

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EFECTO DE DIFERENTES DENSIDADES DE CULTIVO EN EL
CRECIMIENTO Y COMPORTAMIENTO DE JUVENILES
DE LENGUADO *Paralichthys adspersus* (STEINDACHNER, 1867)
BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”**

Presentada por:

ENGLER HOREB PUENTE AQUIJE

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Lima – Perú

2021

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EFECTO DE DIFERENTES DENSIDADES DE CULTIVO EN EL
CRECIMIENTO Y COMPORTAMIENTO DE JUVENILES
DE LENGUADO *Paralichthys adspersus* (STEINDACHNER, 1867)
BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”**

Presentada por:

ENGLER HOREB PUENTE AQUIJE

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Mg. Sc. Diana Zulema Quinteros Carlos
PRESIDENTE

Mg. Sc. Beatriz Elena Angeles Escobar
MIEMBRO

Mg. Sc. Jessie Vargas Cárdenas
MIEMBRO

Dra. Marta Williams León de Castro
ASESORA

M. Sc. Noemí Jackelith Cota Mamani
Co Asesora

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres Juana y Pedro por su apoyo continuo y ánimos infinitos durante el desarrollo de mi tesis, a mi hermana Amarillis por la confianza que siempre me brindó. A mi abuela María por la motivación que en todo momento me hizo llegar para la conclusión de mi tesis.

Las palabras quedan extremadamente cortas para expresar el profundo agradecimiento a la familia tan espectacular que tengo.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora Dra. Marta Williams León por su gran apoyo desde que era estudiante de pregrado y por su acompañamiento durante el desarrollo de mi tesis.

A mi co-asesora M. Sc Noemí Cota Mamani por el apoyo prestado en la elaboración de la presente tesis, por su continua motivación en mi titulación, por enseñarme el manejo de los peces en el laboratorio, procedimientos analíticos y brindarme la confianza para realizar mis actividades experimentales.

A la Ing. Lili Carrera Santos por la oportunidad brindada para realizar mi tesis en las instalaciones del Laboratorio de Cultivo de Peces Marinos.

A los integrantes del Laboratorio de Cultivos de Peces, del Centro de Investigaciones Acuícolas Alexander von Humboldt (CIA), del Instituto del Mar del Perú por permitirme el uso de sus equipos y de manera muy especial a las integrantes del laboratorio M. Sc. Melissa Montes e Ing. Angélica Castro por guiarme en formas de cómo mejorar mi desempeño durante la investigación, por su confianza y amistad.

Al Instituto del mar del Perú por permitirme realizar mis experimentos y compartir gratos momentos con grandiosos investigadores.

A mi familia, empezando por mis padres por ser mi fuente de inspiración, a mi hermana por contagiarme en todo momento sus ánimos, a mi abuela por siempre regalarme consejos hermosos de fortaleza y sabiduría. Y de forma especial muy especial a mis padrinos Cristina y Héctor por todo su apoyo, a sus hijos mis hermanos Aaron e Ian por ser fuente de alegría.

A mi amigo inseparable de la universidad José Antonio quien me acompañó durante el desarrollo de mi tesis.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	2
1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	4
2.2. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT	4
2.3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	4
2.3.1. Juveniles de lenguado en cautividad.....	5
2.4. ALIMENTACIÓN	5
2.5. ESTUDIO ETOLÓGICO	5
2.6. CONDICIONES DE CULTIVO	6
2.7. ESTRÉS EN PECES	6
2.7.1. Agentes causantes de estrés en el cultivo de peces.....	6
2.7.2. Respuestas fisiológicas al estrés	7
2.7.3. Estrés y crecimiento	7
III. METODOLOGÍA	8
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN	8
3.2. CONDICIONES DE CULTIVO EXPERIMENTALES	8
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	8
3.4. CÁLCULO DE LA DENSIDAD DE CULTIVO	9
3.5. RECAMBIO DE AGUA Y LIMPIEZA DE LOS TANQUES	10
3.6. ANÁLISIS DE CALIDAD DE AGUA.....	10

3.6.1.	Análisis de Nitrógeno Amoniacal Total (NAT).....	10
3.6.2.	Análisis de Nitritos y Nitratos.....	10
3.6.3.	Análisis de Dióxido de Carbono.....	11
3.7.	ALIMENTACIÓN.....	11
3.8.	EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO: BIOMETRÍA.....	12
3.8.1.	Muestreo por tecnología de análisis de imágenes.....	13
3.8.2.	Cálculo del factor de condición -K.....	16
3.9.	EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO.....	16
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1.	EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y CALIDAD DEL AGUA.....	20
4.1.1.	Temperatura, pH y Oxígeno.....	20
4.1.2.	Amonio y Amoníaco.....	20
4.1.3.	Nitritos, Nitratos y Dióxido de Carbono.....	22
4.2.	ALIMENTACIÓN.....	25
4.3.	CRECIMIENTO.....	25
4.3.1.	Peso, Longitud, TSA y BSA.....	25
4.3.2.	Relación entre TSA vs Peso y BSA vs Peso.....	28
4.3.3.	Crecimiento Específico (SGR), Relativo (RGR) y Factor de Condición-K.....	30
4.3.4.	Densidad cultivo.....	30
4.4.	COMPORTAMIENTO.....	32
4.5.	SUPERVIVENCIA.....	34
4.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	34
4.6.1.	Crecimiento.....	34
4.6.2.	Comportamiento.....	37
4.7.	DISCUSIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y CALIDAD DEL AGUA.....	38
4.7.1.	Temperatura, pH y oxígeno disuelto.....	38
4.7.2.	Amonio y Amoníaco.....	38
4.7.3.	Análisis de nitritos, nitratos y dióxido de carbono.....	39
4.8.	DISCUSIÓN DE LA ALIMENTACIÓN.....	39

4.9.	DISCUSIÓN DEL CRECIMIENTO.....	40
4.9.1.	Peso, Longitud, TSA y BSA.....	40
4.9.2.	Relación entre TSA vs Peso Y BSA vs Peso.....	40
4.9.3.	Crecimiento Relativo (RGR), Específico (SGR) y Factor de Condición-K.....	41
4.9.4.	Discusión de la densidad de cultivo.....	43
4.10.	DISCUSIÓN DEL COMPORTAMIENTO.....	43
4.11.	DISCUSIÓN DE LA SUPERVIVENCIA.....	44
V.	CONCLUSIONES.....	46
VI.	RECOMENDACIONES.....	47
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	48
VIII.	ANEXOS.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Parámetros de calidad de agua para el cultivo de <i>Paralichthys adspersus</i>	6
Tabla 2: Densidades iniciales de cultivo de juveniles de lenguado <i>Paralichthys adspersus</i> para cada tratamiento.....	9
Tabla 3: Información nutricional del alimento Otohime® EP4.	11
Tabla 4: Conductas registradas en la semana cero por el método Ad libitum.....	17
Tabla 5: Frecuencias de las evaluaciones de calidad de agua, alimentación, crecimiento y comportamiento durante el periodo experimental.....	18
Tabla 6: Datos promedio de Temperatura (°C), pH, Oxígeno Disuelto (mg/L), Amonio (mg/L), Amoníaco (mg/L), NAT (mg/L), Nitritos (mg/L), Nitratos (mg/L) y Dióxido de Carbono (mg/L) por cada tratamiento.....	21
Tabla 7: Rangos deseables de parámetros y concentraciones de compuestos para calidad de agua favorable en condiciones de cultivos acuícolas.....	24
Tabla 8: Datos promedio de la Tasa de Alimentación (AC%) y factor de conversión alimenticia (FCA) para cada tratamiento.	25
Tabla 9: Datos promedio de tasa de crecimiento relativo RGR (%), tasa de crecimiento específico SGR (%/día), factor de condición (K), densidad inicial y densidad final para cada tratamiento.	31
Tabla 10: Porcentajes promedio de las Categorías Conductuales registradas para cada uno de los tratamientos durante el periodo experimental.	32
Tabla 11: Valores de la prueba de Kruskal-Wallis (H) para evaluar diferencias entre los tratamientos en las variables peso, longitud, K, TSA, BSA, RGR, SGR, AC% y FCA.	35
Tabla 12: Diferencias significativas para cada una de las variables biométricas entre los 0, 60 y 90 días (para RGR, SGR y FCA entre 15, 60 y 90 días).....	35
Tabla 13: Valores de la prueba de Kruskal-Wallis (H) para evaluar diferencias de las frecuencias conductuales entre las tres categorías conductuales (Reposo, Nada-Fondo y Nada-Columna).....	37
Tabla 14: Valores de la prueba de Mann-Whitney (U) para evaluar diferencias entre parejas de tratamientos para la categoría conductual Nada-Columna.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Disposición referencial de los tanques de cultivo indicando los tratamientos que pertenecen y sus respectivas cantidades de peces.	9
Figura 2: Fotografía encuadrada en el software ImageJ-NHI.	14
Figura 3: Fotografía procesada en escala de grises en el software ImageJ-NHI.	14
Figura 4: Fotografía ajustada en sombras y contrastes en el software ImageJ-NHI.	15
Figura 5: Fotografía seleccionada para el cálculo de medidas de TSA y BSA, tabla de resultados de las mediciones e imágenes del área de selección.	15
Figura 6: Concentraciones de nitrito y nitrato (mg/L) para cada densidad de cultivo de juveniles de lenguado <i>Paralichthys adspersus</i> desde el inicio hasta el final del periodo experimental.	23
Figura 7: Concentraciones de dióxido de carbono (mg/L) para cada densidad de cultivo desde el inicio hasta el final del periodo experimental.	24
Figura 8: Datos promedio de pesos (g) de lenguado común para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).	26
Figura 9: Datos promedio de longitudes (cm) para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).	26
Figura 10: Datos promedio del área total superficial TSA (cm ²) para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).	27
Figura 11: Datos promedio del área superficial del cuerpo BSA (cm ²) para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).	27
Figura 12: Relación entre el peso de los peces (g) y TSA (cm ²) para cada tratamiento.	28
Figura 13: Relación entre el peso de los peces (g) y BSA (cm ²) para cada tratamiento.	29
Figura 14: Porcentajes promedio de las Categorías Conductuales registradas para cada uno de los tratamientos.	33
Figura 15: Porcentajes promedio de la Categoría Conductual-Nada Columna registradas para cada uno de los tratamientos.	33
Figura 16: Porcentaje de supervivencia de cada tratamiento durante el periodo experimental.	34

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Fuente Ministerio de Producción 2018.....	57
Anexo 2: Fuente Ministerio de Producción 2018.....	57
Anexo 3: Distribución de los tanques de cultivo de los juveniles de <i>Paralichthys</i> adspersus.....	58
Anexo 4: Fórmulas para el cálculo de las concentraciones de nitrógeno amoniacal total se mediante el método descrito por Parsons (1984).	59
Anexo 5: Protocolo utilizado para el análisis del Amonio (NH ₄) ⁺ , método de Bendsechneider y Robinson (1952).	60
Anexo 6: Ficha de evaluación del comportamiento.	61
Anexo 7: Pruebas de Hipótesis Marginales (SC Tipo III).....	62
Anexo 8: Medias de Peso con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).....	63
Anexo 9: Medias de Longitud con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).....	63
Anexo 10: Medias de TSA con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).	64
Anexo 11: Medias de BSA con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).	64
Anexo 12: Medias de RGR con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).	65
Anexo 13: Medias de SGR con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).	65
Anexo 14: Medias de K con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).	66
Anexo 15: Medias de AC% con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).	66
Anexo 16: Medias de FCA con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).	67

RESUMEN

El lenguado *P. adspersus*, endémico de las costas de Perú y Chile, es una especie de elevado valor comercial y con gran potencial en la acuicultura. Los estudios indican la factibilidad de su crianza en ambientes controlados. La evaluación de la densidad poblacional y comportamiento de esta especie bajo condiciones de laboratorio proporcionaría importantes fuentes de información para un adecuado manejo de este recurso hidrobiológico en el medio natural, así como en cautiverio. Se utilizaron 150 juveniles de lenguado de 266 días después de la eclosión los cuales fueron distribuidos en densidades de 5, 10, 15 y 20 individuos por tanque con tres réplicas por tratamiento. Los individuos fueron evaluados biométrica y etológicamente. Los análisis biométricos se realizaron mediante el cálculo de las tasas de crecimiento relativo (RGR) y específico (SGR), factor de condición K, área total superficial (TSA) y área superficial del cuerpo (BSA). Para la evaluación etológica se empleó el método de Scan sampling. Complementariamente se realizaron pruebas de concentraciones de nitrógeno amoniacal total y dióxido de carbono. Se obtuvo que los individuos de tanques con menor densidad de población (inicial 0.88 Kg/m², final 1.76 Kg/m²) tienen tasas de crecimiento más altas (0.77 %/día) que los individuos criados a densidades más altas (inicial 1.75 Kg/m², final 3.20 Kg/m² y 0.67 %/día). Se registraron comportamientos que evidencian estrés a mayores densidades.

Palabras clave: Densidad de cultivo, crecimiento, comportamiento, *Paralichthys adspersus*

ABSTRACT

The sole *Paralichthys adspersus*, endemic of Peruvian and Chilean coasts, is a species with high commercial value and high potential in aquaculture. Studies indicate the feasibility of its breeding in controlled environments. Assessment of population densities and behavior of this species under laboratory conditions can provide important sources of information to be used for an adequate management of this hydrobiological resource in its natural environment as well as in captivity. 150 juvenile specimens 180 days after hatching were used, which were distributed into treatments consisting of 5, 10, 15 and 20 individuals per tank with three replicates per treatment. Individuals were evaluated biometrically and ethologically. The biometric analysis was performed by calculating relative growth (RGR) and specific growth rates (SGR), condition factor K, total surface area (TSA) and body surface area (BSA). For the ethological assessment, scan sampling was used. In addition, tests of total ammonia nitrogen and carbon dioxide results were carried out. It was found out that individuals from tanks with lower population density (initial 0.88 Kg/m², final 1.76 Kg/m²) have higher growth rates (0.77 %/day) than individuals raised at higher densities (initial 1.75 Kg/m², final 3.20 Kg/m² and 0.67 %/day). Behaviors evidencing stress at higher densities were recorded.

Keywords: crop density, growth, behavior, *Paralichthys adspersus*

I. INTRODUCCIÓN

Paraichthys adspersus es un pez plano que se caracteriza por su excelente calidad de carne, alto valor nutricional, elevado valor comercial y viabilidad para su cultivo (Chinchayán et al., 1997). Por ello es considerada una especie de gran potencial acuícola. El incremento de investigaciones sobre su biología y cultivo permitirían un mejor aprovechamiento y manejo de este recurso en el medio natural y con fines de producción.

El lenguado es un pez bentónico y en su desarrollo temprano ocurre un proceso de metamorfosis donde el ojo derecho migra hacia el lado izquierdo mientras ocurre el aplanamiento del lado derecho de su cuerpo, diferenciándose en su cuerpo un lado ocular que es pigmentado y un lado ciego que no es pigmentado (Kong y Castro, 2002).

Ya se van evidenciando los alcances de los trabajos de investigación de este recurso íctico para la acuicultura. A mediados de 1996 se iniciaron en el país los estudios preliminares del cultivo de *P. adspersus* en el Instituto del Mar del Perú y actualmente se siguen realizando investigaciones para desarrollar una metodología óptima para su crianza. En el 2012 se registró por primera vez la producción de una tonelada de lenguado *P. adspersus* (Anexo 1) y para el año 2017 la cosecha de lenguado alcanzó 7 toneladas (Anexo 2) duplicando su producción respecto al año anterior (PRODUCE, 2017), todos estos datos constituyen una opción muy atractiva para el desarrollo del cultivo de esta especie en nuestro país.

La acuicultura es un conjunto de técnicas orientadas al cultivo o crianza de especies acuáticas que abarca su ciclo biológico completo o parcial y se realizan en un medio seleccionado y controlado ya sea en ambientes hídricos naturales o artificiales. Los animales criados son propensos a factores estresantes que desencadenarían una serie de respuestas fisiológicas negativas las que afectarían a su rendimiento y supervivencia. Magnuson (1962) y Grand (1967) mencionan en sus investigaciones que los comportamientos agresivos en el cultivo de peces son evidencias de jerarquías y territorialidad entre los individuos, estos son mecanismos de

competencia por espacio y alimento. Auro y Ocampo (1999) señalan que el tamaño poblacional puede generar competencia entre los individuos y estrés. Uno de estos factores estresantes es la densidad de cultivo/confinamiento (Montero et al., 1999; Binuramesh et al., 2005). La morfología de los peces planos y su comportamiento bentónico hacen que la medición de las densidades de cultivo para estos peces sea en función del área total superficial del cuerpo (TSA) que está posada sobre el fondo del tanque de cultivo (PCA) (Merino, 2004). Un manejo adecuado de las densidades de cultivo de lenguado y un monitoreo continuo de patrones conductuales podrían ser técnicas válidas para controlar y potenciar su crecimiento y supervivencia.

Por lo tanto, la presente tesis tiene como objetivo principal evaluar los efectos en el crecimiento y comportamiento de cuatro densidades de cultivo de juveniles de *P. adspersus* y de esta manera aportar conocimientos que favorezcan la crianza de esta especie en cautividad.

1.1. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La acuicultura sigue siendo una fuente importante de alimento, nutrición e ingresos para cientos de millones de personas en todo el mundo, el sector acuícola proporcionó el 47 por ciento de pescado destinado al consumo humano en el 2016 y viene promoviendo el “Crecimiento Azul”, el cual se centra en la ordenación sostenible y socioeconómica de los recursos acuáticos (FAO, 2018). Dentro de este marco, el lenguado *P. adspersus* vendría a ser una especie de gran importancia para la acuicultura del Perú por ser nativa y tener un alto valor comercial. Esta especie tiene un elevado potencial alimenticio, de investigación y económico. Por lo que se necesita el desarrollo de investigaciones que permitan optimizar su cultivo. Según Silva y Oliva (2010) la falta de más información que permita una mayor producción de juveniles de lenguado vendría a ser una limitante para el desarrollo del cultivo de *P. adspersus*.

En condiciones de cultivo, muchos factores pueden generar estrés en los peces. Uno de estos factores estresantes es la densidad de cultivo/confinamiento (Montero et al., 1999; Binuramesh et al., 2005). El estrés es una serie de respuestas fisiológicas que son colectivamente llamadas respuestas integradas del estrés (Wendelaar, 1997). La disminución del crecimiento, los cambios en el comportamiento y el aumento de la incidencia de enfermedades son ejemplos de estas respuestas y pueden ser detectadas. Existen investigaciones sobre el manejo de densidades de

cultivo en otros peces planos, como el caso de *Solea senegalensis* (Anguís et al., 2014), *P. dentatus* (King et al., 1998) y *P. californicus* (Merino, 2007); sin embargo, este no es el caso para *P. adspersus*. En este sentido, realizar investigaciones de este tipo podría potenciar del cultivo de este pez en el Perú, generando un ingreso económico rentable y aportando a la conservación de esta especie.

