



Universidad Austral de Chile

Escuela de Acuicultura y Pesquerías

Crecimiento y desarrollo larvario y post-larvario de Corvina (*Cilus gilberti*) en ambiente controlado. La temperatura y dieta como factores de estudio.

Tesis para optar al Título de ingeniero
en Acuicultura

Profesor Patrocinante: Dr. Iker Uriarte
Merino. Instituto de Acuicultura

Omar Ignacio Vía Uribe

Puerto Montt, Chile

2015

Agradecimientos

A mis padres y hermana, que han sido la base para poder lograr este objetivo, entregándome todo su amor y fuerza para poder lograr esta meta estando lejos y extrañándonos permanentemente.

A toda mi linda familia, abuelos, tíos, primos ya que cada uno de ellos aportó de una u otra manera en la realización de mis estudios universitarios.

A mi compañera de vida, amiga y amada Pauli, que has estado conmigo prácticamente desde el principio y juntos hemos ido sobrepasando cada obstáculo que se nos ha presentado en esta larga carrera, además de la linda experiencia que fue vivir en la cuarta región por casi tres meses realizando nuestro experimento de tesis.

A mis amigos de la U y de la vida, que sin lugar a dudas hemos vivido experiencias inolvidables en esta etapa de nuestras vidas.

Al equipo del Hatchery de Invertebrados Marinos de la Universidad Austral de Chile, en especial a mi profesor patrocinante Dr. Iker Uriarte por entregar las herramientas necesarias en el área de investigación.

Al equipo del Centro de Desarrollo y Transferencia Tecnológica Tongoy y de Fundación Chile por el apoyo y traspaso de conocimientos en esta aventura que fue establecerse en una ciudad desconocida y realizar la primera experiencia cultivando peces.

Al proyecto INNOVA 09PDAC-6912-01 Corvina, por el financiamiento de la tesis.

Sin ustedes nada hubiera sido posible, eternamente agradecido.

Índice

Índice	2
Resumen	3
Abstract.....	6
Introducción.....	8
Hipótesis.....	12
Objetivos.....	13
1 Objetivo general	13
2 Objetivos específicos	13
Metodología	14
1 Área de estudio	14
2 Obtención de huevos y larvas.....	14
3 Experimento 1	14
4 Experimento 2	17
5 Experimento 3	18
6 Parámetros físico-químicos.....	19
7 Toma de muestras.....	20
8 Análisis estadístico	23
Resultados	25
1 Experimento 1	25
2 Experimento 2	33
3 Experimento 3	36
Discusión	40
Conclusión.....	43
Bibliografía	47
Anexos.....	50

Resumen

El trabajo se desarrolló con larvas de Corvina de la especie *Cilus gilberti*, a través de un experimento en el Hatchery de Tongoy de la Fundación Chile. Mientras que la histología de las larvas se realizó en el Departamento de Química, de la Universidad Austral de Chile, en Valdivia.

Se realizaron tres experimentos: En el experimento 1, se trabajó con larvas recién eclosionadas hasta 20 días después de la eclosión (DDE), donde se probaron dos factores: dieta y temperatura. La dieta consistió en 3 formulaciones de rotíferos enriquecidos con: Da) Origreen (OG); Db) fórmula de Fundación Chile (FCh) y Dc) fórmula de Fundación Chile + *Chaetoceros calcitrans* (FCh+Cc). El factor temperatura consistió en probar 2 rangos (T1: 19 ± 1 °C y T2: 22 ± 1 °C). Los resultados mostraron que la tasa de crecimiento no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) por el efecto de la temperatura, de la dieta y tampoco por la interacción dieta-temperatura. A su vez en esta etapa no mostró SGR (tasa específica de crecimiento) ya que no hubo crecimiento exponencial. Por su parte, la sobrevivencia no fue afectada por la dieta ni la interacción dieta-temperatura, pero si se vio afectada por la temperatura. Por otra parte, el análisis histológico mostró que el hígado, a medida que aumentaba la edad de la larva, aumentaba el tamaño de éste órgano de forma similar en todos los tratamientos. Mientras que la observación del hígado mostró que la aparición del nucléolo está relacionada con la temperatura y la dieta.

En el experimento 2, se trabajó con larvas desde 25 hasta 50 DDE, donde se probaron dos temperaturas (T1: 18 ± 1 °C y T2: 22 ± 1 °C). En este caso, la tasa de crecimiento presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) con $0,62$ mm dia^{-1} para larvas cultivadas a 18 ± 1 °C y $1,07$ mm dia^{-1} para larvas cultivadas a 22 ± 1 °C. El SGR a su vez mostró diferencias significativas de $9,6\%$ dia^{-1} para larvas cultivadas a 18 ± 1 ° C y de $15,74\%$ dia^{-1} para larvas cultivadas a 22 ± 1 °C. Por su parte, la sobrevivencia presentó diferencias significativas con $67,88\%$ para larvas cultivadas a 18 ± 1 ° C y $9,91\%$ para larvas cultivadas a 22 ± 1 ° C.

En el experimento 3, se trabajó con juveniles desde 83 hasta 108 DDE, donde se probaron dos dietas, (Da: alimento pelletizado y Db: alimento microencapsulado) la tasa de crecimiento presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) con $0,09$ mm dia^{-1} para juveniles alimentados con pellet y $0,03$ mm dia^{-1} para juveniles alimentados con microencapsulado. El SGR para las larvas alimentadas con pellet fue de $11,03 \pm 2,41\%$ dia^{-1} , mientras que las alimentadas con microencapsulado no mostraron crecimiento en peso. La sobrevivencia a su vez presentó diferencias significativas con $99,18\%$ para juveniles alimentados con pellet y de $25,51\%$ para juveniles alimentados con microencapsulado.

En conclusión, para el experimento 1, los factores probados no provocaron un efecto significativo en el crecimiento de las larvas, sólo la temperatura provocó un efecto sobre la sobrevivencia, el hígado crece de manera similar en todos los tratamientos, sin embargo la presencia de nucléolo está relacionada con la dieta y la temperatura. En el experimento 2, se logra un crecimiento mayor a una temperatura más elevada sin

embargo la sobrevivencia se ve afectada negativamente. En el experimento 3 la dieta pelletizada es la que logra un mejor crecimiento y sobrevivencia.

Abstract

The work was developed with larvae of Corvina (*Cilus gilberti*), through a experiment at the Hatchery Tongoy of "Fundación Chile". While larval histology was performed at the Department of Chemistry, Universidad Austral de Chile in Valdivia.

Three experiments were conducted: In Experiment 1, we worked with recently hatched up to 20 days after hatching (DAH), where larvae were tested two factors: diet and temperature. The diet consisted of 3 formulations of rotifers enriched with: Da) Origreen (OG); Db) Fundación Chile formula (FCh) and Dc) Fundación Chile formula + *Chaetoceros calcitrans* (FCh + Cc). The temperature factor was to test two ranges (T1: 19 ± 1 ° C and T2: 22 ± 1 ° C).

The results showed that the growth rate was not significantly different ($p > 0.05$) for the effect of temperature, diet, nor by diet-temperature interaction. In turn at this stage no showed SGR (specific growth rate) because there was not exponential growth. For its part, the survival was not affected by diet or diet-temperature interaction, but it was affected by temperature. Moreover, histological analysis showed that the liver, with increasing age of the larva, increased the size of this body similarly in all treatments. While the observation of that liver showed the appearance of the nucleolus which is related to temperature and diet.

In Experiment 2, we worked with larvae 25-50 DAH, where two temperatures were tested (T1: 18 ± 1 ° C and T2: 22 ± 1 ° C). In this case, the growth rate showed significant differences ($p < 0.05$) with 0.62 mm day^{-1} larvae grown at 18 ± 1 ° C and 1.07 mm day^{-1} larvae grown at 22 ± 1 ° C. The SGR turn showed significant differences of

9.6% day⁻¹ for larvae grown at 18 ± 1 ° C and 15.74% day⁻¹ for larvae grown at 22 ± 1 ° C. For its part, the survival significantly different to 67.88% for larvae grown at 18 ± 1 ° C and 9.91% for larvae grown at 22 ± 1 ° C.

In experiment 3, we worked with juvenile 83-108 DHA where two diets were tested (Da: pelletized food and Db: microencapsulated food) growth rate showed significant differences ($p < 0.05$) 0.09 mm day⁻¹ for juveniles fed pellet and 0.03 mm day⁻¹ for fed microencapsulated juveniles. The SGR for larvae fed pellet was 11.03% ± 2.41 day⁻¹, while fed with microencapsulated showed no growth in weight. Survival in turn significantly different to 99.18% for juveniles fed pellets and 25.51% for juveniles fed microencapsulated.

In conclusion, For Experiment 1, the factors tested did not cause a significant effect on larval growth , only the temperature caused an effect on survival , liver grows similarly in all treatments , however the presence of nucleolus is related to diet and temperature.

In experiment 2, further growth is achieved at a higher temperature but survival is negatively affected.

In experiment 3 the pelleted diet is the one that achieves better growth and survival.

Introducción

La acuicultura Chilena está mayoritariamente basada en la producción de peces, específicamente de Salmónidos de diferentes especies introducidas como el Salmón del Atlántico (*Salmo salar*), Salmón del Pacífico (*Oncorhynchus kisutch*), Salmón Rey (*Oncorhynchus shawytscha*) y la Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*), muy por debajo le siguen la producción de moluscos y algas. La producción comercial de peces marinos en Chile se ha desarrollado a nivel experimental principalmente en dos especies como son el Lenguado (*Paralichthyes adspersus*) y el Turbot (*Scophthalmus maximus*) en el centro del país (FAO. 2005).

Si se toma en cuenta la variada costa que tiene Chile, con una superficie de 4.337 km de largo (OCDE. 2009) y variados climas que van desde el desértico costero en el norte hasta el clima polar hacia el polo sur, Chile tiene un gran potencial para desarrollar acuicultura en una gran variedad de especies.

En la actualidad, existe un Programa de diversificación de la acuicultura Chilena que tiene por objetivo contribuir al desarrollo de nuevas industrias basadas en nuevos cultivos y comercialización de especies marinas de alto potencial exportador, mediante el desarrollo de programas integrados por especie.

Bajo el alero de dicho programa, es que se realiza investigación en la actualidad en alrededor de 60 especies diferentes en toda su variedad, tanto en peces, moluscos, crustáceos, equinodermos y algas. Dentro de éstas, se encuentra la Corvina (*Cilus gilberti*) bajo el Programa de Diversificación de la Acuicultura Chilena (PDACH) de

Corvina desarrollado por Fundación Chile y ejecutado en conjunto con la Universidad Austral de Chile, Universidad Católica del Norte y la Universidad Arturo Prat. Este Programa tiene por objetivo desarrollar tecnologías de cultivo en ambiente controlado para producir Corvinas a escala piloto, con la finalidad de que se proyecte a mediano plazo hacia un escalamiento industrial y que ello contribuya efectivamente con la diversificación de la acuicultura de especies nativas en Chile. Este programa se divide tres etapas: a) instalación, b) puesta en marcha y c) primer desarrollo.

Para la especie en cuestión, el programa conduce a una protocolización de una tecnología de cultivo ambientalmente sustentable, tecnológico y comercialmente maduro para el desarrollo acuícola de la Corvina (Fundación Chile. 2013). De esta manera, es que la Fundación Chile y las instituciones del programa a través de especialistas, técnicos y estudiantes tesistas, ha logrado llevar a cabo el cultivo a escala piloto de juveniles de corvina. Lo que ha llevado a formular una simple pregunta cómo es: ¿se puede aún mejorar el cultivo de larvas, respecto de la tecnología de producción que actualmente se encuentra en fase piloto? Para esto es que, bajo el programa, se desarrolla esta tesis en el proyecto INNOVA 09PDAC-6912-01 Corvina cuyo objetivo es optimizar la alimentación y nutrición de larvas hasta juveniles, que es donde se producen importantes mortalidades, y que principalmente se deben además del manejo, a factores ambientales y principalmente la alimentación.

