

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales



“EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO E INMUNIDAD EN VIEJA AZUL *Andinoacara rivulatus* (Günther, 1860) UTILIZANDO DIETAS CON DIFERENTES NIVELES PROTÉICOS Y SUPLEMENTADAS CON ASTAXANTINA”.

PROYECTO INTREGADOR

Previa a la obtención del Título de:

INGENIERO EN ACUICULTURA

Presentado por:

RAFAEL ALBERTO SAMANIEGO CAMACHO

Guayaquil – Ecuador

2015

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales
Centro de Información Bibliotecaria

No. DE INVENTARIO: D - 76 578
VALOR: 4.00
CLASIFICACIÓN: 639.3/BAM
FECHA DE INGRESO: 6/11/15
PROCEDENCIA:
SOLICITADO POR:



AF. 138375

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitir culminar esta etapa de mi vida, por ser inspiración, soporte y fortaleza, iluminando mi camino a lo largo de mi estancia en la universidad.

Agradezco de manera especial a mis padres Rafael Samaniego Chávez y Margarita Camacho Mera por siempre preocuparse de mi bienestar y fomentar en mí lo importante que es la educación; a mis hermanas Gema, Susana y Johanna por su apoyo diverso e incondicional a lo largo de mi ciclo universitario.

Al Dr. Retamales por su constante guía y apoyo para poder llevar a cabo este trabajo

DEDICATORIA

Dedicada a Dios, a mis padres, hermanos y amigos a quienes amo mucho. Que son parte importante en mi vida y gestores de este logro. A quienes debo todo lo que soy y algún día llegaré a ser.

De manera muy especial dedico este logro a un amigo que no se encuentra con nosotros pero está gozando de la presencia de Dios, mi amigo Hover Mendoza que sé que está satisfecho con mi esfuerzo realizado y fuiste inspiración para Culminar esta etapa de mi vida.

TRIBUNAL DE EVALUACIÓN



EVALUADOR



EVALUADOR

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



Marco Álvarez Cálvez, Ph.D.
COORDINADOR INGENIERÍA EN ACUICULTURA FIMCBOR

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad del contenido de este Proyecto Integrador nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral.



Rafael Samaniego Camacho

RESUMEN

En el siguiente documento se caracterizará la inmunoestimulación del cíclido americano *Andinoacara rivulatus* (vieja azul), con dietas basadas en diferentes niveles proteínicos y posteriormente adicionando a estas dietas astaxantina, un carotenoide el cual se describe incrementa los niveles inmunológicos en organismos acuáticos.

El proyecto estará compuesto de dos diseños. El primer diseño (90 días), estará enfocada a evaluar parámetros de crecimiento e inmunológicos respecto al nivel de proteína en las dietas: dieta control (C), 25% de proteína, dieta uno (P30) 30% de proteína y dieta dos (P40), 40% de proteína. El segundo diseño (90 días), evaluará la inmunoestimulación de los animales agregando a las diferentes dietas (C, P30, P40), astaxantina a concentración de 1%. Al final del período de cada fase, 36 organismos serán analizados para evaluar los parámetros de crecimiento e inmunológicos en diferentes grupos de 12 peces.

Acorde a los diferentes niveles de proteína administrados se espera que tanto los parámetros de crecimiento e inmunológicos sean estadísticamente diferentes. Así mismo posterior a la adición de astaxantina en las dietas se espera que los parámetros de crecimiento e inmunológicos sean diferentes.

Palabras claves: inmunoestimulación, dieta, *Andinoacara rivulatus*, astaxantina.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	VI
ÍNDICE GENERAL.....	VII
ABREVIATURAS.....	X
INDICE DE FIGURAS.....	XI
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
INDICE DE ANEXOS.....	XIII
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	8
Objetivo general.....	8
Objetivos específicos.....	8
CAPÍTULO 1.....	9
1.1. ANTECEDENTES.....	9
1.2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	9
1.3. HIPÓTESIS.....	10
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	10
CAPÍTULO 2.....	11
2. REVISIÓN DE TRABAJOS PREVIOS.....	11
2.1. Influence of supplemented diet with <i>Pediococcus acidilactici</i> on nonspecific immunity and stress indicators in green terror (<i>Aequidens rivulatus</i> , Günther, 1860) during hypoxia. (Alireza, N., Gholamreza, R., Mohammadali, N., Hadi, R., 2015).....	11

2.2. The effect of <i>Pediococcus acidilactici</i> bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, <i>Aequidens rivulatus</i> Günther, 1860 (Alireza, N., Gholamreza, R., Mohammadali, N., Omid, S., 2013).....	12
2.3. Aspectos bioecológicos de <i>Aequidens rivulatus</i> (Günther, 1860), (Pisces: Cichlidae) del humedal de Villa María, Chimbote (Perú) para su futuro cultivo (Mendoza Rodríguez R., 2004).....	12
CAPÍTULO 3	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Obtener alevines por desove en laboratorio para la ejecución de los bioensayos	14
3.1.1 Obtención de reproductores.....	14
3.1.2. Aclimatación	15
3.1.3. Desove.....	17
3.1.4. Eclosión	18
3.1.5. Alevinaje.....	19
3.2. Elaborar dieta base y dietas con diferentes niveles proteicos.....	22
3.2.1. Preparación de dietas.....	22
3.3. Diseño experimental.....	26
3.3.1. Diseño experimental 1. Efecto del nivel proteico en los parámetros de crecimiento e inmunidad.....	26

3.3.2. Diseño experimental 2. Efecto del nivel proteico suplementado con astaxantina en los parámetros de crecimiento e inmunidad.....	26
3.3.3. Parámetros abióticos	27
3.4. Parámetros de crecimiento	27
3.5. Estimar los índices inmunológicos de los peces (actividad de la lisozima, inmunoglobulina total) bajo los diferentes tratamientos.....	27
3.5.1. Análisis de parámetros inmunológicos.....	28
3.6. Análisis estadístico.....	28
CAPÍTULO 4.....	30
4. RESULTADOS ESPERADOS.....	30
CAPÍTULO 5	31
5.1. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	31
5.1.1. CONCLUSIONES.....	31
5.1.2. RECOMENDACIONES	32
ANEXOS	34
BIBLIOGRAFÍA	44

ABREVIATURAS

FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
° C	Grados Celsius
mcg/kg	Microgramos/kilo
mg/l	Miligramos/ litro
min	Minuto
nm	Nanómetro
pg/ml	Picogramo/mililitro
'	Prima
Pvc	Policloruro de vinilo
pH	Potencial de hidrogeno
rpm	Revoluciones por minuto

