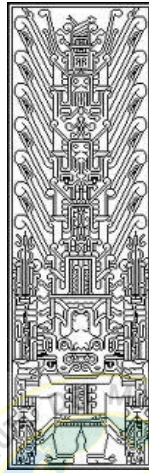


UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERÍA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y
ACUICULTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN ACUICULTURA



DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA Y DENSIDAD ÓPTIMA EN CULTIVO
LARVAL DE LENGUADO *Paralichthys adspersus* (STEINDACHNER, 1867) EN
CONDICIONES DE LABORATORIO

TESIS

Para optar al Título Profesional de:

INGENIERO PESQUERO ACUICULTOR

Presentado por:

MILAGROS LUCILA PASSARO VELASQUEZ

LIMA – PERÚ

2015

ÍNDICE

RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
I. INTRODUCCIÓN.....	12
II. EL PROBLEMA.....	15
2.1 Formulación del problema.....	16
III. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS.....	16
3.1 Objetivo general.....	16
3.2 Objetivos específicos	16
IV. HIPOTESIS GENERAL.....	16
V. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	17
VI. MARCO TEÓRICO.....	18
6.1 Antecedentes.....	18
6.2 Aspectos biológicos del lenguado.....	24
6.2.1 Clasificación taxonómica.....	24
6.2.2 Hábitat y ecología.....	25
6.2.3 Características morfológicas.....	25
6.2.4 Reproducción.....	26
6.2.4 Alimentación.....	27
6.7 Parámetros de cultivo.....	27
6.7.1 La temperatura.....	27
6.7.2 La densidad.....	28
6.8 Aspectos de la biología larval del lenguado bajo condiciones controladas de laboratorio.....	28
6.9 Sistema de recirculación.....	31
VII. METODOLOGÍA.....	33
7.2 Tipo de investigación.....	33
7.3 Variables de estudio	33

7.3.1	Variables independientes.....	33
7.3.3	Variables constantes.....	33
7.4	Materiales, equipos y otros.....	34
7.4.1	Material biológico.....	34
7.4.2	Materiales y equipos del sistema de recirculación del laboratorio de Cultivo....	34
7.4.3	Materiales y equipos para recolección de datos.....	35
7.4.4	Materiales para el mantenimiento de cultivo.....	35
7.5	Procedimiento experimental.....	35
7.5.1	Mantenimiento de reproductores.....	35
7.5.2	Desove.....	37
7.5.3	Cultivo larval.....	40
7.5.4	Longitud y peso larval.....	40
7.5.5	Ensayo de temperatura.....	43
7.5.6	Ensayo de densidad.....	43
7.5.7	Mantenimiento de los ensayos.....	44
a.	Sistema de recirculación de agua de mar.....	44
b.	Limpieza de los tanques del cultivo larval.....	45
c.	Alimentación.....	47
VIII.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	48
IX.	RESULTADOS.....	49
9.1	Parámetros de desove.....	49
9.2	Temperatura.....	50
9.3	Densidad.....	57
X.	DISCUSIÓN.....	64
X.	CONCLUSIONES.....	70
XI.	RECOMENDACIONES.....	71
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	72

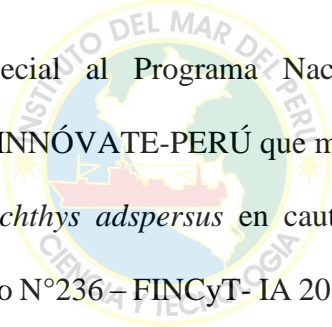
LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Desembarque del lenguado peruano <i>Paralichthys adspersus</i> en la costa peruana en toneladas entre el año 2004-2013	12
Figura 2. Imagen de <i>Paralichthys adspersus</i>	26
Figura 3. Larva de <i>Paralichthys adspersus</i>	29
Figura 4. Imágenes del rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> y de nauplio de <i>Artemia</i>	30
Figura 5. Flujograma de procedimiento de desove artificial	38
Figura 6. Toma de muestra para la determinación de la longitud total	41
Figura 7. Flujograma de determinación de peso de larvas de <i>P. adspersus</i>	42
Figura 8. Sistema de recirculación de sala de larvas.....	44
Figura 9. Esquema de sistema de recirculación de cultivo de sala de larvas	45
Figura 10. Flujograma de mantenimiento del cultivo larval en el sistema de recirculación.....	46
Figura 11. Programa de alimento vivo para cultivo larval de <i>P. adspersus</i> según días de eclosión.....	48
Figura 12. Temperatura del agua de cultivo de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i>	50
Figura 13. Concentración de oxígeno (mg/l) del agua de cultivo larval de lenguado <i>P. adspersus</i>	51
Figura 14. pH del agua de cultivo larval de lenguado <i>P. adspersus</i>	51
Figura 15. Crecimiento de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22 °C.....	52
Figura 16. Larva de <i>P. adspersus</i> cultivada a 16 °C en estado de post flexión temprana...	54

Figura 17. Larva de <i>P. adspersus</i> cultivada a 18 °C en estado de metamorfosis temprana	55
Figura 18. Larva de <i>P. adspersus</i> cultivada a 20°C en estado de metamorfosis	55
Figura 19. Larva de <i>P. adspersus</i> cultivada a 22°C en estado de metamorfosis	56
Figura 20. Temperatura del agua del ensayo de densidad de cultivo de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i>	58
Figura 21. Oxígeno disuelto (mg/l) del agua del ensayo de densidad de cultivo de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i>	58
Figura 22. pH del agua del ensayo de densidad de cultivo de larvas de lenguado <i>P.</i> <i>adspersus</i>	59
Figura 23. Crecimiento de larvas de "lenguado" <i>P. adspersus</i> sometidas a densidades de 10, 20 y 30 larvas/ l.	59
Figura 24. Larva de <i>P. adspersus</i> cultivada a una densidad de 10 larvas /l en estado de post-flexión.....	61
Figura 25. Larva de <i>P. adspersus</i> cultivada a una densidad de 20 larvas /l en estado de post-flexión.....	62
Figura 26. Larva de <i>P. adspersus</i> cultivada a una densidad de 30 larvas /l en estado de post- flexión.....	62

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Requerimientos de oxígeno del “turbot” en cada etapa del ciclo de cultivo.....	32
Tabla 2. Parámetros de desoves de lenguado <i>P. adspersus</i>	49
Tablas 3. Evaluación de la calidad del desove mediante los parámetros de supervivencia larval (SAI).....	49
Tabla 4. Longitud final (mm) a los 46 DDE de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22 °C.....	53
Tabla 5. Desempeño de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22°C.....	53
Tabla 6. Supervivencia de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22 °C.....	57
Tabla 7. Longitud final (mm) a los 35 DDE de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> sometidas a densidades de 10, 20 y 30 larvas/L.....	60
Tabla 8. Desempeño de larvas de lenguado <i>P. adspersus</i> sometidas a diferentes densidades de cultivo a 10, 20 y 30 larvas/L.....	60
Tabla 9. Supervivencia de larvas de “lenguado” <i>P. adspersus</i> sometidas a densidades de 10, 20 y 30 larvas/l.	63



Un agradecimiento especial 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.

DEDICATORIA

El deseo de mirar siempre más allá de los límites, las ganas de ir hacia adelante; es resultado del apoyo, cariño y fuerza de mis padres Celinda y Rolando.

Todo el esfuerzo, dedicación y desempeño puestos en este trabajo es para ellos.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Mg.Claudio Álvarez por su apoyo durante la realización del proyecto y por sus consejos para la culminación del presente trabajo de tesis.

A la Ing. Lili Carrera Santos por sus consejos para la realización de la tesis y por permitirme formar parte del proyecto: “Producción de semilla del lenguado *Paralichthys adspersus* en cautiverio: II Mejoramiento de las técnicas de larvicultura. Contrato N°236 – FINCyT- IA 2013

A la Mg. Melissa Montes por el apoyo constante y por la confianza brindada.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Cultivo de Peces Angélica, Joel, Eduardo y Lucas; por el apoyo y consejos brindados durante en el desarrollo de la parte experimental.

Al CIA Alexander von Humboldt, por permitirme el uso de sus instalaciones y en especial al equipo de trabajo del Laboratorio de Alimento Vivo, Gheraldine, Wilmer y Alex.

A mi amigo Lucas, por acompañarme en esta travesía.

A mi novio Juan por su comprensión y apoyo en los momento de tensión y motivarme siempre a seguir adelante.

A mis padres Rolando y Celinda por su preocupación, amor y esfuerzos puestos siempre en mí.

RESUMEN

La presente tesis tiene como objetivo determinar la temperatura y densidad óptimas del cultivo larval de lenguado *Paralichthys adspersus* bajo condiciones controladas de laboratorio. Para el experimento de temperatura se usaron larvas de 2 días después de eclosión (DDE) hasta el día 46 DDE a una densidad de 10 larvas /litro, donde las temperaturas evaluadas fueron 16°, 18°, 20° y 22° con tres repeticiones por tratamientos. Para el experimento de densidad se usaron larvas de 5 DDE hasta el día 35 DDE, con una temperatura promedio de 19°, donde las densidades evaluadas fueron de 10larvas/litro, 20larvas/litro y 30 larvas/litro con tres repeticiones por tratamiento. Para ambos ensayos se realizó la evaluación de la longitud total (mm) y sobrevivencia; para el ensayo de temperatura de larvas de *P. adspersus* se obtuvo la más alta sobrevivencia a 18° C con 17 ±0,05% y una longitud de 12,25 ±1,06 mm. Para el ensayo de densidad de larvas de *P. adspersus*, se obtuvo la más alta sobrevivencia en el tratamiento de 10 larvas /litro con 10 ±3,72% y una longitud de 9,35 ±0,48 mm.

Palabras claves: *Paralichthys adspersus*, cultivo larval, lenguado, densidad , temperatura.

ABSTRACT

This thesis aims to determine the optimum temperature and density for larval flounder *Paralichthys adspersus* rearing under controlled laboratory conditions. For the temperature experiment they were used larvae of 2 days after hatching (DDE) till 46 DDE at density of 10 larvae / liter, the temperatures evaluated were 16 °, 18 °, 20 ° and 22 ° with three replicates per treatment. For the density experiment they were used 5 DDE larvae until day 35 DDE, with a temperature of 19 °, the densities evaluated were 10 larvae / liter, 20 larvae / liter and 30 larvae / liter with three replicates per treatment.

For both tests the evaluation of the total length (mm) and survival was performed; for the *P. adspersus* larvae temperature test the highest survival rate was obtained at 18 ° C with $17 \pm 0,05\%$ and a length of $12,25 \pm 1,06$ mm. For the *P. adspersus* larvae density test, the highest survival rate was obtained in the treatment of 10 larvae / liter to $10 \pm 3,72\%$ and a length of $9.35 \pm 0,48$ mm.

Keywords: *Paralichthys adspersus*, larval culture, flounder, density, temperature.

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú los estudios preliminares de cultivo de *Paralichthys adspersus* se realizaron en el año 1996, en las instalaciones del Instituto del Mar del Perú – Callao. El Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero en el año 1998 inició los trabajos de adaptación al cautiverio del lenguado nativo (*P. adspersus*) paralelo a los trabajos de adaptación de una especie foránea, “turbot” *Scophthalmus maximus* (Carrera & Santos, 2007).

El lenguado *P. adspersus* es una especie muy valorada comercialmente, debido a la excelente calidad de su carne, alto valor nutritivo y a los precios que alcanza en el mercado nacional e internacional, a pesar de ello, la disminución de sus capturas ha afectado su comercialización (Carrera *et al*, 2013). Esta disminución en las capturas incentivó a los investigadores y empresas privadas a pensar en su cultivo (Ángeles & Mendo, 2005). En la figura 1 se aprecia el desembarque del lenguado peruano *Paralichthys adspersus* en la costa peruana.

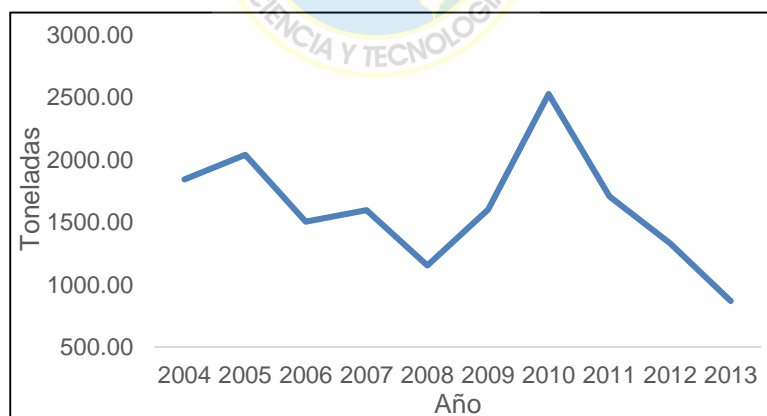


Figura 1. Desembarque del lenguado peruano *Paralichthys adspersus* en la costa peruana en toneladas entre el año 2004-2013

Fuente: Área de Pesca Artesanal-IMARPE, 2014

En años recientes, se registra experiencias sobre el cultivo de lenguado con el proyecto FINCyT “Producción de semilla del lenguado *Paralichthys adspersus* en

cautiverio: I Mejoramiento de la calidad y cantidad de desoves” donde se describen los procedimientos relacionados a la reproducción de esta especie en condiciones de cautiverio (Carrera *et al.*, 2013).

Trabajos de investigación sobre *P. adspersus* han sido desarrollados en Chile y Perú hasta la actualidad, logrando avances en el conocimiento sobre el acondicionamiento, desarrollo, crecimiento, alimentación y reproducción en cautiverio. A pesar de ello, dentro del cultivo de lenguado se ha detectado que el punto crítico es la etapa larval.

Existen diferentes factores que afectan el cultivo larvario en los peces, entre ellos la temperatura y la densidad. La temperatura controla el tiempo de incubación de los huevos y la supervivencia de embriones y larvas, por lo que cada especie posee un rango óptimo de temperatura para su desarrollo; cuando los huevos son incubados fuera de este intervalo, el desarrollo embrionario puede acelerarse o retardarse, produciendo embriones y larvas deformes, bajos porcentajes de eclosión y elevada mortalidad de larvas eclosionadas (Abdo-de La Parra *et al.*, 2012). La densidad poblacional también es un factor que afecta el crecimiento y la supervivencia de muchas especies de alevinos (Houde, 1987; Haylor, 1991). La mortalidad por depredación durante las etapas tempranas son fácilmente desencadenadas por factores dependientes como tamaño y densidad, o crecimiento por la variación de factores subóptimos como privación de la alimentación, lo cual podría ampliar el periodo de vulnerabilidad de la larva al canibalismo, y así el aumento de mortalidad (Houde, 1987). La información acerca de otros efectos ambientales; además de temperatura y densidad poblacional; como densidad de alimento, y especialmente el asentamiento de la larva de lenguado, está relativamente poco estudiado (Dou *et al.*, 2003).

Se ha determinado que la etapa de mayor mortalidad en el cultivo del lenguado ocurre durante el desarrollo larval, lo que estaría relacionado con la absorción del saco vitelino, la primera alimentación exógena que se efectúa con la adición de rotíferos, además del cambio de alimento vivo (*Artemia*) a inerte (pellets), siendo justamente las transiciones a nuevo alimento las fases en las que la mortalidad se incrementa notoriamente.

En el cultivo larvario de *P. adspersus* aún no se han logrado establecer la temperatura y densidad óptimas del mantenimiento de la larva y aunque existe el conocimiento zootécnico para producir individuos de tamaño comercial, este conocimiento se encuentra disperso y aún muestra, comparativamente, con otras especies cultivables en el país, una moderada replicabilidad de los resultados, lo que implica la necesidad de persistir en la optimización de algunos aspectos de su cultivo, para impulsar definitivamente su desarrollo (Silva & Oliva, 2010), por lo que resultará bastante provechoso evaluar técnicas, que permitirán obtener mayor crecimiento, supervivencia larvaria y por ende mayor producción. Por lo tanto, la presente tesis tiene como objetivo evaluar la influencia de parámetros, específicamente temperatura y densidad que permitan diseñar una metodología apropiada del cultivo larval del lenguado *P. adspersus* en condiciones controladas de laboratorio.