Es bien conocido que en el ambiente, la supervivencia de las larvas presenta altas fluctuaciones, debido a múltiples factores que provocan valores de supervivencia desde 10% hasta 0,1%. Estos factores se pueden dividir en: 1) factores externos y 2) factores

internos. 1) Los factores externos se pueden subdividir en dos grupos: a) los físicos, como la temperatura, la iluminación, el flujo de agua, corrientes, etc., y b) los químicos, como el oxígeno disuelto, el amonio, la salinidad, el pH, etc., que pueden ser considerados algunos de los más limitantes para la supervivencia y crecimiento. 2) En el caso de los factores internos, pueden ser subdivididos en cuatro tipos: a) los genéticos, los cuales son conferidos por los padres a través del material genético heredado, b) los etológicos, que se relacionan directamente con el comportamiento alimenticio y procesos de escape para evitar ser capturada, c) los biológicos, donde la competencia y la depredación rigen su supervivencia y d) los nutricionales, los cuales conferirán a la larvas la energía necesaria para mantener su metabolismo, crecer y asegurar su supervivencia (Cerezedo et al. 2004).

Entonces, es con la nutrición que se busca satisfacer las necesidades energéticas para asegurar el crecimiento, desarrollo de las larvas y así alcancen las siguientes fases para completar el cultivo o cerrar el ciclo de una especie en particular. Los requerimientos bioenergéticos aportados por las dietas para llevar a cabo el desarrollo, tanto en la fase larvaria como juvenil e incluso adulta, se consiguen si se cuenta con un alimento nutricionalmente balanceado y adaptado a las sucesivas transformaciones morfológicas e incremento en talla (Dantagnan et al. 2007), ya que estos peces tienen un desarrollo ontogénico indirecto, es decir, que tienen diferentes fases: embrionaria, larvaria, juvenil, adulto y senectud van a requerir diferentes tipos de presa sobre todo en las fases larvaria y postlarvaria, donde en su ambiente natural se alimentan de presas vivas, y que en ambiente controlado se espera evaluar no solo presas vivas, sino que también alimento formulado. En este sentido, el desarrollo de micro dietas,

vivas o inertes, capaces de cubrir los requerimientos nutricionales y las necesidades morfológicas que van experimentando durante el crecimiento larval en peces, es uno de los desafíos más importantes de la acuicultura intensiva y semiintensiva, y la cual depende en gran medida del éxito del Hatchery (Dantagnan et al. 2007).

Se realizará una descripción del desarrollo de larvas y postlarvas tanto aplicando criterios morfo métricos externos como internos. Esto asociado a dos factores que serán la temperatura y la dieta. Para tales efectos, se realizarán mediciones de longitud peso seco, sobrevivencia y observación microscópica de preparaciones de cortes histológicos en algunos casos para determinar si algún órgano de reserva acusa el efecto de los tratamientos.

Hipótesis

Ho: La temperatura afecta el rendimiento en larvas de Corvina (*C.gilberti*), cultivados en ambiente controlado, y a su vez, se ve reflejada en la condición hepática de estos organismos.

Ho: Las diferentes dietas afectan el rendimiento en larvas de Corvina (*C.gilberti*), cultivados en ambiente controlado, y a su vez, se ve reflejada en la condición hepática de estos organismos.

Ho: La interacción dieta-temperatura afecta el rendimiento de larvas de Corvina (*C.gilberti*), cultivados en ambiente controlado, y a su vez, se ve reflejada en la condición hepática de estos organismos.

Ho: La temperatura afecta el rendimiento en postlarvas de Corvina.

Ho: La dieta afecta el rendimiento de juveniles de Corvina.

Objetivos

1. Objetivo general

Determinar la temperatura y dieta óptima para reducir los factores de mortalidad y aumentar las tasas de crecimiento de larvas y postlarvas de la corvina (*Cilus gilberti*), cultivadas en ambiente controlado.

2. Objetivos específicos

Determinar el efecto de la temperatura, la dieta, y la interacción dieta-temperatura en el rendimiento de larvas de *Cilus gilberti* recién eclosionadas hasta los 20 DDE.

Determinar que órgano y/o células son indicadores del efecto de los diferentes tratamientos de temperatura y dieta.

Determinar el efecto de la temperatura en el rendimiento de postlarvas de *Cilus gilberti* entre los 25 a 50 DDE.

Determinar el efecto de la dieta en el rendimiento de juveniles de *Cilus Gilberti* entre los 83 a 108 DDE.

Metodología

1. Área de estudio

El trabajo experimental de cultivo se llevó a cabo en el Centro de Desarrollo y Transferencia Tecnológica Tongoy (CDTT). Ubicado en la ciudad de Tongoy en la región de Coquimbo (30°15'22.6" latitud sur y 71°30'23.5" longitud oeste) dicho centro perteneciente a Fundación Chile, la cual cuenta con una sala I+D para fines experimentales.

2. Obtención de huevos y larvas

La obtención de huevos se realizó utilizando reproductores acondicionados de la especie *Cilus gilberti*, mediante un desove espontáneo en el mes de diciembre de 2013. Estos huevos fueron recolectados y luego incubados en estanques troncocónicos de 80 litros con flujo abierto de agua de mar manteniendo una temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$ durante tres días hasta la eclosión de larvas son saco vitelino, las cuales se utilizaron en los diferentes experimentos de dieta y temperatura del presente trabajo.

3. Experimento 1

El diseño experimental fue factorial de 2 vías, donde los factores fueron la temperatura: T1; $19 \pm 1^\circ\text{C}$, T2; $22 \pm 1^\circ\text{C}$ y el tipo de dieta que consistió en 3 formulaciones de rotíferos enriquecidos con: Da) Origreen (OG); Db) fórmula de Fundación Chile (FCh) y Dc) fórmula de Fundación Chile + *Chaetoceros calcitrans* (FCh+Cc). Contando de esta manera con 6 combinaciones distintas de tratamientos con 3 réplicas para cada uno,

distribuyéndolos al azar en 18 estanques troncocónicos de fibra de vidrio de 220 litros sembrando 6930 larvas en cada uno (Fig.1).

El experimento se llevó a cabo en el periodo de alimentación con rotíferos, es decir desde el día 3 hasta el día 20 DDE. En esta etapa de cultivo se utilizó la técnica de agua verde adicionando microalgas del género *Nannochloropsis* en el caso de los tratamientos con dieta Da y Db, mientras que en el tratamiento con dieta Dc, se utilizó microalgas de la especie *Chaetoceros calcitrans*. Para calcular la cantidad óptima de microalgas en cada estanque, se utilizó como parámetro la turbidez provocada por la adición de microalgas, es decir que la coloración del agua de cultivo no permita ver el fondo de los estanques.

Se realizaron mediciones periódicas de los parámetros físico-químicos de cultivo, los cuales correspondieron a temperatura medida: T1; $20,6 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$, T2; $22,2 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$, oxígeno disuelto: $8,19 \pm 0,4$ mg/l, salinidad: $30,58 \pm 0,6$ ppt, pH: $8,61 \pm 0,1$, amonio: $0,03 \pm 0,02$ ppt e intensidad lumínica: $486,78 \pm 15,8$ lux.

Enriquecimiento de Rotíferos

Origreen: Para enriquecer los rotíferos utilizando este producto comercial, se agregó la formulación a los rotíferos y se mantuvo por dos horas y treinta minutos para lograr el efecto deseado de enriquecimiento.

FCh: Para enriquecer los rotíferos usando esta formulación elaborada por Fundación Chile Tongoy, esta se agregó a los rotíferos y se mantuvo por dos horas y treinta minutos para lograr el enriquecimiento.

FCh+Cc: Para enriquecer los rotíferos con esta mezcla se agregó la formulación FCh por una hora, luego se lavaron los rotíferos y se adicionaron diatomeas a una alta concentración de la especie *Chaetoceros calcitrans* durante una hora y treinta minutos para lograr la incorporación de ambos.

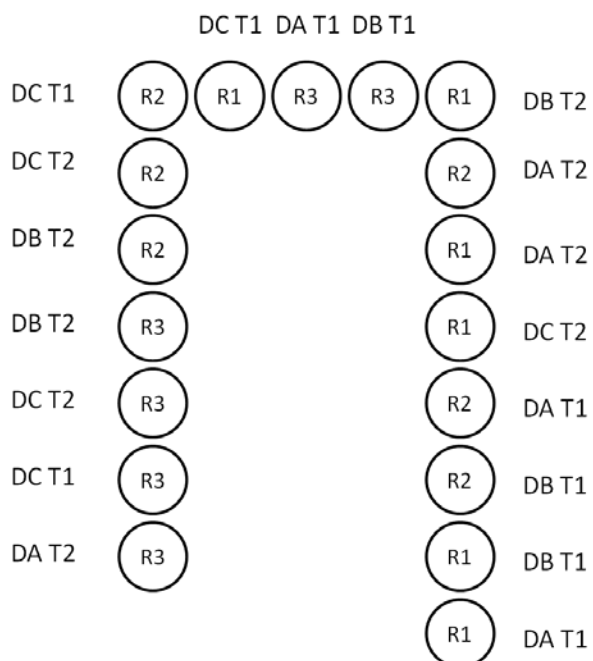


Figura. 1: *Cilus gilberti*. Diseño experimental Experimento 1 donde DA: dieta enriquecida Origreen, DB: dieta enriquecida FCh, DC: dieta enriquecida FCh+*Chaetoceros*, T1: 19±1°C, T2: 22±1°C. Rn: réplica. En tal caso, la distribución de los estanques en la sala de cultivo con los diferentes tratamientos fue al azar.

Alimentación

La alimentación se realizó a saciedad, manteniéndose una concentración de rotíferos constante en el agua, tomando muestras de cada estanque y agregando la cantidad de rotíferos que sea necesaria para mantener una concentración lo más constante posible y asegurar la disponibilidad de alimento, partiendo con 2 rotíferos/ml hasta llegar a 8 rotíferos/ml.

4. Experimento 2

El diseño del experimento fue de un factor, dicho factor fue la temperatura: T1; $18\pm 1^{\circ}\text{C}$, T2; $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, utilizando una dieta única de nauplios de *Artemia salina* enriquecidos con una formulación comercial (Algamac 3050). Contando de esta manera con 2 tratamientos con 3 réplicas para cada uno, distribuyéndolos al azar en 6 estanques troncocónicos de fibra de vidrio de 220 litros, sembrando 230 larvas de la edad de 25 DDE en cada uno (Fig. 2). Dichas larvas fueron las resultantes del experimento 1, las cuales fueron previamente mezcladas manteniendo siempre las temperaturas de cultivo T1 y T2. Este experimento finalizó a la edad de 50 DDE.

Se realizaron mediciones periódicas de los parámetros físico-químicos de cultivo, los cuales correspondieron a las temperaturas medida: T1; $18,9\pm 0,9^{\circ}\text{C}$, T2; $22,5\pm 0,4^{\circ}\text{C}$, oxígeno disuelto: $8,19\pm 0,4$ mg/l, salinidad: 36 ppt, pH: $8,75\pm 0,06$, amonio: $0,03\pm 0,03$ ppt e intensidad lumínica: $475,17\pm 21,5$ lux.

Enriquecimiento de Artemias

Se utilizó Algamac 3050, agregándolo a las Artemias durante 2 horas y media previa a la alimentación.

Alimentación

La alimentación se realizó a saciedad, procurando mantener siempre una concentración de nauplios de *Artemia* adecuada en cada estanque, utilizando 3 nauplios/ml y desde 32 DDE agregando 0,6 g/estanque/día de pellet calibre 0,2 hasta llegar a 4 g/estanque/día a 48 DDE.

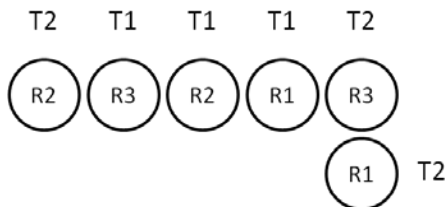


Figura 2: Diseño experimental Experimento 2 donde T1: $18\pm 1^{\circ}\text{C}$, T2: $22\pm 1^{\circ}\text{C}$. Rn: réplica.

