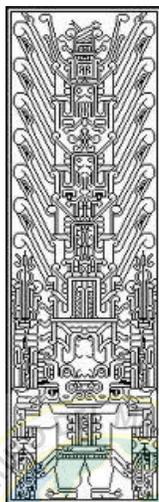


UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERÍA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y
ACUICULTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN ACUICULTURA



EVALUACIÓN DE TRES MICRODIETAS EN EL DESTETE DE LENGUADO
Paralichthys adspersus (Steindachner, 1867) PARALICHTHYIDAE, EN CONDICIONES
DE LABORATORIO

TESIS

Para optar al Título Profesional de:

INGENIERO PESQUERO ACUICULTOR

Presentado por:

Bach. Lucas Isaac Orihuela Toledo

LIMA – PERÚ

2015

ÍNDICE

DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTOS	5
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABLAS.....	9
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. EL PROBLEMA	16
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	18
2.2.1 A nivel general	18
2.2.2 A nivel específico.....	18
3. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo general	18
3.2 Objetivo específico.....	19
4. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACION	19
4.1 A nivel general	19
4.2 A nivel específico.....	19
5. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.	20
6. MARCO TEORICO.....	22
6.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS DEL LENGUADO.....	22
6.1.1 Clasificación taxonómica	22
6.1.2 Hábitat y ecología.....	23
6.1.3 Alimentación	24
6.1.4 Características morfológicas	25
6.1.5 Reproducción	26
6.2 MICRODIETAS.....	27
6.2.1 Clasificación.....	27
6.2.2 Caracterización de las microdietas	31

6.3 ANTECEDENTES.....	34
7. METODOLOGÍA	46
7.1 LUGAR DE EJECUCIÓN	46
7.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	46
7.3 VARIABLES DEL ESTUDIO.....	47
7.3.1 Variables independientes.....	47
7.3.2 Variables dependientes.....	47
7.3.3 Variables constantes.....	47
7.4 MATERIALES, EQUIPOS Y OTROS.....	47
7.4.1 Material biológico	47
7.4.2 Equipos del sistema de recirculación.	48
7.4.3 Equipos y materiales para recolección de datos e investigación	48
7.4.4 Materiales de limpieza y mantenimiento.....	49
7.4.5 Alimento.....	50
7.4.6 Materiales de oficina.....	50
7.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	50
7.5.1 Captación del agua de mar	51
7.5.2 Obtención de larvas.....	52
7.5.3 Cultivo de larvas.....	54
7.5.4 Bioensayo de microdietas para el destete.....	60
8. RESULTADOS.....	72
8.1 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE CULTIVO	72
8.2 CRECIMIENTO	74
8.3 SUPERVIVENCIA	77
9. DISCUSIÓN	79
10. CONCLUSIONES.	87
11. RECOMENDACIONES	88
12. BIBLIOGRAFÍA.....	89

DEDICATORIA

A mis padres pues todo lo que soy y hago es obra suya.



AGRADECIMIENTOS

A mi asesor, Ing. Carlos Llontop por su gran disposición a apoyarme siempre en el desarrollo de este trabajo.

A mi asesora, Ing. Lili Carrera, por su asesoría en todo el desarrollo de este trabajo y por darme la oportunidad de pertenecer a este proyecto.

Al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y productividad INNÓVATE-PERÚ que mediante el proyecto “Producción de semilla del lenguado *Paralichthys adspersus* en cautiverio: II Mejoramiento de las técnicas de larvicultura”. Contrato N°236 – FINCyT- IA 2013 otorgó el financiamiento para el desarrollo de la presente tesis.

A la responsable del laboratorio de Cultivo de Peces Marinos del CIA Alexander von Humboldt del IMARPE, Msc. Melissa Montes por su apoyo y consejos en el desarrollo experimental y en la redacción del presente informe.

Al Equipo del laboratorio de Cultivo de Peces Marinos, Angélica, Joel y Eduardo, a quienes considero amigos, por su apoyo en la obtención de las larvas de *P. adspersus* y por cada consejo proporcionado a lo largo del desarrollo de esta investigación. Un agradecimiento especial a mi colega y amiga Milagros, por los momentos de relajación y compañerismo.

Al equipo del laboratorio de Alimento Vivo, Geraldine, Wilmer y Alex. Por el esfuerzo extra que hicieron para brindarme el material vivo necesario en este trabajo.

A Sandra, mi novia, por la gran motivación que me brinda con su compañía.

A mis padres y hermanos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Lenguado <i>Paralichthys adspersus</i>	22
Figura 2. Distribución de <i>P. adspersus</i> en Sudamérica (franja roja).....	24
Figura 3. Abastecimiento de agua de mar.....	51
Figura 4. Muelle y caseta de bombeo de agua de mar.....	52
Figura 5. Fertilización artificial de ovocitos de <i>P. adspersus</i>	53
Figura 6. Probetas con huevos.....	54
Figura 7. Tanques cónicos de incubación.....	54
Figura 8. Recambio de agua y limpieza de tanques de cultivo.....	56
Figura 9. Alimento vivo. Vista al estereoscopio y en vaso de precipitados. a: artemia, b: rotíferos.....	59
Figura 10. Alimentación proporcionada durante los primeros 34 días de edad de la larva.....	59

Figura 11. Distribución de las réplicas de cada tratamiento en la sala de ensayo.....	61
Figura 12. Siembra de larvas de 35 DDE en tanques de cultivo.....	62
Figura 13. Detalle de un sistema de la sala de larvas.....	63
Figura 14. Sala de cultivo larval.....	63
Figura 15. Recirculación de agua y limpieza de tanques de cultivo.....	65
Figura 16. Alimentación. a: alimento vivo, b: microdieta.....	66
Figura 17. Microdietas utilizadas, vista al estereoscopio.....	67
Figura 18. Medición de parámetros.....	67
Figura 19. Medición de longitud en software.....	68
Figura 20. Colocando una muestra en el crisol de aluminio.....	69
Figura 21. Placas petri con crisoles y muestra.....	69
Figura 22. Juvenil de <i>P. adspersus</i> con metamorfosis incompleta.....	70



Figura 23. Juvenil de <i>P. adspersus</i> con pigmentación normal.....	71
Figura 24. Juvenil de <i>P. adspersus</i> con pigmentación anormal.....	71
Figura 25. Valores de temperatura del agua de cultivo registrada a lo largo del ensayo.....	73
Figura 26. Valores de pH del agua de cultivo registrados a lo largo del ensayo.....	73
Figura 27. Valores de concentración de oxígeno disuelto en el agua de cultivo registrados a lo largo del ensayo.....	74
Figura 28. Crecimiento de los individuos en cada tratamiento T1, T2, y T3. Las barras de error representan la desviación estándar.....	75
Figura 29. Diagrama de cajas de la longitud total alcanzada por los individuos a los 60 DDE en cada tratamiento	76
Figura 30. Diagrama de cajas del peso alcanzado por los individuos a los 60 DDE en cada tratamiento.....	76
Figura 31. Diagrama de cajas de supervivencia en cada tratamiento. Los puntos rojos representan la media.....	77

Figura 32. Porcentaje de pigmentación anormal en cada tratamiento. No existe diferencia significativa entre los tratamientos ($P>0,05$).....78

Figura 33. Porcentaje de metamorfosis completa e incompleta en cada tratamiento. No existe diferencia significativa entre los tratamientos ($P>0.05$).....79

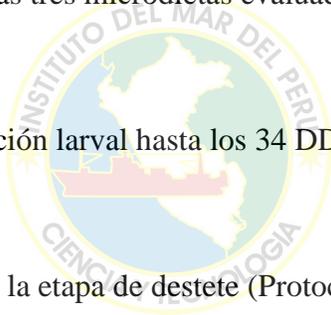
LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes utilizados en las microdietas MEM y PARA (g/kg).....32

Tabla 2. Análisis proximal de las tres microdietas evaluadas.....33

Tabla 3. Protocolo de alimentación larval hasta los 34 DDE, IMARPE.....58

Tabla 4. Ración de alimento en la etapa de destete (Protocolo IMARPE).....66



RESUMEN

El lenguado peruano *Paralichthys adspersus* es una especie que presenta gran calidad nutricional y alto valor económico, Se distribuye desde Paita (norte de Perú) hasta el golfo de Arauco (Chile). En el Perú el cultivo de lenguado se desarrolla a nivel experimental y comercial (pequeña escala), sin embargo la investigación realizada es escasa. Durante el proceso de producción de semilla, el periodo de destete, etapa durante la cual el alimento vivo es sustituido por microdietas balanceadas, resulta ser un punto crítico debido a la alta mortalidad que genera en comparación a otras etapas del cultivo. El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto del uso de 3 microdietas (dos experimentales y una comercial) en el destete de *Paralichthys adspersus*, evaluando el crecimiento (longitud y peso) y la supervivencia. En el ensayo se utilizó la dieta comercial Otohime, y las experimentales, elaboradas con procesos diferentes, MEM (Micro-Extrusion Marumerization) y PARA (Particle Assisted Rotational Agglomeration) desarrolladas en el Servicio de Investigación Agrícola (ARS) del departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) -Fish Technology Center. El ensayo inició con peces de 35 días de edad con un peso seco promedio de $0,96 \pm 0,52$ mg y una talla promedio de $9,55 \pm 0,84$ mm, los cuales se distribuyeron en nueve tanques de 150L a razón de 400 individuos T^{-1} . Se seleccionaron al azar tres tanques por cada tratamiento. Estos se denominaron T1, T2 y T3, en cada uno se utilizó una microdieta (Otohime, MEM y PARA respectivamente) para realizar el destete. Los resultados muestran que para los tratamientos T1, T2 y T3 la longitud promedio final alcanzada fue de $15,9 \pm 3,2$, $14,3 \pm 1,72$ y $14,4 \pm 2,28$ mm y el peso seco promedio alcanzado fue de $8,83 \pm 5,37$, $5,53 \pm 2,85$ y $7,10 \pm 3,56$ mg existiendo diferencias significativas solo entre los tratamientos T1 y T2 ($p < 0,05$). La supervivencia media fue de 18,1, 16,3 y 15,2 % (Tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente). Además se evaluó el efecto de las dietas sobre los procesos de pigmentación y metamorfosis, cuantificando para cada caso la cantidad de peces que presentan pigmentación normal y la cantidad de los que alcanzaron a completar la metamorfosis, resultando que no existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$).

Palabras clave: *Paralichthys adspersus*, destete, microdietas, MEM, PARA

ABSTRACT

The Peruvian flounder *Paralichthys adspersus* is a species with high nutritional quality and economic value. This species distributes along the north of Peru (Paita) up to Chile (Gulf of Arauco). In Perú, the flounder culture has grown as an experimental and commercial level (small scale), with scant research. During seed production, weaning stage where live feed is replaced by balanced microdiets, it turns out to be a critical point due to the high mortality generated in comparison to other farming stages. The objective of this study was to evaluate the effect of 3 microdiets (two experimental and one commercial) at weaning of *Paralichthys adspersus*, evaluating growth (length and weight) and survival. The commercial diet was Otohime and the experimental diets, made with different processes, were MEM (Micro-Extrusion Marumerization) and PARA (Particle Assisted Rotational Agglomeration) developed at the Agricultural Research Service (ARS) of the Department of Agriculture (USDA) - Fish Technology Center. The test fish began with 35 days of age with an average dry weight of 0.96 ± 0.52 mg and an average size of 9.55 ± 0.84 mm which were distributed in nine 150 L tanks at a density of 400 larvae T^{-1} . They were selected three tanks for treatment. The treatments were designated T1, T2 and T3, each one used microdieta (Otohime, MEM and PARA respectively) for weaning. Results show for treatments T1, T2, T3 a final average length of 15.9 ± 3.2 , 14.3 ± 1.72 and 14.4 ± 2.28 mm, average dry weight, 8.83 ± 5.37 , 5.53 ± 2.85 and 7.10 ± 3.56 mg, significantly different ($p < 0.05$) between T1 and T2. The survival rate was 18.1, 16.3 and 15.2 % (treatments T1, T2 and T3). Additionally, the effect of the diets on pigmentation and metamorphosis was evaluated, no significant differences ($p > 0.05$) were found between treatments.

Keywords: *Paralichthys adspersus*, weaning, micro diets, MEM, PARA

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura a nivel mundial ha tenido un importante desarrollo en los últimos años, las perspectivas para esta actividad son muy favorables, esto debido en parte a que la pesca mundial ha llegado un tope de cosecha (aprox. 90-100 millones de toneladas) (FAO, 2014). Actualmente, la acuicultura representa casi el 50% de los productos pesqueros mundiales destinados a la alimentación. Esta actividad es importante para muchos países y favorece a los esfuerzos globales encaminados a eliminar el hambre y la malnutrición, además de impactar significativamente a disminuir la pobreza e impulsar el crecimiento económico (Avilés, 2000). Por su parte el cultivo de peces marinos, principalmente peces de escama, ha venido experimentando un crecimiento sostenido en los últimos años y a pesar que la producción en mar de peces de escama representa el 12,6% de la producción total de peces escamados, su valor alcanza el 26,9% del total. Esto es debido a que los peces de escama procedentes del cultivo marino comprenden una gran parte de especies carnívoras, como el salmón del Atlántico y los meros, cuyo valor unitario es superior al de la mayoría de peces de escama criados en agua dulce (FAO, 2014). En el caso de Perú, el lenguado nativo, *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) es una especie de gran importancia en términos de abundancia y valor comercial (Acuña & Cid, 1995).

En Asia, Japón es pionero en el cultivo de peces planos con una larga historia trabajando con el lenguado japonés *Paralichthys olivaceus* (desde 1970) y aunque se ha intentado la producción de semillas de diversas especies de peces planos como, *Verasper moseri*, *Verasper variegatus*, *Grigorjewi eopsetta*, *Pleuronectes yokohamae*, *Microstomus achne*, entre otros, sólo el lenguado japonés se cultiva a escala comercial en Japón (Seikai, 2002).

La tecnología de producción de semillas de esta especie, junto con la gestión de reproductores y el control de desove, se establecieron a finales de la década de 1980 (Ijima *et al.*, 1986).

Por otro lado, en el continente europeo, en la región del Atlántico, el cultivo de peces planos es cada vez mayor produciendo alrededor de 5000 TM/año de rodaballo europeo (*Scophthalmus maximus*). Otras especies de importancia son el halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), lenguado común (*Solea solea*), lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) y el falso halibut del Canadá “summer flounder” (*Paralichthys dentatus*). Se han utilizado diversos tipos de sistemas de cultivo en estas especies como: raceways, jaulas suspendidas en el mar, estanques con sistemas de recirculación, lagunas y estanques grandes cubiertos de geomembrana (Brown, 2002). Los peces planos son muy adecuados para el cultivo fuera del mar, sobre todo en sistemas de recirculación, debido a la facilidad de manejo y mantenimiento que ofrecen estos. Se pueden cultivar en una variedad de tipos de tanques ya sean circulares, cuadrangulares, octogonales, con un solo fondo, o con dos o más niveles donde se asienten los animales. Algunas especies, particularmente, *Scophthalmus maximus* e *Hippoglossus hippoglossus* pueden ser cultivados a altas densidades (50 a 75 kg / m²), además el uso de múltiples capas dentro de los tanques ofrece mejoras adicionales. (Brown, 2002).

En Sudamérica, Chile, adaptó tecnología utilizada para el cultivo de otras especies de lenguado como el turbot (*Scophthalmus maximus*) y el hirame (*Paralichthys olivaceus*) y se desarrollaron investigaciones tecnológicas para el cultivo de las especies de lenguado *Paralichthys microps* y *Paralichthys adspersus*. Actualmente el cultivo del turbot (*Scophthalmus maximus*) se encuentra en etapa comercial y desde 1998 se han producido y

comercializado entre 268 y 426 T anuales en Chile. Respecto al lenguado *P. adspersus* y gracias a los estudios realizados, ya se cuenta con la tecnología para realizar su cultivo a nivel piloto, paso previo para iniciar su cultivo comercial (Silva, 2010). En Argentina, la primera producción masiva de juveniles de lenguado *P. orbignyanus* se dio en la Estación Experimental de Maricultura (EEM) del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP) en el año 2002, demostrándose su potencial acuícola por su buena tasa de crecimiento, supervivencia e índice de conversión. (Fraysse y Petrarroia, 2013).

Perú no cuenta con muchos estudios respecto al cultivo de lenguado *P. adspersus* limitándose estos a los relacionados con el manejo o acondicionamiento de peces salvajes como son los realizados por Carrera *et al.* (2013) quienes mantuvieron y acondicionaron un grupo de reproductores salvajes en un sistema de recirculación para la acuicultura, RAS (por sus siglas en ingles). Ángeles y Mendo (2005) establecieron algunas características de crecimiento, fecundidad y diferenciación sexual de esta especie. Actualmente el Instituto del Mar del Perú (IMARPE) en su sede del Callao y el Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES) en su centro de acuicultura ubicado en Morro Sama, Tacna, vienen trabajando con la reproducción y producción de alevinos de lenguado.

En la alimentación de peces marinos Silva y Vélez (1998) mencionan que el proceso de deshabitación o destete consiste básicamente en el reemplazo progresivo y paulatino del alimento vivo (*Artemia*) por alimento inerte de diferentes tamaños (0,2-1,0 mm) en un período variable de 10 y 15 días.

Lazo (2000) menciona las diferentes estrategias para el uso de dietas artificiales en el cultivo de larvas de peces marinos, siendo estos: Uso directo, para larvas con avanzado

desarrollo digestivo al iniciarse la alimentación exógena. El uso tardío, para larvas que demoran en alcanzar su metamorfosis y el progresivo donde se alimenta al animal con alimento vivo y microdieta apenas se inicie la alimentación.

El destete produce un cierto porcentaje de mortalidad debido a la preferencia de las larvas de los peces por las presas vivas, por ello es importante evaluar diversas microdietas para conocer su eficacia en el crecimiento y la supervivencia de *P. adspersus* en edades tempranas.