II. EL PROBLEMA

Según las estadísticas de IMARPE (2014), existe una tendencia decreciente con respecto a los volúmenes de desembarque de *P. adspersus*, pudiendo deberse a que quizás se encuentren sometidos a una intensa captura por lo que se ha desarrollado el interés en su crianza, lo que constituiría una opción muy atractiva de cultivo en nuestro país (Chinchayán *et al.*, 1997)

Es importante señalar que la cadena productiva de la acuicultura peruana involucra cuatro componentes esenciales: laboratorio, campo, industria y mercado. En el primer eslabón, etapa de laboratorio, se desarrollan tres: la investigación (con fines de perfeccionamiento de técnicas existentes, desarrollo de biotecnologías, experimentación y perfeccionamiento de las técnicas de cultivo existentes), la selección, acondicionamiento del medio a desarrollar y la producción de semillas (Plan de desarrollo acuícola, 2009).

El cultivo de *P. adspersus* se ha realizado a nivel experimental en el laboratorio del Instituto del Mar del Perú – Callao y en las instalaciones del Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero en Morro Sama - Tacna. Una de las etapas más difícil de superar y donde se presentan las mayores mortandades es durante la fase de cultivo larval, esto es por el desconocimiento relativo de variables tales como alimentación, calidad nutritiva del alimento, tasas de recambio de agua, lo cual es necesario que esta se de en el menor tiempo posible, para esto se pueden manejar variables como temperatura y densidad, las variables anteriormente estudiadas han sido ampliamente estudiadas por otros autores para especies similares teniendo un desarrollo exitoso.

La temperatura y la densidad juegan un papel preponderante en el cultivo larval, dada su influencia en el desarrollo, crecimiento y supervivencia, razón por la cual la determinación de sus efectos sobre el cultivo larval es fundamental, a fin de aminorar el tiempo de fase larval.

2.1 Formulación del problema

¿La determinación de la densidad y temperatura óptimas para el cultivo larval de lenguado *P. adspersus* permitirá optimizar su crecimiento?

III. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Determinar la temperatura y densidad óptimas de cultivo larval de lenguado *Paralichthys adspersus* en condiciones controladas de laboratorio.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento y supervivencia larval bajo cuatro temperaturas de cultivo.
- Evaluar el crecimiento y supervivencia larval bajo tres densidades de cultivo.

IV. HIPOTESIS GENERAL

- La determinación de la temperatura y densidad óptimas de cultivo permitirá optimizar el crecimiento y disminución de la mortalidad larval de *P. adspersus*.

V. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La importancia del cultivo de lenguado *P. adspersus* en Perú radica en el hecho de que es una especie nativa que tiene un alto valor comercial. El decrecimiento de captura del lenguado, ha incentivado a algunos investigadores y empresas privadas a dedicar esfuerzos para su cultivo.

La temperatura del agua y el suministro de alimento son los factores de mayor importancia para el desarrollo de larvas y juveniles. El crecimiento está ligado a un factor de origen biótico de tal modo que, cualquier factor del ambiente interactúa con él. Por ejemplo, en condiciones naturales, si la temperatura aumenta, la cantidad de alimento ingerido normalmente aumenta, así como la tasa de digestión. La tasa de crecimiento puede aumentar o disminuir dependiendo de la relación entre alimento-metabolismo-temperatura (Anguas-Velez *et al.*, 2003).

Por otro lado, la densidad es un factor que, influye en la interacción de la población y esta se ve relacionada con su tasa de crecimiento (Haziathanasiou *et al.*, 2002, Baskerville-Bridges y Kling (2000).

Es necesario entonces, realizar investigaciones sobre cómo afectan la temperatura y la densidad de cultivo al crecimiento de larvas de lenguado *P. adspersus*, para mejorar y optimizar su crianza lo que nos permitirá obtener mayores índices de supervivencia y en consecuencia una producción sostenible de la especie.

VI. MARCO TEORICO

6.1 Antecedentes

Los ensayos de cultivo larvario de peces planos en Sudamérica, son en primer lugar un seguimiento de estudios desarrollado antes por modelos japoneses para *P. olivaceous* y por modelos norteamericanos para *P. dentatus*, estos estudios se han realizado de manera que el cultivo de alevinos se ha realizado de forma intensiva exitosa.

La habilidad para criar alevinos a una alta densidad relativa y de esta manera maximizar el uso del agua y la producción, es de particular importancia para las operaciones comerciales. Sin embargo los parámetros que afectan el crecimiento, la supervivencia así como una alimentación eficiente, enfermedades y la calidad del agua, deben ser considerados cuando se determina una óptima densidad poblacional de larvas. La densidad poblacional es un factor dominante que afecta el crecimiento y la sobrevivencia en muchas especies de larvas como *Anchoa mitchilli* y *Achirus lineatus* para Houde, 1987; *Clarias gariepinus* para Hecht & Appelbaum, 1987 y Haylor, 1991 (Dou *et al.*, 2003).

Klein-Macphee (1981) estudió el efecto de la densidad en la supervivencia del cultivo larval de *Paralichthys dentatus* en laboratorio, así encontró que; con 5, 10, 20, y 80 larvas /L en acuarios de 6L; cerca de 20 larvas / L es lo más óptimo para el cultivo.

Daniels *et al.*, (1996) evaluaron el efecto de densidad de población, salinidad e intensidad de luz en el crecimiento y supervivencia de larvas de *Paralichthys lethostigma*; para su ensayo de densidad poblacional, las larvas con saco vitelino fueron sembradas a los 5 días después de la eclosión (DDE) en acuarios de 30 litros a

densidades de 10, 20, 40 y 80 larvas por litro hasta el final del experimento al día 21. Para determinar la supervivencia durante los cambios de agua, fue removida cada larva con una pipeta de 10 ml. Los resultados de crecimiento y supervivencia no fueron significativamente diferentes entre tratamiento. Mayores mortalidades a 75% fueron observados en todos los tratamientos dentro de los 5 días del comienzo de la primera alimentación. El porcentaje de supervivencia al final del experimento fue de $7,6\pm 2,8$; $6,7\pm 4,9$; $6,6\pm 4,6$; $6,8\pm 3,2$; para las densidades de 10, 20, 40 y 80 respectivamente.

Por otro lado en investigaciones para el mejoramiento de cultivo larvario, Bengston *et al.*, (1999) en su experimento en cultivo en agua verde y destete tardío para mejorar el crecimiento y la supervivencia de *Paralichthys dentatus*; inició con larvas de 5 DDE hasta el día 42 DDE, a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$; la supervivencia fue significativamente mayor en los tanques con agua verde ($76,1\pm 6,5\%$) que en agua clara ($27,8\pm 13,6\%$).

Jenkins y Smith (1999) en su ensayo de producción de larvas de *Paralichthys lethostigma* y destete con dietas comerciales, utilizó larvas de 4 DDE a una temperatura de 20°C y una salinidad de 30 ppt durante 74 días, en dos estanques de 0,1 ha, a una densidad de 74/m² obtuvo una supervivencia promedio de 3,8%.

Bengtson (1999) en sus escritos sobre desarrollo en la acuicultura de *Paralichthys dentatus*; habla sobre los efectos de densidad en *Paralichthys dentatus* en un proyecto conjunto con la Universidad de Rhode Island, Great Bay centro acuícola y la Universidad de New Hampshire, demostrando que mientras el crecimiento parece ser óptimo a densidades de 10 larvas por litro, la supervivencia es óptima a densidades por encima de 30 larvas por litro.

Dou *et al.*, (2003) experimentaron una serie de ensayos para identificar los factores que afectan el crecimiento y la supervivencia en el asentamiento de las larvas de *Paralichthys olivaceus*, con larvas cultivadas desde el día 24 después de eclosión hasta el día 40 en tanques de 10l , a una temperatura de $17,2 \pm 0,4$ °C, donde los factores que investigaron fueron: régimen de luz (24L:0D y 12L:12D), densidad de alimento (1500, 3000 y 5000 artemia / litro) , densidad poblacional (5, 10 y 15 individuos/l), cobija (con arena , sin arena) sugirieron de acuerdo a los resultados que, la densidad óptima de alimento para mejorar el crecimiento y la supervivencia en el asentamiento de la larva a una densidad de 5-15 larvas/l es alrededor de 3000 artemia /L. Larvas que fueron expuestas a 24L mostraron un incremento del 20% a diferencia de aquellas expuestas a 12L . Utilizando arena como sustrato no mostro un efecto significativo en el crecimiento de la larva posiblemente debido a que esta pasa la mayoría del tiempo nadando y alimentándose en la columna de agua.

Por otro lado investigaciones para el mejoramiento de cultivo larvario, López *et al.*, (2009) en sus técnicas de cultivo de larvas y control de calidad en juveniles de *Paralichthys orbignyanus* en Argentina, indican que las larvas cultivadas en “agua verde” con *Nannochloopsis oculata* desde el 1 DDE, a una densidad de 10 larvas/L por duplicado en tanques circulares con 500 L de agua, a $18^{\circ}\text{C} \pm 1$ °C, mantenidas con una recirculación de agua de 20% al día 5-10 DDE a 300% desde el día 45 DDE, y alimentadas con rotíferos (Müller *et al.*, 2003), artemia y microdieta, como corresponde; encontró que la supervivencia desde el día de eclosión hasta los 142 DDE fue de 49,7%.

Bolasina *et al.*, (2006) en su evaluación sobre efecto de densidad en el crecimiento, actividad enzimática digestiva, niveles de cortisol en larvas y juveniles en *Paralichthys olivaceus*; ensayaron diferentes densidades de larvas (1000 y 5000 individuos en tanques de 100 litros) desde el 2 DDE a 35 DDE, antes de comenzar el asentamiento de la larva, a una temperatura de 18°C. Encontraron que la longitud total del grupo de densidad menor fue significativamente más alta que el grupo con densidad mayor en el día 15 DDE. La supervivencia al final del experimento fue de 77% para larvas en densidad menor y 25% para larvas en densidad mayor. Las más altas mortalidades fueron observadas a partir del 30 DDE.

El efecto de la temperatura ha sido considerada desde siempre como uno de los factores más importantes que afectan el desarrollo y cultivo de las larvas de peces marinos (Brett, 1979). Su influencia en factores como crecimiento, morfología, supervivencia y consumo de alimento en otras especies ha sido ampliamente estudiada, como *Pseudopleuronectes americanus* por Lawrence (1975); *Paralichthys dentatus* por Johns & Howell (1980); peces salmónidos por Elliot (1982); *Esox lucius* por Bry *et al.*, (1991); chita por Mihelakis & Yoshimatsu (1998); *Hippoglossus hippoglossus* por Ottesen & Bolla (1998); *Perca flavescens* por Tidwell *et al.*, (1999) pudiendo concluir en general, y a excepción de la supervivencia, que el aumento de la temperatura, hasta un máximo a determinar que es especie-específico, acelera los diferentes parámetros de desarrollo y el consumo de alimento en larvas (Silva *et al.*, 2006)

Johns y Howell (1980) evaluaron la utilización del saco vitelino en embriones de *Paralichthys dentatus* y el cultivo de larvas a dos temperaturas diferentes (16,09°C ± 0,81 C° y 21°C ± 1,00°C). La tasa de desarrollo, crecimiento y la conversión eficiente

del saco vitelino se determinaron para los embriones y larvas, por ejemplo para la tasa de desarrollo la eclosión comenzó a las 56 horas después de la fertilización a 6°C y 48 horas a 21°C y, la absorción total del saco vitelino se dio a las 168 horas después de la eclosión a 16°C mientras que a las 120 horas a 21°C. La temperatura parece tener muy poco o ningún efecto en la eficiencia del saco vitelino. Sin embargo, día tras día el uso del saco para las dos temperaturas fue diferente; a los 16°C, la eficiencia de la utilización del saco fue alta a las 120 horas DDE, decayendo luego hasta cerca de 0% para las 48 horas restantes, Para larvas a 21°C, la eficiencia del saco fue relativamente alta durante su desarrollo.

Silva y Flores (1988) evaluaron el desarrollo y crecimiento larval del lenguado (*Paralichthys adspersus*) cultivados en laboratorio. A temperaturas entre 16°C y 18°C la eclosión de los embriones se produce entre las 54 y 62 horas. Una longitud promedio hasta un valor medio de 13,4mm con una temperatura de 15,1°C a 16,2°C; y una longitud promedio de 146 mm a un temperatura promedio de 16,7°C a 18,9°C, siendo que ambas temperaturas comenzaron el experimento con una longitud de 1,9 mm; en densidades entre 18 a 10 larvas por litro. La sobrevivencia de la larva fue de 90,7% y 98,8% al término de la absorción del saco vitelino (4to o 5to día). Posteriormente sobreviene un periodo crítico de la larva que va de los 14 – 20 DDE, durante el cual se produce una alta mortalidad. La sobrevivencia alcanzada al término de este periodo fluctúa entre 15,8% y 23,3%; luego las mortalidades tienen a estabilizarse alcanzándose una sobrevivencia a la metamorfosis entre un 13,1% y un 11,7% (61 días).

Gadomski & Caddell, (1991) en su estudio acerca del crecimiento y desarrollo de larvas y juveniles de *Paralichthys californicus* cultivados en laboratorio, evaluaron

dos temperaturas de 16°C y 20°C concluyendo tanto que el crecimiento como el desarrollo fue más rápido a los 20°C que a los 16°C, produciéndose la eclosión a las 34 horas y 20 horas respectivamente

Burke *et al.*, (1999) realizaron un ensayo con tres tratamientos, en larvas de *Paralichthys dentatus*, a 3 diferentes temperaturas. Donde las larvas a una concentración de 10 Larvas por litro, fueron cultivadas en tres tanques de 100 litros a 18°C, 20°C y 22°C. La tasa de desarrollo fue positiva con relación a la temperatura y el asentamiento comenzó a los 20, 25 y 30 días (después de comenzado el ensayo) en 22°C, 20°C y 18°C respectivamente. Supervivencias del lenguado durante los ensayos de temperatura estuvo en un rango de 0.5 a 63.7% debido a un brote de enfermedad en algunos tanques. Resultados preliminares indican que la enfermedad se da debido a una infección viral desconocida observándose un comportamiento de nado en la larva en rotación . En tanques donde no hubo grandes influencias de infección viral, la mayor mortalidad ocurrió durante el periodo de asentamiento debido al comportamiento caníbal de la larva.

Silva *et al.*, (2006) En su ensayo acerca del estadio larvario de *Paralichthys adspersus*; iniciaron con larvas de 10 días de edad, $5,5 \pm 0,18$ mm de longitud total, las que fueron divididas en tres tratamientos de temperatura a 20°C, 18°C y 16°C, y puestas en recipientes negros de forma piramidal con capacidad de 5 l cada uno a una densidad de 15 larvas/l. Los recipientes fueron mantenidos con aireación suave, luz indirecta y un flujo constante (90 ml/min) de agua de mar (34‰) filtrada (1µm) y esterilizada por UV (radiación ultravioleta). Así a 16°C, el 72% de las larvas presentaron estado de pre-flexión tardía con 6,8 mm de longitud notocordial y sólo un 28% avanzó al estado de

flexión con 7,7 mm de longitud notocordial. A 18°C se nota un evidente avance en el estado de desarrollo de las larvas, el que se refleja en la desaparición del estado de pre-flexión tardía, el aumento al 89,5% de las larvas en flexión con 7,7 mm de longitud notocordial y la aparición de un 10,5% de las larvas en el estado de post-flexión temprana 8,8 mm de longitud notocordial. A 20°C y siguiendo la misma tendencia, se pudo observar que el 33,7% de las larvas se encontraba en metamorfosis temprana con 10,3 mm de longitud notocordial y el 66,3% se encuentra en estado de post-flexión temprana.

6.2 Aspectos biológicos del lenguado

6.2.1 Clasificación taxonómica

- **Reino:** Animalia
- **Phylum:** Chordata
- **Clase:** Actinopterygii
- **Orden:** Pleuronectiformes
- **Familia:** Paralichthyidae
- **Género:** Paralichthys
- **Especie:** *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867)



6.3 Hábitat y ecología

Su distribución es desde Paita en Perú hasta Lota e Islas Juan Fernández en Chile (Chirichigno, 1974). Habita en aguas costeras con fondos de arena y alcanza profundidades mayores de 100 metros. Básicamente su distribución depende de la protección frente a la costa (Acuña & Cid, 1995), profundizándose o alejándose de la costa en los meses con mayores temperaturas o con la presencia de El Niño (Cota, 2012). Es un pez predador, siendo otros peces con los que comparte su hábitat, su principal alimento (Samamé & Castañeda, 1999).