5. Experimento 3

En este experimento, el diseño experimental constó de un factor, la dieta. Dieta A (Da) correspondiente al alimento comercial pelletizado para peces marinos BioMar calibre 1mm y Dieta B (Db) correspondiente a un micro encapsulado calibre 1mm elaborado en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Austral de Chile. Se contó con 2 tratamientos con 3 réplicas cada uno, distribuyéndolos al azar en 6 estanques

truncocónicos de fibra de vidrio de 220 litros, sembrando 200 juveniles de 83 DDE en cada uno (Fig. 3) procedentes de cultivo masivo del Nursery del CDTT Tongoy.

Se realizaron mediciones periódicas de los parámetros físico-químicos de cultivo, los cuales corresponden a temperatura: $18,70 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, oxígeno disuelto: $8,64 \pm 0,3$ mg/l, salinidad: 36 ppt, pH: $8,62 \pm 0,03$, amonio: 0,05 ppt e intensidad lumínica: $470,3 \pm 31,4$ lux.

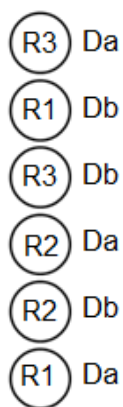


Figura 3: *Cilus gilberti*. Diseño experimental Experimento 3 donde Da: Pellet 1mm, Db: Microencapsulado 1mm. Rn: réplica.

6. Parámetros físico-químicos

Calidad del agua: para la mantención de la calidad del agua se utilizó agua de mar pre filtrada con filtro de arena y un filtro de manga a 10 micrómetros. Además, se realizaron mediciones de Amonio, pH, Salinidad utilizando un LaMotte Test Kit.

Flujo de agua: El flujo de agua de mar se determinó calculando el caudal de ingreso necesario para cada estaque según los requerimientos de recambio de agua necesarios para cada etapa de cultivo.

Temperatura: Para la mantención de la temperatura T1 se utilizó agua de mar a temperatura ambiente, mientras que para la mantención de la temperatura T2 se utilizaron calefactores de inmersión Atman 300. La temperatura se registró a diario utilizando un equipo multiparámetro YSI 85.

Oxígeno: Para la mantención de los niveles de oxígeno alrededor de los 8mg/l, se utilizó flujo abierto de agua en conjunto con un difusor de aire en cada estanque, éste último producido por un Blower. Se registró a diario el oxígeno disuelto utilizando un equipo multiparámetro YSI 85.

Luz: Para la mantención de la intensidad lumínica, cada estanque estaba equipado con un foco que era capaz de ser regulado con un dimer, utilizando la misma intensidad lumínica en todos los tratamientos, cercana a los 500lux al centro del estanque. Para regular la intensidad lumínica se utilizó un luxómetro Lutron LX-101.

7. Toma de muestras

Morfología y crecimiento

Para estimar el crecimiento en talla se tomaron cada 4 días, 4 larvas por cada réplica. La medición de la longitud total (LT), se realizó en larvas vivas bajo una lupa Zeiss equipada con una cámara ZeissAxioCam ICc3 conectada a un computador con el software AxioVision, el cual permite realizar las mediciones en pantalla. Luego se estimó la tasa de crecimiento para cada réplica utilizando la ecuación de la recta $y=ax+b$, utilizando la pendiente (a) para estimar dicha tasa de crecimiento, para cada caso se tomaron 6 larvas por cada réplica, las cuales se congelaron, luego en el HIM-

UACH se liofilizaron durante 48 horas y fueron pesadas nuevamente para obtener el peso real. Luego se estimó el crecimiento en peso con la ecuación presentada en cada caso $y=a^x$ utilizando el exponente (x) para estimar el SGR.

Sobrevivencia

Para estimar la sobrevivencia se utilizó el número final de larvas para cada periodo, corrigiendo el número inicial según la cantidad de larvas extraídas en los diferentes muestreos realizados (N_c).

$$N_c = N_i - N_m$$

Donde:

N_c : Número inicial de larvas corregido.
 N_i : Número inicial de larvas
 N_m : Número de larvas extraídas para los diferentes muestreos.

$$\% Sob = (N_s / N_c) \times 100$$

Donde:

$\% Sob$: Porcentaje de sobrevivencia.
 N_s : Número de larvas que sobrevivieron.
 N_c : Número inicial de larvas corregido.

Histología

Para el experimento 1, se muestrearon larvas de 5, 9 y 13 DDE, se fijaron y conservaron inmediatamente en solución Bouin para la posterior preparación de cortes

histológicos según la técnica de Hematoxilina-eosina (Harris. 1900). A continuación, se realizaron observaciones y mediciones del tejido hepático.

Preparación de cortes histológicos

El proceso se inició con la deshidratación de las muestras a través de una batería de alcoholes pasando por: 70, 80, 96, 100° y terminando con butanol. A continuación, se realizó la infiltración donde se colocó la muestra en parafina líquida (fundida en estufa marca MAMMERT) El siguiente paso, fue la inclusión donde se tomó un molde para inclusión, se llenó con parafina líquida y se colocaron las muestras en dicho molde el que da origen al bloque de parafina con las muestras en su interior. Luego se realizó la microtomía con un micrótopo manual marca JUNG en el cual se colocó el bloque de parafina y se realizaron cortes sagitales de un espesor de 5 micrómetros, estos cortes se tomaron y se ingresaron a un baño termoregulado marca CSE a 20°C para estirar el corte y recogerlo con un portaobjeto, A continuación, se realizó un desparafinado y un hidratado pasando por alcoholes pasando por 100, 96, 70°. El último paso de la preparación fue la tinción con la técnica de hematoxilina-eosina, y finalmente sellar usando un medio de montaje.

El análisis de los cortes histológicos se realizó en el HIM-UACH utilizando una lupa ZeissStemi 200-C con una cámara AxioCam ICc3 con el software AxioVision para poder realizar las mediciones del tamaño del hígado (Anexo 25) y un microscopio Olympus CX21 para identificar la presencia de nucléolos en los hepatocitos.

8. Análisis estadístico

Crecimiento LT (Largo total)

Para el análisis estadístico se ingresaron los datos de crecimiento largo total (LT) en una hoja de cálculo utilizando Microsoft Office Excel, luego se confeccionaron un gráfico para cada tratamiento, para elaborar una ecuación de la recta para cada réplica y así poder utilizar la pendiente como la tasa de crecimiento diario (Anexo 1,9 y 17). Luego, teniendo las tasas de crecimiento se les aplicó una regresión lineal para determinar si el crecimiento era significativo con un $p < 0,05$.

Se aplicó un test de homogeneidad de varianzas (Hartley-Cochran) (Anexo 2, 10 y 18) y luego, se aplicó, a las tasas de crecimiento un ANOVA factorial de dos vías para el experimento 1 (Anexo 3) y ANOVA de una vía para los experimentos 2 y 3 (Anexo 11 y 19), para estimar si los tratamientos provocaron diferencias significativas, utilizando el software Statistica.

SGR

Se ingresaron los datos de crecimiento en peso en una hoja de cálculo utilizando Microsoft Office Excel, luego se confeccionaron un gráfico para cada tratamiento, para elaborar una ecuación que permita determinar el SGR (Anexo 12) y luego aplicando un ANOVA cuando fuera posible (Anexo 13). En otras ocasiones, se realizó una comparación del peso final obtenido en cada etapa y se le aplicó un ANOVA (Anexo 4 y 5) para ver si existían diferencias significativas en el peso final de los tratamientos y se

realizó una prueba de T (Anexo 20 y 21) para comparar si existían diferencias significativas entre el peso seco inicial y el final.

Sobrevivencia

Se ingresaron los datos de sobrevivencia en una hoja de cálculo utilizando Microsoft Office Excel (Anexo 6), luego para el experimento 1 se aplicó un ANOVA factorial (Anexo 7 y 8) y para el experimento 2 y 3 se aplicó un ANOVA de una vía (Anexo 16 y 23) utilizando el software Statistica.

Crecimiento del hígado y condición metabólica

Se ingresaron los datos del tamaño (área) del hígado (Anexo 25) en una hoja de cálculo utilizando Microsoft Office Excel, luego se elaboró para cada tratamiento un gráfico con su respectiva ecuación de la recta para luego realizar una prueba de comparación de pendientes, prueba F. Para determinar el nivel de actividad metabólica se analizaron las células hepáticas buscando identificar la presencia de nucléolo en el núcleo celular, estos datos se analizaron por edad, temperatura y dieta aplicando una prueba de Chi cuadrado para determinar si hay una relación entre la presencia de nucléolo, la dieta y la temperatura.

Resultados

1. Experimento 1

Crecimiento en longitud

En esta fase de desarrollo de larvas de corvina hasta 20 DDE, las tasas de crecimiento fueron similares en todos los casos, por el efecto de la temperatura ($F_{1,12}=0,33$ $p=0,57$), de la dieta ($F_{2,12}=1,21$ $p=0,32$) y de la interacción dieta-temperatura ($F_{2,12}=0,36$ $p=0,70$) sin diferencias significativas en los 6 tratamientos. (Fig. 4) (Anexo 3).

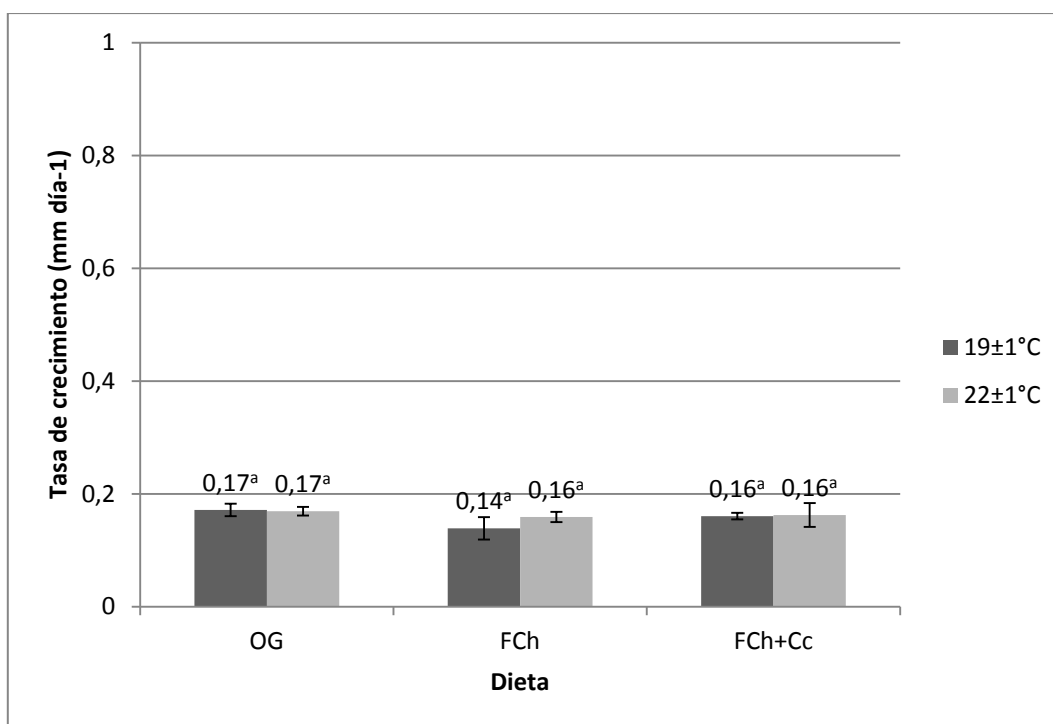


Figura 4. *Cilus gilberti*. Variaciones en las tasas de crecimiento de larvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de dieta (OG= rotíferos enriquecidos con Origreen; FCh= rotíferos enriquecidos con formulación F.Chile; FCh+Cc= rotíferos enriquecidos con formulación F. Chile + *Chaetoceros calcitrans*) y temperaturas (19±1°C y 22±1°C). Barras corresponden a la desviación estándar (n=12) Superíndices con letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos. Superíndices distintos indican que existen diferencias significativas ente los tratamientos.