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de cuatro densidades de cultivo en el crecimiento y comportamiento de juveniles de lenguado *P. adspersus* bajo condiciones de laboratorio.

1.2.2. Objetivos específicos

- Comparar los parámetros de crecimiento de juveniles de lenguado cultivados a cuatro densidades de siembra.
- Evaluar el comportamiento de juveniles de lenguado y relacionarlas con las densidades de su cultivo.
- Evaluar la supervivencia de los juveniles bajo cuatro densidades de cultivo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La posición taxonómica del lenguado acorde con FISHBASE, es la siguiente:

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

2.2. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT

El lenguado *Paralichthys adpersus* se distribuye desde la localidad de Paita (norte de Perú) hasta el golfo de Arauco (Chile), incluyendo el archipiélago de Juan Fernández (Pequeño, 1989; Siefeld et al., 2003). Habita aguas costeras de fondos arenosos, su desplazamiento hacia aguas más profundas radica en la búsqueda de temperaturas óptimas y abundancia de alimento que garanticen su supervivencia (Silva y Oliva, 2010).

2.3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

P. adpersus presenta cuerpo alto y elíptico, con una línea lateral cercana al borde superior del cuerpo, debajo de la primera aleta dorsal, que se curva abruptamente a la zona central. Cabeza mediana y comprimida, presenta hocico alargado con boca grande y oblicua; mandíbula superior más corta que la mandíbula inferior; los dientes de la mandíbula inferior son más grandes que

los de la mandíbula superior. Aleta dorsal anterior de base larga; aleta dorsal posterior y anal cortas; aleta caudal horquillada, presenta escamas ctenoides en el lado ocular y escamas cicloides en el lado ciego (Kong y Castro, 2002).

2.3.1. Juveniles de lenguado en cautividad

Silva y Oliva (2010) indican el inicio de la fase juvenil del lenguado con la deshabitación de alimento vivo por alimento inerte. Una vez que los peces están adaptados a una dieta inerte, comienza la etapa de pre-engorde cuyo objetivo es alcanzar un lenguado de tamaño entre 10-20 g, para luego iniciar la etapa de engorde hasta el tamaño comercial. La fase de juveniles finaliza cuando los peces alcanzan la talla de madurez sexual. Para el caso de *Paralichthys adspersus* es de 24 cm (Zúñiga, 1988).

2.4. ALIMENTACIÓN

Los lenguados son peces carnívoros que consumen presas pelágicas y bentónicas. Éstas pueden ser peces, crustáceos o moluscos. Las presas que los lenguados cazan pueden variar dependiendo de la localidad donde se encuentre la población y de la abundancia de los organismos (Kong et al., 1995). Samamé y Castañeda (1999) indican que *Sardinops sagax sagax* “sardina” es la principal presa de *P. adspersus* en el norte del Perú, Talledo (1985) reporta que *Scarthichthys gigas* “pez borracho” lo es en Ilo-Perú, Kong et al., (1995) señalan que en la zona norte de Chile consume principalmente peces como *Engraulis ringens* “anchoveta” y ocasionalmente crustáceos bentónicos como *Emerita analoga* “muy muy”. Por la variedad de presas que conforman la dieta de *P. adspersus* se le puede considerar una especie generalista y con gran capacidad de adaptabilidad de nuevas fuentes de alimento.

2.5. ESTUDIO ETOLÓGICO

Para el estudio del comportamiento, Altmann (1974) menciona el método de *Ad libidum* el cual puede emplearse en campo como también en condiciones de laboratorio. Éste consiste en la creación de un inventario de los comportamientos relevantes para el observador. Existen autores que plantearon una serie de comportamientos los que pueden clasificarse en: a) acciones agresivas (Schweinsburg y Sowls, 1972) que mantienen la jerarquía dentro de una población, b) acciones realizadas por el animal dominante o el animal dominado (Bissonette, 1982) y c) descripción total de todas las conductas (Byers y Bekoff, 1981) en la que se indica la frecuencia

de ocurrencia y porcentajes de éstas. Una vez que el inventario conductual está definido se procede a seleccionar un método de toma de datos; siendo Scan Sampling uno de ellos. Para aplicarlo se debe tomar nota de todas las actividades consideradas relevantes por el observador durante un período de tiempo determinado (Abwak, 1998). Altmann (1974) propone al “Scan Sampling” como el método para la evaluación conductual de un grupo social.

2.6. CONDICIONES DE CULTIVO

En cuanto a los parámetros de calidad de agua para el cultivo de lenguado el manual de cultivo de FONDEPES (2015) establece rangos óptimos, Tabla 1.

Tabla 1: Parámetros de calidad de agua para el cultivo de *Paralichthys adspersus*.

Parámetros	Valores
Temperatura	14 - 19°C
Salinidad	34 - 35 ppm
Oxígeno	5 - 8 mg/L
pH	7.5 – 8.5

Nota: Valores obtenidos en el Centro de Acuicultura Morro Sama FONDEPES

2.7. ESTRÉS EN PECES

McEwen (2000) define al estrés como una amenaza a la integridad fisiológica de un individuo que resulta en una respuesta fisiológica o conductual. Los organismos experimentan continuamente condiciones ambientales variables las que pueden generarles estrés. Para garantizar su supervivencia es necesario que éstos se adapten constantemente. Sterling (1988) define el término alostasis como el conjunto de adaptaciones dinámicas en entornos cambiantes que permiten a los individuos llegar a un estado de estabilidad momentáneo. Los mecanismos alostáticos permiten a los organismos responder al estrés, activando el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal, el sistema cardiovascular, el metabolismo y el sistema inmunitario con el objetivo de responder a un estímulo estresor (Pilnik, 2010).

2.7.1. Agentes causantes de estrés en el cultivo de peces

Sánchez-Muros y Gómez-Milán (2001) definieron cuatro agentes estresantes en el cultivo de peces: a) condiciones de cultivo no adecuadas, tanto en las características fisicoquímicas del agua como en el ambiente biológico (densidad y relaciones sociales), b) la calidad del agua

desde el punto de vista de la presencia de contaminantes, c) manejo y manipulación de los animales y d) una alimentación inadecuada.

2.7.2. Respuestas fisiológicas al estrés

En los peces ocurren un conjunto de respuestas secuenciadas las que están reguladas por el sistema nervioso y endocrino (Schreck, 2001). La activación de ambos sistemas produce la liberación de catecolamina y cortisol (hormonas del estrés). Estas respuestas fisiológicas al estrés pueden ser clasificadas en respuestas primarias, secundarias y terciarias (Mazeaud et al., 1997; Wedemeyer et al., 1990). Las respuestas primarias son de naturaleza neuroendocrina y conllevan a la liberación de las hormonas del estrés al sistema circulatorio (Barton, 2002). Las respuestas secundarias surgen como consecuencia de la liberación de catecolamina y cortisol lo que produce alteraciones a nivel circulatorio, respiratorio, en la osmorregulación, en la movilización de sustratos energéticos y secreción de hormonas hipofisiarias y tiroideas (Barton, 2002). Cuando los cambios fisiológicos que ocurren en la respuesta secundaria se mantienen crónicamente surgen las respuestas terciarias, estas afectan negativamente a la reproducción, crecimiento y al estado inmunitario de los peces (Wedemeyer et al., 1990; Wendelaar, 1997; Barton, 2002).

2.7.3. Estrés y crecimiento

Está ampliamente aceptado que el estrés puede reducir el crecimiento de los peces. La respuesta al estrés hace que la energía disponible para el crecimiento se derive casi en su totalidad a la restauración homeostática (Pickering, 1993), resultando eventualmente con la reducción del crecimiento (Barton e Iwama, 1991). El factor de condición (K) es un descriptor de interés en la biología de poblaciones de peces ya que aporta información fundamental sobre estrategias de crecimiento (Cifuentes et al., 2012). El factor de condición (K) expresa, en peces, la relación volumétrica en función del peso. Dicho factor puede indicar el estado nutritivo de los organismos y, en cultivo, es útil para comparar y cuantificar numéricamente la condición o estado en que el pez se encuentra pudiendo asociarse a una valoración de la contextura o estado de delgadez o gordura (Martínez-Millán, 1987). Éste es un parámetro ampliamente utilizado para comparar la condición de poblaciones que habitan en sistemas acuáticos con distintos grados de intervención antrópica (Valencia, 2015).

III. METODOLOGÍA

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Cultivos de Peces, del Centro de Investigaciones Acuícolas Alexander von Humboldt (CIA), del Instituto del Mar del Perú-Chucuito- Callao. El periodo experimental se inició el 7 de diciembre del 2017 y tuvo una duración de 90 días.

3.2. CONDICIONES DE CULTIVO EXPERIMENTALES

Los parámetros del agua en los que se criaron a los peces fueron los siguientes:

- Temperatura: 18 - 19°C
- Oxígeno Disuelto: 7 - 8 mg/L
- Salinidad: 30 - 35 mg/L

Los parámetros de temperatura, porcentaje de saturación y oxígeno disuelto fueron monitoreados diariamente con un multiparámetro antes del recambio de agua.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la investigación se utilizó un lote de 150 juveniles de lenguado *Paralichthys adspersus* de 266 días después de la eclosión, obtenidos en laboratorio, los cuales fueron criados en tanques cilíndricos de fibra de vidrio llenos con 80 litros de agua de mar con una base de 70 cm de diámetro (Anexo 3), cada tanque contó con un sistema aireación conformado por mangueras, llaves y piedras difusoras. La distribución de los peces fue de 5, 10, 15 y 20 individuos por tanque con peso promedio de 33.34 g con tres réplicas por cada tratamiento distribuidas aleatoriamente (Figura 1), las densidades de cultivo iniciales están en la Tabla 1. El diseño experimental aplicado fue un diseño completamente al azar (DCA) donde las densidades de cultivo representaron a los tratamientos, existiendo 3 réplicas por cada uno.

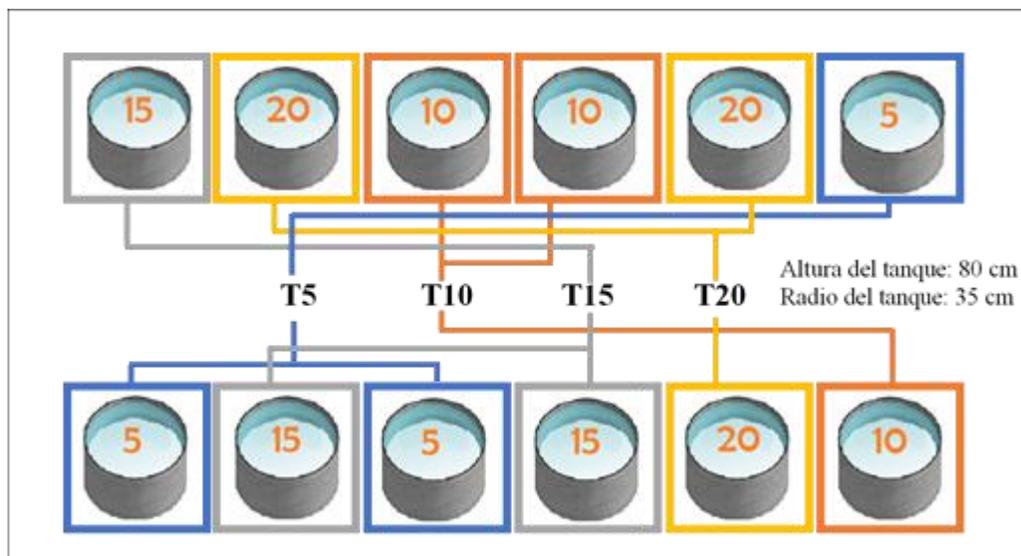


Figura 1: Disposición referencial de los tanques de cultivo indicando los tratamientos que pertenecen y sus respectivas cantidades de peces.

3.4. CÁLCULO DE LA DENSIDAD DE CULTIVO

Se registró la densidad de cultivo inicial expresada en la masa de peces en Kg por el área de la base del tanque en m². También se registró la proporción porcentual del área total ventral de los peces con el área del tanque (PCA) descrito por Bjornsson, (1994). Ambos métodos son válidos para el cálculo de la densidad de cultivo en peces planos.

$$PCA = [\sum TSA (m^2) / \text{Área del Fondo del Tanque (m}^2)] \times 100\%$$

TSA: Área Total Superficial

Tabla 2: Densidades iniciales de cultivo de juveniles de lenguado *Paralichthys adspersus* para cada tratamiento.

Tratamiento	Número de Individuos	Densidad (kg/m ²)	Densidad (PCA)
T5	5	0.42	7.41%
T10	10	0.88	14.90%
T15	15	1.28	22.13%
T20	20	1.75	29.91%

Nota: PCA=Proporción porcentual del área total ventral de los peces con el área del tanque.

3.5. RECAMBIO DE AGUA Y LIMPIEZA DE LOS TANQUES

El recambio del agua de mar fue del cien por ciento diariamente, debido a que el sistema de cultivo fue estático y no un sistema de recirculación en acuicultura (RAS por sus siglas en inglés), este se realizó diariamente de 8:00 a 9:30 am. Esta actividad se ejecutó simultáneamente con la limpieza de los tanques. El procedimiento de limpieza de los tanques fue el siguiente: a) sifonear con una manguera la materia orgánica del fondo del tanque, b) abrir una llave de entrada de agua de mar filtrada (material filtrante de grava de cuarzo con medidas de 1/2", 1/4", 1/8" y 3/16" el material contenido en cada filtro fue de 300 kg), para llenar el tanque, c) mantener el llenado del tanque con agua de mar filtrada y el sifoneo de salida de agua de mar desechable, d) limpiar cuidadosamente las paredes y fondo del tanque mientras se mantiene un flujo continuo de entrada y salida de agua con los peces dentro del tanque, e) cuando el agua sea transparente detener la entrada y salida del agua.

3.6. ANÁLISIS DE CALIDAD DE AGUA

3.6.1. Análisis de Nitrógeno Amoniacal Total (NAT)

Para calcular las concentraciones de nitrógeno amoniacal total se empleó el método descrito por Parsons (1984) (Anexo 4). Para el Amonio (NH_4^+) este método se basa en la oxidación del amonio a nitrito por la adición de hipoclorito en medio alcalino, luego las concentraciones de nitrito se calculan con el método de Bendsechneider y Robinson (1952) (Anexo 5), la prueba finaliza en la lectura espectrofotométrica de las muestras trabajadas a una longitud de onda de 640 nm. Se empleó las ecuaciones aportadas por Bower y Bidwell (1978) para calcular el Porcentaje de Amoníaco (%ANI) en el medio acuoso, a partir de este valor se obtuvo la concentración de Amoníaco [NH_3], la suma de las concentraciones de amonio y amoníaco conformaron el Nitrógeno Amoniacal Total (NAT). Este análisis se realizó cada quince días, tomándose una muestra de agua de mar por cada tratamiento.

3.6.2. Análisis de Nitritos y Nitratos

Para la determinación de las concentraciones de nitritos y nitratos se empleó los test colorimétricos LaMotte Company®, Nitrite Nitrogen Octa-Slide 2 Code 3352-01 y Nitrate Kit Code 3319 respectivamente. La toma de muestras fue una vez por semana y se realizó a las 08:00 horas sin recambio de agua, se extrajo 200 ml de agua en un beaker de 250 ml, se utilizó

pipeta, tubos de ensayo y gradilla para extraer una alícuota de 2.5 ml para el análisis de Nitritos y en otro tubo se colocó una alícuota de 2.5 ml para el análisis de Nitratos, se empleó el kit respectivo para cada tubo de ensayo, se registró en fichas los valores obtenidos, este conjunto de pasos se realizó una vez por cada tratamiento.

3.6.3. Análisis de Dióxido de Carbono

Para la determinación de las concentraciones de dióxido de carbono se empleó el test colorimétrico LaMotte Company®, Carbon Dioxide Code 7297-DR-01. Se realizó el mismo día que los análisis de Nitritos y Nitratos, con una pipeta se extrajo una alícuota de 20 ml de la muestra de agua tomada anteriormente y se colocó en un frasco de 50 ml, se empleó el kit Carbon Dioxide, se anota el valor obtenido, este conjunto de pasos se realizó una vez por cada tratamiento. Con la intención de monitorear la calidad de agua a mayor detalle y de esta manera detectar posibles alteraciones.

3.7. ALIMENTACIÓN

Los juveniles fueron alimentados con pellets de 4.1 mm de Otohime® EP4 (Japón). Se inició a una tasa de 2 por ciento de la biomasa total de cada tanque (a las 9:30, 11:30, 13:30 y 16:00 horas), conforme transcurrieron los días el alimento se suministró *ad libitum*, y los peces se alimentaron hasta mostrar signos de saciedad. La Tabla 3 muestra la información nutricional del alimento utilizado en el experimento.

Tabla 3: Información nutricional del alimento Otohime® EP4.

