



**FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERÍA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y
ACUICULTURA**

**EFFECTO EN EL DESARROLLO DE LAS LARVAS DE *Anisotremus scapularis*
ALIMENTADAS CON ROTÍFEROS POTENCIADOS CON DOS
ENRIQUECEDORES COMERCIALES Y UNA COMBINACIÓN DE MICROALGAS**

Línea de investigación:

Desarrollo de productos de la acuicultura

Tesis para optar al título profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor

Autor:

Sánchez Miranda, Kier Enrique

Asesora:

Figueroa Vargas-Machuca, Manuel Eduardo

(ORCID: 0000-0003-1099-446X)

Jurado:

Zambrano Cabanillas, Walter Abel

Mogollón Ávila, Santos Valentín

Blas Ramos, Walter Eduardo

Lima - Perú

2024



EFFECTO EN EL DESARROLLO DE LAS LARVAS DE *Anisotremus scapularis* ALIMENTADAS CON ROTIFEROS POTENCIADOS CON DOS ENRIQUECEDORES COMERCIALES Y UNA COMBINACIÓN DE MICROALGAS

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	cicese.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	2%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	core.ac.uk Fuente de Internet	1%
4	repositorio.imarpe.gob.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	www.redalyc.org Fuente de Internet	1%
7	www.uanl.mx Fuente de Internet	<1%
8	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	<1%



Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura

**EFFECTO EN EL DESARROLLO DE LAS LARVAS DE *Anisotremus scapularis*
ALIMENTADAS CON ROTÍFEROS POTENCIADOS CON DOS
ENRIQUECEDORES COMERCIALES Y UNA COMBINACIÓN DE MICROALGAS**

Línea de Investigación:

Desarrollo de productos acuícolas

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor

Autor:

Sánchez Miranda, Kier Enrique

Asesor:

Figueroa Vargas-Machuca, Manuel Eduardo

Código ORCID: 0000-0003-1099-446X

Jurado:

Zambrano Cabanillas, Walter Abel

Mogollón Ávila, Santos Valentín

Blas Ramos, Walter Eduardo

Lima – Perú

2024

DEDICATORIA

A mi padre, que siempre encontró las palabras exactas de aliento para impulsarme a seguir adelante; a mi madre, que siempre tuvo fe en cada paso que daba; a mi hermana, por ser mi motivación diaria a seguir creciendo y a todos aquellos que siempre confiaron en mí.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	I
LISTA DE TABLAS	V
LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE ANEXOS.....	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT.....	X
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción y formulación del problema	3
1.2 Antecedentes	5
1.3 Objetivos	8
1.4 Justificación	9
1.5 Hipótesis	10
II. MARCO TEÓRICO.....	11
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	11
2.1.1 Anisotremus scapularis	11
2.1.2 Brachionus plicatilis.....	14
2.1.3 Enriquecedores	18
III. MÉTODO	32
3.1 Tipo de investigación	32
3.2 Ámbito temporal y espacial	32

3.3 Variables	32
3.4 Población y muestra	33
3.5 Instrumentos	33
3.5.1 Material biológico	33
3.5.2 Enriquecedores	34
3.5.3 Abastecimiento de agua	34
3.5.4 Área de evaluación	34
3.5.5 Colección de huevos.....	35
3.5.6 Equipos.....	35
3.5.7 Materiales	35
3.5.8 Insumos de esterilización	36
3.5.9 Materiales de oficina	36
3.6 Procedimientos	36
3.6.1 Abastecimiento de agua de mar	38
3.6.2 Obtención de microalgas	38
3.6.3 Obtención de rotíferos.....	40
3.6.4 Obtención de enriquecedores comerciales	41
3.6.5 Obtención de larvas de chita	41
3.6.6 Bioensayo	43
3.7 Análisis de Datos	50
3.7.1 Muestreo y análisis.....	50

3.7.2	Análisis estadístico.....	51
IV.	RESULTADOS.....	53
4.1	Parámetros fisicoquímicos.....	53
4.2	Evaluación de supervivencia	54
4.3	Evaluación de crecimiento.....	58
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	69
VI.	CONCLUSIONES	74
VII.	RECOMENDACIONES	75
VIII.	REFERENCIAS.....	76
IX.	ANEXOS	84

