



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIRIA MARITIMA Y CIENCIAS DEL MAR

"EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD SOBRE EL
CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DEL LENGUADO *Paralichthys
woolmani*"

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:
ACUICULTOR

Presentada por

Isabel Tomalá Araujo

GUAYAQUIL - ECUADOR

1996



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARÍTIMA

A mis padres,
por obligarme a entrar en esta aventura y
a Dios por ayudarme a terminarla.

DECLARATORIA EXPRESA



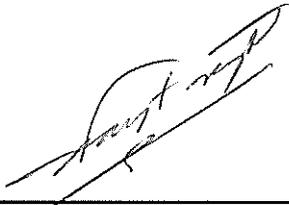
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

" La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y, el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

Isabel Tomalá A.

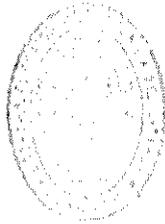
Isabel Tomalá A.



Ing. Jorge Faytong
Presidente del Tribunal



Jerry Landívar, M. Sc.
Miembro del Tribunal



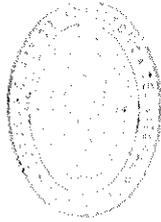
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



Lorena Schwarz, M. Sc.
Director de Tesis



Jorge Calderón V, Ph. D.
Miembro Principal



AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Jorge Calderón, Director del Cenaim, por darme la oportunidad de realizar este trabajo de tesis por sus valiosos comentarios referentes mi trabajo.

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

A la Escuela Superior Politécnica del Litoral, especialmente a la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar que me apoyaron en lo que se refiere a mi instrucción y de manera económica.

A Lorena Schwarz por su incondicional apoyo e incalculable ayuda tanto en mi trabajo como en lo personal.

A Masatoshi Futagawa, Raúl Guartatanga, Mario Fajardo y José Flores por su ayuda durante la ejecución del experimento. También a Pablo Lombeida, Eduardo Zambrano y Xavier Ramos por su colaboración durante el montaje de la unidad experimental.

Un agradecimiento especial a mi familia por su esfuerzo y apoyo que día a día me han brindado.

Y a Fernando Tapia por su compañerismo y por la ayuda incondicional recibida desde que estamos juntos.

Finalmente quisiera agradecer a todos mis compañeros que me apoyaron en mi trabajo y ayudaron a que mi estadía en el Centro sea más agradable.

TABLA DE CONTENIDO

Tabla de Contenido	i
Indice de Figuras	iii
Indice de Tablas	iv
Resumen	v
Introducción	1
1. Antecedentes	5
1.1. Biología de los peces planos	5
1.1.1. Sistemática	6
1.1.2. Distribución	6
1.2. Cultivo de peces planos	7
1.2.1. Maduración y desove	7
1.2.2. Larvicultura	8
1.2.2.1. Sistema de cultivo	10
1.2.3. Fase de precría	11
1.2.4. Fase de engorde	11
1.2.4.1. Densidad de siembra	12
1.2.4.2. Tanques de cultivo	12
1.2.4.3. Alimento	12
1.2.4.4. Supervivencia	13
1.3. Parámetros físico-químicos	13
1.3.1. Temperatura	14
1.3.2. Salinidad	17
1.3.3. Oxígeno disuelto	21
1.3.4. Luz	23
1.3.5. Turbidez	23
2. MATERIALES Y METODOS	25
2.1. Diseño experimental	25
2.2. Sistema de cultivo	26
2.3. Condiciones experimentales	28



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

2.3.1. Siembra	28
2.3.2. Aclimatación	28
2.3.3. Tratamientos experimentales	28
2.3.3.1. Método de alimentación	29
2.3.3.2. Parámetros físicos y químicos	29
2.4. Evaluación de parámetros	29
2.4.1. Crecimiento	29
2.4.1.1. Peso húmedo	29
2.4.1.2. Longitud total	30
2.4.2. Supervivencia	30
2.4.3. Prueba de estrés	30
2.5. Análisis estadístico	31
3. RESULTADOS	32
3.1. Crecimiento	32
3.1.1. Peso húmedo	32
3.1.2. Longitud total	33
3.2. Supervivencia	34
3.3. Test de estrés	35
3.4. Parámetros físicos	38
3.4.1. Temperatura	38
3.4.2. Salinidad	39
3.4.3. Oxígeno disuelto y pH	40
Discusión	42
Conclusiones	45
Recomendaciones	46
Referencias bibliográficas	47

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Variación de la tasa de crecimiento de acuerdo a la ración máxima de alimentación (G_{\max} , R_{\max}), ración óptima (G_{opt} , R_{opt}), ración de mantenimiento (G_0 , R_{opt}) e inanición a diferentes temperaturas	15
Figura 2.	(A) Crecimiento vs. Ración de alimento para el salmón del Atlántico parr cultivado en agua dulce y marina (30ups) a 10°C. (B) Curva de efeciencia de la conversión alimenticia	20
Figura 3.	Relación concentración de oxígeno vs. tasa de crecimiento.....	22
Figura 4.	Diseño factorial de parcelas divididas utilizado durante el experimento .	25
Figura 5.	Diagrama de la unidad experimental y distribución de tratamientos	26
Figura 6.	Vista lateral de una parcela completa de la unidad experimental	27
Figura 7.	Peso húmedo promedio de los 4 tratamientos	33
Figura 8.	Relación entre peso húmedo corporal y longitud total en juveniles de lenguado	34
Figura 9.	Porcentaje de supervivencia del lenguado en los 4 tratamientos durante los 35 días de experimentación	35
Figura 10.	Resultados de la prueba de estrés	36
Figura 11.	Fluctuación diurna y nocturna de la temperatura durante toda la fase experimental	38
Figura 12.	Salinidad promedio en todos los tratamientos durante el experimento ..	39
Figura. 13.	Fluctuación del oxígeno durante el período experimental	40

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Combinación de factores aplicados en el experimento	28
Tabla 2.	Parámetros obtenidos al final de la fase experimental	37
Tabla 3.	Parámetros físicos de todos los tratamientos durante el experimento	41



BIBLIOTECA
FAC. ING.
QUITO

RESUMEN

Los parámetros físicos y químicos del agua, pueden convertirse en los factores limitantes para el desarrollo de determinadas especies bioacuáticas. La temperatura y la salinidad son consideradas como una de las variables ambientales más influyentes en cuanto al crecimiento y desarrollo de todas las especies hasta el momento estudiadas.

Con el objeto de determinar la posibilidad del cultivo del lenguado (*Paralichthys woolmani*) en el Ecuador, se realizó un experimento bifactorial evaluando el efecto combinado de temperatura y salinidad sobre el crecimiento de juveniles de esta especie.

El bioensayo se desarrolló en Junio de 1996, a partir de juveniles de 0.18g obtenidos por desoves naturales en el laboratorio de peces del CENAIM. Se probaron 2 niveles de temperatura, 20°C y 28°C, que comprenden el rango anual característico de la costa ecuatoriana y 2 niveles de salinidad, 15 ups y 35 ups. Al final de la fase experimental (día 35 de cultivo) se observó diferencias significativas en todos los tratamientos ($p > 0.05$), presentando un mayor peso promedio los animales mantenidos a 28°C/15ups (3.53g) seguido del tratamiento de 28°C/35ups (2.77g), 20°C/15ups (2.28g) y 20°C/35ups (1.92g). La supervivencia al final de la fase de cultivo mostró diferencias en los tratamientos a baja temperatura, presentando mejor supervivencia los animales a alta salinidad (20°C/35 ups).

Los resultados indican que la temperatura y la salinidad ejercen un efecto combinado sobre el crecimiento de los juveniles de lenguado, obteniéndose un mayor crecimiento bajo condiciones de alta temperatura y baja salinidad. La alta supervivencia de los animales nos sugiere que aunque en ciertos periodos del año el crecimiento se reduciría, la temperatura y la salinidad no son considerados factores limitantes para el desarrollo del cultivo de esta especie en la zona costera ecuatoriana.

INTRODUCCION

El cultivo de peces tuvo sus orígenes hace 4000 años con los egipcios, los cuales practicaban la pesca y el cultivo de peces en estanques. Sin embargo sólo durante las últimas 3 décadas, el cultivo de peces ha sufrido un giro de una actividad artesanal a una comercial y bien remunerada.

El cultivo comercial de peces marinos se inició en Japón en los años sesenta, con una producción a gran escala de "red seabream" (*Pagrus major*) y "yellowtail" (*Seriola quinqueradiata*). En esta misma época en Europa y Estados Unidos comenzó la larvicultura de peces marinos, pero a menor escala. Hoy en día el Japón se presenta como el mayor productor con 237.984 TM vendidas en 1992 (FAO, 1994), mientras que Europa ocupa el segundo lugar con el reciente desarrollo del cultivo de "sea bass" (*Dicentrarchus labrax*) y de "seabream" (*Sparus aurata*) en el Mediterráneo. Esta nueva industria de cultivo evolucionó de la nada a más de 18.000 TM en un período de 10 años (FAO, 1994).

En América Latina, la acuicultura practicada desde la década de los 40 se ha enfocado hacia el cultivo de especies no autóctonas como lo son: carpa, tilapia y salmónidos. Sin embargo, en la actualidad, la atención se está dirigiendo hacia el cultivo de especies propias de cada país.

La actividad acuícola en el Ecuador se inicio en la década del 60 con el cultivo del camarón *Penaeus vannamei* conocido como camarón blanco del Pacífico. Algunos bananeros construyeron los primeros estanques destinados para su cultivo utilizando un sistema extensivo. Es así que el área destinada para la actividad camaronera se ha incrementado de sólo 439 ha en 1976 a 160.000 ha para el año 1992 (Libro Blanco del Camarón, 1993), formándose del cultivo del crustáceo, una de las principales industrias productoras de divisas (después del petróleo y el banano), colocando al país como primer productor de camarón del hemisferio occidental (75 % de la producción total) y segundo

productor a nivel mundial, en donde los Estados Unidos y Europa participan como principales compradores (Acuicultura del Ecuador, 1995). De igual manera la pesquería tanto industrial como artesanal es de gran importancia para la economía del país.

Actualmente, mientras la demanda de productos marinos en los mercados internacionales se ha incrementado, el sector camaronero y las pesquerías comerciales han experimentado una disminución en la producción debido a factores tales como sobrepesca, los constantes desajustes de la economía nacional, el incremento de los precios de los insumos (230% entre 1990 y 1991), carencia de créditos y altas tasas de interés, enfermedades, irregularidad en el suministro de larvas, lo que ha provocado que el margen de utilidad sea cada vez menor y convierten en una necesidad la optimización de la productividad de estos sectores. Una de las alternativas más viables para alcanzar esta meta es el cultivo de especies marinas no tradicionales que tengan aceptación en el mercado internacional y que puedan desarrollarse utilizando la infraestructura ya existente.

Desde principios de 1992 se han venido desarrollando proyectos a escala piloto para diversificar la acuicultura camaronera y la industria pesquera en el Ecuador hacia la acuicultura de peces. Las investigaciones han sido únicamente en especies de importancia comercial, tales como el lenguado (*Paralichthys woolmani*), el "red drum" o "red fish" (*Sciaenops ocellatus*), el robalo (*Centropomus nigrescens*) y el güayaibe (*Seriola mazatlana*). Los resultados obtenidos hasta el momento han sido sumamente prometedores.

Con respecto a los peces planos o lenguados, son considerados, como especies que, después de los salmónidos, muestran las mejores perspectivas de desarrollo dada su excelente calidad, alto precio y demanda en mercados tan importantes y estables como los Estados Unidos, Europa y Japón, donde dependiendo de la especie se cotizan a precios del orden de USD 15-18 y hasta USD 30/Kg (Silva *et al.*, 1994).

En el Cenaim se está desarrollando la tecnología de cultivo de esta especie habiéndose logrado significativos avances, tanto en reproducción como en su fase de larvicultura, siendo uno de los mayores problemas la baja supervivencia durante el período larval. Sin embargo la producción de alevines en condiciones de laboratorio es consistente y podría ser llevada a una fase comercial. Al momento la factibilidad económica del cultivo comercial de lenguado depende de los resultados que se obtengan durante su fase de engorde, la cual se encuentra en etapa de evaluación.

Antes de introducir una especie de cultivo, es necesario conocer la capacidad de adaptación de esta nueva especie a diferentes condiciones locales.