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. <i>Andinoacara rivulatus</i>	3
FIGURA 2. Pareja de <i>Andinoacara rivulatus</i>	4
FIGURA 3. Distribución de <i>Andinoacara rivulatus</i>	5
FIGURA 4. Pareja de <i>Andinoacara rivulatus</i> maduras sexualmente (cortejo).....	6
FIGURA 5. Reproductores de <i>Andinoacara rivulatus</i>	15
FIGURA 6. Tanques de aclimatación para reproductores de <i>Andinoacara rivulatus</i>	16
FIGURA 7. Aclimatación de reproductores de <i>Andinoacara rivulatus</i>	17
FIGURA 8. Desove de <i>Andinoacara rivulatus</i>	18
FIGURA 9. Larvas de <i>Andinoacara rivulatus</i> post eclosión	19
FIGURA 10. Tanque de 1000 l con sistema de flujos de agua.	20
FIGURA 11. Alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i>	21
FIGURA 12 Tallas de alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i>	21
FIGURA 13 Peso de 10 alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i>	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Descripción taxonómica de <i>Andinoacara rivulatus</i>	2
Tabla 2. Formulación y composición química de las dietas experimentales para <i>Andinoacara rivulatus</i> (Dieta control 25% de proteína).....	23
Tabla 3. Formulación y composición química de las dietas experimentales para <i>Andinoacara rivulatus</i> (Dieta P30 30% de proteína).....	24
Tabla 4. Formulación y composición química de las dietas experimentales para <i>Andinoacara rivulatus</i> (Dieta P40 40% de proteína).....	25

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Cronograma de actividades	35
Anexo 2. Acuarios para inducir al desove de <i>Andinoacara rivulatus</i>	36
Anexo 3. Alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i>	37
Anexo 4. Larvas de <i>Andinoacara rivulatus</i>	38
Anexo 5. Macho de <i>Andinoacara rivulatus</i> protegiendo a las larvas	39
Anexo 6 Alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i> comiendo flake	40
Anexo 7. Alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i> en tanque de 1000 litros.....	41
Anexo 8 Peso de 10 alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i>	42
Anexo 9 Muestreo de 10 alevines de <i>Andinoacara rivulatus</i>	43

INTRODUCCIÓN

La familia Cichlidae es una de las más importantes en la acuicultura, la cual cuenta con aproximadamente 1000 especies (Figuroa, L., Figuroa, J., 2007), la mayoría son de importancia ornamental y otras son importantes en la producción de carne para el consumo humano.

Las especies autóctonas en el Perú parecen no ser muy atractivas económicamente para los acuicultores, pero diversas instituciones de investigación y universidades del mundo han centrado su atención e invertido esfuerzos para desarrollar paquetes tecnológicos para la explotación de sus especies nativas (Nirchio, M., Pérez J., 2002).

En el informe emitido por FAO 2014 indican que la producción de peces ornamentales suma un monto alrededor de US \$ 222,4 millones, aproximadamente 2% del mercado mundial de pescado total producido (FAO, 2014).

El porcentaje más significativo del mercado de peces pertenece a los peces ornamentales, especies que pertenecen al grupo de agua dulce (Ross-on-Wye, 2001).

La familia Cichlidae es el grupo más diverso y complejo de peces ornamentales en la industria, tanto física y conductualmente (Roy, R., Yanong, V., 1996). *A. rivulatus* (vieja azul), es un pez cíclido procedente de Ecuador y Perú (Stawikowski, R., Werner, U., 1998) (Schaafsma, SM., Groothuis, T., 2012).

La prioridad en acuicultura es tener un animal más robusto-rústico, el incremento de la funcionalidad del sistema inmune de la fauna acuática y la disminución de la mortalidad. Diversos compuestos químicos como estimuladores de crecimiento y probióticos se están utilizando para alcanzar estos objetivos (Hoseinifar, SH., Khalili, M., Khoshbavar, A., Rostami, H., Esteban, MÁ., 2013).

Con el afán de diversificar la acuicultura en Ecuador, se está investigando y generando información sobre esta especie nativa *Andinoacara rivulatus* la cual presenta la siguiente descripción taxonómica.

Tabla 1 Descripción taxonómica de *Andinoacara rivulatus*

Descripción taxonómica	
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Pisces
Clase	Osteichthyes
Superorden	Acanthopterygii
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidei
Familia	Cichlidae
Subfamilia	Cichlasomatinae
Género	<i>Andinoacara</i>
Especie	<i>Andinoacara rivulatus</i> (Günther, 1860)
Nombre común	Vieja azul, mojarra.

FIGURA 1. *Andinoacara rivulatus*

Fuente:AFC (AFC, 2011)

Andinoacara rivulatus, es un cíclido americano de gran tamaño. Los machos pueden alcanzar los 30 cm y las hembras suelen quedarse en los 20 cm. Es un especie bentopelágica de agua fresca tropical con una temperatura oscilatoria entre 20°C - 24°C.

Posee un cuerpo alto y comprimido lateralmente; y cuatro o cinco manchas detrás de la mancha lateral (Sifuentes, M., 1992).

Tanto los machos como las hembras tienen en la zona del mentón y la mejilla múltiples líneas de color azul eléctrico y una mancha negra a la mitad del costado (Sifuentes, M., 1992).

Los machos adultos desarrollan con el tiempo una joroba. La hembra es de un color verde oliva sin los reflejos metálicos del macho (Gomez, P., 2002).

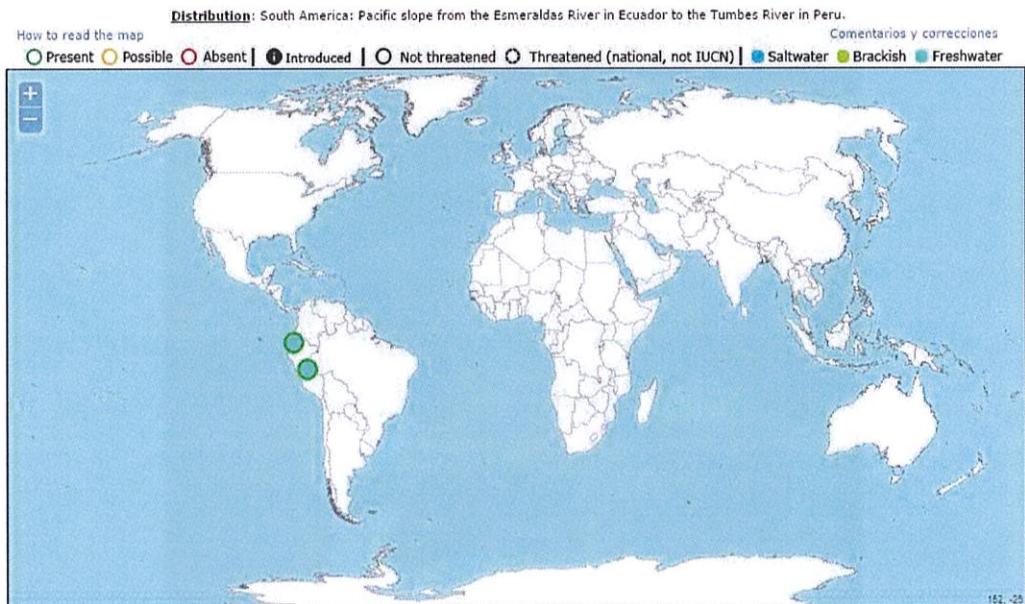
Es posible observar que la diferencia entre machos y hembras radica en la forma de las aletas. Los machos poseen la aleta dorsal y anal más larga mientras que la aleta caudal de los machos es reticulada (Gomez, P., 2002).

