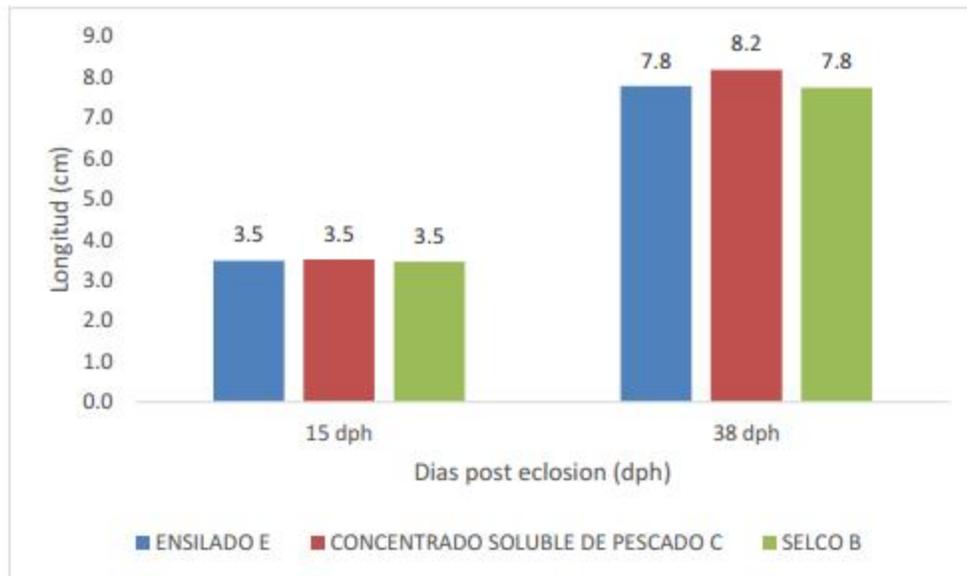
Los resultados obtenidos de la T.C.E. se muestran en la tabla 16 en donde se puede observar las tallas iniciales y finales de las larvas después del tratamiento de los enriquecedores.

**Tabla 16.** Comparación de la tasa específica de tratamiento (T.C.E.) de las larvas de “lenguado” *P. adsperus* alimentados con tres tratamientos de nauplios de Artemia enriquecido con microencapsulado de ensilado, concentrado soluble de pescado y comparados con el producto comercial selco.

TRAT.	Long. Inicial (mm)	Long. Final (mm)	T.C.E.	media	Desv. estándar (mm)	dato ajustado	VARIANZA
ENSILADO E	3.5	7.8	3.39	0.4	0.04	0.19	2.8747E-05
ENSILADO E2	3.5	7.4	3.09	0.5		0.18	
ENSILADO E3	3.5	8.1	3.56	0.4		0.19	
CONCENTRADO SOLUBLE DE PESCADO C	3.5	7.8	3.34	0.4	0.02	0.18	1.36563E-05
CONCENTRADO SOLUBLE DE PESCADO C2	3.5	8.4	3.66	0.4		0.19	
CONCENTRADO SOLUBLE DE PESCADO C3	3.5	8.3	3.57	0.4		0.19	
SELCO B	3.5	7.7	3.24	0.5	0.13	0.18	2.35853E-05
SELCO B2	3.5	7.7	3.24	0.5		0.18	
SELCO B3	3.3	7.9	3.61	0.4		0.19	

Fuente: Elaboración propia

En la figura 25 se muestran las comparaciones entre los promedios de la longitud inicial y final de los diferentes tratamientos el que fueron sometidas las larvas de “lenguado” *P. adsperus*, donde se aprecia que las larvas alimentadas con el centrado soluble de pescado (8,2 mm) obtuvieron un mayor crecimiento comparado con los otros dos tratamientos, ensilado (7,8 mm) y el Selco (7,8 mm).

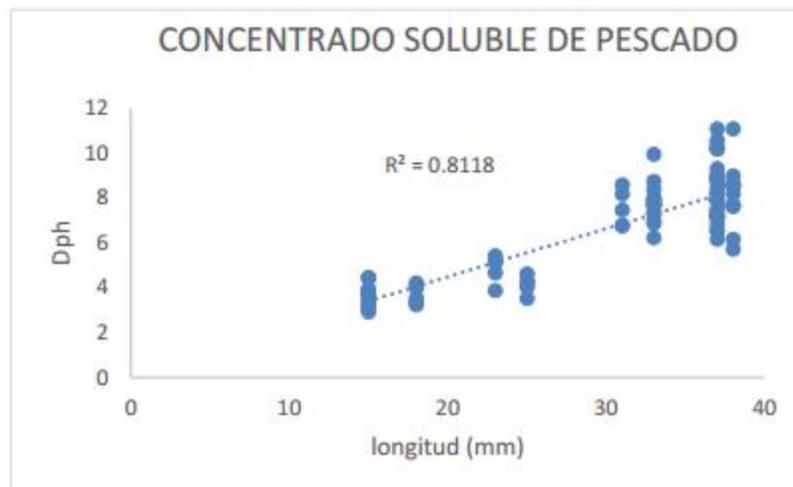


**Figura 25.** Comparación de crecimiento entre los diferentes tratamientos realizado a las larvas de lenguado *P.adpsersus*

Fuente: Elaboración propia

#### 4.1.1.- Crecimiento con el concentrado soluble de pescado

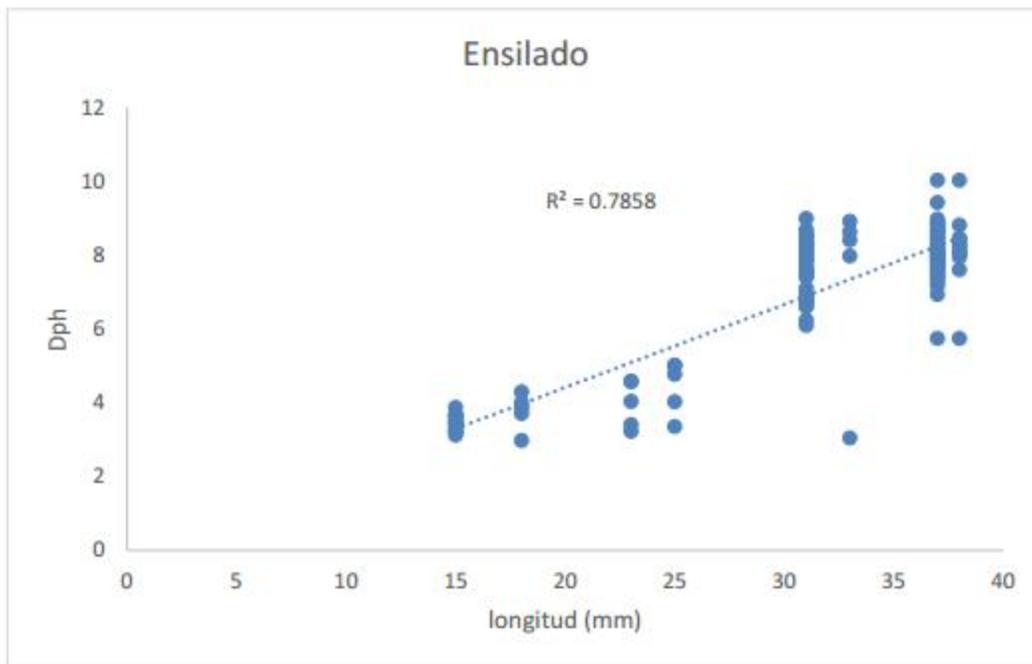
La figura 26 se tiene el crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el concentrado soluble de pescado (CSP) según los días que duro el experimento se tiene una tendencia exponencial de 0,8118.



**Figura 26** Crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el concentrado soluble de pescado (C) según la línea exponencial

#### 4.1.2.- Crecimiento con el ensilado

En la figura 27 se tiene el crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el ensilado (E) según los días que duro el experimento se tiene una tendencia exponencial de 0,7858.