Existe cierta incertidumbre sobre el desarrollo del lenguado en el Ecuador en donde el agua de mar puede alcanzar temperatura sobre los 28°C. Contrario al güayaibe y otras especies pelágicas y/o costeras y estuarinas (corvinas, robalo, pámpano, "red fish", entre otros) los lenguados adultos viven en el fondo del océano a profundidades de 30-100 m donde la temperatura del agua es constantemente fría (14-20°C). En el laboratorio a temperaturas mayores a 26°C, los reproductores de lenguado se estresan y no ingieren alimento, esto tiene un efecto adverso sobre el crecimiento, eficiencia de conversión alimenticia, estado fisiológico del animal y su desarrollo en general. Otras especies de peces planos como el hirame (*Paralichthys olivaceus*) no crecen bien a temperaturas mayores a los 26°C.

Otro factor importante a considerar es la salinidad, debido a que el lenguado es una especie que en su medio natural no está expuesto a grandes fluctuaciones de salinidad y además el costo energético necesario para los mecanismos de regulación osmótica reducen la energía disponible para el crecimiento.

Tanto la temperatura como la salinidad constituyen factores abióticos de gran importancia para determinar la factibilidad del cultivo de una especie acuícola en una zona determinada. Al estudiar el efecto de estos parámetros sobre la especie de interés es

necesario hacerlo en forma combinada, debido a que variaciones de salinidad van generalmente acompañadas por modificaciones de la temperatura ambiental.

Este trabajo tiene como propósito, (1) determinar los efectos de la temperatura y salinidad sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de lenguado y (2) evaluar si es posible el cultivo de esta especie en zonas ecuatorianas de baja salinidad durante todo el año.

DECLARATORIA EXPRESA

" La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y, el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

Isabel Tomalá A.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLÓGIA

1. ANTECEDENTES

1.1. BIOLOGÍA DE LOS PECES PLANOS

Los Pleuronectiformes constituyen un orden con 8 familias (Ahlstrom, 1984), en los cuales están distribuidas 538 especies (Nelson, 1984 *fide* Wasieliesky, 1994). Los peces planos son un ramal de los peces perciformes, los cuales adquieren el hábito de nadar con su cuerpo comprimido orientado horizontalmente. Un lado del cuerpo es de color blanco y no posee un ojo, mientras que el otro lado es oscuro o pigmentado y contiene ambos ojos. Los lenguados reposan sobre el fondo con el lado pálido hacia abajo. Estos peces planos son reservados en su comportamiento, y son capaces de cambiar de color para así parecerse al sustrato con la finalidad de esconderse de los depredadores y de su presa.

La mayoría de los peces planos permanecen en el fondo, aún cuando nadan, utilizando movimientos ondulatorios del cuerpo. La eficiencia de su nado se debe a la larga aleta dorsal y anal, las cuales junto con la aleta caudal circundan su cuerpo casi por completo. Estas aletas usualmente no poseen espinas y son muy flexibles. Estos peces no poseen vejiga natatoria y su cavidad corporal es sumamente pequeña.

Uno de los aspectos más fascinantes de la biología de los lenguados es el cambio que ocurre cuando la larva pelágica y con simetría bilateral se transforma en un juvenil béntico y asimétrico. La parte más visible de este proceso es el cambio en los patrones de pigmentación y la migración de uno de los ojos, cruzando la cabeza y encontrándose con el otro ojo. Esto no sólo involucra el movimiento del ojo, también se producen cambios en los nervios, venas, huesos del esqueleto y músculos.

Una de las características para distinguir los varios grupos de lenguados es el lado del cuerpo al cual están localizados los dos ojos (derecho o izquierdo). El *Paralichthys woolmani* posee los dos ojos en el lado izquierdo. Los lenguados con los ojos en el lado

izquierdo descansan sobre el lado derecho del cuerpo, y visceversa. Algunas especies como el "starry flounder" (*Platichthys stellatus*), poseen ambos tipos de orientación.

El *Paralichthys woolmani* alcanza un tamaño de hasta 80 cm (Burgess & Axelrod, 1984). Los animales capturados como reproductores del CENAIM tienen una longitud promedio de 50 cm para ejemplares machos y 75 cm para las hembras.

1.1.1. Sistemática

El lenguado *Paralichthys woolmani* se encuentra en la siguiente clasificación taxonómica (Ahlstrom, 1984 *vide* Allen & Roberson, 1994):

Superclase:	Pisces
Clase:	Teleostomi
Superorden:	Acanthopterygii
Orden:	Pleuronectiformes
Suborden:	Pleuronectoidei
Familia:	Paralichthyidae
Género:	<i>Paralichthys</i>
especie:	<i>woolmani</i>
Nombre científico:	<i>Paralichthys woolmani</i>
Nombre común:	lenguado

1.1.2. Distribución

A los lenguados se los encuentra mayormente sobre fondos suaves de la plataforma continental. Sin embargo algunas especies habitan el talud continental y otras pueden invadir zonas de agua dulce. En las plataformas tienen una distribución mundial y muy abundante aportando principalmente a la pesca. Los lenguados adultos viven en el fondo del océano a 30-100 m de profundidad, en donde la temperatura del agua es más fría (14-20°C) (Benetti *et al.*, 1995).

El género *Paralichthys* es uno de los más importantes tanto en las costas de Norte y Sudamérica (Gingsburg, 1952). El *Paralichthys woolmani* se los encuentra desde las costas de Baja California hasta Perú (Allen & Robertson, 1994). A esta especie se la descubrió originalmente en las Islas Galápagos por la expedición Albatros (Burgess & Axelrod, 1984).

1.2. CULTIVO DE PECES PLANOS

El cultivo se inicia con la obtención de huevos a partir de reproductores capturados del medio.

1.2.1. Maduración y desove

Para el género *Paralichthys* las condiciones de captura, mantenimiento y aclimatación varían según las regiones y los autores. Silva (1988) obtuvo ejemplares de *Paralichthys microps*, los cuales desovaron luego de dos años de haber sido capturados. Se los mantuvo en tanques circulares de 1 m² a densidades de 1.85 a 2.66 kg/m³, cubiertos parcialmente (60%) con plástico oscuro. En Japón al *Paralichthys olivaceus* se lo captura en los meses de marzo y abril, y se los mantiene en tanques exteriores, por lo general de concreto y de gran tonelaje (mayor a 20 ton) con cobertores y un colector de huevos instalado junto al tanque.

En el Cenaim a los ejemplares capturados de *P. woolmani* se los somete a un período de cuarentena (desinfección y desparasitamiento) y se los coloca en tanques ovalados de alto tonelaje (8-10 ton). La biomasa a sembrar en los tanques debe mantenerse en 5 Kg/ton o menos, en una relación macho hembra 1:1. Se los alimenta con peces que formen cardúmenes como sardina, anchoveta (chuchumo, chuhueco), morenillo y botellita. Se incluye en la dieta compuestos vitamínicos, especialmente vitaminas E, C y complejo B; además de una fuente natural de ácidos grasos (calamar fresco) o artificial (compuestos para bioenriquecimiento de zooplancton). Al principio se puede dar peces vivos de tamaño regular (lisas, chumumo, chuhueco de 10-12 cm aproximadamente) con



la finalidad de incentivar el instinto de caza de los animales. La cantidad de alimento por lo general varía del 3 al 6 % de la biomasa del tanque (peso húmedo) (Blacio, 1995).

Los huevos que están flotando en el tanque de maduración son huevos fertilizados, los cuales se recogen en un tanque recolector de huevos utilizando una net de 100-200 micras. Una vez recolectados se los coloca en un tanque cónico de 50 l para seleccionar los huevos viables, que se trasladan a tanques de eclosión de 200 l. Los huevos de color amarillo pálido acumulados en el fondo del agua son considerados de mala calidad y por lo tanto se desechan. La eclósión dura entre 22-23 horas a 24°C para el *P. woolmani* (Fajardo, 1996). Una vez que eclosiona la larva se la coloca en los tanques de cultivo. La absorción del saco vitelino tiene una duración de 48 horas a 24°C (Fajardo, 1996), con lo que finaliza el período embrionario.

La supervivencia al término de la absorción del saco vitelino fluctúa entre 90.7 y 98.8 % en el *P. adspersus* (Silva & Flores, 1989) y en *P. woolmani* (Fajardo, 1996).

1.2.2. Larvicultura

El período larval comienza una vez que la larva culmina con la alimentación endógena y abre su boca.

Los rotíferos (*Branchionus plicatilis*) son utilizados especialmente como una dieta de inicio en cultivos de peces marinos.

A partir de que la mayoría de las larvas abren su boca (2-3 días después de la eclosión dependiendo de la temperatura) se comienza a alimentar con rotíferos hasta el día 20. En esta etapa las larvas presentan un nado activo, observándose la formación de las aletas ventrales.

Entre el día 1 y la apertura de la boca, el nivel de mortalidad usualmente se encuentra en un rango del 5 al 20 %. Estas pérdidas se atribuyen tanto al manejo de la larva como a

muerte por anomalías como el caso del turbot (*Scophthalmus maximus*) (Person-Le Ruyet *et al.*, 1981 *vide* Stael, 1991).

Del 20 al 60% de mortalidad se registra luego de la primera alimentación, este se lo considera el período más crítico. Mejorando el tamaño, disponibilidad y contenido nutritivo de la presa se puede incrementar la supervivencia durante la primera alimentación (Sorgeloos, *et al.*, 1996).

El *Paralichthys woolmani* consume a partir del día 15 hasta el día 45, nauplios de *Artemia* como suplemento a la alimentación de rotíferos. En el día 17 de cultivo las larvas tienen un tamaño de aproximadamente 10.5 mm (Guartatanga, 1994), en esta etapa se comienza a observar claramente la migración del ojo derecho hacia el lado izquierdo, lo que indica el comienzo de la metamorfosis. Una vez completada la metamorfosis todas las partes y estructuras del lenguado están completamente formadas, adoptando la apariencia de adulto.

En este período la mortalidad no excede el 10 %, y se atribuye principalmente a la pobre calidad del nauplio de *Artemia*. Se conoce que la selección del tipo de *Artemia* es muy importante, debido a que existe gran variabilidad en el valor de *Artemias* provenientes de diferentes fuentes (Sorgeloos *et al.*, 1986).

Desde el día 30 se empieza a alimentar con pellet seco (suplementando a la *Artemia*), el cual va de acuerdo al tamaño de la boca y que va en aumento, mientras disminuye paulatinamente la densidad de *Artemia*. A esta etapa se la conoce como "destete" o "weaning".

Esta fase se la considera crítica debido a la alta tasa de mortalidad. Sin embargo las mortalidades tienden a estabilizarse alcanzándose una supervivencia después de la metamorfosis entre un 12 y 13 % (61 días) (Silva & Flores, 1989).

En los laboratorios comerciales en Japón se obtiene un 50 % de supervivencia desde la cosecha de la larva eclosionada hasta la metamorfosis (día 40-50) (Takeuchi *et al.*, 1995).

1.2.2.1. Sistemas de cultivo

Los tanques utilizados para larvicultura de los lenguados pueden ser cilíndrico-cónicos, utilizados en el turbot (Stael, 1991), jaulas cuadradas de malla, las cuales van dentro de tanques circulares de cemento utilizados para el *P. olivaceus* o, tanques rectangulares de 10 a 50 m³ de capacidad como los utilizados para el *P. microps* y el *Scophthalmus maximus* en Chile y el *Paralichthys woolmani* en Ecuador.

Se utiliza agua filtrada (microfiltro) y tratada con luz ultravioleta. Se comienza el recambio de agua entre el día 5-7 con un 40-50 %, incrementando el porcentaje paulatinamente a medida que los animales crecen y la carga metabólica aumenta. El agua en los tanques de larvicultura se airea con piedras difusoras a una razón de 50-100 ml/min (Seikai *et al.*, 1985).

Se utiliza iluminación controlada con lámparas fluorescentes con un fotoperíodo 13:11 (oscuridad-claridad). Manteniendo la intensidad de luz a 100 lux sobre la superficie de cada tanque de cultivo (Seikai *et al.*, 1985). Otras técnicas utilizan fotoperíodo de 12 horas (Takeuchi *et al.*, 1995).

Para el cultivo del turbot (*Scophthalmus maximus*) se utiliza densidades de más de 60 larvas/l para sistemas intensivos en tanques con volúmenes entre 0.1-2.0 m³, mientras que 10-20 larvas/l es normalmente utilizado para sistemas semi-intensivos en volúmenes de agua de 8-10 m³ y en sistemas extensivos se utilizan densidades de 5-10 larvas/l.

En el *P. adpsersus* y *P. microps* de Chile y para el *P. olivaceus* en Japón se utilizan densidades entre 3 a 100 larvas/l (Silva *et al.*, 1994; Seikai *et al.*, 1985; Takeuchi *et al.*,

1994). En el Cenaim con el *P. woolmani* se utilizan densidades de siembra de 10-50 larvas/l.