6.4 Características morfológicas

Kong y Castro (2002) describen a *P. adspersus* como un pez de cuerpo plano y elíptico (Figura 2), el lado ocular presenta escamas ctenoides y en el lado ciego, escamas cicloides, la línea lateral fuertemente curvada en su porción inicial, se continúa casi en la línea recta hacia la región posterior. Además posee una cabeza grande y con el perfil casi recto, boca grande y oblicua, branquiespinas cortas. Las narinas ubicadas en el lado ocular son de tamaño pequeño y situadas una al lado de la otra cercanas al perfil de la cabeza, similar a las narinas del lado ciego. La aleta dorsal alargada sin espinas, se inicia por encima o a nivel de la mitad del ojo; aletas pectorales cortas con radios rameados, su longitud de la cabeza en el lado ocular y casi un tercio de la longitud de la cabeza sobre el lado ciego; la base de las aletas pélvicas cortas y casi simétrica.

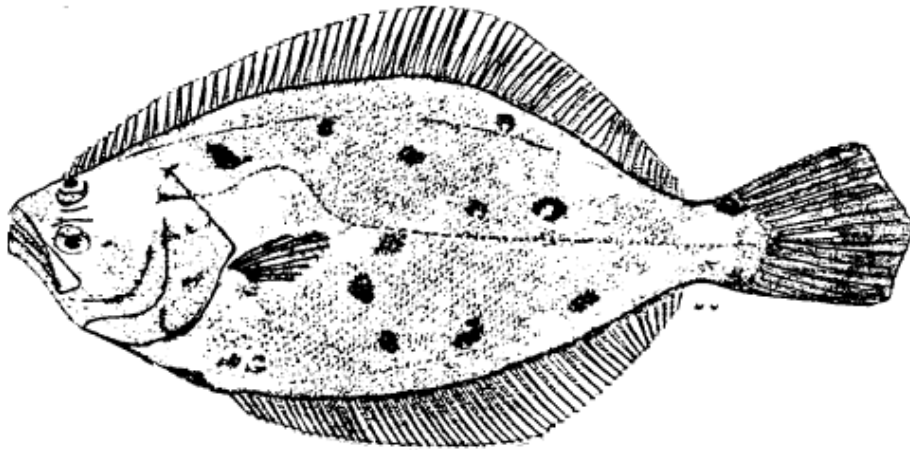


Figura 2. Imagen de *Paralichthys adspersus*
Fuente: Catalogo, Universidad de Concepción de Chile

6.5 Reproducción

El lenguado es un desovador parcial asincrónico (Silva & Oliva, 2010), su época de desove se presenta en condiciones naturales en primavera y verano, es decir entre los meses de octubre y febrero (Samamé & Castañeda, 1999). No presenta dimorfismo sexual externo, sin embargo se reporta una diferencia sexual por tallas, alcanzando las hembras un mayor tamaño que los machos (Samamé & Castañeda, 1999 y Ángeles & Mendo, 2005). Además de una diferencia observada en cuanto a los orificios anal, urinario y genital presentes en hembras (presenta los 3 separadamente) y machos (sólo 2, anal y urogenital) como lo menciona Ángeles y Mendo, 2005.

6.6 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. Así, Zúñiga (1988) indica que en la zona central *P. adpersus* consume preferentemente anchoveta (*Engraulis ringens*) y mísidos (*Metamysidopsis* sp.). Señala además, una marcada diferencia en la dieta entre juveniles y adultos, desde la presencia de numerosas presas pequeñas de la epifauna en juveniles, a pocas presas pelágicas grandes en ejemplares adultos. Por su parte, Kong *et al.*, (1995) señalan que en la zona norte consume principalmente peces de media agua como la anchoveta “*Engraulis ringens*” y ocasionalmente, crustáceos bentónicos como el “muy muy” *Emerita analoga* (Silva & oliva, 2010).

6.7 Parámetros de cultivo

6.7.1 La temperatura

La respuesta a las condiciones de temperatura es frecuentemente una característica de la sensibilidad y al rango de tolerancia de la misma (Kingsolver & Huey, 1998). El rango de tolerancia de la temperatura, es la zona donde los índices de crecimiento son positivos, cada especie puede obtener índices positivos de crecimiento dentro de un rango específico de temperaturas tolerables, este rango es un reflejo del metabolismo y la ingesta de alimento. Como resultado, el crecimiento es caracterizado por un incremento constante de

crecimiento hasta un máximo de temperatura. La temperatura óptima es definida como la temperatura donde ocurre el máximo crecimiento (Freitas *et al.*, 2010).

6.7.2 La densidad

En cultivos intensivos de peces, hay demanda por una producción más eficiente en cuanto a cultivo larval, debido a los bajos índices de supervivencia. Conociendo las necesidades actuales, el acuicultor se ve en la necesidad de aumentar la densidad de cultivo.

Es un factor determinante la densidad en larvicultura, dado que influye en la interacción de la población como por ejemplo en la agresividad, enfermedades y el canibalismo, dando como resultado diferentes tamaños de individuos, el rendimiento en cuanto a supervivencia y crecimiento de la población de cultivo (Hatzathanasiou *et al.*, 2002). Asimismo Baskerville-Bridges y Kling (2000) nos dicen que a altas densidades de cultivo, hay una reducción de dominancia social y un comportamiento antagónico entre individuos; lo que conduce a un incremento en la supervivencia lo que viene acompañado en paralelo con una disminución del crecimiento.

6.8 Aspectos de la biología larval del lenguado bajo condiciones controladas de laboratorio

Zuñiga & Acuña (1992) nos dicen que la eclosión de larvas de *P. adspersus* ocurre a las 60 horas después de fertilización a una temperatura de entre 13 °C y 16 °C, la larva mide alrededor de 1,7 mm de longitud notocordial; su saco vitelino es más de la mitad del largo de su cuerpo; presenta una pequeña gota oleosa con un diámetro de 0,13 mm presente en la parte posterior del saco vitelino.

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. 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. (Figura 3).



Figura 3. Larva de *Paralichthys adspersus*

Fuente: Elaboración propia

Cuando llega el tamaño de alrededor de los 3,6 mm la boca se hace funcional y comienza la alimentación activa cerca de la superficie. Alrededor de los 18 días y a un tamaño promedio de 6,7 mm aparecen los primeros radios alargados de la dorsal, que para esta especie son 3. En este estado la actividad alimentaria es muy activa, nadando para estos efectos a través de toda la columna de agua.

Daniels & Watanabe (2010) nos indican que es necesaria la adición diaria de microalgas como *Nannochloropsis* e *Isochrysis*, en la primera fase larval la alimentación

consta de rotífero (Figura 4a), enriquecidos con microalgas o enriquecedores comerciales hasta los días 15-20 DDE, donde al día 15 DDE se comienza la transición de alimento con nauplios de *Artemia* (Figura 4b) acompañado de una disminución del rotífero hasta el día 20. Para este tiempo, la larva es capaz de comer artemia enriquecida en coalimentación con dietas artificiales hasta el día 60; tiempo en el cual la larva ya completo la metamorfosis con una longitud de 15 mm (67%) y 20 mm (33%) y donde la supervivencia se encuentra entre 10- 25%.

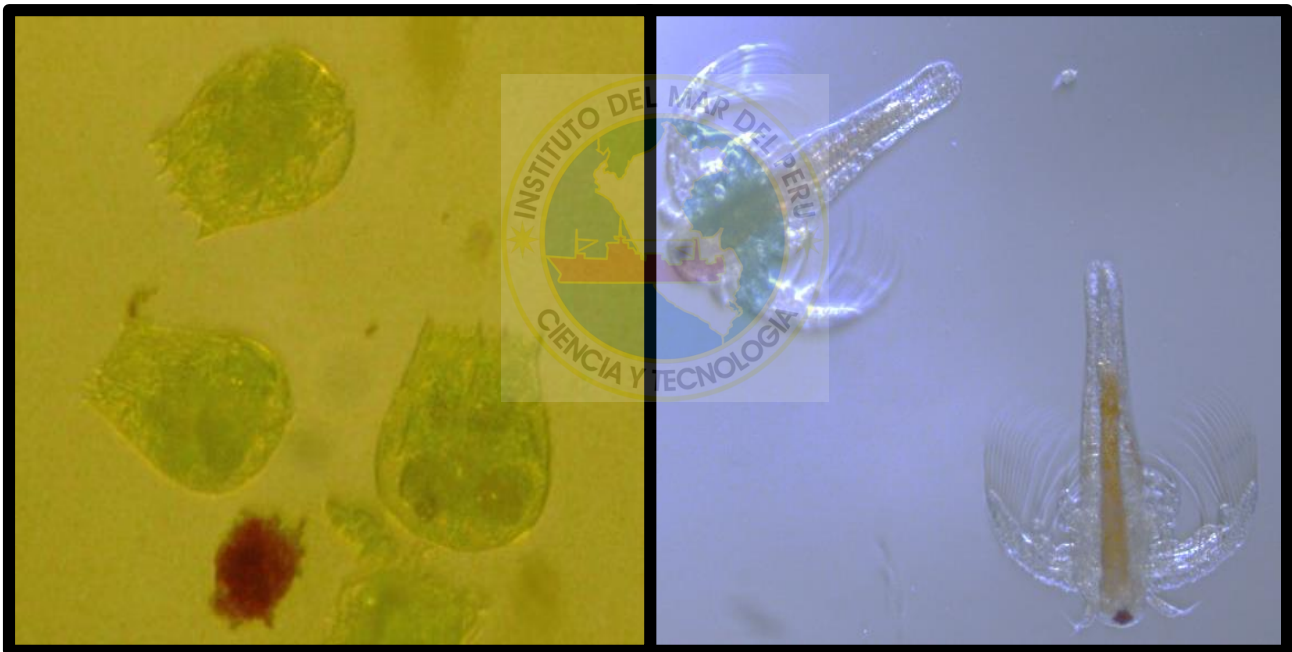


Figura 4. (a) Imagen del rotífero *Brachionus plicatilis* y (b) de Nauplio de *Artemia*
Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos en estas etapas indican que el crecimiento, calidad y supervivencia larval dependen principalmente de factores relacionados con la calidad

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

6.9 Sistema de recirculación

Para el lenguado, la calidad del agua, se encuentra de la misma manera para todas las fases del cultivo, siendo la etapa de incubación y larvas con saco vitelino más críticas en este aspecto que otras.

El sistema de recirculación de agua (SRA) es la tecnología que permite el cultivo de peces a mayor intensidad, y un considerable ahorro de energía en términos de utilización de agua. En el SRA, el ambiente es totalmente controlado. Los peces se crían en estanques en las condiciones más seguras posibles, pudiendo además protegerse dentro de una construcción cerrada para controlar el ambiente aéreo. El agua circula a través del sistema, y solamente un pequeño porcentaje de agua es reemplazado diariamente. La temperatura, salinidad, pH, alcalinidad, composición química y el oxígeno son monitoreados y continuamente controlados. Los residuos son filtrados y removidos, se le incorpora oxígeno para mantener concentraciones suficientes para la densidad de peces en cultivo, y por último el efluente es tratado en un biofiltro para la conversión biológica del nitrógeno amoniacal a nitratos.

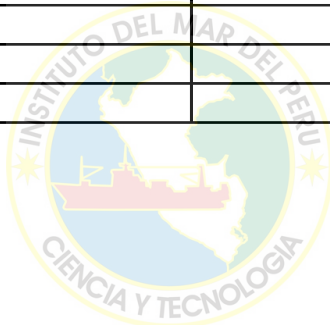
En sistemas de cultivo, se forma en una clase de “jabón químico” que está formado por un gran número de factores biológicos, químicos y físicos que se interrelacionan en

una serie compleja de reacciones físico-bio-químicas. Estas reacciones influyen en todos los aspectos de cultivo, desde la sobrevivencia de los peces y las tasas de crecimiento, al funcionamiento del biofiltro y retiro de sólidos. Una comprensión básica de la química del agua es indispensable para el éxito de todo sistema intensivo (Andrade, 2007). En la tabla 1 se muestra el requerimiento de oxígeno en turbot en cada etapa del ciclo de cultivo.

Tabla 1. Requerimientos de oxígeno del “turbot” en cada etapa del ciclo de cultivo

ETAPA	CONCENTRACION MINIMA DE OXIGENO (PPM)
Reproductor en el desove	desconocida
Incubacion	desconocida
Larva	6
Deshabitucion	4
Alevinaje	3
Engorda	3

Fuente: Orellana, 2000



VII. METODOLOGÍA

7.1 Lugar de ejecución

La investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Cultivos de Peces, del Centro de Investigaciones Acuícolas Alexander von Humboldt (CIA), del Instituto del Mar del Perú-Chuicuito- Callao.

7.2 Tipo de investigación

Investigación básica y aplicada, porque se busca aportar conocimiento científico mediante ensayos experimentales en base a los efectos de algunas condiciones de cultivo sobre el crecimiento y supervivencia.

7.3 Variables de estudio

7.3.1 Variables independientes

- Temperatura de cultivo
- Densidad poblacional

7.3.2 Variables dependientes

- Crecimiento
- Peso
- Supervivencia

7.3.3 Variables constantes

- Oxígeno disuelto
- pH



7.4 Materiales, equipos y otros

7.4.1 Material biológico

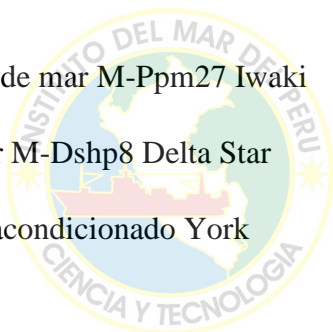
- Larvas de lenguado *P. adspersus* *
- Alimento vivo (*Nannochloropsis* e *Isochrysis*, rotífero y *Artemia*)**

*Material provisto por el Laboratorio de Cultivo de Peces de la CIA Alexander von Humboldt

** Material provisto por el Laboratorio de Alimento Vivo de la CIA Alexander von Humboldt

7.4.2 Materiales y equipos del sistema de recirculación del laboratorio de Cultivo de Peces

- 2 Bomba de agua de mar M-Ppm27 Iwaki
- 2 bombas de calor M-Dshp8 Delta Star
- Equipo para aire acondicionado York
- 2 biofiltros
- 1 Compresor de aire
- 2 esterilizadores de luz UV
- 1 Multiparámetro Thermo Scientific
- 12 tanques de fibra de vidrio 150 l circulares
- 2 tanques de fibra de vidrio (pulmón)
- 24 piedras difusoras
- 20 m de manguera siliconada
- Conexiones hidráulicas (tuberías)



7.4.3 Materiales y equipos para recolección de datos

- Microscopio trinocular electrónico con cámara Leyca
- Estereoscopio trinocular electrónico con cámara Leyca
- Estufa Menmert
- Microbalanza Sartorius
- laptop HP
- Cámara Neubauer
- Pipetas de 3ml
- Hojas bond
- Bitácora
- Lapiceros



7.4.4 Materiales para el mantenimiento de cultivo

- Sifoneador de 200 μ y 500 μ
- Paños limpiadores
- Vara con punta de esponja
- Mangueras siliconadas de 1"

7.5 Procedimiento experimental

7.5.1 Mantenimiento de reproductores

Los reproductores proporcionados pertenecen al Laboratorio de Cultivo de Peces, donde estos se encuentran acondicionados, en tanques circulares de fibra de vidrio de 2,5m³, conectados a un sistema de recirculación de agua de mar (SRA), mantenido a regímenes de fotoperiodo y temperatura, para inducir

la maduración gonadal. Los reproductores están marcados con chips electrónicos para realizar un seguimiento individualizado durante los muestreos biométricos.

La alimentación se basa en trozos de anchoveta suministrados al 2,5% de la biomasa total de peces y suplementado con vitaminas y omegas. El alimento es suministrado 3 veces a la semana en 1 sola ración, al momento de mayor intensidad de luz del fotoperiodo entre las 11:00 am y la 1:00 pm.