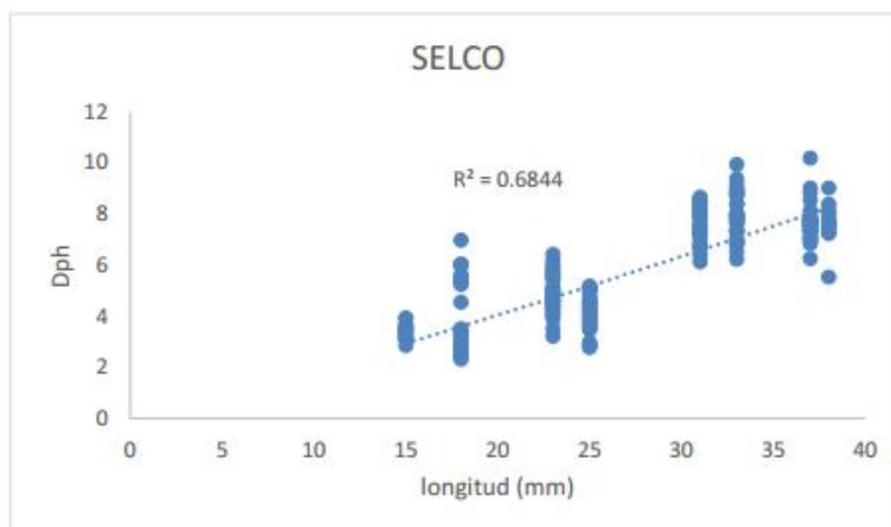


**Figura 27.** Crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el ensilado (E) según la línea exponencial

Fuente: Elaboración propia

#### 4.1.3.- Crecimiento con el Selco (B)

En la figura 26 se tiene el crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el Selco (B) según los días que duro el experimento en él se tiene una tendencia también exponencial de 0,6844.



**Figura 28.** Crecimiento de las larvas sometidas al enriquecimiento con el Selco (B) según la línea exponencial

Fuente: Elaboración propia

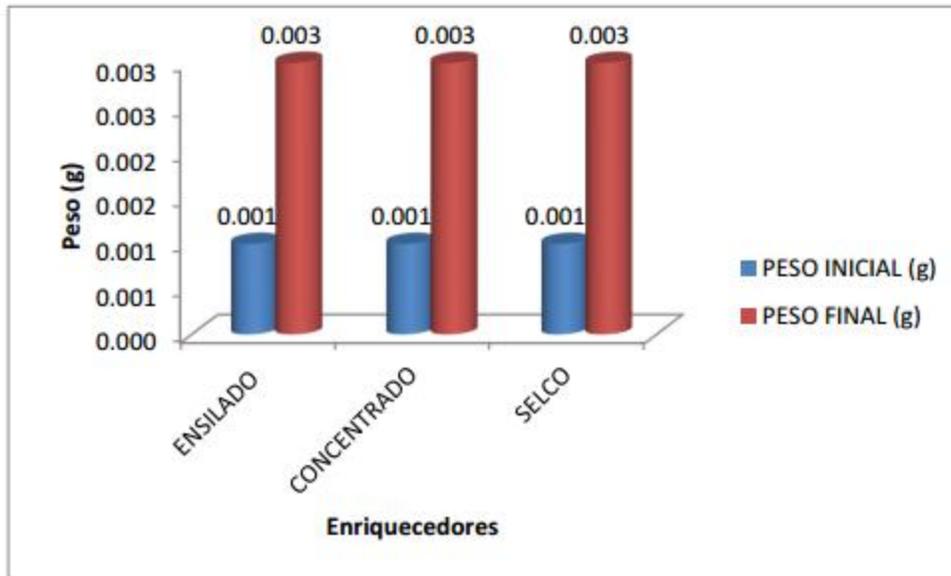
#### 4.2 PESO DE LAS LARVAS

En la figura 29 se muestra el incremento en peso de las larvas sometidas al tratamiento con el ensilado (E), el Concentrado soluble de pescado (C) y Selco (B). Al inicio y al final el peso fue de 0,001 g y 0,003g respectivamente. En los tres tratamientos al final del experimento no se obtuvieron diferencias significativas en las larvas de “lenguado” *P. adpersus* de forma individual (tabla 17).

**Tabla 17.** Peso de las larvas de lenguado *P. adpersus* después de ser enriquecidas con nauplios de Artemia

	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)
ENSILADO	0.001	0.003
CONCENTRADO	0.001	0.003
SELCO	0.001	0.003

Fuente: Elaboración propia

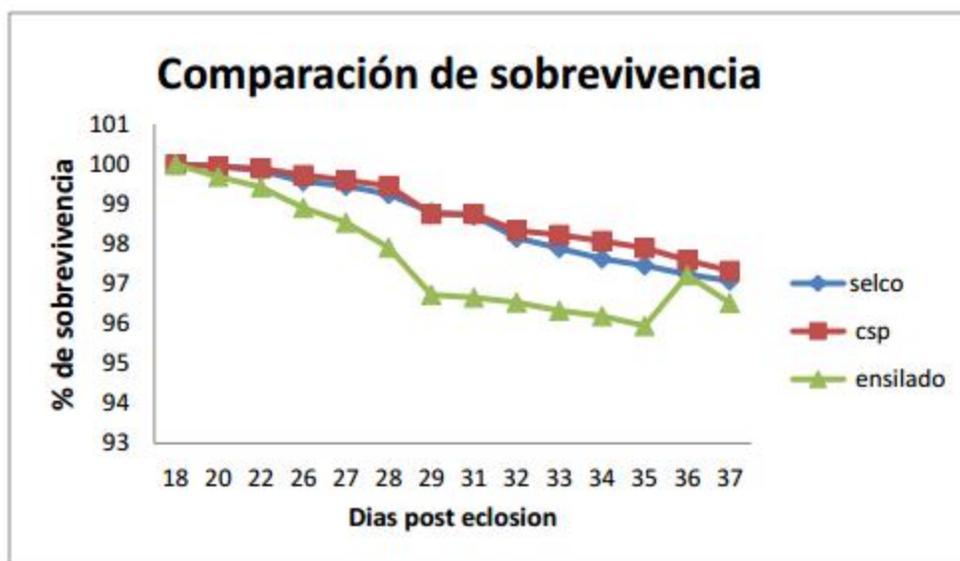


**Figura 29.** Incremento en peso de las larvas sometidas al tratamiento con el ensilado (E) el cual al inicio del experimento, el Concentrado soluble de pescado (C) y Selco (B)

Fuente: Elaboración propia

#### 4.3.- SOBREVIVENCIA LARVAL

En la figura 30 se muestra la sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el ensilado (E) y Selco (B) se obtuvo al final del experimento una sobrevivencia de 97% y con el Concentrado soluble de pescado (C) se obtuvo una mayor sobrevivencia con un 99% al final del experimento. En la tabla 18 y figura 31 se muestran la sobrevivencia obtenida por el concentrado soluble de pescado (C), la tabla 19 y figura 32 con el ensilado, la tabla 20 y figura 33 con el Selco (B).



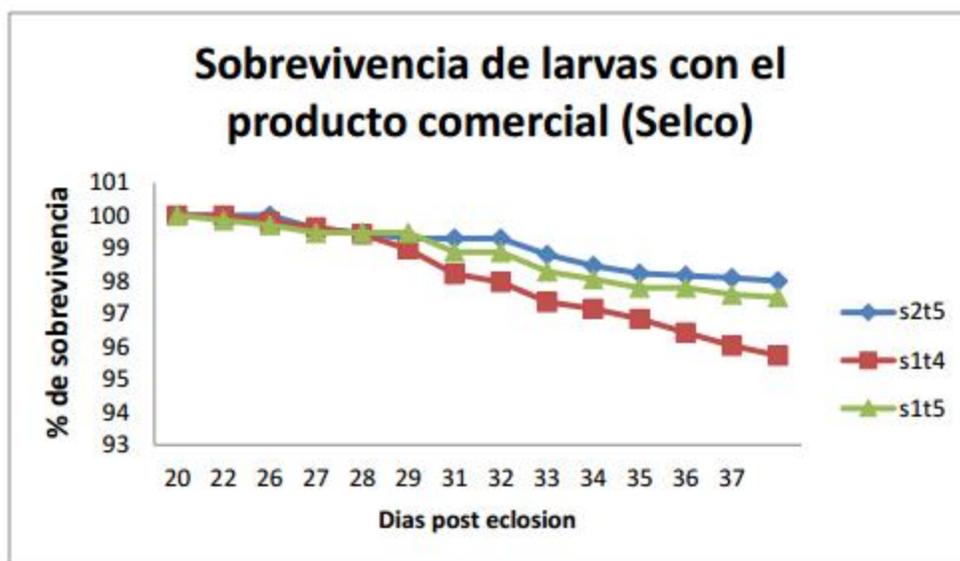
**Figura 30.** Sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el ensilado (E) el cual al inicio del experimento, el Concentrado soluble de pescado (C) y Selco (B)