Finalmente, en la búsqueda por conocer mejor a esta especie para desarrollar técnicas que permitan su cultivo exitoso y ante los problemas que presenta la alimentación larvaria con únicamente presas vivas, el presente trabajo de investigación pretende evaluar la supervivencia y crecimiento en la etapa de destete, utilizando una microdieta comercial muy reconocida como es Otohime (Marubeni Nisshin Feed, Tokyo, Japan) y dos microdietas secas (microbound) experimentales elaboradas con procesos diferentes: Micro-Extrusion Marumerization (MEM) el cual es un proceso de formación de microdieta por rotación con una extrusión previa y Particle Assisted Rotational Agglomeration (PARA), proceso de formación de microdieta con rotación y apoyo mecánico de partículas inertes sin extrusión previa. Estas dietas provienen del laboratorio del Servicio de Investigación Agrícola (ARS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) -Fish Technology Center, 4050 Bridger Canyon Rd, Bozeman, Montana 59715 y fueron obtenidas mediante el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CISESE) – Mexico, entidad asociada al proyecto FINCyT del cual es parte esta investigación.

2. EL PROBLEMA

2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La pesca mundial ha llegado un tope de cosecha (aprox. 90-100 millones de toneladas) (FAO, 2014) y la mayoría de las poblaciones naturales están disminuyendo. En el Perú, los datos de captura proporcionados por el IMARPE y por la FAO indican un aumento escalonado de la extracción de *P. adspersus* teniendo sus valores más altos a partir de 1984 hasta 1992, reduciéndose significativamente en los años posteriores, lo cual podría deberse a una intensa captura (Ángeles y Mendo, 2005). Datos más recientes muestran una disminución del desembarque de esta especie de 36873 kg en el 2004 a 22610 kg en el 2013 (datos no publicados del área de pesca Artesanal IMARPE, 2014).

La cría de larvas y la producción de semillas son los pasos más críticos en la cadena de producción de la acuicultura debido a la gran mortalidad que puede existir en estas, así estos constituyen una limitante para la producción sostenida de una determinada especie. El éxito de estas etapas se determina por una combinación de factores siendo una de las más importantes, la nutrición de las larvas, de acuerdo a esto, el alimento vivo, a pesar de tener ciertas desventajas como, nutricionales (Lazo, 2000) y técnicas (Rodríguez, 2009), es considerado como más adecuado para los peces que empiezan la alimentación exógena (Herath y Atapaththu, 2013). Así, el desarrollo de métodos adecuados en la alimentación durante la etapa larvaria

constituye una de las principales limitantes en el cultivo de diferentes especies de peces marinos (Lazo, 2000).

En la maricultura, durante la cría larval existen dos fases donde ocurre gran mortalidad. Una es la transición de alimentación endógena a exógena, donde se comienza a alimentar a las larvas, generalmente con alimento vivo, y la otra es el destete, donde el alimento suministrado pasa a ser inerte (microdietas balanceadas), en ésta, la supervivencia es baja comparada con otras etapas (Schwartz, 2008). El éxito o fracaso de la transición entre tipos de alimentos en el destete, depende en gran medida de la microdieta; su frescura, formulación, digestibilidad y aceptación (Devresse, *et al.*, 1991).



En Perú no se conocen estudios sobre la evaluación del destete o deshabitación del alimento vivo en el lenguado *P. adspersus* por lo tanto no existe una microdieta balanceada específica para esta especie. El alimento para larvas, de origen Japonés, Otohime (Marubeni Nisshin Feed Co. Ltd), es para muchos productores de larvas de peces marinos la mejor de las microdietas formuladas para animales en esta etapa. Sin embargo, la desventaja es que tiene un precio alto, poca disponibilidad en el mercado, ya que es necesario importarla, y no es una dieta preparada específicamente para *P. adspersus* por lo que su eficiencia no se ha demostrado.

2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

2.2.1 A nivel general

- ¿Cuál es la mejor microdieta (comercial o experimental) para el destete de juveniles de lenguado *P. adspersus*?

2.2.2 A nivel específico

- ¿Cómo afecta el tipo de microdieta en el crecimiento en longitud y peso total de juveniles de lenguado *P. adspersus* en la etapa de destete?
- ¿Cómo afecta el tipo de microdieta la supervivencia de juveniles de lenguado *P. adspersus* en la etapa de destete?
- ¿Cómo afecta el tipo de microdieta en los procesos de pigmentación y metamorfosis durante la etapa de destete?

3. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Evaluar tres tipos de microdietas una comercial y dos experimentales en el destete del lenguado *P. adspersus* en condiciones de laboratorio.

3.2 Objetivo específico

- Evaluar tres tipos de microdietas, una comercial y dos experimentales, en el crecimiento en longitud total (mm) y peso total (g) de juveniles del lenguado *P. adspersus*.
- Evaluar tres tipos de microdietas, una comercial y dos experimentales en la supervivencia de juveniles de lenguado *P. adspersus*.
- Evaluar tres tipos de microdietas, una comercial y dos experimentales en los procesos de pigmentación y metamorfosis de juveniles de lenguado *P. adspersus*

4. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACION

4.1 A nivel general

Es posible que la utilización de tres tipos de microdieta, en el destete de lenguado, tenga diferente efecto sobre el crecimiento en longitud total (mm), peso total (g), y supervivencia de juveniles de *P. adspersus*.

4.2 A nivel específico

- Es posible que haya diferencias entre la longitud total (mm) y peso total (g) de individuos alimentados con las diferentes dietas.



- Es posible que haya diferencias entre la supervivencia de individuos alimentados con las diferentes dietas.
- Es posible que haya diferencias en la pigmentación y metamorfosis de los individuos alimentados con las diferentes dietas.

5. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La acuicultura a nivel mundial ha tenido un importante desarrollo en los últimos años, las perspectivas para esta actividad son muy favorables (FAO, 2014), la sobrepesca ha causado que la mayoría de las poblaciones naturales se encuentren disminuyendo. Por lo tanto, a través del cultivo de peces marinos en cautiverio se puede disminuir la presión pesquera sobre las poblaciones naturales y repoblar con especies cuya población natural ha disminuido.

A su vez el decrecimiento de la captura del lenguado ha incentivado a algunos investigadores y empresas privadas a considerar en la factibilidad de su cultivo, sin embargo es muy poco lo que se conoce sobre su biología y su potencial para esta actividad (Ángeles y Mendo, 2005) a pesar que el lenguado *P. adspersus* es una especie con gran atractivo para realizar un cultivo intensivo (Silva, 2001; Ángeles y Mendo, 2005). La acuicultura puede ser una opción de mitigación del impacto que tiene la pesca sobre esta especie. Por lo tanto, se requiere desarrollar la tecnología necesaria que permita su cultivo y para que este tenga éxito es importante optimizar el crecimiento y la supervivencia en los primeros estadios de esta especie (Lazo 2000, Piaget 2007).

Así mismo, resulta relevante mejorar las técnicas de cría de *P. adspersus* en edades tempranas para conseguir una producción de semilla en la calidad y cantidad suficiente que permita lograr el desarrollo sostenido de la acuicultura de esta especie para que pueda ser rentable a nivel comercial. Dentro de ello, es importante evaluar diferentes microdietas comerciales o experimentales en el destete del lenguado para conocer su efecto en su desarrollo y de esa manera incrementar el conocimiento que permita encontrar una dieta específica para esta especie.



6. MARCO TEORICO

6.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS DEL LENGUADO

6.1.1 Clasificación taxonómica

El lenguado *Paralichthys adspersus* pertenece al orden Pleuronectiformes en el cual se encuentran presentes las familias *Bothidae* y *Paralichthyidae* (Silva y Oliva, 2010). De esta última, el género *Paralichthys* está compuesto por 17 especies distribuidas en ambas costas de América (Silva y Oliva, 2010).



Figura 1. Lenguado *Paralichthys adspersus*

Por lo tanto la clasificación taxonómica del lenguado es la siguiente.

Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Clase:	Actinopterygii
Subclase:	Neopterygii
Infraclase:	Teleostei
Superorden:	Acanthopterygii
Orden:	Pleuronectiformes
Familia:	Paralichthyidae
Género:	<i>Paralichthys</i>
Especie:	<i>Paralichthys adspersus</i> (Steindachner, 1867)

6.1.2 Hábitat y ecología



El lenguado *Paralichthys adspersus* se distribuye desde la localidad de Paita (norte de Perú) hasta el golfo de Arauco (Chile), incluyendo el archipiélago de Juan Fernández (Pequeño, 1989; Siefeld *et al.*, 2003). 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*, donde buscan protección frente a la depredación, temperaturas más adecuadas y abundancia de alimento (Acuña y Cid, 1995).



Figura 2. Distribución de *P. adspersus* en Sudamérica (franja roja)

6.1.3 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 y Oliva, 2010). Así, Zúñiga (1988) indica que en la zona central *P. adspersus* 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 (*Engraulis ringens*) y ocasionalmente, crustáceos bentónicos (*Emérita análoga*) (Silva y Oliva, 2010)

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).

En cuanto al consumo de alimento previo a la época de reproducción, Silva (2001) señala que cuando *P. adpersus* alcanza su primera madurez sexual, muestra un incremento en el consumo de alimento durante los meses previos al desove y un decrecimiento durante la estación reproductiva.

6.1.4 Características morfológicas

Los integrantes del orden Pleuronectiforme se caracterizan por su notable metamorfosis donde a partir de una simetría bilateral a nivel de larva termina en juveniles y adultos lateralmente comprimidos con ambos ojos sobre un lado de la cabeza (Berendzen y Wheaton, 2002). La monofilia del orden se apoya en tres sinapomorfias morfológicas, la migración ocular durante la ontogenia, la posición

anterior del origen de la aleta dorsal y la presencia de recessus orbitalis, órgano que permite protruir los ojos por encima de la superficie del cuerpo (Chapleau, 1993).

6.1.5 Reproducción

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 ovocitos 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 10,0-16,8°C, en la zona sur de la bahía de Concepción (Ahumada & Chuecas, 1979) de 13-17°C, en la zona centro-norte de la bahía de Coquimbo (Olivares, 1989).

Se estima que la talla de primera madurez es a los 24 cm de longitud total (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). El tamaño de los ovocitos maduros alcanza un diámetro entre 0,66 y 0,80 mm. La fecundidad total promedio se estima en 2.125.000 huevos por kg, con un promedio de 1.500 huevos 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 (Silva y Oliva, 2010).

6.2 MICRODIETAS

6.2.1 Clasificación

Las dietas secas pueden ser clasificadas en 3 grupos (Lazo, 2000)

- a. Microdietas secas. Los ingredientes se pulverizan (20-80 μ m) y se mezclan con un aglutinante (agar, zeína, gelatina), luego se pelletizan y se muelen para obtener un tamaño adecuado. Lamentablemente, debido a que este tipo de microdietas carecen de una capa impermeable, las micropartículas tienden a perder ingredientes en el agua como resultado de lixiviación de los ingredientes solubles. Sin embargo tienen la ventaja de ser mejor digeribles que las microcápsulas. Este proceso de elaboración es el de mayor utilización.
- b. Dietas microencapsuladas (Microencapsulated diets). A diferencia de las dietas secas simples (microboud) los ingredientes son encapsulados dentro de un polímero orgánico natural o sintético (albúmina de huevo, proteína-nylon, nylon-agar o colesterol y lecitina). Este polímero debe ser semipermeable y fácilmente digerible. Para fabricarlas, primero, se emulsifican los ingredientes de la dieta en una solución de alcohol y lecitina,

luego esta mezcla se añade a una solución de alguna proteína (como caseína) y por medio de algún reactivo se estimula la polimerización de esta, formando una cápsula que permite la fabricación de partículas estables que pueden potencialmente evitar excesiva lixiviación de nutrientes (Yúfera *et al.*, 1999).

Estas dietas muestran una buena estabilidad en el agua, sin embargo las cápsulas pueden no ser bien digeridas por las larvas (Yúfera *et al.*, 1996).

- c. Hojuelas (Flakes). Los ingredientes molidos se cuecen con algún aglutinante y son compactados a altas temperaturas (130-190 °C) en. El producto son hojuelas que pueden ser fácilmente molidas según el tamaño de partícula que sea necesario. Sin embargo, este método tiene los mismos problemas de lixiviación que las microdietas secas.

Adicionalmente a los tipos de microdietas descritas por Lazo (2000), diversos autores mencionan a las Microbound diets (Langdon y Barrows, 2011; Barrows y Lellis, 2006; Kolkovski, 2008; Rust *et al.*, 2015)

- d. Microdietas secas formadas (Microbound diets) Los ingredientes se pulveriza (20-80 mm) y se mezclan con un aglutinante (agar, zeína, gelatina) para mantener todos los ingredientes ligados. Lamentablemente, debido a que este tipo de microdietas carecen de una capa impermeable, las micropartículas tienden a perder ingredientes en el agua como resultado de

lixiviación de los ingredientes solubles. Kolkovski (2008) menciona también que las Microbound diets (MBD), son las más utilizadas actualmente, ofrecen gran digestibilidad por tener alto grado de lixiviación, menciona también que algunas de las microdietas comerciales son fabricadas usando la extrusión y posterior molienda y tamizado según el tamaño de partícula deseado.

Langdon y Barrows (2011) indican que para obtener la micropartícula a partir de la mezcla de los ingredientes se utilizan dos caminos, una de ellas es peletizando o estrujando las dietas para su posterior secado y molido según el tamaño necesario y la otra es formando las micropartículas a partir de la mezcla inicial sin necesidad de algún dimensionado de la microdieta mediante molienda. Esta última metodología es la utilizada en la elaboración de las dietas del presente estudio (MEM y PARA).

- **Microextrusión seguida de marumerización (Microextruded marumerized - MEM)**

Las partículas MEM son producidas por décadas en la industria farmacéutica, actualmente se utiliza para producir microdietas experimentales y comerciales sobre todo para la industria ornamental y de salmónidos. Para producir microdietas MEM, es necesario que los ingredientes se pulvericen muy finamente y se humedezcan para que pasen por un proceso de micro extrusión, actualmente las máquinas extrusoras son

capaces de producir partículas de 300 μm de diámetro, después de la extrusora, los “fideos” resultantes se procesan en la marumerizadora o esferonizadora (marumerizer, en inglés), se trata de una cámara con el fondo rotativo que, según la textura de la fórmula, gira a determinada velocidad para conseguir la formación de las micropartículas (Langdon y Barrows, 2011).

La técnica MEM, es un método de aglomeración de alta presión, debido principalmente a la extrusión inicial de la mezcla de ingredientes además de la rotación por ellos, resultando una dieta con micropartículas densas y de rápido hundimiento, cuando la humedad de la formulación y la velocidad del marumerizador son optimizados, se pueden producir partículas definidas que no requieran tamizado (Langdon y Barrows, 2011)

- **Aglomeración por rotación con asistencia de partículas (Particle-assisted rotational agglomeration - PARA)**

Este método fue desarrollado para conseguir partículas más pequeñas (bajo los 400 μm), este método difiere del MEM, porque no existe una extrusión previa. Los ingredientes son mezclados y humedecidos igual que el método MEM, aunque necesitan una humedad ligeramente superior y la mezcla humedecida se coloca directamente a la marumerizadora y adicionalmente se añade una carga de partículas inertes de 3mm de diámetro en una proporción del 75% de la mezcla. La rotación de la marumerizadora transfiere energía a las partículas inertes produciendo unas micropartículas mas o menos

esferoidales, mayores velocidades de rotación son más efectivas. Esta técnica produce un amplio rango de tamaño de partículas pero el tamaño de estas puede ser controlado con diferentes niveles de humedad y velocidad del rotor. Al no implicar una extrusión este método produce partículas de baja densidad y de un hundimiento más lento que las partículas MEM (Langdon y Barrows, 2011).

6.2.2 Caracterización de las microdietas

Las microdietas elaboradas por el Servicio de Investigación Agrícola (ARS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) -Fish Technology Center, son dietas secas elaboradas experimentalmente de acuerdo a la tabla 1 y presentan un análisis proximal estipulado en la tabla 2.

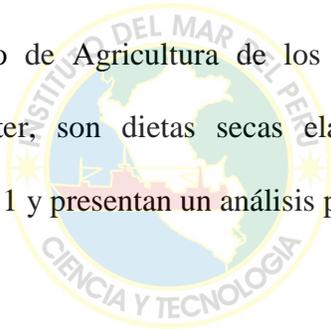


Tabla 1. Ingredientes utilizados en las microdietas MEM y PARA (g/kg)

Ingrediente	Cantidad (g)
Harina de Krill ^a	380
Huevo sólido ^b	200
Harina de arenque ^a	214
Harina de hígado ^c	70
Extracto de levadura ^e	20
Harina de sábalo ^f	40
Aglutinantes (TIC 515) ^g	30
Premix vitamínico ^h	30
Ácido ascórbico ^e	10
Prémix mineral ⁱ	5
Inositol ^e	1

Barrows y Lellis, 2006

^a International Proteins Corp., New York, New York, USA.

^b International Ingredient Corp., St. Louis, Missouri, USA.

^c American Protein Corp., Ames, Iowa, USA.

^e Amersham Life Sciences, Arlington Heights, Illinois, USA.

^f Zapata Haynie Corp., Hammond, Louisiana, USA.

^g TIC Gums, Inc., Belcamp, Maryland, USA.

^h Contribución por kilogramo de dieta: vitamina A, 10,000 IU; vitamina D3, 720 IU; vitamina E, 530 IU; niacina, 330 mg; calcio, 160 mg; riboflavina, 80 mg; monohidrato de tiamina, 50 mg; hidrocloreuro de piridoxina, 45 mg; bisulfato sódico de menadiona, 25 mg; folacina, 13 mg; biotina, 1 mg; vitamina B12, 30 mg.

ⁱ Contribución en mg/kg de dieta; zinc, 37; manganeso, 10; iodo, 5; cobre, 1.

Las tres microdietas de este estudio presentan una granulometría entre 300 y 700 um, en cuanto al análisis proximal, presentan niveles de proteínas

similares, en cuando a los lípidos, las dietas experimentales tienen más proporción en su composición que la dieta comercial (Tabla 2)

La microdieta Otohime producida en Japón por Marubeni Nisshin Feed Co., Ltd. Es un alimento comercial muy reconocido a nivel mundial (Rust *et al.*, 2015). Los ingredientes con los que se fabrica esta dieta, según el proveedor son; harina de krill, harina de pescado, harina de calamar, fécula de papa, harina de trigo, aceite de pescado, levadura de cerveza, fosfato de calcio, goma guar, lecitina de soja, betaína, regaliz, extracto de manzana y germen de trigo. No se conoce las proporciones en que cada insumo interviene en la dieta ni el procesamiento que se les da para conseguir la micropartícula, la composición proximal proporcionada por el fabricante se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Composición proximal de las tres microdietas evaluadas

	OTO	MEM	PARA
Humedad (%)^a	6.5	5.7	5.6
Lípidos (%)^b	11	30.5	29.7
Proteínas (%)^d	53	53.8	54.2
Cenizas (%)	15	8.4	8.9

Proximal Otohime: Proporcionada por el fabricante.