Mensualmente se realizan muestreos biométricos para evaluar la condición de los peces y se registran los datos de peso, longitud y se obtienen muestras para evaluar la madurez gonadal. En el caso de las hembras la madurez gonadal se evaluó mediante la toma de ovocitos obtenidas por canulación, que posteriormente fueron analizadas mediante la medición de 30 a 40 ovocitos por muestra. En el caso de machos la muestra se obtuvo a través de masaje abdominal, se determinó la concentración y motilidad espermática, para lo cual se utilizó solución salina a una concentración de cloruro de sodio al 0,9% y agua de mar para las diluciones previas (Ceccon *et al.*, 2010), los conteos se realizaron en una cámara Neubauer.

Los análisis de ambas muestras se realizan con una cámara digital conectada a un microscopio marca Leyca, con un programa de imagen y medición LAS V4.

7.5.2 Desove

Para el desove, se seleccionaron dos machos que presentaron motilidad espermática mayor al 50% y dos hembras con avanzado estado de maduración (ovocitos de al menos 500 μm), que mostraron el vientre abultado; se les aplicó inducción hormonal con el producto Conceptase (Buserelina acetato) inyectada intraperitonealmente en la base de la aleta pectoral de cada hembra en una sola dosis de 0,1 ml /kg.

Posteriormente luego de 48 horas se extrajeron los óvulos de las hembras de *P. adspersus* seleccionadas; por presión abdominal o “stripping”, estos fueron colectados en un beaker de 500 ml, pesados, y se mantuvieron a una temperatura de 5°C, mientras que se extrajo el espermatozoos de los machos, también por presión abdominal, el cual se colectó en jeringas de 1 ml (Ceccon *et al.*, 2010) para luego ser mezclado con los ovocitos desovados y después de 5 minutos, 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. Los huevos viables fueron colocados en tanques cónicos de 150 l, a una temperatura de 17°C, con un volumen de 60% de agua de mar filtrada (Figura 5).



Figura 5. Flujo de procedimiento de desove artificial

Fuente: Elaboración personal

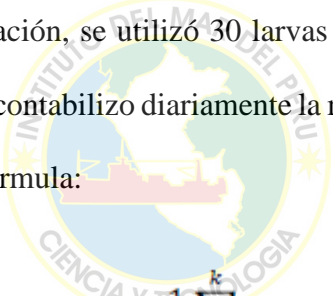
Se calculó el porcentaje de eclosión (PE), para ello se tomó una muestra de 50 huevos fecundados y se colocó en beakers de 500 ml. A las 48 h., se procedió al recuento de larvas eclosionadas vivas, muertas, y de huevos no eclosionados, aplicándose la siguiente formula:

$$PE (\%) = (LE / (LE + \text{larvas muertas} + \text{huevos no eclosionados})) * 100$$

Donde:

PE= porcentaje de eclosión; LE= larvas eclosionadas (Radonic *et al.*, 2005)

Para evaluar la calidad larval se midió el índice de supervivencia; este índice refleja la actividad de la larva y su tolerancia a la inanición. Para su evaluación, se utilizó 30 larvas colocadas en beaker de 1 L por triplicado. Se contabilizo diariamente la mortalidad acumulada y se aplicó la siguiente fórmula:


$$SAI = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^k (N - h_i) * i$$

Dónde:

N= número total de larvas; h_i =mortalidad acumulada por i-th; k= número de días transcurridos hasta que todas las larvas mueren debido a inanición. (Shimma & Tsujigado, 1981; Furuita *et al.*, 2000).

Para evaluar la calidad larval se midió el índice de supervivencia que por sus siglas en ingles es specific activity index (SAI); este índice refleja la actividad de la larva y su tolerancia a la inanición.

7.5.3 Cultivo larval

A las 24 horas siembra, se colecto los huevos muertos para lo cual se suprimió el aire del tanque por 5 minutos para que estos se depositen en el fondo, luego se extrajo 8 litros de la salida del tanque, para eliminar huevos muertos, por ende la contaminación del agua. Posteriormente fueron sembradas en tanques de 500 l de fibra de vidrio con aireación constante de bajo flujo, temperatura de 18°C y luz constante. Se mantienen las larvas en tanques sin sistema de recirculación, se realizó diariamente un recambio de 100% agua de mar filtrada a 1 µm. El caudal de agua para el recambio diario fue en aumento, día tras día, mientras la larva desarrolla tolerancia a los cambios, de acuerdo al manejo larval del laboratorio. Luego de los recambios, se agregó microalga *Nannochloropsis* sp, para mantener la calidad de agua, dispersar mejor la luz en todo el tanque, además mantener vivo al alimento, y de esta manera, el instinto cazador de la larva hasta su posterior traslado, a los tanques de ensayo de 150 l ubicados en la Sala de Larvas.

7.5.4 Longitud y peso larval

El seguimiento de longitud los ensayos fueron realizados de forma constante durante todo el experimento según frecuencia específica para cada ensayo. Las larvas fueron observadas bajo un estereoscopio, fotografiadas y medidas en micras, mediante el software LAS V4 (Figura 6).



Figura 6. Toma de muestra para la determinación de la longitud total
Fuente: elaboración personal

Los muestreos para definir el peso se dieron al inicio de la experiencia y al final del experimento de cada ensayo. Para calcular el peso seco, las larvas se dispusieron en pocillos de aluminio previamente pesados (figura 7a, 7b, 7c y 7d) seguidamente se colocaron los pocillos de aluminio con las larvas (figura 7e) dentro de una estufa Menmert de 20 l de capacidad a 65°C durante 24h, como se muestra en los pasos b y c de la figura 7 (Pepin, 1995). El peso seco se midió con una precisión de 1 μg a con una balanza Sartorius, tal como se muestra en la figura 7.



Figura 7. Flujo de determinación de peso de larvas de *P. adspersus*
Fuente: elaboración personal

7.5.5 Ensayo de temperatura

Se utilizaron larvas de 2 DDE hasta los 46 DDE; sembrados en sistema de recirculación de 150 l de capacidad, se utilizó una densidad de 10 larvas por litro; las temperaturas evaluadas fueron de 16°, 18°C, 20°C, 22°C cada uno con tres réplicas. Las temperaturas se mantuvieron constantes mediante el uso de una bomba de calor que permite regular la temperatura del agua y calentadores con termostato.

El crecimiento se evaluó de forma regular durante los días de cultivo: 2, 4, 6, 8, 12, 14, 18, 22, 30, 38 y 46 DDE. Y el control del peso (mg) fue al inicio (2 DDE) y al final del ensayo (46 DDE). La supervivencia fue evaluada al final del ensayo contabilizándose las larvas vivas.

7.5.6 Ensayo de densidad

Se utilizaron larvas de 5 DDE hasta los 35 DDE, sembradas en dos sistemas de recirculación. La temperatura para ambos sistemas de recirculación en promedio 19°, para lo cual se utilizaran 9 tanques de cultivo de 150 l de capacidad, evaluándose tres densidades 10, 20 y 30 larvas por litro con 3 réplicas cada una.

El crecimiento se evaluó de forma regular durante los días de cultivo: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 DDE. Y el control del peso (mg) fue al inicio (5 DDE) y al final del ensayo (35 DDE). La supervivencia fue evaluada al final del ensayo contabilizándose las larvas vivas.

7.5.7 Mantenimiento de los ensayos

a. Sistema de recirculación de agua de mar

Se encuentra en la Sala de Larvas del Laboratorio de Cultivo de Peces del Centro de Investigaciones Acuícolas Alexander von Humboldt (Figura 8). La sala cuenta con dos sistemas de recirculación de agua de mar (SRA) adaptados cada uno a 6 tanques de cultivo de 150 L.



Figura 8. Sistema de recirculación de sala de larvas.

Fuente: IMARPE (2013)

Se realizó el mantenimiento del cultivo utilizando un sistema de recirculación conformado por biofiltro, filtro mecánico, filtro de 5 y 1 μ , bomba de agua, bomba de calor, esterilizador ultravioleta y se mantuvo el recambio de agua con flujo constante hasta llegar al 100 % de recambio diariamente (Figura 9).

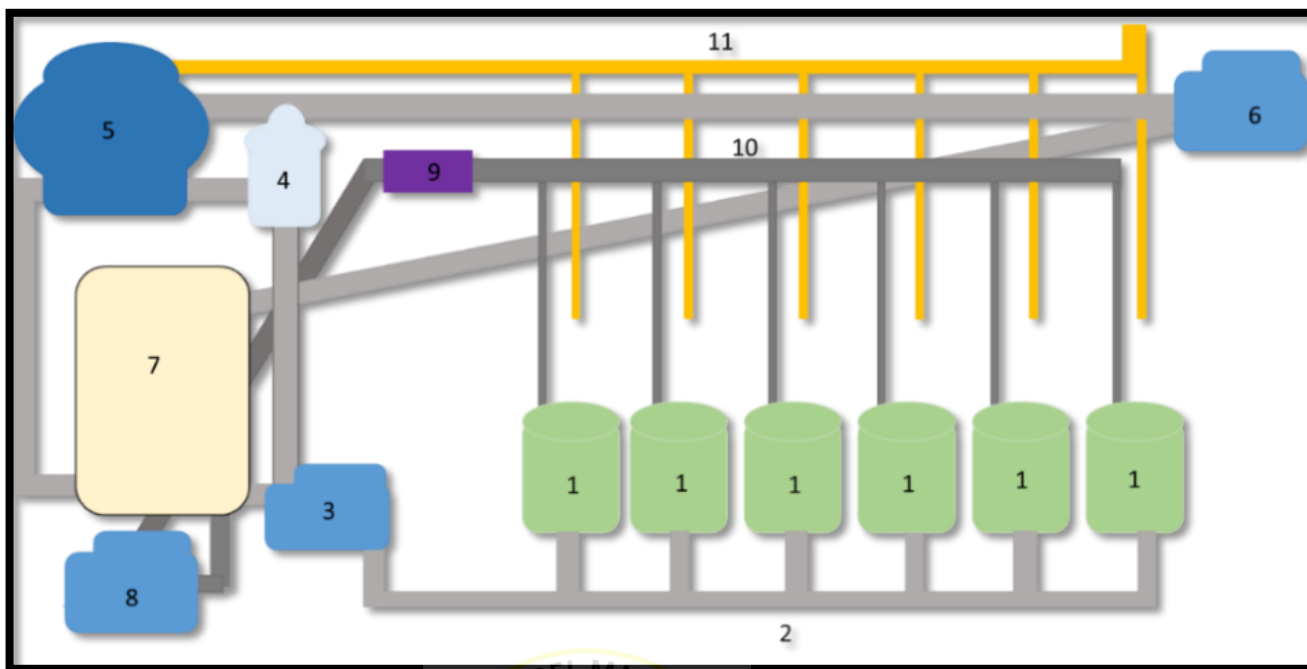


Figura 9. Esquema de sistema de recirculación de cultivo de Sala de larvas

Fuente: elaboración personal

1: tanques de cultivo de 150l, 2: tubería de desagüe; 3: bomba de filtro; 4: filtro mecánico; 5: biofiltro; 6: bomba de calor; 7: tanque pulmón; 8: bomba de alimentación; 9: esterilizador UV; 10: entradas de agua limpia; 11: tuberías de aire

b. Limpieza de los tanques del cultivo larval

Se realizó con una esponja adherida a un tubo (vara con punta de esponja), realizando movimientos verticales suaves a la base del tanque desde el centro hacia afuera, así en toda la circunferencia del tanque, para eliminar de esta manera toda suciedad del fondo; entre cada introducción y salida del tubo con la esponja, se limpiará la suciedad extraída con agua dulce a presión. Para las paredes del tanque la limpieza se realizó de la misma forma que como con la base, siendo que el tubo con la esponja irán de la parte inferior a la superior. Adicionalmente, las larvas muertas del fondo se retiraron con un sifoneador con punta de 200 y 500 μm .

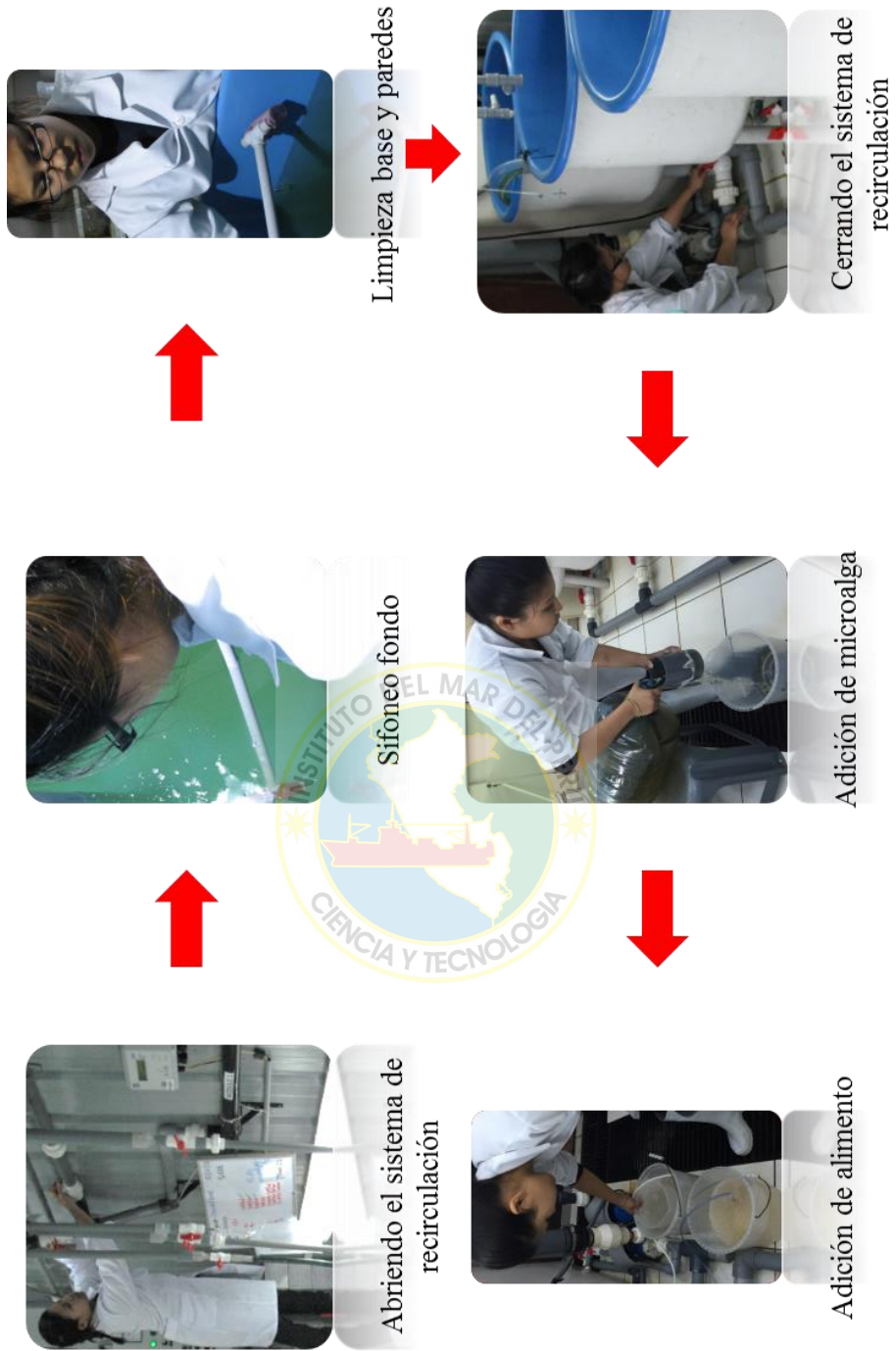


Figura10. Flujograma de mantenimiento del cultivo larval en el sistema de recirculación.
Fuente: elaboración personal

c. Alimentación

La alimentación exógena de larvas del lenguado *P.adspersus* se inicia cuando se ha consumido el saco vitelino y se les suministra el alimento vivo (rotíferos y artemia). El alimento vivo suministrado a las larvas es previamente enriquecido con un producto comercial (Super Selco®) que tiene ácidos grasos poliinsaturados esenciales para mejorar su desarrollo larval.