1.2.3. Fase de precría

Generalmente se inicia al día 30-40 cuando los juveniles miden 3-6 cm. Esta etapa se puede realizar en estanques de diferentes formas y dimensiones en las que es posible colocar una jaula de malla para evitar el contacto de los juveniles con los desechos del fondo. Las densidades utilizadas pueden ir entre 500 y 1500 juveniles/m², dependiendo de la calidad y recambio de agua existente (Silva *et al.*, 1994).

1.2.4. Fase de engorde

En Japón el engorde de la larva comienza en el mes de abril y son cosechados desde enero hasta junio del siguiente año cuando pesan entre 600 y 800 g. El albinismo en estos peces está entre 40-50%, aunque recobran su coloración natural después de unos meses (2-3 meses) (Tomiyama *et al.*, 1994). Una respuesta similar se obtiene con el *P. woolmani*, el cual recobra su pigmentación a medida que crece.

La fase de engorde puede llevarse a cabo tanto en tanques como en jaulas flotantes en el medio natural.

El *Paralichthys* tiene hábitos gregarios (se mezcla con animales de otras especies) y sedentarios, y se ubica en el fondo del tanque en zonas más bien protegidas y oscuras. Son cazadores innatos, observan rápida y certeramente el alimento antes de atraparlo y devorarlo. Son peces inquietos si se lo compara con el turbot. Ante condiciones de estrés, los lenguados cambian el color de su epidermis y aumentan la frecuencia de sus movimientos operculares, para permitir el mayor ingreso de agua y oxígeno (Silva *et al.*, 1994).



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE AGRICULTURA
SANTIAGO, CHILE

1.2.4.1. Densidades de siembra

Para el *Paralichthys adspersus* las densidades de siembra varían de 2 a 10 Kg/m² de acuerdo con las condiciones de cultivo (Silva *et al.*, 1994).

En el Japón se utilizan mayormente sistemas intensivos para el cultivo del *P. olivaceus* utilizando una densidad inicial de siembra de 200 peces/m² (peces de 9 g y 10 cm de longitud total). Cuando el animal alcanza 30 cm de longitud total, la densidad se reduce de 20-30 peces/m² (Honda *et al.*, 1993).

1.2.4.2. Tanques de cultivo

El engorde del *Paralichthys olivaceus* se lleva a cabo tanto en tanques rectangulares como en circulares de 8 m de diámetro y 1-1.2 m de alto. Para ambos se utiliza una columna de agua de 80 cm, los tanques poseen una caída hacia el centro del mismo, con una altura de agua de 45 cm de profundidad en las esquinas y 75 cm en el centro para facilitar la evacuación de desechos. También se utilizan jaulas flotantes con marcos de madera cuadrados de 5 m y malla en su interior. Se las cubre con una net para prevenir el escape de los peces. En Japón algunos cultivadores realizan recambios diarios de hasta el 1600%, alimentando 2 veces al día (Tomiyama *et al.*, 1994).

Una característica de estos animales es que pueden soportar condiciones de bajo flujo de agua y oxígeno (Silva *et al.*, 1994).

1.2.4.3. Alimento

El alimento utilizado mayormente es la anguila de arena congelada para el lenguado japonés (Tomiyama *et al.*, 1994); pescado fresco o congelado en pasta, suplementada con vitaminas o en su defecto pellet seco para el lenguado chileno (*P. adspersus* y *P. microps*) (Silva, 1991) y en el Cenaim se proporciona pellet seco con 55% de proteínas para el *P. woolmani*.

En el *P. olivaceus* la conversión alimenticia tiene valores de 0.66 y 1.47 en un periodo de 0-116 días y 117-299 días, respectivamente (Honda *et al.*, 1993). La conversión alimenticia en turbot está cerca de 1:1, lo cual se considera satisfactorio, comparándolo a 2:1 para los salmónidos.

En *P. woolmani* se alcanza 1 Kg de peso en 1 año, con un FCR de 3.9 (Benetti *et al.*, 1995).

1.2.4.4. Supervivencia

En la fase de engorde se obtienen tasas de supervivencia altas para el *P. olivaceus*, las cuales fluctúan en un rango de 82.0-97.5 % (Honda *et al.*, 1993).

1.3. FACTORES FISICO Y QUIMICOS

El crecimiento es una de las actividades más complejas desarrolladas por el organismo. Esta representa una serie de procesos humorales y fisiológicos que comienzan con la ingestión de alimento y culminan con la excreción de los desechos del animal. Los procesos de digestión, absorción, asimilación, gasto metabólico y excreción interactúan entre sí influenciando el producto final. La velocidad y eficiencia de estas funciones individuales se encuentra a su vez influenciada tanto por factores bióticos (ración de alimento, tamaño y competencia) como por factores abióticos (temperatura, luz, salinidad y oxígeno) (Brett, 1979).

El crecimiento está siempre unido a un factor biótico importante, a la vez que cualquier factor abiótico está necesariamente involucrado en la interacción de los dos. Por ejemplo, si aumenta la temperatura, la cantidad de alimento consumido usualmente se incrementa así como la tasa de digestión. Sin embargo, la tasa de crecimiento puede aumentar o disminuir dependiendo de la relación existente entre la naturaleza del alimento, el metabolismo y la temperatura. Como en ciertos casos ocurre que la demanda de energía

debido a una elevada tasa metabólica puede exceder la ganancia de energía obtenida por la ingestión de alimento, resultando en una baja tasa de crecimiento.

1.3.1. Temperatura

La temperatura es uno de las variables ambientales más importantes que afectan a los organismos bioacuáticos, debido principalmente a que la mayoría de estas especies son poiquiloterms, es decir que su temperatura interna varía de acuerdo a las variaciones del medio ambiente (animales de sangre fría).

La mayoría de las especies que viven en áreas costeras son capaces de tolerar mejor las variaciones estacionales de temperatura considerándose como especies euritérmicas, en contraste con las especies estenotérmicas, las cuales pueden tolerar sólo pequeños incrementos o disminuciones en la temperatura del agua.

La temperatura del agua ejerce un efecto sobre todas las especies de peces que pueden ser cultivadas, influenciando factores como, la tasa de crecimiento, calidad de la carne, ingestión y digestión del alimento, entre otros.

Cold *et al.*, 1975 (*fide* Lannan *et al.*, 1986) revisó los efectos de la temperatura en el bagre de canal. Se reporta que éste deja de alimentarse a temperaturas bajo 8-10°C, tiene una segregación óptima de enzimas digestivas a 23.9°C y una máxima razón de digestión entre 26 y 30°C, muestra un óptimo crecimiento cerca de los 30°C y una disminución en el crecimiento arriba de los 32°C, aún con alimentación en exceso y posee una temperatura letal a los 39°C. En adición la calidad del bagre también varía en función de la temperatura, se reporta un incremento lineal en todo el contenido de grasa de la carcasa del bagre de canal de un 23.8% a un 43.6% en peces criados en un rango de 18 a 34°C. Sin embargo estos detalles se desconocen para la mayoría de los peces cultivados y es generalmente conocida la temperatura a la cual la especie se desarrolla mejor. Se estima que la temperatura ideal para el crecimiento del *P. woolmani* y *P. adspersus* es de 20-

25°C (Benetti *et al.*, 1995). En el caso del turbot cesa de alimentarse cerca de 5-6°C y por encima de 23°C y el sole a los 20°C. Los límites letales para el turbot son de 3°C y 31°C.

En los estadios juveniles, la mayoría de las especies, muestran un incremento típico en la tasa de crecimiento cuando la temperatura aumenta, llegando a un pico (temperatura óptima) y a menudo decae bruscamente a medida que la temperatura siga en ascenso y alcance niveles letales (Figura 1).

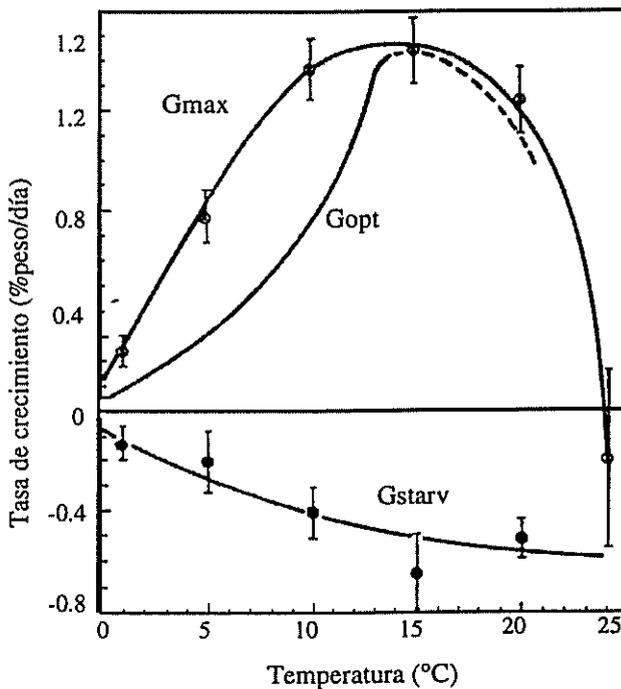


Figura 1. Variación de la tasa de crecimiento de acuerdo a la ración máxima de alimentación (G_{max} , R_{max}), ración óptima (G_{opt} , R_{opt}) y ración de mantenimiento (G_o , R_{mant}) e inanición (G_{starv} , R_o) ± 2 ES. (Tomado de Brett *et al.*, 1969 *vide* Brett, 1979)

Se han realizados pocos estudios que permitan examinar como la tasa de crecimiento óptima (G_{opt}) cambia con la temperatura. Para el juvenil de sockeye, se observa que el G_{opt} se incrementa constantemente desde un valor muy por debajo de la tasa máxima de crecimiento (G_{max}) a temperaturas bajas hasta valores casi superpuestos al G_{max} a altas temperaturas (Figura 1). El incremento exponencial de energía requerido por el pez para



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MAR DEL PLATA

su mantenimiento al incrementar la temperatura, aparentemente obliga al G_{opt} a alcanzar al G_{max} al aproximarse al límite superior de tolerancia de temperatura.

De igual manera, el apetito de los peces aumenta cuando existe un incremento en la temperatura del agua, como es el caso de los juveniles de salmón "sockeye" que con alimentación en exceso incrementaron la ingestión del 3% peso/día a 1°C a 8% a 20°C, seguido de un rápido descenso a temperaturas mayores (Brett *et al.*, 1969 *fide* Lannan *et al.*, 1986).

La necesidad de satisfacer el creciente apetito de los peces al incrementar la temperatura, ha sido considerado por mucho tiempo en los laboratorios comerciales, con la introducción de tablas de temperatura-alimentación, las cuales muestran un rápido incremento en la ración recomendada, hasta aproximadamente un 10% por día para salmones de 2 g a 18°C. Desde el punto de vista económico es de gran importancia el conocer el nivel de Ración óptima (R_{opt} , cantidad de alimento necesaria para producir la mayor eficiencia en la conversión alimenticia) para una temperatura dada. Peters, 1972 (*fide* Brett, 1979) demostró que la eficiencia de conversión era generalmente más alta a valores cercanos al 80% de la Ración máxima (R_{max} , cantidad máxima de alimento que el animal pueda consumir) que al 60% o 100%. Esto se puede predecir a partir de la curva de crecimiento/ración alimenticia (CR) en donde la R_{opt} está usualmente bajo la R_{max} . Alimentar a niveles de saciedad (R_{max}), produce un decrecimiento en la eficiencia de conversión del alimento ingerido y por lo tanto un gasto innecesario de alimento que generalmente representa uno de los mayores rubros en operaciones comerciales.

Brett, 1976 (*fide* Brett, 1979) demostró que la diferencia entre R_{max} y la ración de mantenimiento (R_{mant} , cantidad de alimento necesario para cubrir gastos de energía del metabolismo estándar) proporciona una manera simple de medir el potencial de crecimiento en relación con la temperatura. Sólo el alimento que posea R_{mant} en exceso servirá para el crecimiento. Esto es, a una misma ración de alimento el potencial de

crecimiento será menor a temperaturas más altas debido a que la ración de mantenimiento se incrementará y por lo tanto la diferencia entre $R_{\max} - R_{\text{mant}}$ será menor.

1.3.2. Salinidad

La salinidad es la medida de la concentración total de todos los iones disueltos en el agua. El cloruro de sodio (NaCl) es el principal compuesto en el agua de mar, pero la mayoría de lagos contienen concentraciones sustanciales de otros compuestos iónicos (sales) tales como sulfatos y carbonatos. La salinidad puede ser medida de acuerdo con la concentración de sales en el agua, la refracción que causa en la luz o por conductividad eléctrica. El resultado en todos los casos es reportado en ups (unidad práctica de salinidad) o ppt (gramos de sal por cada kilogramo de agua). El mar tiene una salinidad estándar de 35 ups.