FIGURA 2. Pareja de *Andinoacara rivulatus*



Fuente:TONIL (Tonil, 2010)

Esta especie se distribuye desde el río Esmeralda, en Ecuador, hasta el río Pisco en Perú (Belelli, S., 2002).

FIGURA 3. Distribución de *Andinoacara rivulatus*

Fuente: **FISHBASE** (FISHBASE, 2012)

La variedad “goldsaum” se encuentra desde el río Esmeraldas y sus tributarios y todo el sistema del río Guayas en Ecuador. En Perú se encuentra desde los ríos Tumbes, Zarumilla hasta el río Piura (Belelli, S., 2002).

La variedad “silversaum” se distribuye sólo en Perú, desde el río Piura hasta el río Pisco, con pequeñas variaciones entre la variedad norteña (Belelli, S., 2002). La madurez sexual oscila en las tallas de 18 cm (Cabanilla, M., Pacheco, J., 2012).

FIGURA 4. Pareja de *Andinoacara rivulatus* maduras sexualmente (cortejo)



Fuente: **TONIL** (Ciclidos de Mexico)

La función que cumplen los carotenoides, principalmente es de oxicarotenoide astaxantina (3,3' dihidroxi- β,β -caroteno-4, 4'-diona) en la pigmentación y nutrición de una variedad de especies de crustáceos y peces es de interés global en la acuicultura. La función exclusiva de la astaxantina, el principal pigmento natural presente en los salmónidos, en los procesos metabólicos críticos está recibiendo gran atención. Dado que las especies acuáticas son incapaces de sintetizar carotenoides *de novo*, la astaxantina o precursores apropiados deben ser suministrados en la dieta o estar presentes en los alimentos naturales del sistema de cultivo. Trabajos japoneses iniciales sobre rutas carotenoides en camarones peneidos, como *Penaeus japonicus*, han documentado la importancia de la astaxantina en el metabolismo de crustáceos (Meyers, S., 2000). Otros estudios relacionados con la astaxantina de crustáceos son

citados, resaltando el problema de “camarón azul” con *Penaeus monodon* (Meyers, S., 2000). Algunos de los papeles biológicos y nutricionales de importancia que han sido atribuidos a la astaxantina, entre otros, son su función como una provitamina A, sus fuertes propiedades antioxidantes, junto con un papel nutricional en la primera alimentación en dietas para acuicultura y en la fecundidad de reproductores. Una similitud en la actividad antioxidante de la astaxantina y la vitamina E ha sido demostrada, sugiriéndose que la astaxantina debería ser considerada como una "supervitamina E" (Meyers, S., 2000). Numerosos ensayos alimenticios han sido realizados con salmónidos, incluyendo el papel de la astaxantina en la absorción, transporte y retención, así como las relaciones del coeficiente de digestibilidad con el metabolismo de lipoproteínas y otras funciones fisiológicas. Investigaciones con otros peces están demostrando que los carotenoides dietarios juegan un papel importante en la reproducción y la respiración. Varias pruebas alimenticias han mostrado que el suplemento de carotenoides en la dieta mejora la eficiencia alimenticia, acelera la tasa de crecimiento y mejora la sobrevivencia larvaria (Meyers, S., 2000).

El importante papel de la astaxantina en procesos trofodinámicos acuáticos naturales también es discutido en este trabajo. Los carotenoides han mostrado que protegen las células de los efectos de compuestos oxidantes y peroxidantes (Kurshize, M., Okimasu, E., Inoue, a., and Utsuma, k., 1990.), así como juegan un importante papel en el incremento de la respuesta inmune. La reactividad de carotenoides con radicales libres y estados de excitación del oxígeno, tales como el oxígeno “singlet”, está igualmente

bien documentada, indicando su papel como antioxidantes naturales efectivos (Burton, G., 1989.).

OBJETIVOS

Objetivo general.

Analizar los efectos de dietas con diferentes niveles de proteína y dietas con diferentes niveles de proteína suplementadas con astaxantina en los parámetros de crecimiento e inmunológicos en la vieja azul.

Objetivos específicos.

- Obtener alevines por desove en laboratorio para la ejecución de los bioensayos.
- Elaborar dieta base y dietas con diferentes niveles proteicos.
- Elaborar dieta base y dietas con diferentes niveles proteicos suplementadas con astaxantina.
- Estimar los índices inmunológicos de los peces bajo los diferentes tratamientos (dieta base y dietas con diferentes niveles proteínicos y dietas suplementadas con astaxantina).
- Determinar estadísticamente diferencias significativas en los parámetros estimados en los diferentes tratamientos.

CAPÍTULO 1

1.1. ANTECEDENTES

La Escuela Superior Politécnica del Litoral ha desarrollado la tecnología para obtener alevines de vieja azul, los cuales procederán a ser el stock para repoblar ciertos embalses de la provincia de Los Ríos y realizar piscicultura con esta especie endémica que ha sido desplazada y reducida su población por factores antropogénicos (Eppink, 2004. Modelling), de este modo se podrá estabilizar la población de esta especie y servirá para poder obtener información importante acerca de niveles de crecimiento del animal en piscina, índices de factor alimenticio, porcentaje de supervivencia y atractividad del producto; todos estos aspectos podrán ser evaluados en laboratorio durante el desarrollo de este proyecto.

1.2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Es importante destacar que no existe información disponible que abarque bioensayos con esta especie, inexistencia de protocolos de producción de alevines e inmunoestimulación empleando carotenoides.

1.3. HIPÓTESIS

La aplicación de diversos niveles de proteína y la adición de astaxantina en la dieta de los animales incrementa los valores de los parámetros de crecimiento e inmunológico de la vieja azul.

1.4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad solo se ha probado ciertos carotenoides para mejorar el aspecto del producto final, pero hasta el momento no se ha podido estimar los beneficios que estos provocan a niveles inmunológicos y metabólicos siendo una herramienta imprescindible para mejorar la producción de la especie evaluada. Los posibles efectos de la adición de un inmunoestimulante en el caso de carotenoides en la alimentación de la vieja azul serán evaluados mediante parámetros de crecimiento e índices inmunológicos.

CAPÍTULO 2

2. REVISIÓN DE TRABAJOS PREVIOS

- 2.1. **Influence of supplemented diet with *Pediococcus acidilactici* on nonspecific immunity and stress indicators in green terror (*Aequidens rivulatus*, Günther, 1860) during hypoxia.** (Alireza, N., Gholamreza, R., Mohammadali, N., Hadi, R., 2015)

Este trabajo describe el experimento que se llevó a cabo con el cíclido Americano *Andinoacara rivulatus* (vieja azul), que demostró con la adición de un probiótico *Pediococcus acidilactici* en la dieta equilibrada se puede elevar los niveles del sistema inmunológico y de crecimiento. Este estudio se sustenta en el bioensayo desarrollado, dando como resultado un aumento de los niveles de actividad de la lisozima y la inmunoglobulina total; los animales tratados fueron expuestos a hipoxia para obtener los resultados esperados con la prueba de resistencia. Evaluando así el incremento de los niveles inmunes.