Humedad	8.0 %
Proteína cruda	62.0 %
Grasa cruda	9.0 %
Fibra cruda	1.0 %
Ceniza cruda	17.0 %
Calcio	2.3 %
Fósforo	1.9 %

Se registró la tasa de alimentación (AC%) y el factor de conversión alimenticia (FCA) descrito por Árnason et al. (2009).

$$AC\% = [AA (g) - ANC (g)] \times 100 / B (g)$$

AA: Alimento administrado

ANC: Alimento no consumido

B: Biomasa

$$FCA = \text{Alimento suministrado (g)} / \text{Incremento de Peso (g)}$$

3.8. EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO: BIOMETRÍA

La biometría es una técnica que consiste en tomar medidas y observaciones de los cambios morfológicos, metabólicos y reproductivos de los organismos (Rodríguez, 1987). Para la presente investigación, se monitoreó medidas morfológicas durante la etapa experimental. Los muestreos biométricos se realizaron quincenalmente, en los cuales se monitoreó su crecimiento en peso y longitud. Todos los individuos fueron muestreados. Se trasladaron los individuos de cada tanque a una batea y luego se procedió a la medición biométrica. Para ello se colocó a los peces, uno por uno, en una bandeja con un material absorbente para retirar el exceso de agua y así evitar errores en el pesado. Posteriormente, con la utilización de una balanza digital de dos dígitos se obtuvo los pesos en gramos y con un ictiómetro se midió la longitud total en cm, a partir del extremo más sobresaliente de la boca hasta el radio de mayor tamaño de la aleta caudal. Este procedimiento se realizó secuencialmente por cada tanque. Todas las mediciones se anotaron en una ficha de muestreo que se diferenció por cada tratamiento y sus respectivas repeticiones. Se calculó las tasas de crecimiento relativo (RGR) y específico (SGR) de todos los tratamientos, descrito por Hopkins (1992).

$$\boxed{\text{RGR (\%BW}_i) = [\text{BW}_f - \text{BW}_i] \times 100 / \text{BW}_i}$$

BW_i: Peso total inicial en gramos

BW_f: Peso total final en gramos

$$\boxed{\text{SGR (\%BW}_i/\text{día}) = [\ln(\text{BW}_f/\text{BW}_i) \times 100] / \text{T}_f - \text{T}_i}$$

T_i: Tiempo inicial en días

T_f: Tiempo final en días

3.8.1. Muestreo por tecnología de análisis de imágenes

Se empleó este método para el cálculo del Área Total Superficial (TSA) y del Área Superficial del Cuerpo (BSA) (Merino, 2004), que permiten estimar del incremento de biomasa en peces planos. Para esto se utilizó una cámara compacta Sony Cyber-shot W690 10x y se procesaron las imágenes con el software libre ImageJ-NHI. Se tomaron fotos de todos los individuos, es decir que, cuando se realizaron los muestreos biométricos se fue minucioso con la correspondencia de la medida de longitud del pez y secuencia fotográfica. Para el análisis de imágenes, el primer paso fue encuadrar la imagen y establecer una distancia de referencia, que fue la longitud del pez obtenida en el muestreo (Figura 2). Se procesó la fotografía pasándola a escala de grises (Figura 3) y luego se ajustó sombras y contrastes para tener una imagen negra del individuo fotografiado (Figura 4). Finalmente, con la herramienta *Wand (tracin) Tool* se seleccionó la imagen para luego aplicar la medición (Ctrl + Mayús) así se obtuvo el cálculo de TSA. Para seleccionar áreas determinadas para la medición de BSA se cortó la aleta dorsal, ventral y caudal con la herramienta *Paintbrush Tool* y luego con la herramienta *Wand (tracin) Tool* se seleccionó la imagen para luego aplicar la medición (Ctrl + Mayús) (Figura 5). Los resultados de las medidas de TSA y BSA se guardaron automáticamente en el mismo software en tablas las cuales se exportaron a una matriz Excel.

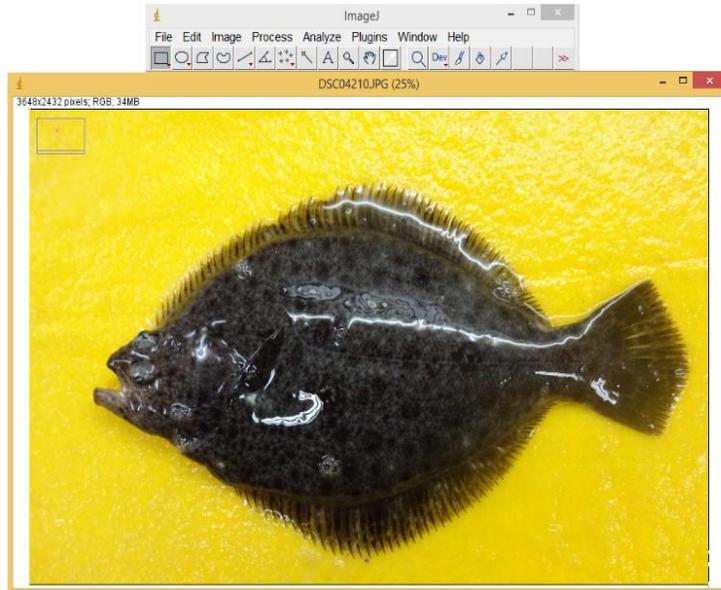


Figura 2: Fotografía encuadrada en el software ImageJ-NHI.

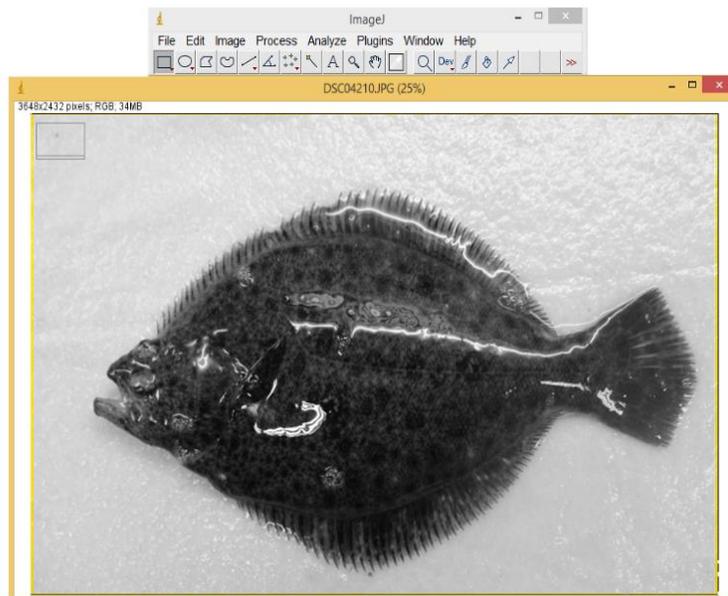


Figura 3: Fotografía procesada en escala de grises en el software ImageJ-NHI.

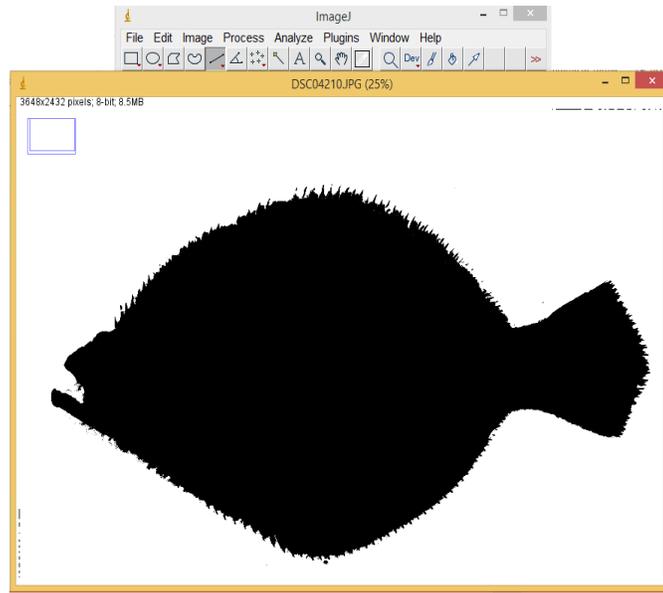


Figura 4: Fotografía ajustada en sombras y contrastes en el software ImageJ-NHI.

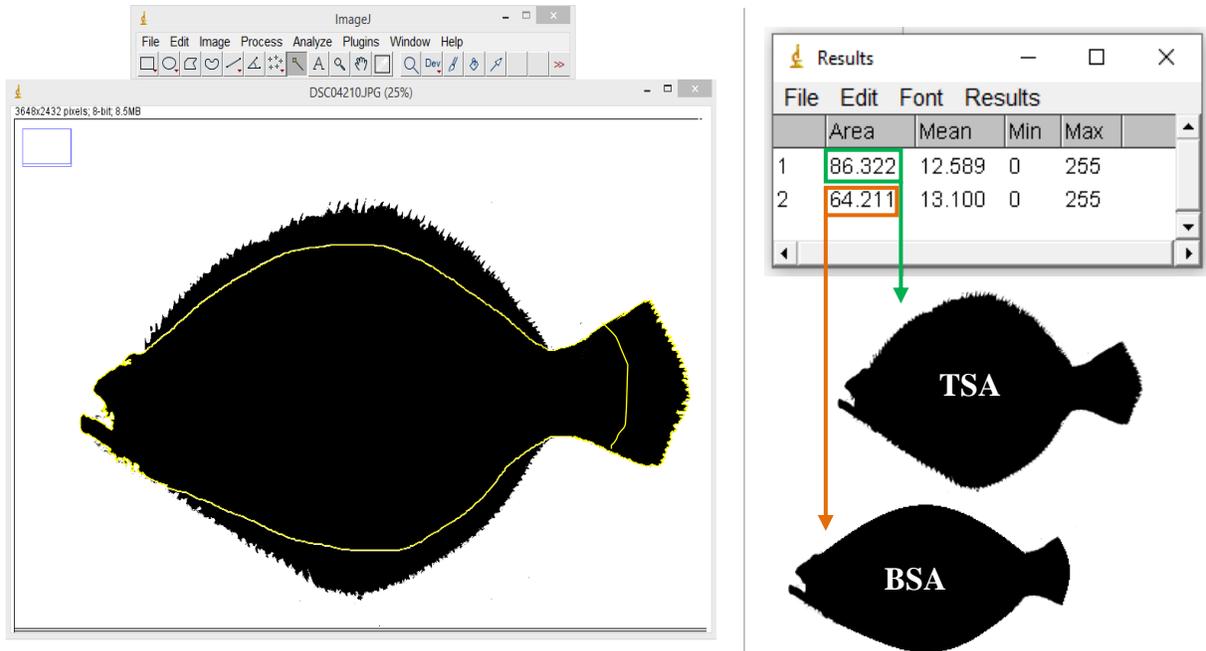


Figura 5: Fotografía seleccionada para el cálculo de medidas de TSA y BSA (imagen izquierda), tabla de resultados de las mediciones e imágenes del área de selección (imagen de la derecha).

3.8.2. Cálculo del factor de condición -K

Para el cálculo del factor de condición -K- (Innis, 1990) se emplearon las medidas de peso y longitud obtenidas en los respectivos muestreos.

$$K = W \text{ (g)} / TL^3 \text{ (cm}^3\text{)} \times 100$$

3.9. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO

Se empleó el muestreo *Ad libitum* para registrar las interacciones sociales de diez peces pertenecientes al mismo lote de juveniles de lenguado pero que no fueron seleccionados en el grupo experimental. Esto se realizó una semana antes (semana cero) del inicio del experimento. Se integraron los inventarios de patrones conductuales planteados por Schweinsburg y SOWLS (1972), Byers y Bekoff (1981) y Bissonette (1982) para la realización del listado y definición de patrones conductuales de los lenguados en experimentación (Tabla 4). Se evaluó una réplica de cada densidad (T5, T10, T15 y T20) por semana durante noventa días mediante el método Scan Sampling. La duración del muestreo por cada tanque fue de tres horas divididas en 2 tiempos (10:00 y 14:00 horas) y se tomó registros en intervalos de dos minutos, sumando un total de 30 horas de muestreo por tratamiento (se realizaron 10 muestreos por cada tratamiento). Los muestreos se realizaron a las 10:00 y 14:00 horas, el procedimiento consistió en la observación del tanque seleccionado y cada 2 minutos, se registró en una ficha (Anexo 6) las conductas de los individuos en ese instante, teniendo un total de 90 registros por muestreo (45 registros en cada tiempo de evaluación). Al final de cada muestreo se realizó la sumatoria de cada conducta registrada durante el tiempo de evaluación para luego reagruparlas en 3 nuevas Categorías Conductuales: a) Reposo, b) Nada-Fondo y c) Nada-Columna. La categoría Reposo incluyó todos los registros conductuales del tipo “Quieto” (Q). La categoría Nada-Fondo incluyó los registros conductuales siguientes: “Acomodarse pasivamente” (PA), “Acomodarse predominantemente” (DA), “Persecución por alimento” (AA), “Persecución común” (AC), “Come” (C), “Gira sobre su eje” (G) y “Nada sobre una superficie” (NF). La categoría Nada-Columna incluyó los registros conductuales “Nada libremente” (NL) y “Salta fuera del agua” (S). Se agruparon los registros conductuales de esta manera para calcular finalmente el porcentaje de cada categoría conductual para el tanque en evaluación.

Tabla 4: Conductas registradas en la semana cero por el método Ad libitum.

Categoría Conductual	Nombre	Símbolo	Descripción	Función
Reposo	Quieto	Q	Se encuentra posado sobre alguna superficie del tanque u otro individuo únicamente realizando movimientos oculares, operculares o de aletas, sin desplazamiento.	Estático
Nada Fondo	Acomodarse pasivamente	PA	Mueve las aletas y el cuerpo rápidamente para posicionarse o para evitar que otro individuo se pose encima.	Acomoda
	Acomodarse predominantemente	DA	Mueve las aletas y el cuerpo rápidamente posándose o empujando a otro individuo.	Acomoda
	Persecución por alimento	AA	Persecución de un individuo dominante sobre un subordinado debido a la presencia de alimento, puede ir acompañado de mordidas.	Ataca
	Persecución común	AC	Persecución de un individuo dominante sobre un subordinado, sin presencia de alimento, puede ir acompañado de mordidas.	Ataca
	Come	C	Come el alimento de un bocado intempestivo.	Alimentarse
	Gira sobre su eje	G	Gira total o parcialmente el cuerpo sobre su mismo eje.	Girar
	Nada pegado sobre una superficie	NF	Nada con el lado no oculado en contacto con alguna superficie del tanque o sobre otro individuo.	Nadar
Nada Columna	Nada libremente	NL	Nada en la columna de agua sin que el lado no oculado esté en contacto con alguna superficie del tanque.	Nadar
	Salta fuera del agua	S	Se impulsa y todo su cuerpo o una parte de este queda fuera del agua.	Nadar

Las frecuencias de todas las evaluaciones mencionadas anteriormente se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5: Frecuencias de las evaluaciones de calidad de agua, alimentación, crecimiento y comportamiento durante el periodo experimental.

Evaluación	Actividad	Frecuencia
Calidad del Agua	Análisis de concentraciones de NAT, Nitritos, Nitratos y CO ₂	Muestreo cada 15 días
Alimentación	Cálculo de AC% y FCA	Diariamente
Crecimiento	Medición de Peso, Longitud, RGR, SGR, TSA, BSA, K	Muestreo cada 15 días
Comportamiento	Método Scan Sampling	Semanalmente (una réplica de cada tratamiento)

Nota: NAT=Nitrógeno Amoniacal Total, AC%=Tasa de alimentación, FCA=Factor de conversión alimenticia, RGR=Tasa de crecimiento relativo, SGR=Tasa de crecimiento específico, TSA=Área total superficial, BSA=Área superficial del cuerpo, K=Factor de condición.

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó el software INFOSTAT 2018 para el procesamiento estadísticos de los datos.

3.10.1. Análisis del crecimiento

En base a los valores obtenidos según la metodología descrita, se buscó determinar el efecto de diferentes densidades de cultivo sobre el crecimiento, para esto se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Se empleó esta prueba no paramétrica ya que los datos no cumplieron los supuestos de normalidad. Posteriormente, se realizaron modelos lineales generales y mixtos para analizar la variación de las diversas variables respuesta en torno a 3 tiempos durante el transcurso de la prueba experimental (0, 60 y 90 días) para cada uno de los tratamientos. Para esto se consideró la heterogeneidad de varianza durante el período experimental (Di Rienzo, Macchiaveli, & Casanoves, 2017), y de esta manera analizar las variables respuesta en función al tiempo transcurrido. Luego se seleccionó el modelo más apropiado utilizando los valores del criterio de

Akaike (AIC), Schwarz (BIC) y la prueba de máxima verosimilitud (LRT). Para analizar la normalidad de los errores se usó la prueba de Shapiro-Francia (Shapiro & Francia, 1972).

3.10.2. Análisis del comportamiento

En base a los valores obtenidos del estudio etológico, se buscó diferencias entre las frecuencias conductuales de las densidades de cultivo, para esto se realizó la prueba de Kruskal-Wallis. Posteriormente para la comparación en parejas de los cuatro tratamientos se empleó la prueba de Mann-Whitney.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y CALIDAD DEL AGUA

Los datos promedio de temperatura, pH, oxígeno disuelto, amonio, amoníaco, nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos, nitratos y dióxido de carbono, por cada tratamiento se presentan en la Tabla 6.

4.1.1. Temperatura, pH y Oxígeno

La temperatura y el pH del agua se mantuvieron estables para los cuatro tratamientos durante todo el periodo experimental y los promedios de estos fueron valores cercanos entre sí. La concentración del oxígeno en el agua fue mayor para los tratamientos con menor densidad (T5 y T10). Se evidencia una relación inversamente proporcional entre la concentración de oxígeno disuelto y la densidad de los tratamientos (Tabla 6).

4.1.2. Amonio y Amoníaco

Las mayores concentraciones de amonio y amoníaco pertenecieron a los tratamientos de mayor densidad (T15 y T20), evidenciándose una relación directamente proporcional entre la concentración de estos compuestos nitrogenados y la densidad de los tratamientos (Tabla 6).

Tabla 6: Datos promedio de Temperatura (°C), pH, Oxígeno Disuelto (mg/L), Amonio (mg/L), Amoníaco (mg/L), NAT (mg/L), Nitritos (mg/L), Nitratos (mg/L) y Dióxido de Carbono (mg/L) por cada tratamiento.

Tratamiento	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno Disuelto (mg/L)	Amonio (mg/L)	Amoníaco (mg/L)	NAT (mg/L)	Nitritos (mg/L)	Nitratos (mg/L)	CO ₂ (mg/L)
T5	18.70 ± 0.04	8.60 ± 0.03	7.45 ± 0.03	0.01 ± 0.005	0.01 ± 0.003	0.02	0.08 ± 0.01	0.84 ± 0.2	6.27 ± 0.4
T10	18.77 ± 0.04	8.63 ± 0.03	7.38 ± 0.03	0.03 ± 0.006	0.03 ± 0.004	0.06	0.19 ± 0.05	1.57 ± 0.3	8.45 ± 0.4
T15	18.64 ± 0.04	8.62 ± 0.03	7.35 ± 0.03	0.04 ± 0.007	0.04 ± 0.005	0.08	0.35 ± 0.08	3.14 ± 0.8	10.91 ± 0.5
T20	18.77 ± 0.04	8.63 ± 0.03	7.25 ± 0.03	0.06 ± 0.006	0.04 ± 0.008	0.10	0.36 ± 0.09	3.59 ± 0.9	13.45 ± 0.5

Nota: NAT=Nitrógeno Amoniacal Total.