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 18.** Sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Selco (B)

mortalidad diaria	sobrevivencia	B1	B2	B3	Prom. selco
0	3000.00	100	100	100	100
0	3000.00	100	100	100	100
0	3000.00	100	100	100	100
12	2988.00	100	100	99	100
4	2984.00	99	99	99	99
5	2979.00	99	99	99	99
0	2979.00	99	98	99	99
0	2979.00	99	98	99	99
15	2964.00	99	97	98	98
10	2954.00	98	97	98	98
7	2947.00	98	97	98	98
2	2945.00	98	96	98	97
2	2943.00	98	96	98	97
3	2940.00	98	96	98	97
PROMEDIO		99	98	99	97

Fuente: Elaboración propia



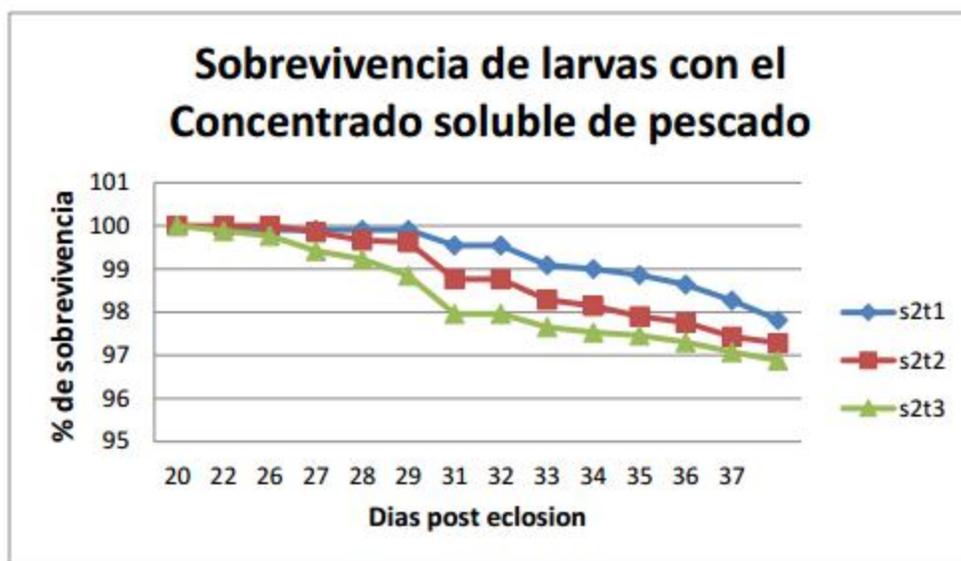
**Figura 31.** Sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el selco (B)

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 19.** Sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Concentrado soluble de pescado (CSP)

mortalidad diaria	sobrevivencia	C1	C2	C3	Prom. CSP
3	2597.00	100	100	100	100
3	2594.00	100	100	100	100
3	2591.00	100	100	100	100
9	2582.00	100	100	99	100
5	2577.00	100	100	99	100
10	2567.00	100	100	99	99
23	2544.00	100	99	98	99
0	2544.00	100	99	98	99
8	2536.00	99	98	98	98
3	2533.00	99	98	98	98
2	2531.00	99	98	97	98
4	2527.00	99	98	97	98
6	2521.00	98	97	97	98
5	2516.00	98	97	97	97
PROMEDIO		99	99	98	99

Fuente: Elaboración propia



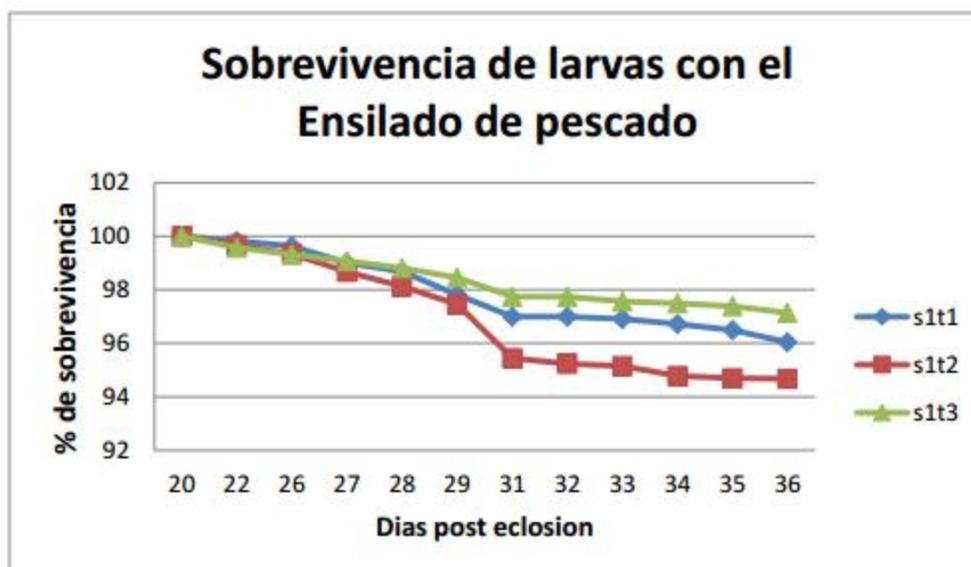
**Figura 32.** Sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Concentrado soluble de pescado (CSP)

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 20.** Sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Ensilado (E)

mortalidad diaria	sobrevivencia	E1	E2	E3	Prom. Ensilado
12	2788.00	100	100	100	100
12	2776.00	100	100	100	100
7	2769.00	100	99	99	99
7	2762.00	99	99	99	99
7	2755.00	99	98	99	99
10	2745.00	98	97	98	98
20	2725.00	97	95	98	97
0	2725.00	97	95	98	97
5	2720.00	97	95	98	97
2	2718.00	97	95	97	96
3	2715.00	96	95	97	96
7	2708.00	96	95	97	96
	POMEDIO	98	97	97	97

Fuente: Elaboración propia



**Figura 33.** Sobrevivencia de las larvas sometidas al tratamiento con el Ensilado (E)

Fuente: Elaboración propia

#### 4.4.- ANALISIS BIOQUIMICOS

##### 4.4.1. – Artemia enriquecida por horas

En la tabla 21 se muestran los resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos de los nauplios de Artemia enriquecidos por 2, 5, 7 horas con los tres tratamientos.

A las 2,5 y 7 h la Artemia con ensilado presenta una cantidad de 3,4 % de EPA que se mantiene constante y con 1,2 % de DHA con una relación de DHA/EPA casi nula de 0,03 a diferencia con la enriquecida con concentrado soluble de pescado que solo tiene 2,2 % en 2h llegando a 2,7 % en 7 h pero no presenta DHA en ningún tiempo de enriquecimiento. La Artemia enriquecida con el producto comercial Selco solo presentaron 2 % de EPA en 2 h hasta 2.1 % en 7h pero tuvo ausencia de DHA en 2,5 y 7 h.

**Tabla 21.** Resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos mayoritarios del nauplio de Artemia enriquecidos por 2,5 y 7 horas.

Ácidos grasos	art+e 2h	art+e 5h	art+e 7h	art+c 2h	art+c 5h	art+c 7h	art+b 2h	art+b 5h	art+b 7h
16:0	13.4%	13.1%	13.6%	12.7%	13.0%	14.0%	12.6%	12.5%	12.6%
18:0	4.7%	4.7%	4.9%	4.7%	5.0%	5.7%	4.6%	4.8%	4.9%
Saturados	5145.9	5416.7	3663.8	4976.2	3372.3	4157.4	4830.6	4449.4	3981.7
16:1n-7	3.2%	3.2%	3.3%	2.8%	2.8%	3.5%	2.7%	2.7%	2.7%
18:1n-9	22.1%	21.2%	21.8%	22.9%	23.6%	22.8%	23.0%	22.9%	22.9%
Monoinsaturados	8448.7	8754.5	5849.1	8933.6	6172.1	6842.4	8747.7	8056.7	7160.1
20:4n-6 (AA)	0.7%	0.6%	0.7%	0.6%	0.6%	0.7%	0.6%	0.6%	0.6%
20:5n-3 (EPA)	3.4%	3.4%	3.6%	2.2%	2.2%	2.7%	2.0%	2.1%	2.1%
22:6n-3 (DHA)	1.2%	1.1%	1.2%						
PUFA	12691.5	14009.8	8780.2	13325.1	9214.8	8952.7	13121.3	12063.9	10640.3
DHA/EPA	0.3	0.3	0.3						

Fuente: Elaboración propia

Donde:

Muestras	Código	Tiempo de enriquecimiento
Artemia + ensilado	Art+e+2h	2h
Artemia + Concentrado soluble de pescado	Art+c+2h	
Artemia + selco	Art+b+2h	
Artemia + ensilado	Art+e+5h	5h
Artemia + Concentrado soluble de pescado	Art+c+5h	
Artemia + selco	Art+b+5h	
Artemia + ensilado	Art+e+7h	7h
Artemia + Concentrado soluble de pescado	Art+c+7h	
Artemia + selco	Art+b+7h	

#### 4.4.2 –Enriquecedores

En la tabla 22 se muestran los resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos mayoritarios de los enriquecedores en base del ensilado (e), concentrado soluble de pescado (c) y Selco (b) por 24 días.