La primera etapa se inicia con la alimentación en base al rotífero *Brachionus plicatilis* talla “L” a partir del día 2 DDE con una densidad de 1 rot/mL incrementándose paulatinamente la densidad hasta un máximo de 7 rot/mL, las cuales se distribuyen en tres raciones diarias; la segunda etapa se inicia en el día 20 DDE con el consumo de nauplios de *Artemia* sp recién eclosionados a una densidad de 1 nauplio/mL hasta un máximo de 5 nauplios/mL hasta el día 45 DDE). El tiempo de cambio en el alimento fue gradual disminuyendo poco a poco la densidad de rotíferos administrada y aumentando la cantidad de artemia como se observa en la figura 11, al día 40 DDE se inicia el “destete” técnica en el que se le va disminuyendo la cantidad de alimento vivo y aumentando el alimento balanceado “pellet” en su totalidad.

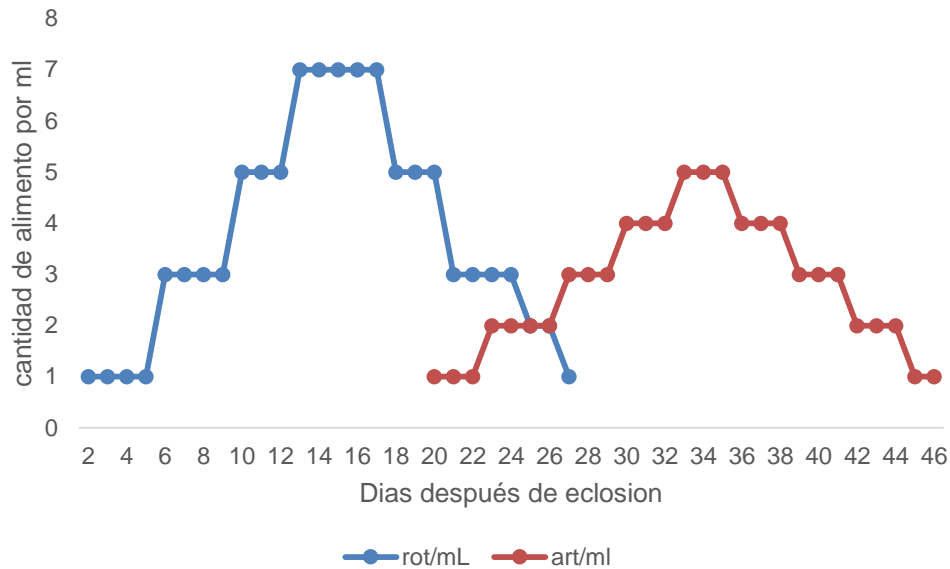


Figura 11. Programa de alimento vivo para cultivo larval de *P. adspersus* según días de eclosión

VIII. ANALISIS ESTADISTICO

Para ambos ensayos, densidad y temperatura los datos obtenidos para la evaluación de temperatura se expresaron en promedio \pm desviación estándar (DS). La normalidad de los datos se evaluó utilizando el test de Shapiro-Wilk, y la homogeneidad de varianzas se determinó aplicando el test de Levene.

Para hallar las diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, se utilizó Análisis de Varianza (ANOVA) y el test de Tukey, ya que los datos presentaron una distribución normal y homogeneidad de varianzas.

Para la evaluación de crecimiento en peso total de larvas TCE y TCR%, se utilizó un análisis ANOVA.

IX. RESULTADOS

9.1 Parámetros de desove

Los parámetros de desoves realizados para la presente tesis con la finalidad de obtener larvas para realizar los ensayos de temperatura y densidad, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de desoves de lenguado *P. adspersus*

Ensayo	Código de hembra	Peso Huevos (g)	Peso Huevos Viables (g)	Huevos/g	# Huevos Viables	% Fecundación	% Eclosión
Temperatura	932837	197,6	124,7	2951,6	368062	78,90%	52,67%
Densidad	927137	78,7	52,2	2631,6	137368	66,13%	28,00%

Los resultados del Índice de supervivencia larval (SAI) se calcularon para cada desove obtenido y se presentan en la Tabla 3.

Tablas 3. Evaluación de la calidad del desove mediante los parámetros de supervivencia larval (SAI)

Código	SAI
932837	22,70 ± 3,25
927137	31,67 ± 2,45

El SAI indica la tolerancia larval a la inanición, los valores obtenidos en las larvas de *P. adspersus* (tabla 3) indican que la condición de la larva es buena ya que sobrevive al consumo de la reserva del saco vitelino hasta el 8vo día después de eclosión.

9.2 Temperatura

En el presente estudio se tomaron los parámetros fisicoquímicos en cada uno de los tratamientos. La temperatura promedio para cada tratamiento 16°C, 18°C, 20°C y 22°C fueron de $15,74 \pm 0,29^{\circ}\text{C}$; $18,14 \pm 0,26^{\circ}\text{C}$; $20,05 \pm 0,65^{\circ}\text{C}$ y $21,91 \pm 0,55^{\circ}\text{C}$ respectivamente (Figura 12). La concentración de oxígeno disuelto fue de $9,90 \pm 0,09$ mg/l en el tratamiento 16°C; $7,50 \pm 0,10$ en el tratamiento 18°C; $9,15 \pm 0,10$ en el tratamiento 20°C y $8,80 \pm 0,24$ mg/l en el tratamiento 22°C (Figura 13). Además, el pH en los 4 tratamientos 16°C, 18°C, 20°C y 22°C fueron de $8,00 \pm 0,20$; $7,95 \pm 0,21$; $7,94 \pm 0,20$ y $7,94 \pm 0,19$ respectivamente (Figura 14).

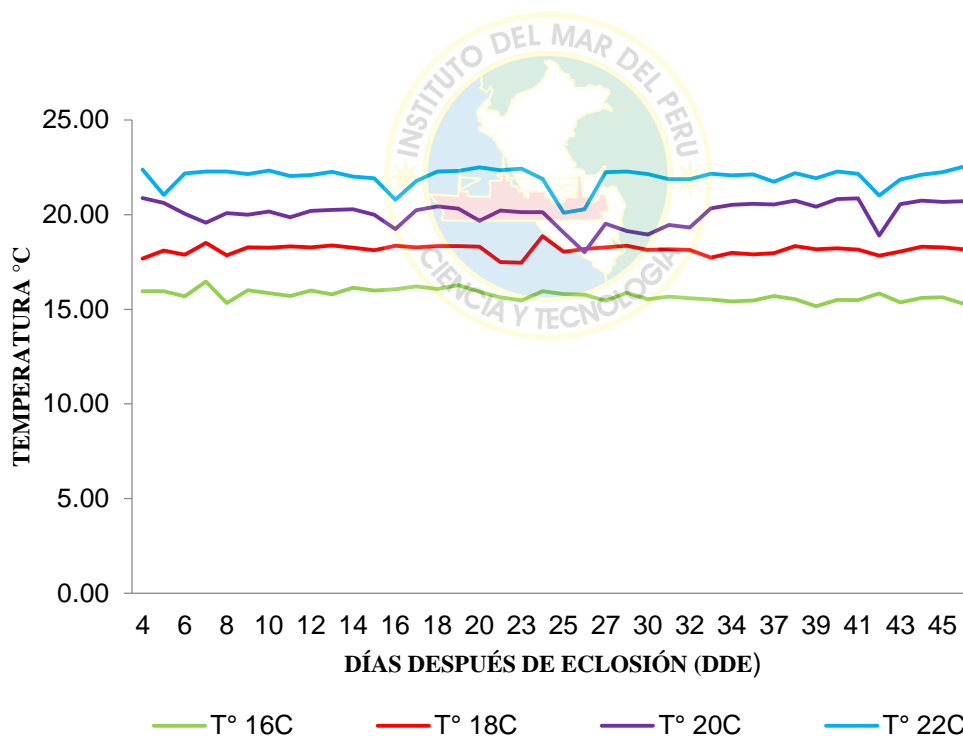


Figura 12. Temperatura del agua de cultivo de larvas de lenguado *P. adspersus*.

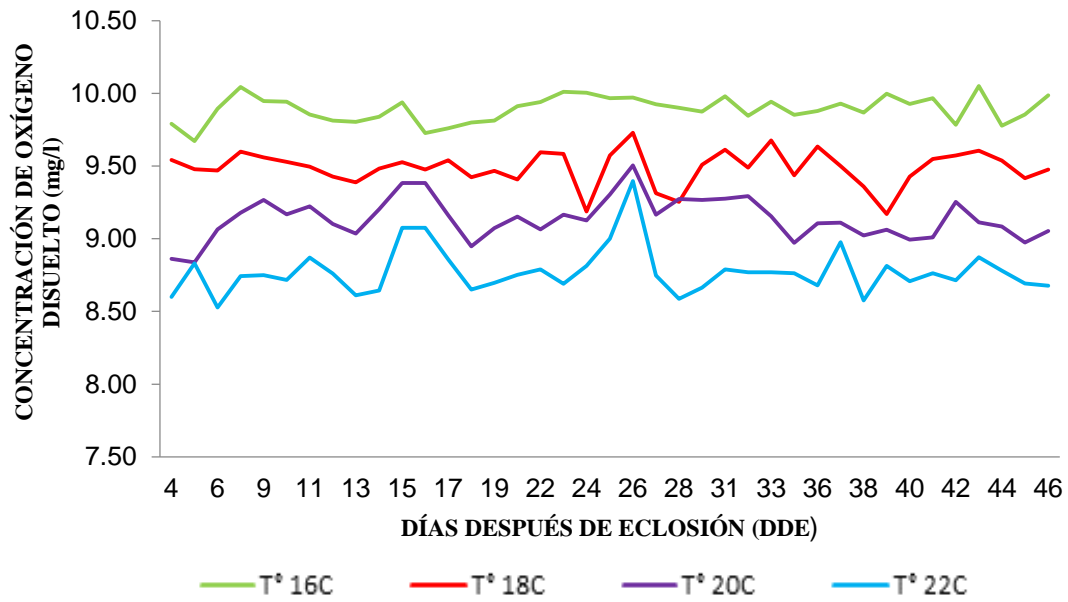


Figura 13. Concentración de oxígeno (mg/l) del agua de cultivo de larvas de lenguado *P. adspersus*.

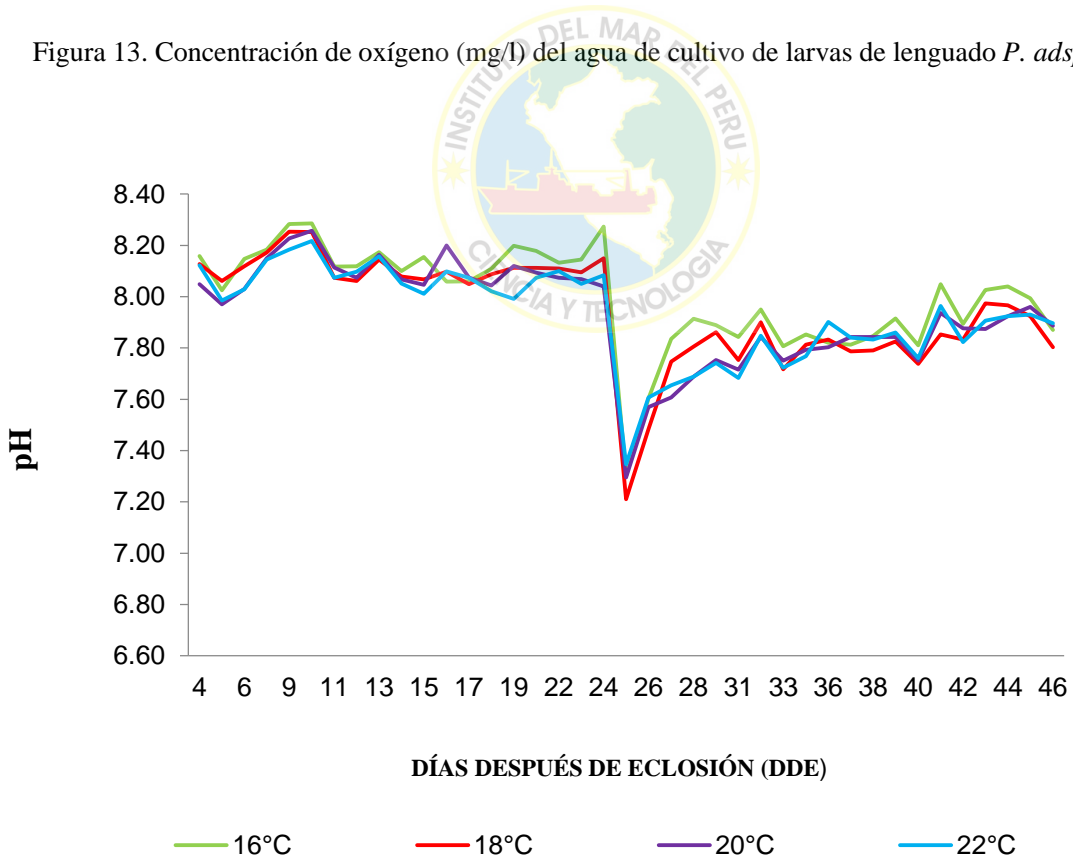


Figura 14. pH del agua de cultivo de larvas de lenguado *P. adspersus*.

Se evaluó el efecto de la temperatura sobre el crecimiento, observándose que a mayor temperatura hay un mayor crecimiento. Así tenemos que la longitud mayor, se encontró en tratamiento a 22°C con una longitud promedio de $17,7 \pm 2,53$ mm a los 46 días de cultivo (Figura 15).

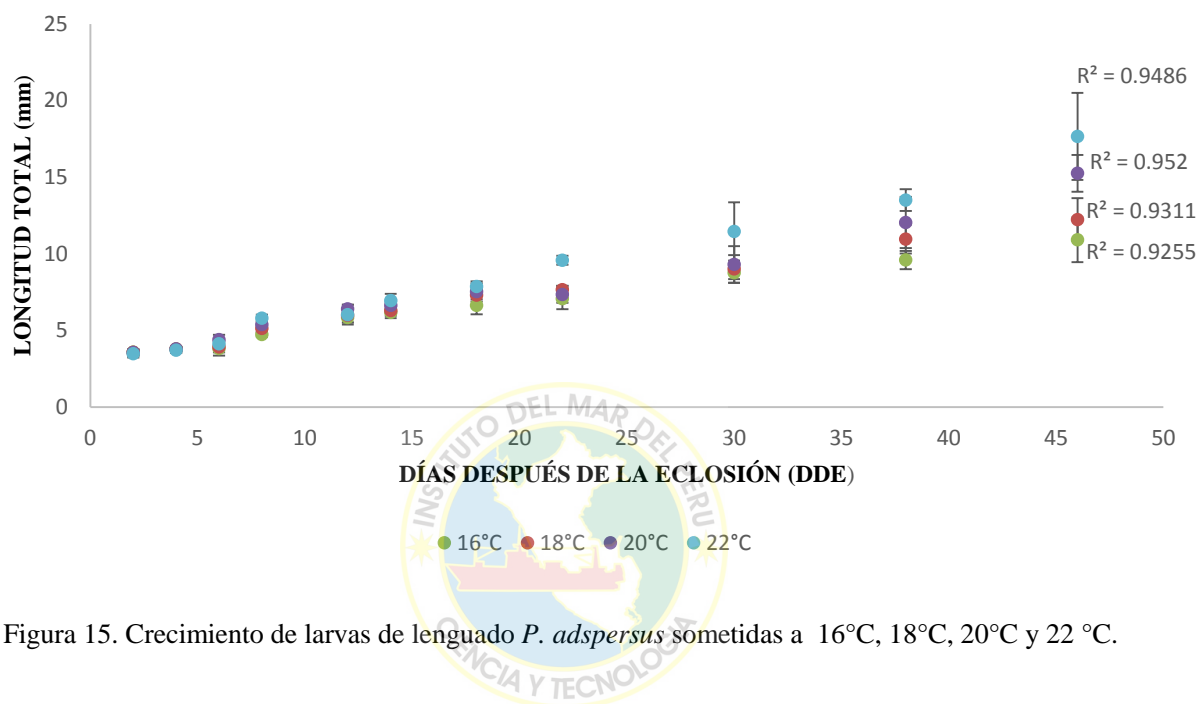


Figura 15. Crecimiento de larvas de lenguado *P. adspersus* sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22 °C.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para la variable longitud total (mm) de los diferentes tratamientos en el punto final del experimento, es decir a los 46 DDE. El ANOVA reveló que existen diferencias significativas entre los tratamientos de temperatura ($F=12,56$; $p<0,05$). Luego, se realizó el análisis de comparación de medias de Tukey para identificar entre que tratamientos hay diferencias significativas, se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento a 16°C con los tratamiento a 20 y 22°C ($p>0,05$), mientras que no se hallaron diferencias entre estos dos últimos. El tratamiento a 18°C no fue significativamente diferentes a los otros tratamientos ($p>0,05$) ver tabla 4.