SGR

No se observó crecimiento en peso de las larvas en esta etapa, los pesos finales fueron iguales a los pesos iniciales (Fig. 5)

La temperatura, la dieta y la interacción dieta-temperatura no provocaron diferencias significativas ($p>0,05$) en el peso final de las larvas en esta etapa de cultivo (Fig. 6)

(Anexo 5)

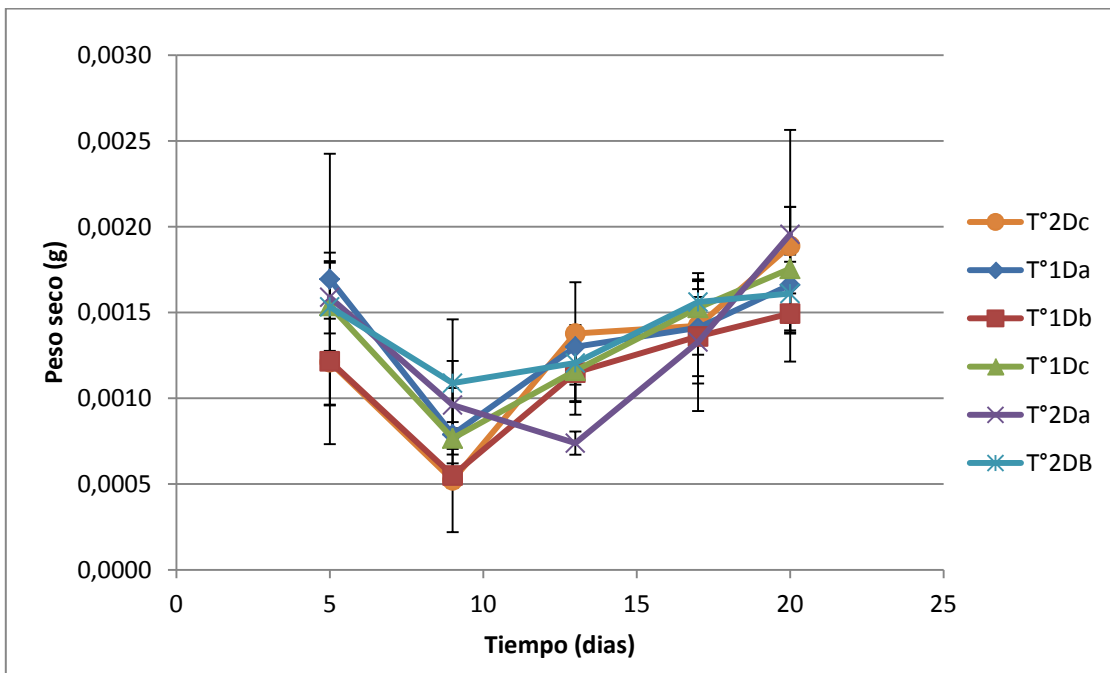


Figura 5. *Cilus gilberti*. Variaciones en el peso seco de larvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de dieta. (Da= rotíferos enriquecidos con Origreen; Db= rotíferos enriquecidos con formulación F.Chile; Dc= rotíferos enriquecidos con formulación F. Chile + *Chaetoceros calcitrans*) y temperaturas (T1:19±1°C y T2:22±1°C). Barras correspondientes a la desviación estándar (n=18).

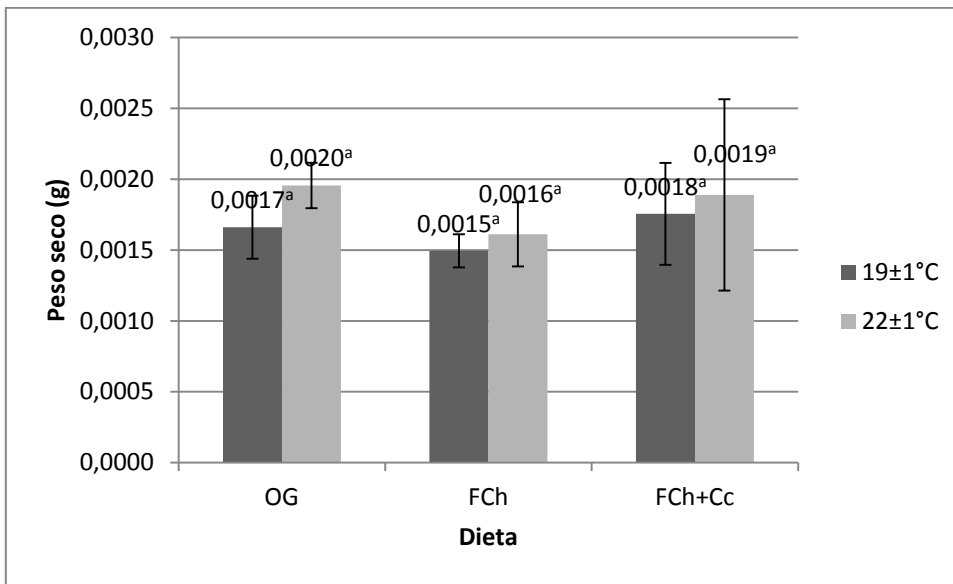


Figura 6. *Cilus gilberti*. Peso seco de larvas de corvina al día 20 DDE sometidas a diferentes tratamientos de dieta. (OG= rotíferos enriquecidos con Origreen; FCh= rotíferos enriquecidos con formulación F.Chile; FCh+Cc= rotíferos enriquecidos con formulación F. Chile + *Chaetoceros calcitrans*) y temperaturas (19±1°C y 22±1°C). Barras correspondientes a la desviación estándar (n=18) Superíndices con letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos. Superíndices distintos indican que existen diferencias significativas ente los tratamientos.

Sobrevivencia

Al final de esta fase de cultivo larvario el porcentaje de sobrevivencia no presentó diferencias significativas en cuanto a la dieta ni con la interacción dieta-temperatura, sin embargo hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en cuanto a la temperatura de cultivo, se obtuvieron mejores sobrevivencias a una temperatura de $19 \pm 1^\circ\text{C}$ respecto de la de $21-22^\circ\text{C}$ (Fig. 7).

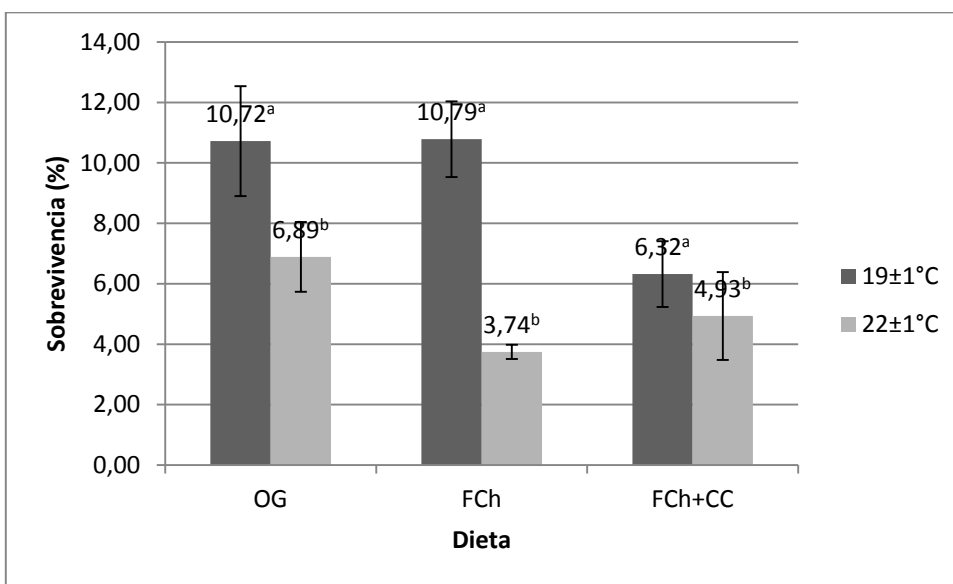


Figura 7. *Cilus gilberti*. Sobrevivencia (%) de larvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de dieta (OG= rotíferos enriquecidos con Origreen; FCh= rotíferos enriquecidos con formulación F.Chile; FCh+Cc= rotíferos enriquecidos con formulación F. Chile + *Chaetoceros calcitrans*) y temperaturas ($19 \pm 1^\circ\text{C}$ y $22 \pm 1^\circ\text{C}$). Barras corresponden a la desviación estándar. Superíndices con letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos. Superíndices distintos indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Crecimiento hígado

El crecimiento del hígado mostró un aumento de tamaño de forma lineal en todos los tratamientos, se realizó una comparación de pendientes o prueba de Fisher (F), que arrojó que las pendientes son iguales (Fig. 8) (Anexo 8.1).

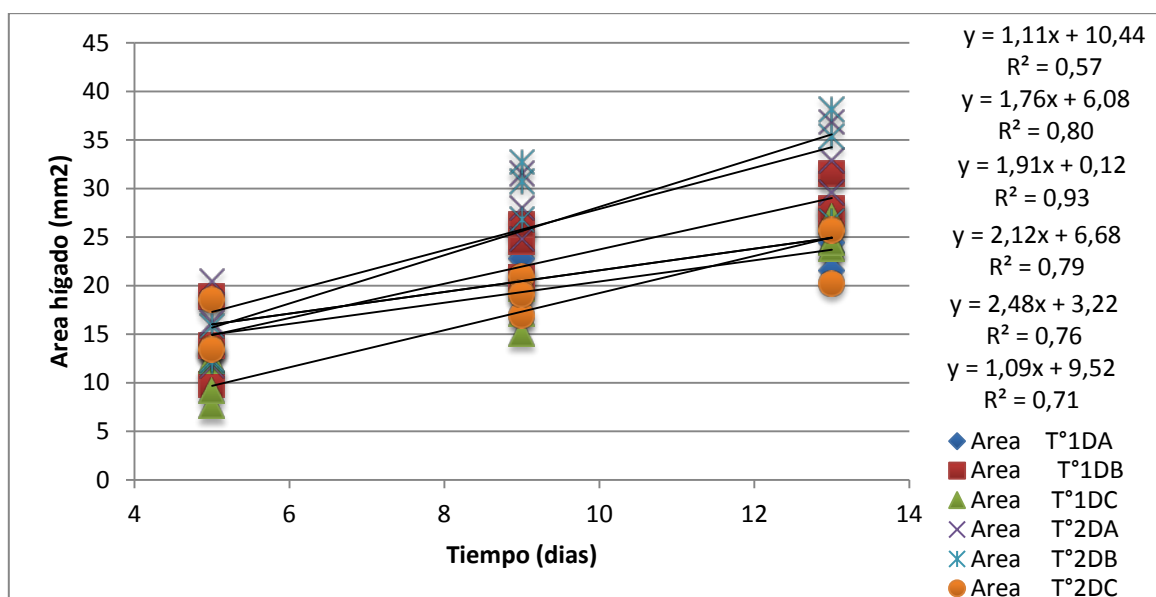


Figura 8: *Cilus gilberti*. Crecimiento del hígado (mm^2) en relación al tiempo de larvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de dieta (OG= rotíferos enriquecidos con Origreen; FCh= rotíferos enriquecidos con formulación F.Chile; FCh+Cc= rotíferos enriquecidos con formulación F. Chile + *Chaetoceros calcitrans*) y temperaturas ($19\pm 1^\circ\text{C}$ y $22\pm 1^\circ\text{C}$). Las regresiones lineales muestran un crecimiento. La prueba de F arrojó que las pendientes son iguales para todos los tratamientos.

Presencia de nucléolo

En las observaciones realizadas a las preparaciones histológicas, se centró el estudio en las células del hígado (Fig. 9 A), pudiendo observar presencia de nucléolo en algunas larvas (Fig. 9 B) mientras que en otras larvas éste no se observa (Fig.9 C).