4.1.3. Nitritos, Nitratos y Dióxido de Carbono

La concentración de nitritos en el tratamiento T5 osciló entre 0.05 y 0.10 mg/L. En la mayor parte del experimento, se registró un valor máximo de 0.2 mg/L en el último análisis de calidad de agua. Para el tratamiento T10 la concentración inicial fue de 0.05 mg/L y a partir del día 50 esta fue incrementándose alcanzando una concentración final máxima de 0.4 mg/L. En el tratamiento T15 inicialmente la concentración de nitritos fue de 0.05 mg/L y a medida fueron transcurriendo los días esta fue en aumento llegando alcanzar una concentración máxima de 0.8 mg/L, caso similar ocurrió con el tratamiento T20 (Figura 6). La concentración de nitratos en el tratamiento T5 osciló entre 0.25 y 1 mg/L en la mayor parte del experimento, se registró un valor máximo de 2 mg/L en el último análisis de calidad de agua. En el tratamiento T10 la concentración mínima fue de 0.25 mg/L y 4 mg/L fue la máxima. Para el tratamiento T15 se registró una concentración mínima de 0.5 mg/L la cuál aumentó considerablemente a partir del día 50, la concentración máxima fue de 8 mg/L. En el tratamiento T20 la concentración de nitratos inicialmente se mantuvo en 1 mg/L, a partir del día 42 esta fue incrementándose y se registró una concentración máxima de 8 mg/L cerca al final del experimento, Figura 6. La concentración de dióxido de carbono durante el periodo experimental describió una curva similar para los cuatro tratamientos, las concentraciones máximas se registraron entre los días 28 y 42. A partir del día 50 estas disminuyeron sin embargo las concentraciones finales del experimento (día 90) fueron mayores que las iniciales (día 0), Figura 7. Los promedios de todos estos datos pueden verse en la Tabla 6.

A continuación, se presentan las Figuras 6 y 7 que muestran la variación de las concentraciones para nitritos, nitratos y dióxido de carbono. Pruebas que se realizaron mediante kits colorimétricos.

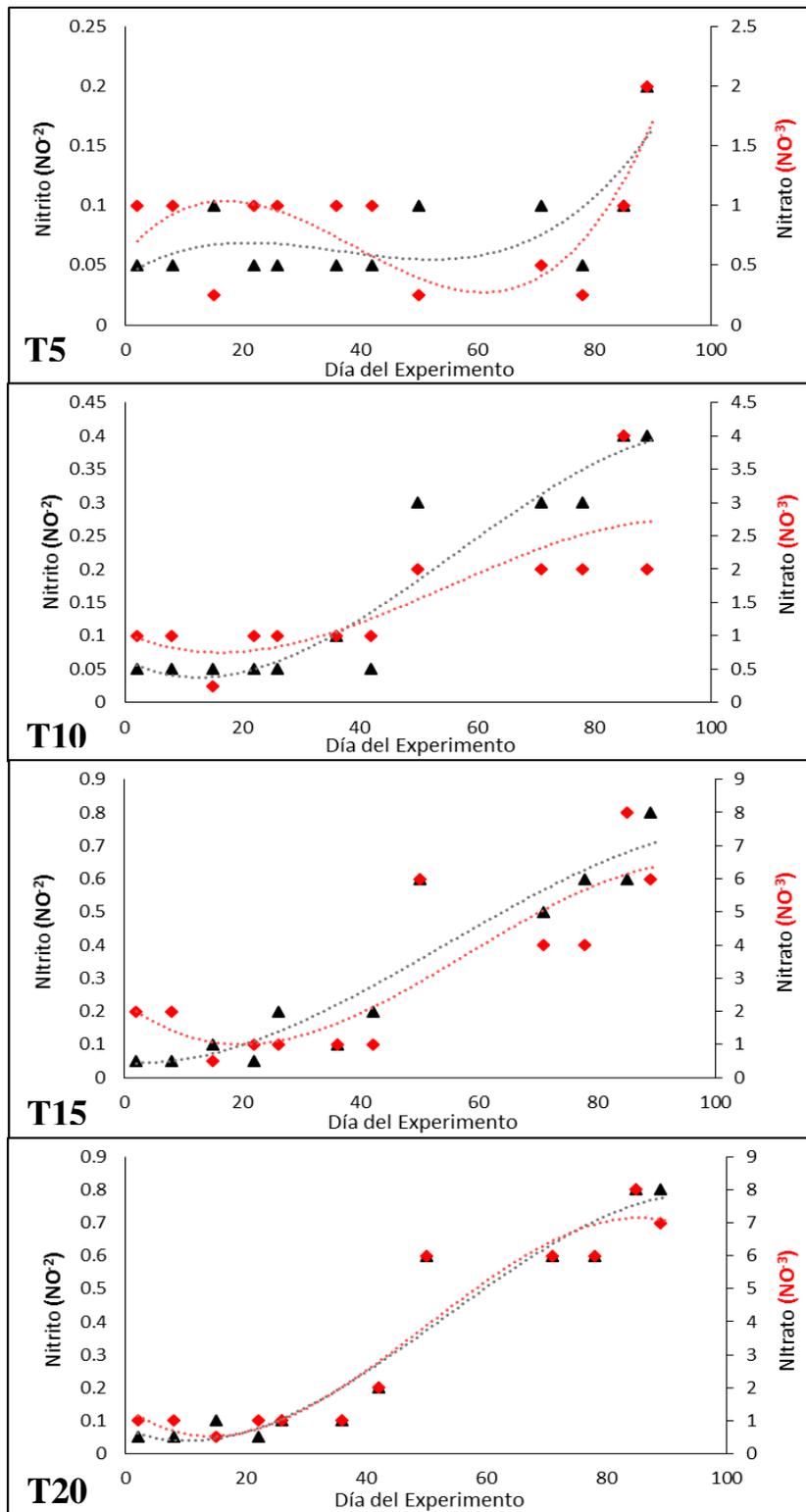


Figura 6: Concentraciones de nitrito y nitrato (mg/L) para cada densidad de cultivo de juveniles de lenguado *Paralichthys adspersus* desde el inicio hasta el final del periodo experimental.

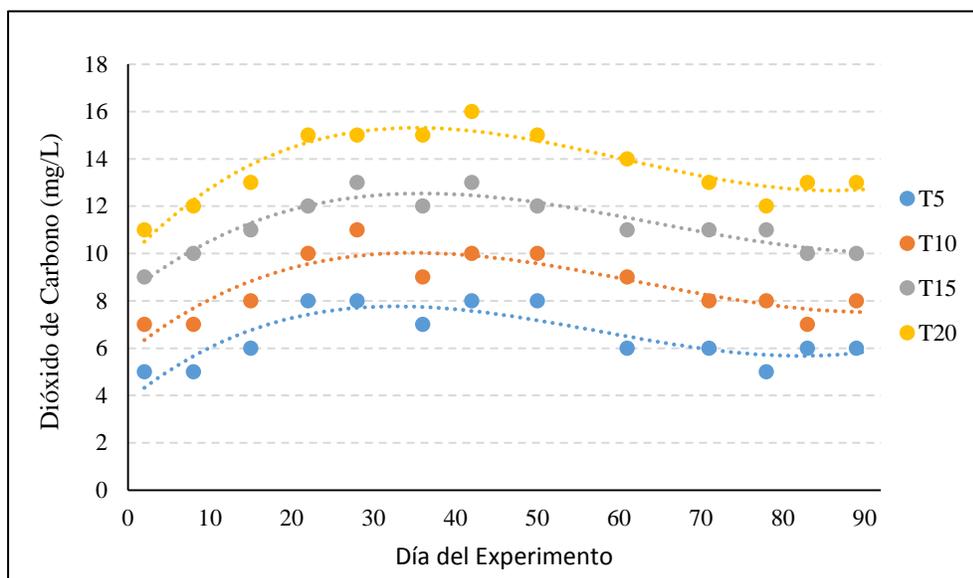


Figura 7: Concentraciones de dióxido de carbono (mg/L) para cada densidad de cultivo desde el inicio hasta el final del periodo experimental.

Los valores obtenidos para la calidad del agua de los tratamientos serán comparados más adelante con los rangos deseables en cultivos acuícolas obtenidos en investigaciones previas, Tabla 7.

Tabla 7: Rangos deseables de parámetros y concentraciones de compuestos para calidad de agua favorable en condiciones de cultivos acuícolas.

Parámetro	Rangos Óptimos y Niveles Óptimos	Autores
pH	6.5 - 9	Wurts y Durborow (1992)
OD	5 mg/L ▲	Mallya (2007)
Amonio	0 - 2 mg/L	Stone y Thomforde (2004)
Amoníaco	0.4 mg/L ▼	Stone y Thomforde (2004)
NAT	1 mg/L ▼	Timmons, et al (2002) y Boyd (1990)
Nitritos	0 - 1 mg/L	Stone y Thomforde (2004)
Nitratos	0 - 40 mg/L	Bautista y Ruiz (2011)
CO ₂	30 mg/L ▼	Boyd y Tucker (1998)

Nota: ▲=Indica que la concentración óptima debe ser superior al valor presentado, ▼=Indica que la concentración óptima debe ser inferior al valor presentado.

4.2. ALIMENTACIÓN

Se inició con una tasa de 2 por ciento, pero conforme avanzó el experimento se fue disminuyendo la tasa de alimentación, debido al desperdicio de alimento suministrado. Por lo tanto, se llegó a un promedio en la tasa de alimentación por tratamiento mostrado en la Tabla 8. Dicha tabla muestra el factor de conversión por tratamiento. El tratamiento de mayor tasa de alimentación (AC%) fue T5 (1.34) y el menor valor perteneció a T20 (1.13). El tratamiento de menor factor de conversión alimenticia (FCA) fue T15 (1.25) y el mayor valor perteneció a T5 (1.36).

Tabla 8: Datos promedio de la Tasa de Alimentación (AC%) y factor de conversión alimenticia (FCA) para cada tratamiento.

	Tratamiento			
	T5	T10	T15	T20
AC%	1.34 ± 0.07	1.22 ± 0.06	1.15 ± 0.05	1.13 ± 0.05
FCA	1.36	1.27	1.25	1.32

4.3. CRECIMIENTO

4.3.1. Peso, Longitud, TSA y BSA

Los tratamientos T5 y T10 registraron los promedios de peso (g) mayores hasta el día 45 y de longitud (cm) hasta el día 30. Posteriormente y hasta el final del experimento el tratamiento T10 fue el que registró los valores máximos de peso y longitud mientras que T5 equiparó sus valores con los tratamientos T15 y T20, Figura 8 y 9. Los valores del área total superficial (TSA) y del área superficial del cuerpo (BSA) fueron medidas procesadas por la tecnología de análisis de imágenes. En los tratamientos T5 y T10 se mantuvieron siendo las mayores hasta el día 60. Posteriormente fue el tratamiento T10 quien registró los valores máximos de TSA y BSA mientras que el tratamiento T5 equiparó sus valores con los dos tratamientos restantes, Figura 10 y 11.

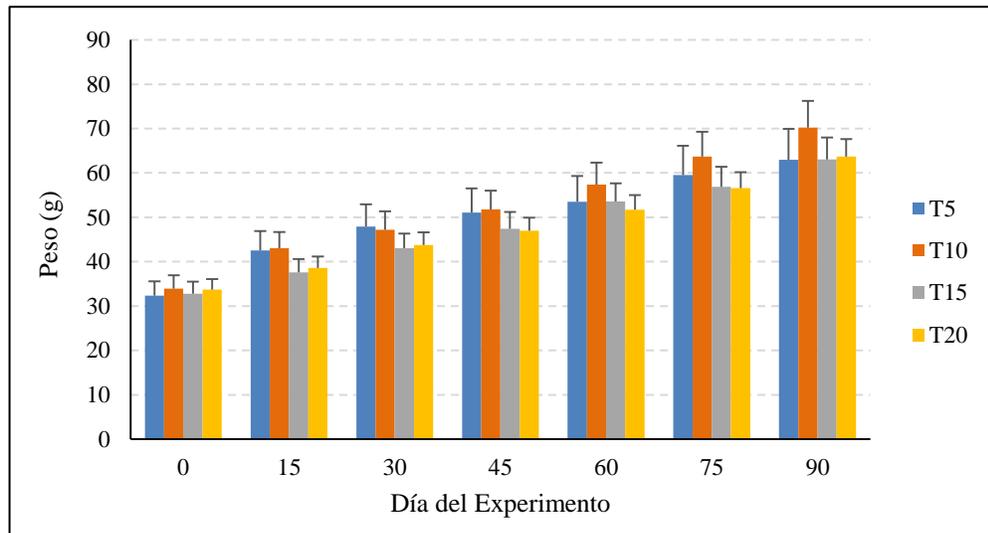


Figura 8: Datos promedio de pesos (g) de lenguado común para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).

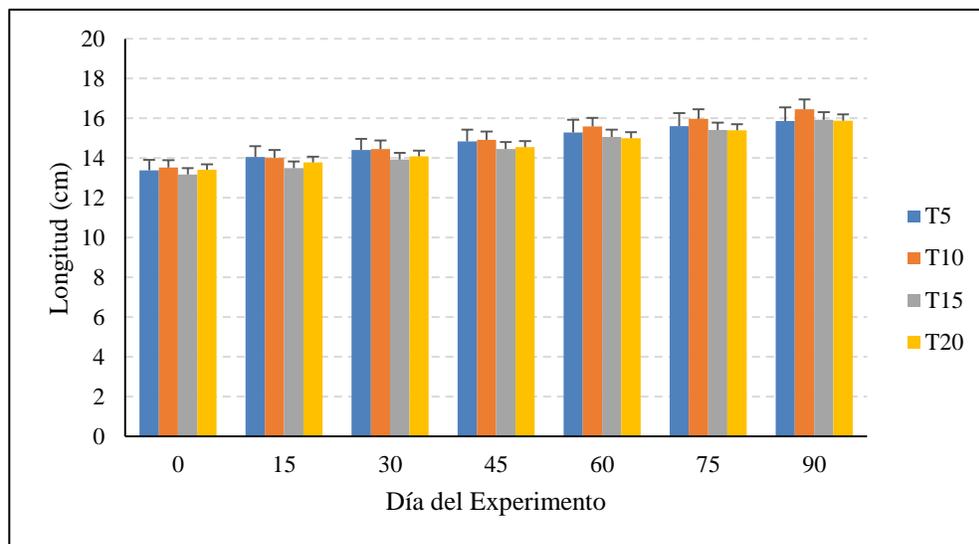


Figura 9: Datos promedio de longitudes (cm) para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).

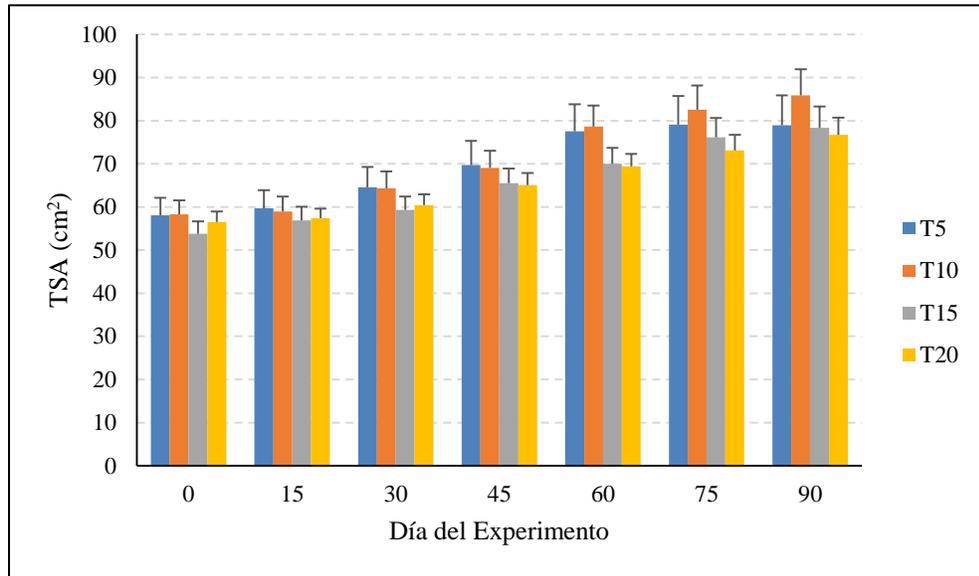


Figura 10: Datos promedio del área total superficial TSA (cm²) para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).

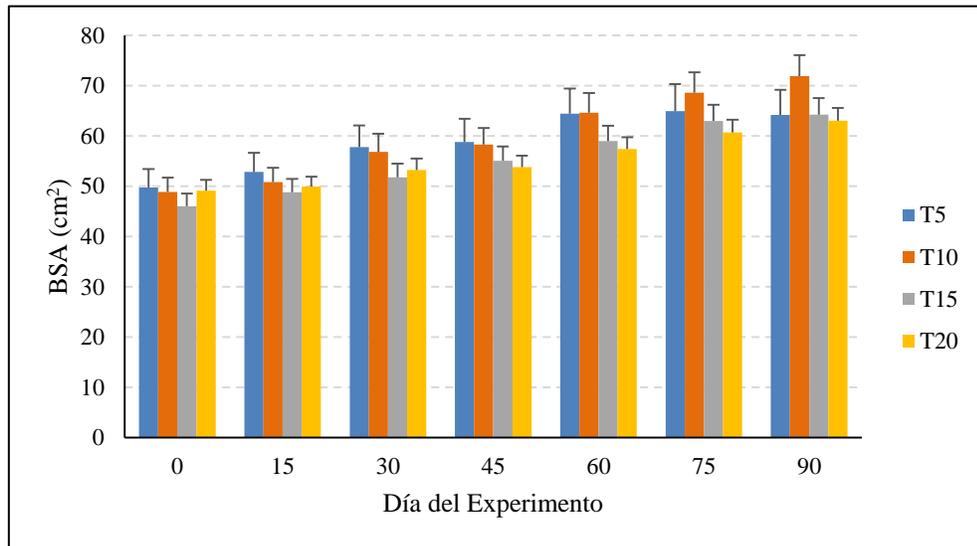


Figura 11: Datos promedio del área superficial del cuerpo BSA (cm²) para cada densidad de cultivo durante el periodo experimental (90 días).

4.3.2. Relación entre TSA vs Peso y BSA vs Peso

Se realizó la dispersión del peso (eje “X”) con el TSA (eje “Y”) de todos los valores biométricos de cada tratamiento y se aplicó una línea de tendencia de tipo exponencial. Siendo el tratamiento T15 el que presentó el mayor valor de R^2 (0.966) y el tratamiento T10 presentó el menor valor de R^2 (0.9257) (Figura 12). De la misma manera se realizó la dispersión del peso (eje “x”) con el BSA (eje “y”). Siendo el tratamiento T15 el que presentó el mayor valor de R^2 (0.9621) y el tratamiento T10 presentó el menor valor de R^2 (0.9136) (Figura 13).