La salinidad es uno de los principales parámetros que determinan el tipo de peces que pueden ser cultivados en un locación dada. Sin embargo, algunas especies cultivadas como el "milkfish" y la lisa son eurihalinos, es decir, toleran un amplio rango de salinidad. La mayoría de los peces toleran un rango relativamente bajo de salinidad (estenohalinos).

No sólo es importante el determinar la salinidad en un sistema de cultivo, sino el establecer las fluctuaciones que puedan ocurrir dentro de éste. Algunos sistemas de cultivo costeros tienen la posibilidad de inundarse con agua dulce, en cuyos casos las salinidades pueden disminuir considerablemente. En otros casos en regiones áridas se experimentan condiciones de hipersalinidad debido al alto rango de evaporación y al bajo ingreso de agua dulce. Las piscinas de cultivo de "milkfish" en la Isla Navidad a menudo exceden 150 ups (Helfrich, 1981 *fide* Lannan *et al.*, 1986), mientras que en Laguna Madre y el Lago Texas existen salinidades en el rango de 50 a 80 ups (Pearce & Günter, 1957 *fide* Lannan *et al.*, 1986).

En general la salinidad puede afectar la reproducción (gametogénesis y tolerancia de la larva a condiciones eurihalinas), nutrición y crecimiento de organismos acuáticos. El crecimiento puede ser óptimo a una salinidad restringida dependiendo de la especie. Sin embargo algunas especies de peces, como los salmónidos pueden aclimatarse a agua de mar si el incremento diario de salinidad no es muy alto (Landrein, 1973 *fide* Barnabé, 1990).

Para los animales acuáticos el principal problema es el mantenimiento de una condición óptima de agua y sales en los fluídos corporales a través de la osmoregulación.

Los peces regulan los iones de su plasma de manera que la presión osmótica interna de los fluídos de su cuerpo sea equivalente a aproximadamente 10 ups de salinidad, con un rango de ± 2 ups dependiendo de la tolerancia, capacidad reguladora y salinidad ambiental (Holmes & Donalson, 1969 *fide* Brett, 1979).

El mantenimiento del balance interno en peces de agua dulce, en donde la pérdida de iones y el ingreso de agua en el cuerpo son los mayores problemas, está asociado con la hormona prolactina, la cual sirve para controlar el transporte activo de iones a través de la membrana y la función del riñón (Bern, 1975 *fide* Brett, 1979), el cual excreta una orina muy diluída con una pequeña cantidad de sales, adicionalmente, se asume que parte de los iones perdidos son reemplazados a través de la dieta. Los peces de agua dulce son generalmente estenohalinos, y están sujetos a morir súbitamente al contacto con agua de mar.

En el ambiente marino el problema de controlar los iones es lo contrario, los peces sobreviven al ingerir agua salada, secretando sales mayormente por las branquias a través de mecanismos de transporte activo y excretando orina isotónica. La mayoría de los peces marinos no pueden tolerar aguas salobres de los estuarios de forma indefinida y por esto se los considera estenohalinos. Algunas especies marinas, sin embargo, son

muy tolerantes, permaneciendo en los estuarios, y cuando hay marea baja ingresan hacia los ríos.

La osmoregulación es un factor que constantemente requiere gasto de energía, el cual está asociado con el transporte activo de los iones con el fin de mantener el equilibrio interno, dicho transporte ocurre a nivel de epitelios especializados, branquias, intestino y órganos excretores y está influenciado especialmente por la concentración de sales en la sangre, la concentración del medio y la temperatura.

Existe una gran variedad de especies con las cuales se ha probado el efecto de la salinidad sobre la tasa de crecimiento, cuando han sido alimentados en abundancia (R_{max}). Resultados de estos estudios han mostrado en algunos casos tendencias contrarias y generalmente no incluyen información sobre el estado iónico interno del animal. Esta variabilidad en las respuestas obtenidas ha llevado a la conclusión que en la mayoría de los casos, no existe uniformidad en el estado fisiológico de los individuos estudiados.

Peces eurihalinos tales como el *Cyprinodon macularius* pueden crecer satisfactoriamente entre 0 y 55 ups, la *Tilapia mossambica* tiene la misma capacidad. Chervinski, 1961 (*vide* Brett, 1979) reportó que la *Tilapia nilotica* puede crecer tanto a 18 ups como en agua dulce, y puede adaptarse a 50 ups. No existen datos registrados sobre el mínimo de salinidad permitido para especies marinas, aunque para el *Paralichthys dentatus* ocurre un descenso en la tasa de crecimiento a bajas salinidades a 20°C. Por otro lado el efecto de elevación de la temperatura estimula el crecimiento en condiciones de alta salinidad, como en el caso del *Cyprinodon macularius*, lo contrario le ocurre al *Trinectes maculatus*, observándose mejores crecimientos a alta temperatura únicamente en condiciones de baja salinidad.

La variación de la curva CR a diferentes niveles de salinidad fue determinada con juveniles del salmón del atlántico, observándose que la curva se desplazó hacia la derecha

a lo largo de la abscisa en relación a un incremento en el R_{mant} de 1.3% (agua dulce) a 3% (agua salada) del peso/día. Adicionalmente se obtuvo una disminución en la eficiencia de conversión alimenticia para todas las raciones en agua salada (Figura 2) (Shaw *et al.*, 1975 *vide* Brett, 1979).

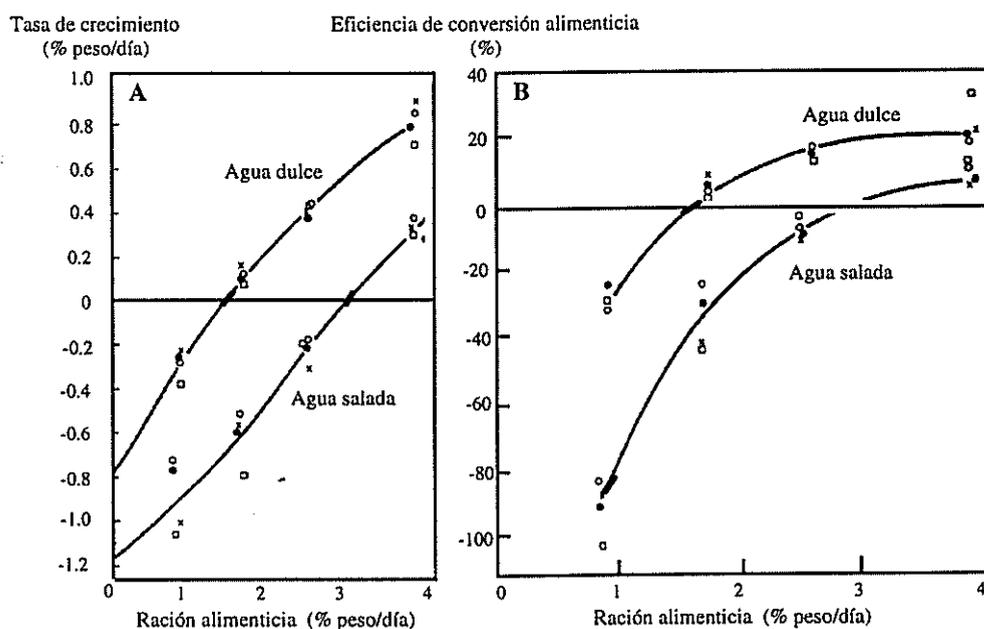


Figura 2. (A) Curva de crecimiento vs. ración alimenticia (CR) para el salmón Atlántico cultivado en agua dulce y en agua de mar (30 ups) a 10°C. (B) Curva de la conversión alimenticia (Tomado de: Shaw *et al.*, 1975 *vide* Brett, 1979).

En contraste con estos resultados, Smith y Thorpe, 1976 (*vide* Brett, 1979) obtuvieron un incremento significativo en la tasa de crecimiento de la trucha arcoiris *Salmo gairdneri* (>40 g) cuando eran aclimatados a agua salada comparado con el control de agua dulce a 12°C.

Peters, 1971 (*vide* Brett, 1979) y Peters y Boyd, 1972 (*vide* Brett, 1979) trabajando con juveniles del lenguado *Trinectes maculatus*, demostraron que bajo temperatura constante (20°C) la inclinación de la curva CR se incrementa con la salinidad de tal manera, que a partir de un punto central de R_{mant} similares, incrementos en la salinidad del agua inducirá mayores G_{max} cuando los animales son alimentados *ad libitum*. En condiciones

de inanición (a la temperatura experimental de 20°C) la pérdida de peso fue mas rápida en agua dulce que a salinidades mayores, lo contrario se observó cuando los animales eran mantenidos a 35°C. Esto demuestra la complejidad y diversidad de respuestas del crecimiento a diferentes condiciones de salinidad, circunstancias como la anteriormente expuesta, requieren de un análisis de las condiciones fisiológicas de los animales para una adecuada explicación. Sin embargo cabe anotar que en la naturaleza estas especies de lenguado habitan más frecuentemente en lugares en donde la concentración de sales les permite un crecimiento más acelerado (Peters, 1971 *vide* Brett, 1979).

1.3.3. Oxígeno disuelto

El oxígeno juega el rol más importante en determinar el potencial biológico del agua de cultivo. Es esencial para la respiración, ayuda a la destrucción del detritus orgánico y permite completar las reacciones bioquímicas. Se presenta en el agua como resultado de la difusión, de la actividad fotosintética del fitoplancton y de otras plantas. El oxígeno disuelto se encuentra limitado y está inversamente relacionado con la temperatura del agua y la salinidad (Barnabé, 1990).

La mayoría de los animales acuáticos requieren de más de 1 ppm de oxígeno disuelto para sobrevivir y de 4 a 5 ppm para evitar estrés (Parker, 1994).

En el momento de la alimentación y algunas horas después, la tasa metabólica de los peces se encuentra elevada, en estos momentos, el incremento total del consumo de oxígeno está directamente relacionado al tamaño de la ración del alimento ingerido, por lo tanto si la cantidad de alimento se incrementa el gasto de energía será mayor. Sin considerar la compleja secuencia de los pasos de digestión-absorción-transformación en el procesamiento de los alimentos, el oxígeno disuelto, al encontrarse en niveles críticos (usualmente muy por debajo del punto de saturación del agua), puede actuar como un factor limitante, reduciendo marcadamente la tasa de crecimiento y la eficiencia de la conversión alimenticia.

Para el sole (*Solea solea*) y el turbot (*Scophthalmus maximus*) el nivel de oxígeno disuelto en la salida de agua no debe ser menor a 5 ppm (a 16°C). Por el contrario, el *P. adpersus* puede soportar condiciones de bajos flujos de agua y oxígeno (Silva, *et al.*, 1994), al igual que el *P. woolmani*.

Existe mayor sensibilidad a restricciones de oxígeno en estadios larvales que en juveniles (Carlson & Siefert, 1974; Carlson *et al.*, 1974 *vide* Brett, 1979). A partir de estudios realizados con juveniles, se estableció que una concentración de oxígeno cercana a 5 ppm resulta crítica para el crecimiento, a concentraciones menores el G_{max} se reduce de manera proporcional a la disminución del contenido de oxígeno (disminución de 1 ppm produce un 30% de reducción en la tasa de crecimiento) (Figura 3). Mas allá de una zona crítica de transición, la curva del índice de crecimiento forma una meseta indicando la completa independencia del contenido de oxígeno a niveles mayores de 5 ppm como es el caso de factores limitantes.