2.2. The effect of *Pediococcus acidilactici* bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, *Aequidens rivulatus* Günther, 1860 (Alireza, N., Gholamreza, R., Mohammadali, N., Omid, S., 2013)

Se verificó mediante una prueba con *Andinoacara rivulatus* (vieja azul) que los niveles inmune no específicos aumentan por el uso del probiótico a base de bacterias de *Pediococcus acidilactici*, así mismo se constató el aumento de la tasa de crecimiento. Al final de la prueba, que duró aproximadamente dos meses, los parámetros inmunológicos de peces se elevaron, los resultados garantizan el aumento en los parámetros inmunológicos evaluados. Por lo que podemos afirmar que *P. acidilactici* mostró efectos positivos sobre los índices de crecimiento y sistema inmune no específica de vieja azul.

2.3. Aspectos bioecológicos de *Aequidens rivulatus* (Günther, 1860), (Pisces: Cichlidae) del humedal de Villa María, Chimbote (Perú) para su futuro cultivo (Mendoza Rodríguez R., 2004).

La mojarra *Aequidens rivulatus* es un cíclido nativo de la cuenca del Pacífico, abarcando su distribución desde Ecuador hasta Perú, (Mendoza Rodríguez R., 2004).

En este trabajo esta especie se encontraba presente en el humedal de Villa María en pequeñas cantidades aun antes del evento del fenómeno El Niño ocurrido entre 1997-1998, su población era importante en número de individuos. La importancia de conocer las características bioecológicas de la mojarra *A. rivulatus* recae en el fin de ejecutar un cultivo semicomercial o semiintensivo de esta especie en el humedal de Villa María. Esta especie, además de ser de gran importancia ornamental también fue fuente de alimento y trabajo para poblaciones carentes de recursos económicos, un ejemplo claro es que es la cuarta especie de importancia en la pesca artesanal de la laguna artificial La Niña (Piura, Perú), de la cual dependen muchos pescadores y comercializadores de pescado. *A. rivulatus* también cumple una función importante en el ecosistema del humedal de Villa María, en la alimentación de las comunidades aledañas, en la economía de ésta y posiblemente de una localidad o una región fomentando el cultivo de cíclidos sostenida de esta especie. Además Mendoza señala que pueden convertirse en una especie sustituyente de la manipulada tilapia que ha entrado en controversias desde el punto de vista ecológico.

CAPÍTULO 3

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Obtener alevines por desove en laboratorio para la ejecución de los bioensayos

3.1.1 Obtención de reproductores

Los reproductores serán obtenidos de la zona de Daule–Nobol, provincia del Guayas

Se seleccionarán organismos de ambos sexos con una talla 17cm y peso aproximados de 60 – 80 gramos.

FIGURA 5. Reproductores de *Andinoacara rivulatus*



3.1.2. Aclimatación

Los reproductores serán colocados en tanques de 1000 litros de agua dulce por un lapso de 20 días.

FIGURA 6. Tanques de aclimatación para reproductores de *Andinoacara rivulatus*.



- a) Los tanques serán llenados con agua libre de cloro, a la cual se le adicionará carbonato de calcio grado agrícola 30 grados de dureza.
- b) El agua deberá cumplir con las siguientes especificaciones, oxígeno disuelto 7-8mg/l, pH 7-7.3, temperatura 28-30°C que se mantendrán con aireación, filtro biológico y lámpara o calentador respectivamente.
- c) Para el fondo de los acuarios, se utilizará como sustrato piedra caliza fragmentada de 5x5x5 mm
- d) Se colocarán 2 guaridas para los peces, un bloque de 40x15x15cm y un tubo pvc de 110 mm de diámetro por 15 cm de largo.

- e) Se utilizarán plantas acuáticas que cubrirán el 40% de la superficie del agua.
- f) Los reproductores se colocarán en una relación de 1:1macho-hembra.
- g) El alimento suministrado será Brine Shrimp Flake® de 52% de proteína, la ración diaria de alimentación será 4%.

FIGURA 7. Aclimatación de reproductores de *Andinoacara rivulatus*



3.1.3. Desove

Posterior a la aclimatación, las parejas observadas compatibles serán transferidas a acuarios de 100 litros, a los cuales se les incorpora superficies planas como adoquín y piedra de río redonda para la puesta de los óvulos. Asimismo se colocaran refugios para el descanso del cortejo, piedra de río y tubo PVC. La temperatura del agua se mantendrá a 26–28 °C.

Durante un periodo de una semana se observará el cortejo y la puesta en todos los acuarios.

De observarse la puesta de los óvulos se esperará su fertilización y posterior eclosión a temperatura de 28°C por un periodo de dos días.

FIGURA 8. Desove de *Andinoacara rivulatus*



3.1.4. Eclosión

Habiéndose producido la fertilización de los óvulos y observado la eclosión de los mismos se realizará el siguiente procedimiento:

- a) Se monitoreará la absorción del saco vitelino de las larvas al cabo del quinto día (durante este periodo los padres mantienen el cuidado de las larvas).
- b) Cuando nadan libres los alevines se procederá a retirar a los padres.

FIGURA 9. Larvas de *Andinoacara rivulatus* post eclosión



3.1.5. Alevinaje

- a) Los alevines hasta sus primeros 15 días serán alimentados con artemia salina y con alimento formulado Brine Shrimp Flake® 52 % de proteínas a la ración del 4% de la biomasa por cinco veces al día en forma alterada.
- b) Serán monitoreados los parámetros físicos químicos como oxígeno, pH, temperatura, alcalinidad, mediante el uso de kit multiparámetros HACH.
- c) Se les colocará un par de flujos de agua suaves que estarán en direcciones contrarias

Posterior a los 15 días los alevines serán transferidos a tanques de 1000 litros y se colocaran a una razón de tres alevines por litro.

- d) Serán alimentados con artemia salina enriquecida y con alimento formulado Brine Shrimp Flake® 52% de proteínas a la ración del 4% de la biomasa por cinco veces al día en forma alterada.

FIGURA 10. Tanque de 1000 L con sistema de flujos de agua.



- e) Así mismo los parámetros físico químicos como oxígeno, pH, dureza total, temperatura. serán monitoreados mantenidos con filtro biológico y calentador de agua.