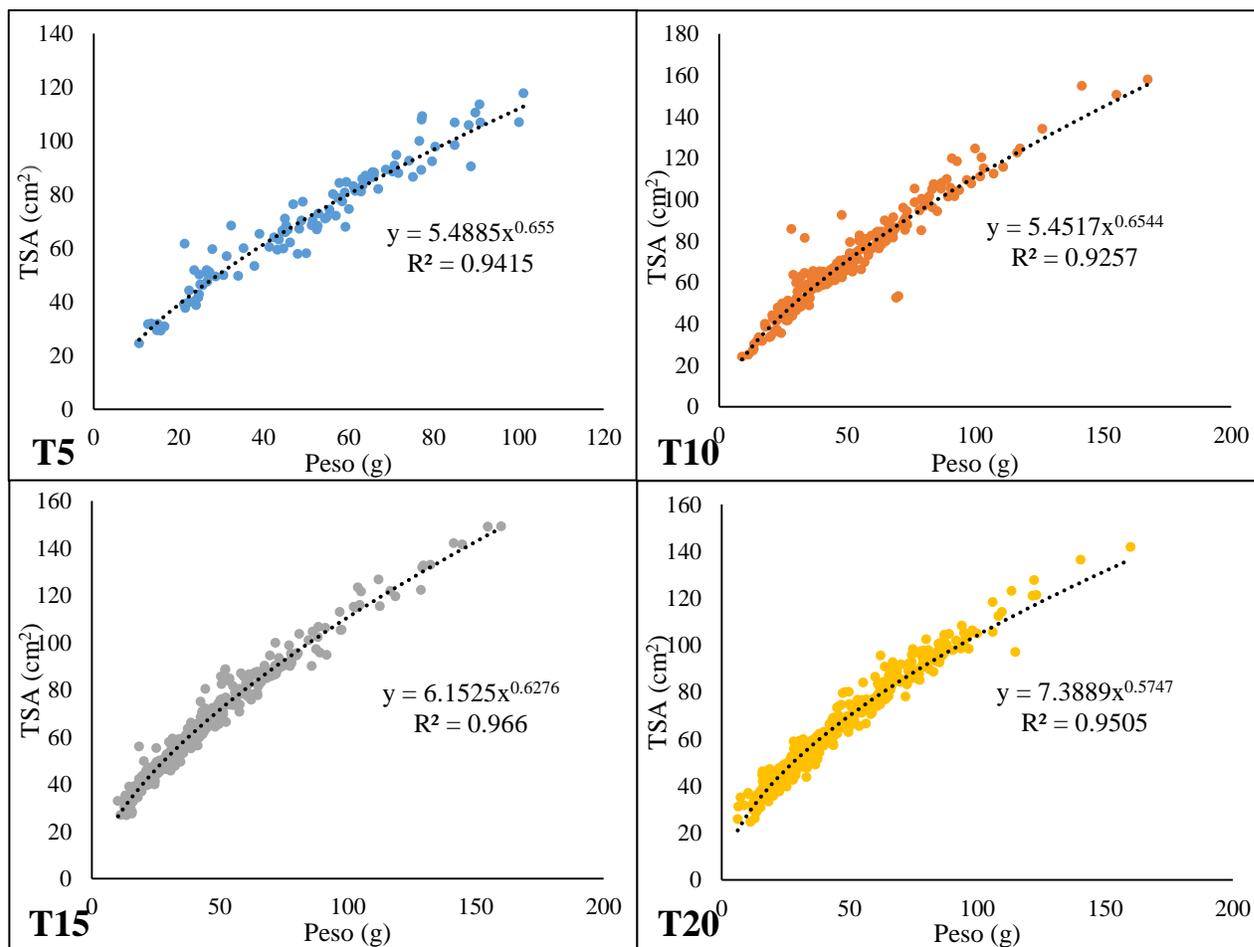


Figura 12: Relación entre el peso de los peces (g) y TSA (cm²) para cada tratamiento.

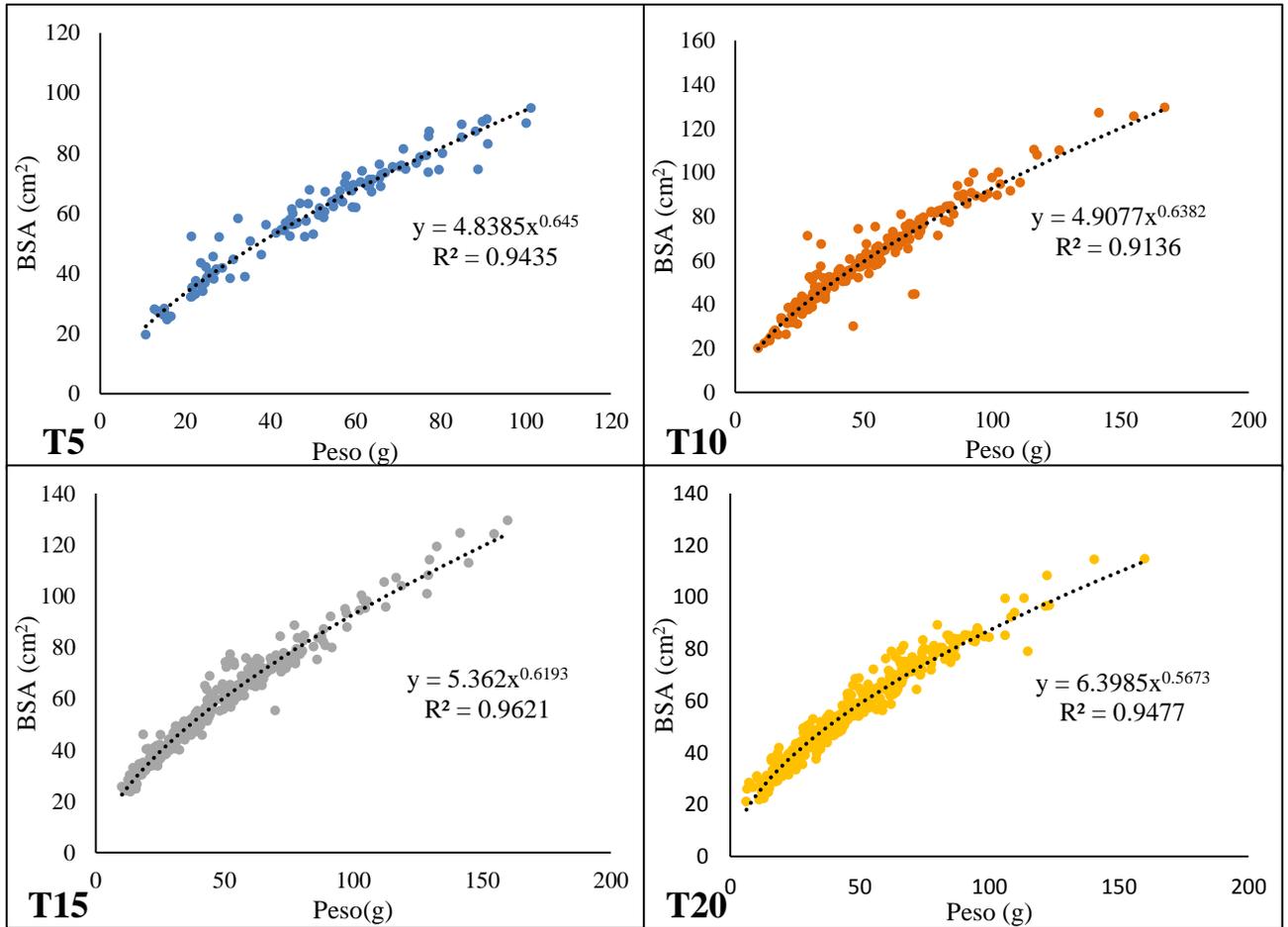


Figura 13: Relación entre el peso de los peces (g) y BSA (cm²) para cada tratamiento.

4.3.3. Crecimiento Específico (SGR), Relativo (RGR) y Factor de Condición-K

La Tabla 8 muestra los promedios de: La tasa de crecimiento relativo RGR (%), tasa de crecimiento específico SGR (%/día), EL factor de condición (K), La densidad inicial y La densidad final para cada tratamiento.

En dicha tabla puede verse que el tratamiento T10 obtuvo los mayores valores de RGR (tasa de crecimiento relativo) (100.19%). Los menores valores de RGR pertenecieron al tratamiento T5 (81.71%). El tratamiento T10 obtuvo los mayores valores de SGR (tasa de crecimiento específico) (0.77%/día). Los menores valores de SGR pertenecieron al tratamiento T5 (0.66%/día), Tabla 8. El mayor factor de condición K para el experimento perteneció al tratamiento T10 (1.43 ± 0.02) seguido por T15, T5 y T20 (1.42 ± 0.02 ; 1.42 ± 0.03 ; 1.39 ± 0.2 respectivamente), Tabla 8.

4.3.4. Densidad cultivo

Las densidades de cultivo medidas en pez/m² de los tratamientos T5, T10 y T20 fueron las mismas en el inicio y final del experimento, esto no ocurrió en T20 donde la densidad disminuyó en 2 pez/m². El incremento porcentual entre las densidades iniciales y finales de cultivo medidas en kg/m² para cada tratamiento fueron: 100% para T10, 92.19% para T15, 82.86% para T20 y 80.95% para T5, los valores de las densidades se encuentran en el Tabla 9. El incremento porcentual entre los valores del porcentaje del área cubierta (PCA) iniciales y finales de cada tratamiento fueron: 49.73% para T10, 40.08% para T5, 39.77% para T15 y 28.89% para T20.

Tabla 9: Datos promedio de tasa de crecimiento relativo RGR (%), tasa de crecimiento específico SGR (%/día), factor de condición (K), densidad inicial y densidad final para cada tratamiento.

Tratamiento	Peso			Densidad					
	RGR	SGR	K	Inicial			Final		
	%	%/día		(pez/m ²)	(kg/m ²)	PCA (%)	(pez/m ²)	(kg/m ²)	PCA (%)
T5	81.71	0.66	1.42 ± 0.03	13	0.42	7.41	13	0.76	10.38
T10	100.19	0.77	1.43 ± 0.02	26	0.88	14.9	26	1.76	22.31
T15	92.21	0.73	1.42 ± 0.02	39	1.28	22.13	39	2.46	30.93
T20	82.68	0.67	1.39 ± 0.02	52*	1.75	29.91	50*	3.2	38.55

Nota: *La disminución de la densidad de 52 pez/m² a 50 pez/m² de debió a la mortalidad de 2 individuos en el tratamiento T20.

4.4. COMPORTAMIENTO

Los comportamientos registrados se agruparon formando tres categorías conductuales: Nada-Columna (nada libre y salta fuera del agua), Nada-Fondo (acomoda pasivamente, acomoda predominantemente, nada sobre una superficie, come, persecución por alimento, persecución común y gira) y Reposo (quieto), Tabla 10. La categoría Reposo osciló desde 88.037 a 88.759% y fue la de mayor porcentaje para todos los tratamientos (Figura 14). La categoría Nada-Fondo representó desde el 11.241 al 11.963% para todos los tratamientos (Figura 14). La categoría Nada-Columna representó el 0% para los tratamientos T5 y T10, el 0.019% para T15 y 0.176% para T20 (Figura 15). En las dos densidades menores no se registraron los comportamientos “nada libre” ni “salta fuera del agua” durante el tiempo que duró el experimento. Se observó que los peces más grandes para todos los tratamientos eran los que se alimentaban primero lo que puede indicar la existencia de jerarquías sociales.

Tabla 10: Porcentajes promedio de las Categorías Conductuales registradas para cada uno de los tratamientos durante el periodo experimental.

Tratamientos	Categoría Conductual		
	Reposo	Nada-Fondo	Nada-Columna
T5	88.037	11.963	0
T10	88.759	11.241	0
T15	88.666	11.315	0.019
T20	88.065	11.759	0.176

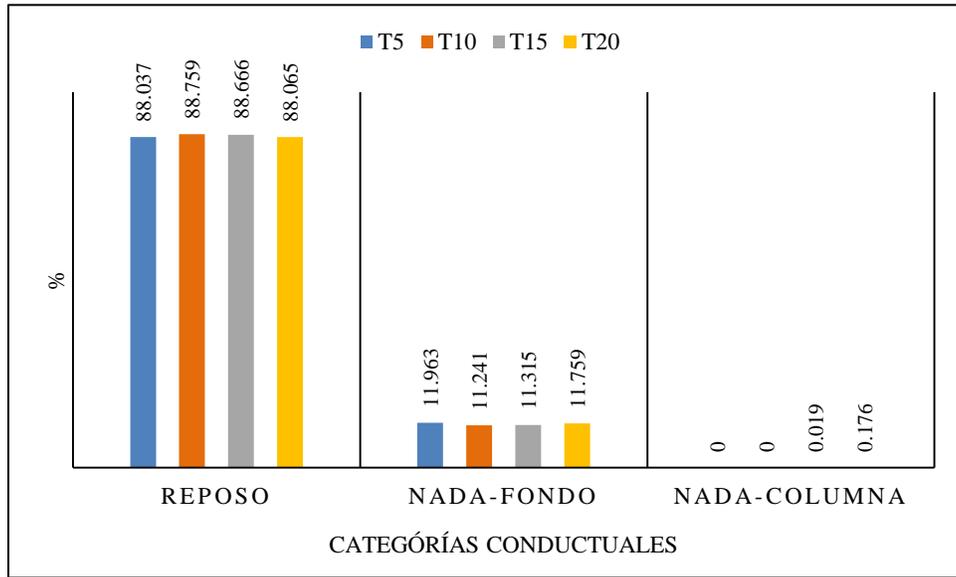


Figura 14: Porcentajes promedio de las Categorías Conductuales registradas para cada uno de los tratamientos.

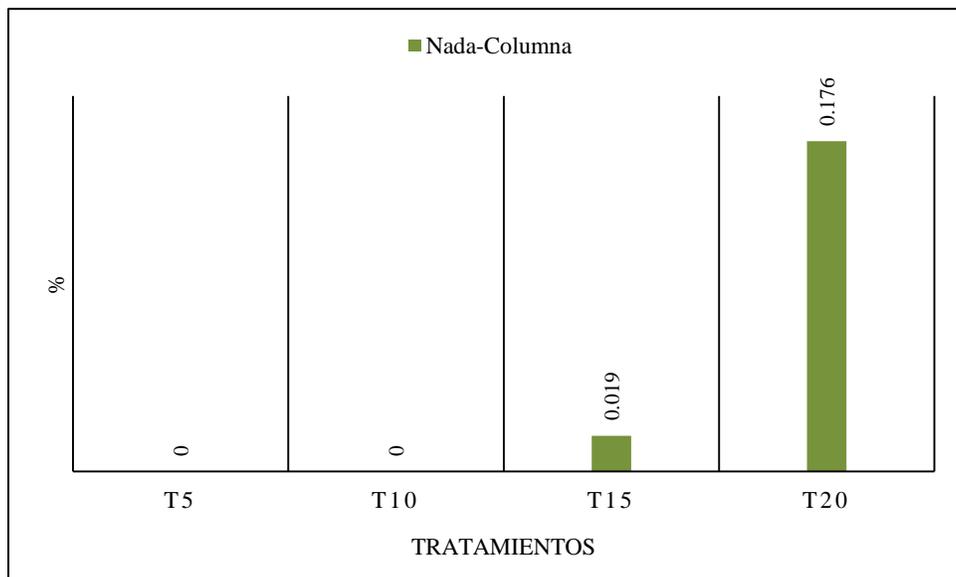


Figura 15: Porcentajes promedio de la Categoría Conductual-Nada Columna registradas para cada uno de los tratamientos.

4.5. SUPERVIVENCIA

En el transcurso del experimento ocurrieron dos muertes de peces los cuales pertenecieron al tratamiento T20. Siendo la primera muerte el día 30 y la segunda en el día 60. Además, se registró dos deformaciones de tipo exoftalmia únicamente para el tratamiento T20 en el día 75, estos individuos permanecieron vivos hasta el final del experimento. La supervivencia de T20 fue de 96.67% y para el resto de los tratamientos fue el 100% (Figura 16).

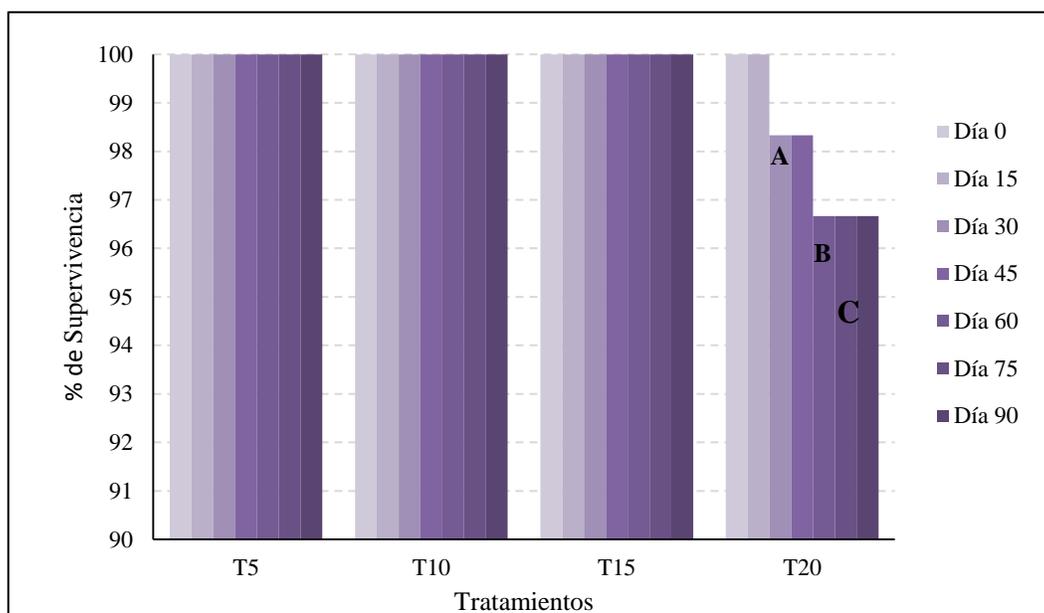


Figura 16: Porcentaje de supervivencia de cada tratamiento durante el periodo experimental. A: día 30 donde se registró la muerte de un pez del tratamiento T20, B: día 60 donde se registró la muerte del segundo pez del tratamiento T20 y C: día 75 donde se registró la deformación de tipo exoftalmia en dos peces del tratamiento T20.