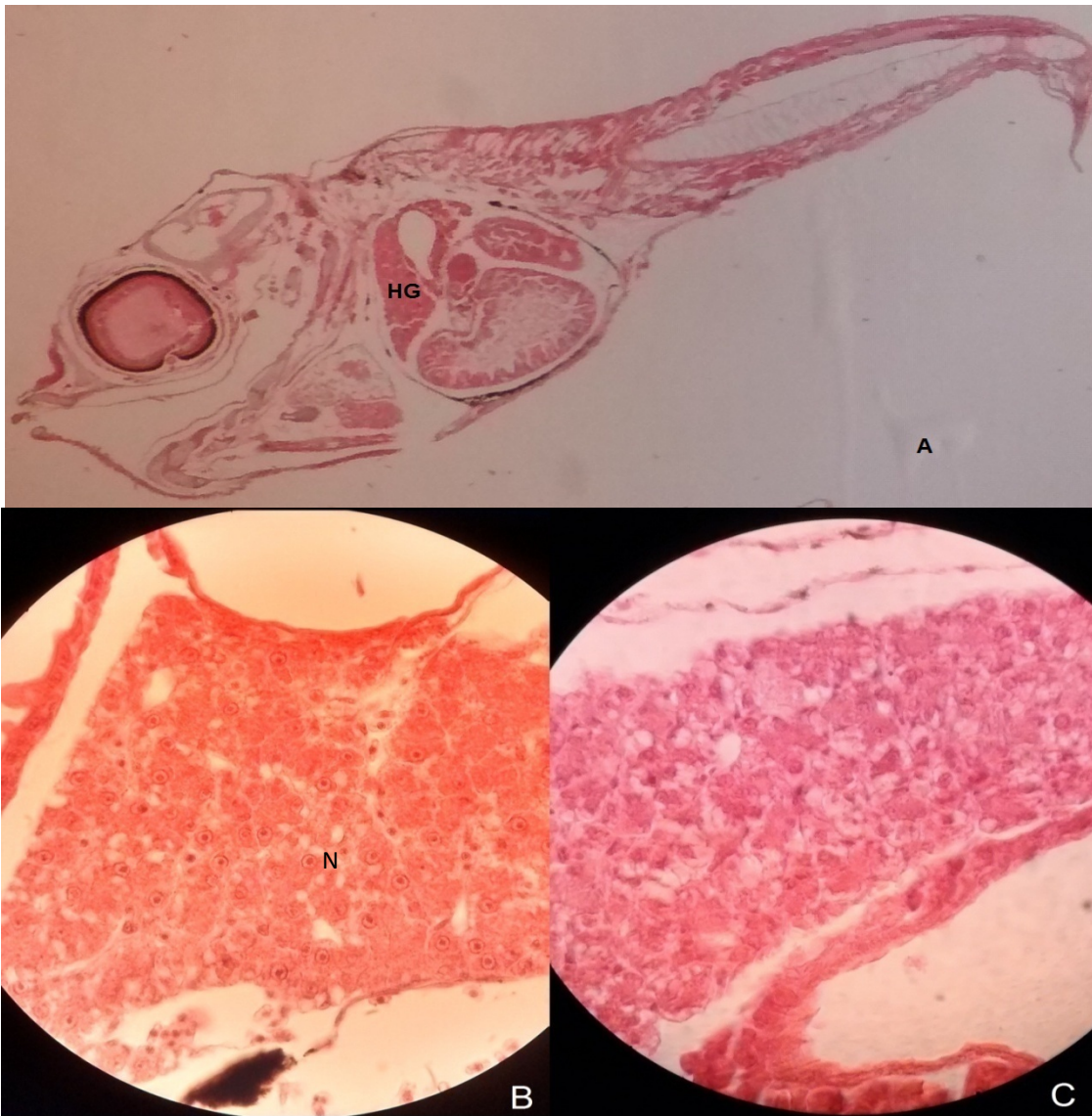


Figura 9. *Cilus gilberti*. A) Larva 13DDE bajo microscopio (4x). B) Larva bajo microscopio (100x) muestra células del hígado, con núcleo bien definido y presencia de nucléolo. C) Larva bajo microscopio (100x) muestra células del hígado con núcleo difuso y sin presencia de nucléolo. Donde HG=Hígado, N=Nucléolo.

A los 5 DDE no se observa presencia de nucléolo en larvas alimentadas con Rotíferos enriquecidos con Origreen (Da), por otra parte se muestra un 75% de las larvas muestran presencia de nucléolo a la temperatura T1 con las dietas Db y Dc y 50% lo muestran con la temperatura T2 (Fig. 10 A). Según el test de Chi cuadrado hay una relación entre la presencia de nucléolo, dieta y temperatura (Anexo 8.2)

A los 9 DDE nuevamente se observa que no existe presencia de nucléolo en larvas alimentadas con Rotíferos enriquecidos con Origreen (Da), por otra parte se muestra que un 75% de las larvas evidencian nucléolo en el tratamiento T1Db y 100% con el tratamiento T1Dc y solo 50% para los tratamientos con la misma dieta pero temperatura T2 (Fig. 10 B). Según el test de Chi cuadrado hay una relación entre la presencia de nucléolo, dieta y temperatura. (Anexo 8.2).

A los 13 DDE todos los tratamientos muestran que el 75% de las larvas evidencian nucléolo a excepción de los tratamientos T1Db y T1Dc, las cuales presentan nucléolo en el 100% de las larvas (Fig. 10 C). Según el test de Chi cuadrado hay una relación entre la presencia de nucléolo, dieta y temperatura. (Anexo 8.2).

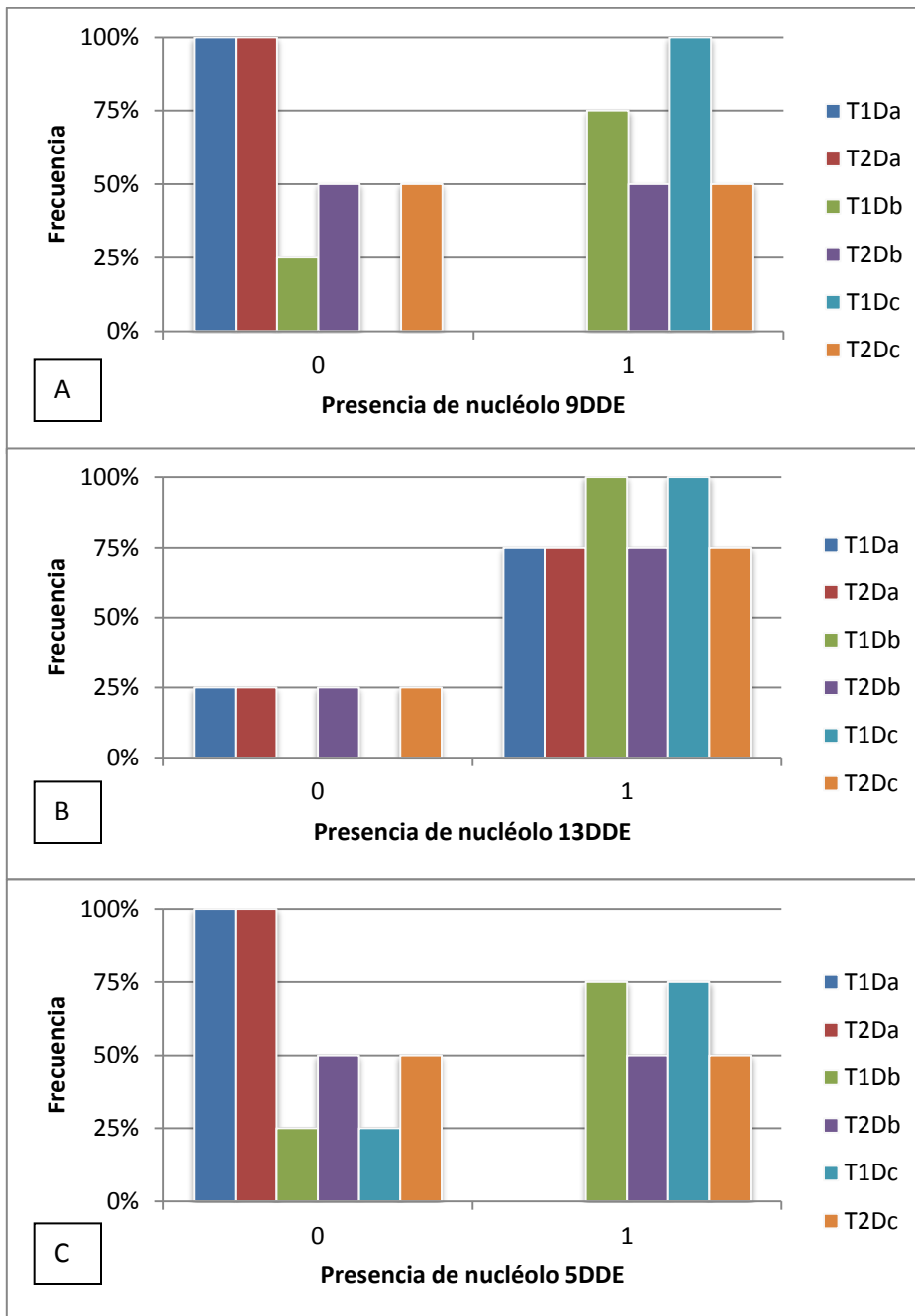


Figura 12: *Cilus gilberti*. A) Presencia de nucléolo en los hepatocitos en larvas de 5DDE. B) Presencia de nucléolo en los hepatocitos en larvas de 9DDE. C) Presencia de nucléolo en los hepatocitos en larvas de 13DDE. Para cada tratamiento; Temperaturas (T1:19±1°C y T2:22±1°C) y Dieta (Da= rotíferos enriquecidos con Origreen; Db= rotíferos enriquecidos con formulación F.Chile; Dc= rotíferos enriquecidos con formulación F. Chile + *Chaetoceros calcitrans*). Dónde: 0=sin presencia de nucléolo, 1=con presencia de nucléolo, con la frecuencia de estos.

2. Experimento 2

Crecimiento en longitud

En esta etapa de cultivo la tasa de crecimiento LT presentó diferencias significativas ($F_{1,4}=41,06$ $p=0,003$) entre las temperaturas de cultivo, la tasa de crecimiento fue mayor a una temperatura más elevada $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Fig. 11) (Anexo 11).

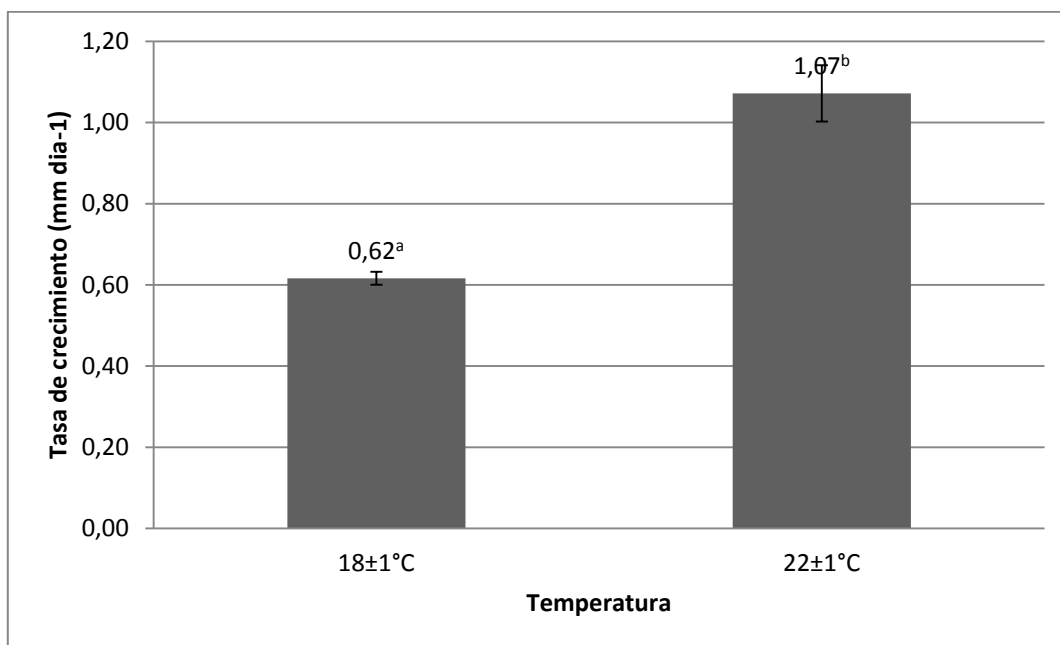


Figura 11. *Cilus gilberti*. Tasa de crecimiento (mm día^{-1}) de postlarvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de temperaturas ($18\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $22\pm 1^{\circ}\text{C}$). Barras corresponden a la desviación estándar ($n=12$). Superíndices con letras distintas indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

SGR

En esta etapa de cultivo la tasa de crecimiento específico presentó diferencias significativas ($F_{1,3} = 18,43$ $p=0,02$) entre las temperaturas de cultivo, observándose el mayor SGR a una temperatura más elevada $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Fig. 12) (Anexo 14).