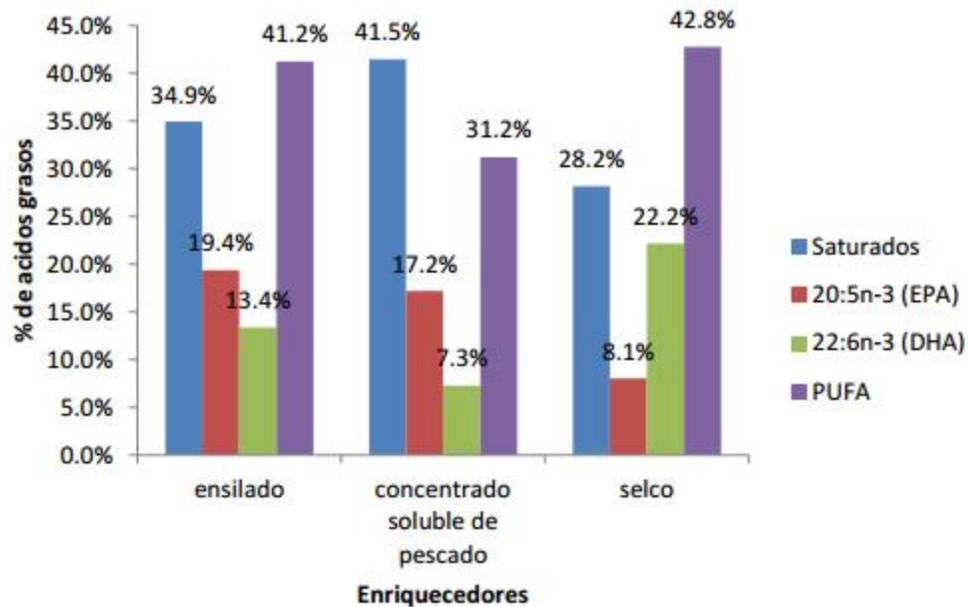
El enriquecedor en base del ensilado mostro la mayor cantidad de EPA con 19,4 % de todos los tratamientos y el porcentaje de DHA de 13.4 % con una relación DHA/EPA de 0,7. El enriquecedor en base del concentrado soluble de pescado fue el que obtuvo 17,2 % de EPA y la menor cantidad de DHA con 7,3 % de los tres tratamientos con una relación casi nula de DHA/EPA de 0.4 que fue la menor de todos como era de esperarse por su bajo contenido de lípidos en la preparación del microencapsulado. En enriquecedor en base del Selco obtuvo la menor cantidad de EPA con 8,1% de los tres tratamientos y una cantidad de DHA de 22,2 % que fue la mayor en los tres tratamientos aunque la relación de DHA/EPA fue de 2,8 que también fue la mayor de todos.

En la figura 34 se comparan el contenido de los diferentes niveles más importantes de ácido grasos contenidos de los diferentes enriquecedores utilizados para la alimentación de las larvas de “lenguado” *P. adspersus*.

**Tabla 22.** Resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos mayoritarios de los enriquecedores en base del ensilado (e), concentrado soluble de pescado (c) y Selco (b) por 24 días.

Ácidos grasos	Ensilado	Concentrado	Selco (B)
<b>16:0</b>	21.6%	25.6%	19.3%
<b>18:0</b>	4.5%	5.5%	4.9%
<b>Saturados</b>	7632.0	6113.4	5984.6
<b>16:1n-7</b>	9.2%	11.4%	5.5%
<b>18:1n-9</b>	11.4%	11.3%	20.7%
<b>Monoinsaturados</b>	5237.0	4033.7	6115.4
<b>20:4n-6 (AA)</b>	1.2%	1.1%	1.2%
<b>20:5n-3 (EPA)</b>	19.4%	17.2%	8.1%
<b>22:6n-3 (DHA)</b>	13.4%	7.3%	22.2%
<b>PUFA</b>	8934.6	4626.0	8937.5
<b>DHA/EPA</b>	0.7	0.4	2.8
<b>lípidos</b>	1.68%	2.86%	48.36%

Fuente: Elaboración propia



**Figura 34.** Contenido de los diferentes niveles más importantes de ácido grasos contenidos de los diferentes enriquecedores utilizados para la alimentación de las larvas de “lenguado” *P. adspersus*.

Fuente: Elaboración propia

#### 4.4.3 – Larvas enriquecidas

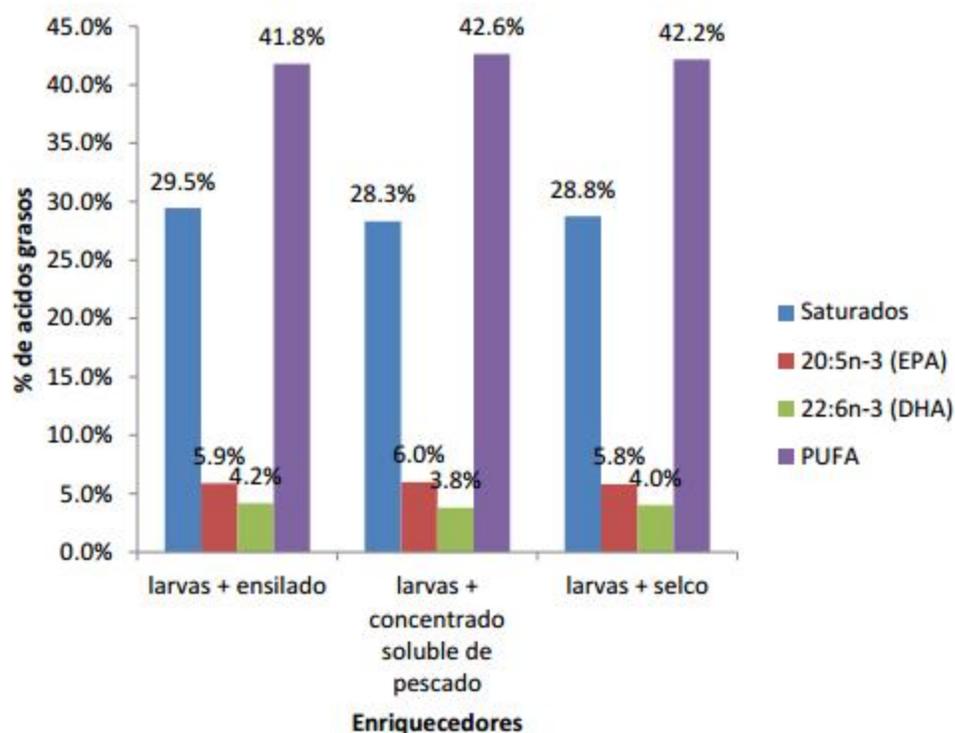
Las larvas de “lenguado” *P. adspersus* alimentadas con el enriquecedor en base a concentrado soluble de pescado tuvo la menor relación de EPA/DHA con 0,6 % y obtuvieron la menor cantidad de DHA de 3,8 % de todos los tratamientos, con un EPA de 6 % mayor que los obtenidos con el ensilado que fue de 5,9 % y este tratamiento tuvo el mayor contenido de DHA con un 4,2 % de todos con una relación EPA/DHA de 0,7 igual a las larvas alimentadas con el selco las cuales tuvieron un contenido de DHA de 4,0 % y 5,8 % de EPA, como se muestra en la tabla 23

**Tabla 23.** Resultados obtenidos del perfil de ácidos grasos mayoritarios de las larvas de “lenguado” *P. adspersus* enriquecidas con ensilado (e), concentrado soluble de pescado (c) y Selco (b) por 24 días.