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.6.1. Crecimiento

Se analizaron las variables: peso, longitud, K, TSA, BSA, RGR, SGR, AC% y FCA. Las últimas dos variables (AC% y FCA) evalúan la alimentación, pero fueron incluidas en el análisis del crecimiento ya que el crecimiento está ligado a la cantidad de alimento que ingieren los individuos. Todas las anteriores son variables biométricas. El resultado de todas las pruebas fue

el mismo: no existen diferencias significativas entre las medias de los cuatro tratamientos (Tabla 11).

Tabla 11: Valores de la prueba de Kruskal-Wallis (H) para evaluar diferencias entre los tratamientos en las variables peso, longitud, K, TSA, BSA, RGR, SGR, AC% y FCA.

Variable	Prueba (GL)	P value	Significancia
Peso	H=1.62 (3)	0.655	n.s.
Longitud	H=1.31 (3)	0.727	n.s.
TSA	H=4.33 (3)	0.228	n.s.
BSA	H=4.64 (3)	0.200	n.s.
RGR	H=1.10 (3)	0.777	n.s.
SGR	H=1.10 (3)	0.776	n.s.
K	H=2.80 (3)	0.424	n.s.
AC%	H=5.00 (3)	0.172	n.s.
FCA	H=3.10 (3)	0.376	n.s.

Nota: TSA=Área total superficial, BSA=Área superficial del cuerpo, RGR=Tasa de crecimiento relativo, SGR=Tasa de crecimiento específico, K=Factor de condición, AC%=Tasa de alimentación, FCA=Factor de conversión alimenticia.

Luego de realizarse los modelos lineales generales y mixtos se obtuvo que la variable peso (g) expresó diferencias significativas en cada tratamiento. Las variables longitud (cm), TSA (cm²), BSA (cm²) y RGR no expresaron diferencias significativas únicamente para el tratamiento T5, para el resto de tratamiento si se detectaron diferencias (P<0.05), revisar la Tabla 12 y Anexo 7. La variable SGR únicamente en el tratamiento T10 expresó diferencias significativas (Tabla 12). Sólo en los tratamientos T10 y T15 se pudo detectar diferencias significativas para K (Tabla 12). La variable AC% expresó diferencias significativas para todos los tratamientos, la variable FCA no expresó diferencias significativas en ninguno de los tratamientos (Tabla 12 y Anexo 7).

Tabla 12: Diferencias significativas para cada una de las variables biométricas entre los 0, 60 y 90 días (para RGR, SGR y FCA entre 15, 60 y 90 días).

Tratamientos	Variables								
	Peso	Longitud	TSA	BSA	RGR	SGR	K	AC%	FCA
T5	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
T10	*	*	*	*	*	*	*	*	n.s.
T15	*	*	*	*	*	n.s.	*	*	n.s.
T20	*	*	*	*	*	n.s.	n.s.	*	n.s.

Nota: TSA=Área total superficial, BSA=Área superficial del cuerpo, RGR=Tasa de crecimiento relativo, SGR=Tasa de crecimiento específico, K=Factor de condición, AC%=Tasa de alimentación, FCA=Factor de conversión alimenticia.

En el tratamiento T15 se detectaron diferencias significativas para las medias de peso (g) entre el día 0, día 60 y día 90. Para el resto de tratamientos únicamente hubo diferencias entre las medias del inicio (día 0) y el final (día 90) (Anexo 8).

La variable longitud no expresó diferencias de sus medias para el tratamiento T5 conforme transcurrió la prueba. En T10 y T20 se detectaron diferencias de sus medias entre el día 0-60 y 0-90. Únicamente en T15 las medias de longitud fueron diferentes entre sí para los días 0, 60 y 90 (Anexo 9).

La variable TSA no expresó diferencias de sus medias para el tratamiento T5 conforme transcurrió la prueba. En T10 y T20 se detectaron diferencias de sus medias entre el día 0-60 y 0-90. Únicamente en T15 las medias de TSA fueron diferentes entre sí para los días 0, 60 y 90 (Anexo 10).

La variable BSA no expresó diferencias de sus medias para el tratamiento T5 conforme transcurrió la prueba. Para el resto de tratamientos se detectaron diferencias de sus medias entre el día 0-60 y 0-90 (Anexo 11).

La variable RGR no expresó diferencias de sus medias para el tratamiento T5 conforme transcurrió la prueba. En T10 se detectaron diferencias de sus medias entre el día 15 y 90. En T15 se detectaron diferencias de sus medias entre el día 15-60 y 15-90. Únicamente en T20 las medias de longitud fueron diferentes entre sí para los días 15, 60 y 90 (Anexo 12).

La variable SGR únicamente expresó diferencias de sus medias para el tratamiento T10 entre los días 15-60 y 15-90. Para el resto de tratamientos no existieron diferencias de sus medias (Anexo 13).

La variable K sólo expresó diferencias de sus medias para el tratamiento T10 y T15. Para T10 entre los días 0 y 90. Mientras que para T15 entre los días 0-60 y 0-90. En el resto de tratamientos no existieron diferencias de sus medias (Anexo 14).

La variable AC% expresó diferencias de sus medias para el tratamiento T5 entre los días 0 y 90. Mientras que para el resto de tratamientos la diferencia fue entre los días 0-60 y 0-90 (Anexo 15).

En ninguno de los tratamientos se registraron diferencias de las medias de FCA durante el tiempo en que se realizó el ensayo (Anexo 16).

4.6.2. Comportamiento

El resultado del análisis estadístico de la comparación de las frecuencias conductuales arrojó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos para las frecuencias conductuales de tipo “Reposo” y “Nada-Fondo”. Mientras que para la frecuencia conductual “Nada-Columna” si se detectó diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos (Tabla 13).

Tabla 13: Valores de la prueba de Kruskal-Wallis (H) para evaluar diferencias de las frecuencias conductuales entre las tres categorías conductuales (Reposo, Nada-Fondo y Nada-Columna).

	Prueba H	P value	Significancia
Reposo	H=0.2550	0.9682	n.s.
Nada-Fondo	H=0.3552	0.9493	n.s.
Nada-Columna	H=10.890	0.0023	*

Nota: n.s.=no existen diferencias significativas, *=existen diferencias

El análisis estadístico señala la existencia de diferencias en la categoría conductual Nada-Columna de la densidad T20 respecto a los tratamientos T5 y T10 (Tabla 14).

Tabla 14: Valores de la prueba de Mann-Whitney (U) para evaluar diferencias entre parejas de tratamientos para la categoría conductual Nada-Columna.

Comparación entre tratamientos	Nada-Columna	
	Prueba U	Significancia
T5-T10	U=0.4047	n.s.
T5-T15	U=0.1757	n.s.
T5-T20	U=0.0027	*
T10-T15	U=0.4620	n.s.
T10-T20	U=0.0056	*
T15-T20	U=0.0599	n.s.

Nota: n.s.= no existen diferencias significativas, *=existen diferencias

4.7. DISCUSIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y CALIDAD DEL AGUA

Los valores registrados en el análisis de calidad de agua para todos los tratamientos presentados en la Tabla 6 fueron comparados con los rangos deseables obtenidos en investigaciones previas los cuales se presenta en la Tabla 7.

4.7.1. Temperatura, pH y oxígeno disuelto

El registro de la temperatura, pH y oxígeno disuelto se realizó diariamente. No se reportó ningún día en el cual la temperatura del agua varíe fuera de los rangos establecidos en el protocolo de cultivo de juveniles del Laboratorio de Cultivo de Peces-IMARPE. Los valores de pH se encontraron dentro del rango deseable que propone Wurts y Durborow (1992) entre 6.5-9. Los valores de los registros de temperatura como de pH fueron muy similares para los cuatro tratamientos. Alatorre (2007) comenta que muchas especies de peces pueden tolerar concentraciones de oxígeno disuelto entre 2 y 3 mg/L por periodos prolongados, aunque lo ideal es que se encuentre arriba de los 5 mg/L, Mallya (2007) indica que el requerimiento mínimo de oxígeno para peces marinos tropicales es de 5 mg/L. Los valores registrados de las concentraciones de oxígeno disuelto para los cuatro tratamientos durante el periodo experimental estuvieron por encima de los valores mínimos que establece Mallya (2007), revisar Tabla 6.

4.7.2. Amonio y Amoníaco

La exposición continua o frecuente a concentraciones de amoníaco por encima de 0.02 mg/L puede causar irritación intensa e inflamación en las branquias (Kubitza, 1999). Esta situación se mitigó con la renovación diaria del agua de mar que evitó la exposición continua a concentraciones de este compuesto tóxico. Stone y Thomforde (2004) establecen rangos deseables para amonio (0-2 mg/L) y amoníaco (inferior a 0.4 mg/L), durante el experimento las concentraciones de estos compuestos se mantuvieron dentro de esos rangos. El Nitrógeno Amoniacal Total (NAT) es la suma de las concentraciones de Amonio y Amoníaco, Timmons et al. (2002) y Boyd (1990) recomiendan para el cultivo de peces valores por debajo de 1 mg/L de NAT. Durante el periodo experimental la suma de las concentraciones de ambos compuestos no sobrepasó el valor máximo planteado por Timmons et al. (2002) y Boyd (1990) en ninguno de los tratamientos (Tabla 6).

4.7.3. Análisis de nitritos, nitratos y dióxido de carbono

La toxicidad del nitrito ha sido demostrada en los peces, siendo más susceptibles los alevines y los juveniles (Balbuena, 2011). Stone y Thomforde (2004) sugieren que el rango deseable de nitritos en los tanques de cultivo debe ser entre 0 - 1 mg/L, en el ensayo las concentraciones se encontraron dentro de este rango (Tabla 6). En cuanto a los nitratos, niveles entre 0 y 40 mg/L son generalmente seguros para los peces, cualquier valor superior a 80 mg/L puede ser tóxico (Bautista y Ruiz, 2011), en la fase experimental estos valores no fueron sobrepasados por ningún tratamiento (Tabla 6). Timmons (2002) reporta que el dióxido de carbono es tóxico para los peces porque reduce la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. Los estudios de Boyd y Tucker (1998) indican que, si la concentración de oxígeno disuelto está por encima de 5 mg/L, las concentraciones de dióxido de carbono de al menos 30 mg/L pueden ser toleradas en periodos cortos, particularmente por especies de aguas cálidas. Los niveles óptimos de las concentraciones de oxígeno durante el experimento pudieron evitar efectos adversos causados por el dióxido de carbono además las concentraciones de dióxido de carbono en los tratamientos fueron inferiores a lo que plantea Boyd y Tucker (1998).

4.8. DISCUSIÓN DE LA ALIMENTACIÓN

El lenguado presenta consumos a saciedad que van de 1-2% de su biomasa/día (Silva et al., 2001). El “Manual de Cultivo de Lenguado-FONDEPES” menciona que para juveniles entre 100-300 g la tasa de alimentación va de 1.5-2%. Para el ensayo se empleó una tasa alimenticia inicial del 2% la cual se encuentra dentro de los valores recomendados en estudios anteriores. Esta tasa alimenticia inicial se fue ajustando a lo largo del tiempo para cada tratamiento para evitar desperdicios de alimento siendo el suministro de alimento de tipo *ad libitum*. Fue el tratamiento T5 el que resultó con la mayor tasa alimenticia (1.34%) y el T20 el que resultó con la menor tasa (1.13%) (Tabla 8). Estos valores deben ser comparados con los datos biométricos para encontrar relaciones entre sí. Ya que la tasa alimenticia junto con la densidad de cultivo son los dos mayores factores que influyen en el crecimiento, bienestar y salud de los individuos (Montero et al., 1999; Ellis et al., 2005; Alcorn et al., 2003). El Factor de Conversión Alimenticia (FCA) expresa la cantidad de alimento (en gramos) que consume un individuo para ganar un gramo de biomasa. El “Manual de Cultivo de Lenguado-FONDEPES” menciona que

para juveniles entre 100-300 g el Factor de Conversión Alimenticia va de 1-1.5, todos los valores de FCA para los cuatro tratamientos estuvieron dentro de ese rango. Durante el ensayo los valores máximos y mínimos de FCA pertenecieron a los tratamientos T5 (1.36) y T15 (1.25) respectivamente; es decir: los individuos del tratamiento T5 fueron los que consumieron mayor cantidad de alimento para incrementar en un gramo su biomasa mientras que los individuos de T15 fueron de los cuatro tratamientos los que consumieron menor cantidad de alimento para incrementar su biomasa en un gramo (Tabla 8). Del mismo modo que la tasa de alimentación, los valores de FCA deben ser comparados con los datos biométricos.

4.9. DISCUSIÓN DEL CRECIMIENTO

4.9.1. Peso, Longitud, TSA y BSA

La obtención de las medidas biométricas se realizó cada 15 días. Al observar los diagramas de barras de las variables peso, longitud, TSA y BSA (Figuras 8, 9, 10 y 11) existe un patrón similar para los cuatro tratamientos. Donde los tratamientos T5 y T10 son los que registraron los mayores promedios hasta el día 60. Pasado el día 60 y hasta el final del experimento a T10 le pertenecieron los máximos promedios para las cuatro variables. Este patrón para el peso, longitud, TSA y BSA podría indicar que la densidad de T5 favoreció que los individuos registren promedios elevados hasta cierto tiempo (día 60) una respuesta favorable temprana que no se sostuvo en el tiempo. Sin embargo, la densidad de T10 proporcionó condiciones más favorables para obtención de mayores medidas biométricas ya que mantuvo desde el inicio al final los mayores promedios y registró los máximos promedios en la etapa final. Es importante mencionar que no existen reportes donde se utilice la metodología de Análisis de Imágenes para el cálculo de TSA y BSA en *Paralichthys adspersus* por lo que la aplicación de esta tecnología es innovadora para esta especie.

4.9.2. Relación entre TSA vs Peso Y BSA vs Peso

El área total superficial (TSA) se calculó empleando la metodología de análisis de imágenes descrita por Merino (2004). De esa forma se logró obtener los valores de PCA (Tabla 9). La densidad de cultivo para peces planos es frecuentemente reportada en porcentaje del área cubierta (PCA) (Bojornsson, 1994). King et al. (1997) relacionaron la longitud del pez (cm) con el TSA (cm²) mediante un análisis de regresión. El coeficiente de determinación que obtuvieron ($R^2=0.957$) en la ecuación fue elevado, por ello plantearon que era posible usar la longitud para

estimar el área total superficial (TSA) en cm^2 ; Merino (2004) realizó la regresión entre TSA (cm^2) y peso (g), en su investigación los valores de R^2 fueron también elevados (mayores a 0.98), además añadió la medición área superficial del cuerpo BSA (cm^2) la cual excluye el área perteneciente a las aletas dorsal, ventral y caudal de los peces planos. Se realizó para el experimento de la presente investigación la regresión de TSA y BSA con el peso (Figura 12 y 13) donde el valor de los coeficientes de determinación (R^2) para las ecuaciones del tratamiento T15 fueron los máximos (0.966 y 0.962 respectivamente), por lo que resultaría posible utilizar el peso para estimar valores de TSA que permitan monitorear y predecir las variaciones de la densidad de cultivo expresadas en PCA y también variaciones del BSA (representa el área superficial del pez donde presenta tejido muscular y por tanto de interés para la producción) en *P. adspersus*. La validación e implementación de metodologías de análisis de imágenes en el cultivo de *Paralichthys adspersus* podrían relacionar medidas biométricas que permitan estimar a partir del peso densidades de cultivo y variaciones de biomasa.

4.9.3. Crecimiento Relativo (RGR), Específico (SGR) y Factor de Condición-K

El tratamiento T5 presentó los menores valores de RGR y SGR. Fue el tratamiento T20 el que presentó el menor valor de K. Lo contrario se registró para en el tratamiento T10, ya que a éste le pertenecieron los mayores valores de RGR, SGR y K. Esto podría evidenciar que la densidad de T5 limitó la tasa de crecimiento de sus individuos y que los peces de la densidad T20 fueron los menos robustos comparados con los otros tratamientos. Los valores de las tasas de crecimiento fueron mayores en T10 y esto es corroborado por el K para este tratamiento que registró los mayores valores (Tabla 9). Silva y Flores (1994) cultivaron tres grupos de lenguados capturados en la naturaleza de 5-10 cm, 15-20 cm y 20-24 cm por el periodo de 335 días en tanque de agua de mar de flujo continuo, las tasas de crecimiento específico que obtuvieron fueron 0.79, 0.49 y 0.19 %/día. Si comparamos los valores de SGR obtenidos por estos últimos autores Silva y Flores (1994) con los que se obtuvieron en la presente investigación puede observarse cercanías entre ellos.

El crecimiento de los individuos en el presente ensayo estuvo influenciado directamente por el tipo de densidad de cultivo al que fueron sometidos. La Tasa de Crecimiento Específico (SGR) señala el incremento porcentual del peso por día, mientras que la Tasa de Crecimiento Relativo (RGR) señala el incremento porcentual del peso respecto a la medición anterior, se consideró a

la variable SGR de mayor relevancia sobre RGR para el análisis del crecimiento ya que su fórmula considera variaciones temporales puntuales.

Leyton et al., (2015) señalan que el factor de condición (K) determina el grado de bienestar o robustez en peces por lo que mayores valores de K indicarían mejores niveles de bienestar y robustez de los individuos pertenecientes a cada tratamiento; Salas-Leiton et al., (2009) refieren que el tamaño de las raciones alimenticias son factores que influyen en el crecimiento, el bienestar y la salud de los individuos.

La tasa alimenticia (AC%) indica el porcentaje de biomasa del pez equivalente en alimento que consume al día, por lo que mayores valores de AC% señalan mayor consumo de alimento. El factor de conversión alimenticia (FCA) indica la cantidad de alimento (en gramos) que necesita un pez en incrementar su biomasa en un gramo, por lo que valores cercanos a 1 para FCA indicarían mejor aprovechamiento del alimento en la ganancia de biomasa. Por tanto, algunas variables biométricas (SGR y K) y alimenticias (AC%, FCA) analizadas en la evaluación del crecimiento en la presente investigación fueron consideradas más relevantes que las demás.

T10 y T15 evidenciaron mayor número de diferencias temporales y promedios favorables que incrementaron su crecimiento (diferencia temporal de SGR sólo para T10, mayores promedios de SGR para ambos), robustez (diferencias temporales de K y mayores promedios para ambos) y optimizaron su alimentación (promedios de AC% no fueron los mayores; promedios de FCA más cercanos a 1), revisar el Anexo 7 y Tabla 8.