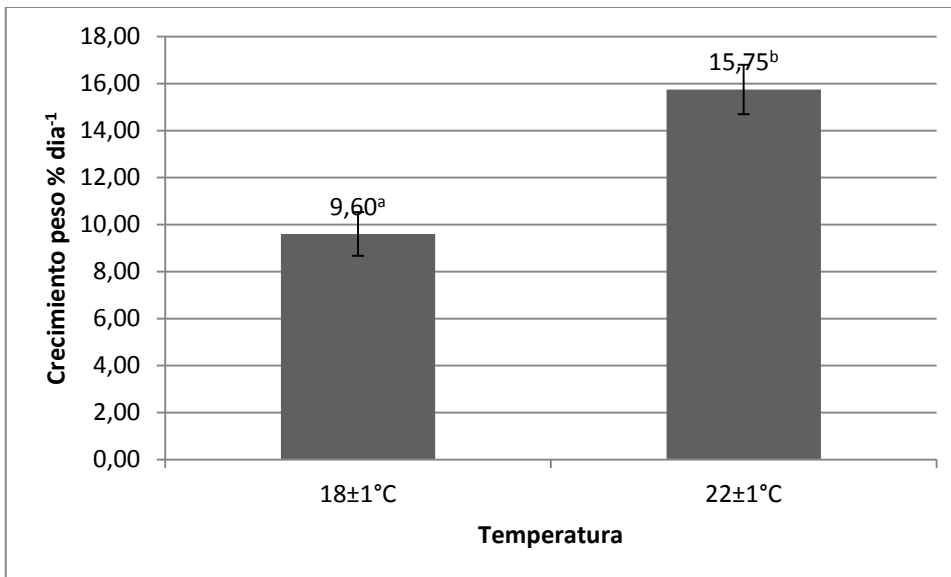


Figura 12. *Cilus gilberti*. SGR (% dia⁻¹) de postlarvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de temperaturas ($18\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $22\pm 1^{\circ}\text{C}$). Barras corresponden a la desviación estándar (n=18) Superíndices con letras distintas indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Sobrevivencia

Al final de esta fase de cultivo el porcentaje de sobrevivencia presentó diferencias significativas ($F_{1,3} = 48,42$ $p < 0,05$) entre las temperaturas de cultivo, observándose las mejores sobrevivencias a una temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$ (Fig. 13).

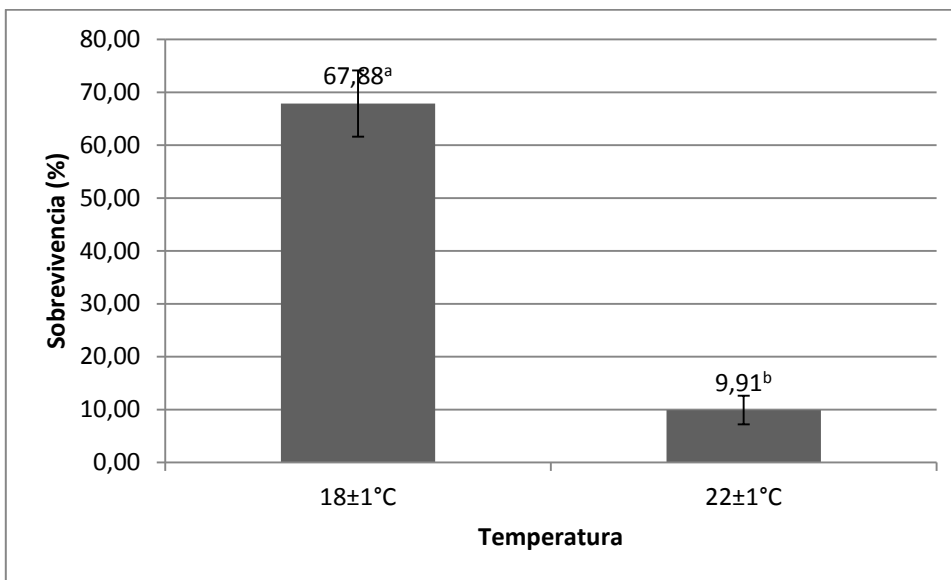


Figura 13. *Cilus gilberti*. Sobrevivencia (%) de postlarvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de temperaturas ($18 \pm 1^\circ\text{C}$ y $22 \pm 1^\circ\text{C}$). Barras corresponden a la desviación estándar. Superíndices con letras distintas indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

3. Experimento 3

Crecimiento en longitud

En esta etapa de cultivo la tasa de crecimiento presentó diferencias significativas ($F_{1,4} = 43,76$ $p < 0,05$), entre las dietas explicadas, observándose el mayor crecimiento con alimento pelletizado ($0,09 \text{ mm dia}^{-1}$) respecto de la dieta en base a microencapsulado ($0,03 \text{ mm dia}^{-1}$) (Fig.14) (Anexo 19).

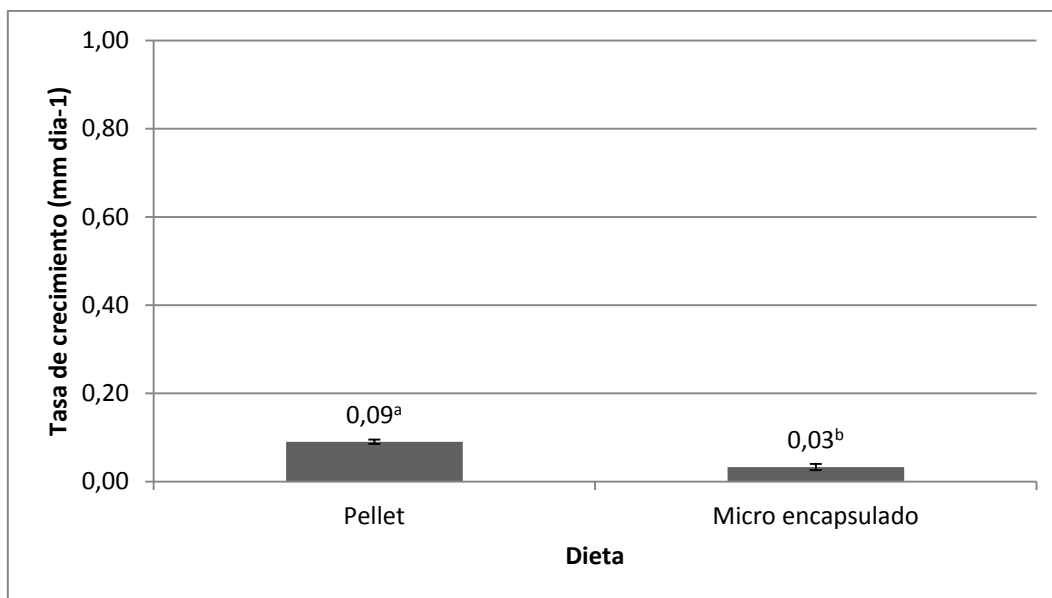


Figura 14. *Cilus gilberti*. Variaciones en las tasas de crecimiento de larvas de corvina sometidas a diferentes tratamientos de dieta (Pellet y microencapsulado). Barras corresponden a la desviación estándar (n=12). Superíndices distintos indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

SGR

En esta etapa de cultivo la tasa específica de crecimiento en las larvas alimentadas con pellet fue de $11,03 \pm 2,41\% \text{ dia}^{-1}$ (Fig. 15). Mientras que en las larvas alimentadas con microencapsulado no mostraron un crecimiento, con un peso inicial de $0,06 \pm 0,02$ y uno final de $0,07 \pm 0,04$ (Fig. 16).

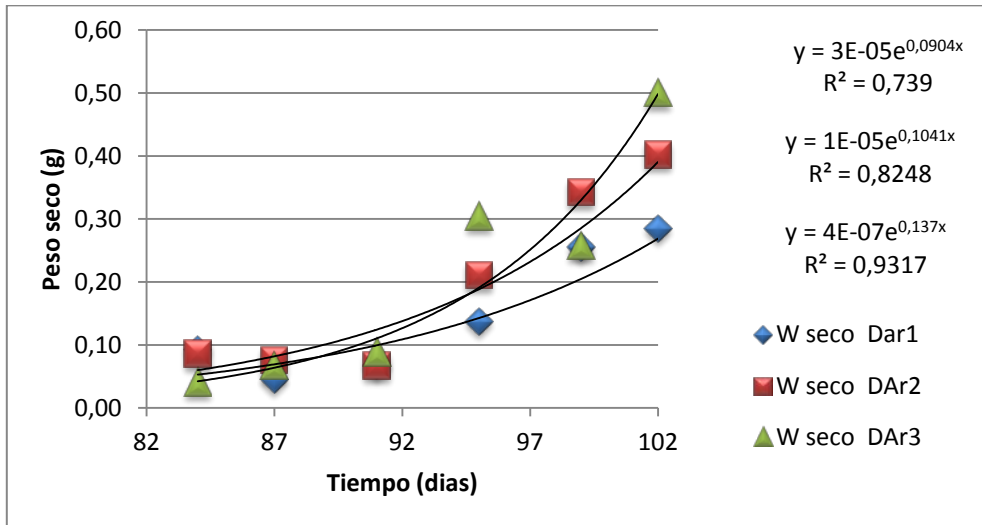


Figura 15. *Cilus gilberti*. Crecimiento peso seco (g) de juveniles de corvina sometidas a dieta pelletizada (n=12). Estos individuos presentaron un SGR de $11,03 \pm 2,41\% \text{ dia}^{-1}$

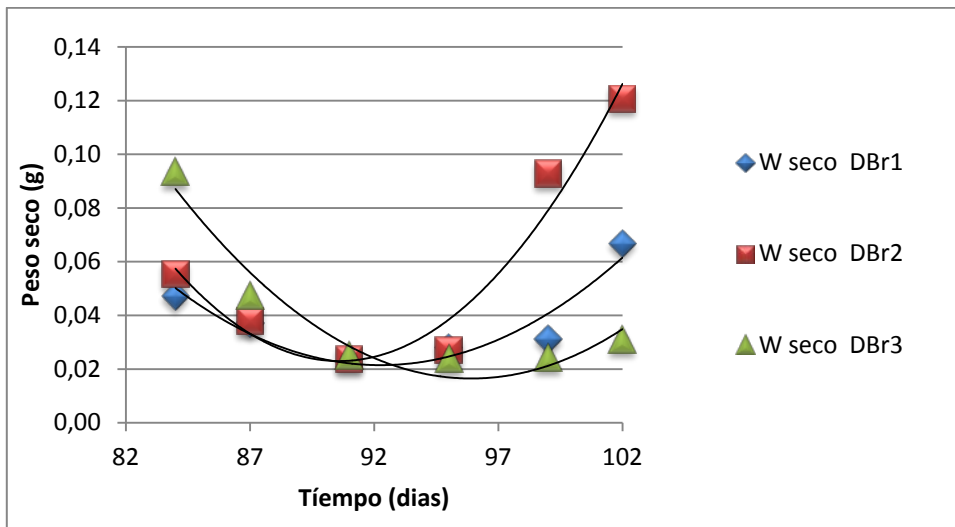


Figura 16. *Cilus gilberti*. Crecimiento peso seco (g) de juveniles de corvina sometidas a dieta microencapsulada. (n=12). Estos individuos no presentaron un crecimiento. Peso seco inicial $0,06 \pm 0,02$ y el final fue de $0,07 \pm 0,04$.