Ácidos grasos	larvas 38dph+e	larvas 38dph+c	larvas 38dph+b
<b>16:0</b>	18.7%	18.1%	18.1%
<b>18:0</b>	9.7%	9.6%	9.5%
<b>Saturados</b>	4314	3914	3957
<b>16:1n-7</b>	1.9%	1.9%	1.9%
<b>18:1n-9</b>	20.0%	20.1%	20.2%
<b>Monoinsaturados</b>	4212.1	4017.5	4002.7
<b>20:4n-6 (AA)</b>	3.3%	3.3%	3.3%
<b>20:5n-3 (EPA)</b>	5.9%	6.0%	5.8%
<b>22:6n-3 (DHA)</b>	4.2%	3.8%	4.0%
<b>PUFA</b>	6121.7	5897.6	5803.1
<b>DHA/EPA</b>	0.7	0.6	0.7
<b>Lípidos</b>	10.06%	10.35%	10.47%
<b>Carbohidratos</b>	10.74%	6.94%	6.58%
<b>Proteínas</b>	68.87%	60.60%	62.29%
<b>Otros (minerales, fibra, vitaminas, etc)</b>	10.32%	22.11%	20.66%

Fuente: Elaboración propia

En la figura 35 se comparan el contenido de los diferentes niveles más importantes de ácido grasos contenidos en las larvas de *P. adspersus* que fueron sometidas a los diferentes tratamientos.



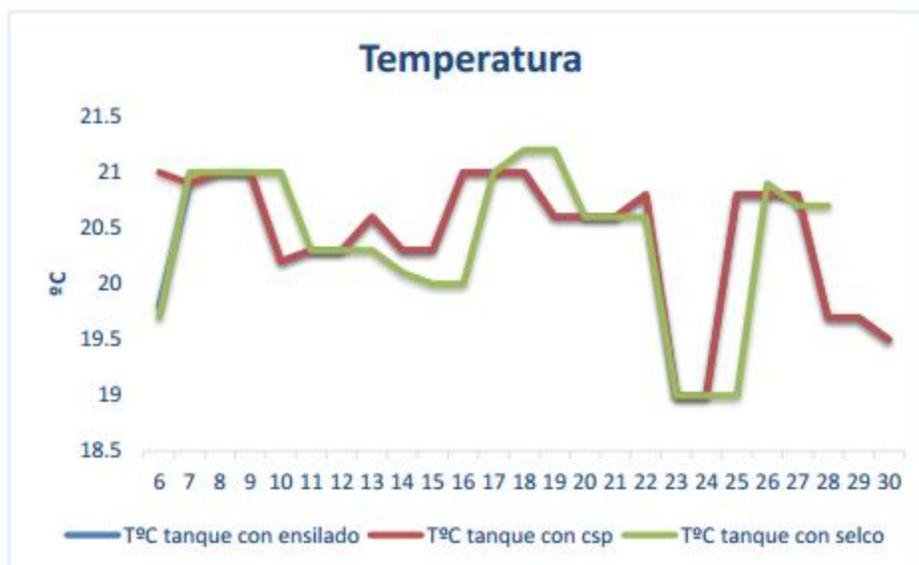
**Figura 35.** Contenido de los diferentes niveles más importantes de ácido grasos contenidos en las larvas de *P. adspersus* que fueron sometidas a las diferentes tratamientos.

Fuente: Elaboración propia

#### 4.5 CALIDAD DE AGUA

El cultivo de las larvas de “lenguado” *P.adspersus* se llevó a cabo en sistemas de recirculación donde se monitoreo los parámetros de calidad de agua, obteniendo los valores promedios de temperatura 21°C, pH (7.5), oxígeno disuelto en 7,6 ppm, intensidad luminosa (lux) de 1000, el nitrito se mantuvo en 0,165 ppm, el nitrato en 1,1 ppm y el amonio en 0,005 ppm en los tanques de cultivos. Los niveles de calidad de agua presentan un comportamiento

constante y uniforme durante los 24 días que duro el tratamiento. Como se puede apreciar en las figuras 36,37, 38 y 39.



**Figura 36.** Comparación de la temperatura °C en los tanque de cultivo de las larvas de *P. adspersus* en los sistemas de recirculación durante los 24 días  
Fuente: Elaboración propia

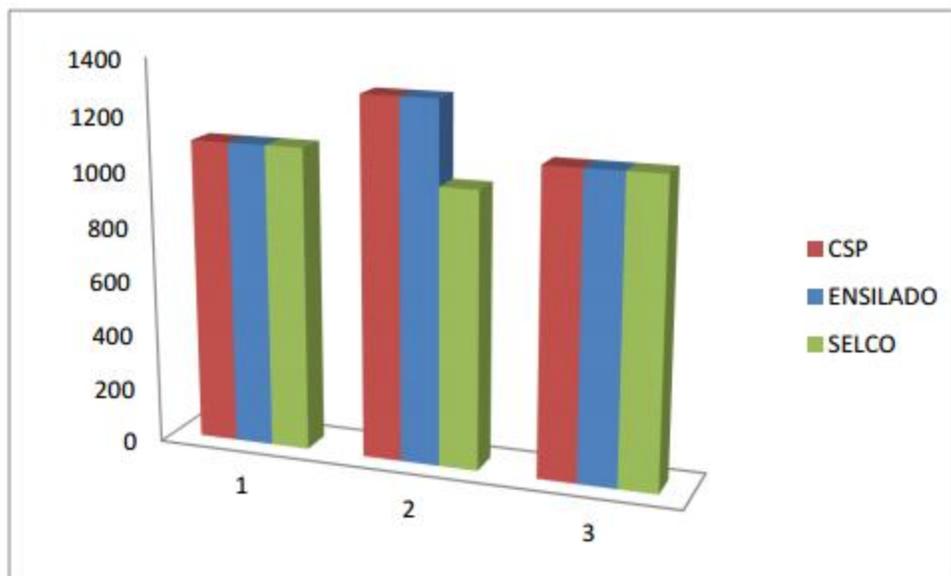


**Figura 37.** Comparación del pH en los tanque de cultivo de las larvas de *P. adspersus* en el sistema de recirculación durante los 24 días



**Figura 38.** Comparación del oxígeno mg/l en los tanque de cultivo de las larvas de *P. adspersus* en el sistema de recirculación durante los 24 días

Fuente: Elaboración propia



**Figura 39.** Comparación de la cantidad de iluminación (lux) en los tanque de cultivo de las larvas de *P. adspersus* en el sistema de recirculación durante los 24 días

Fuente: Elaboración propia

#### **4.6.- Costos**

En cuanto al costo de elaboración los enriquecedores a base de ingredientes nacionales obtuvieron igual o mejor resultado que el producto importado (Selco) y considerando el costo final de preparación para los enriquecedores fue de 37 soles por 1L de ensilado y 32 nuevos soles para 1L del concentrado soluble de pescado comparado con los \$ 90 (250.2 nuevos soles al cambio de 2.78) se da la opción de poder utilizarlos como sustituto a este.

## DISCUSIONES

Se demostró que la *Artemia* asimila el microencapsulado elaborado a base del ensilado de pescado y concentrado soluble de pescado, se tomaron en cuenta los requerimientos mínimos que necesitan las larvas de peces (Rodríguez, 2010). Por lo general, en la formulación de alimentos inertes para larvas se utilizan niveles elevados de proteínas, entre 55-60 % en base seca (Lazo, 2000). En este caso los nauplios de *Artemia* fueron alimentados con insumos de 68,63 % de proteína para el concentrado soluble de pescado, 48% para el ensilado y el contenido de proteínas para el Selco (producto control) es de 40% mucho menor que los ingredientes que se está utilizando en la preparación de los enriquecedores.

Los resultados de la tasa de crecimiento específico que se observaron en las larvas de “lenguado” *P. adspersus* no presentan diferencias significativas entre las larvas alimentadas con el microencapsulado a base de ensilado (0,18 %/día) con la del grupo control porque el valor fue igual mientras que las larvas alimentadas con el concentrado soluble de pescado obtuvo 0,19 %/día de la tasa de crecimiento. Por lo tanto las larvas que tuvieron mayor T.C.E por una mínima diferencia fueron las que estuvieron sometidas al concentrado soluble de pescado.

El crecimiento de las larvas de lenguado *P. adspersus* presentaron un aumento de talla en el día 31 post eclosión en los tres tratamientos, sin embargo comparando las larvas que fueron sometidas al ensilado de pescado con el Selco tuvieron una talla final de 7,8 mm con una diferencia de 0,4 mm comparados con el concentrado soluble de pescado que obtuvo el mayor crecimiento con 7,2 mm porque en su composición química posee una mayor porcentaje de proteínas y aminoácidos que son necesarios

para el crecimiento de la larva (Rodríguez, 2009) las proteínas van a conformar los tejidos durante el crecimiento y que suplirán además la energía requerida para el metabolismo (Ronnestad y cols., 2000; Lazo, 2000; García-Ortega, 2000).