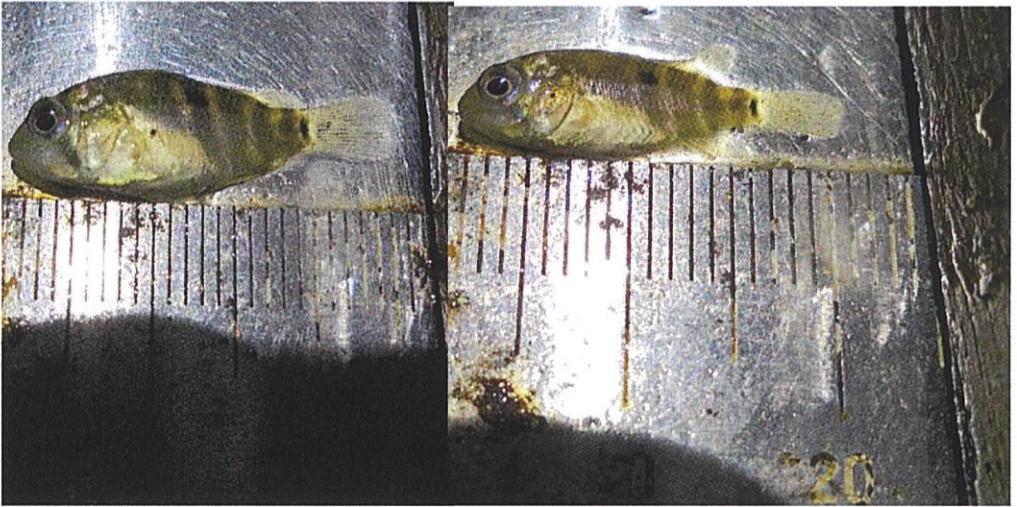
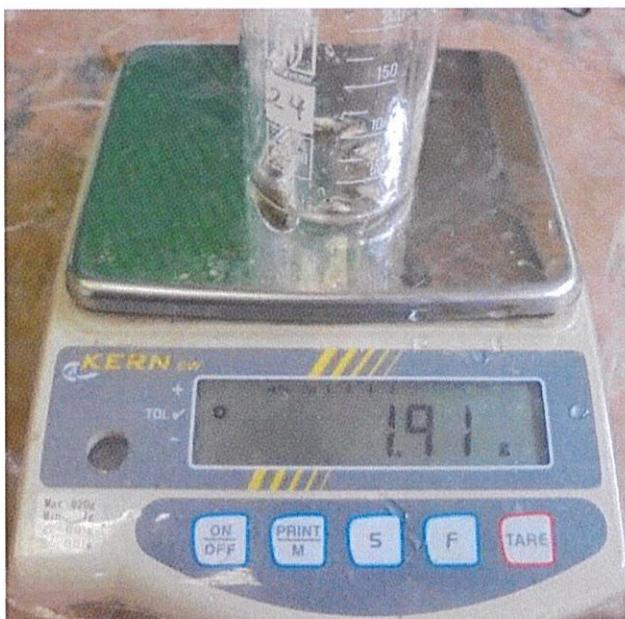
FIGURA 11. Alevines de *Andinoacara rivulatus*FIGURA 12 Tallas de alevines de *Andinoacara rivulatus*

FIGURA 13 Peso de 10 alevines de *Andinoacara rivulatus*.



3.2. Elaborar dieta base y dietas con diferentes niveles proteicos.

3.2.1. Preparación de dietas

3.2.1.1. Para la formulación del balanceado se utilizará hoja de cálculo, incorporando los insumos necesarios. Se preparará una dieta control y dietas con diferentes niveles de proteína (Tabla 2, 3,4). Así mismo se prepararán las mismas dietas adicionando 1% de astaxantina a cada una de ellas.

Tabla 2. Formulación y composición química de las dietas experimentales para *Andinoacara rivulatus* (Dieta control 25% de proteína).

Formulación y composición química de las dietas experimentales para <i>Andinoacara rivulatus</i> (Dieta control 25% de proteína).			
HARINA DE PESCADO		DM%	92,18
SOYA	21	Ash%	12,16
LEVADURA	1	GE MJ/kg	19,35
TRIGO	31	DE MJ/kg	15,64
ACEITE DE PALMA	8	CP%	25,25
ACEITE DE PESCADO	5	Dig CP%	22,78
AGLUTINANTE	1	Lipid%	20,02
CALIZA	3	Fibre%	1,62
SAL	1,25	LOA (18:2n-6)%	2,59
PREMEZCLA VIT y MIN ^a	2	LNA (18:3n-3)%	0,37
ANTIHONGO	0,5	ARA (20:4n-6)%	0,06
ANTIOXIDANTE	0,25	EPA (20:5n-3)%	0,46
		DHA (22:6n-3)%	0,80
	100	Total n-3%	1,63
		Total n-6%	2,65
		n3:n6	0,62
		Total phospholipid%	1,84
		Cholesterol%	0,05
		Astaxanthin (mg/kg)	0,00
		Arginine%	1,93
		Histidine%	0,62
		Isoleucine%	1,21
		Leucine%	2,09
		Lysine%	1,75
		Methionine%	0,53
		M+C%	0,91
		Phenylalanine%	1,26
		P+T%	2,18
		Threonine%	1,17
		Tryptophan%	0,38
		Valine%	1,41
		Ca%	2,56
		Available P%	1,06

^a Premezcla de vitaminas y minerales (garantía mínima por kilo): Sodio 8.80 mg/kg, Potasio 4.40 mg/kg, Vitamina A 2.200.000 mg/kg, Vitamina D3 330.000 mg/kg, Vitamina E 1.650 mg/kg, Vitamina C 11.550 mg/kg, Acido D-Pantoténico 1.320 mg/kg, Riboflavina 660mcg/kg, Iodo (I) 330mcg/kg, Cobalto (Co)330 mg/kg, Tiamina 330 mg/kg, Piridoxina 165 mg/kg, Ácido Fólico 165 mg/kg, Cobre (Cu) 66 mg/kg, Menadiona 66 mg/kg, Vitamina B12 15.400mcg/kg, Biotina 16.500mcg/kg, Niacina 3.300 mcg/kg

Tabla 3. Formulación y composición química de las dietas experimentales para *Andinoacara rivulatus* (Dieta P30 30% de proteína)

Formulación y composición química de las dietas experimentales para <i>Andinoacara rivulatus</i> (Dieta P30 30% de proteína)			
HARINA DE PESCADO	38	DM%	92,69
SOYA	21	Ash%	15,11
LEVADURA	1	GE MJ/kg	19,64
TRIGO	19	DE MJ/kg	16,07
ACEITE DE PALMA	8	CP%	30,29
ACEITE DE PESCADO	1	Dig CP%	27,29
AGLUTINANTE	3	Lipid%	20,73
CALIZA	1,25	Fibre%	1,89
SAL	2	LOA (18:2n-6)%	2,57
PREMEZCLA VIT y MIN ^a	0,5	LNA (18:3n-3)%	0,37
ANTIHOONGO	0,25	ARA (20:4n-6)%	0,07
ANTIOXIDANTE	5	EPA (20:5n-3)%	0,50
		DHA (22:6n-3)%	0,94
	100	Total n-3%	1,81
		Total n-6%	2,65
		n3:n6	0,68
		Total phospholipid%	2,04
		Cholesterol%	0,06
		Astaxanthin (mg/kg)	0,00
		Arginine%	2,35
		Histidine%	0,74
		Isoleucine%	1,47
		Leucine%	2,54
		Lysine%	2,21
		Methionine%	0,68
		M+C%	1,10
		Phenylalanine%	1,49
		P+T%	2,61
		Threonine%	1,44
		Tryptophan%	0,47
		Valine%	1,70
		Ca%	3,20
		Available P%	1,45