Sobrevivencia

Al final de esta fase de cultivo el porcentaje de sobrevivencia presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las dietas. La sobrevivencia fue mayor empleando una dieta en base a alimento pelletizado (99,18%) respecto de la dieta en base a microencapsulado (25,52%) luego de 20 días de cultivo (Fig. 17).

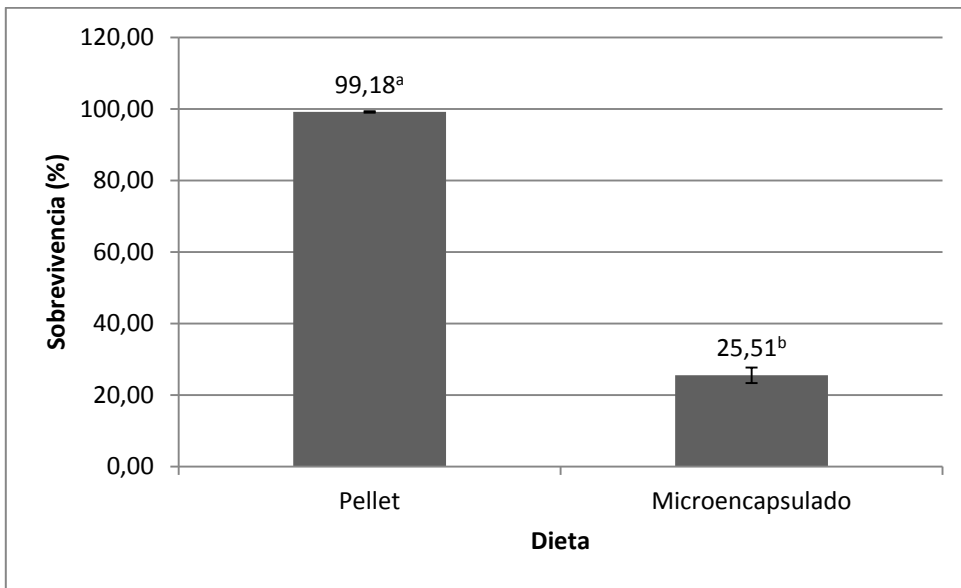


Figura 17. *Cilus gilberti*. Sobrevivencia (%) de juveniles de corvina sometidas a diferentes tratamientos de dieta (Pellet y microencapsulado). Superíndices con letras distintas indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Discusión

Durante el desarrollo de las primeras etapas (edades 0 a 3 años) la tasa de crecimiento lineal alcanza sus mayores valores, asociado con una mayor alimentación, las gónadas inician su diferenciación y desarrollo, y comienza la reserva de ácidos grasos en el hígado. De lo que se concluye que en los individuos jóvenes, la mayor parte del alimento ingerido se emplea en la formación de proteínas y por consecuencia en el crecimiento en longitud. La acumulación de ácidos grasos en el hígado aumenta proporcionalmente con respecto a la edad. (Gallardo et al. 1983). Lo que ha quedado evidenciado en los resultados de este trabajo, ya que las larvas presentaron un crecimiento lineal en todos los experimentos. Por su parte, el tamaño del hígado como órgano de reserva aumenta en el tiempo debido a que va acumulando ácidos grasos.

En larvas saludables, los núcleos fueron evidentes y se observó presencia de nucléolo. (Díaz et al. 2011). Las observaciones de nucléolo en el núcleo de los hepatocitos del hígado, indica elevada actividad metabólica lo cual se evidencia en algunos de los tratamientos mostrando una tendencia mayor en las larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con FCh y FCh+Cc a la temperatura de 19 ± 1 , las cuales podrían ser larvas más saludables desde un punto de vista nutricional, lo que concuerda con lo descrito en larvas de *Engraulis anchoíta* (Díaz et al. 2011) quien asocia la presencia de nucléolo a larvas saludables, bien alimentadas comparadas con larvas con mala calidad nutricional.

En larvas de Dorada, el ácido araquidónico parece ser importante para la supervivencia, pero no es tan eficaz para mejorar el crecimiento como el DHA o el EPA. Además, de

un requerimiento mínimo para cada ácido graso esencial, las proporciones relativas entre los distintos ácidos grasos polinsaturados en los tejidos de la larva parece estar relacionada con los mejores resultados en crecimiento (Izquierdo et al. 2000). De manera contraria, en el experimento 1, el enriquecimiento con diatomeas del género *Chaetoceros* no proporcionó diferencias significativas en un aumento en el crecimiento ni en la sobrevivencia lo que hace pensar que tal vez la cantidad de EPA no fue la suficiente y hace falta determinar de una mejor manera la relación DHA/EPA para obtener mejores resultados.

El crecimiento, calidad y supervivencia larval dependen principalmente de factores relacionados con la calidad nutricional del alimento, temperatura y calidad del medio de cultivo. La determinación de la temperatura óptima para el cultivo larval en un rango entre 16 y 20°C, demuestran que las tasas de crecimiento y supervivencia son directa e inversamente proporcionales respectivamente a la temperatura, razón por la cual se recomienda su cultivo a 18°C (Silva et al. 2010), de la misma manera lo indica que a excepción de la sobrevivencia, el aumento de la temperatura, hasta un máximo a determinar para cada especie, acelera los diferentes parámetros de desarrollo y el consumo de alimento en larvas. (Silva et al. 2007). De esta manera, es que en todos los experimentos se lograron mejores tasas de crecimiento a una temperatura más elevada, sin embargo, hace falta realizar pruebas de temperaturas críticas, ya que si bien hay un aumento en las tasas de crecimiento, el porcentaje de sobrevivencia se ve afectado negativamente.

A pesar de los altos esfuerzos realizados para obtener microdietas comparables al menos, con el alimento vivo, hasta la fecha no se han logrado buenos resultados (Rodríguez et al. 2009). Principalmente debido a la composición química y a las características físicas de los micro encapsulados, ya que se debe tener en cuenta que debe ser atractante hacia las larvas para que las logren capturar y luego cubran sus necesidades alimenticias, ya que de acuerdo a lo observado en el experimento la ingestión de estas partículas era muy baja o nula y por esto probablemente el crecimiento y la sobrevivencia fueron bajas.

Conclusión

Experimento 1

Los factores puestos a prueba en el cultivo larvario de los primeros estadios hasta día 20 después de la eclosión, no presentaron un efecto significativo ni tampoco una tendencia en el crecimiento, es decir no hay un efecto de la temperatura, tampoco de la dieta y a su vez de la interacción dieta-temperatura sobre la tasa de crecimiento de larvas hasta día 20.

Respecto al SGR, en esta etapa de cultivo las larvas no mostraron desarrollo asociado a un crecimiento exponencial, más bien los datos se ajustan a una distribución polinomial que no presentó crecimiento, a los 20 DDE el peso seco promedio fue igual para todos los tratamientos.

La sobrevivencia de larvas recién eclosionadas hasta el día 20 no fue afectada por la dieta, tampoco por la interacción dieta-temperatura, sin embargo la temperatura de cultivo sí produjo diferencias significativas, logrando una mayor sobrevivencia a una temperatura de $19\pm 1^{\circ}\text{C}$.

El tamaño del hígado, mostró que en todos los tratamientos se desarrolla de la misma manera, ya que las pendientes de la regresión lineal son iguales. Mientras que la presencia de nucléolo mostró una asociación entre éste, la dieta y temperatura donde se evidenció que las larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con Origreen fueron las con menos presencia de nucléolo para larvas de 5, 9 y 13 DDE. Por otra parte las enriquecidas con formulación FCh y FCh+*Chaetoceros calcitrans* a la temperatura de

19±1°C mostraron mejores resultados en cuanto a este indicador medido con una tendencia mayor en las enriquecidas con FCh+Cc logrando 100% de hepatocitos con nucléolo en 9 y 13DDE, lo que podría indicar larvas más saludables.

Por lo tanto se rechazan las hipótesis Ho1, Ho2 y Ho3 ya que no hay un efecto de la temperatura, ni de la dieta y tampoco de la interacción dieta-temperatura en el rendimiento de larvas hasta día 20, solo la temperatura evidencia un efecto significativo en la sobrevivencia de larvas de 20 DDE y además hay una relación entre la dieta, la temperatura en la presencia de nucléolo en los hepatocitos.

Experimento 2

El crecimiento presentó diferencias significativas respecto del tratamiento empleado, se logra una mayor tasa de crecimiento a una temperatura de 22±1°C.

Para el SGR de igual manera la temperatura provocó diferencias significativas, se logra un mejor SGR a la temperatura de 22±1°C.

La sobrevivencia, a su vez, también exhibió diferencias significativas, sin embargo, la temperatura de 18±1°C logró una sobrevivencia más alta.

Por lo tanto se acepta la Ho4, ya que la temperatura afecta el rendimiento en postlarvas de Corvina en términos de tasa de crecimiento, SGR y sobrevivencia.

Experimento 3

El crecimiento presentó diferencias significativas respecto del tratamiento empleado, se logra una mayor tasa de crecimiento con el alimento pelletizado respecto del microencapsulado.

El SGR demostró que en el tratamiento con alimentación de pellet, los datos se comportaron con un crecimiento exponencial, sin embargo, el tratamiento con alimentación de microencapsulado no evidenció crecimiento, y se comportó de una manera polinomial, los juveniles no presentaron diferencias significativas entre el peso seco inicial y el peso seco al finalizar esta etapa.

Por último, la sobrevivencia mostro diferencias significativas evidenciando que la alimentación con alimento pelletizado logra una mayor sobrevivencia respecto de las alimentadas con microencapsulado.

Por lo tanto se acepta la H_05 ya que la dieta afecta el rendimiento de juveniles de Corvina en términos de la tasa de crecimiento, SGR y sobrevivencia.

Recomendaciones

Para la primera etapa de cultivo hasta 20DDE el factor temperatura muestra ser de los más relevantes, tomando en cuenta que afecta directamente al peso seco y sobrevivencia de las larvas, por lo que sería importante en términos productivos poner en la balanza si el hecho de que se logren individuos de mayor peso a una mayor temperatura tiene alguna ventaja ya que la sobrevivencia se ve afectada negativamente

con este aumento. Por otra parte, si bien la dieta no evidencia diferencias significativas en términos de tasa de crecimiento, peso seco ni sobrevivencia si muestra una tendencia mayor respecto de la observación de nucléolo por lo que podría indicar una mayor síntesis de proteínas por lo tanto larvas que podrían ser más saludables.

En la siguiente etapa de cultivo de 25 a 50 DDE al igual que en la anterior hay que tomar en cuenta la mayor tasa de crecimiento, SGR y compararla con la baja sobrevivencia que se obtiene con la temperatura de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ para determinar que logra ser más productivo en términos económicos.

Para juveniles el ensayo con microencapsulado no logra buenos resultados en juveniles lo que hace relacionar que en larvas el resultado sería negativo, ya que es en larvas donde se quiere enfocar el desarrollo de microdietas, ya que el pellet logra excelentes resultados en postlarvas y juveniles.

Bibliografía

Civera-Cerezedo, R. Alvarez-Gonzalez, C.A. y Moyano-Lopez, F.J. 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. Avances en nutrición acuícola VII, memorias del VII simposio internacional de nutrición acuícola 16-19 de noviembre de 2004. Hermosillo. Sonora. México.

Dantagnan P., Lazo J.2007. “Alimentación y nutrición durante el crecimiento larvario de peces: Antecedentes generales a considerar” En: Producción de larvas de peces: Innovaciones y avances en nutrición para contribuir al mejoramiento y escalamiento de los cultivos. Edición Patricio Dantagnan, Editorial UC Temuco, pp: 7- 29.

Díaz M., Christiansen E., Pájaro M., Macchi G. 2011. Descripción micro-anatómica de las larvas de *Engraulis anchoíta* y su aplicación en estudios de condición nutricional. Revista de Biología Marina y Oceanografía Vol. 46, N°3: pp. 431-441.

FAO. 2005. Fishery country profile. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Resumen informativo sobre la pesca por países, Diciembre 2015.