Con respecto al peso todos los tratamientos se mantuvieron constantes, no hubo diferencias al inicio ni al final. Las larvas sometidas a estos tratamientos obtuvieron el mismo peso final.

La sobrevivencia o sobrevivencia las larvas de lenguado *P. adspersus* que fueron alimentadas con nauplios de Artemia. enriquecidos con el concentrado soluble de pescado obtuvo la mayor sobrevivencia con un 99 % con una relación DHA/EPA de 0,6 a diferencia de las que fueron alimentadas con el ensilado con y el grupo control que es el Selco con una relación de 0,7 ambos obtuvieron un 97 % de sobrevivencia. Estos resultados son mayores a los obtenidos por Zamora (2010) (33 %) obtenidos con larvas de lenguado alimentadas con diferentes proporciones de EPA/DHA.

Los resultados del análisis bioquímico muestran que la Artemia que fueron enriquecidas con el ensilado presentan contenido de ácidos grasos 20:5n-3 (EPA) y 22:6n-3 (DHA) con una relación EPA/DHA de 0,3 durante el tiempo que duro el enriquecimiento (2, 5 y 7 h) mientras que los nauplios de Artemia que fueron alimentados con el concentrado soluble de pescado no obtuvo niveles de DHA solamente una cantidad de 2,2 % de EPA durante el tiempo de enriquecimiento (2, 5 y 7 h) y comparando con el producto comercial Selco este tampoco contiene DHA durante las 7 h que dura el enriquecimiento. Torrentera *et al* (1989) recomienda un tiempo mínimo no menor de 6 horas, como tiempo óptimo refieren un máximo de

hasta 72 horas, siendo este valor muy prolongado si se usan estos hidrolizados de pescado. Lo que podría deberse a la naturaleza altamente proteica de estos productos, que les confiere poder degradante, sobre todo del producto comercial que fue empleado en el tratamiento B, corroborando lo planteado por Hernández (2009), donde menciona que el tiempo depende de una serie de factores como el tipo de emulsión y la dosis que se emplee. Se han señalado como los ácidos grasos de mayor importancia a considerar en un estudio de requerimientos nutricionales para larvas de peces, a los PUFAs de la serie n-3 y n-6, ácido Docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3), ácido Eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) y ácido Araquidónico (20:4 n-6) (Lazo, 2000) para mejorar los requerimientos de las larvas a la hora de formar sus tejidos nerviosos y visuales contribuyendo a una mayor captura de presas y un mayor crecimiento. En cuanto al contenido de EPA/DHA durante el tiempo de enriquecimiento el enriquecedor elaborado en base al ensilado es el único que posee estos ácidos grasos con 0,3% desde el inicio hasta el final del enriquecimiento (2, 5 y 7 h).

Con respecto a los tratamientos con el ensilado y el concentrado soluble de pescado ha quedado demostrado, en este estudio, que si pueden ser empleados como enriquecedores en *Artemia*, aunque teniendo en cuenta la dosis proporcionada de enriquecedor, siendo la relación para los dos de 1g/200000 *Artemias*/ml, equivalentes a los 2,5 g de fuente enriquecedora por cada millón de individuos sugerido por Torrentera (1989). Así como también diversos parámetros de calidad de agua, aireación, estabilidad del producto, tiempo de enriquecimiento corroborando lo descrito por Soorgelos *et al.*, 1986.

Los parámetros de calidad de agua en el cultivo larvario se encuentra dentro de los requeridos por la especie, la temperatura se mantuvo en 21°C. Otros experimentos relacionados con la determinación de la temperatura óptima para el cultivo larval en un rango entre 16 y 23°C (Orellana, 2002).

## CONCLUSIONES

- ✓ En el presente estudio se logró elaborar enriquecedores en base de sub productos de anchoveta para la formación de microencapsulado que fueros dosificados a nauplios de Artemia recién eclosionados para alimentar a larvas de lenguado *P. adspersus* de 15 hasta 38 dpH durando un total de 24 días el estudio. Los enriquecedores se elaboraron a través de la técnica del microencapsulado de coacervación simple, se observaron al microscopio la formación de este y se comparó la forma de este según los tipos de microcápsulas.
- ✓ Se determinó el tiempo óptimo de enriquecimiento, primero observado la presencia del microencapsulado en el tracto digestivo de la Artemia y se comprobó su presencia con el análisis bioquímico.
- ✓ Resulto útil la fórmula de Shirota (1970) para determinar el tamaño de la boca de la larva del lenguado para relacionarlo con el tamaño de los nauplios de Artemia que son el alimento de las larvas, se determinó el tiempo en 2,5 y 7h los cuales se mantuvieron los nauplios enriquecidos.
- ✓ Las larvas enriquecidas con el ensilado comparado con el Selco obtuvieron el mismo resultado en el peso y talla mientras que las alimentadas con el concentrado obtuvo un mayor crecimiento.
- ✓ Teniendo en cuenta el costo de los enriquecedores elaborados comparándolo con el Selco, el preparado con el concentrado soluble de pescado fue el más barato, siguiéndole el ensilado.
- ✓ El concentrado soluble de pescado se obtuvo la mejor sobrevivencia en las larvas de “lenguado”.

## RECOMENDACIONES

- Preparar el microencapsulado bajo una tecnología que permita elaborar un producto estandarizado.
- Continuar la investigación sobre el cultivo larval de peces implementando nuevas tecnologías como el uso de los probióticos, inmunoestimulantes y atractantes.
- Continuar con los estudios utilizando el Ensilado y/o hidrolizados de pescado en otras especies.
- Utilizar el Concentrado soluble de pescado aumentándole EPA en la formulación de este.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Acuña, E. & L. Cid. 1995. *On the ecology of two sympatric flounder of the genus *Paralichthys* in the Bay of Coquimbo*. Neth. J. Sea Res., 34(1/2): 1-11 Chile.
2. Ahumada, R. & L. Chuecas. 1979. *Algunas características hidrográficas de la bahía de Concepción (36°40'S; 73°03'W) y áreas adyacentes*, Gayana, Misc. 56 pp Chile.
3. Arshady R (1993) *Microcapsules for food*. Journal of Microencapsulation 10:413 - 435. Estados Unidos.
4. Anaya C., Cid H & Villa J (1995) *Microencapsulado de una emulsión múltiple de colorante de betabel en Oleorresina de flor de cempasúchil y su bioasimilación en *Penaeus Vannamei**. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México.
5. Ángeles, B. & J. Mendo. 2005. *Crecimiento, fecundidad y diferenciación sexual del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner) de la costa central del Perú*. Ecol. Apl., 4(1-2): 105-112
6. Brintrup E., Castro R., Román P. & Contreras F (2012) *Alimento micro encapsulado aumenta la sobrevivencia larval en *Odontesthes regia* (Humboldt 1821)* Revista científica de la Sociedad Española de Acuicultura - AquaTIC, nº 36, pp. 11-20. Año 2012. Chile.
7. Cabana K (2006) *Evaluación de los efectos del concentrado soluble de pescado en la sobrevivencia y crecimiento de tilapia roja (*Oreochromis sp*)*. Universidad Nacional Federico Villarreal. Perú.
8. Caballero, K (2013) *Efecto de dos tipos de hidrolizado de pescado en el enriquecimiento de nauplios de *Artemia franciscana**. Universidad Nacional Federico Villarreal. Perú.

9. Casas E., García J., Rivera D. & García M (2010) *Evaluación de la obtención de nanoencapsulados para uso alimentario*. Ministerio de Ciencia e Innovación. España.
10. Castelló F (1993) *Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Publicación de la universidad de Barcelona. España.
11. Castro T., De Lara R., Castro G., Castro M. & Malpica A (2003) *Alimento vivo en acuicultura*. Departamento El Hombre y su Ambiente. División de CBS. UAM Unidad Xochimilco. México.
12. Castro M (2005) *Incorporación de tres antibióticos en nauplios, metanauplios, juveniles y adultos de Artemia franciscana (Kellog, 1906) para inhibir el crecimiento de la bacteria Aeromonas hydrophila* Universidad autónoma metropolitana Unidad Iztapalapa. México.
13. Chirichigno N. & Vélez J (1974) *Clave para identificar los peces marinos del Perú Volumen 3* de Publicación especial del instituto del mar del Perú. Perú.
14. Ciencias Marinas de Andalucía - ICMAN-CSIC (2003) *Microcápsulas para larvas de peces*. España.
15. Civera R, Alvarez C, Moyano F (2004) *Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos*. VII memorias del VII simposium internacional de nutrición acuícola. Hermosillo, Sonora, México.
16. Clawson J. & Lovell R (1992) Improvement of nutritional value of Artemia for hybrid striped bass/White bass (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*) larvae by n-3 HUFA enrichment of nauplii with menhaden oil. *Aquaculture* 108: 125-134.
17. Clemente L., Diaz C., Candela J., Nuñez J. y Montoya I (2009) *Cultivo del nemátodo Panagrellus redivivus (Goodey, 1945) en medio enriquecido con hidrolizado de pescado*. Informe final de trabajo de investigación. Lima: UNFV. Inédito.