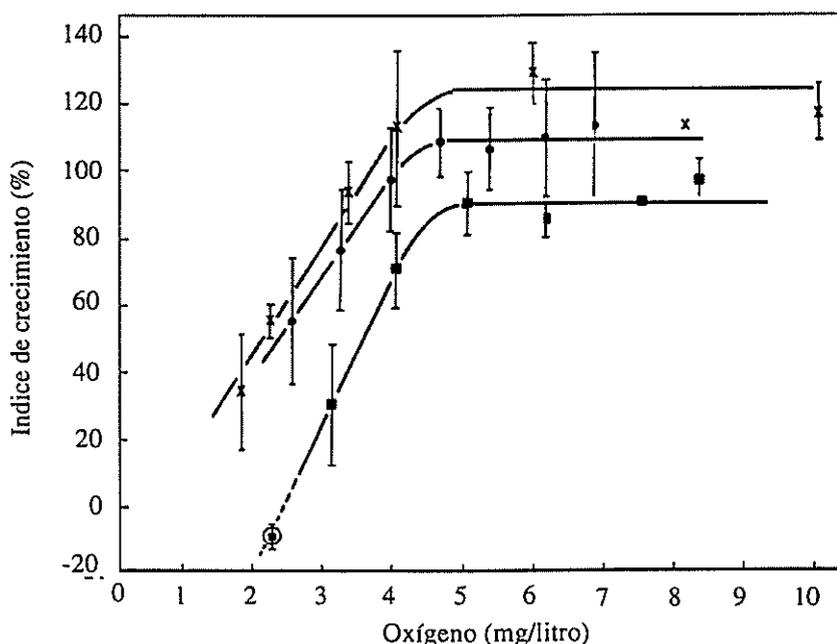


Figura 3. Relación concentración de oxígeno vs. tasa de crecimiento expresada en porcentaje (Índice de crecimiento) \pm DS. Curva superior basada en datos del *Microphterus salmoides* a 26°C, 2.5-4.5 g; Curva del centro al *Cyprinus Carpio* a 22°C, 0.5-3.4g y Curva inferior al *Oncorhynchus kisutch* a 20°C, 2-6g (tomada de Brett, 1979).

En la naturaleza y en los laboratorios, el descenso en el oxígeno va siempre acompañado con el incremento de otros factores ambientales como el amoníaco, urea y nitritos, los cuales actúan antagónicamente sobre el crecimiento.

1.3.4. **Luz**

Los resultados hasta el momento obtenidos sobre la influencia de la luz en el crecimiento han sido sumamente variables y confusos. Esto se debe a las múltiples maneras en que la luz puede actuar (calidad, cantidad y periodicidad). Además de la interacción que tiene con otros factores ambientales, particularmente temperatura, y la posible armonía con la mecanismos internos del pez (diarios o estacionales).

La luz usualmente actúa como un factor estimulante de la pituitaria cerebral. Su periodicidad natural induce a la producción de la hormona del crecimiento (STH, hormona somatotrófica del crecimiento) y de esteroides anabólicos que pueden influenciar en la actividad locomotora en asociación con la estimulación de la tiroides.

La periodicidad de la luz ha sido manipulada a favor de la maduración temprana y obtención de crecimiento adicional (Henderson, 1963; Pyle, 1969; Wagner, 1974 *vide* Brett, 1979).

Estudios realizados por Gross *et al.*, 1965 (*vide* Brett, 1979) demostraron que al extender la duración diaria de horas luz, se estimulaba el crecimiento de juveniles de "green sunfish" (*Lepomis cyanellus*) mientras que períodos más cortos de luminosidad tenían un efecto inhibitor del crecimiento.

1.3.5. **Turbidez**

La turbidez tiene un efecto en la penetración de la luz dentro del agua, lo que puede reducir el nivel de fotosíntesis y producción de fitoplancton.

La turbidez interfiere con la reproducción de algunos peces en valores de por lo menos 500 mg/l. En el *P. woolamni* se ha observado que la turbidez del agua obstaculiza la detección de la presa por parte de los peces, lo que les dificulta la ingestión del alimento y por consiguiente disminuye la tasa de crecimiento. Es por esta razón que los cultivadores de *P. olivaceus* utilizan agua clara y recambios de hasta 1500% (Tomiyama *et al.*, 1994).

2. MATERIALES Y METODOS

El bioensayo se llevó a cabo en el laboratorio de larvicultura del CENAIM, en San Pedro de Manglaralto del 29 de mayo al 1 de julio de 1996.

2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un modelo factorial 2x2 en parcelas divididas (Figura 4). Se escogió este diseño debido a la dificultad de disponer todos los tratamientos y sus réplicas de manera aleatoria dentro del sistema de experimentación.

La unidad experimental se dividió en bloques de tal manera que el error experimental dentro de cada bloque sea lo más pequeño posible. Cada bloque contiene los 4 tratamientos y forma 1 réplica.

Los bloques del diseño se los dividió en dos parcelas completas a las que se le asignó los 2 niveles del tratamiento principal (temperatura). Las parcelas completa se dividieron en dos partes conocidas como subparcelas, a cada una de las cuales se le asignó un nivel de salinidad. Todos los tratamientos experimentales se realizaron por triplicado.

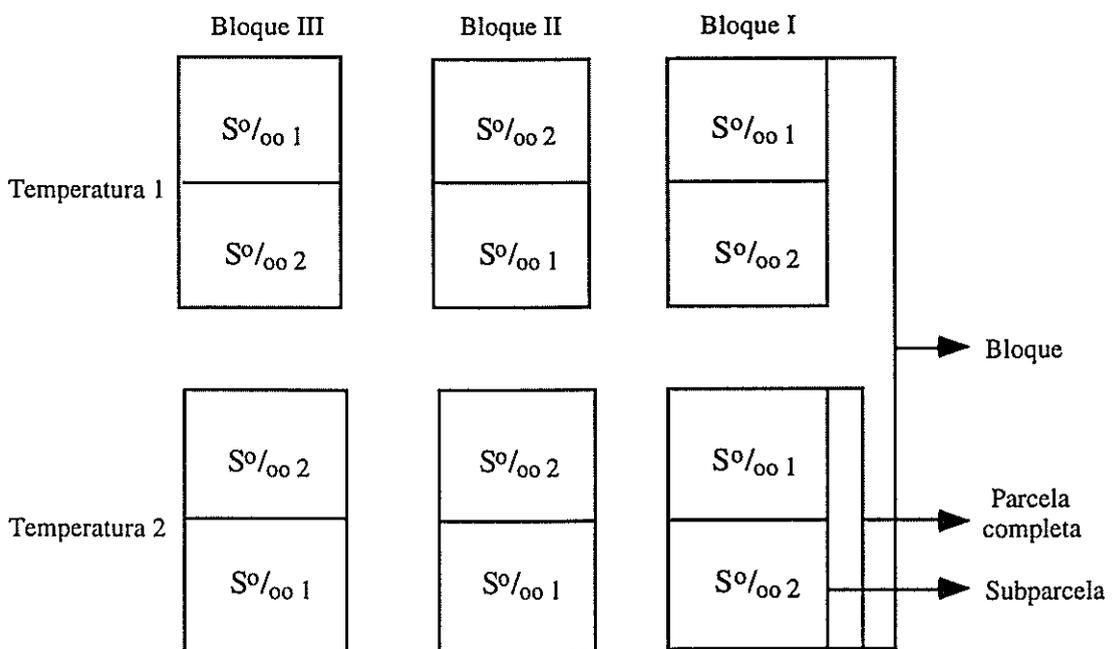


Fig.4. Diseño factorial de parcelas divididas utilizado durante el experimento

2.2. SISTEMA DE CULTIVO

El experimento se lo realizó dentro del sistema de cultivo descrito en la figura 5.

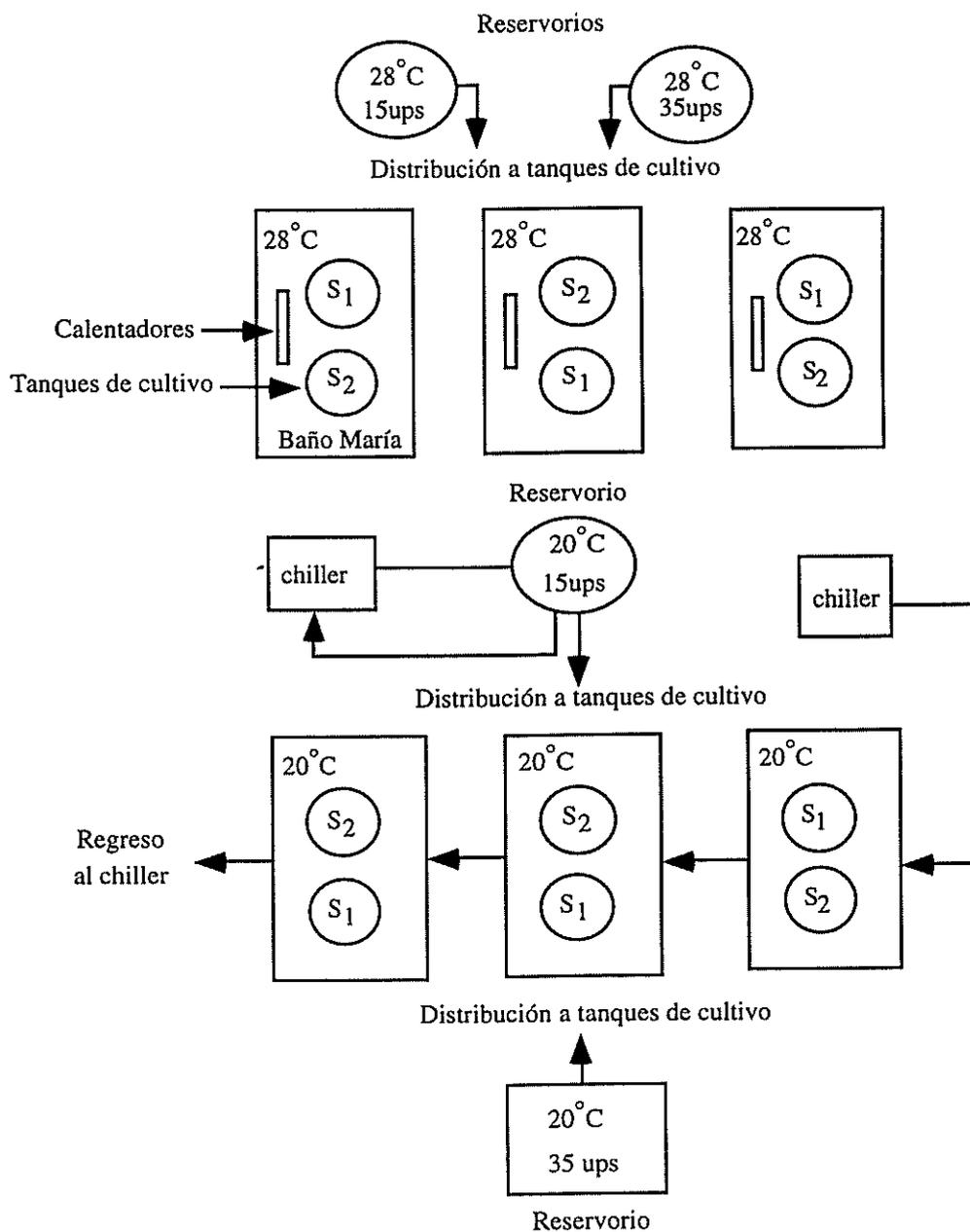


Figura 5. Diagrama de la unidad experimental y distribución de los tratamientos.

El sistema está compuesto por 12 jaulas cilíndricas de malla plástica negra con fondo plano de 34 cm de alto y de 40 cm de diámetro, cada una de las cuales se encuentra contenida en un tanque transparente cilíndrico de policarbonato de 100 l de capacidad. Cada tanque de cultivo se mantuvo dentro de un tanque rectangular de 0.5 ton con agua a 28°C o 20°C que actuaba como Baño María. En cada tanque de 0.5 ton van contenidos dos tanques transparentes con su jaula. Cada jaula va amarrada al tanque impidiendo de esta manera el contacto de la jaula con el fondo (figura 6).

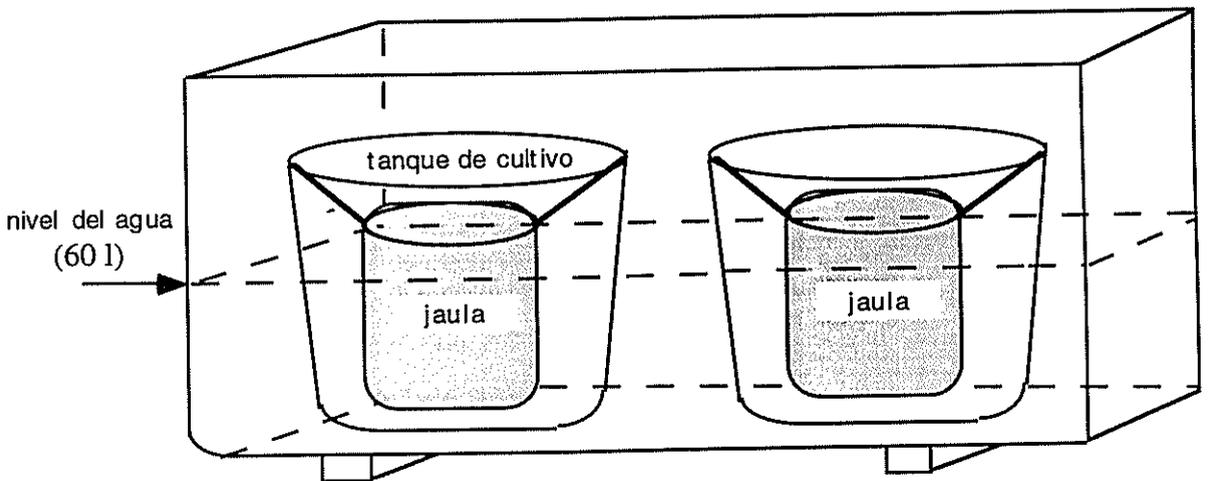


Fig.6. Vista lateral de una parcela completa de la unidad experimental.