Proximal de dietas experimentales: Rust *et al.*, 2015

6.3 ANTECEDENTES

En el Perú, Carreta *et, al* (2013), en su experiencia con el manejo de reproductores de *P. adspersus* en sistemas de recirculación, señalan que para el transporte los peces se colocan en tanques de fibra de vidrio de capacidad de 0,3 m³ con aireación constante y una temperatura de 15°C usando bolsas con hielo. Además, se añadió 0,125 ml/L de acondicionador de agua de mar AquaSafe® para mantener el agua en buenas condiciones y para reducir el estrés de los peces durante el transporte (6 h) al laboratorio de cultivo de peces del Instituto del Mar de Perú (IMARPE) en el Callao (Perú). En cuanto a la alimentación después de un periodo de inanición inicial de 15 días , los peces fueron alimentados una o dos veces por día (11:00 y 13:00 h) con juveniles de peces vivos (*Odonthestes regia regia* , *Mugil cephalus*) , crustáceos (*Emerita analoga*), los alimentos frescos (*Engraulis ringens* y *Dosidicus gigas*) y la alimentación artificial, la comida no consumida se pesó para calcular la ingesta diaria de alimentos y la tasa de alimentación se ajusta periódicamente de acuerdo al crecimiento de los peces. Para el muestreo explican que los peces fueron anestesiados con MS- 222 en solución (80 mg/L) para registrar longitud total (cm), peso (g) y la madurez gonadal mensualmente, además de ello, en cada muestreo los peces fueron inyectados con enrofloxacin al 10 % (0,05 ml/kg) para prevenir infecciones, y se realizaron baños de agua dulce de 3 a 5 minutos para eliminar parásitos externos. Para el reconocimiento de los individuos se utilizó un chip (Passive Integrated Transporter) que se insertó en el músculo dorsal. Los códigos se leyeron con un lector Allflex®. Además, dos técnicas no invasivas, la inspección visual de la abertura genital y la canulación usando un catéter de diámetro 0,8 mm (Watanabe y Carroll, 1999) se

utilizaron para la identificación del sexo. Los peces se mantuvieron en SRAs (Sistema de recirculación para Acuicultura), el SRA permitió manejar parámetros medioambientales estables durante el periodo de acondicionamiento, como: temperatura del agua, oxígeno disuelto, pH, amonio, nitrito y nitrato. Durante los primeros días de acondicionamiento los peces mostraron una disminución en el peso, hasta su adaptación a las condiciones de cultivo. La tasa específica de crecimiento fue positiva a partir del tercer mes y la tasa de crecimiento relativo mostró que en agosto 2010, el peso promedio se incrementó 24,5% en machos y 16,2% en hembras. Se realizó un análisis patológico a los ejemplares capturados y se observó la presencia de diferentes parásitos internos y externos, entre ellos predominaron *Entobdella* sp. y *Philometra* sp (Carreta *et al*, 2013).

En cuanto a la etapa larval 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 supervivencia depende exclusivamente de su saco vitelino. Su cultivo se realiza en estanques de 1000 L a densidades entre 30 y 100 larvas con saco/L y una renovación de agua microfiltrada y esterilizada de 25 a 50% de su volumen diario. 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 (Castelló, 1993). Durante esta primera etapa, no se producen mayores mortalidades si se mantienen las condiciones higiénicas adecuadas, obteniéndose supervivencias de 80-90% (Silva, 2001). Tampoco presenta rutinariamente problemas de deformaciones, aunque se ha observado un incidente de

deformación de mandíbula de larvas asociado presuntamente a deficiencias nutricionales de la dieta de reproductores durante su acondicionamiento (Castelló, 1993). La temperatura es uno de los parámetros más relevantes ya que los organismos requieren temperaturas óptimas para el desarrollo de su estructura y funciones (Handelant *et al.*, 2008) debido a que afecta todos los procesos fisiológicos y sistemas ecológicos (Crawshaw y Podrabsky, 2011) así mismo la variación de la temperatura puede influir en el metabolismo y por lo tanto se relaciona con la influencia sobre el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento siendo la fase larval especialmente susceptible al cambio de temperatura (Green y Fisher, 2004). Otros parámetros importantes son el pH, que tiene efecto sobre la disolución de compuestos tóxicos en el agua, así como también en la supervivencia, a nivel biológico influye en el crecimiento, la mayoría de especies de peces crecen mejor en medios alcalinos (Castelló, 1993). En otra especie del mismo género (*Paralichthys orbygnianus*), Fraysee y Petraroia (2013) reportaron para su cultivo larval y de pre-engorde, parámetros de agua promedios de $19,44 \pm 0,56$ para la temperatura y $7,87 \pm 0,32$ de pH.

El cultivo larvario de la mayoría de las especies de peces es dependiente en su primera etapa de la disponibilidad de alimento vivo, ya sean rotíferos o nauplios de artemia (Lazo, 2000; D'Abramo, 2002). Este alimento vivo es altamente eficiente para inducir crecimiento y supervivencia en las larvas (Rodríguez 2009) sin embargo presenta la desventaja de requerir para su disponibilidad la inversión de una serie de recursos, tales como espacio, tiempo, dinero y mano de obra técnicamente calificada (Rodríguez, 2009). Asimismo, los rotíferos y artemia presentan una deficiencia

natural de ácidos grasos altamente insaturados HUFAs (por sus siglas en ingles) de la serie n-3, en especial del ácido decosaheptaenoico DHA (Sanz, 2009). Debido a esta deficiencia, y al requerimiento esencial de los HUFAs n-3 en larvas de peces marinos, es indispensable enriquecer el alimento vivo con productos ricos en HUFAs n-3 antes de suministrarlo a las larvas (Lazo, 2000). Además, el tamaño de las presas deja de ser adecuado para las larvas en las etapas tardías (Burke *et al.*, 1999).

Silva y Flores (1988) en su experiencia con el desarrollo larval de *P. adspersus* a una temperatura de agua de cultivo promedio de 18°C, obtuvieron al día 61 una supervivencia de 11,7% y una talla media de 14,6 mm utilizando una alimentación que consistió en el suministro de 10 rotíferos/ml hasta el día 15 de cultivo, a partir de dicho día se adicionó a la dieta una cantidad diaria de 3 a 5 artemias/larva, hasta el final del ensayo no se realizó un destete.

Respecto a las densidades a utilizar en el destete de *P. adspersus*, Silva (2001) reporta que la densidad es inversamente proporcional a la supervivencia y concluye que la mejor densidad a utilizar desde el punto de vista de la supervivencia sería de 1000 ind/ m².

En el tema de optimización de dietas, se realizó un experimento para determinar el nivel adecuado de proteína en el cultivo de juveniles de lenguado *P. adspersus* utilizando ejemplares de 131,3 ± 23g, cultivados en estanques semicirculares con sistema de recirculación abierto de agua de mar en densidades de 5,5 kg m⁻². Se utilizaron tres dietas elaboradas a base de harina de pescado y formuladas con tres niveles de proteínas (48, 57 y 60%) las cuales se compararon con una comercial con

54% de proteína (BIOMAR S.A.) Los resultados indican que el rango ideal de proteínas para el cultivo de juveniles, utilizando la harina de pescado como fuente principal de proteínas, está entre 54 y 57% (Piaget *et al*, 2011).

Los peces planos típicamente presentan pigmentación asimétrica externa. El lado ocular de los peces es de color marrón, mientras que el lado ciego es totalmente blanco. Sin embargo, se ha informado de anomalías de pigmento que se produzca en ambos lados de los peces planos pseudo-albinismo, resultados en manchas blancas o zonas que carecen de pigmentación normal en el lado ocular de la piel, a veces sobre toda la superficie. El lado ciego, normalmente carecen de coloración, puede mostrar hipermelanosis en forma de manchas oscuras (Venizelos y Benetti, 1999).

Vizcaíno-Ochoa *et al.* (2010) mencionan que en *Paralichthys californicus* los problemas en la producción de juveniles con fines comerciales es el alto porcentaje de peces mal pigmentados después de la metamorfosis (hasta 80%). Este problema parece estar relacionado, a las deficiencias nutricionales durante el período larval, en particular, a las cantidades y proporciones de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) en la dieta.

Las anomalías de pigmentación se producen en el lado ocular de los peces planos y los procesos responsables todavía son desconocidos. La pigmentación parece estar regulada por un mecanismo en los primeros estados de desarrollo (Soares F. et al., 2002)

El proceso de deshabitación o destete consiste básicamente en el reemplazo del alimento vivo (*Artemia*) por alimento inerte de diferentes tamaños (0,2-1,0 mm) en un período variable de 10 y 15 días. El éxito o fracaso de la transición entre tipos de alimentos en el destete, depende en gran medida de la microdieta; su frescura, formulación, digestibilidad y aceptación (Devresse *et al.*, 1991). En *P. adspersus* este proceso se efectúa normalmente en estanques semicirculares o rectangulares de 400-1000 L, fondo plano, con una columna de agua no mayor a 50 cm de alto y densidades entre 2.000-3.000 ind/m², obteniéndose supervivencias de 60-70% (Silva y Vélez, 1998). Al mismo tiempo es importante mencionar que a diferencia de otros peces planos los juveniles de *P. adspersus* necesitan evitar el contacto con el fondo del estanque durante este proceso, por lo cual se utilizan jaulas de malla flotantes al interior de los estanques normalmente hasta el término de la etapa de crianza (nursery). Esta estrategia permite mejorar la limpieza de los estanques y aumentar significativamente la supervivencia en esta etapa (Silva y Oliva 2010).

Lazo (2000) menciona las diferentes estrategias para el uso de dietas artificiales en el cultivo de larvas de peces marinos, siendo estos: 1) El uso directo, es el suministro de las dietas artificiales cuando las larvas presentan un estado avanzado de desarrollo al iniciarse la alimentación exógena. Se emplea en especies de agua dulce y salmónidos. 2) El destete tardío, se usa cuando la larva desarrolla un estómago funcional, por lo que es posible alimentarlas directamente con alimento artificial. Por lo general, se lleva a cabo entre el primer y segundo mes de desarrollo. En ocasiones es difícil lograr que el animal acepte la dieta artificial una vez que se ha habituado al alimento vivo por un período prologando. 3) Destete progresivo, es cuando el alimento

artificial se suministra en conjunto con el alimento vivo, es decir que a través del tiempo se va incrementando la proporción de la dieta artificial y se reduce el alimento vivo. Esta estrategia es la que ha tenido mayor éxito con diversas especies de peces marinos (Holt, 1993; Person-Leruyet, 1993).

La co-alimentación se plantea como una estrategia para reducir la utilización de alimento vivo durante la primera alimentación de larvas de peces (Lazo *et al.*, 2000) siendo importante resaltar que permite que las larvas se acostumbren a la presencia de la microdieta y la asimilen como una parte integrante de su entorno disminuyendo el trauma que significa el destete (Cahu y Zambonino, 2001). Es similar al destete progresivo ya que se le define como alimentar con dietas inertes y vivas al mismo tiempo. La diferencia radica en que esta estrategia de alimentación engloba además la utilización de microalgas en un cultivo de agua verde del cual se discute si las algas actúan por ingesta directa de las larvas o mejoramiento nutricional de las presas vivas, o si su presencia mejora la comunidad microbiológica del agua, de los rotíferos y de las larvas, o incrementa el consumo de presas por efecto de un cambio en las condiciones de luz del tanque. En términos generales las experiencias con producción de larvas de peces planos muestran mejores resultados con el agua verde, además de los tradicionales rotíferos y artemia. (Silva, 1999). Esta información es confirmada por Bengtson *et al.* (1999) en su ensayo donde se evaluó estrategias de destete de ejemplares de *Paralichthys dentatus* recién metamorfoseados. Para ello llevaron a cabo un experimento donde la cría de larvas en “agua verde” (con adición de microalgas) produjo una mejor supervivencia ($76,1 \pm 6,5\%$) entre los días 5 y 42 DDE, que las larvas cultivadas en “agua clara” ($27,86 \pm 13,6\%$), aunque no hubo

diferencias significativas en el crecimiento. Además el mismo estudio menciona que tuvieron mejor supervivencia en la etapa de destete utilizando una transición entre los tipos de alimento que utilizando el destete directo.

Diversos autores coinciden en que la importancia de coalimentar a las larvas con alimento vivo y formulado, es una de las estrategias de destete que más éxito ha tenido, ya que permite que las larvas se vayan adaptando de una manera gradual a las características físico-bioquímicas de la nueva dieta (Holt, 1993; Cahu & Zambonino, 2001; García-Ortega *et al.*, 2003; Hamza *et al.*, 2007). Por ejemplo, en el lenguado de Florida “Southern flounder” *Paralichthys lethostigma* la utilización del destete de forma progresiva fue favorable obteniéndose mejores resultados en crecimiento y supervivencia (Daniels y Hodson., 1999). También Ferretto *et al.*, 2008 evaluó el efecto del tiempo de co-alimentación en la supervivencia y el crecimiento de lenguado brasileño *Paralichthys orbignyanus*. En este experimento existieron tres tiempos de coalimentación (15, 20 y 25 días) todos a partir de los 32 DDE, Los peces del grupo control, alimentados con artemia, únicamente, mostraron significativamente mayor ($P < 0.05$) supervivencia (82%), peso (480 ± 157 mg) y longitud total ($35,5 \pm 5,0$ mm) que los lenguados destetados, independientemente del período de co-alimentación. El crecimiento fue similar ($P > 0.05$) para los juveniles alimentados con dietas secas, pero una tasa de supervivencia más alta se registró cuando el período de co-alimentación fue más largo.

Por otro lado en una experiencia acerca del destete a diferentes edades de *Rhombosolea tapirina* concluye que los peces destetados a partir de los días 50 en

adelante presentan mayores mortalidades que los destetados a menores edades, aunque no existe una diferencia en el peso final. Además en la misma experiencia se comprobó que es posible el destete a los 23 DDE (82,2% con una coalimentación de 10 días) existiendo una relación directa entre la supervivencia y el tiempo de coalimentación (Hart y Purser, 1996).

Sin embargo, Ribeiro *et al.* (2005) indican que esta estrategia no se recomienda en periodos largos, ya que se evidenció que en larvas del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) el animal se acostumbró a la presencia de alimento vivo (que por lo general prefiere) reduciéndose las tasas de ingestión del alimento formulado hasta en un 50%.

Benetti (1997) obtuvo entre el 50% y 70% de supervivencia de *Paralichthys woolmani* a los 14 DDE (días después de eclosión) y una alta mortalidad durante la metamorfosis que redujo la tasa de sobrevivencia en la etapa juvenil hasta el 5% (intervalo 3-8%). Los peces que no iniciaron el proceso de metamorfosis fueron los que representaron la mayor parte de la mortalidad alcanzada (95%) durante esta etapa. El destete en este experimento se inició en el día 27 donde se reemplazó gradualmente el alimento vivo por microdieta seca (LansyT™ weaning diets from INVE Aquaculture NV) y a partir de la semana 5 se inició la alimentación con alimento semi-húmedo (30-50% humedad, 50% proteína y 12% grasa) elaborado con pescado blanco, calamares, kril, aceite de pescado, vitaminas y minerales.

En cuanto a experimentos de destete, Lee y Litvak (1996), evaluaron el destete de juveniles metamorfoseados (47 DDE) de lenguado *Pleuronectes americanus*,

utilizando dos dietas (High, Crey Feeds Mills, Fredericton, Canadá y Nippai SFI-3, CATVIS, Hertogenbosh, The Nederland) encontrándose una supervivencia del 92,2 y 90,7 % para la microdieta High y Nippai respectivamente al día 7 del experimento (fin del destete) y 71,1 y 68,2% al día 37 (final del experimento).

Por su parte Lazo *et al.* (2004) evaluaron tres microdietas (dos experimentales y una comercial) en el destete de *Paralichthys californicus*. Las larvas fueron alimentadas con presas vivas enriquecidas con ácidos grasos altamente insaturados en 5 rotíferos / ml desde la primera alimentación en día 3 hasta el día 16 de edad, y Artemia a 5-7 / ml a partir de entonces. La microdieta se empezó a utilizar al día 20 y se co-alimentó con artemia hasta el día 26 (destete completo). Las microdietas utilizadas para cada tratamiento fueron: MCB que utiliza quistes de Artemia como una fuente de proteína, y MED a base de productos de la pesca frescos secado por pulverización. La dieta comercial (ALH) se utilizó como un tratamiento de referencia, y en el tratamiento control (CTR) se utilizó presas vivas únicamente. El crecimiento en términos de longitud estándar, peso húmedo, y el peso seco fue significativamente ($P < 0,05$) más bajo para las microdietas que el tratamiento de control, pero no hubo diferencia significativa entre ellas. En cuanto a la mortalidad, se encontraron diferencias entre ellos. Sin embargo, hubo significativamente mayor mortalidad para los tratamientos ALH y MCB en comparación con los tratamientos MED y CTR.

Faulk y Holt (2009) experimentaron con regímenes de destete temprano en *Paralichthys lethostigma*. Estos consistían en un tratamiento control con alimentación consistente únicamente en presas vivas (C) donde se suministró rotíferos (2-3/ml)

desde el día 4 al 23 y artemia (0,5 – 1/ml) desde el día 24 al 35 después de la eclosión y tres tratamientos donde se combinaba la dieta con alimento vivo y balanceado (Otohime). La adición de la microdieta para cada tratamiento (excepto el control) inició a los 11 DDE y la alimentación con presas vivas finalizó a los 17, 23 y 29 DDE según el tratamiento (T17, T23 Y T29 respectivamente). Después de iniciado el suministro de microdieta éste se incrementó gradualmente de 0,5 a 1,5 g/ tanque. Al final del estudio (35 DDE), la longitud estándar media y el porcentaje de peces asentados fueron significativamente mayores para los peces del tratamiento control (8,3 mm; 21,1%) que para los peces de los otros tres tratamientos (6,4 mm; 2,0%). La supervivencia media fue de 27,7% y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, el número de peces que presentan deformidades de la columna, lordosis, era significativamente menor en los tratamientos de control (C) y T29 (1,7%) que en los T17 y T23 tratamientos (25%).