Tabla 4. Formulación y composición química de las dietas experimentales para *Andinoacara rivulatus* (Dieta P40 40% de proteína)

Formulación y composición química de las dietas experimentales para <i>Andinoacara rivulatus</i> (Dieta P40 40% de proteína)			
HARINA DE PESCADO	74	DM%	93,06
SOYA	3,5	Ash%	24,99
LEVADURA	1	GE MJ/kg	18,77
TRIGO	2,5	DE MJ/kg	15,56
ACEITE DE PALMA	4	CP%	40,80
ACEITE DE PESCADO	1	Dig CP%	36,72
AGLUTINANTE	5	Lipid%	15,51
CALIZA	1,25	Fibre%	2,47
SAL	2	LOA (18:2n-6)%	0,68
PREMEZCLA VIT y MIN ^a	0,5	LNA (18:3n-3)%	0,12
ANTIONGO	0,25	ARA (20:4n-6)%	0,12
ANTIOXIDANTE	5	EPA (20:5n-3)%	0,63
		DHA (22:6n-3)%	1,36
	100	Total n-3%	2,11
		Total n-6%	0,80
		n3:n6	2,65
		Total phospholipid%	2,46
		Cholesterol%	0,09
		Astaxanthin (mg/kg)	0,00
		Arginine%	3,26
		Histidine%	1,01
		Isoleucine%	1,98
		Leucine%	3,52
		Lysine%	3,26
		Methionine%	1,06
		M+C%	1,55
		Phenylalanine%	1,96
		P+T%	3,50
		Threonine%	2,04
		Tryptophan%	0,67
		Valine%	2,36
		Ca%	5,81
		Available P%	2,56

3.3. Diseño experimental

3.3.1. Diseño experimental 1. Efecto del nivel proteico en los parámetros de crecimiento e inmunidad.

Por cada tratamiento Dieta control(C), dieta de 30% proteína (P30) y dieta con 40% proteína (P40) preparadas acorde a tablas 2, 3, y 4 respectivamente se harán tres replicas. Un total de 216 organismos con un peso aproximado de 3g se colocarán en 9 acuarios de 60 litros (24 organismos/acuarios), equipados con termorreguladores, filtros, aireadores, son sus respectivas piedras difusoras.

Los acuarios tendrán un sustrato de grava o piedra caliza de diámetro mayor a 5x5x5 mm, y se colocarán plantas acuáticas en el 40% de la superficie.

En todos los tratamientos se alimentará a 4% de la biomasa dividida en tres raciones diarias durante 90 días y realizarán muestreo de longitud y peso cada 15 días para ajustar la ración alimenticia de los peces y verificar su estado de salud.

3.3.2. Diseño experimental 2. Efecto del nivel proteico suplementado con astaxantina en los parámetros de crecimiento e inmunidad.

El diseño experimental 2 será igual al 1 siendo agregado astaxantina con una concentración del 1% en todas las dietas de tratamiento.

La alimentación se dividirá en tres partes al día a razón de 4% de la biomasa durante 90 días.

3.3.3. Parámetros abióticos

En el Agua se mantendrán los siguientes parámetros: temperatura 26°C, oxígeno disuelto 6,0 mg/l y 7,0 pH con un horario luz - oscuro de 12:12 h que serán controlados diariamente.

3.4. Parámetros de crecimiento

Se tomarán datos de longitud total y peso de los individuos muestreados aleatoriamente. La talla será registrada con el uso de un calibrador Vernier digital de 0,01 mm de precisión. El peso total será obtenido en gramos (g) con un grado de precisión de 0,01 g utilizando una balanza digital. Los datos serán registrados en una hoja de campo y posteriormente almacenados en hojas de cálculo Excel para proceder a realizar su análisis mensual de crecimiento y engorde.

3.5. Estimar los índices inmunológicos de los peces (actividad de la lisozima, inmunoglobulina total) bajo los diferentes tratamientos.

3.5.1. Análisis de parámetros inmunológicos

En los diseños experimentales 1 y 2, las muestras de sangre serán tomadas de cuatro peces de cada tanque al final de los bioensayo 1 y 2 muestras de sangres serán tomadas de cuatro peces de cada acuario (12 organismos por tratamiento). A fin de proporcionar suficiente sangre para los análisis, los peces serán sacrificados, se cortarán los pedúnculos natatorios para extraer la sangre.

Para aislar el plasma, las muestras de sangre serán centrifugadas a 5000 rpm durante 10 min, en una centrífuga clínica. El plasma será almacenado a -80 °C y se analizarán parámetros del sistema inmune innato, tales como: Inmunoglobulina total, la actividad de la lisozima y actividad complementaria alternativa, acorde a Neissi., *et al.* (2013)

3.6. Análisis estadístico

Se utilizarán hojas de datos para tabular la información. Los parámetros de crecimiento e inmunidad serán expresados mediante estadística descriptiva (95% de intervalo de confianza).

Para analizar la existencia de diferencias significativas entre los diferentes tratamientos se efectuará un Anova, previos análisis de homogeneidad de varianza y normalidad de los datos.

De existir diferencias significativas se realizarán análisis Post-hoc para su determinación.

Para el análisis se utilizarán softwares como: STATGRAPHICS®16.1.11 y XLSTAT®2015.

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS ESPERADOS.

Existirán diferencias significativas en los índices de crecimiento, índices de factor de conversión alimenticia y en los niveles inmunológicos como: actividad de la lisozima, actividad complementaria alternativa e inmunoglobulina total en los peces alimentados con los diferentes niveles de proteína y con la adición de astaxantina.

Se estima que la coloración externa del animal será más vistosa y atractiva con la adición del carotenoide.

Se espera obtener juveniles más robustos y rústicos capaces de soportar condiciones desfavorables tanto físico-químicas como biológicas que se pudieren presentar en posterior engorde en estanques.

CAPÍTULO 5

5.1. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.1. CONCLUSIONES

Analizando los efectos de la dieta adicionada con astaxantina se observarán las diferencias en los parámetros de crecimiento e inmunológicos (actividad de la lisozima, el total de inmunoglobulina, etc.).

Se describirá cuál será la dieta para un óptimo crecimiento y niveles inmunológicos de vieja azul.

Se obtendrá alevines viables con índices de eclosión altos.

De existir diferencias significativas positivas en los parámetros estudiados con la adición de astaxantina se recomendaría agregarla a las dietas de las viejas azules.

5.1.2. RECOMENDACIONES

Después del análisis realizado en este proyecto de la materia integradora se puede realizar las siguientes recomendaciones:

Los reproductores deben ser alimentados con alimento vivo y colocados en estanques donde el plancton haya proliferado.