Se utilizaron 4 tanques de 500 l a manera de reservorios para preparar el agua de cada tratamiento, 20°C-15 ups, 20°C - 35 ups, 28°C-15 ups, 28°C-35 ups.

2.3 CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.3.1. Siembra

Se pesaron individualmente 120 animales de 46 días de edad, los cuales se sembraron en cada jaula a una densidad de 20 animales por jaula, es decir, aproximadamente 167 animales/m² y se los distribuyó en cada tanque de cultivo de manera aleatoria.

2.3.2. Aclimatación

Dada las diferentes condiciones experimentales de salinidad y temperatura dentro del experimento resultó necesario un período de aclimatación.

Durante este período se colocaron a los animales dentro de los tanques de cultivo a temperatura y salinidad ambiente (23°C y 35 ups) y se comenzó el recambio con agua a la temperatura y salinidad específica para cada tratamiento. La aclimatación tuvo una duración de 6 y 17 horas para temperatura y salinidad respectivamente.

2.3.3. Tratamientos experimentales

El experimento consistió en evaluar el efecto combinado de 2 niveles de temperatura (20 y 28 °C) y 2 concentraciones de sales disueltas (15 y 35 ups), resultando 4 tratamientos (tabla 1).

Tabla 1. Combinación de factores aplicadas en el experimento.

	TRATAMIENTOS			
	T1S1	T1S2	T2S1	T2S2
Temperatura (°C)	20	20	28	28
Salinidad (ups)	15	35	15	35

2.3.3.1. Método de alimentación

La alimentación se la realizó en exceso para todos los tratamientos. La ración diaria se la dividió en 4 raciones suministradas manualmente a las 08h00, 11h00, 14h00 y 17h00. La dieta consistió en un pellet seco de 1000-2000 μm de diámetro con 55% de proteína, producida por el Departamento de Nutrición del CENAIM.

2.3.3.2. Parámetros físicos y químicos

Diariamente se monitoreó temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH. El control de la temperatura y salinidad se realizó tanto por la mañana como por la noche. La salinidad se midió con un refractómetro manual ATAGO S/Mill. la temperatura se monitoreaba utilizando un termómetro de alcohol y el pH con un pHmetro modelo UC-23 Digital pH/ORP METER. El oxígeno disuelto y la temperatura (am) se lo midió con un oxigenómetro modelo UC-12 (Digital DO/O₂/ TEMP. METER).

Durante el bioensayo se mantuvo un fotoperíodo natural de 12 horas y una intensidad de luz de 500-1000 lux. Se realizó un recambio de agua del 300 % diario y aireación constante. Diariamente se sifoneaba el fondo, para lo cual se retiraba la aireación.



BIOLOGÍA
FAC. ING.
MARITIMA

2.4. EVALUACIÓN DE PARAMETROS

2.4.1. Crecimiento

2.4.1.1. Peso húmedo

Semanalmente se muestrearon todos los animales para evaluar crecimiento. Se determinó el peso húmedo individual (g) utilizando una balanza LIBROR EB-3200 D.

2.4.1.2. Longitud total

Se estableció la relación existente entre el peso húmedo de los peces (g) y su longitud (mm), para esto se midió cada individuo después de ser pesado utilizando un calibrador Vernier (Digital Caliper) marca MITUTOYO.

2.4.2. Supervivencia

Diariamente se evaluó mortalidad en cada una de las jaula con la finalidad de establecer el efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre la supervivencia de los animales.

2.4.3. Prueba de estrés

Para verificar el estado fisiológico de los peces en los diferentes tratamientos, se llevó a cabo una prueba de estrés. El objetivo de la prueba es el de evaluar la resistencia de los animales como indicativo de su calidad y establecer una relación entre los resultados obtenidos y la combinación de factores (temperatura y salinidad) utilizados durante la fase experimental.

Los animales de cada uno de los tratamientos fueron expuestos a agua hipersalina (incrementando la salinidad del agua de cultivo en 40 ups)

Se colocaron 10 animales de cada uno de los tratamientos en bandejas con el agua a 75 ups para los tratmientos de 35 ups y a 55 ups para los de 15 ups. Se sumergieron los animales en la solución de prueba y se monitoreó mortalidad a intervalos de 3 minutos

hasta que no se registró mortalidad alguna. El valor promedio obtenido de las réplicas de cada tratamiento a partir de la mortalidad acumulada se denomina índice de sensibilidad al estrés (IE). Este índice refleja la resistencia del animal, mientras mayor sea el valor numérico del índice, mayor será la sensibilidad del pez al estrés al que ha sido expuesto y viceversa (Dhert *et al.*, 1992).

2.5. ANALISIS ESTADISTICO

Los datos recolectados de cada muestreo fueron analizados por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 3 vías, con la finalidad de evaluar la influencia de la temperatura, salinidad y la interacción de ambas sobre el crecimiento de los juveniles. Cuando se encontraba diferencia significativa entre tratamientos, se procedió a utilizar el test Duncan de rangos múltiples. El nivel de significancia utilizado fue de $p < 0.05$.

Se realizó una Regresión lineal con los datos de longitud total (mm) y el peso húmedo (g) transformados de los animales de todos los tratamientos para de esta forma establecer la relación existente entre estos 2 parámetros.

3. RESULTADOS

3.1. CRECIMIENTO

3.1.1. Peso húmedo

El incremento en peso corporal de los los peces durante toda la fase experimental se muestra en la figura 7.

El análisis estadístico de los datos mostró que existieron diferencias significativas a partir de la segunda semana en adelante. Animales mantenidos a alta temperatura y baja salinidad (T2S1) presentaron un crecimiento significativamente mayor que los otros tratamientos ($p < 0.05$) durante toda la fase experimental.

Los tratamientos de 20°C (T1S1 y T1S2) no presentaron diferencias significativas en su peso promedio hasta la quinta semana de cultivo, donde animales de baja salinidad (T1S1) mostraron un peso húmedo significativamente mayor a los de alta salinidad (T1S2). Peces mantenidos a alta temperatura y salinidad (T2S2) no presentaron diferencias significativas con los juveniles del tratamiento T1S2 ($p > 0.05$) hasta la segunda semana de cultivo. A partir de la tercera semana, el tratamiento T2S2 presentó un peso promedio significativamente mayor que los 2 tratamientos mantenidos a baja temperatura (T1S1 y T1S2) (figura 7).

Al final de la fase experimental se obtuvo diferencias significativas en todos los tratamientos ($p < 0.05$), mostrando mayor crecimiento los animales del tratamiento T2S1 seguidos de T2S2, T1S1 y T1S2 (figura 7 y tabla 2).

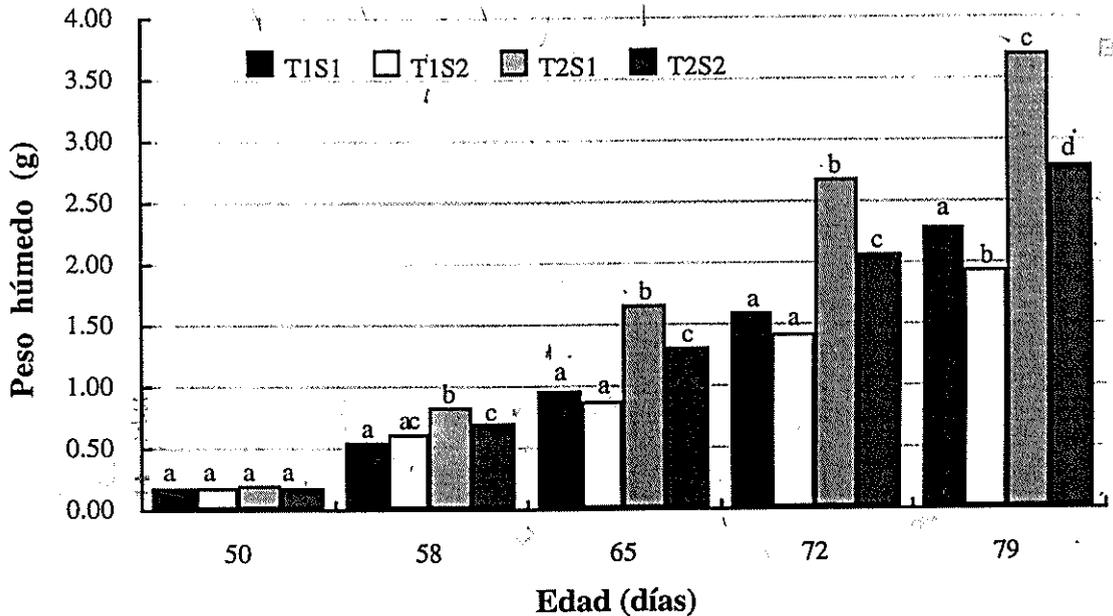
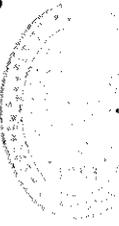


Fig. 7. Peso húmedo promedio de cada uno de los tratamientos durante los 35 días del experimento (T1=20°C, S1=15 ups, T2=28°C, S2=35 ups).

3.1.2. Longitud total

La longitud de los peces mantenidos a diferentes condiciones de temperatura y salinidad presentó igual tendencia que el peso corporal, siendo el tratamiento T2S1 el que obtuvo los valores promedios de longitud total más altos, seguido de T2S2, T1S1 y T1S2 (tabla 2).

Al graficar los valores transformados de la longitud total (mm) y el peso húmedo (g) de los animales muestreados semanalmente de todos los tratamientos experimentales, la regresión mostró la siguiente ecuación (Figura 8):

$$\text{Log peso húmedo} = -4.955 + 2.967 \log \text{ longitud total}$$

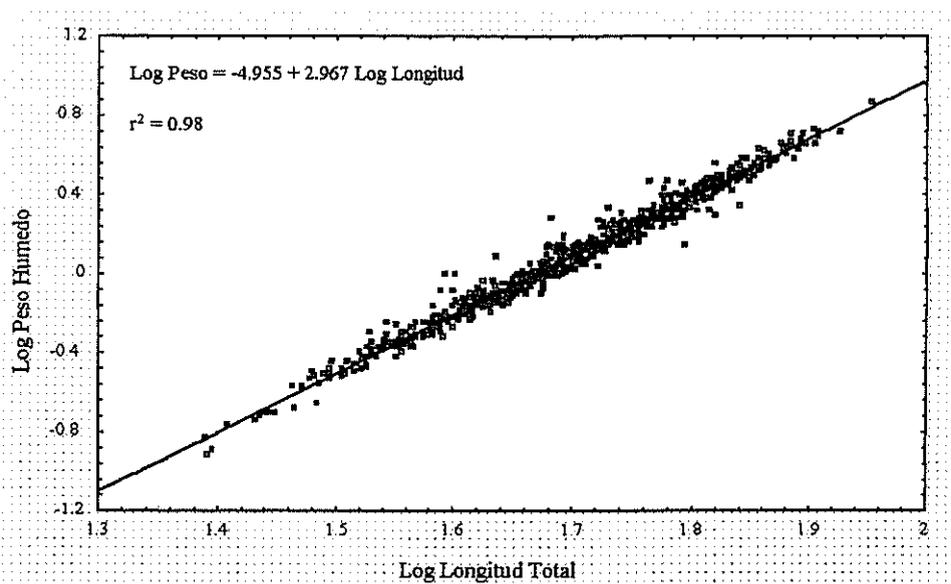


Fig. 8. Relación entre el peso húmedo corporal y la longitud total de juveniles de lenguado

3.2. SUPERVIVENCIA

Animales mantenidos a baja temperatura mostraron diferencias significativas en la supervivencia al final de la fase experimental ($p < 0.05$) obteniéndose un porcentaje de supervivencia menor a baja salinidad (T1S1). Sin embargo este último no mostró diferencias con los tratamientos mantenidos a altas temperaturas (T2S1 y T2S2). De igual forma la supervivencia registrada en los animales del tratamiento T2S2 no presentó diferencias significativas con los valores obtenidos en el tratamiento T1S2 (figura 10 y tabla 2).