Además Muguet *et al.* (2011) en su experimento con *Paralichthys californicus* donde evaluaron destetes a 4 diferentes edades (16, 26, 36, 46 DDE) concluyeron que la mejor edad para iniciar el destete fue de 46 DDE donde la supervivencia no tuvo diferencias significativas con tratamiento control ya que al final del ensayo (60 DDE) el tratamiento destetado al día 46 tuvo una supervivencia del 82,14% contra el 93,65% del control.

También en el lenguado *Solea solea* se realizó una deshabitación muy temprana, evaluando el destete en larvas con 27 DDE para el tratamiento control y 13 DDE para otros tres tratamientos. En el tratamiento control (FR-C) se co-alimentó a las larvas

con alimento vivo (nauplios de artemia) y microdieta hasta el 27 DDE (se utilizó AgloNorse, Ewos, Norway como microdieta seca). En los tratamientos de destete temprano se alimentó con presas vivas hasta que las larvas cumplieron 13 DDE, luego de ello se inició el suministro de microdieta balanceada únicamente, las microdietas utilizadas para cada tratamiento fueron: AgloNorse, Ewos, Noruega (FR-A), Gemma, Skretting Trouw, Francia (FR-G) y O.range Grande, INVE, Italia (FR-O). Al final del ensayo (29 DDE) la metamorfosis se completó y la pigmentación anormal fue del 0,1%, la talla y peso final alcanzada fue de $39,3 \pm 6,7$, $26,5 \pm 1,3$, $20,5 \pm 4,0$, $13,1 \pm 1,6$ mg y $16,7 \pm 2,1$, $14,6 \pm 2,7$, $14,7 \pm 2,9$, $11,9 \pm 1,9$ mm, en los tratamientos FR-C, FR-A, FR-G y FR-O, respectivamente, notándose un crecimiento superior en el tratamiento control y un resultado similar entre los otros tres tratamientos (Bonaldo, *et al.*, 2011).

El alimento Otohime fue utilizado en el estudio de Hauville *et al.* (2014), donde se evaluó 3 diferentes dietas; Otohime, Gemma y una dieta experimental LR803 desarrollada por la USDA (United States Department of Agriculture) concluyeron que no existe diferencia significativa en la supervivencia de pámpano (*Trachinotus carolinus*) utilizando estas dietas al obtener una supervivencia de $32,1 \pm 1,2$ %, $32,6 \pm 0,8$ % y $33,3 \pm 0,9$ % con las dietas Gemma, LR803 y Otohime respectivamente.

En tal sentido, dentro del alimento inerte utilizado para el cultivo de larvas de peces existen numerosas variedades, las cuales pueden ser diferenciadas de acuerdo al método de fabricación que se utilice para producirlo. Así, en el caso de las microdietas para larvas de peces se tienen tres tipos: micropartículas, microcápsulas y

hojuelas (Langdon, 2000; Lazo, 2000). Actualmente este estudio es la primera experiencia sobre investigaciones en el destete de *P. adspersus*, sin embargo, tal como se han presentado en párrafos anteriores, existen trabajos realizados en otras especies de peces planos cuyos resultados han servido para el desarrollo del presente trabajo.

7. METODOLOGÍA

7.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se realizó en el laboratorio de Cultivo de Peces del Centro de Investigaciones Acuícolas (CIA) Alexander Von Humboldt del Instituto del Mar del Perú. Chucuito-Callao.

7.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es un trabajo de investigación básica, el presente busca, agenciándose o validándose con antecedentes, evaluar tres microdietas diferentes en el destete de *Paralichthys adspersus* al comparar y conocer la aceptación de las dos dietas experimentales con la comercial, así se podrá entender mejor los requerimientos nutricionales en la etapa de destete de la especie en estudio, así como también conocer cuál es la técnica de elaboración de la microdieta que mejores resultados ofrece. Todo con la finalidad de aplicar los resultados a la realidad, en cultivos a nivel productivo.

7.3 VARIABLES DEL ESTUDIO

7.3.1 Variables independientes

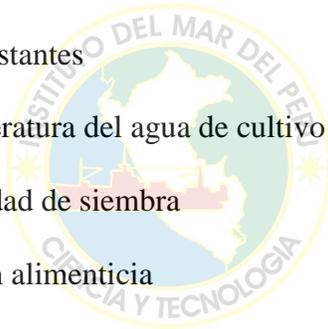
Tipo de microdieta

7.3.2 Variables dependientes

- Supervivencia
- Longitud final
- Peso final

7.3.3 Variables constantes

- Temperatura del agua de cultivo
- Densidad de siembra
- Ración alimenticia



7.4 MATERIALES, EQUIPOS Y OTROS

7.4.1 Material biológico

- Especímenes de *Paralichthys adspersus* de 35 días después de eclosión (DDE) (3600 individuos).
- Alimento vivo (Rotíferos y Artemia).

7.4.2 Equipos del sistema de recirculación.

ITEM	CANTIDAD
Biofiltro	2
Esterilizador UV	2
Bomba de agua M-PM27 IWAKI	4
Bomba de calor M-DSHP8 DELTA STAR	2
Tanque de 150 litros	9
Tanque de 300 litros	4
Tanque pulmón de fibra de vidrio	2
Compresor de aire	1
Aire acondicionado YORK	1
Piedras difusoras	15
Manguera de acuario (m)	30
Calentador con termostato	4
Tubos y llaves de PVC	-

7.4.3 Equipos y materiales para recolección de datos e investigación

- Equipos

ITEM	CANTIDAD
Microscopio trinocular LEYCA con cámara	1
Estereoscopio trinocular LEYCA con cámara	1
Laptop HP	2
Estufa	1
Multiparámetro Thermo Scientific	1
Balanza digital METTER TOLEDO	1
Balanza analítica Kern ABJ	1

- Materiales

ITEM	CANTIDAD
Porta objetos	100
Cubre objetos	100
Vaso de precipitados 500 ml	2
Vaso de precipitados 250 ml	2
Vaso de precipitados 50 ml	2
Papel aluminio (rollo)	1
Desecador	1
Piseta con agua destilada	1
Alcohol frasco x 1L	1
Pinza	2
Guantes quirúrgicos (cajas)	1

7.4.4 Materiales de limpieza y mantenimiento

ITEM	CANTIDAD
Detergente x 1 kg	1
Legía x 1L	1
Espojas	2
Mangueras de acuario (2m)	1
Mangueras de ½ pulg. (2m)	1
Red o malla de acuario	2
Papel toalla (rollos)	2
Balde de 20 L	2



7.4.5 Alimento

ITEM	CANTIDAD
Quistes de artemia lata x 1 lb	1
Alimento Otohime x 2 kg	1
Alimento MEM x 1 kg	1
Alimento PARA x 1 kg	1

7.4.6 Materiales de oficina

ITEM	CANTIDAD
Cuaderno bitácora	1
Papel bond	500
Lapiceros	5
Formatos de recolección de datos	6
Cinta de embalaje	1



7.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El experimento se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de cultivo de peces del CIA ALEXANDER VON HUMBOLT, pertenecientes al IMARPE, dentro de un periodo de 60 días entre los meses de diciembre de 2014 y febrero de 2015 contados a partir de la eclosión.

7.5.1 Captación del agua de mar

El abastecimiento del agua de mar para el laboratorio de cultivo de peces se realiza mediante el bombeo del agua del medio natural (figura 3) con el uso de una bomba de 3hp (1) y es filtrada con filtros mecánicos de grava de cuarzo (2, 3, 4 y 5) antes de ser almacenado en tanques de 11 y 25 m³ (6 y 7) para su distribución mediante una bomba de agua (8) a los diferentes laboratorios del CIA von Humbolt.

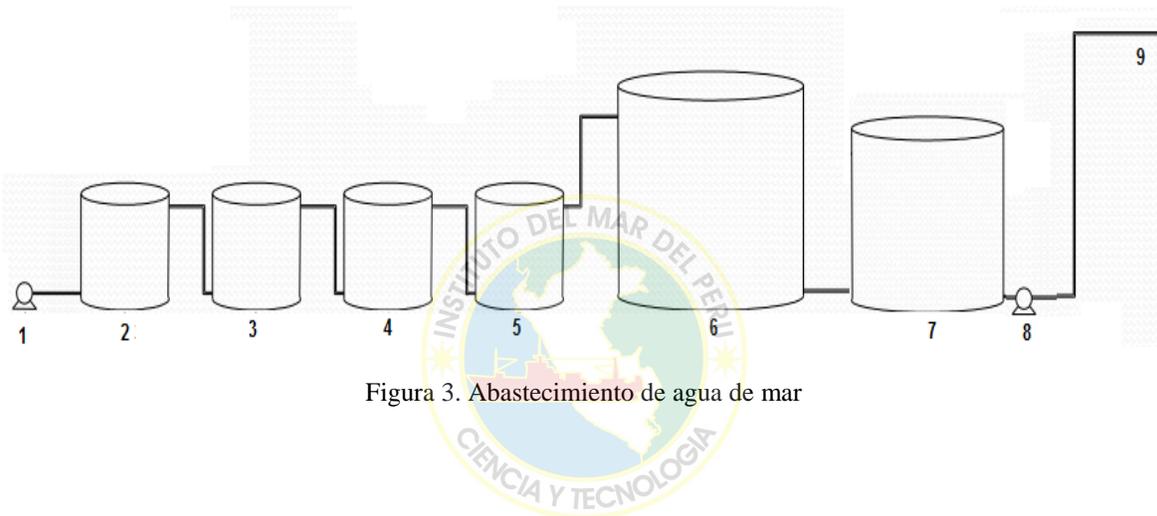


Figura 3. Abastecimiento de agua de mar

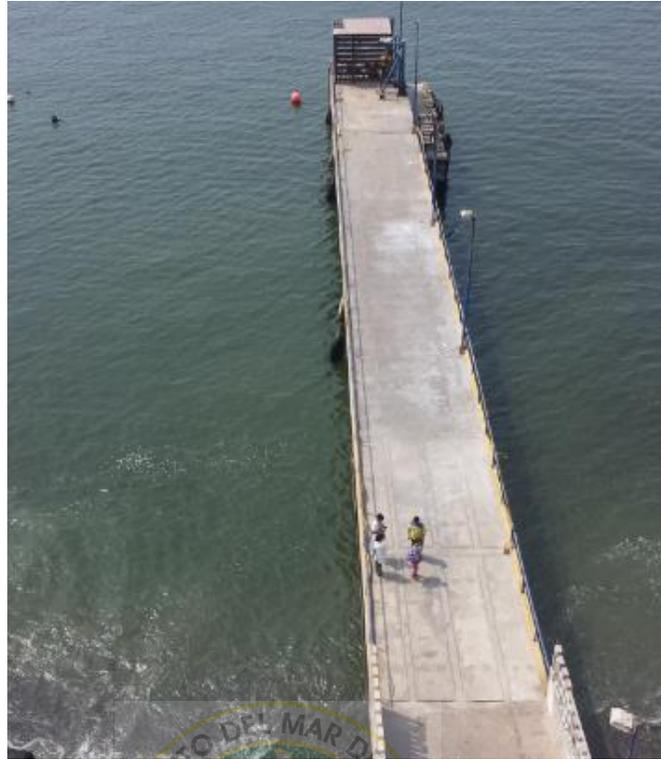


Figura 4. Muelle y caseta de bombeo de agua de mar

7.5.2 Obtención de larvas

Las larvas de *P. adspersus* que se utilizaron en el ensayo provienen del desove de dos hembras, A y B, las cuales fueron inducidas 48 horas antes del desove con la hormona análoga de GnRH (Conceptase, Intervet, Alemania), inyectada intraperitonealmente en la base de la aleta pectoral de cada hembra a una sola dosis de 0,1 mL/kg equivalente a 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de pez.

La obtención de los ovocitos ovulados por las hembras inducidas se realizó mediante presión abdominal o *stripping*; estos se colectaron en un vaso de precipitado de 500 mL, se pesaron y mantuvieron a una temperatura de 5°C. El semen de cuatro machos

de la especie, también fue obtenido por presión abdominal y se colectó en jeringas de 1 mL (Ceccon *et al.*, 2010). El semen colectado fue adicionado a los óvulos y con la ayuda de una pluma se mezcló suavemente durante 5 minutos (Berlinsky *et al.*, 1997) (figura 5). Luego, se transfirieron los huevos a probetas de 1 L, dejándolos en reposo por 30 minutos, para la separación de huevos viables de los no viables (flotantes y sedimentados respectivamente) (figura 6).

Los huevos viables se sembraron en dos tanques (uno para el desove de cada hembra) con fondo cónico de 150L de capacidad conectado a aireación y en sistema estático, con una temperatura de agua de 18°C y sin iluminación directa (figura 7). La eclosión comenzó a los dos días posteriores a la siembra.

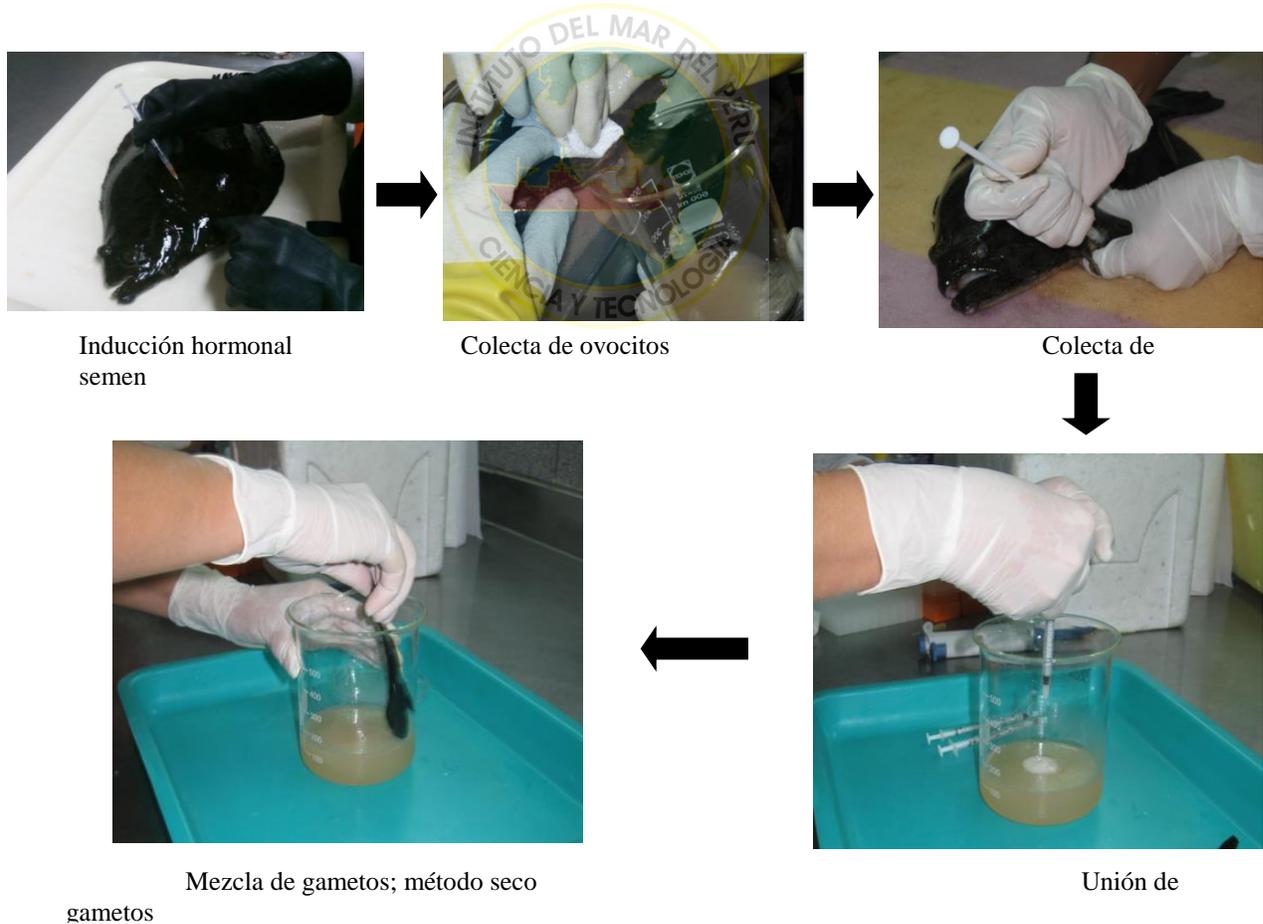


Figura 5. Fertilización artificial de ovocitos de *P. adspersus*



Figura 6. Probetas con huevos



Figura 7. Tanques cónicos de incubación

7.5.3 Cultivo de larvas

a) Siembra en tanques de cultivo

Una vez ocurrida la eclosión, las larvas fueron sembradas a tanques de 500 L para su cultivo, con ayuda de recipientes de dos litros (jarras) se tomó agua con larvas de los tanques de eclosión. Las jarras conteniendo las larvas fueron colocadas sobre la superficie de agua de los tanques de 500 litros y se dejó flotar hasta que las temperaturas del agua de la jarra y el tanque se equilibraran. Posteriormente, se vertió el contenido de la jarra al tanque de 500 litros. Se realizó lo anterior hasta trasladar la totalidad del volumen de agua y larvas de los tanques de eclosión. Luego del traslado se instalaron calentadores de agua a los tanques y se les subió la temperatura del agua hasta 20 °C gradualmente en 2 días.

Las larvas eclosionadas de la hembra A y B se colocaron por separado, éstas poseen un saco vitelino, el mismo que les sirve como alimento los dos primeros días de vida, por lo que no se agregó ningún tipo de alimento en este tiempo donde además permanecieron a oscuras y sin recambio de agua.

Durante la etapa de cultivo larval se mantuvieron a las larvas en un sistema estático con aireación constante, calentadores de 300W configurados a una temperatura de 20°C e iluminación directa para que puedan alimentarse.

b) Limpieza y mantenimiento

A partir del quinto día, diariamente, se realizó un recambio del 100% del agua de cultivo, sifonando el agua del tanque con una manguera que se sumergía al agua cubierta con un tamiz de 100 μ m de apertura de malla, esto para evitar succionar a las larvas. Paralelamente al sifoneo, se adicionaba a los tanques de cultivo agua filtrada (a 1 μ m) y esterilizada con luz ultravioleta. Por medio de una manguera que tenía atada a la punta dos mangas filtrantes de 1 y 5 μ m. La acción descrita se realizaba sin modificar el nivel del agua de cultivo y con un caudal de ingreso y salida aproximado de 0,5 L/s, procurando que el cambio no sea brusco, el tiempo de recambio lo determinaba la turbidez del agua, cuando ésta estaba totalmente transparente se daba por finalizado (Figura 8).