Se debe monitorear que la temperatura previa al desove se encuentre en los rangos de 28 – 30 °C.

Se deben mantener a los padres en conjunto con sus crías ya que ellos se encargarán de cuidarlos.

Se debe observar que la pareja esté protegiendo a los alevines, ya que de no ser así es preferible retirar a los padrotes.

Para evitar que en el cortejo el macho mate a la hembra, ella debe ser de igual o mayor tamaño que el macho.

Los tanques de aclimatación deben tener refugios y estar saturados con lechuguines para evitar enfrentamientos y posibles laceraciones.

Incorporar un sistema que cree leves flujos de aguas, una en el fondo del acuario o tanque y una en la zona superficial.

Se recomienda investigar los requerimientos nutricionales específicos para esta especie para así poder suministrar una dieta óptima para su crecimiento y no desperdiciar ciertos insumos al formularla.

La ejecución de los proyectos de repoblación y cultivo de *Andinoacara rivulatus* en comunidades pesqueras artesanales y en zona rurales de la costa ecuatoriana prevé que mejoren la calidad de vida y beneficien al desarrollo de la matriz productiva de donde estos se ejecuten, para asegurar el desarrollo de nuestros pueblos preservando la soberanía natural de nuestra Nación.

ANEXOS

Anexo 2. Acuarios para inducir al desove de *Andinoacara rivulatus*



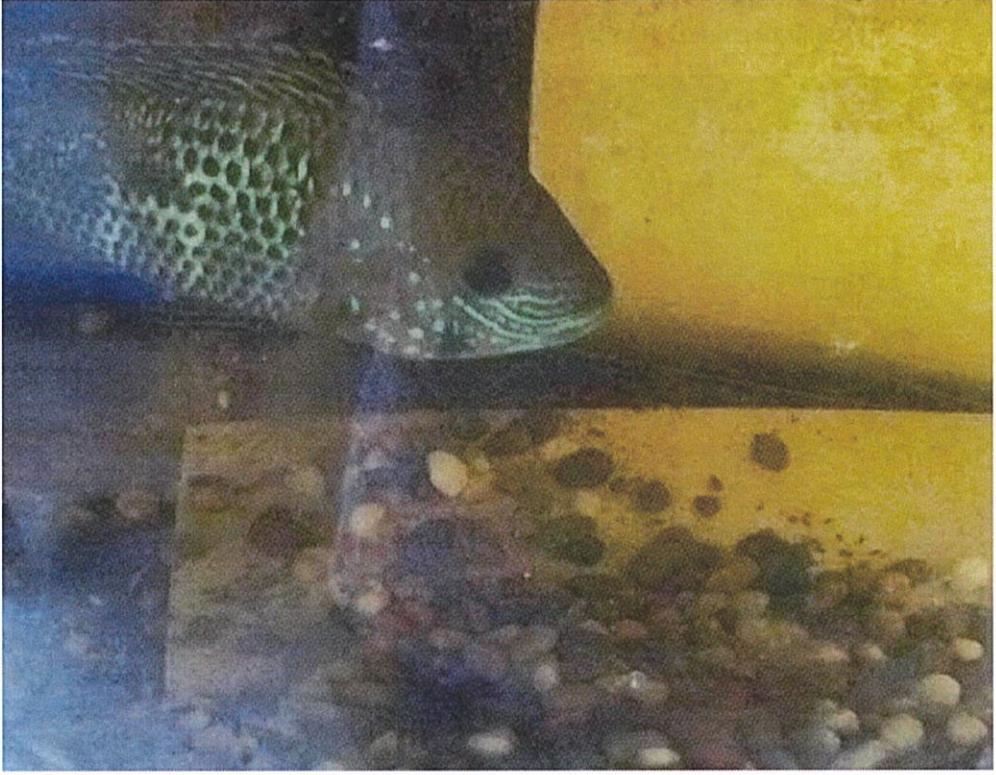
Anexo 3. *Alevines de Andinoacara rivulatus*



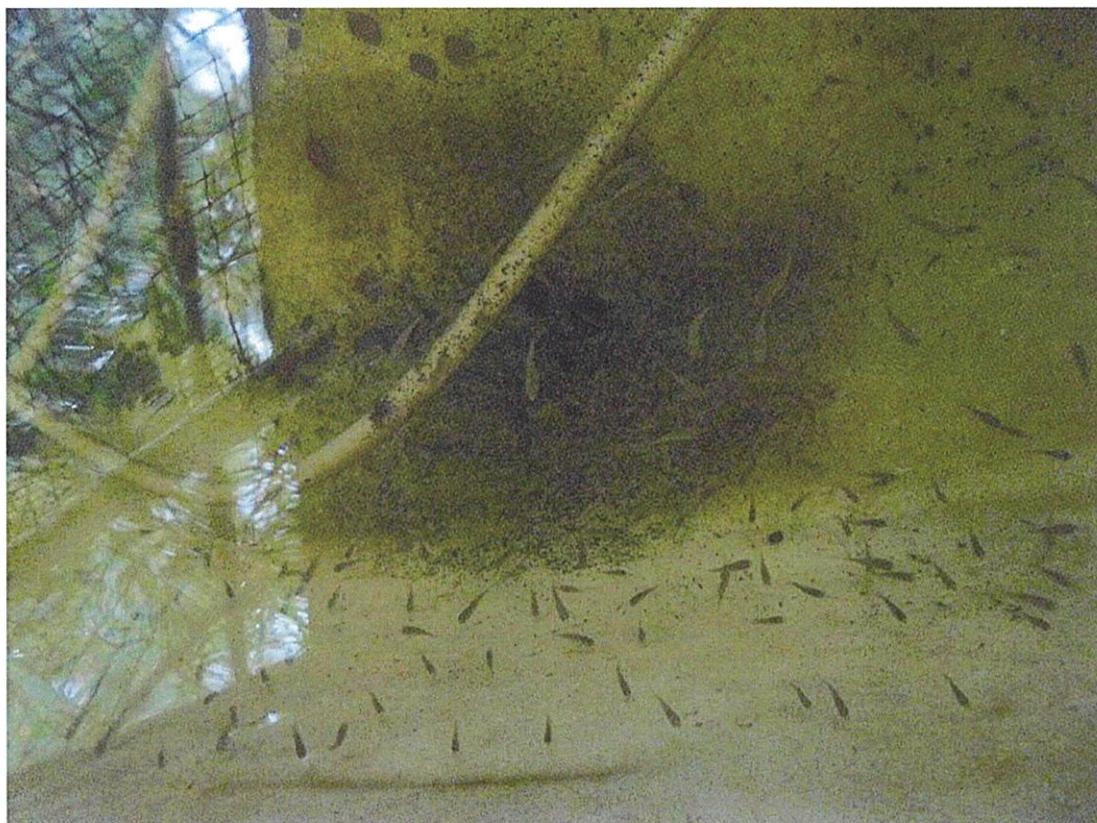
Anexo 4. Larvas de *Andinoacara rivulatus*