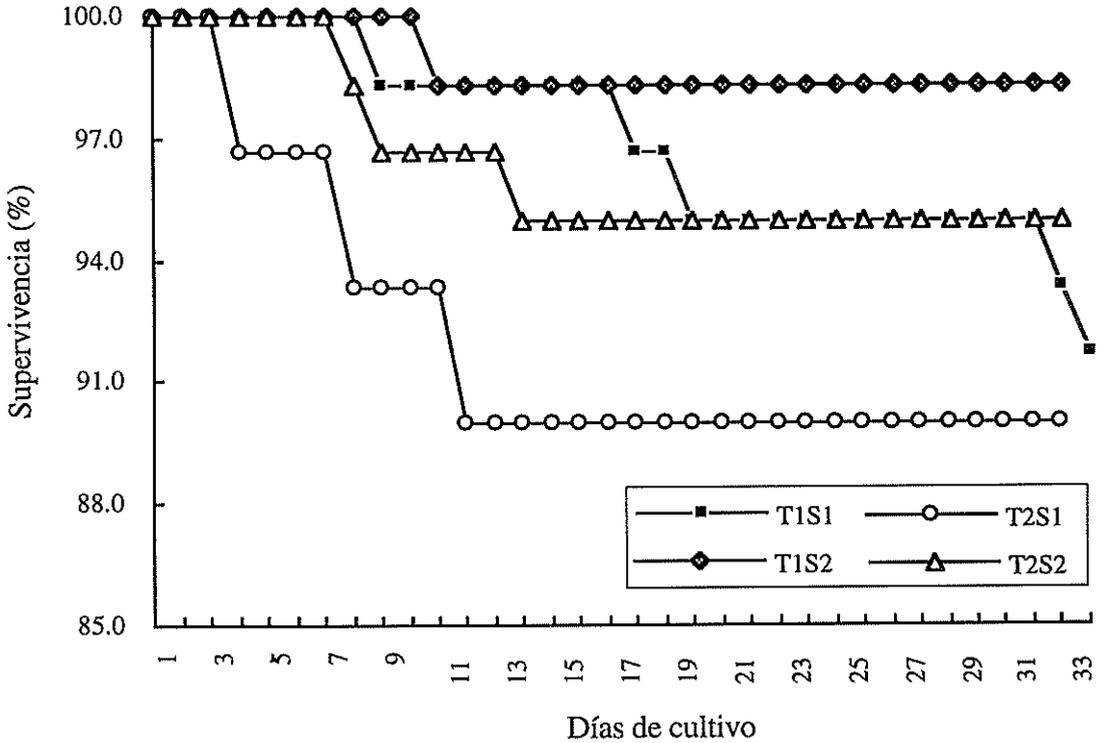


Fig. 9. Porcentaje de supervivencia del lenguado en los 4 tratamientos durante los 35 días de experimentación.

3.3. TEST DE ESTRES

El índice de estrés obtenido al incrementar la salinidad del agua de cultivo en 40 ups demostró que los animales de los tratamientos a salinidad de 15 ups (T1S1 y T2S1) fueron más resistentes que los de los tratamientos a 35 ups (T1S2 y T2S2). De los dos tratamientos a 35 ups los peces mantenidos a temperatura más alta (T2S2) resultaron ser más sensibles al estrés osmótico que los del tratamiento a temperatura de 20°C (T2S1) (figura 11A y tabla 2).

Con la finalidad de establecer cual de los 2 tratamientos con $IE_1=0$ posee un mejor estado

fisiológico se implementó otro ensayo de estrés osmótico, aumentando la salinidad del agua de cultivo en 60 ups, resultando los animales del tratamiento T1S1 ser más resistentes que los del tratamiento T2S1 (figura 11B y tabla 2).

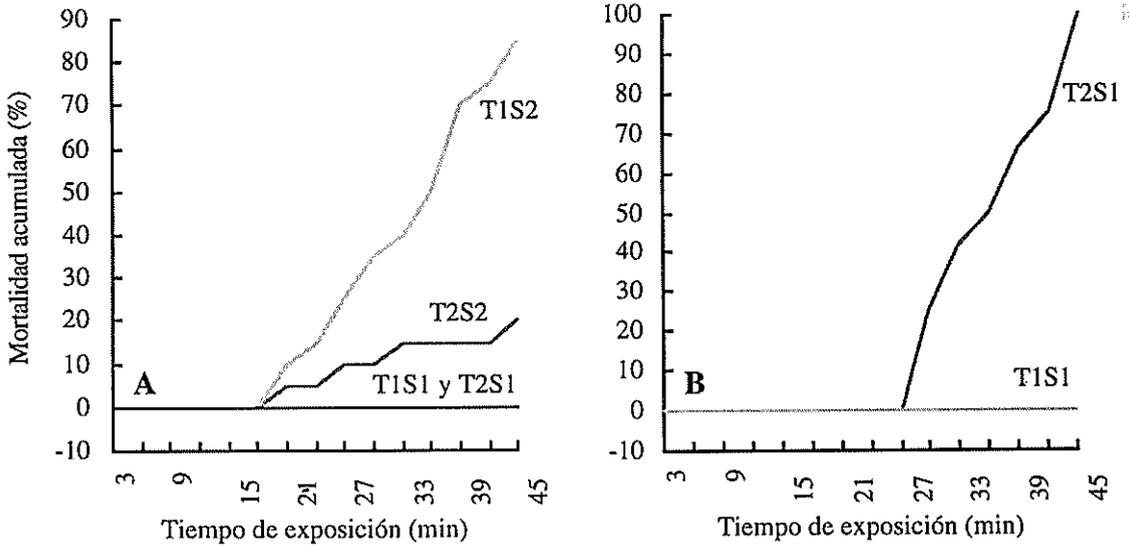


Figura 10. Mortalidad de juveniles de lenguado durante el test de estrés, (A) exposición a un incremento de 40 mg/l, (B) exposición a un incremento de 60 mg/l.

Tabla 2. Parámetros obtenidos al final de la fase experimental (valor promedio±desviación estándar de las 3 réplicas).

	TRATAMIENTOS			
	T1S1 (20°C/15ups)	T1S2 (20°C/35ups)	T2S1 (28°C/15ups)	T2S2 (28°C/35ups)
Peso inicial (g)	0.18 ^a ±0.06	0.19 ^a ±0.08	0.18 ^a ±0.06	0.17 ^a ±0.05
Peso final (g)	2.29 ^a ±0.69	1.93 ^b ±0.71	3.70 ^c ±1.21	2.78 ^d ±0.86
Longitud total (mm)	60.21 ^a ±6.53	57.23 ^b ±7.25	71.15 ^c ±8.47	64.93 ^d ±7.62
Crec. diario (mg/día)	63.74 ^a ±3.7	54.75 ^b ±5.96	107.68 ^c ±10.15	79.70 ^d ±8.02
Supervivencia (%)	91.7±2.90 ^a	98.3 ^b ±2.90	90.0 ^a ±0.00	95.0 ^{ab} ±0.00
Indice estrés ₁	0	110 ^a ±8.28	0	405 ^b ±30.19
Indice estrés ₂	0	-----	100±28.4	-----

valores con la misma letra no presentan diferencia significativa ($p > 0.05$)

3.4. PARAMETROS FISICOS

3.4.1. Temperatura

La temperatura promedio durante toda la fase experimental fue de 20.3 ± 0.7 °C para los tratamientos T1S1 y T1S2, y 28.9 ± 0.5 °C para los tratamientos T2S1 y T2S2 (figura 12 y tabla 3).

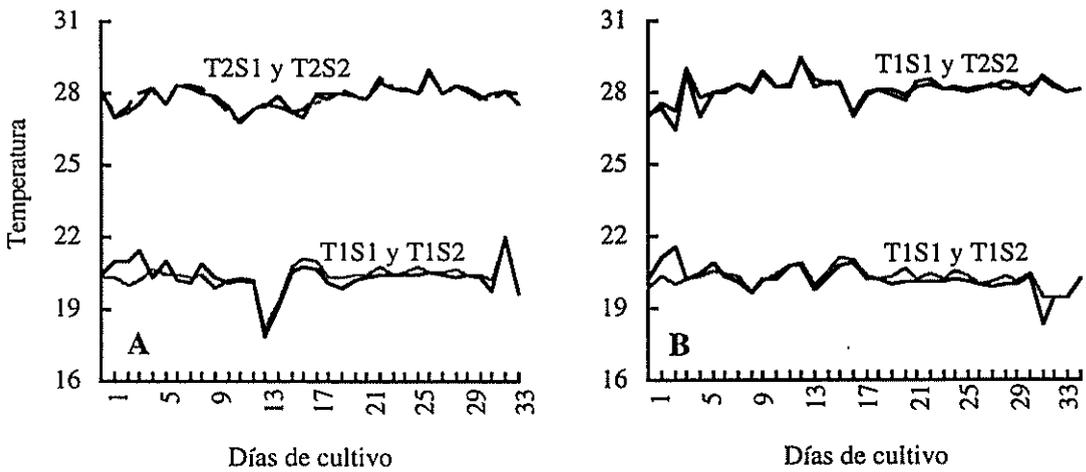


Figura 11. Fluctuación diurna (A) y nocturna (B) de la temperatura durante toda la fase experimental.



DICHA, TEGA
F.C., I.B.
MARITIMA

3.4.2. Salinidad

Los valores de salinidad se mantuvieron constantes para todos los tratamientos (figura 12 y tabla 3).

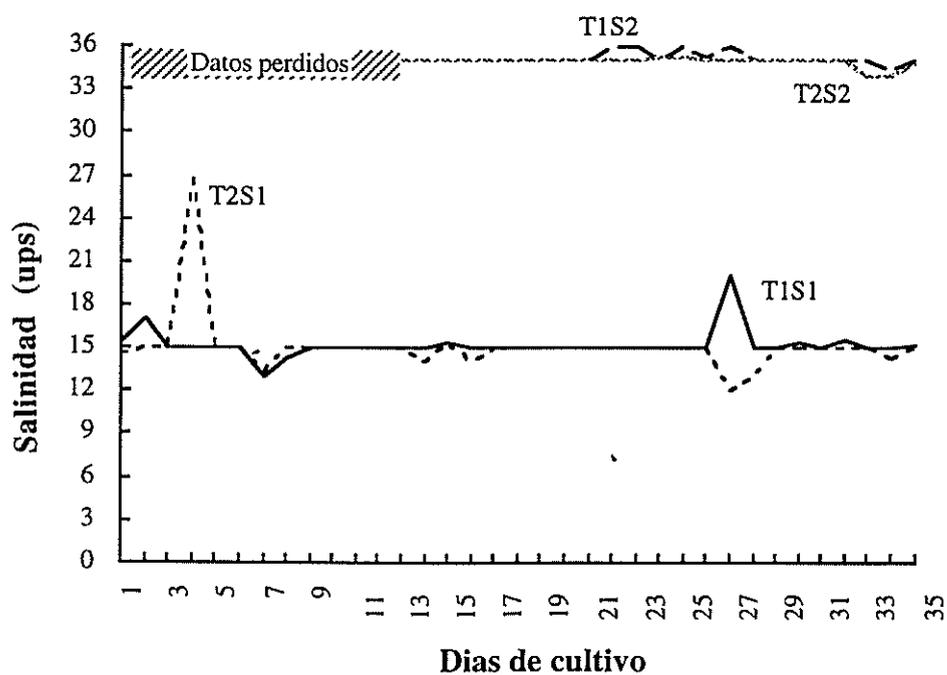


Fig. 12. Salinidad promedio en todos los tratamientos durante el experimento.

DISCUSION

El experimento bifactorial realizado permitió obtener información del modo que los dos factores bajo estudio (temperatura y salinidad) interactúan entre sí.

Por lo general en los estadíos juveniles en la mayoría de las especies estudiadas se muestra un incremento típico en la tasa de crecimiento cuando existe un incremento de la temperatura hasta alcanzar una temperatura crítica a partir de la cual la tasa de crecimiento disminuye. En el presente estudio la temperatura alta (28°C) mostró la mayor tasa de crecimiento a ambos niveles de salinidad, siendo la mejor combinación alta temperatura y baja salinidad (28°C/15 ups).

Este efecto positivo de la temperatura alta sobre el crecimiento puede ser causa de una mayor ingestión de alimento que generalmente muestran los peces al incrementar la temperatura dentro de un rango determinado (Brett *et al.*, 1979). Debido principalmente a que la tasa de digestión aumenta al incrementar la temperatura, permitiendo una mayor velocidad de evacuación del alimento y por lo tanto una mayor ingestión de las raciones diarias (Elliot, 1975 *fide* Brett, 1979).