Tabla 4. Longitud final (mm) a los 46 DDE de larvas de lenguado *P. adspersus* sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22 °C.

Tratamiento	Longitud final (mm)
16°C	10,92 ± 1,07 ^a
18°C	12,25 ± 1,06 ^{ab}
20°C	15,17 ± 0,21 ^b
22°C	17,67 ± 2,53 ^b

* Letras diferentes indican diferencia significativas (p<0.05)

También se evaluó un análisis de varianza (ANOVA) para la variable crecimiento en peso total promedio (mg) de los diferentes tratamientos en el punto final del experimento, es decir a los 46 DDE, se observa que existe un efecto de la temperatura sobre el peso ganado, TCE y TCR% ya que se encontraron diferencias significativas en los ANOVA (p<0,05). El tratamiento a una temperatura de 22°C fue en el que se obtuvieron los mayores valores de desempeño del crecimiento en peso de las larvas (Tabla 5).

Tabla 5. Desempeño de larvas de lenguado *P. adspersus* sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22 °C.

Tratamiento	Peso Inicial (mg)	Peso final (mg)	Peso ganado (mg)	TCE	TCR%
16°C	0,38 ± 0,02 ^a	1,53 ± 0,5 ^a	1,15 ± 0,58 ^a	3,12 ± 0,75 ^a	1,63 ± 0,17 ^a
18°C	0,37 ± 0,01 ^a	2,88 ± 1,2 ^a	2,51 ± 1,20 ^a	4,46 ± 0,88 ^a	1,87 ± 0,11 ^{ab}
20°C	0,34 ± 0,03 ^a	7,18 ± 3,01 ^{ab}	6,84 ± 0,06 ^{ab}	6,57 ± 0,01 ^b	2,06 ± 0,01 ^b
22°C	0,33 ± 0,06 ^a	12,16 ± 4,37 ^b	11,83 ± 4,43 ^b	7,61 ± 0,78 ^b	2,1 ± 0,02 ^b

* Letras diferentes indican diferencia significativas (p<0.05)

Además se observaron algunas diferencias morfológicas entre las larvas cultivadas a las diferentes temperaturas al final del ensayo, las cuales podemos describir según clasificación de Zuñiga y Acuña (1992) donde en la figura 16 la larva cultivada a 16 °C se

encuentra en estado de post flexión temprana caracterizada por una intensificación de la pigmentación en la región de la cola, una serie emparejada de melanóforos desarrollados cerca del dorso, la pigmentación de la cabeza aumenta; la larva a 18°C se encuentra en etapa de metamorfosis temprana caracterizada por que el patrón melanístico es similar al estado anterior excepto que la serie de pares dorsales es más evidente, la aleta dorsal es pigmentada particularmente en la parte posterior media y la región ventral del abdomen comienza a pigmentarse (figura 17), mientras a 20°C y 22°C la larva es virtualmente un juvenil etapa en la cual la pigmentación se incrementa (figuras 18 y 19).

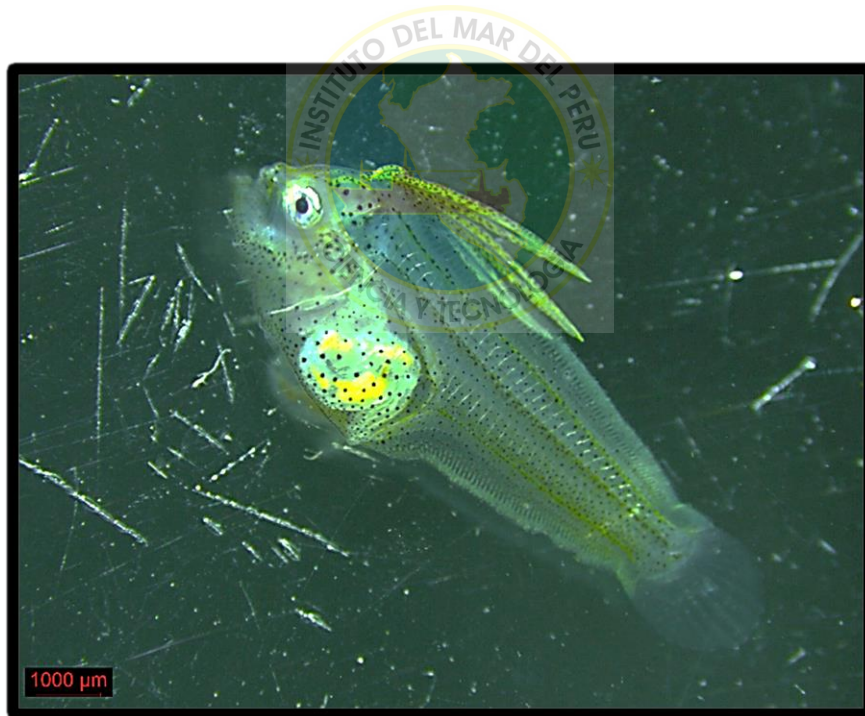


Figura 16. Larva de *P. adpersus* cultivada a 16 °C en estado de post flexión temprana
Fuente: elaboración personal



Figura 17. Larva de *P. adspersus* cultivada a 18 °C en estado de metamorfosis temprana
Fuente: elaboración personal

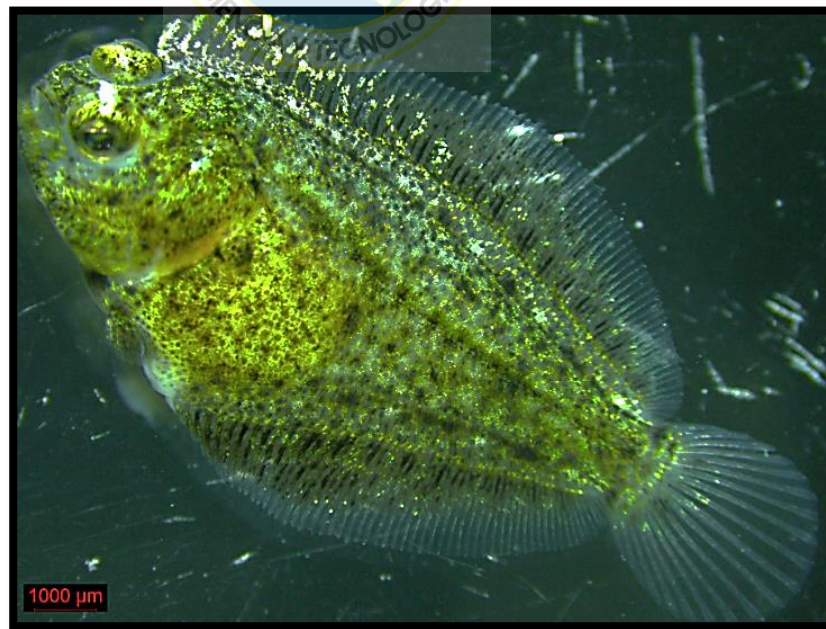


Figura 18. Larva de *P. adspersus* cultivada a 20°C en estado de metamorfosis
Fuente: elaboración personal

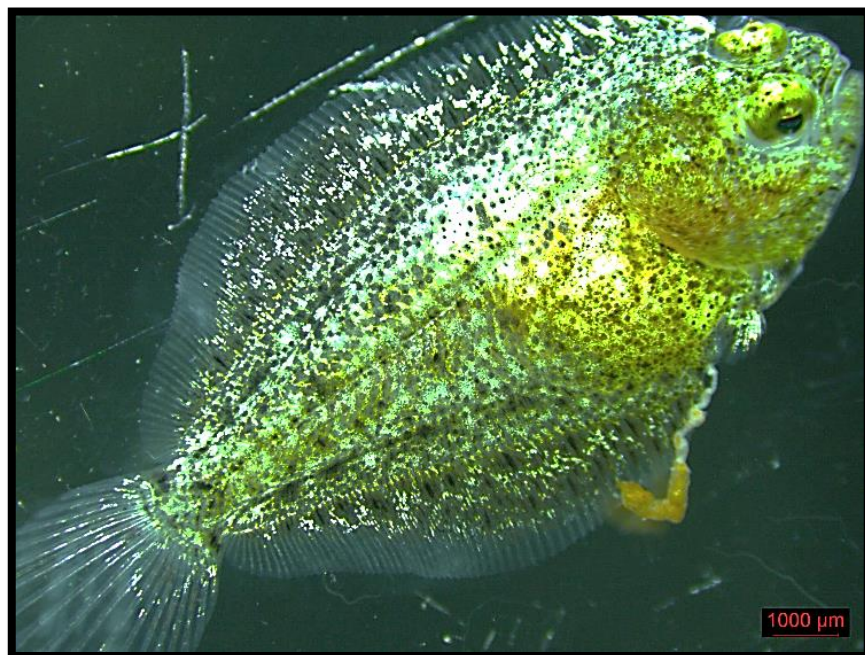


Figura 19. Larva de *P. adspersus* cultivada a 22°C en estado de metamorfosis
Fuente: elaboración personal

De los resultados presentados, se observa que a pesar que a 22°C hay un mayor crecimiento la sobrevivencia es menor, y a 18°C se observa una mayor sobrevivencia, pero no todos los parámetros de crecimiento son significativamente diferentes de 22°C como en la longitud total, lo que si ocurre en relación al peso, lo cual se deba a la aleatoriedad de las muestras.

Se calculó la supervivencia al final del periodo de cultivo en cada uno de los tratamientos. La supervivencia disminuyó considerablemente desde el día 35DDE ya que a partir de este periodo se da el proceso de destete, el cual al realizarse el cambio en la alimentación de alimento vivo al balanceado genera una mortalidad adicional que no estaría asociada al parámetro de la temperatura, resultando así que a los 46 DDE una supervivencia de 15, 17, 5 y 7 % para los tratamientos a 16, 18, 20, 22°C respectivamente (Tabla 6).

Tabla 6. Supervivencia al final del ensayo (46 DDE) de larvas de lenguado *P. adspersus* sometidas a 16°C, 18°C, 20°C y 22 °C.

Tratamiento	Supervivencia (%)
16°C	15 ± 0,01 ^a
18°C	17 ± 0,05 ^a
20°C	5 ± 0,03 ^b
22°C	7 ± 0,03 ^b

* Letras diferentes indican diferencia significativas (p<0,05)

9.3 Densidad

Se evaluaron tres densidades de cultivo 10 larvas/l, 20 larvas/l y 30 larvas/l con 3 tratamientos por cada una de ellas. La temperatura promedio para cada tratamiento fueron de 19,98 ± 0,27°C para el tratamiento de 10 larvas/l; 19,83 ± 0,41°C para el tratamiento de 20 larvas/l; 19,9 ± 0,35 °C para el tratamiento de 30 larvas/l (Figura 20). La concentración de oxígeno disuelto fue de 7,44 ± 1,38 para el tratamiento de 10 larvas/l mg/l; 7,32 ± 1,46 para el tratamiento de 20 larvas/l; 7,36 ± 1,42 para el tratamiento de 30 larvas/l (Figura 21). Además, el pH en los 3 tratamientos de 10 larvas/l, 20 larvas/l y 30 larvas/l fueron de 8,00 ± 0,15; 7,99 ± 0,16; 7,4 ± 1,38 respectivamente (Figura 22)

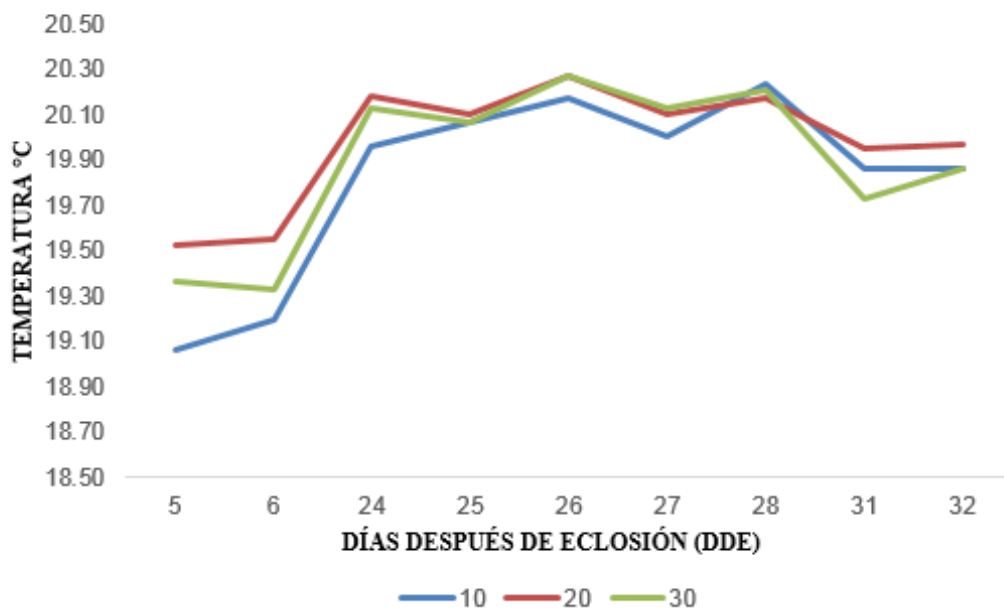


Figura 20: Temperatura del agua del ensayo de densidad de cultivo de larvas de lenguado *P. adspersus*.

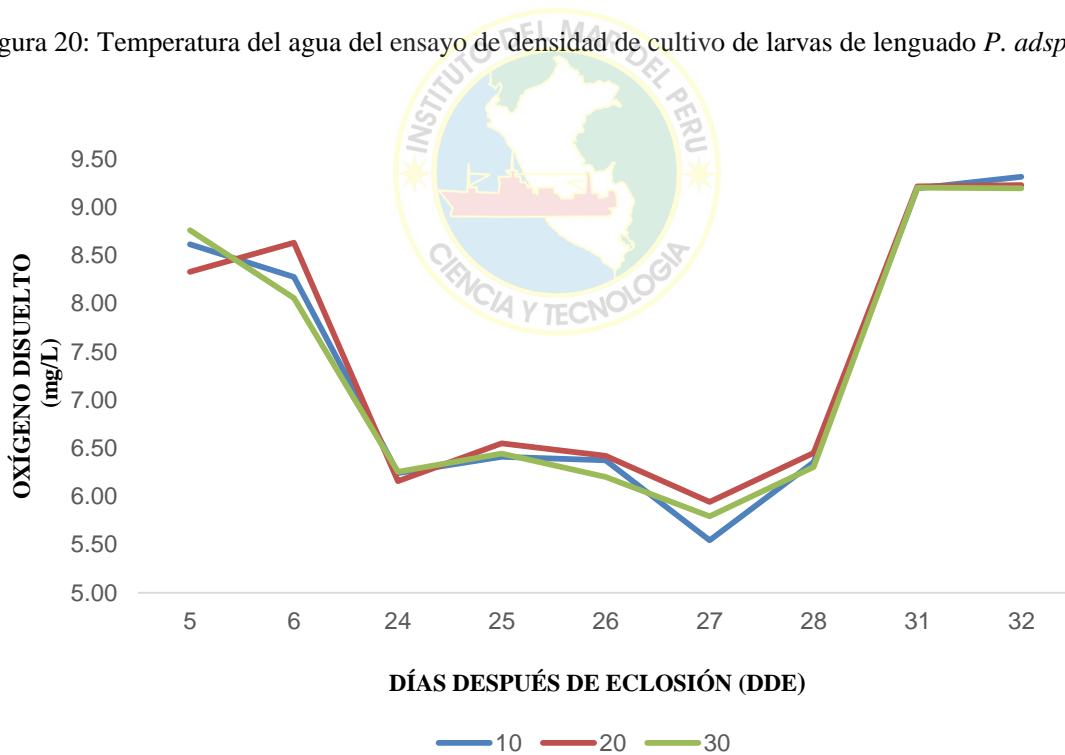


Figura 21: Oxígeno disuelto (mg/l) del agua del ensayo de densidad de cultivo de larvas de lenguado *P. adspersus*.