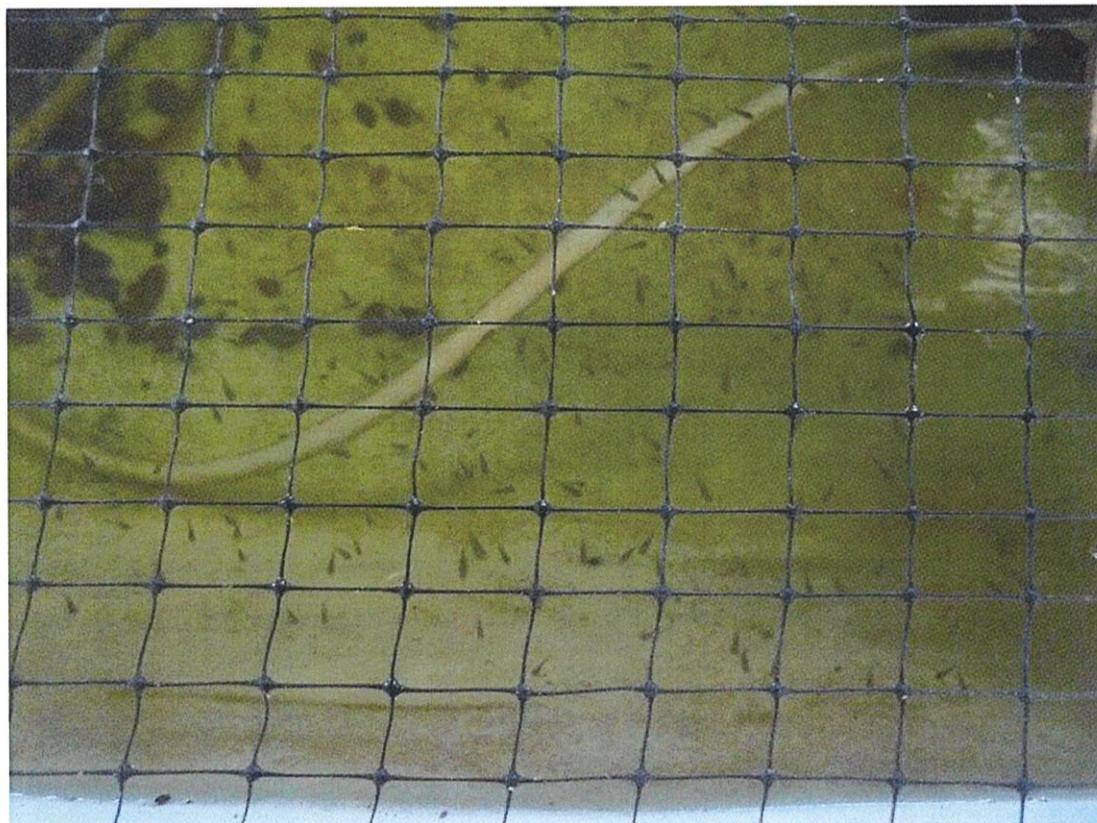
Anexo 5. Macho de *Andinoacara rivulatus* protegiendo a las larvas



Anexo 6. Alevines de *Andinoacara rivulatus* comiendo flake



Anexo 7. Alevines de Andinoacara rivulatus en tanque de 1000 litros



Anexo 8. Peso de 10 alevines de *Andinoacara rivulatus*



Anexo 9. Muestreo de 10 alevines de *Andinoacara rivulatus*



BIBLIOGRAFÍA

- AFC. . *Aquarium and fish care* :2011. Recuperado el 9 de 9 de 2015, de www.AFC.com
- Alireza, N., Gholamreza, R., Mohammadali, N., Hadi, R. Influence of supplement diet with *Pediococcus acidilactici* on non'specific immunity and stress indicators in green terror *Aequidens rivulatus* during hypoxia. :2015
- Alireza, N., Gholamreza, R., Mohammadali, N., Omid, S.. The effect of *Pediococcus acidilactici* bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, *Aequidens rivulatus* :2013.
- Belelli, S. *Reproduzione di Aequidensrivulatus* :2002.. ROMA: CIR Club Ittiologico Romano.
- Burton, G. *Antioxidant action of carotenoids. J. Nutrition* :1989.
- Cabanilla, M., Pacheco, J. *BIOLOGICAL ASPECTS AND FISHERIES OF THE MAIN SPECIES CAUGHT IN THE RESERVOIR CHONGÓN*, :2012. GUAYAQUIL: REPORTE INP.
- Eppink, F. v.. Modelling biodiversity and land use: urban growth, agriculture and. *Ecological Economics* :2004 51, 201–216.
- FAO.. El estado actual de la pesca y la acuicultura. *Organizacion de las naciones unidas para la alimentacion y agricultura* :2014, 253.
- Figueroa, L., Figueroa, J. *Reproduccion y crecimiento en cuativerio de mojarra criolla Cichlasoma istlanum*. :2007 Peru: AquaTIC.
- FISHBASE. *Wijkmark, N., S.O. Kullander and R.E. Barriga Salazar*,. :2012.Recuperado el 19 de 9 de 2015, de WWW.FISHBASE.ORG

- Gomez, P.. *CRIA Y REPRODUCCION DE A. RIVULATUS - PELIGRO GREEN TERROR* :2002.
- Hoseinifar, SH., Khalili, M., Khoshbavar, A., Rostami, H., Esteban, M.Á.. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish Shellfish Immunol*, :2013 35:1416-20.
- Kurshize, M., Okimasu, E., Inoue, a., and Utsuma, k. *Inhibition of oxidative injury of biological membranas by astaxanthin*. Switzerland :1990.
- Mendoza Rodríguez R. Aspectos bioecológicos de *Aequidens rivulatus* (Pisces: Cichlidae) del humedal de Villa María, Chimbote (Perú) para su futuro cultivo :2004.
- Meyers, S. *Papel del Carotenoide Astaxantina en la Nutrición de Especies Acuaticas*. Department of Food Science/ Oceanography & Coastal Sciences :2000.
- Nirchio, M., Pérez J. *Riesgo del cultivo de tilapias en Venezuela*. Venecuela: Interciencia :2002.
- Ross-on-W. Wood E. Collection of coral reef fish for aquaria: global trade. In: Conservation Society, :2001.
- Roy, R., Yanong, V.. Reproductive management of freshwater ornamental fish. *Semin Avian Exotic Pet Med*. :1996 222 - 35.
- Schaafsma, SM., Groothuis, T. Sex-specific effects of maternal testosterone on lateralization in a cichlid fish. *Anim Behav*, : 2012 83:437-43.
- Sifuentes, M. *Ictiología básica y aplicada en cuenca de rio Santa*. Peru: Concytec :1992.
- Stawikowski, R., Werner, U.. *Die Buntbarsche Amerikas*,. vol. 1. *Stuttgart: E. Ulmer* :1998.
- Tonil. *Ciclidos de Mexico*.:2010Recuperado el 16 de 9 de 2015, de www.ciclidosmexico.com.