La densidad T5 registró diferencias temporales sólo en AC% cuyo promedio fue el máximo; del mismo modo registró promedios máximos de FCA; ambos promedios elevados evidencian la deficiencia en la alimentación de T5 ya que los individuos consumieron más alimento del que fijaron en su biomasa. La densidad T20 no registró diferencias temporales en SGR ni en K sólo en AC% cuyo promedio fue el mínimo, es posible que este promedio mínimo en esta densidad de cultivo sea originado por la presencia de jerarquías entre los individuos donde los peces de mayor tamaño limitaron la alimentación de los peces más pequeños lo que pudo reducir el AC% promedio en este tratamiento.

Las variables peso, longitud, TSA, BSA y RGR fueron consideradas secundarias para el análisis del crecimiento. Estas variables secundarias de crecimiento fueron favorecidas tempranamente

en la densidad T10. Una situación parecida sucedió en T15 donde también se registró diferencias temporales tempranas de las variables secundarias de crecimiento y los promedios de estas fueron los segundos mayores por debajo del tratamiento T10. Para T20 el panorama fue muy similar a T10 o T15 con la diferencia que este presentó promedios inferiores que los tratamientos anteriores. En el tratamiento T5 fue donde existió diferencias temporales sólo para el peso, los valores promedios de las variables al iniciarse el experimento hasta el día 60 presentaron valores elevados, esto cambió para el final del ensayo donde presentó los menores promedios. Conforme a los promedios de las variables y a los análisis estadísticos existen evidencias para señalar a las densidades T10 y T15 como condiciones de cultivo que favorecieron el crecimiento de los peces, siendo T10 el tratamiento que destaca. Mientras que en T5 y T20 no se detectaron diferencias temporales en crecimiento para las variables analizadas, en este sentido, estas densidades serían las menos favorables para el incremento del crecimiento.

4.9.4. Discusión de la densidad de cultivo

Estudios en otros peces planos como *Scophthalmus maximus* (Bojorson, 1994), *Paralichthys olivaceus* (Bolasina et. al, 2006) y *Paralichthys californicus* (Merino, 2007) indican la disminución de sus tasas de crecimiento a medida que las densidades de cultivo incrementan. Esta relación entre crecimiento y la densidad de cultivo se evidenció de igual manera en la densidad mayor de cultivo en el presente trabajo (T20). Se han reportado en otras investigaciones relaciones tanto positivas como negativas entre la densidad de la población y el crecimiento, el patrón de esta interacción parece ser específico para cada especie (Merino et al, 2007).

4.10. DISCUSIÓN DEL COMPORTAMIENTO

El tiempo de descanso de los peces planos suele representar entre el 90 y 95% del tiempo total (Kawabe et al., 2004), los porcentajes promedios de la categoría reposo en todos los tratamientos fueron cercanos a los valores encontrados en la literatura. Es necesario señalar que existe poca información en etología para *P. adspersus*. La categoría Nada-Columna representó el 0% para los tratamientos de menores densidades (T5 y T10), el 0.019% para T15 y 0.176% para T20 (Tabla 9). A partir de esto puede considerarse a la categoría conductual Nada-Columna como indicador de la presencia de registros conductuales que únicamente se expresan en densidades

elevadas de cultivo (Figura 15), tal como lo plantearon Macquart-Moulin et al., (1991) y Kristiansen et al., (2004) en sus investigaciones con peces planos.

En altas densidades de cultivo Macquart-Moulin et al., (1991) demostraron que cuando *Solea solea* no encuentra la comida que necesita en el fondo del tanque, tanto en cantidad como en calidad, éste incrementa su actividad natatoria en la columna de agua. Kristiansen et al., (2004), describieron en *Atlantic halibut* que podría producirse el denominado efecto “surface swimming”, el cual explica cómo los peces planos en situaciones de alta densidad incrementan su actividad motriz en superficie. Este comportamiento que incrementa la actividad natatoria en los peces, citado líneas antes, fue considerado en la presente investigación como una respuesta conductual generada por altas densidades de cultivo. Por lo que las conductas “Salta fuera del agua” y “Nada libremente” pertenecieron a este grupo.

Se consideró a la categoría Nada-Columna como el grupo que contiene conductas anormales de los juveniles de *P. adspersus* que pueden evidenciar signos de estrés para las densidades estudiadas. Los resultados estadísticos indican que existen diferencias entre las frecuencias de la Categoría Conductual Nada-Columna para al menos un tratamiento (Tabla 14) y fue T20 el que se diferenció respecto a las densidades menores (T5 y T10). Estas diferencias (Tabla 14) entre las frecuencias de la categoría conductual Nada-Columna con los tratamientos T5 y T10 puede ser evidencia que los individuos pertenecientes a T20 estuvieron sometidos a estrés causado por una densidad elevada de cultivo.

4.11. DISCUSIÓN DE LA SUPERVIVENCIA

Solo en T20 se registró mortalidad de peces, por lo tanto, su porcentaje de supervivencia fue menor al 100% (Figura 16). En otras investigaciones de peces planos se ha encontrado aumento de mortalidad relacionada a una mayor densidad de población para la platija de invierno (*Pseudopleuronectes americanus*) (Fairchild y Howell, 2001). Entonces, las muertes de peces en T20 pueden haber sido ocasionadas por la alta densidad en la que fueron criados los peces. Altas densidades de cultivo estarían relacionadas con la disminución del porcentaje de supervivencia en juveniles de *P. adspersus*. Varios autores informan que altas densidades de población aumentan la susceptibilidad de los peces a las enfermedades (Pickering y Pottinger, 1989; Mazur e Iwama, 1993; Fairchild y Howell, 2001), por lo que el registro de peces con

deformidades de tipo exoftalmia en T20 puede estar asociado a la alta densidad en la que fueron criados sus individuos (Figura 16).

Al evaluar las cuatro densidades de cultivo se obtuvo que al comparar los parámetros de crecimiento fue el tratamiento T10 el que obtuvo los mayores valores (SGR=077%/día y K=1.43). En cuanto al comportamiento, únicamente las densidades mayores T20 y T15 registraron conductas como nada en la columna de agua (NL) y salta fuera del agua (S). Al evaluar la supervivencia fue el tratamiento T20 el único que no registró al final del experimento valores del cien por ciento de supervivencia ya que murieron 2 peces y otros 2 individuos presentaron deformidades de tipo exoftalmia. Los resultados evidencian efectos en el crecimiento, comportamiento y supervivencia dependiendo de la densidad de cultivo en la que fueron criados los juveniles de *Paralichthys adspersus*.

V. CONCLUSIONES

- El efecto de cuatro densidades de cultivo en el crecimiento y comportamiento de juveniles de lenguado *P. adspersus* bajo condiciones de laboratorio fue el siguiente:
- El mejor crecimiento se obtuvo con la densidad de cultivo T10 que corresponde a una densidad inicial de 0.88 Kg/m², una densidad final de 1.76 Kg/m² y una longitud promedio inicial de 13.52 ± 0.38 (cm).
- Se registraron diferencias significativas favorables a los parámetros de crecimiento en dos densidades de cultivo (T10 y T15) cuando se evaluaron temporalmente.
- Se puede considerar a la densidad T10 (densidad inicial 0.88 Kg/m², densidad final 1.76 Kg/m²) como la más apropiada para el cultivo de juveniles de lenguado, bajo las condiciones de laboratorio en que se realizó el estudio, ya que ésta presentó mayor número de diferencias significativas favorables en la evaluación temporal de los parámetros de crecimiento y esto fue respaldado por los mejores promedios que se obtuvieron al analizar sus variables biométricas y alimenticias.
- Las conductas “Nada-Libre” y “Salta Fuera del Agua” pertenecientes a la Categoría Conductual Nada-Columna sólo se registraron en las densidades de cultivo T15 y T20 y no presentaron diferencias significativas entre ellas por lo que el registro de éstas puede asociarse con elevadas densidades de cultivo en la crianza.
- La categoría conductual Nada-Columna registró diferencias significativas para la densidad T20 respecto a las densidades menores T5 y T10, de modo que conductas donde la actividad natatoria de los individuos sea en la columna de agua pueden ser consideradas como indicadoras de estrés social en juveniles de *P. adspersus*.
- Altas densidades de cultivo como T20 (inicial 1.75 Kg/m², final 3.20 Kg/m²) a más pueden afectar en la supervivencia e inmunidad de juveniles de lenguado criados bajo condiciones de laboratorio.

VI. RECOMENDACIONES

- Continuar evaluando diferentes densidades de cultivo para otras edades de *P. adspersus* especialmente en etapa de juveniles donde se registra mayor mortalidad en su crianza.
- La validación de la tecnología de análisis de imágenes permitiría reducir el manipuleo de los individuos y por lo tanto el estrés generado en las biometrías. Lo que significaría continuar con la búsqueda de técnicas que integren dispositivos electrónicos que puedan generar estimaciones y nuevas relaciones biométricas a favor del desarrollo de la bioingeniería.
- Realizar investigaciones etológicas en diferentes estadios de desarrollo de *P. adspersus*, con la finalidad de ir completando vacíos de información sobre la ecología de esta especie.
- Complementar el análisis realizado, con indicadores de estrés mediante la medición de la hormona cortisol.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ABWAK. (1998). Guidelines for environmental enrichment. The Association of Wild Animal Keepers. Editor: David A. Field.
- Alatorre, O. (2007). Calidad del agua y principios de diseño en los sistemas de recirculación acuícola (SRA). Tesina Especialidad en Ing. de invernaderos. Santiago de Querétaro, MX.UAQ. 67.
- Alcorn, S., Pascho, R., Murray, A. & Shearer, K. (2003). Effects of ration level on immune functions in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*. 217. 529-545.
- Altmann, J. (1974). "Observational Study of behavior: Sampling methods". *Behaviour*. 49: 227-267.
- Anguís, V., Asencio, E. & Salas, E. (2014). Recomendaciones sobre el uso de altas densidades de cultivo en engorde de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*). Consejería de agricultura, pesca y desarrollo rural, Instituto de investigación y formación agraria pesquera. 1-12.
- Árnason, J., Imsland A.K., Gústavsson A., Gunnarsson S., Arnarson I., Reynisson H., Jónsson AF., Smáradóttir H. & Thorarensen H. (2009). Optimum feed formulation for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.): Minimum protein content in diet for maximum growth. *Aquaculture* 291: 188-191
- Auro, A. & Ocampo, L. (1999). Diagnóstico del estrés en peces. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. *Vet. Mex.* 30(4): 337-344.

- Balbuena, E.D. (2011). Manual Básico de Piscicultura para Paraguay. 49.
- Barton, B.A. & Iwama, G.K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Rev. of Fish Disease. 3–26.
- Barton, B.A. (2002). Stress in Fishes: A diversity of responses with particular referente to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, 42: 517-525.
- Bautista, J. & Ruíz, J. (2011). Calidad de agua para el cultivo de Tilapia en tanques de geomembrana. Revista Fuente Año 3. N° 8: 10 – 14.
- Bendsechneider, K. & Robinson, R. (1952). A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. University of Washington Oceanographic Laboratories. Reference (52-1). 1-26.
- Binuramesh, C., Pabakaran, M., Steinhgen, R. & Michael, D. (2005). Effect of chronic confinement stress on the inmune responses in different sex ratio groups of *Oreochromis mossambicus* (Peters). Aquaculture. 250: 47-59.
- Bissonette, J.A. (1982). Ecology and social behavior of the collared peccary in Big Bend National Park. USDI Nat. Park Serv. Sci. Mono. Ser. No. 16.
- Bjornsson, B. (1994). Effects of stocking density on growth rate of halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared in large circular tanks for three years. Aquaculture 123. 3-4.
- Bower, C.E. & Bidwell, J.P. (1978). Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, and salinity. J Fish Res Board Can 35: 1012-1016.
- Boyd, C.E. (1990). Water quality in ponds for aquaculture. Alabama: Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University. Ed. Birmingham Publishing Co. 482.
- Boyd, C.E. & Tucker, C.S. (1998). Pond Aquaculture Water Quality Management. Kluwer Academic Publishers, Boston.

- Byers, J.A. & Bekoff, M. (1981). Social, spacing, and cooperative behavior of the collared peccary, *Tayassu tajacu*. J. Mammal. 62: 767-785.
- Chinchayán, M., Vera, G., Cisneros, R. & Carrera, L. (1997). Notas sobre el cultivo de los lenguados *Paralichthys adspersus* y *Etropus ectenes* en ambiente controlado. Informe Progresivo Instituto del Mar del Perú. Vol. 64. 34-51.
- Cifuentes, R., Gonzalez, J., Montoya, G., Jara, A., Ortíz, N.P. Piedra & Habit, E. (2012). Relación Longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro cuenca del río Valdivia, Chile). Gayana 76 (Número Especial): 101-110.
- Di Rienzo, J.A., Macchiavelli, R.E. & Casanoves, F. (2017). Modelos Lineales Mixtos. Modelos Lineales Mixtos Aplicaciones En InfoStat. Primera Edición, 3.
- Llis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M. & Gadd, D. (2005). The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. J Fish Biol. 61: 493-531.
- Fairchild, E.A. & Howell, W.H. (2001). Optimal stocking density for juvenile winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. J. World Aquac. Soc. 32 (3): 300-308.
- FAO. (2016). El estado Mundial de la pesca y la acuicultura. 1-251.
- Hopkins, K. (1992). "Reporting fish growth: a review of the basics". Journal of the World Aquaculture Society. 73-179.
- Innis, D. (1990). Juvenile California halibut, *Paralichthys californicus*, growth in relation to termal effluent. Fish Bulletin. 174: 153-165.
- Kawabe, R., Naito, Y., Sato, K., Miyashita, K. & Yamashita, N. (2004). Direct measurement of the swimming speed, tailbeat, and body angle of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). ICES Journal of Marine Science 61 (7): 1080-1087.
- King, N., Howell, W.H., Fairchild, E. (1997). The effect of stocking density on the growth of juvenile summer flounder *Paralichthys dentatus*. Nutrition and Technical Development of Aquaculture, vol. 26: 173-180.

- Kong, I., Clarke, M. & Escribano, R. (1995). Alimentación de *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) en la zona norte de Chile (Osteichthyes: Paralichthyidae). Rev. Biol. Mar. Valparaíso. 30(1): 29-44.
- Kong, I. & Castro, H. (2002). En O. ZUÑIGA. Guía de Biodiversidad: Macrofauna y Algas Marinas. Vol. 1(3).
- Kristiansen, T.S., Ferno, A., Holm, J.C., Privitera, L., Bakke, S. & Fosseidengen, J.E., (2004). Swimming behavior as an indicator of low growth rate and impaired welfare in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) reared at three stocking densities. Aquaculture, 230: 137-151.
- Kubitza, F. (1999). Qualidade da agua na produção de peixes. Jundiaí: Ed. Degaspari. 97.
- Leyton, S., Muñoz, E., Gordillo, M., Sánchez, G., Muñoz, L. & Soto, A. (2015). Estimación del factor de condición de Fulton (K) y la relación Longitud-Peso en tres especies ícticas presentes en un sector sometido a factores de estrés ambiental en la cuenca alta del río Cauca. Rev. Asoc. Col. Cienc. (Col.). 27: 24-31.
- Macquart-Moulin, C., Champalbert, G., Howell, B.R., Patrity, G. & Ravaivoson, C. (1991). La relation alimentation-fixation benthique chez les jeunes soles *Solea solea* L. métamorphosées. Evidences expérimentales. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 153: 195-205.
- Magnuson, J.J. (1962). An analysis of aggressive behavior, growth, and competition for food and space in medaka (*Oryzias latipes* (Pisces, Cyprinodontidae)). Can. J. Zool. 40: 313-363.
- Mallya, Y. (2007). The effects of dissolved oxygen on fish growth in aquaculture. Fisheries Training Programme, Final Project. The United Nations University. 30.
- Martínez-Millan, L. (1987). Métodos de evaluación, control y racionamiento en la alimentación práctica. In. Alimentación en Acuicultura. CAICYT. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (Editores). 295-325.

- Mazeaud, M.M., Mazeaud, F., & Donaldson, E.M. (1977). Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society*, 106(3): 201-212.
- Mazur, C.F. & dan Iwana, G.K. (1993). Effect of handling and stocking density on hematokrit, plasma cortisol, and survival in wild and hatchery-reared chinok salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*. 112: 291-299.
- McEwen, B. S. (2000). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain research*, 886(1-2): 172-189.
- Ministerio de la Producción (PRODUCE). (2018). Anuario Estadístico Pesquero y Acuícola 2017.
- Merino, G. (2004). Bioengineering Requirements for the Intensive Culture of california halibut (*Paralichthys californicus*).
- Merino, G., Piedrahita, R. & Conklin, D. (2007). The effect of fish stocking density on the growth of california halibut (*Paralichthys californicus*) juveniles. *Aquaculture*. 265: 176-186.
- Montero, D., Izquierdo, M., Tort, L., Robaina, L. & Vergara, J. (1999). High stocking density produces crowding stress altering some physiological biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*. 20: 53-60.
- Parsons, T.R., Maita, Y. & Lalli, C.M. (1984). A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. 1a ed. UK. Wheaton and Co. Ltd. Exeter. 188.
- Pequeño, G. (1989). Lista de peces de Chile, Revisada y comentada. *Rev. Biol. Mar.* 24. 1-132.
- Pickering, A.D. & Pottinger, T.G. (1989). Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol Biochem.* 7: 253-258.
- Pickering, AD. 1993. Growth and stress in fish production. *Aquaculture* 111: 51-63.