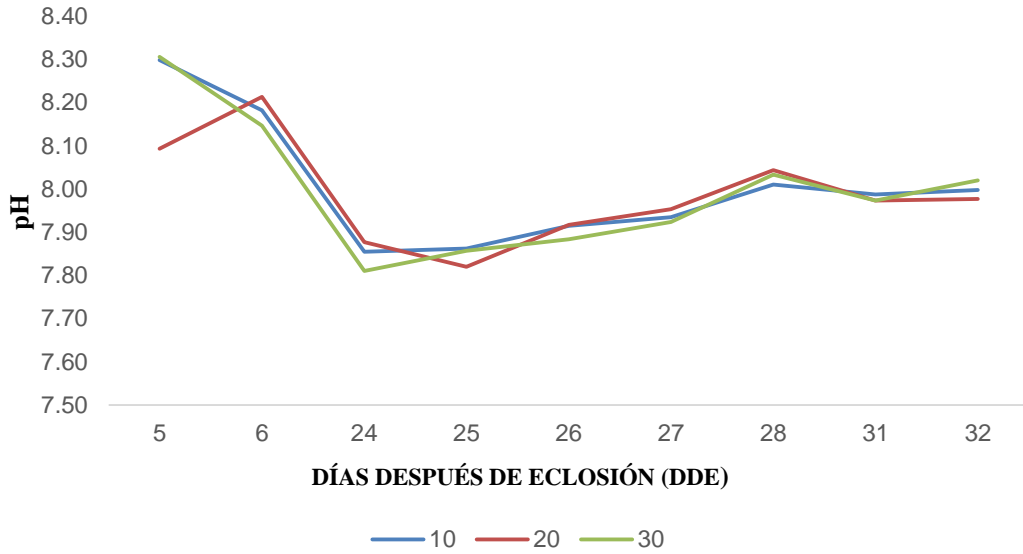


Figura 22. pH del agua del ensayo de densidad de cultivo de larvas de lenguado *P. adspersus*.

En el ensayo de densidad, se mostró un mayor crecimiento de longitud a una menor densidad de cultivo (figura 23), por lo tanto se observa que el tratamiento de 10 larvas/L alcanzan una longitud total de 9,35 mm al día 35 de cultivo .

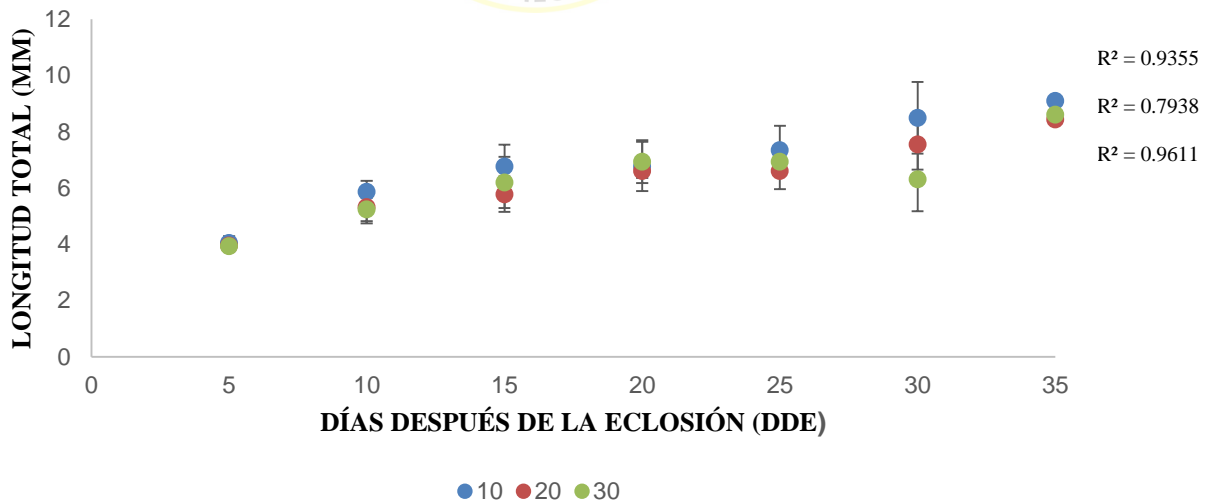


Figura 23. Crecimiento de larvas de lenguado *P.adspersus* sometidas a densidades de 10, 20 y 30 larvas/l.

Se evaluó el crecimiento en longitud total (mm) en el punto final a los 35 DDE de los diferentes tratamientos. El ANOVA reveló que no existen diferencias significativas entre todos los tratamientos ($F=1,24$, $p<0,05$) por lo cual la densidad no tiene efecto sobre el crecimiento en longitud (Tabla 7).

Tabla 7. Longitud final (mm) a los 35 DDE de larvas de lenguado *P. adspersus* sometidas a densidades de 10, 20 y 30 larvas/L.

Tratamiento (larvas/l)	Longitud final (mm)
10	9,35 ± 0,48 ^a
20	8,54 ± 0,36 ^a
30	8,80 ± 0,94 ^a

* Letras diferentes indican diferencia significativas ($p<0,05$)

También se evaluó el desempeño del crecimiento en peso y el ANOVA reveló que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en todos los parámetros evaluados (Tabla 8).

Tabla 8. Desempeño de larvas de lenguado *P. adspersus* sometidas a diferentes densidades de cultivo a 10, 20 y 30 larvas/L.

Tratamiento (larvas/l)	Peso Inicial (mg)	Peso final (mg)	Peso ganado (mg)	TCE	TCR%
10	0,43 ± 0,01 ^a	3,87 ± 0,33 ^a	3,45 ± 0,34 ^a	4,82 ± 0,23 ^a	1,94 ± 0,02 ^a
20	0,43 ± 0,02 ^a	3,49 ± 1,03 ^a	3,06 ± 1,03 ^a	4,47 ± 0,63 ^a	1,89 ± 0,07 ^a
30	0,44 ± 0,71 ^a	2,81 ± 0,06 ^a	2,37 ± 0,08 ^a	4,01 ± 0,12 ^a	1,83 ± 0,01 ^a

* Letras diferentes indican diferencia significativas ($p<0,05$)

Además casi no se observaron diferencias morfológicas entre las larvas cultivadas a las diferentes densidades al final del ensayo, se puede describir según clasificación de Zuñiga y Acuña (1992) donde en la figura 24 se puede observar que la densidad de 10 larvas/l se encuentra en un estado avanzado de post flexión temprana y en el inicio del estado de metamorfosis temprana. Mientras en las figuras 25 y 26 las larvas cultivada a 20 larvas /l y 30 larvas/l respectivamente estas se encuentran en estado de post flexión temprana.



Figura 24. Larva de *P. adspersus* cultivada a una densidad de 10 larvas /l en estado de post-flexión.
Fuente: elaboración personal



Figura 25. Larva de *P. adspersus* cultivada a una densidad de 20 larvas /l en estado de post-flexión.
Fuente: elaboración personal



Figura 26. Larva de *P. adspersus* cultivada a una densidad de 30 larvas /l en estado de post-flexión.
Fuente: elaboración personal

El porcentaje de sobrevivencia para los 3 ensayos (10 larvas/L, 20 larvas/L y 30 larvas/L) al día 35 DDE se observa en la tabla 9.

Tabla 9. Supervivencia de larvas de lenguado *P. adspersus* sometidas a densidades de 10, 20 y 30 larvas/l.

Tratamiento (larvas/l)	Supervivencia (%)
10	10 ± 3,72 ^a
20	5 ± 4,14 ^a
30	3 ± 0,32 ^a

* Letras diferentes indican diferencia significativas (p<0,05)



X. DISCUSION

Los valores obtenidos de SAI para los desoves escogidos dentro de la presente están dentro del rango (20-40%) reportado por Avilés, 2005 para *P. olivaceous*.

Los valores obtenidos de concentración de oxígeno se encuentran dentro del rango aceptable según Orellana, 2002; además el pH se encuentra también dentro de los valores aceptable en el rango propio de pH del agua del mar.

La temperatura puede ser considerada como uno de los factores principales para los peces debido a que afecta todos los procesos fisiológicos y sistemas ecológicos. Los extremos termales pueden resultar perjudiciales e incluso letales. Dentro del rango de temperatura que un pez normalmente encuentra, esta es un agente directo de aceleración y desaceleración de reacciones bioquímicas, impactando así todos los aspectos fisiológicos y de comportamiento de un pez (Crawshaw & Podrabsky, 2011).

Específicamente, la temperatura tiene influencia en la fisiología de huevos y larvas de peces marinos, teniendo efecto diferente en el crecimiento y la sobrevivencia (Hart & Purse, 1995). La temperatura del agua tiene influencia en el índice de eclosión (Hart & Purser, 1995) tamaño de la larva en la eclosión (, tiempo de absorción del saco vitelino, en el crecimiento y sobrevivencia larval. Así, tenemos que en ensayos de temperatura para la especie *Rhombosolea tapirina*, Hart y Purser (1995) determinaron el efecto de la temperatura en el tamaño final y en el índice de crecimiento hasta finalizar la absorción del saco vitelino a temperaturas de 9, 12, 15, 16,5 y 18°C, encontrándose que la temperatura tiene un efecto significativo en la longitud de las larvas de lenguado al final de la etapa de absorción del saco vitelino

pero no tiene efecto en la sobrevivencia, los resultados de las larvas cultivadas a 18°C presentan similitudes significativas con las cultivadas a 16,5°C, que aquellas cultivadas a 15, 12 y 9°C al término de la absorción del saco vitelino.

Hart *et al.*, (1996), con *Rhombosolea tapirina* evaluaron el efecto de la temperatura en larvas cultivadas a 15, 16, 17, 19 y 20°C; donde las larvas más grandes y los índices de crecimiento más rápido ocurren en temperaturas de 19°C (13,88 ± 0,15 mm) y 20°C (13,99 ± 0,24 mm). Las larvas cultivadas a 15°C con 11,24 ± 0,20 mm fueron significativamente más pequeñas a diferencia de todos los demás tratamientos; en cuanto al peso también las cultivadas a 19 y 20 °C fueron las mayores con 0,039 ± 0,001 g y 0,040 ± 0,002 g respectivamente, las larvas cultivadas a 17°C con 0,027 ± 0,001 g no fue significativamente diferente que aquellas cultivadas a 15°C y 16°C con 0,022 ± 0,001 g y 0,033 ± 0,001 g respectivamente. En cuanto a la supervivencia, se obtuvieron los mejores resultados a 17°C y 20°C, en un tiempo de 29 días que duró el experimento. Resultados similares fueron obtenidas en la presente tesis, en donde las mayores longitudes fueron en larvas cultivadas a 20°C (15,17 ± 0,21) y 22°C (17,67 ± 2,53 mm) y en cuanto al peso también se obtuvieron las mayores ganancias a 20°C y 22° C. Finalmente, en cuanto a la sobrevivencia el mejor tratamiento fue a 16°C y 18°C. Del mismo modo, la temperatura óptima en el cultivo larval del “turbot” *Scophthalmus maximus* se encuentra en el rango de 18-20 °C según Person-Le *et al.*, 1981. Asimismo Silva *et al.*, (2006) observó que larvas de *Paralichthys adspersus*; en tres tratamientos de temperatura a 20°C, 18°C y 16°C, la tasa de crecimiento de lenguado se incrementa proporcional y significativamente (P < 0,05) con el aumento de la temperatura, desde 0,9 %/día (6,3 mm) a 16°C, hasta 3,1 %/día (8,7 mm) a los 20°C dentro de los 15 días de cultivo larval.

Los resultados de temperatura mostrados anteriormente para la presente tesis son similares a los resultados de las investigaciones de Silva y Flores (1988) y Burke *et al.*, (1999) donde el primer autor nos dice que para *P. adspersus* temperaturas entre 16°C y 18°C es lo ideal respecto al crecimiento en longitud para condiciones de laboratorio y el segundo indica que los resultados obtenidos en larvas de *P. dentatus*, muestra que el lenguado crece cerca de 0,41mm; 0,34mm; 0,25mm TL/mm a 22° 20° y 18° C respectivamente y el desarrollo de las larvas fue positiva con relación a la temperatura y el asentamiento comenzó a los 20, 25 y 30 DDE.

Los resultados de longitud total (Figura 23) obtenidos en el presente trabajo a los 10- 15 DDE coinciden con los resultados para Gadomski *et al.*, (1990) con *P. californicus* también a los 10-15 DDE , en una evaluación de dos temperaturas (16°C y 20°C), observándose la influencia del efecto de la temperatura sobre el desarrollo, resultando que la larva cultivada a 20°C presenta un adelanto en el desarrollo, como la elongación del rayo dorsal y posteriormente la flexión del notocordio, mientras que a los 16°C solo está presente el desarrollo de la elongación de la fase dorsal; para el día 30 DDE las larvas a los 16°C comienzan la migración del ojo con 7 mm de longitud ; al mismo tiempo las larvas a 20°C se encuentran en su mayoría metamorfoseadas con 8 mm de longitud.

Los resultados obtenidos en el presente coinciden con los obtenidos por Orellana, 2002 donde nos muestra que a los 25 DDE las larvas de *P. adspersus* presentan una longitud media final de 6,3 mm; 7,1 mm y 8,7 mm a las temperatura de 16°C, 18°C y 20°C respectivamente y la supervivencia fue de 20.44 %, 13.33% y 9.33%.

Por otro lado, se observa que la densidad influye en los índices de crecimiento (Pickering & Steward, 1984) en el comportamiento durante la alimentación, (Kentouri *et al.*, 1994) en la capacidad a la resistencia de enfermedades (Mazur & Iwama, 1993) y la sobrevivencia (Sodeberg & Meade, 1987). Los efectos de la densidad en cultivo de peces se observa en la interacción por comportamiento entre hermanos, incluyendo la competencia por alimento y el espacio que frecuentemente resulta en canibalismo. La densidad afecta al índice de crecimiento y probablemente es una de las más importantes razones del declive de producir alevinos (Hepher & Pruginin, 1981). Además, esta variable es esencial para evaluar su efecto sobre los parámetros de crecimiento de los peces como longitud, peso y tasa de crecimiento específico, por ejemplo en ganancia de biomasa del grupo como un todo dado que los índices de crecimiento son mayores a menor densidad, pero la biomasa del grupo puede ser mayor a una más alta densidad (Jobling, 1994). Hitzfelder *et al.*, (2006) observaron que el aumento de temperatura acelera el desarrollo larval de manera notoria en muchas especies de peces planos.

Hitzfelder *et al.*, (2006) evaluó un ensayo para cobia *Rachycentron canadum*, a una densidad de 10, 20 y 30 larvas/l, hallando mortalidades mayores en los tratamientos de 20 larvas/l (3.7 ± 0.2 %) y 30 larvas/l (1.9 ± 0.4 %) mientras que la menor mortalidad se obtuvo en el tratamiento a 10 larvas/l (9.4 ± 0.7 %). Sin embargo, no se mostró una diferencia significativa en crecimiento para los tratamientos de 10, 20 y 30 larvas/l con una longitud de 14.1 ± 0.5 mm, 13.0 ± 0.3 mm y 13.7 ± 0.5 mm, respectivamente; estos resultados indican que la densidad tiene una influencia específica en supervivencia y longitud, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio donde para las densidades de 10, 20 y 30 larvas/l la longitud

final y para la supervivencia no mostraron diferencias significativas (tabla 5 y tabla 7) sin embargo, se puede observar una mejor supervivencia y un mayor crecimiento en el tratamiento con menor densidad (10 larvas/l), lo cual coincide con Dou *et al.*, (2003) que evaluó densidades de 5, 10 y 15 individuos/l para *P. olivaceous*, sugiriendo en función a los resultados que la densidad óptima para mejorar el crecimiento y la supervivencia en el asentamiento de la larva es de 5 - 15 larvas/l.