A partir del décimo día se inició la limpieza de paredes y fondo del tanque con ayuda de una esponja con el cual se pasaba cuidadosamente por la superficie interna del tanque procurando no perturbar a las larvas, esto mientras se recambiaba el agua con

la técnica antes descrita. Adicionalmente, después de la limpieza, se agregó a cada tanque de cultivo, 5L de microalgas (*Nannochloropsis oceánica* e *Isochrhysis galbana* a razón de 3:1 respectivamente), técnica de agua verde (protocolo IMARPE).



Figura 8. Recambio de agua y limpieza de tanques de cultivo

c) Alimentación

El suministro de alimento vivo se inició a partir del segundo DDE (día en que empiezan a diferenciarse los ojos) por lo cual se les empezó a suministrar rotíferos

(*Brachionus plicicatis*) enriquecidos, a una ración inicial de 1 rot/ml la cual se incrementó gradualmente hasta los 7 rot/ml en el día 17 después de eclosión, para ser después reducida a 1 rot/ml en el día 27, al día 28 de vida la larva dejó de recibir rotíferos.

En cuanto a los nauplios de artemia, el suministro se inició al día 20 de edad de la larva (en simultáneo con los rotíferos) con una ración inicial de 1art/ml la cual se incrementó a 5 art/ml hasta el día 34 de cultivo. El alimento vivo se agregó dos veces al día, por la mañana (al finalizar la limpieza) y por la tarde. Esta acción se realizó después de la limpieza de los tanques y después de un conteo de la cantidad de individuos (alimento) por ml. El conteo de rotíferos o artemia por ml se realizó tomando una muestra aleatoria del agua de cultivo con ayuda de una pipeta con embolo de la cual se vertió 1 ml a una luna de reloj y en ella se contó la cantidad de individuos de alimento vivo. La cantidad de alimento en el agua de cultivo fue definida por una tabla de alimentación del Protocolo de alimentación IMARPE (tabla 1). Por lo tanto, si después de un conteo era necesario agregar más alimento, se calculó la cantidad a agregar utilizando la siguiente fórmula.

$$A = \frac{V \times D2}{D1}$$

D1

Donde:

A: Volumen de agua con alimento a agregar

V: Volumen del tanque de cultivo

D1: Densidad de cultivo del alimento (ind/ml)

D2: Densidad de alimento necesario en el agua de cultivo (ind/ml)

Tabla 3. Protocolo de alimentación larval hasta los 34 DDE.

DDE	rot/mL	art/ml
2-5	1	
6-9	3	
10-12	5	
13-17	7	
18-19	5	
20	5	1
21-22	3	1
23-24	3	2
25-26	2	2
27	1	3
28-29		3
30-33		4
33-34		5

Protocolo IMARPE

Después del cálculo de la cantidad de alimento a suministrar, el alimento se agregó con ayuda de un vaso de precipitado al tanque de cultivo.

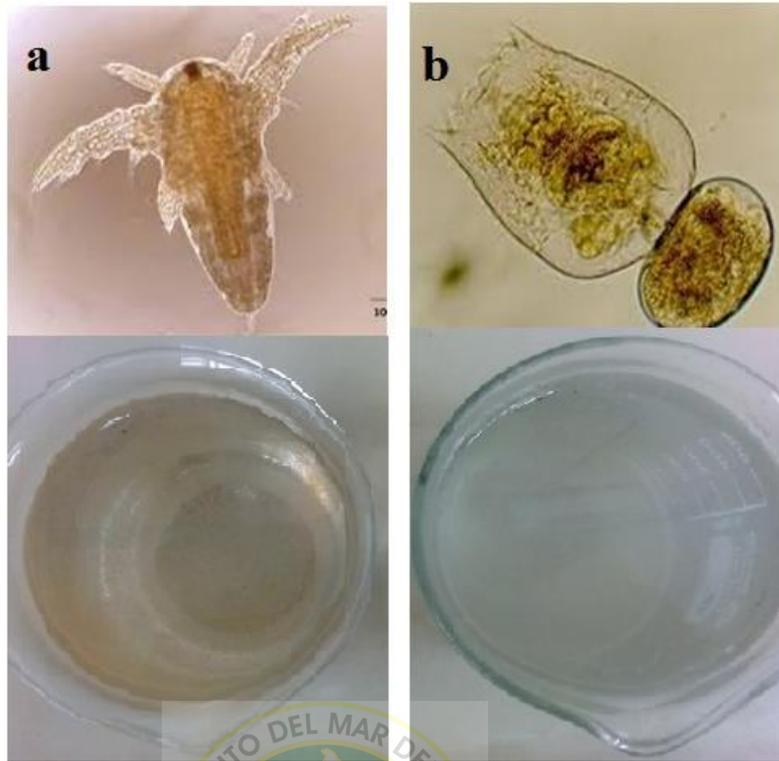


Figura 9. Alimento vivo. Vista al estereoscopio y en vaso de precipitados. a: artemia, b: rotíferos

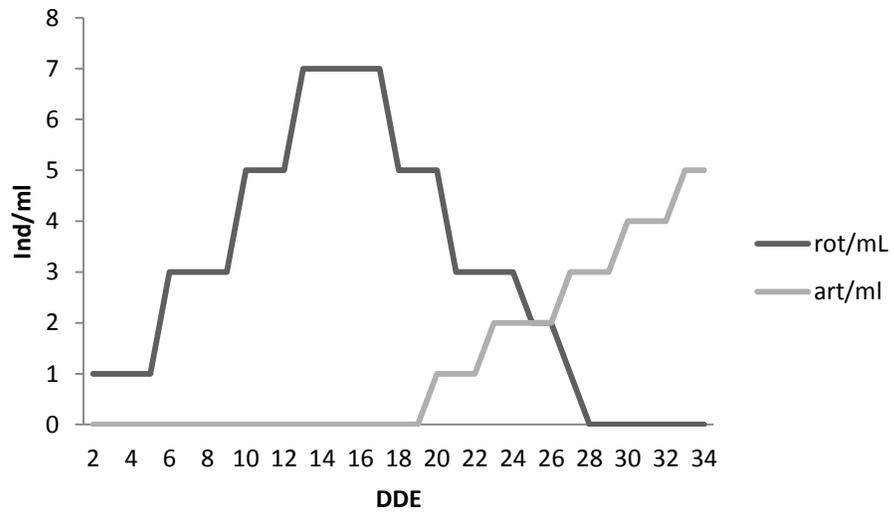


Figura 10. Alimentación proporcionada durante los primeros 34 días de edad de la larva.

7.5.4 Bioensayo de microdietas para el destete

a) Diseño experimental

El experimento constó de tres tratamientos, cada tratamiento está determinado por el tipo de microdieta con la cual se realizará el destete.

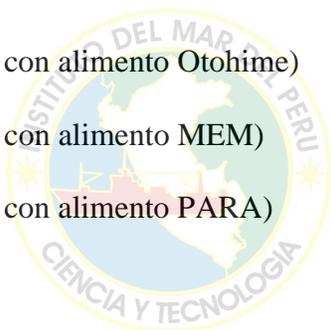
Las microdietas secas utilizadas fueron una comercial, Otohime y dos tipos de microdietas experimentales elaboradas con diferentes tecnologías: MEM (Micro-Extrusion Marumerization) y PARA (Particle Assisted Rotational Agglomeration).

Los tratamientos fueron denominados de la siguiente manera:

T1: Tratamiento 1 (destete con alimento Otohime)

T2: Tratamiento 2 (destete con alimento MEM)

T3: Tratamiento 3 (destete con alimento PARA)



Para desarrollar el experimento, se utilizaron dos sistemas de recirculación de características similares, cada uno con 5 tanques de cultivo de 150 L de capacidad, llenos a 100 L. Se sembraron aleatoriamente 400 larvas (4 ind/L) en cada tanque y se utilizaron nueve tanques en total (3 réplicas por tratamiento) cinco de los cuales son los incorporados al sistema 1 y cuatro al sistema 2.

Las réplicas de cada tratamiento se seleccionaron al azar entre los nueve tanques de cultivo (figura 11).

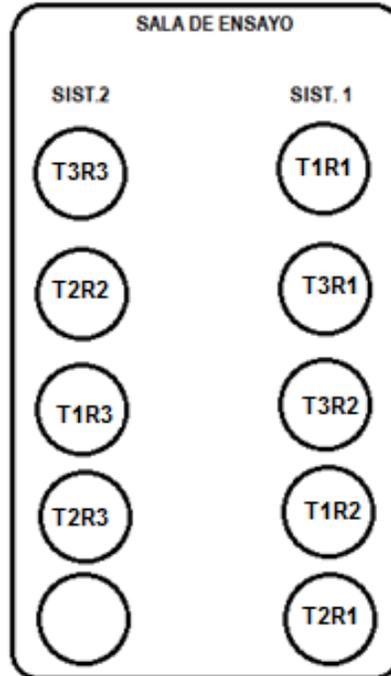


Figura 11. Distribución de las réplicas de cada tratamiento en la sala de ensayo. T: tratamiento, R: réplica.

Los tres primeros días de esta etapa, dos veces al día, se alimentó con artemia congelada combinada con artemia viva a razón de 1 y 4 ind/mL respectivamente con la finalidad de acostumar a las larvas al alimento inerte.

b) Sistema de cultivo

Cuando las larvas cumplieron 35 DDE, utilizando jarras de 2 L, se trasladaron a la sala de larvas en tanques circulares de 150 litros de capacidad con un volumen efectivo de 100 litros de agua (a 20 °C) (figura 12) los mismos que están integrados a dos sistemas de recirculación como el mostrado en la figura 13.

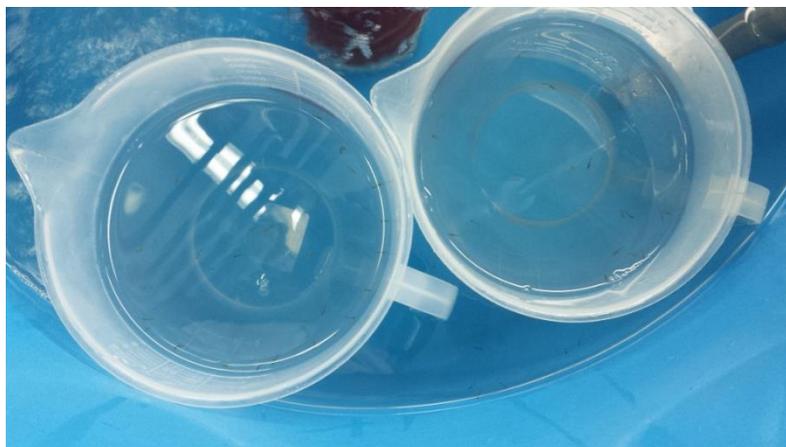


Figura 12. Siembra de larvas de 35 DDE en tanques de cultivo

La sala de larvas (Figura 14) cuenta con 2 sistemas de recirculación iguales e independientes configurados a 20 °C y cada uno de ellos posee 5 tanques de cultivo (1) y los siguientes componentes (Figura 12):

- Un tanque de compensación que regula el nivel de los tanques de cultivo (2).
- Seis filtros tipo cunco, cuatro de 5µm y dos de 1 µm.
- Una salida que toma al agua del tanque de compensación para ser recirculada (4).
- Una bomba que impulsa el agua a través del sistema (5).
- Un filtro mecánico (6).
- Un filtro biológico (7).
- Una bomba de calor (8).
- Un filtro de luz UV (9).
- Un tanque pulmón (10).
- Salida de agua y tubo de desagüe conectado al tanque de compensación. (11).
- Ingreso de agua para cada tanque (12).
- Un ingreso de agua del reservorio hacia el tanque pulmón (13).

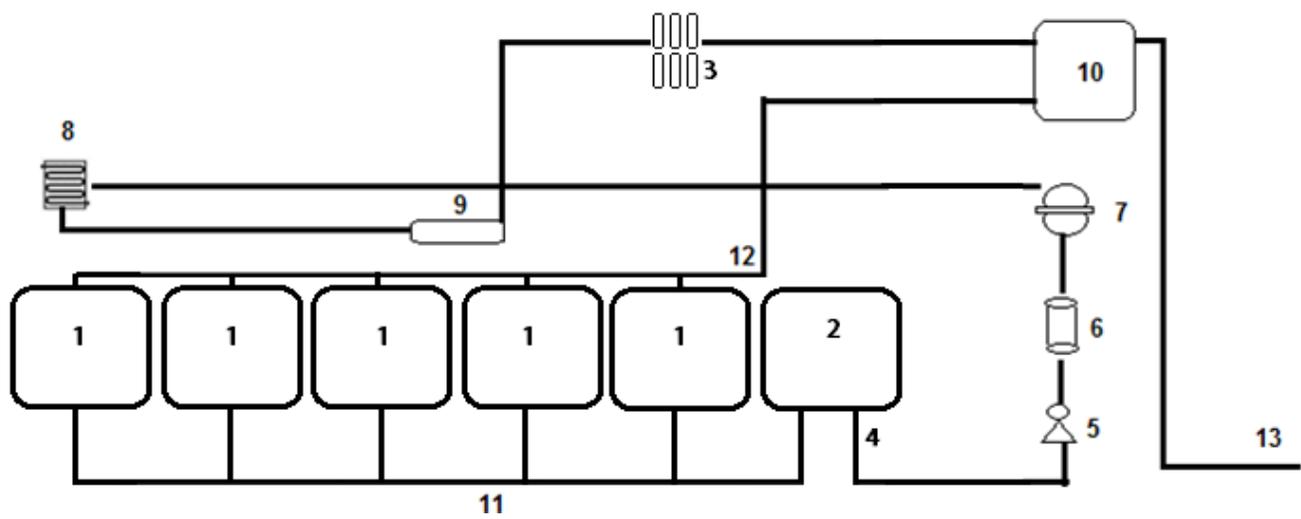


Figura 13. Detalle de un sistema de la sala de larvas



Figura 14. Sala de cultivo larval

c) Limpieza y mantenimiento

Con el sistema en posición “cerrado” los tanques de cultivo se mantienen en estático y el agua recircula entre el pulmón (Figura 13: 10), los filtros (biológico y mecánico) y los equipos (bomba de calor y esterilizador ultravioleta) para mantener el agua libre de contaminación y en la temperatura adecuada.

Para realizar la limpieza de los tanques diariamente se “abrían” los sistemas y se recirculaba el agua de los tanques por un lapso de dos horas en la mañana (de 8:00 a 10:00) y 1 hora en la tarde (de 14:00 a 15:00). Mientras se cambiaba el agua se realizó el sifoneo de los tanques con una manguera delgada y se limpiaron las paredes con ayuda de una esponja adherida a un tubo de PVC. Después de cada limpieza de los tanques y el recambio de agua se agregó dos especies de microalgas (200 ml de *Isochrysis galbana* y 800 ml de *Nannochloropsis* sp.) a cada tanque. La adición de microalgas fue hasta el día 45 de edad de las larvas (figura 15).



Apertura de sistema



Limpieza de fondo



Adición de microalgas



Sifoneo de fondo

Figura 15. Recirculación de agua y limpieza de tanques de cultivo

d) Alimentación

Al tercer día (38 DDE) se inició la adición de microdieta y se agregó diariamente combinada con artemia congelada, a las 10:00 y 12:00 horas del día mientras que a las 13:00 y 15:00 horas se agregó sólo alimento seco, a las 16:00 horas se alimentó con artemia viva. El día 50 se detuvo la alimentación con artemia. EL suministro de

la microdieta (a saciedad aparente) que inició en el día 38 con una ración diaria aproximada de 0,1g/tanque, se incrementó a 0,3g/tanque hasta el final del ensayo. Después del destete, se alimentó cuatro veces al día a horas 10:00, 12:00, 15:00 y 16:00 utilizando las raciones estipuladas en la tabla 4.

Tabla 4. Ración de alimento en la etapa de destete

DDE	Artemia (ind/mL)	Artemia congelada (ind/ml)	Microdieta (g)
35-36	4	1	0
37	3	1	0
38-40	3	1	0.1
41-44	2	1	0.2
45-50	1	2	0.2
51-60	0	0	0.3

(Protocolo IMARPE)



Figura 16. Alimentación. a: alimento vivo, b: microdieta



Figura 17. Microdietas utilizadas, vista al estereoscopio

7.5.5 Muestras y análisis.

- a) Seguimiento de parámetros físico-químicos del agua de los tanques de cultivo

Diariamente se tomaron los parámetros: Oxígeno disuelto, pH y temperatura con ayuda de un equipo digital Thermo Scientific a las 14:00 horas del día. Además, Periódicamente se realizaron mediciones de amonio, nitrito y nitratos así como del contenido de CO₂ dependiendo de las condiciones del agua de cultivo.



Figura 18. Medición de parámetros

b) Evaluación del crecimiento en longitud

Para determinar el crecimiento longitudinal se tomó una muestra de 30 peces por tratamiento (10 larvas por tanque) las cuales fueron observadas y medidas bajo un estereoscopio trinocular LEYCA utilizando el software LAS. Las mediciones se realizaron cada cinco días a partir del día primer día de ensayo.



Figura 19. Medición de longitud en software.

c) Evaluación del crecimiento en peso

Al inicio y final del ensayo (35 y 60 DDE respectivamente) se pesaron los peces, al día 35 se tomaron 30 larvas como muestra, al día 60 (fin del ensayo) fueron 10 peces por cada réplica.

Para el pesado, se utilizaron pequeños recipientes fabricados con papel aluminio a manera de pequeños crisoles, previamente rotulados y secados en una estufa a 70 °C por un lapso de 12 horas luego de las cuales se llevaron a un desecador donde enfriaron para pesarlos y conocer su peso sin muestra. Luego se colocó un pez en cada crisol, estos a su vez se colocaron dentro de una placa petri de 20cm de diámetro y fueron llevados nuevamente a la estufa a 70 °C por un lapso de 12 horas. Culminado el tiempo de secado se llevaron los crisoles a un desecador donde enfriaron para posteriormente ser pesados en una balanza analítica Kern ABJ 220-4M de lectura mínima de 0,1 mg.