No se cuantificó el alimento consumido debido a que se realizó una alimentación *ad libitum* durante el período de experimentación, así también debido a que el pellet utilizado tenía una alta velocidad de hundimiento y por la poca profundidad de la columna de agua en los tanques de cultivo.

Al final de la fase de cultivo se demostró que tanto a altas como a bajas temperaturas, animales mantenidos a 15 ups presentaron un crecimiento mayor que los mantenidos bajo condiciones marinas (35 ups). El incremento en la tasa de crecimiento a baja salinidad se debió posiblemente a la menor cantidad de energía que requieren estos animales para los procesos de osmoregulación, debido principalmente a encontrarse cercanos a una condición isosmótica; esta reducción en la demanda de energía para mantenimiento permite que una mayor cantidad de energía del alimento sea utilizada para el crecimiento. La diferencia en la energía requerida para mantenimiento a diferentes salinidades fue evidente en experimentos realizados con *Tilapia nilotica*, que animales entre 30 y 300 g presentaron el menor consumo de oxígeno a una salinidad de 11.6‰, es decir en un medio isosmótico a la sangre de esta especie (Famer & Beamish, 1969 *fide* De Silva & Perera, 1985). Resultados similares son reportados para juveniles de salmón del atlántico, en donde la R_{mant} se incrementó de un 1.3% del peso/día en agua dulce a un 3% del peso/día en agua salada, adicionalmente se obtuvo una disminución en la

eficiencia de conversión alimenticia para todas las raciones en agua salada (Shaw *et al.*, 1975). Los procesos de osmoregulación pueden requerir cantidades de energía sustanciales (Farmer & Beamish, 1969 *vide* De Silva & Perera) y es muy probable que los resultados obtenidos en este experimento puedan ser relacionados a eficiencias energéticas.

Resultados de la interacción estadística muestran que el efecto de la salinidad sobre el crecimiento de los juveniles de lenguado es más evidente a condiciones de alta temperatura, esto seguramente se deba a que el transporte activo (importante mecanismo para la osmoregulación), está íntimamente relacionado con la temperatura, un incremento de 10°C produce un aumento en la adsorción de sales en un 100% (Bowen, 1966 *vide* Brett, 1979). Esto pudo determinar que las diferencias en la utilización de energía para osmoregulación a diferentes salinidades, sean mayores a altas temperaturas.

Resultados similares han sido reportados por Tucker (1987) en experimentos con juveniles de robalo (*Centropomus* sp), en donde fueron expuestos a diferentes condiciones de temperatura y salinidad, concluyéndose que el crecimiento en juveniles fue mejor en agua dulce con temperatura media de 27°C.

Sin embargo estudios realizados con animales del mismo género (*Paralichthys dentatus*) presentan una tendencia contraria, esto es, un incremento de la tasa de crecimiento al incrementar la salinidad del medio, tanto a altas como a bajas temperaturas. En el caso del *Trinectes maculatus*, se observó una mejor tasa de crecimiento a baja salinidad únicamente a altas temperaturas, a condiciones de baja temperatura la tasa de crecimiento aumenta al incrementar la salinidad (Brett *et al.*, 1979).

La supervivencia obtenida durante el experimento fue buena, si la comparamos con los rangos obtenidos para la fase de engorde del *Paralichthys olivaceus*, en donde un 90% (menor valor registrado entre los tratamientos experimentales) es considerado bueno (Honda *et al.*, 1993). Las diferencias obtenidas al final de la fase experimental estuvieron dadas directamente por la salinidad a baja temperatura. Sin embargo la recolección de los peces muertos permitió observar mordidas especialmente a nivel de la aleta caudal, lo que sugiere que gran parte de la mortalidad se debió a canibalismo y no a un efecto exclusivo de los parámetros bajo estudio. Esta hipótesis es reforzada con los resultados obtenidos en la prueba de estrés, los que demostraron que los tratamientos con menor supervivencia (T1S1 y T2S1) presentaron una mayor resistencia al estrés osmótico, por lo que se asume eran animales con una mejor condición fisiológica y mejor adaptados al medio de cultivo. En las 2 pruebas de estrés realizadas, los animales mantenidos a temperaturas altas resultaron ser más sensibles ante condiciones de estrés,

tendencias similares se observan en el *P. adspersus*, el cual presenta una mayor sensibilidad a la vibriosis cuando la temperatura del agua de cultivo sobrepasa los 18°C (Silva *et al.*, 1994).



INSTITUTO TECNOLÓGICO
DE COSTA RICA
MARINA

CONCLUSIONES

- El lenguado *Paralichthys woolmani* se puede considerar una especie eurihalina y euri térmica, ya que tolera un amplio rango de temperatura y salinidad.
- Bajo un régimen de alimentación en exceso, la temperatura ejerce un mayor efecto sobre el crecimiento y la salinidad un efecto secundario. sin embargo ambos parámetros muestran una interacción en la que baja salinidad a una temperatura alta tiene cierto efecto positivo en el crecimiento de los juveniles.
- Animales mantenidos a baja temperatura y salinidad podrían ser más resistentes ante situaciones de estrés.
- Bajo condiciones locales, se obtendrá mejores crecimientos en la época lluviosa donde la salinidad de los estanques de cultivo disminuye y la temperatura aumenta.
- El alto porcentaje de supervivencia sugiere que aunque en ciertos periodos del año el crecimiento se reduciría, la temperatura y la salinidad no son considerados factores limitantes para el engorde del lenguado bajo condiciones normales de la zona costera ecuatoriana.

RECOMENDACIONES

- Sería recomendable determinar la curva de crecimiento/ración alimenticia específica para el *Paralichthys woolmani* bajo las condiciones ambientales presentes en la zona escogida para su cultivo y así trabajar dentro de los niveles de ración óptima y poder determinar el factor de conversión alimenticia de esta especie.
- Sería de gran utilidad para el manejo bajo condiciones de cultivo el conocer el rango de tolerancia y límites letales de temperatura y salinidad de la especie bajo estudio.
- Se recomienda investigar la interacción de los 2 parámetros experimentales con otros parámetros de importancia biológica como es el caso del oxígeno.
- Sería aconsejable verificar los resultados en un sistema expuesto al aire libre (estanques utilizados para el cultivo de camarón o tanques exteriores) en donde los parámetros ambientales, no sean estables, es decir, que existan las fluctuaciones diarias típicas de un sistema exterior de cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ACUACULTURA DEL ECUADOR, 1995. Acuicultura ecuatoriana: un sector para invertir. Cámara Nacional de Acuicultura, 7, 8-10.
- AHLSTROM, E. H., AMOAKA, K., HENSLEY, D. A., MOSER, H. G. & SUMIDAD, B. Y., 1984. Pleuronectiformes: development. Ontogeny and systematics of fishes. Am. Soc. Ichthyo. Herpe. Special Publication, No.1, 640-670.
- ALLEN, G. R., ROBERTSON, D. R., 1994. Fishes of the Tropical Eastern Pacific. University of Hawaii Press. Honolulu, Hawaii, 289 p.
- BARNABE, G., 1990. Aquaculture, Sète, Francia, vol.1, 37- 60.
- BENETTI D. D.; ACOSTA, C. A.; AYALA, J. C., 1995. Cage and pond aquaculture of marine finfish in Ecuador. En: Revista World Aquaculture Society 26(4), 7-13.
- BLACIO, E., 1995. Captura y mantenimiento de reproductores de peces marinos, Reporte anual, Cenaim, Ecuador, 15 p. .
- BRETT, J. R., 1979. Enviromental factors and growth. En: Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J. R., (eds.), 1979. Fish physiology, Academic Press, San Diego, E. E. U. U, Vol. III, 10, 599-675.
- BURGESS, W. E. & AXELROD, H. R., 1984. Fishes of California and Western Mexico. Pacific marine fishes. Book & TFH publications, Inc. Ltd. 2170 p.
- DE SILVA, S. & PERERA M., 1985. Effects of dietary protein level on growth, food conversion and protein use in young Tilapia nilotica at 4 salinities. Transactions of the American Fisheries Society, 114, 584-589.

DHERT, P., LAVENS, P. & SORGELOOS P., 1992. Stress evaluation: a tool for quality control of hatchery-produced shrimp and fish fry. *Aquaculture Europe*, 17 (2), 6-10, 1992.

FAJARDO, M., 1996. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo embrionario y crecimiento larval del lenguado (*Paralichthys woolmani*) en el Ecuador. Tesis Acuicultor, Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador (en revisión).

FAO, 1994. Aquaculture production 1986 - 1992. FAO Fisheries Circular. FAO, Rome, 815 (6), 216 p.

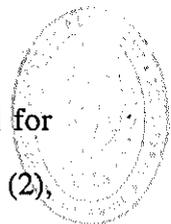
GINSBURG, I., 1952. Flounders of the genus *Paralichthys* and related genera in american waters. *Fish. bulle.* 52: 267-351. En: Larval development of 2 sympatric flounders, *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) and *Paralichthys microps* (Günther, 1881) from the Bay of Coquimbo, Chile. *Fish. Bull., U.S.*, 1992, 90, 607-620

GUARTATANGA, R., 1994. Técnica de cultivo de lenguado (*Paralichthys woolmani*), Cenaim, San Pedro, Ecuador (en prensa).

HONDA, N.; WATANABE, Y.; KIKUCHI, K.; IWATA, N.; TAKEDA S.; UEMOTO, H.; FURUTA, T. & KIYONO M., 1993. High density rearing of japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* with a closed seawater recirculation system equipped with a denitrification unit. *Suisanzoshoku*, 1993 - H5.

LANNAN, J.; SMITHERMAN, O. & TCHOBANOGLORES, G. (eds.), 1986. Principles and practices of pond aquaculture. Oregon State University Press, USA, 141-167.

LIBRO BLANCO DEL CAMARÓN, 1993. Cámara de Productores de Camarón . II edición, Guayaquil, Ecuador, 69 p.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
GUAYAQUIL, ECUADOR

PARKER, R.(ed.). 1994. Aquaculture Science, Delmar Publishers, Albany, USA, 339-388.

SEIKAI, T.; TANANGONAN, J. B. & TANAKA, M., 1985. Temperature influence on larval growth and metamorphosis of the japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in the laboratory. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 52 (6), 977-982

SILVA, A. & FLORES, H., 1989. Consideraciones sobre el desarrollo y crecimiento larval del lenguado (*Paralichthys adspersus* Steindachner, 1987) cultivado en laboratorio. Memorias del Simposio Internacional de los recursos vivos y las pesquerías en el Pacífico Sudeste. Viña del Mar, 9 - 13 mayo, 1988, 629-634.

SILVA, A.; HENRIQUEZ C. & MUNITA C., 1994. Desafío del lenguado: de cultivo experimental pasar a etapa piloto. Fundación Chile. Aqua Noticias Internacionales, 6 (22), 1994, 42-51.

SORGELOOS, P.; LÉGER, P.; LAVENS, P. & TACKAERT, W., 1986. Increased yields of marine fish and shrimp production through application of innovative techniques with *Artemia*. Paper presented at "Colloque Aquaculture et Développement organisé sous l'égide de la Fondation Roi Baudouin a l'Institut de Zoologie de Liege, Belgique", 18 Novembre, 1986, 5 p.

STAEEL, M., 1991. First feeding of Turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae: Methodology and nutritional aspects. Higher Diploma in Aquaculture, Aquaculture Unit, Department of zoology, University college, Cork, Ireland, 42 p.

TAKEUCHI, T.; DEDI, J.; CHIKA, C.; WATANABE, T.; SEIKAI, T.; HOSOYA, K.; & NAKAZOE, J., 1995. The effect of β -Carotene and vitamina A enriched artemia nauplii on the malformation and color abnormality of larval japanese flounder. Fisheries Science, 61 (10), 141-148.

- TOMIYAMA, T.; KURONUMA & HIBIYA, T. (eds.), 1994. Fisheries in Japan, Flatfish, Tokyo, Japón, 197 p.
- TUCKER, J. W., 1987. Snook and Tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. The progressive fish-culturist, vol. 49, 49-57.
- WASIELIESKY W., 1994. Tolerancia do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciaennes, 1839) (Pleuronectiforme-Paralichthyidae) á parámetros físico-químicos. Tesis Master en Ciencias-Oceanografía-Biológica, Fundação Universidade do Rio Grande, RS, Brasil, 102 p.
- YAMAMOTO, T. & AKIYAMA, T., 1995. Effect of dietary moisture level on the growth and feed performances of fingerling Japanese flounder. Suisanzoshoku, 43 (2), 191-197.