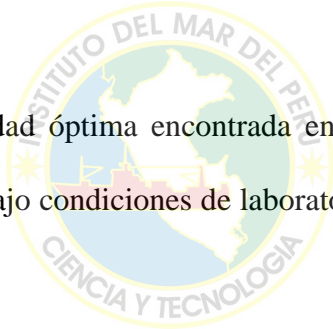
Klein-Macphee (1981) evaluó densidades de 5, 10, 20, y 80 larvas /en laboratorio, determinando que la densidad óptima para la obtención de una mejor supervivencia en el cultivo larval de *P. dentatus* fue de 20 larvas / L. Por otro lado, Daniels *et al.*, (1996) en su evaluación para densidades de cultivo larval de 10, 20, 40 y 80 larvas/l, no encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) para los tratamientos en cuanto a crecimiento y supervivencia, sin embargo se observaron longitudes de 5,75; 5,95; 5,74; 5,87 mm para las densidades de 10, 20, 40, y 80 larvas/litro respectivamente. Se observó también una mejor supervivencia en las densidades de 10 y 20 larvas /l con $7,6 \pm 2,8$ %; $6,7 \pm 4,9$ % frente a las otras densidades con $6,6 \pm 4,6$ % a 40 larvas/l, $6,8 \pm 3,2$ % a 80 larvas/l. Finalmente Bolasina *et al.*, (2006) observó en larvas de *P. olivaceous* una longitud mayor a una densidad de 10 larvas /l (11 mm de longitud aproximadamente) en relación a la densidad de 50 larvas/l (10 mm de longitud aproximadamente) a los 35 DDE, y una supervivencia significativamente diferente ($P < 0,05$) de 77% para las larvas a menor densidad y 25% para las larvas a mayor densidad. En tal sentido, los resultados obtenidos en la presente tesis son similares a lo descrito en el párrafo anterior con larvas de *P. adspersus*, muestran que no hay una diferencia significativa en la supervivencia para las densidades de cultivo de 10, 20 y 30 larvas/l, obteniéndose $10 \pm 3,72$; $5 \pm$

4,14 y $3 \pm 0,32$ respectivamente ni en la longitud, obteniéndose longitudes finales de $9,35 \pm 0,48$; $8,54 \pm 0,36$ y $8,80 \pm 0,94$ mm.



XI. CONCLUSIONES

1. La temperatura presentó un efecto sobre la tasa de crecimiento del lenguado *P. adspersus*, observándose que a mayor temperatura se incrementó la tasa de crecimiento.
2. Las temperaturas experimentadas mostraron resultados diferenciales en crecimiento y supervivencia, esto es que mayor temperatura mayor longitud, mientras que a menor temperatura mayor la supervivencia.
3. Las densidades de siembra ensayadas mostraron que a menor densidad poblacional se obtiene mejor crecimiento y a menor densidad mejores supervivencias.
4. Las densidades menores producen organismos de mayor talla promedio y un menor periodo de cultivo .
5. La temperatura y salinidad óptima encontrada en este trabajo para el cultivo de lenguado *P. adspersus* bajo condiciones de laboratorio fue de 18° C a una densidad de 10 larvas / litro.



XII. RECOMENDACIONES

1. Investigar la interacción de los factores temperatura y densidad en simultáneo sobre las variables de crecimiento y supervivencia larval.
2. Realizar investigaciones relacionadas al cultivo larval como: evaluación de la densidad y tipo de microalga en la técnica de agua verde, fotoperiodo e intensidad luminosa, utilización de copépodos como fuente de alimento vivo y el enriquecimiento del alimento vivo con diferentes productos (Selco, Algamac, entre otros); todo ellos con la finalidad de mejorar la supervivencia en larvas de lenguado.



X1. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abdo-de la Parra, M. Martínez-Rodríguez, I. González-Rodríguez, B. Rodríguez-Ibarra, L. Duncan, N. & Hernández, C. (2012) Efecto de la temperatura y salinidad del agua en la incubación de huevos de Botete diana *Sphoeroides annulatus*. *Rev. Biol. Mar. y Ocean*, 47(1), 147-153.
- Acuña, E. & Cid, L. (1995) On the ecology of two sympatric flounders of the genus *Paralichthys* in the bay of Coquimbo, Chile. *Neth. J. Sea Res*, 34(1-2), 1-11
- Andrade, J. (2007) Diseño de un sistema de recirculación de agua para la fase de incubación y cultivo larval del halibut del atlántico. Tesis para licenciatura. Universidad De Magallanes Facultad De Ingeniería Departamento De Mecánica. Chile
- Angeles, B. & Mendo, J. (2005) Crecimiento, fecundidad y diferenciación sexual del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner) de la costa central del Perú. *Rev Ecol apl.*, 4(1- 2) ,105-112
- Anguas-Velez B., Civera R., Goytortúa E., & Rocha-Meza S. (2003) Efecto de la temperatura y la densidad de cultivo sobre el crecimiento de juveniles de la Cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus*. *Hidrobiológica*, 13(4), 309-315.
- Baskerville-Bridges, & B. Kling, L. (2000) Larval culture of atlantic cod (*Gadus morhua*) at high stocking densities. *Aquaculture*, 181, 61-69
- Bengtson, D. (1999) Aquaculture of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): status of knowledge, current research and future research priorities. *Aquaculture*, 176: 39, 39-49
- Bengtson, D; Lydon, L; & Ainley, J. (1999) Green-Water rearing and delayed weaning improve growth and survival of Summer Flounder. *North American Journal of Aquaculture* 61, 239–242.
- Bolasina, S. Tagawa, M. Yamashita, Y. & Tanaka, M. (2006) Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 259, 432-443.
- Brett, J. (1979) In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J.R. (Eds.), Environmental Factors and Growth. Fish Physiology, vol. 8. Academic Press, London, pp. 599–675.
- Bry, C., Hollebecq, M., Ginot, V., Israel, G., & Manelphe, J. (1991) Growth patterns of pike (*Esox lucius* L.) larvae and juveniles in small ponds under various natural temperature regimes. *Aquaculture*. 97, 155 – 168.
- Burke, J. Seikai, T. & Tanaka (1999) Experimental intensive culture of summer flounder *Paralichthys dentatus*. *Aquaculture*, 176, 135-144.
- Carrera, L. & Santos, C. (2007) Informe Técnico Anual 2007, Unidad de Investigaciones en Acuicultura, Dirección General de Investigaciones en Acuicultura, Gestión Costera y Aguas Continentales. *Inst. Mar Perú*, Callao-Perú.

Carrera, L. Cota, N. Montes, M. Mateo, E. Sierralta, V. Castro, T. *et al.* (2013) Broodstock management of the fine flounder *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) using recirculating aquaculture systems. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 41(1), 89-98.

Ceccon, C. Okamoto, H. Bianchini, H. Marins, L. & Sampaio, L. (2010) Sperm quality of Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* throughout the reproductive season. *Aquaculture Research*, 1-9

Chinchayán, M. Vera, G. Cisneros, R. & Carrera, L. (1997) Informe progresivo 1994 n°64. Condiciones oceanográficas frente a la costa norte y centro del Perú. Operación MOPFEN 9610-11. *Inst. Mar Perú*, Callao-Perú

Chirichigno, N. (1974) Clave para identificar los peces marinos del Perú. *Inf. Inst. Mar Perú*, Callao-Perú. 44, pp 388

Christopher, R. & Witting, D. (2001) Lewis S. Detecting critical periods in larval flatfish populations. *Journal of Sea Research*, 45(3), 231-242

Cota, N. (2012) Escala de madurez gonadal del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867). Tesis de licenciatura en Bioogia. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Crawshaw, L. & Podrabsky, J. (2011) Temperature preference: Behavioral responses to temperature in fishes. En: *Behavioral responses to the environment*. Elsevier. 758-764. Portland State University

Daniels & Watanabe, W.O. (eds) (2010) Practical flatfish culture and stock enhancement, Wiley-Blackwell, Oxford.

Daniels, H. Berlinsky, D. Hodson, R. & Sullivan, V. (1996) Effects of Stocking Density, Salinity, and Light Intensity on Growth and Survival of Southern Flounder *Paralichthys lethostigma* Larvae. *Rev. of the world aquaculture society*, 27(2), 153-159

Dou, S. Masuda, R. Tanaka, M. & Tsukamoto, K. (2003) Identification of factors affecting the growth and survival of the settling Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*, *Aquaculture*, 218, 309–327

Elliott, J. (1982) The effects of temperature and ration size on the growth and energetics of salmonid fish in captivity. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73, 81 – 92.

Fichas de descripción por tipo de especies cultivadas en Perú. <http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/boletines/FICHAS%20PRINCIPALES%20ESPECIES.pdf>

Freitas, V. Cardoso, J. Lika, K. Peck, M. Campos, J. *et al.* (2010) Temperature tolerance and energetics: a dynamic energy budget-based comparison of North Atlantic marine species. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 365, 3553–3565

Furuita, H. Tanaka, H. Yamamoto, T. Shiraishi, M. & Takeuchi, M. (2000) Effects of *n*-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 187, 387-398.

Gadomski, D. & Caddell, S. (1991) Effects of temperature on early-life-history stages of California halibut *Paralichthys californicus*. *Fishery Bulletin*, 89(4) 567-576

Gadomski, D. Caddell, S. Abbott, L. & Caro, T. (1990) Growth and development of larval and juvenile california halibut, *Paralichthys californicus*, reared in the laboratory, University of California, Calisphere.

García E, 2014, SNP: Falta de control a la flota pesquera artesanal pondría en riesgo seis especies, Diario Gestión, <http://gestion.pe/economia/snp-falta-control-flota-pesquera-artesanal-pondria-riesgo-seis-especies-2107368>

Hart, P. & Purser, G. (1995) Effects of salinity and temperature on eggs and yolksac larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). *Aquaculture*, 136: 221-230

Hart, P., Hutchinson, W., & Purser, G., 1996. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). *Aquaculture* 144, 303–311

Hatziathanasiou, A. Paspatis, M. Houbart, M. Kestemont, P. Stefanakis, S. & Kentouri, M. (2002) Survival, growth and feeding in early life stages of european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) intensively cultured under different stocking densities. *Aquaculture*, 205 (1-2), 89-102.

Haylor, G. (1991) Controlled hatchery production of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): growth and survival of fry at high stocking density. *Aquac. Fish. Manage*, 22, 405– 422

Hecht, T. & S. Appelbaum, 1987. Notes on the growth of Israeli sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) during the primary nursing phase. *Aquaculture*, 63, 195–204.

Hepher, B. & Pruginin, Y. (1981) Commercial Fish Farming: With Special Reference to Fish Culture in Israel. *Wiley*, New York, 261 pp.

Hitzfelder, G. Holt, G. Fox, J. & Mckee, D. (2006) The effect of rearing density on growth and survival of cobia, *Rachycentron canadum*, larvae in a closed recirculating aquaculture system. *Journal of the world aquaculture*, 37 (2)

Houde, E. (1987) Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am. Fish. Soc. Symp*, 2, 17–29.

Instituto del Mar del Perú (2014). Reporte de desembarque por regiones del lenguado peruano *Paralichthys adspersus* en la costa peruana en toneladas entre el año 2004-2013. Area de pesca artesanal.

Jenkins, W. & Smith, T. (1999) Pond nursery production of southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) and weaning to commercial diets. *Aquaculture*, 176, 173-180

- Jobling, M. (1994). Fish Bioenergetics. *Chapman & Hall*, London, pp. 294
- Johns, D. & Howell, W. (1980) Yolk utilization in summer flounder (*Paralichthys dentatus*) embryos and larvae reared at two temperatures. *Mar Ecol. Prog. Ser.* 2, 1-8
- Kentouri, M., Leon L., Tort, L., & Divanach. P. (1994). Experimental methodology in aquaculture: modification of the feeding rate of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at a self-feeder after weighing. *Aquaculture*, 119, 191–200.
- Kingsolver, J. & Huey R. (1998) Selection and evolution of morphological and physiological plasticity in thermally varying environments. *Am. Zoolog.* 38:545-560.
- Klein-Macphee, G. (1981) Effects of stocking density on survival of laboratory cultured summer flounder (*Paralichthys dentatus*) larvae. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.* 178, 505–506.
- Kong, I. & Castro, H. (2002) Peces. En Zuñiga. Guía de Biodiversidad: Macrofauna y Algas Marinas. 1(3), 23.
- Kong, I., Clarke, M. & Escribano, R. (1995) Alimentación de *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) en la Zona Norte de Chile. Osteichthyes: Paralichthyidae. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 30, 29-44.
- Lawrence G. (1975) Laboratory growth and metabolism of the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, from hatching through metamorphosis at three temperatures. *Mar. Biol.* 32, 223-229.
- Lopez, A., Muller, M., Radonic, M., Bambill, G., Boccanfuso, J., & Bianca, F. (2009) Larval culture technique and quality control in juveniles of flounder *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) in Argentina. *Spanish journal of agricultural research*, 7(1), 75-82
- Mazur, C. & Iwama, G. (1993) Handling and crowding stress reduces the number of plaque-forming cells in Atlantic salmon. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5, 98–101.
- Mihelakakis, A. & Yoshimatsu, T. (1998) Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate and morphogenesis of the red sea bream. *Aquaculture International*. 6, 171 – 177.
- Ministerio de la producción. Plan de Desarrollo Acuícola (2009), <http://faolex.fao.org/docs/pdf/per91837.pdf>
- Orellana, Y. (2000) Efecto de la temperatura en el cultivo larval de lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner 1867). Memoria de Ingeniería en Acuicultura. *Universidad católica del Norte*, Coquimbo, Chile.
- Ottesen, O. & Bolla, S. (1998) Combined effects of temperature and salinity on development and survival of Atlantic halibut larvae. *Aquaculture International* 6, 103 – 120.
- Pepin P. (1995) An analysis of the length-weight relationship of larval fish: limitations of the general allometric model, *Fisheries Bulletin*, 93: 419-426

- Person-Le Ruyet, J. & P. Verillaud, (1981) Techniques d'élevage intensif de la Daurade dorée (*Sparus aurata*) de la naissance à l'âge de 2 mois. Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer 178, 527-529.
- Pickering, A. & Stewart, A. (1984) Acclimation of the interrenal tissue of the brown trout *Salmo trutta* L. to chronic crowding stress. *Journal of Fish Biology*, 7 (1-4) 253-258.
- Radonic, M., López, A., Oka, M., & Aristizábal, E. (2005) Effect of the incubation temperature on the embryonic development and hatching time of eggs of the red porgy *Pagrus pagrus* (Linne, 1758) (Pisces: Sparidae). *Rev. biol. mar. Oceanogr*, 40(2), 91-99.
- Samamé, M. & Castañeda, J. (1999) Biología y pesquería del lenguado *Paralichthys adspersus*, con especial referencia al área norte del litoral peruano, departamento de Lambayeque. *Bol. Inst. Mar Perú*, 18 (1-2), 15-48.
- Shimma, H. & Tsujigado, A. (1981) Some biochemical qualities of brood scorpenoid fish, *Sebastiscus marmoratus*, and activities of their larvae. *Bulletin of National Research Institute of Aquaculture*, 2, 11-20.
- Silva, A. & Flores, H. (1988) Consideraciones sobre el desarrollo y crecimiento larval del lenguado (*Paralichthys adspersus*, Steindachner, 1867) cultivado en laboratorio. *Rev. Pacífico sur, (número especial)*, 629-634.
- Silva, A. & Oliva, M. (2010) Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). *Lat. Am. J. Aquat. Res*, 38(3), 377-386.
- Silva, A. (1999) Efecto de la microalga *Isocchrysis galbana* en el cultivo temprano de larvas de *Paralichthys adspersus*. *Rev. Ciencias marinas*, 25(2), 267-279.
- Silva, A., Orellana, Y., Piaget, N., Vega, A. & Toledo, P. (2006) Algunos avances en el estudio del cultivo larvario del lenguado chileno *Paralichthys adspersus*, In book: Producción de larvas de peces. Innovación y avances en la nutrición para contribuir al mejoramiento y escalamiento de los cultivos. Universidad Católica de Temuco. *Centro de Genómica Nutricional Agroacuícola*. Chile, 1, 43-52.
- Sodeberg, R. & Meade, J. (1987) Effects of **rearing** density on growth, survival, and fin condition of Atlantic salmon. *Progressive Fish Culturist* 49, 280-283.
- Tidwell, J., Coyle, S., Evans, J., Weibel, C., McKinney, J., Dodson, K., & Jones, H. (1999) Effect of culture temperature on growth, survival, and biochemical composition of yellow perch *Perca flavescens*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 30, 324 - 330.
- Zuñiga, H. & Acuña, E. (1992) Larval development of two sympatric flounder, *Paralichthys adspersus* and *Paralichthys microps* from the bay of Coquimbo, Chile. *Fish Bull*, 90, 607-620.
- Zuñiga, 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.