- Pilnik, S. (2010). El concepto de alostasis: un paso más allá del estrés y la homeostasis. *Rev. Hosp. Ital. B. Aires.* Vol. 30(1): 7-12.
- Rodríguez, A. (1987). Biología del langostino *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) del golfo de Cadiz. III. Biometría, edad y crecimiento. *Investigación Pesquera* 51: 23-37.
- Salas-Leiton, E., Anguis, V., Manchado, M. & Cañavate, J. P. (2008). Growth, feeding and oxygen consumption of senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles stocked at different densities. *Aquaculture*. 285(1-4): 84-89.
- Samamé, M. & Castañeda, J. (1999). Biología y pesquería del lenguado *Paralichthys adspersus*, con especial referencia al área norte del litoral peruano, departamento de Lambayeque. *Boletín Instituto del Mar del Perú.* Vol. 18(1-2): 15-18.
- Sánchez-Muros, M. J. & Gómez-Milán, E. (2001). Efecto del estrés en los peces. En: *Universidad Internacional del Mar: Acuicultura II.* Editado por S. Zamora y F. J. Martínez. Universidad de Murcia. 57-69.
- Schreck, C.B., Contreras-Sánchez, W. & Fitzpatrick, M.S. (2001). Effects of stress on fish reproduction gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3-24.
- Schweinsburg, R.E. & Sowls, L.K. (1972). Aggressive behavior and related phenomena in the collared peceary. *Z. Tierpsychol.* 30: 132-145.
- Shapiro, S.S. & Francia, R.S. (1972). An approximate analysis of variance test for normality. *Journal of the American Statistical Association.* Journal of the American Statistical Association.
- Siefeld, W., Vargas, M. & Kong, I. (2003). Primer registro de *Etropus ectenes* Jordan, 1889, *Bothus constellatus* Jordan & Goss, 1889, *Achirus klunzingeri* (Steindachner, 1880) y *Symphurus elongatus* (Gunther, 1868) (Piscis, Pleuronectiformes) en Chile, con comentarios sobre la distribución de los lenguados chilenos. *Invest. Mar. Valparaíso.* 31: 51-65.
- Silva, A. & H. Flores (1994). Observations on the growth of the chilean flounder (*Paralichthys adspersus*, Steindachner, 1867) in captivity. Pages 323-332 in P. Lavens and R.A.M.

Remmerswaal, eds. Turbot Culture: Problems and Prospects. European Aquaculture Society, Special Publication No. 22, Gent, Belgium.

- Silva, A. (2001). Advance in the Culture Research of Small-Eye Flounder, *Paralichthys microps*, and Chilean Flounder, *P. adspersus*, in Chile, Journal of Applied Aquaculture. 11.(1-2): 147-164.
- Silva, A. & Oliva, M. (2010). Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). Latin American Journal of Aquatic Research. 38(3). 377-386.
- Sterling, P. & Eyer, J. (1998) Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. En: S. Fisher, & J. Reason Eds. Handbook of life stress, cognition and health (pp. 629-649).
- Stone, N.M. & Thomforde, H.K. (2004) Understanding Your Fish Pond Water Analysis Report. Cooperative Extension Program, University of Arkansas at Pine Bluff, Pine Bluff.
- Talledo, C. (1984). Observaciones preliminares de la biología del “lenguado común” *Paralichthys adspersus* (Steindachner). Libro de resúmenes. I Congreso Nacional de Biología Pesquera.1-73.
- Timmons, M.B., Ebeling, J.M., Wheaton, F.W., Summerrfelt, S.T. & Vinci, B.J. (2002). Recirculating aquaculture systems. 2ed. New York: Cayuga Aqua Venture. 769.
- Valencia, F. & Valencia, J. (2015). Relación longitud-peso y factor de condición de *Echinometranbrunti* (A. Agassiz 1863) en Acapulco, Guerrero, México. Revista de Análisis Cuantitativo y Estadístico. (2-5): 402-407.
- Wedemeyer, G.A., Barton, B.A. & MacLeay, D.J. (1990). Stress and acclimation. En: Methods for Fish Biology. Editado por C. B. Schreck y P. B. Moyle. American Fisheries Society, USA. 451-489.
- Wendelaar Bonga, S.E. (1997). The Stress Response in Fish Physiological Reviews.77:591-625.

- Wurts, W.A. & Durborow, R.M. (1992). Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication No. 464. Liming Fishponds 3.
- Zúñiga, H. (1988). Comparación morfológica y dietaria de *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) y *Paralichthys microps* (Gunther, 1881) en Bahía de Coquimbo. Tesis de Biología Marina, Universidad Católica del Norte, Coquimbo. 144.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Fuente Ministerio de Producción 2018.

PERÚ: COSECHA DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS DE LA ACTIVIDAD DE ACUICULTURA SEGÚN ÁMBITO Y ESPECIE, 2008-17 (TM)

Ámbito / Especie	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Total	43 119	44 317	89 021	92 201	72 293	125 693	115 269	90 976	100 191	100 455
Continental	14 986	14 837	17 320	23 609	29 564	40 068	38 683	45 758	58 771	61 028
Boquichico	25	27	36	15	35	56	6	9	31	58
Camaron Gigante de Malasia	6	11	15	13	11	20	78	21	34	26
Carachama	4	1	22	6	7	10	5	4	9	6
Carpa	15	15	19	8	19	6	2	4	4	5
Gamitana	539	564	680	522	453	531	504	299	1 863	1 047
Paco	71	75	101	130	299	443	453	825	1 390	1 624
Pacotana	59	12	3	12	17	15	9	219	11	35
Paiche	1	3	48	422	637	94	55	135	142	218
Tilapia	1 714	1 261	2 013	2 423	3 174	3 840	4 610	3 250	2 950	3 042
Trucha	12 497	12 817	14 250	19 962	24 762	34 992	32 923	40 946	52 245	54 878
Sábalo	52	49	114	95	46	58	37	33	87	84
Otros	3	2	19	0	102	3	1	12	4	6
Marítimo	28 133	29 480	71 701	68 592	42 730	85 625	76 586	45 218	41 420	39 427
Algas	-	-	-	-	146	44	3	2	1	2
Concha de Abanico	14 802	16 047	58 101	52 213	24 782	67 694	55 096	23 029	20 975	11 927
Langostino	13 314	13 425	13 598	16 379	17 901	17 883	21 484	22 183	20 441	27 492
Lenguado	-	-	-	-	1	3	3	4	3	7
Ostras del Pacífico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Otros	17	8	2	-	-	-	-	1	0	-

Nota: En 2010 la cosecha de concha de abanico incluye lo procedente de Parachique, lo cual corresponde a las asociaciones formalizadas a fines del periodo 2009 e inicio del 2010.
 Los totales se han reajustado debido a las correcciones en la especie trucha para el 2000 y 2001 y a la no inclusión de las especies provenientes de repoblamiento (Pejerrey y Abalón).
 0 Corresponde a cifras menores que 0.5 TM.
 Fuente: Direcciones Regionales de Producción (DIREPRO) y Empresas Acuícolas

Anexo 2: Fuente Ministerio de Producción 2018.

PERÚ: COSECHA DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS PROCEDENTES DE LA ACTIVIDAD DE ACUICULTURA SEGÚN ÁMBITO Y ESPECIE, 2017 (TM)

Ámbito / Especie	Total	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Dic
Total	100 454,82	9 005,95	8 672,69	8 401,88	9 390,12	7 143,23	7 482,33	8 848,72	6 562,19	7 709,94	8 587,2	10 322,79	8 327,75
Continental	61 028,11	4 996,20	4 862,64	5 358,92	5 655,79	4 047,96	4 728,03	6 733,25	4 476,03	4 397,07	4 686,20	5 815,00	5 271,02
Boquichico	57,83	7,99	2,89	3,35	5,16	4,28	14,36	0,87	0,64	9,65	3,39	3,85	1,41
Camaron Gigante de Malasia	26,26	3,35	2,95	1,80	2,46	2,35	1,97	1,80	1,60	2,13	1,85	2,10	1,90
Carachama	5,81	0,07	0,03	0,00	0,00	0,69	0,81	0,76	0,59	0,93	0,88	0,56	0,50
Carpa	5,30	0,87	0,00	0,20	0,71	0,88	0,46	0,38	0,20	0,40	0,40	0,10	0,70
Gamitana	1 046,58	125,33	89,20	116,51	89,10	48,53	64,81	99,38	46,93	64,88	122,93	78,52	100,47
Paco	1 623,94	117,29	130,03	103,46	142,94	121,63	124,24	122,49	72,71	90,67	183,85	213,54	201,11
Pacotana/Gamipaco	34,94	19,82	12,76	0,00	1,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,95	0,00	0,00	0,00
Paiche	217,62	1,02	1,85	1,69	5,89	1,69	56,37	21,35	9,79	6,45	3,05	86,70	21,77
Sábalo	83,93	2,85	18,85	5,14	17,62	6,03	2,86	3,15	2,42	4,98	5,71	7,03	7,29
Tilapia	3 041,87	244,49	233,51	235,60	261,48	209,92	197,36	253,94	249,22	287,27	289,80	304,73	274,55
Trucha	54 878,43	4 472,34	4 369,77	4 890,77	5 128,39	3 651,63	4 264,50	6 228,43	4 091,52	3 928,42	4 074,06	5 117,65	4 660,94
Otros	5,61	0,79	0,81	0,39	0,64	0,34	0,30	0,70	0,41	0,34	0,28	0,22	0,39
Maricultura	39 426,71	4 009,74	3 810,05	3 042,97	3 734,33	3 095,27	2 754,29	2 115,47	2 086,16	3 312,87	3 901,0	4 507,79	3 056,74
Algas	1,55	0,00	0,20	0,05	0,00	0,20	0,30	0,00	0,25	0,30	0,25	0,00	0,00
Concha de Abanico ^v	11 926,98	1 889,46	1 459,28	640,10	424,85	422,25	548,42	561,13	660,55	960,85	1 476,13	1 884,47	999,50
Langostino	27 491,66	2 119,94	2 350,24	2 402,52	3 309,14	2 672,20	2 205,17	1 553,67	1 424,58	2 351,25	2 424,07	2 622,49	2 056,40
Lenguado	6,51	0,35	0,32	0,29	0,34	0,81	0,41	0,67	0,78	0,48	0,58	0,84	0,84
Otros	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^v Incluye cosecha de Parachique correspondiente a las asociaciones formalizadas a fines del periodo 2009 e inicio del 2010.
 Fuente: Direcciones Regionales de Producción (DIREPRO) y Empresas Acuícolas

Anexo 3: Distribución de los tanques de cultivo de los juveniles de *Paralichthys adspersus*.



Anexo 4: Fórmulas para el cálculo de las concentraciones de nitrógeno amoniacal total se mediante el método descrito por Parsons (1984).

$$\%ANI = \frac{100}{FI + \text{antilog}[pK(T) - pH]}$$

$$FI = \frac{19.9273 * S}{100 - 1.005109 * S}$$

$$pK = 0.0901821 + \frac{2729.92}{T + 273.15 * FI}$$

$$[NH_3] = (\%ANI * [(NH_4)^+]) / (100 - \%ANI)$$

-%ANI: Porcentaje de Amonio

-T: Temperatura en °C

-FI: Fuerza molal iónica

-S: Salinidad (g/kg)

-pH: Logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno

-pK: Logaritmo negativo de la constante de ionización para una salinidad determinada

-[NH₃]: Concentración de Amoníaco (mg/L)

-[(NH₄)⁺]: Concentración de Amonio (mg/L)

Anexo 5: Protocolo utilizado para el análisis del Amonio (NH₄)⁺, método de Bendsechneider y Robinson (1952).

Reactivos:

Solución madre de sulfato de amonio:

Disolver 0.05 g de sulfato de amonio grado analítico en 500 ml de agua destilada. Adicionar 0.5 ml de cloroformo como conservador y guardar en una nevera.

Solución de Fenol:

Disolver 4 g de fenol en 40 ml de alcohol etílico al 95%.

Nitroprusiato de sodio:

Disolver 0.2 g de nitroprusiato (Na₂[Fe(CN)5NO]-2H₂O) en 40 ml de agua destilada.

Reactivo Oxidante:

20 ml de reactivo alcalino + 5 ml de hipoclorito de sodio

-Reactivo alcalino: 20 g de citrato de sodio + 1 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 100 ml de agua destilada.

-Hipoclorito de sodio: utilizar cloro o lejía comercial (solución próxima a 1.5 N).

Agua de mar libre de amonio:

1a. Tomar 10 ml de muestra.

1b. Utilizar como blanco 10 ml de agua como blanco de estándares

1c. Preparar a partir de una solución madre por lo menos 4 estándares de sulfato de amonio (por triplicado) en agua de mar libre de amonio, en este caso de 0.2, 0.3, 0.6, 0.9, 1.5, 3, 4.5, 6 y 8 ppm.

2. Añadir 400 µl de fenol como conservador hasta el análisis, hasta 2 semanas.

3. Añadir a cada tubo de ensayo, en este orden, 400 µl de nitroprusiato de sodio y 1000 µl de reactivo oxidante, agitando después de cada adición.

4. Tapar los tubos de ensayo y dejar incubar por una hora (20 - 27 °C).

5. Leer la extinción a 640 nm en un espectrofotómetro, utilizando celdas de 1 cm.

6. Corregir el error para el blanco y realizar una regresión lineal con el resultado de los estándares. Calcular la concentración de (NH₄)⁺ para las muestras con la ecuación de los mínimos cuadrados.

$$Y = a + bX$$

Donde a es la ordenada al origen y b es la pendiente. La X es la absorbancia de la muestra y la Y es la concentración en ppm.

Anexo 6: Ficha de evaluación del comportamiento.

Tratamiento:					
Fecha:			Hora:		
Tiempo	Actividad	Número de Individuos	Tiempo	Actividad	Número de Individuos
00:00:00			00:46:00		
00:02:00			00:48:00		
00:04:00			00:50:00		
00:06:00			00:52:00		
00:08:00			00:54:00		
00:10:00			00:56:00		
00:12:00			00:58:00		
00:14:00			01:00:00		
00:16:00			01:02:00		
00:18:00			01:04:00		
00:20:00			01:06:00		
00:22:00			01:08:00		
00:24:00			01:10:00		
00:26:00			01:12:00		
00:28:00			01:14:00		
00:30:00			01:16:00		
00:32:00			01:18:00		
00:34:00			01:20:00		
00:36:00			01:22:00		
00:38:00			01:24:00		
00:40:00			01:26:00		
00:42:00			01:28:00		
00:44:00			01:30:00		

Anexo 7: Pruebas de Hipótesis Marginales (SC Tipo III) donde se indica las diferencias significativas para cada una de las variables biométricas entre los 0, 60 y 90 días (para RGR, SGR y FCA entre 15, 60 y 90 días).

	Peso			Longitud		
	F value	P value	Significancia	F value	P value	Significancia
T5	5.34	0.0465	*	1.65	0.2677	n.s.
T10	18.06	0.0029	*	73.97	0.0001	*
T15	71.98	0.0001	*	87.56	<0.0001	*
T20	20.93	0.0020	*	22.55	0.0016	*

	TSA			BSA		
	F value	P value	Significancia	F value	P value	Significancia
T5	2.00	0.2162	n.s	1.71	0.2585	n.s.
T10	26.75	0.0010	*	24.06	0.0014	*
T15	24.22	0.0013	*	26.00	0.0011	*
T20	14.25	0.0053	*	10.90	0.0100	*

	RGR			SGR		
	F value	P value	Significancia	F value	P value	Significancia
T5	1.67	0.2657	n.s	1.43	0.3109	n.s.
T10	4.15	0.0740	*	17.24	0.0033	*
T15	10.78	0.0103	*	0.28	0.7645	n.s
T20	12.99	0.0066	*	0.22	0.8065	n.s

	K			AC%		
	F value	P value	Significancia	F value	P value	Significancia
T5	2.10	0.2041	n.s.	5.38	0.0460	*
T10	13.82	0.0057	*	30.43	0.0007	*
T15	5.78	0.0399	*	62.91	0.0001	*
T20	4.19	0.0727	n.s.	8.32	0.0186	*

	FCA		
	F value	P value	Significancia
T5	0.44	0.6637	n.s.
T10	0.07	0.9327	n.s.
T15	0.40	0.6844	n.s.
T20	0.55	0.6020	n.s.

Anexo 8: Medias de Peso con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	32.33	2.05	A	33.90	4.30	A
60	53.49	9.50	A B	57.37	4.30	A B
90	63.91	12.40	B	69.92	4.30	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	32.81	1.82	A	33.70	3.18	A
60	53.61	1.82	B	51.81	3.18	A
90	63.07	1.82	C	62.52	3.18	B

Anexo 9: Medias de Longitud con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	13.39	1.03	A	13.52	0.04	A
60	15.29	1.03	A	15.58	0.21	B
90	15.95	1.03	A	16.44	0.38	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	13.17	0.16	A	13.41	0.26	A
60	15.07	0.03	B	15.01	0.26	B
90	15.92	0.15	C	15.88	0.26	B

Anexo 10: Medias de TSA con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	57.06	9.05	A	57.25	2.86	A
60	77.55	9.05	A	78.41	2.86	B
90	80.58	9.05	A	85.74	2.86	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	56.78	3.08	A	57.54	2.50	A
60	71.04	0.88	B	69.47	2.50	B
90	79.37	1.54	C	76.17	2.50	B

Anexo 11: Medias de BSA con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	48.78	7.21	A	47.88	2.50	A
60	64.41	7.21	A	64.42	2.50	B
90	65.72	7.21	A	71.80	2.50	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	48.50	1.69	A	48.92	2.07	A
60	60.32	1.69	B	57.45	2.07	B
90	65.23	1.69	B	62.45	2.07	B

Anexo 12: Medias de RGR con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
15	30.51	19.13	A	28.03	18.29	A
60	63.03	19.13	A	70.50	18.29	A B
90	78.98	19.13	A	102.24	18.29	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
15	15.19	12.12	A	15.39	9.59	A
60	64.83	12.12	B	49.78	9.59	B
90	93.87	12.12	B	84.50	9.59	C

Anexo 13: Medias de SGR con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
15	1.71	0.64	A	2.62	0.25	A
60	0.78	0.23	A	0.88	0.25	B
90	0.63	0.14	A	0.76	0.25	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
15	0.92	0.36	A	0.93	0.39	A
60	0.82	0.13	A	0.67	0.10	A
90	0.73	0.09	A	0.68	0.07	A

Anexo 14: Medias de K con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	1.30	0.07	A	1.28	0.08	A
60	1.40	0.07	A	1.40	0.01	A
90	1.49	0.07	A	1.47	0.01	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	1.31	0.03	A	1.26	0.09	A
60	1.45	0.03	B	1.41	0.01	A
90	1.43	0.03	B	1.47	0.03	A

Anexo 15: Medias de AC% con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	1.39	0.11	A	0.71	0.02	A
60	1.18	0.11	A B	1.16	0.06	B
90	0.89	0.11	B	1.07	0.12	B

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
0	0.67	0.04	A	0.56	0.11	A
60	1.22	0.04	B	1.11	0.11	B
90	1.11	0.04	B	1.14	0.11	B

Anexo 16: Medias de FCA con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

T5				T10		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
15	1.36	0.56	A	1.23	0.42	A
60	2.04	0.56	A	1.36	0.42	A
90	1.95	0.56	A	1.45	0.42	A

T15				T20		
Día	Medias	E.E.	Diferencias	Medias	E.E.	Diferencias
15	1.73	0.56	A	1.66	0.55	A
60	1.23	0.16	A	1.49	0.16	A
90	1.22	0.10	A	1.33	0.09	A