18. Copeman L, Parrish C, Brown J, Harel M (2002) Effects of Docosahexaenoic, Eicosapentaenoic, and Arachidonic Acids on the Early Growth, Survival, Lipid Composition and Pigmentation of Yellowtail Flounder (*Limanda ferruginea*): a Live Food Enrichment Experiment. *Aquaculture* 2002; 210:285-304.
19. Dantagnan P. & Lazo J (2007) *Alimentación y nutrición durante el crecimiento larvario en peces*. Universidad de Católica de Temuco. Chile.
20. Estevez A., McEvoy L., Bell J. & Sargent J (1996) *Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot *Scophthalmus maximus* larvae fed live-prey enriched in Arachidonic and Eicosapentaenoic acids*. Centro de Experimentación en Acuicultura, Xunta de Galicia, 15960 Riñeira. España.
21. Fernandez J (2013) *Acuicultura en Galicia: balance de 25 años y perspectivas para los siguientes 25*. Asociación Foro Recursos Marinos y Acuicultura de las Rías Gallegas. España.
22. Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero - FONDEPES (2007). *Manual "Cultivo de Turbo"*. Lima: Sub-Dirección de Asistencia Técnica y Transferencia Tecnológica. Perú.
23. Food and Agriculture Organization - FAO (2009) *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2009*. Roma.
24. Food and Agriculture Organization - FAO (2012) *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012*. Roma.
25. Food and Agriculture Organization - FAO (2012) *Programa nacional de ciencia, desarrollo tecnológico e innovación en acuicultura (c+dt+i) 2013 - 2021* Despacho viceministerial de pesquería - ministerio de la producción. dirección general de extracción y producción pesquera para consumo humano directo – dirección de acuicultura Perú.

26. Galli O. & Miguel F (2007) *Sistemas de recirculación de tratamiento de agua*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Argentina.
27. Garcia-Ortega A (2000) *Valor nutricional de los quistes de Artemia y su uso como fuente de proteína en dietas artificiales para larvas de peces*. Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19 al 22 de Noviembre del 2000. Mérida, Yucatán, México.
28. Gómez B., Cabanillas J., Páez S., Roque A (2001) Standardization of the bioencapsulation of enrofloxacin and oxytetracycline in *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906). *Aquaculture* 196: 1-12.
29. Hernández A (2009) *Efecto del enriquecimiento de Artemia franciscana con diferentes proporciones de Omega-3 DHA/EPA sobre el crecimiento de juveniles de pez blanco Menidia estor*. Tesis presentada para optar el grado de Maestría en Ciencia Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Biología. México
30. Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía ICMAN-CSIC (2003) *Microcápsulas para larvas de peces*. Línea: Fisiología y Cultivo de Larvas de Peces. España Revisado <http://www.icman.csic.es/departamentos.biologia.marina.acuicultura.php>
31. Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (2007) *Fichas técnicas de producción de subproductos de anchoveta*. Perú.
32. Izquierdo, M (1996) Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition* 2, 183 – 191.
33. Junta Nacional Asesoría de Cultivos Marinos- JACUMAR (2010) *Lenguado Solea solea, Solea vulgaris y Solea senegalensis* Ministerio del medio ambiente y cultivo marino. España

34. Kong I., Clarke M. & Escribano R (1995) *Alimentación de Paralichthys adspersus (Steindachner, 1867) en la zona norte de Chile (Osteichthyes: Paralichthyidae)*. Rev. Biol. Mar., Valparaíso, 30(1): 29-44. Chile.
35. Lazo J (2000) *Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos*. In: Cruz S, Ricque-Marie L, Tapia D, Olvera M, Civera R, (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, México.
36. Meza O. & Figueroa G (2002) *Crecimiento, Supervivencia y Desarrollo mandibular en Larvas del Pez Blanco Chirostom humboldtianum (Valenciennes) (Atheriniformes: Atherinopsidae), bajo condiciones de Laboratorio*. CIVA, 2002: 606-616. México
37. Monroig O (2006) *Diseño y optimización de liposomas para su uso como sistema de suministro de nutrientes a larvas de peces marinos*. Memoria presentada para optar el grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Valencia. España
38. Morales S (2012) *Cultivo de Lengüado (Paralichthys adspersus) en acuario*. Proyecto en investigación del Instituto de Educación superior tecnológico público de Huarmey. Perú.
39. Muñoz, M (2007) *Alimento vivo para peces*. Revista de la Facultad de Ciencias básicas. Universidad nacional de Colombia. Colombia.
40. Pepin P (1995) *An analysis of the length-weight relationship of larval fish. Limitations of the general allometric model*. Department of fisheries and Oceans. Canada.
41. Rahman M (2003) *Manual de Conservación de Alimentos*. Zaragoza: Editorial Acribia. España.

42. Rebaza J (2014) *Concentrado soluble de pescado*. Entrevista en el periódico la primera. Emitido el 04 de Enero del 2014. Perú.
43. Rivera C. & Botero M (2009) *Alimento vivo enriquecido con ácidos grasos para el desarrollo larvario de peces* Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, vol. 22, núm. 4, octubre-diciembre, 2009, pp. 607-618, Universidad de Antioquia Colombia.
44. Rodríguez A (2009) *Avances y perspectivas en microdietas para larvas de peces* Universidad Católica de Temuco, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Acuicultura Chile.
45. Ronnestad I., Conceicao L., Aragao C. & Dinis M (2000). *Free Aminoacids are Absorbed Faster and Assimilated More Efficiently than Protein in Postlarval Senegal Sole (Solea senegalensis)*. Journal of Nutrition (2000) 130: 2809-2812. Estados unidos.
46. Quispe D., Matos A. & Quispe S (2011) *Microencapsulación de aceites y su aplicación en la industria de alimentos*. I congreso nacional de alimentación Perú.
47. Sáenz R., Oña C., Alarcón F., Martínez M., Díaz M. & Moyano F (2005) *Crecimiento y enzimas digestivas de larvas de Solea senegalensis (Kaup, 1858) alimentadas con piensos comerciales* .Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 21 (1-4). 2005: 105-113 Boletín. Instituto español de oceanografía issn: 0074-0195.España
48. Samamé M. & Castañeda J (1999) *Biología y Pesquería del lenguado Paralichthys adspersus con especial referencia al área norte del litoral peruano, departamento de Lambayeque*. Instituto del Mar del Perú boletín N° 48 pp 15-48 Perú
49. Sánchez M., Ortiz J., Cárdenas S. & Sarasquete C (2005) *Organogénesis larvaria de la hurta, Pagrus auriga: aproximación histológica e histoquímica del tracto digestivo*. En: Libro de Resúmenes del X Congreso Nacional de Acuicultura, Gandía (Valencia). 2005. Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia, p. 426-427. España.