La diferencia entre el peso del crisol con la muestra y el crisol solo, fue el valor del peso del juvenil

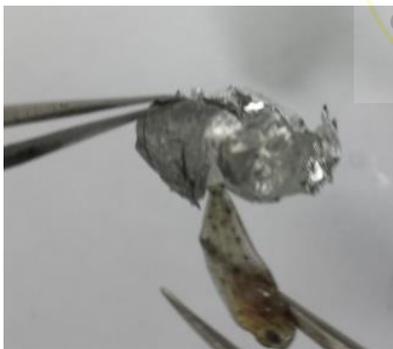


Figura 20. Colocando una muestra



Figura 21. Placas petri con crisoles y muestra

d) Evaluación de supervivencia

La tasa de supervivencia se calculó con el número final de juveniles en cada réplica con respecto al número inicial de siembra. Para esto se contó la totalidad de larvas vivas al finalizar el ensayo.

e) Evaluación de pigmentación y metamorfosis

Al final del ensayo cada juvenil pasó por una inspección ocular donde se determinó la condición de la metamorfosis (completa e incompleta) y de la pigmentación (normal y anormal), en cada tanque se contaron los juveniles que presentaban cada característica.

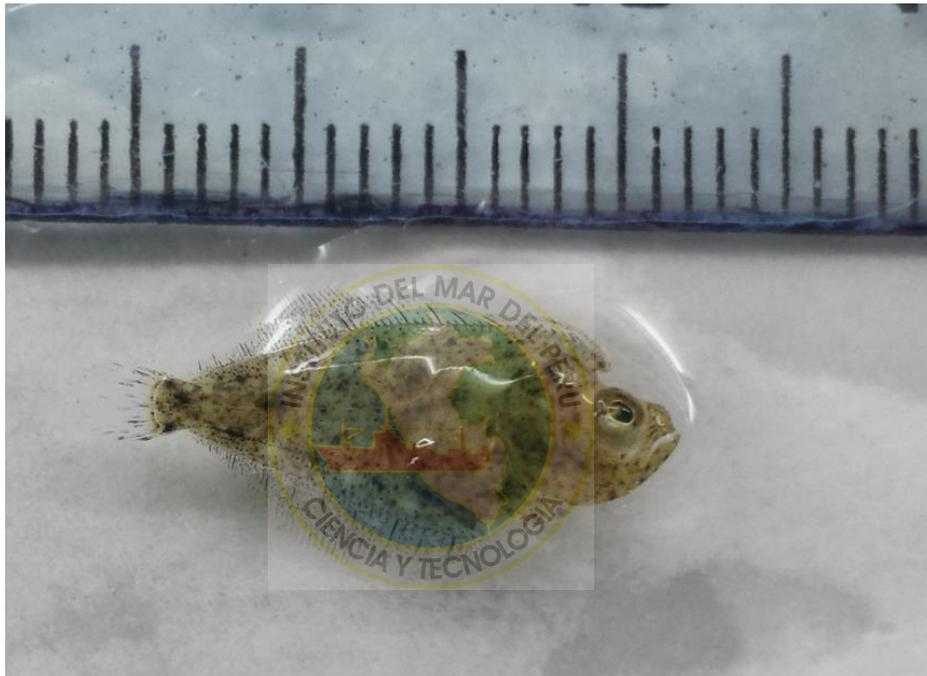


Figura 22. Juvenil de *P. adspersus* con metamorfosis incompleta



Figura 23. Juvenil de *P. adspersus* con pigmentación normal.

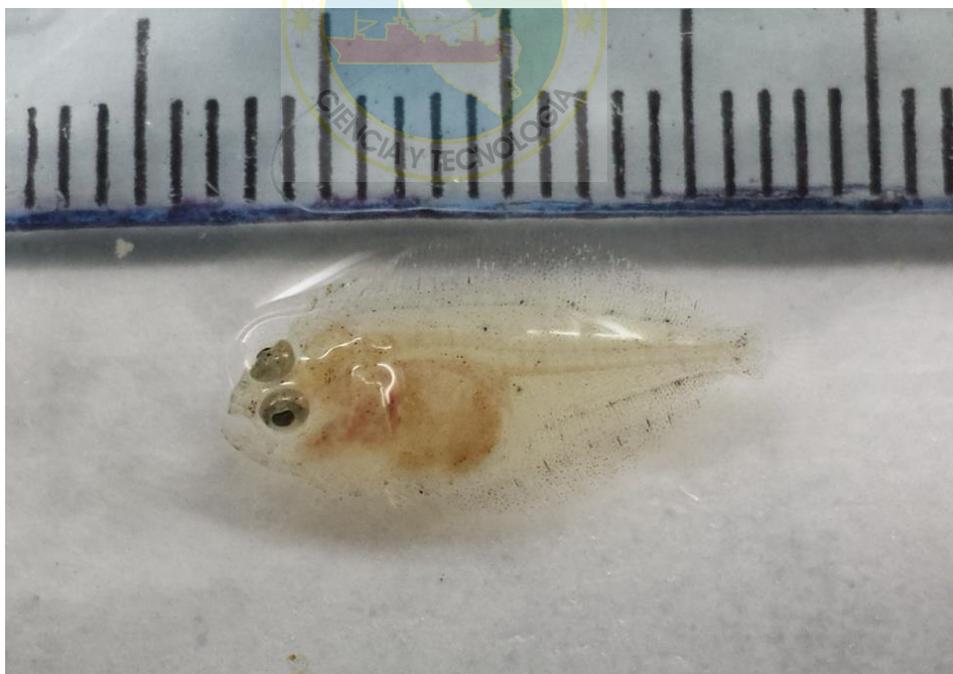


Figura 24. Juvenil de *P. adspersus* con pigmentación anormal.

f) Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se evaluó la normalidad de los datos con el test de Shapiro-Wilk y cuando fue necesario se realizó la transformación de logaritmo en base 10 o arcoseno. Para determinar las diferencias significativas entre los datos de crecimiento y supervivencia de los tratamientos se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) y cuando se encontraron diferencias significativas se aplicó la prueba de honestidad de varianza de Tukey (HSD). Para determinar la diferencia significativa entre los datos de las variables dicótomas (pigmentación y estado de metamorfosis) se utilizó el test de Chi-cuadrado. El nivel de confianza considerado para todos los análisis fue $\alpha = 0,05$ y el software estadístico utilizado fue el R 3.2.0 para Windows.

8. RESULTADOS

8.1 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE CULTIVO

En el ensayo de destete, los parámetros físico-químicos del agua de cultivo de los tratamientos se mantuvieron estables y dentro de los rangos apropiados de cultivo. La temperatura promedio registrada tuvo valores promedio de $20,04 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$ (T1); $20,04 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$ (T2) y $20,02 \pm 0,26^{\circ}\text{C}$ (T3) (Figura 25), el oxígeno disuelto promedio fue $8,02 \pm 0,84$ ppm (T1), $8,02 \pm 0,77$ ppm (T2) y $8,06 \pm 0,77$ ppm (T3) (Figura 27) mientras que el pH registro valores medios de $7,93 \pm 0,24$ (T1); $7,91 \pm 0,28$ (T2) y $7,94 \pm 0,26$

(T3) (Figura 26). Por otro lado, los compuestos nitrogenados, se mantuvieron dentro de los rangos óptimos manteniendo niveles de $\text{NH}_3 < 0,5\text{mg/L}$, $\text{NO}_2 < 0,5\text{mg/L}$ y $\text{NO}_3 < 10\text{mg/L}$ gracias al biofiltro y los recambios del 100% de agua diarios.

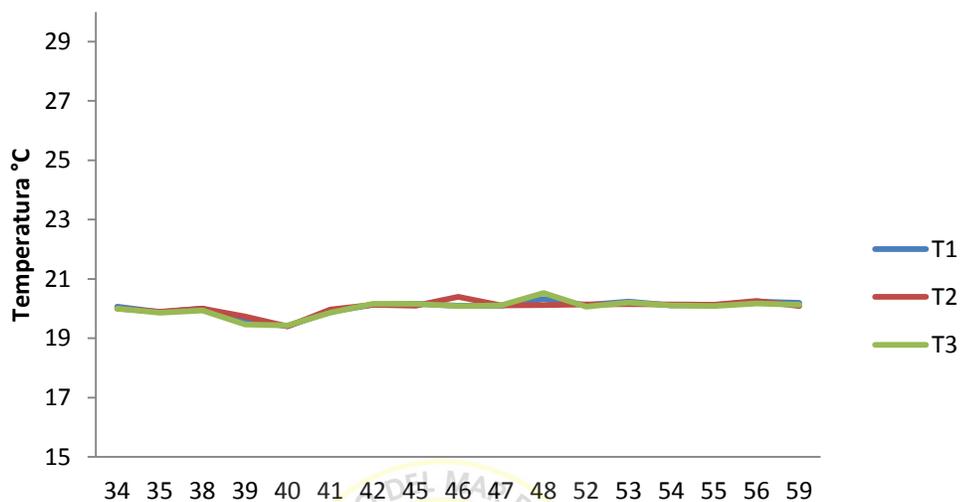


Figura 25. Valores de temperatura del agua de cultivo registrada a lo largo del ensayo.

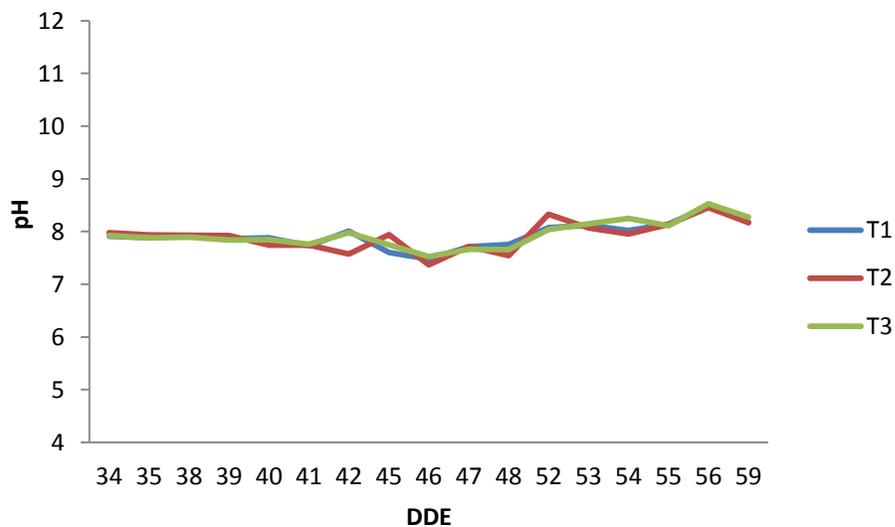


Figura 26. Valores de pH del agua de cultivo registrados a lo largo del ensayo.

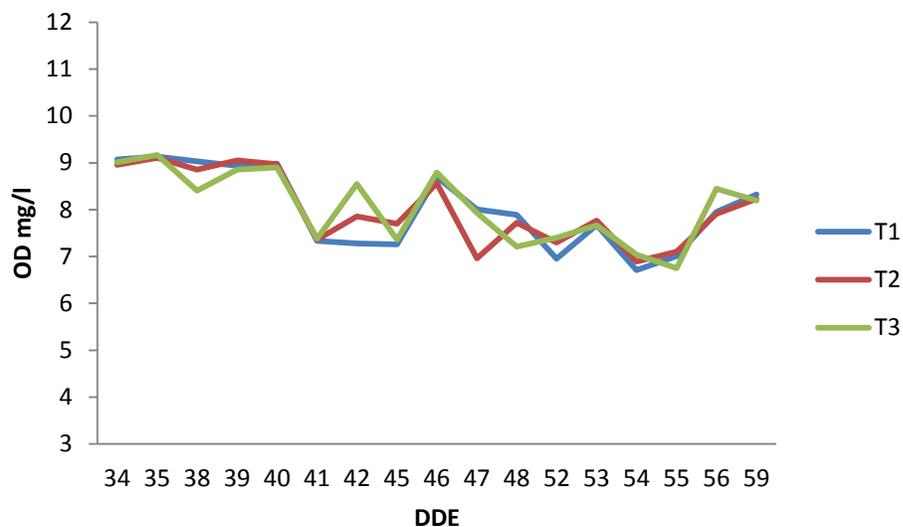


Figura 27. Valores de concentración de oxígeno disuelto en el agua de cultivo registrados a lo largo del ensayo.

8.2 CRECIMIENTO

El crecimiento longitudinal se evaluó durante todo el periodo experimental, en cada una de las fechas evaluadas se observa que existe una alta desviación estándar en las mediciones, lo que se debe a la gran dispersión de las longitudes dentro de una misma edad (Figura 28).



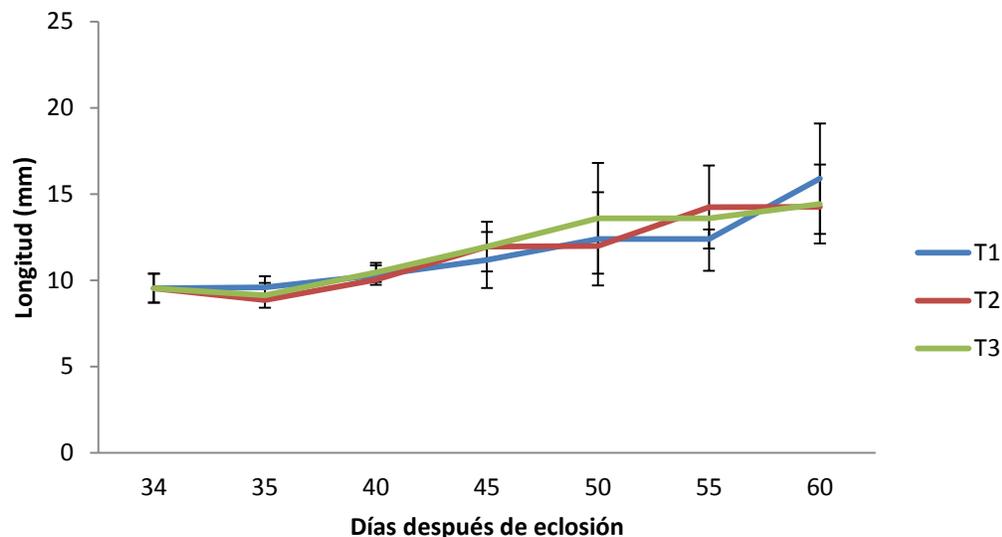


Figura 28. Crecimiento de los individuos en cada tratamiento T1, T2, y T3. Las barras de error representan la desviación estándar

Para evaluar el efecto de las microdietas sobre el crecimiento, se realizó un ANOVA para las variables longitud y peso promedio al final del bioensayo (60 DDE). La longitud promedio a los 60 DDE para cada tratamiento T1 (Otohime), T2 (MEM) y T3 (PARA) fue de $15,90 \pm 3,19$; $14,27 \pm 1,72$ y $14,43 \pm 2,28$ mm respectivamente. El peso seco promedio a dicha edad fue de $8,83 \pm 5,37$ mg (T1); $5,53 \pm 2,85$ mg (T2) y $7,10 \pm 3,56$ mg (T3). El análisis de comparación de medias de Tukey mostró que existen diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T2 ($p < 0,05$), mientras que entre los tratamientos T1 y T3 al igual que entre T2 y T3, no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) tanto para la longitud como para el peso seco final (Figura 29 y 30).

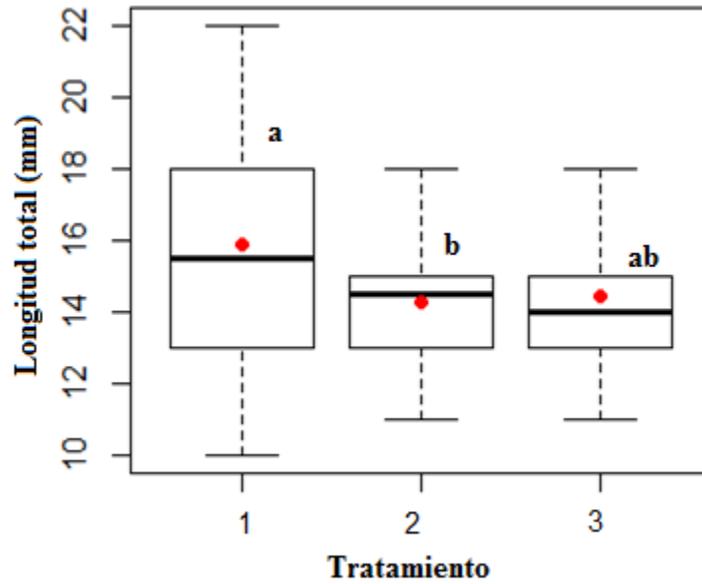


Figura 29. Diagrama de cajas de la longitud total a los 60 DDE alcanzada en cada tratamiento T1, T2 y T3. Los puntos rojos representan la media. Letras diferentes representan valores significativamente diferentes ($p < 0.05$)

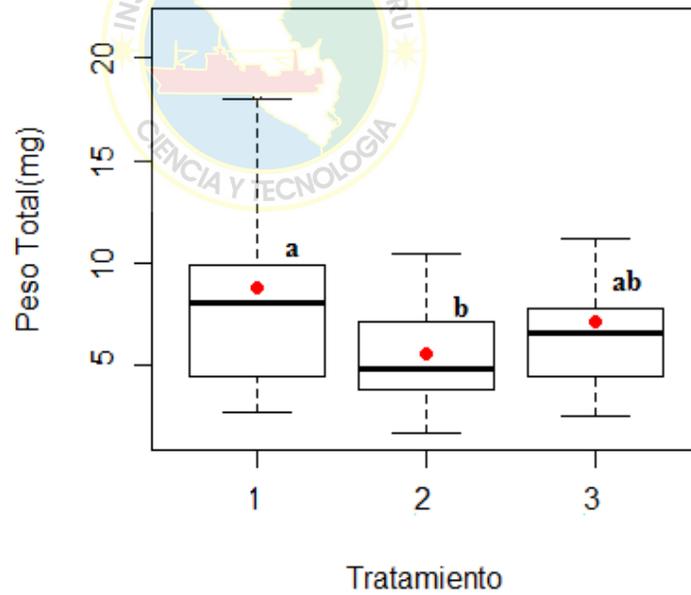


Figura 30. Diagrama de cajas del peso seco alcanzado por los individuos en cada tratamiento (T1, T2 y T3) a los 60 DDE. Los puntos rojos representan la media. Letras diferentes representan valores significativamente diferentes ($p < 0.05$)

8.3 SUPERVIVENCIA

Se evaluó la supervivencia en cada tratamiento, al final del ensayo (60 DDE), obteniendo $18,03 \pm 4,72\%$ en el T1 (Otohime), $16,33 \pm 1,89\%$ en el T2 (MEM) y $15,25 \pm 0,90\%$ en el T3 (PARA). El ANOVA reveló que no existen diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos ($p > 0.05$).