Fundación Chile. 2009. Presentación Programa de Diversificación de la Acuicultura Chilena, PDACH FONDEF-CONICYT, Antecedentes Generales.

Fundación Chile. 2013. Programa Integrado para el Desarrollo Sustentable del Cultivo de Corvina. Boletín informativo N°2-Julio 2013.

Gallardo-Cabello M. 1983. Consideraciones bio ecológicas durante el crecimiento de *Phycisblennoides*(Brunnich, 1798), en el Mediterráneo occidental. Anuario Instituto ciencias del mar y limnología, Universidad Nacional Autónoma de México.Volumen 11, 1984 Número 1.

Izquierdo, M. S., J. Socorro, L. Arantzamendi y C. M. Hernández-Cruz. 2000. Digestión, absorción y utilización de lípidos en larvas de peces marinos. pp 251-263. En: Civera-Cerezedo, R. Alvarez-Gonzalez, C.A. y Moyano-López, F.J. 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. Avances en nutrición acuícola VII, memorias del VII simposio internacional de nutrición acuícola 16-19 Noviembre de 2004. Hermosillo. Sonora. México.

Lazo J. 2000. Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. Avances en nutrición acuícola V. Memorias del V simposio internacional de nutrición acuícola 19-22 Noviembre 2000. Mérida. Yucatán. México.

OCDE (Organización para la cooperación y el desarrollo económicos). 2009. Políticas de Pesca y Acuicultura. Informe de base, pp. 23-25.

Rodríguez A. 2009. Avances y Perspectivas en Microdietas para Larvas de Peces. Revista AquaTIC N°30, pp. 1-18.

Silva A. &Oliva M. 2010. Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthysadspersus*). Lat. Am. J. Aquat. Res. 377-386

Silva A, Orellana Y., Piaget N., VegaA. Toledo P.2007. Algunos avances en el estudio larvario del Lenguado Chileno (*Paralichthysadspersus*). En: Producción de larvas de peces. Pp 43-53. Editorial UC Temuco.

Anexos

Experimento 1

Tasa de crecimiento

Temperatura	Dieta	TRAT	mm/día
t1	a	T°1DAr1	0,178
t1	a	T°1DAr2	0,150
t1	a	T°1DAr3	0,187
t1	b	T°1DBr1	0,140
t1	b	T°1DBr2	0,173
t1	b	T°1DBr3	0,104
t1	c	T°1DCr1	0,166
t1	c	T°1DCr2	0,149
t1	c	T°1DCr3	0,167
t2	a	T°2DAr1	0,166
t2	a	T°2DAr2	0,158
t2	a	T°2DAr3	0,184
t2	b	T°2DBr1	0,176
t2	b	T°2DBr2	0,156
t2	b	T°2DBr3	0,145
t2	c	T°2DCr1	0,138
t2	c	T°2DCr2	0,205
t2	c	T°2DCr3	0,145

Anexo 1: Tasas de crecimiento para cada tratamiento donde t1: 18-19°C y t2:21-22°C, Dieta rotíferos enriquecidos con a: OG, b: FCh y c: FCh+Cc

	Hartley F-max	Cochran C	Bartlett Chi-Sqr.	df	p	
mm/día	13,25407	0,393558	4,335583	5	0,502178	varianzas homogéneas

Anexo 2: Test de homogeneidad de varianzas para tasa de crecimiento.

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
temp	0,000193	1	0,000193	0,3367	0,572483
dieta	0,001401	2	0,000701	1,2199	0,329386
temp*dieta	0,000421	2	0,000210	0,3663	0,700796
Error	0,006893	12	0,000574		

Anexo 3: ANOVA factorial para las tasas de crecimiento.

SGR

	Hartley	Cochran	Bartlett	df	p	
DW	33,25000	0,628480	6,841237	5	0,232718	varianzas homogéneas

Anexo 4: Test de homogeneidad de varianzas para datos de peso seco al final del experimento 1, 20DDE.

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	0,000054	1	0,000054	444,6943	0,000000
TEMP	0,000000	1	0,000000	1,2266	0,289782
DIETA	0,000000	2	0,000000	1,1429	0,351282
TEMP*DIETA	0,000000	2	0,000000	0,1197	0,888261
Error	0,000001	12	0,000000		

Anexo 5: ANOVA factorial para datos de peso seco al final del experimento 1, 20DDE.

Sobrevivencia

TRAT	ESTANQUE	SOBREVIVENCIA	N inicial	N muestreos	N corregido ini	%sobrevivencia
T°1DAr1	1	698	6930	174	6756	10,33
T°1DAr2	4	949	6930	174	6756	14,05
T°1DAr3	10	526	6930	174	6756	7,79
T°1DBr1	2	766	6930	174	6756	11,34
T°1DBr2	3	567	6930	174	6756	8,39
T°1DBr3	9	853	6930	174	6756	12,63
T°1DCr1	11	334	6930	174	6756	4,94
T°1DCr2	12	572	6930	174	6756	8,47
T°1DCr3	17	375	6930	174	6756	5,55
T°2DAr1	6	350	6930	174	6756	5,18
T°2DAr2	7	432	6930	174	6756	6,39
T°2DAr3	18	614	6930	174	6756	9,09
T°2DBr1	8	225	6930	174	6756	3,33
T°2DBr2	14	280	6930	174	6756	4,14
T°2DBr3	15	254	6930	174	6756	3,76
T°2DCr1	5	376	6930	174	6756	5,57
T°2DCr2	13	146	6930	174	6756	2,16
T°2DCr3	16	478	6930	174	6756	7,08

Anexo 6: datos de sobrevivencia para cada tratamiento donde t1: 18-19°C y t2:21-22°C, Dieta rotíferos enriquecidos con Da: OG, Db:FCh y Dc:FCh+Cc

	Hartley	Cochran	Bartlett	df	p
% SOB	2,094832	0,676881	1,006679	1	0,315700
					Var Homogéneas

Anexo 7: Test de homogeneidad de varianzas para datos de sobrevivencia.

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	941,4991	1	941,4991	197,0180	0,000000
TEMP	75,1625	1	75,1625	15,7285	0,001873
DIETA	30,2978	2	15,1489	3,1701	0,078465
TEMP*DIETA	24,1221	2	12,0610	2,5239	0,121641
Error	57,3450	12	4,7787		

Anexo 8: ANOVA factorial para datos de sobrevivencia.

Prueba de Fisher

Ho: las pendientes son iguales si $F < F$ tabulado y Ha: las pendientes son diferentes si $F > F$ tabulado. La prueba de F arrojó un valor $F = -0,75$ comparado con el F 5,46 tabulado = 2,4449, por lo tanto $F < F$ tabulado.

Anexo 8.1: Prueba de Fisher.

Test de chi cuadrado

5DDE: Para dieta= X^2 calculado (8,56) $> X^2$ tabulado (0,103) y para temperatura= X^2 calculado (0,68) $> X^2$ tabulado (0,00393).

9DDE: Para dieta= X^2 calculado (0,63) $> X^2$ tabulado (0,103) y para temperatura= X^2 calculado (1,14) $> X^2$ tabulado (0,00393).

13DDE: Para dieta= X^2 calculado (10,4) $> X^2$ tabulado (0,103) y para temperatura= X^2 calculado (1,84) $> X^2$ tabulado (0,00393).

Anexo 8.2. Test de chi cuadrado

Experimento 2

Tasa de crecimiento

temp	trat	mm/día
t1	T1R1	0,6450
t1	T1R2	0,6140
t1	T1R3	0,5900
t2	T2R1	0,9460
t2	T2R2	1,0850
t2	T2R3	1,1850

Anexo 9: Datos obtenidos de tasas de crecimiento para cada tratamiento donde: donde t1: 18-19°C y t2:21-22°C.

	Hartley	Cochran	Bartlett	df	p	
mm/día	18,94827	0,94987	2,653244	1	0,103339	Varianzas homogéneas

Anexo 10: Test de homogeneidad de varianzas.

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	4,275704	1	4,275704	563,8043	0,000019
Trat	0,311448	1	0,311448	41,0683	0,003046
Error	0,030335	4	0,007584		

Anexo 11: ANOVA de una vía para datos de tasa de crecimiento.

SGR

trat	1/día	%/día
T1R1	0,113	11,3
T1R2	0,081	8,1
T1R3	0,094	9,4
T2R1	0,168	16,8
T2R2	0,147	14,7

Anexo 12: Datos de SGR donde t1: 18-19°C y t2:21-22°C.

	Hartley	Cochran	Bartlett	df	p	
%día	1,174603	0,540146	0,006100	1	0,937745	varianzas homogéneas

Anexo 13: Test de homogeneidad de varianzas para datos de SGR

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	771,1470	1	771,1470	313,2622	0,000393
temperatura	45,3870	1	45,3870	18,4375	0,023228
	7,3850	3	2,4617		

Anexo 14: ANOVA de una vía para los datos de SGR.

Sobrevivencia

TRAT	ESTANQUE	SOB	N inicial	N muestreos	N corregido in	% sobrevivencia
T1R1	9	70	230	125	105	66,67
T1R2	10	60	230	126	104	57,69
T1R3	11	88	230	119	111	79,28
T2R1	7	14	230	119	111	12,61
T2R2	12	8	230	119	111	7,21

Anexo 15: Datos de sobrevivencia para cada tratamiento. Donde: donde t1: 18-19°C y t2:21-22°C.

	Hartley	Cochran	Bartlett	df	p
% SOB	8,049885	0,889501	0,756031	1	0,384574
					Varianzas Homogéneas

Anexo 16: Test de homogeneidad de varianzas para los datos de sobrevivencia.

Experimento 3

Tasa de crecimiento

dieta	TRAT		mm/dia
a	DAr1		0,081
a	DAr2		0,097
a	DAr3		0,093
b	DBr1		0,037
b	DBr2		0,043
b	DBr3		0,019

Anexo 17: Datos obtenidos de tasa de crecimiento. Donde: Da; Pellet, Db; Microencapsulado.

Hartley	Cochran	Bartlett	df	p		
2,250000	0,692308	0,256137	1	0,612787	Varianzas homogéneas	

Anexo 18: Test de homogeneidad de varianzas para los datos de tasa de crecimiento.

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	0,022817	1	0,022817	202,5148	0,000142
Dieta	0,004931	1	0,004931	43,7633	0,002707
Error	0,000451	4	0,000113		

Anexo 19: ANOVA de una vía para los datos de tasa de crecimiento.

SGR

	INI	FIN
	0,0472	0,0668
	0,0554	0,1207
	0,0935	0,0310
Promedio	0,0653	0,0728
Desvest	0,02468837	0,04515

Anexo 20: Datos de peso seco al inicio y final del experimento 3.

	Mean	Mean	t-value	df	p
dw g	0,065333	0,072800	-0,251319	4	0,813951

Anexo 21: Prueba de T para comparar los datos de peso inicial y final del experimento 3.

TRAT	% sobrevivencia	1/raiz(y)	ln y	y^3
DAr1	99,38271605	0,10031008	4,598978216	981595,558
DAr2	98,7654321	0,10062306	4,592747666	963418,329
DAr3	99,38271605	0,10031008	4,598978216	981595,558
DBr1	22,22222222	0,21213203	3,101092789	10973,9369
DBr2	29,62962963	0,18371173	3,388774862	26012,2949
DBr3	24,69135802	0,20124612	3,206453305	15053,4114

Anexo 22: Datos de sobrevivencia normalizados. Donde: Da; Pellet, Db; Microencapsulado.

	Hartley	Cochran	Bartlett	df	p
y3	1,820995	0,645515	0,141603	1	0,706693

Anexo 23: Test de homogeneidad de varianzas para los datos de sobrevivencia normalizados.

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	1,478725E+12	1	1,478725E+12	17333,64	0,000000
dieta	1,377192E+12	1	1,377192E+12	16143,46	0,000000
Error	3,412383E+08	4	8,530957E+07		

Anexo 24: ANOVA de una vía para los datos se sobrevivencia.



Anexo 25. Medición del tamaño del hígado (Área mm²) en larvas de 5, 9 y 13DDE utilizando una lupa y el software AxioVision. Donde HG=Hígado.