50. Sanguansri L. & Augustin M. 2007. *Microencapsulation and delivery of omega-3 fatty acids*. In J. Shi (Ed.), *Functional food ingredients and nutraceuticals*. Estados Unidos.
51. Sakamoto M., Holland D., Jones D (1982) Modification of the nutritional composition of *Artemia* by incorporation of polyunsaturated fatty acids using micro-encapsulated diets. *Aquaculture* 28: 311-320. Estados Unidos.
52. Silva, A. 1999. *Effect of the microalga Isochrysis galbana on the early larval culture of Paralichthys adspersus*. *Cienc. Mar.*, 25: 267-276.
53. Silva, A. 2001. Advance in the culture research of small-eye flounder, *Paralichthys microps*, and Chilean flounder *P. adspersus* in Chile. *J. Appl. Aquaculture.*, 11(1/2): 147-164.
54. Silva A. & Oliva M. (2010) Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*) *Revista Lat. Am. J. Aquaculture. Res.*, 38(3): 377-386. Chile.
55. Schrehardt, A (1987). *A scanning electron-microscope study of the post-embryonic development of Artemia*. En: Sorgeloos, P., Bengston, D.A., Declair, W., Jaspers, E (Eds.), *Proc. 2nd International Symposium on The Brine Shrimp Artemia*. Universa Press, Wetteren, 1, 5-32. Bélgica.
56. Smith G., Ritar A., Phleger .F, Nelson M., Mooney B., Nichols P. & Hart P (2002) Changes in gut content and composition of juvenile *Artemia* after oil enrichment and during starvation. *Aquaculture* 208: 137-158. Estados Unidos.
57. Smith J, Charter E. 2010. *Functional Food Product Development*. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd. 505 p. Reino Unido.
58. Sorgeloos P., Lavens P., Léger P., Tackaert P. & Versichele W (1986) *Manual for the culture and use of brine shrimp Artemia in aquaculture*. Manual prepared for the Belgian Administration for Development Cooperation and the Food and Agriculture

- Organization of the United Nations. Artemia Reference Center. Faculty of Agriculture, State University of Ghent, Belgium.
59. López O (2010). *Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión*. Revista Cubana de Farmacia. 44 (3): 381-389. Cuba.
  60. Llontop C (2005) *Elaboración de Microencapsulado*. Clase de Nutrición acuática. Facultad de pesquería y Ciencias Alimentarias. Universidad Nacional Federico Villarreal. Perú.
  61. Llontop C., Muñoz M., Tello A. & Ramos V (2013) *Efecto del concentrado soluble de pescado en la sobrevivencia y crecimiento de alevines de carpa (Cyprinus carpio)* Trabajo de Investigación Facultad de Pesquería y Ciencias Alimentarias. Universidad Nacional Federico Villarreal. Perú.
  62. Prieto M., Castaño F., Sierra J., Logato P. & Botero J (2006) *Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: Copépodos y Mesocosmos*. Universidad de Córdoba Montería. Colombia.
  63. Ronnestad, I (2002) *Control and efficiency of digestive function of marin fish larvae*.  
In Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N (Eds.). Avances en Nutrición acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3-6 Septiembre. Cancún, Quintana Roo, México.
  64. Torrentera L. & Tacon A (1989) *Producción de Alimento vivo y su importancia en la acuicultura*. Programa cooperativo gubernamental. FAO. Italia.
  65. Van Stappen G (1996) *Introduction, biology and ecology of Artemia*. En: P. Lavens & P. Soorgeloos (Eds). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries technical paper. : 79-251.
  66. Vásquez E., Fernández-Pato, Martínez-Tapia C., Blanco G. & Sánchez Prado J (2002). *Evolución de las tasas de crecimiento en individuos diploides y triploides de*

- rodaballo Scophthalmus maximus*(L., 1758). Boletín Instituto Español de Oceanografía. 18 (1-4):239-243
67. Villalta M (2007) *Requerimientos en ácidos grasos esenciales y organogénesis de la larva del lenguado senegalés, Solea senegalensis (Kaup 1858)*. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona. España
68. Villamar C (2004) *Protocolo para la cría de biomasa de Artemia adulta en raceways*. Revista AquaTIC, nº 21, pp. 8-15.
69. Zúñiga, H. 1988. *Comparación morfológica y dietaria de Paralichthys adspersus (Steindachner, 1867) y Paralichthys microps (Gunther, 1881) en Bahía de Coquimbo*. Tesis de Biología Marina, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, 144 pp.

# **ANEXOS**

## ANEXO I: GLOSARIO

- ✓ **AGS:** ácidos grasos saturados.
- ✓ **AGP:** ácidos grasos poliinsaturados.
- ✓ **AGM:** ácidos grasos monoinsaturados.
- ✓ **Alimento vivo:** Son organismos, que estando aún con vida, se usan como alimento para otros organismos carnívoros y omnívoros.
- ✓ **Aminoácidos:** Es una molécula orgánica con un grupo amino y un grupo carboxilo. La unión de varios aminoácidos da lugar a cadenas llamadas péptidos o polipéptidos, que se denominan proteínas.
- ✓ **Amonio:** Compuesto nitrogenado, que junto al nitrito y nitratos, son tóxicos para la biota en altas concentraciones. Su formación es consecuencia del ciclo del nitrógeno.
- ✓ **Artemia:** Es un crustáceo de unos 8 a 12 mm de longitud en su estado adulto, que en condiciones naturales se encuentra en lagos salados, costeros o mediterráneos, y especialmente en salinas costeras.
- ✓ **Bombas de calor:** Es una máquina térmica que permite transferir energía mediante calor de un ambiente a otro, según se requiera.
- ✓ **Calidad de agua:** Puede definirse como la composición físico-químico-biológica, cuyas características la hacen aceptable para un cierto uso.
- ✓ **Concentrado soluble de pescado:** Es una fuente rica de proteína ligante, es un resaltador de la palatabilidad que trabaja como un fuerte saborizante para muchas formulaciones en alimentación animal.
- ✓ **Densidad:** Número o peso de los peces por unidad de área o volumen.

- ✓ **Desarrollo larvario.** Proceso por el que un organismo evoluciona posterior a la etapa pre-larvaria hasta alcanzar la condición de metamorfosis.
- ✓ **Dietas:** Conjunto de nutrientes que se ingieren con el fin de satisfacer los requerimientos nutricionales.
- ✓ **Eclosión:** Proceso mediante el cual los quistes se abren para liberar el nuevo individuo, nauplio, ya apto para realizar sus funciones metabólicas en presencia de oxígeno.
- ✓ **Esterilización ultravioleta (UV):** Forma de esterilización, junto con los rayos infrarrojos (pueden eliminar toda clase de bacterias y virus sin dejar residuos, a diferencia de los productos químicos).
- ✓ **Enriquecimiento:** Proceso mediante el cual se dota de mayor riqueza, calidad o valor nutricional al alimento vivo, mejorando sus propiedades y características.
- ✓ **Ensilado:** Es un fermento biológico en base a vegetales ricos en bacterias lácticas que fermentan los azúcares y producen ácido láctico, tiene un elevado valor nutricional.
- ✓ **Enzima:** Moléculas de naturaleza proteica y estructural que catalizan reacciones químicas del metabolismo.
- ✓ **Nauplio.-** Es el primer estado larvario de la Artemia, mide entre 400 y 500  $\mu$  de longitud, tiene un color pardo anaranjado (por acumulación de reservas vitelinas).
- ✓ **Nitrito:** Compuesto nitrogenado, que se forma del ciclo del nitrógeno de la conversión de amonio a nitritos por acción bacteriana.
- ✓ **Larva:** Estadio del pez desde la absorción del saco vitelino hasta aproximadamente los 60 dph.

- ✓ **Parámetro:** Dato que se considera como imprescindible y orientativo para lograr evaluar o valorar una determinada situación.
- ✓ **Péptido:** Son un tipo de moléculas formadas por la unión de varios aminoácidos mediante enlaces peptídicos.
- ✓ **Porcentaje de inclusión:** Dosis de una respectiva sustancia y/o producto que es suministrada a un determinado ensayo.
- ✓ **Proteína:** Cualquiera de las numerosas sustancias químicas formadas por aminoácidos que forman parte de la materia fundamental de las células y de las sustancias vegetales y animales. Nutriente esencial para el crecimiento de los organismos acuáticos.
- ✓ **Sistema de recirculación en acuicultura (SRA):** Sistema de cultivo total o parcialmente cerrado, en el cual el agua evacuada del sistema se trata de manera tal que pueda ser reutilizada.
- ✓ **Tanques circulares:** depósito de agua fabricado con materiales tales como concreto, madera, láminas de metal, fibra de vidrio, plexiglás, vinilo o polipropileno. Los tanques circulares tienen buena velocidad, circulación y mezcla de agua; comúnmente tienen una base plana o levemente inclinada y un cañería vertical central para drenaje.
- ✓ **Tiempo de enriquecimiento:** Periodo de tiempo en el que es expuesto un organismo a una determinada concentración de un producto considerado como enriquecedor.
- ✓ **Tratamiento:** Forma o aquellos medios que se utilizarán para llegar a conocer la esencia que compone algo y que no se nos presenta de manera clara ya sea porque no se conoce o bien porque su composición fue alterada por otros componentes.

- ✓ **Vitaminas:** Compuestos heterogéneos imprescindibles para la vida, que al ingerirlos de forma equilibrada y en dosis esenciales promueven el correcto funcionamiento fisiológico.