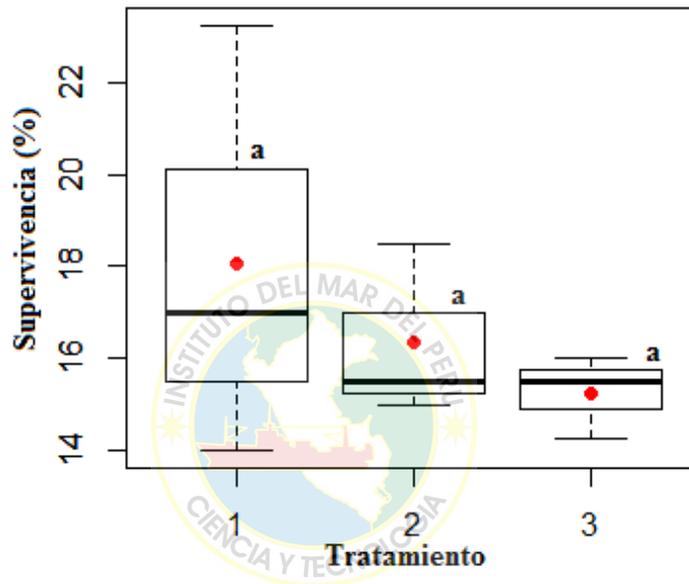


Figura 31. Diagrama de cajas de supervivencia en cada tratamiento. Los puntos rojos representan la media.

8.4 PIGMENTACIÓN Y METAMORFOSIS

Al finalizar el ensayo (60 DDE) se observó diferencias morfológicas y de pigmentación entre los individuos, por lo que se realizó un conteo de los peces que presentan características diferentes para comprobar si existe relación entre estas con el tipo de microdieta utilizada en el experimento de destete. Ambas características

fueron categorizadas en dos grupos; la pigmentación se diferenci6 en los que presentan pigmentaci6n normal y los que no (pseudalbinismo), mientras que la metamorfosis se separ6 en los que presentan metamorfosis completa e incompleta. Los resultados de la pigmentaci6n anormal o pseudalbinismo fueron del 15,44% para T1, 7,01% para T2 y 6,45% para T3, en tanto que para la otra caracteristica se obtuvo 20,29%(T1), 30,87%(T2) y 30,83%(T3) de individuos con metamorfosis incompleta. Se realiz6 una prueba de X^2 para ambos caracteres y se obtuvo como resultado que no existe diferencia significativa entre los tratamientos ($p>0.05$). (Figuras 32 y 33).

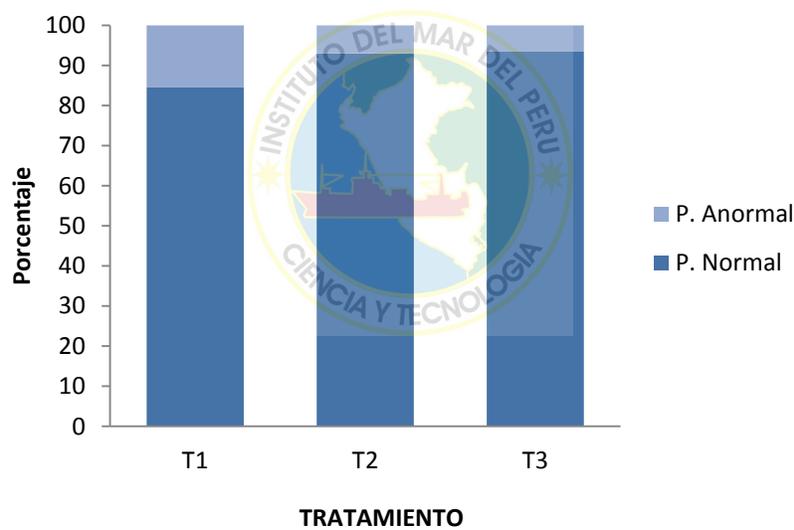


Figura 32. Porcentaje de pigmentaci6n anormal en cada tratamiento. No existe diferencia significativa entre los tratamientos ($P>0.05$)

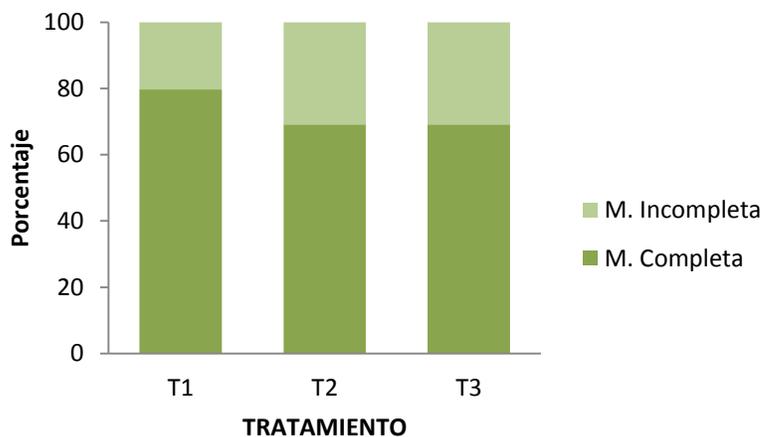


Figura 33. Porcentaje de metamorfosis completa e incompleta en cada tratamiento. No existe diferencia significativa entre los tratamientos ($P > 0.05$)

9. DISCUSIÓN

En acuicultura, el proceso de destete o deshabitación consiste en reemplazar el alimento vivo por alimento balanceado. En el experimento este proceso se realizó a lo largo de 10 días, ello de acuerdo a Silva y Oliva (2010) quienes mencionan que el tiempo de destete de *Paralichthys adspersus* normalmente se realiza entre 10 y 15 días, además la metodología, utilizada en el presente experimento, se sustenta de la experiencia de diversos autores, por lo cual se realizó un destete tardío iniciando al día 38 después de eclosión de acuerdo a Lazo (2000). De modo similar otros autores han realizado destete tardío en otras especies de lenguado como lo reportado por Lee y Litvak (1996) quienes compararon dos microdietas en *Pleuronectes americanus* iniciando el destete a los 47 DDE. Bengtson *et al.* (1999) en *Paralichthys dentatus* a los 45 y 57 DDE. El éxito del destete depende, en gran medida de la calidad de la microdieta (Devresse, *et al.*, 1991) y la técnica de destete (Lazo, 2000). Para disminuir el efecto de la técnica de destete sobre la supervivencia, en el ensayo

se realizó una coalimentación o destete progresivo suministrando la microdieta en simultáneo con el alimento vivo reduciendo la ración de la segunda e incrementando la primera a lo largo del proceso de acuerdo a Lee y Litvak (1996) quienes realizaron un destete de *Pleuronectes americanus* con una coalimentación a lo largo de 7 días. Además esta estrategia es la que ha tenido mayor éxito con diversas especies de peces marinos ya que permite que las larvas se vayan adaptando de una manera gradual a las características físico-bioquímicas de la nueva dieta (Holt, 1993) y la presencia de la misma asimilándola como una parte integrante de su entorno disminuyendo el “trauma” del destete (Cahu y Zambonino, 2001). Así en el lenguado de Florida “Southern flounder” *Paralichthys lethostigma* la utilización de esta metodología fue favorable obteniéndose mejores resultados en crecimiento y supervivencia (Daniels y Hodson, 1999) al igual que en el ensayo de Ferretto da Rocha *et al.* (2008) donde se obtuvo mejores resultados con tiempos de coalimentación de 25 días que 20 y 15 días antes del destete en *Paralichthys orbignyanus*.

En el experimento realizado, además se utilizó la técnica de cultivo en “agua verde” ya que las experiencias con producción de larvas de peces planos muestran mejores resultados con esta y debido a diferentes factores como: ingesta directa de las larvas, mejoramiento nutricional de las presas vivas, mejoramiento de la comunidad microbiológica del agua, de los rotíferos y de las larvas, o incremento el consumo de presas por efecto de un cambio en las condiciones de luz del medio (Silva 1999). De igual manera, autores como Bengtson *et al.* (1999) muestran que existe una considerable diferencia entre el cultivo larval con agua verde y clara, a favor del “agua verde” en el experimento con *Paralichthys dentatus*.

La medición de los parámetros físico-químicos en el cultivo son importantes ya que afectan no solo a nivel de la calidad del agua, sino también a nivel biológico (Castelló, 1993). La temperatura es uno de los parámetros más relevantes ya que los organismos requieren temperaturas óptimas para el desarrollo de su estructura y funciones ya que afecta los procesos fisiológicos relacionándose también con el crecimiento (Handelant *et al.*, 2008) (Crawshaw y Podrabsky, 2011) así mismo la fase larval es susceptible al cambio de temperatura (Green y Fisher, 2004). En el presente estudio, los valores de temperatura se mantuvieron estables y similares en los tratamientos, teniendo una temperatura promedio alrededor de los 20°C en todos los tratamientos, Silva y Oliva (2010) mencionan que la supervivencia y el crecimiento son inversa y directamente proporcionales respectivamente a la temperatura, sin embargo a diferencia de la temperatura registrada en el experimento, recomiendan que el cultivo larval de *P. adspersus* se realice a 18°C.

Los valores de pH y concentración de oxígeno disuelto promedio en el ensayo, tuvieron muy ligeras variaciones, además estos fueron similares entre los tratamientos registrándose valores alrededor de 8,03 mg/L para el oxígeno disuelto y 7,93 para el pH. Este último tiene efecto directo sobre la supervivencia, y a nivel biológico influye en el crecimiento, la mayoría de especies de peces crecen mejor en medios alcalinos (Castelló, 1993). En otra especie del mismo género (*Paralichthys orbygnianus*), Fraysee y Petraroia (2013) reportaron para su cultivo larval y de pre-engorde, parámetros de agua similares a los del presente experimento.

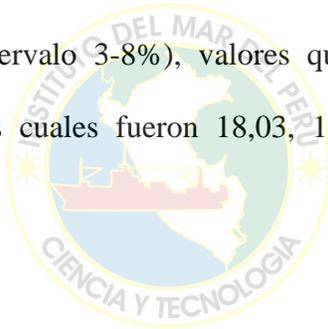
Al finalizar el ensayo (60DDE), la evaluación estadística de la longitud y peso seco promedio alcanzado en cada tratamiento muestra que solo existe diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos T1 y T2, las demás comparaciones entre los tratamientos no

muestran diferencias significativas ($p > 0,05$). Los valores de los tratamientos T2 y T3 resultan ser similares a los alcanzados por Silva y Flores (1988) en su experiencia con el desarrollo larval de lenguado *P. adspersus* a 18°C donde registraron, al día 61 después de eclosión, una talla promedio de 14,6 mm, por otro lado, la talla promedio final del tratamiento T1, en el ensayo, es superior por 1,3 mm a lo alcanzado por los autores mencionados donde no se realizó un destete, solo se alimentó con presas vivas, esto se puede deber a que la temperatura promedio del tratamiento T1 del presente experimento fue superior en 2,04°C a la mencionada por los autores.

La densidad utilizada en el experimento de *P. adspersus* (4 peces/L o 530 peces/m²) estaría dentro de un rango ideal de acuerdo a Silva (2001) quien concluye que la densidad ideal desde el punto de vista de la supervivencia sería de 1000 peces/m² o inferior.

En la producción de semilla de peces marinos, la etapa de destete es crítica y genera elevada mortalidad comparada a otras etapas (Schwartz, 2008), el éxito o fracaso de la transición entre tipos de alimentos en el destete, depende en gran medida de la microdieta; su frescura, formulación, digestibilidad y aceptación (Devresse *et al.*, 1991). La supervivencia alcanzada en el ensayo muestra valores de entre 15,25 y 18,03%, el análisis estadístico concluye que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que para fines prácticos el uso de cualquiera de las microdietas, evaluadas en el experimento, no tendría un efecto significativo en el número final de individuos. Cahu y Zambonino (2001) mencionan que los juveniles de peces marinos carecen de enzimas digestivas suficientes para digerir las dietas balanceadas, por lo tanto los elevados niveles de mortalidad ocurrida en el experimento podrían atribuirse a la incapacidad de las larvas y juveniles de procesar y asimilar las microdietas, a pesar que las consuman.

Un factor que hubiera mejorado la supervivencia registrada en el experimento de *P. adspersus* es el uso de mallas suspendidas dentro de los tanques tal y como Silva y Oliva (2010) mencionan, que diferencia de otros peces planos los juveniles de *P. adspersus* necesitan evitar el contacto con el fondo del estanque durante el proceso de destete, utilizando jaulas de malla flotantes al interior de los estanques, esta estrategia permite mejorar la limpieza y aumentar significativamente la supervivencia en esta etapa. Otro factor que pudo influenciar en la supervivencia es el proceso de metamorfosis que sufren los lenguados, tal como lo reporta Benetti (1997) quien obtuvo entre el 50% y 70% de supervivencia de *Paralichthys woolmani* a los 14 DDE (días después de eclosión) pero una alta mortalidad durante la metamorfosis que redujo la tasa de sobrevivencia promedio en la etapa juvenil hasta el 5% (intervalo 3-8%), valores que son mucho más bajos a los registrados en este ensayo, los cuales fueron 18,03, 16,33 y 15,25 % (T1, T2 y T3 respectivamente).



La experiencia con el destete de *P. adspersus* es escasa, por lo que antecedentes se limitan a investigaciones realizadas por científicos chilenos como Silva y Oliva (2010) mencionan que en la etapa de destete de *Paralichthys adspersus* se pueden conseguir entre 60 y 70% de supervivencia, evaluando un periodo de destete de entre 10 y 15 días, sin embargo a diferencia del presente experimento, estos valores fueron calculados al momento del destete propiamente dicho (fin de la coalimentación – 50DDE) dejando de lado el efecto post-destete, donde peces que no han aceptado correctamente la microdieta puedan disminuir la supervivencia final.

Existen experimentos de destete realizados con otras especies de peces marinos del mismo orden, familia o género, sin embargo las metodologías de destete difieren en los DDE de inicio o finalización de destete, la ausencia o diferencia de técnica de coalimentación, o la evaluación post destete por lo que la supervivencia alcanzada al finalizar esta etapa varía mucho de acuerdo a la especie o técnica de destete utilizado. Es así que Ferretto da Rocha *et al*, 2008, evaluando el destete de *Paralichthys orbignyanus* obtuvieron una supervivencia de 9% a los 76 DDE, valor bastante menor al alcanzado en este ensayo a pesar que el tiempo de coalimentación fue mayor 15 días a partir de los 33 DDE y $23\pm 3\%$ con una coalimentación de 25 días iniciando al mismo día. Por otro lado, Muguet *et al.* (2011) trabajando con *Paralichthys californicus* obtuvieron, a los 60 DDE una supervivencia de 40,19%, una talla de 14,62 mm y un peso seco de 14,63 mg utilizando un periodo de destete de 4 días a partir del día 36 después de la eclosión, mientras que iniciando el destete a los 46 DDE, los parámetros mencionados fueron 82,14%, 20,19mm y 20,18mg respectivamente.

En una experiencia con *Paralichthys lethostigma*, se realizó el destete temprano y se ensayaron tres tratamientos donde la coalimentación inició a los 11 DDE y se prolongó hasta los 17, 23 y 29 DDE (según el tratamiento), el tratamiento control no tuvo destete, y éste tuvo mejor longitud promedio (8,3mm) al final del ensayo (35DDE) que los otros tratamientos (promedio 6,4mm) a diferencia de la supervivencia que no tuvo diferencias significativas entre los tratamientos, teniendo una media de 27,7% (Fouk y Holt, 2009).

El lenguado *Paralichthys dentatus* a los 89 DDE muestra porcentajes de supervivencia de 69 ± 14 y $85\pm 4\%$ y un peso seco promedio de $92,6\pm 8,5$ y $176,8\pm 46,4$ mg al ser destetado a partir de los 45 y 57 días respectivamente, el destete se realizó a lo largo de 7 días en cada tratamiento (Bengtson *et al.*, 1999).

Por lo general la supervivencia en el destete de lenguado es proporcional a la edad en que se inicia este, sin embargo Hart y Purser (1996), obtuvieron una supervivencia de $58,2\pm 3,8$ y $38,1\pm 2,7\%$ al destetar juveniles metamorfoseados de *Rhombosolea tapirina* a partir de los 42 y 58 DDE respectivamente, por un periodo de 10 días.

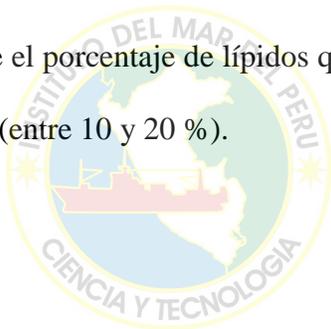
Como se observa, el porcentaje de supervivencia y crecimiento en el destete, cuando se trata peces planos, es variable de acuerdo a la especie y técnica utilizada, además el éxito de este proceso es impredecible, pudiéndose encontrar rangos de supervivencia muy amplios entre batches de la misma especie (Lee y Litvak, 1996).

Existen algunos ensayos realizados por Rust *et al.*, (2015), equipo que desarrolló las microdietas utilizadas en este trabajo de investigación, donde comparan éstas con microdietas comerciales, en especial con Otohime, en el cultivo larval de peces marinos, mencionan que los datos sobre los ensayos de alimentación con larvas de peces (*Seriola lalandi*, *Trachinotus carolinus*, *Atractoscion nobilis* y *Sciaenops ocellatus*) indican que las dietas experimentales han tenido resultados casi tan buenos como los obtenidos con Otohime. Estas referencias ponen de manifiesto que estas dietas proporcionan una buena base que sugiere que se deba continuar con diferentes investigaciones.

En el presente trabajo de investigación también se evaluó la metamorfosis y pigmentación alcanzada por la población al final del ensayo, el porcentaje de los peces con pigmentación anormal en los tratamientos tuvo un valor promedio de entre 6,45 y 15,44 %, mientras que los juveniles que no alcanzaron completar la metamorfosis fueron entre el 20,29 y 30,87 % de la población, la evaluación estadística muestra que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ($p>0.05$), lo que indica que la presencia de estas características en los individuos de un cultivo no guardan relación con el tipo de microdieta utilizada ya que éstas se definirían en periodos anteriores al destete, esto acorde a Vizcaíno-Ochoa *et al.* (2010) quienes hallaron diferencias en la pigmentación de juveniles de *Paralichthys californicus*, al día 75DDE, que fueron alimentados en la etapa larval (previa a destete) con alimento enriquecido con diferentes niveles de DHA, el destete en este experimento se realizó a lo largo de 10 días (desde el 50 al 60 DDE) con alimento Otohime en todos los tratamientos. Por otro lado Venizelos y Benetti (1999) indican que es posible que la intensidad lumínica, el estrés y la nutrición en los primeros días de vida de la larva, podrían jugar un papel importante en pigmentación.

La metamorfosis en los peces, como en los anfibios, se lleva a cabo en especies que experimentan una transformación abrupta al pasar de larvas a juveniles asociado con una transición a un nuevo hábitat, Todos los peces planos (Pleuronectiformes) experimentan una metamorfosis. Esta transformación se caracteriza por la translocación del ojo derecho al lado izquierdo de la cabeza y la extensión de la aleta dorsal más hasta la caudal (Schreiber y Specker, 1998) en la naturaleza esta metamorfosis tiene lugar en los meses de invierno y primavera con una duración desconocida (Able *et al.*, 1999)

La composición proximal de las dietas utilizadas en el presente experimento muestran que el porcentaje de proteínas es similar entre los tratamientos y están alrededor de 53%, además se observó que MEM y PARA tuvieron mayor porcentaje de lípidos (alrededor de 15,7%) que la dieta OTO (11% de lípidos) en cuanto a las cenizas, este último se encuentra por encima con 15% versus el 13% de las dietas experimentales. La cantidad de proteína en el alimento se encuentra cercana a la recomendada por Piaget *et al.* (2011) quien menciona que el rango de proteínas apropiado en la alimentación de juveniles de *P. adspersus* es de entre 54 y 57%. Por otro lado Lazo (2000) propuso una tabla con la “dieta ideal” para la alimentación larval de peces marinos donde menciona que el nivel de proteína apropiado se encuentra entre 50 y 65%, las tres microdietas se encuentran dentro del rango de la recomendación dada al igual que el porcentaje de lípidos que también se encuentran dentro del rango propuesto por el autor (entre 10 y 20 %).



10. CONCLUSIONES.

- De las microdietas experimentales utilizadas en el ensayo, se concluye que la dieta PARA no tiene ningún efecto significativamente diferente con respecto a la dieta comercial (Otohime) en cuanto al crecimiento (longitud y peso seco) y supervivencia, por lo que sería una buena alternativa de uso en la producción de semilla de *P. adspersus*, a diferencia de la microdieta MEM, la cual consiguió niveles de crecimiento significativamente más bajos que Otohime.

- En cuanto a los procesos de pigmentación y metamorfosis de los juveniles, se concluye el tipo de microdieta utilizada en el destete de *P. adspersus*, no influye sobre estas características, debido a que las mismas se definirían a una edad más temprana.

11. RECOMENDACIONES

- Los resultados observados en el experimento resaltan la importancia de contar con una microdieta elaborada de acuerdo a los requerimientos de cada especie.
- La diferencia entre los resultados de las edades en que se inicia el destete en los diversos experimentos sugiere que si se retrasa en 10 días el inicio del destete de *Paralichthys adspersus*, sería posible incrementar significativamente la supervivencia, longitud y peso seco final de los juveniles.
- De acuerdo a los antecedentes sería recomendable realizar un ensayo de coalimentación evaluando diferente tiempos de destete. Además debido a que la temperatura tiene efecto sobre la metamorfosis, y es ésta transformación la que marca el inicio del consumo de alimento balanceado, sería muy provechoso realizar un ensayo de destete a diferentes temperaturas.
- La etapa de destete coincide con la metamorfosis del lenguado, el inicio del asentamiento de los peces dificulta la limpieza de los tanques, se recomienda

llevar esta fase de cultivo en sistemas de jaulas suspendidas dentro del tanque de cultivo.

- Según lo observado en el experimento, el canibalismo puede resultar un factor con influencia sobre la supervivencia final, por lo que se recomienda dar inicio al desdoble cuando se comiencen a observar disparidad en las tallas de los peces.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Able, K., R.E. Matheson, W.W. Morse, M.P. Fahay & G. Sheperd. 1990. Pattern of summer fiounder *Paralichthys dentatus* early life history in the Mid-Atlantic bight and New Jersey estuaries. *Fish. Bull.*, 88: 1-12.
- Acuña, E., L. Cid. 1995. On the ecology of two sympatric fiounder of the genus *Paralichthys* in the Bay of Coquimbo, Chile. *Neth. J. Sea Res.*, 34(1/2): 1-11.
- Ahumada, R. & L. Chuecas. 1979. Algunas características hidrográficas de la bahía de Concepción (36°40'S; 73°03'W) y áreas adyacentes, Chile. *Gayana, Mize*, 56 pp.
- Ángeles, B y J. Mendo. 2005. Crecimiento, fecundidad y diferenciación sexual del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner) en la costa central del Perú”, *Revista de Ecología Aplicada* 4(1,2):105-112.
- Avilés, A. 2000. Cultivo de Peces Marinos. Cap. XV. En: Álvarez-Torres, M. Ramírez-Flores, L.M. Torres-Rodríguez y A. Díaz de León-Corral (Eds). *Estado de Salud de la Acuicultura*, 2000. INP.

- Barrows F., Lellis W. 2006. Effect of Diet Processing Method and Ingredient Substitution on Feed Characteristics and Survival of Larval Walleye, *Sander vitreus*. *Journal of the world aquaculture society*. 37(2): 154-160.
- Benetti D. 1997, Spawning and larval husbandry of flounder (*Paralichthys woolmani*) and Pacific yellowtail (*Seriola mazatlanana*), new candidate species for aquaculture. *Aquaculture*, 155:307-318
- Bengtson D.A., Lydon L., Ainley J.D. 1999. Green-Water Rearing and Delayed Weaning Improve Growth and Survival of Summer Flounder. *North American Journal of aquaculture* 61:239–242.
- Berlinsky D.L., King W.V., Smith T.I.J., Hamilton R.D., Holloway J., Sullivan C.V. 1996. Induced ovulation of Southern flounder *Paralichthys lethostigma* using gonadotropin releasing hormone analogue implants. *Journal of the World Aquaculture Society* 27: 143-152.
- Bonaldo, A., Parma, L. Badiani, A. Serratore, P. Gatta, P. 2011. Very early weaning of common sole (*Solea solea* L.) larvae by means of different feeding regimes and three commercial microdiets: Influence on performances, metamorphosis development and tank hygiene. *Aquaculture*. 321:237-244.
- Brown N. 2002. Flatfish Farming Systems in the Atlantic Region. *Rev Fish Science* 10:403-419.
- Burke, J. S., Seukai, T., Tanaka Y., Tanaka M. 1999, Experimental intensive culture of summer flounder, *Paralichthys dentatus*. *Aquaculture* 176; 135-144.
- Cahu Ch. & Zambonino J. L. 2001. Substitution of Live Food by Formulated Diets in Marine Fish Larvae. *Aquaculture* 200: 161-180.

- Carrera L., Cota N., Montes M., Mateo E., Sierralta V., Castro T, Perea A. , Santos C., Catcoparco C., Espinoza C. 2013. Broodstock management of the fine flounder *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) using recirculating aquaculture systems. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41.
- Castelló F. 1993. *Piscicultura marina en Latinoamérica*. España, Publicaciones y Ediciones de la Universidad de Barcelona. 739 pp.
- Ceccon A., Hideo M., Bianchini H., Marins L., Sampaio L. 2010. Sperm quality of Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* throughout the reproductive season. *Aquaculture Research*, 1-9
- Chapleau F. 1993. Pleuronectiform relationships: a cladistic reassessment. *Bulletin of Marine Science*.52:516-540.
- Crawshaw, L.I., Podrabsky, JE. 2011. Temperature Preference – Behavioral Responses to Temperature in Fishes. In: *Encyclopedia of Fish Physiology. From Genome to Environment*. (ed. A.P. Farrell). Academic Press.
- D’Abramo L. R. 2002. Challenges in Developing Successful Formulated Feed for
- Daniels H., Hodson R.. 1999. Weaning Success of Southern Flounder Juveniles: Effect of Changeover Period and Diet Type on Growth and Survival. *North American Journal of Aquaculture* Volume: 61, Issue 1, 47-50
- Devresse B., Candreva., Léger Ph., Sorgeloos. 1991. A new artificial diert for the early weaning of Seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *European Aquaculture Society*, special publication 15: 178-182.

- Ferretto da Rocha A., Avelar de Carvalho C. V., Sampaio L. A. 2008. Produção de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*: efeito da duração do período de co-alimentação durante o desmame. *Ciência Rural*, Santa Maria 38 (8): 2334-2338.
- Food and Agriculture Organization (FAO), 2014, The state of world fisheries and aquaculture 2014 (*SOFIA*). FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome, 253 pp.
- Foulk, C.K. y Holt, G. 2009. Early weaning of southern flounder, *Paralichthys lethostigma*, larvae and ontogeny of selected digestive enzymes. *Aquaculture*. 296:213-218
- Fraysse C., Petratoria A. 2013. *Crecimiento de lenguado Paralichthys orbignyanus (Valenciennes, 1839) en condiciones de cultivo*. Mar del Plata, Argentina.
- García-Ortega A, I Abdo-de la Parra & C Hernández. 2003. Weaning of bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*) from live food to microparticulate diets made with decapsulated cysts of *Artemia* and fishmeal. *Aquaculture International* 11: 183-194.
- Green B. S., Fisher R. 2004. Temperature influences swimming speed, growth and larval duration in coral reef fish larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 299: 115-132
- Hamza N, Mhetli M, Kestemont P (2007) Effects of weaning age and diets on ontogeny of digestive activities and structures of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiol Biochem* 33:121–133
- Handeland S.O., Imsland A.K., Stefansson S.O. 2008. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts. *Aquaculture*, 283: 36-42.

- Hart P.R., Purser G.J. 1996. Weaning of hatchery-reared greenback flounder (*Rhombosolea tapirina*) from live to artificial diets: Effects of age and duration of the changeover period. *Aquaculture* 145: 171-181
- Hauville R.M., José L. Zambonino-Infante, Gordon Bell, Hervé Migaud, Kevan L. Main (2014). Impacts of three different microdiets on Florida Pompano, *rachinotus carolinus*, weaning success, growth, fatty acid incorporation and enzyme activity. *Aquaculture* 422–423: 268–276.
- Herath S.S., Atapaththu K.S. 2013. Sudden weaning of angel fish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces; Cichlidae) larvae from brine shrimp (*Artemia* sp) nauplii to formulated larval feed. *Springerplus*, 2: 102.
- Holt, G. J., 1993. Feeding larval red drum on microparticulate diets in closed recirculating water system. *J. World Aquaculture Society*, 42:225-240.
- Ijima, T., T. Abe, R. Hirakawa, Y. Torishima. 1986. Induced spawning with long day treatment in Japanese flounder. *Saibai Giken*, 15(1):57–62.
- Kolkovski S. 2008. *Advances in marine fish larvae diets*. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, Mexico. 20-45pp.
- Kong, I., M. Clarke & R. Escribano. 1995. Alimentación de *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) en la zona norte de Chile (Osteichthyes: Paralichthyidae). *Rev. Biol. Mar.*, Valparaíso, 30(1): 29-44.
- Langdon C. 2000. Artificial Microparticles for Delivery of Nutrients to Marine Suspension Feeders. *The Advocate* Febrero 2000: 40-41.

- Langdon, C. and Barrows, R. 2011. *Microparticulate Diets: Technology, in Larval Fish Nutrition* (ed G. J. Holt), Wiley-Blackwell, Oxford, UK. doi: 10.1002/9780813817927.ch12
- Lazo, J.P., Varga, D., Medina, C., Zacarias, M.S., Garcia-Ortega, A., Pedroza-Islas, R., 2004. Experimental microdiets for California halibut larvae. *Global aquaculture advocate* december: 44-45
- Lazo J. P. 2000. *Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos.*, Cruz- Suárez L.E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Golvera-Novoa M.A., Civera-Cerecedo R. (Eds). Avances en nutrición acuícola V. Memorias del V Simposium internacional de nutrición Acuícola. 19 al 22 de Noviembre del 2000. Mérida, Yucatán, México. 300-312.
- Lazo J. P., Dinis M. T., Holt G. J., Faulk C. & Arnold C. R. 2000. Co-Feeding Microparticulate Diets UIT Algae: Toward Eliminating the need of Zooplankton at First Feeding in Larval Red Drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* (2000) 188:339-351.
- Lee, G y Litvak., M. 1996. Weaning of metamorphosed Winter flounder (*Pleuronectes americanus*) reared in laboratory: comparison of two commercial artificial diets on growth, survival and conversion efficiency, *Aquaculture*, 144:251-263
- Muguet J.B., Lazo J.P., Conklin D.E., Piedrahita RH. 2011. Evaluation of weaning performance of California halibut (*Paralichthys californicus*) larvae using growth, survival and digestive proteolytic activity. *Aquaculture Nutrition* 17:486– 493

- Olivares, J. 1989. Aspectos hidrográficos de la Bahía Coquimbo. *Biol. Pesq.*, Chile, 18: 97-108.
- Pequeño, G. 1989. Lista de peces de Chile. Revisada y comentada. *Rev. Biol. Mar.*, 24: 1-132.
- Person-Le Ruyet, J., Alexandre, J.C., Thebaud, L. T., Mugnier, C., 1993. Marine Fish Larvae Feeding: Formulated diets or live prey?. *J. World Aquacult. Soc.*, 42:211-224
- Piaget, N, A. Vega, A. Silva & P. Toledo. 2007. Efecto de la aplicación de β -glucano y manano-oligosacáridos (PG MOS) en un sistema de cultivo intensivo de larvas de *Paralichthys adspersus* (Paralichthyidae). *Invest. Mar.*, Valparaíso, 35(2): 35-43.
- Piaget, N., Toledo, P., Silva, A., Vega, A. 2011. Nivel óptimo de proteína dietaria para juveniles de lenguado *Paralichthys adspersus* (Pisces: Pleuronectiformes). *Rev. Biol. Mar.*, Valparaíso, 46(1): 9-16.
- Ribeiro L., Engrola S., Dinis M. 2005. Destete de postlarvas del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) a una dieta inerte utilizando un régimen de coalimentación, *Ciencias Marinas* 3, 327-337.
- Rodriguez A. 2009. Avances y Perspectivas en Microdietas para Larvas de Peces. *Revista AquaTIC* 30.
- Rust m., Barrows t., Drawbridge M., Hart E., Stuart K., Webb K., Barnett H., Nicklason P., Johnson R. 2015. Development and Characterization of Several Open Formula Reference Diets for Marine Fish Larvae. *Bull. Fish. Res. Agen.* 40: 75—77.

- Sanz F., 2009. La nutrición y alimentación en piscicultura. España. Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino. 796 pp.
- Schreibe A., Specker J. 1998. Metamorphosis in the Summer Flounder (*Paralichthys dentatus*): Stage-Specific Developmental Response to Altered Thyroid Status *General and Comparative Endocrinology* 111: 156–166.
- Schwartz S. 2008. *Aquaculture Research Trends*, Estados Unidos. Nova Publishers. 342
- Seikai T. 2002. Flounder Culture and Its Challenges in Asia. *Reviews in Fisheries Science*, 10(3): 421–432
- Siefeld, W., M. Vargas & I. Kong. 2003. Primer registro de *Etropus edenes* (Jordán, 1889), *Bothus constellatus* (Jordán & Goss, 1889), *Achirus klunzingeri* (Steindachner, 1880) y *Symphurus elongatus* (Gunther, 1868) (Piscis, Pleuronectiformes) en Chile, con comentarios sobre la distribución de los lenguados chilenos. *Invest. Mar.* Valparaíso, 31: 51-65.
- Silva, M. & J. Stuardo. 1985. Alimentación y relaciones tróficas generales entre algunos peces demersales y el bentos de bahía de Coliumo (Provincia de Concepción, Chile). *Gayana, Zool.*, 49(3-4): 77-102.
- Silva, A. & A. Vélez. 1998. Development and challenges of turbot and flounder aquaculture in Chile. *World Aquaculture*, 29(4): 48-51.
- Silva, A., Flores, H. 1988. *Consideraciones sobre el desarrollo y crecimiento larval del lenguado (Paralichthys adspersus, Steindachner, 1867) cultivado en laboratorio*. Memorias del Simposio Internacional d los Recursos Vivos y las Pesquerías en el Pacifico Sudeste, 9 al 13 de Mayo. Viña del Mar, México.

- Silva, A. 1999. Efecto de la microalga *Isochrysis galbana* en el cultivo temprano de larvas de *Paralichthys adspersus* Ciencias Marinas. *Ciencias Marinas*, 25(2):267-276.
- Silva, A. 2001. Advance in the culture research of small-eye flounder, *Paralichthys microps*, and Chilean flounder *Paralichthys adspersus* in Chile. *J. Appl. Aquaculture*, 11(1/2): 147-164.
- Silva, A., M. Oliva & F. Castelló. 2001. Evaluación del crecimiento de juveniles de lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*, Steindachner, 1867) cultivado en estanques. *Biol. Pesq.*, Chile, 29: 21-30.
- Silva, A & Oliva, M. 2010. Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). *Latin american journal of aquatic research*, 38(3):377-386
- Soares F., Engrola S., Dinis M.T. 2002. Anomalías en la pigmentación de juveniles de lenguado *Solea senegalensis* Kaup, 1858. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18 (1-4). 2002: 405-407
- Venizelos A., Benetti D. 1999. Pigment abnormalities in flatfish. *Aquaculture*. 176:181-188
- Vizcaíno-Ochoa V., Lazo J.P., Barón-Sevilla B., Drawbridge M.A. 2010. The effect of dietary docosahexaenoic acid (DHA) on growth, survival and pigmentation of California halibut *Paralichthys californicus* larvae (Ayres, 1810). *Aquaculture*, 302:228-234.

- Watanabe, W. & P. Carroll. 1999. Recent progress in controlled reproduction of southern flounder *Paralichthys lethostigma*. UJNT Tech. Rep., 28: 141-14.
- Yúfera, M., Sarasquete, M.C., Fernández-Díaz, C., 1996. Testing protein-walled microcapsules for the rearing of first-feeding gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) Larvae. *Mar. Freshwater Res.* 47: 211–216.
- Yúfera M., Pascual E., Fernández-Díaz C. 1999. A highly efficient microencapsulated food for rearing early larvae of marine fish. *Aquaculture*, 177:249-256.
- 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.