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 <i>Composición de Selco S. presso de acuerdo al fabricante (INVE Aquaculture, Belgium) (Prusinska, Kushniryk, Khudyi, Khuda, & Kolman, 2015)</i>	19
Tabla 2 <i>Análisis proximal de Algamac 3050 (Aquafauna, s.f.)</i>	21
Tabla 3 <i>Perfil de ácidos grasos de Algamac 3050 (Aquafauna, s.f.)</i>	21
Tabla 4 <i>Perfil de aminoácidos de Algamac 3050 (Aquafauna, s.f.)</i>	22
Tabla 5 <i>Composición de ácidos grasos en Nannochloropsis oculata (Avila, 2015)</i> ..	25
Tabla 6 <i>Composición bioquímica (% peso seco)</i>	27
Tabla 7 <i>Comparación del contenido de ácidos grasos del trabajo de autor y de diferentes fuentes de estudio para la microalga Nannochloropsis gaditana</i>	28
Tabla 8 <i>Comparación del contenido de ácidos grasos del trabajo de autor y de diferentes fuentes de estudio para la microalga Isochrysis galbana</i>	29
Tabla 9 <i>Composición de ácidos grasos de las microalgas Nannochloropsis oculata e Isochrysis galbana</i>	30
Tabla 10 <i>Referencia del porcentaje de recambio de agua extraído de Castro et al. (2022) enmarcados entre líneas amarillas</i>	46
Tabla 11 <i>Parámetros fisicoquímicos</i>	53
Tabla 12 <i>Resultados porcentual de supervivencia</i>	55
Tabla 13 <i>Cuadro de análisis de varianza - ANOVA</i>	56
Tabla 14 <i>Diferencias significativas entre tratamientos (Tukey)</i>	56
Tabla 15 <i>Talla promedio (en mm) de larvas al día 1 y al día 20 (DDE)</i>	58
Tabla 16 <i>Mediana de coeficientes de variación de tratamientos</i>	59
Tabla 17 <i>Prueba de Kruskal Wallis</i>	59
Tabla 18 <i>Diferencia significativa de las tallas finales entre tratamientos</i>	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 <i>Distribución geográfica de A. scapularis (línea roja)</i>	11
Figura 2 <i>Chita Anisotremus scapularis</i>	13
Figura 3 <i>Rotífero Brachionus plicatilis</i>	16
Figura 4 <i>Fotografía del rotífero Brachionus plicatilis</i>	17
Figura 5 <i>Fotografía del enriquecedor Selco S. presso</i>	20
Figura 6 <i>Fotografía del enriquecedor Algamac 3050</i>	23
Figura 7 <i>Fotografía del cultivo masivo en acrílicos de 300 L de microalgas</i>	31
Figura 8 <i>Instalación del sistema de cultivo experimental</i>	37
Figura 9 <i>Área de Cultivo Inicial de la Sala de Microalgas</i>	39
Figura 10 <i>Cultivo en escalamiento del rotífero Brachionus plicatilis</i>	40
Figura 11 <i>Fotografía de larvas obtenidas del proceso de reproducción</i>	42
Figura 12 <i>Fotografía de larvas muestreadas al ocular del microscopio</i>	43
Figura 13 <i>Módulos para las incubadoras del diseño experimental</i>	44
Figura 14 <i>Esquema de alimentación larvaria de chita Anisotremus scapularis</i>	45
Figura 15 <i>Modelamiento del diseño experimental</i>	48
Figura 16 <i>Multiparámetros HANNA HI98194</i>	50
Figura 17 <i>Compuestos nitrogenados</i>	54
Figura 18 <i>Rango de tallas del T1 (Selco S. presso)</i>	61
Figura 19 <i>Rango de tallas del T2 (Algamac 3050)</i>	62
Figura 20 <i>Rango de tallas del T3 (Microalgas)</i>	63
Figura 21 <i>Rango de tallas del T4 (Control)</i>	64
Figura 22 <i>Plots comparativos de rangos entre tratamientos</i>	65
Figura 23 <i>Embrión de Anisotremus scapularis presente dentro del huevo</i>	66
Figura 24 <i>Larva recién eclosionada de 1,90 mm</i>	67

Figura 25 *Larva con 1 DDE de 2,66 mm*68

Figura 26 *Larva con 20 DDE de 7,44 mm (larva muestreada del tratamiento T1)* ...68

LISTA DE ANEXOS

Anexo A <i>Modelo del registro de tallas</i>	84
Anexo B <i>Modelo del registro de parámetros</i>	84
Anexo C <i>Base de datos de Supervivencia</i>	85
Anexo D <i>Análisis de datos Supervivencia T1</i>	86
Anexo E <i>Análisis de datos Supervivencia T2</i>	87
Anexo F <i>Análisis de datos Supervivencia T3</i>	87
Anexo G <i>Análisis de datos Supervivencia T4</i>	88
Anexo H <i>Prueba de normalidad Shapiro-Wilk</i>	88
Anexo I <i>Prueba de Homogeneidad de Levene</i>	89
Anexo J <i>Base de datos para el registro de la talla inicial</i>	90
Anexo K <i>Base de datos Crecimiento – T1 (día 20)</i>	91
Anexo L <i>Base de datos Crecimiento – T2 (día 20)</i>	92
Anexo M <i>Base de datos Crecimiento – T3 (día 20)</i>	93
Anexo N <i>Base de datos Crecimiento – T4 (día 20)</i>	94
Anexo O <i>Análisis de datos Crecimiento T1</i>	95
Anexo P <i>Análisis de datos Crecimiento T2</i>	96
Anexo Q <i>Análisis de datos Crecimiento T3</i>	96
Anexo R <i>Análisis de datos Crecimiento T4</i>	97
Anexo S <i>Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov</i>	97
Anexo T <i>Rotulo modelo de identificación de prueba</i>	98

RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo evaluar el desarrollo de las larvas de *Anisotremus scapularis* alimentadas con rotíferos potenciados con enriquecedores (dos comerciales y una combinación de microalgas) evaluando el crecimiento longitudinal (mm) y el porcentaje de supervivencia poblacional. Se usaron los rotíferos *Brachionus plicatilis* como encapsuladores biológicos de los enriquecedores usados como tratamientos de la investigación: Selco S. presso (T1), Algamac 3050 (T2), una combinación de microalgas *Nannochloropsis* sp. e *Isochrysis galbana* (T3) y un tratamiento control sin el uso de enriquecedores (T4). La evaluación de la tesis comenzó en el 1 día después de eclosión (DDE) de las larvas de chita con tallas promedio de $2,524 \pm 0,02$ mm. Las larvas fueron distribuidas en incubadoras de 20 litros útiles a una densidad de 5 larvas por litro (una población total de 100 larvas por incubadora). Se seleccionaron incubadoras al azar para destinar los tratamientos mencionados, cada una con 4 repeticiones. Las larvas fueron evaluadas al finalizar los tratamientos en el día 20 después de eclosión obteniendo como resultado el crecimiento longitudinal promedio final de $7,474 \pm 0,17$ mm para el tratamiento T1; $6,976 \pm 0,14$ mm para T2; $6,255 \pm 0,29$ mm para T3 y $5,537 \pm 0,41$ mm para T4 existiendo diferencia significativa entre tratamientos. La supervivencia resultante presentó promedios de 66,25 % de la población total para T1; 63,25 % para T2; 75,75 % para T3 y 54,50 % para T4, presentando similitud entre los tratamientos T1 y T2 y diferencias significativas entre los tratamientos T3 y T4.

Palabras clave: *Anisotremus scapularis*, enriquecedores, Selco S. presso, Algamac 3050, microalgas, bioencapsuladores

ABSTRACT

The aim of this thesis was to evaluate the development of *Anisotremus scapularis* larvae fed with rotifers enhanced with enrichments (two commercial and a combination of microalgae), assessing longitudinal growth (mm) and the percentage of population survival. The rotifers *Brachionus plicatilis* were used as biological encapsulators of the enrichments used as treatments in the research: Selco S. presso (T1), Algamac 3050 (T2), a combination of microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Isochrysis galbana* (T3), and a control treatment without the use of enrichments (T4). The evaluation of the thesis began on day 1 after hatching (DDE) of the chita larvae with an average size of $2,524 \pm 0,02$ mm. The larvae were distributed in 20-liter incubators at a density of 5 larvae per liter (a total population of 100 larvae per incubator). Incubators were randomly selected to allocate the mentioned treatments, each with 4 repetitions. The larvae were evaluated at the end of the treatments on day 20 after hatching, resulting in a final average longitudinal growth of $7,474 \pm 0,17$ mm for treatment T1; $6,976 \pm 0,14$ mm for T2; $6,255 \pm 0,29$ mm for T3 and $5,537 \pm 0,41$ mm for T4 with significant differences between treatments. The resulting survival rates showed averages of 66,25% of the total population for T1; 63,25% for T2; 75,75% for T3 and 54,50% for T4, with similarities between treatments T1 and T2, and significant differences between treatments T3 and T4.

Keywords: *Anisotremus scapularis*, enrichments, Selco S. presso, Algamac 3050, microalgae, bioencapsulators

I. INTRODUCCIÓN

El consumo de productos hidrobiológicos tiene tendencias positivas en el mercado, esto se ve reflejado en la demanda y en el volumen de recursos producidos que cada vez va en aumento tanto en el sector de captura como en el de cultivo. En el mercado local, la chita *Anisotremus scapularis* posee una gran demanda gastronómica por su buen sabor, calidad muscular, y, además, es considerada como una de las especies con suficiente potencial para ser desarrollada por la acuicultura marina en el Perú. Desde el 2013 se vienen realizando investigaciones en el Instituto del Mar del Perú (IMARPE) para cerrar el ciclo productivo de la chita, controlando cada uno de sus distintos estadios desde el manejo de reproductores, obtención de huevos viables, desarrollo larval, juvenil y engorde de esta especie. Aunque la acuicultura marina en el Perú aún se encuentra en una etapa inicial de crecimiento en cuanto a la producción y generación de riquezas, según el Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura (PNIPA, 2021), existe una proyección de desarrollo debido al potencial productivo, el valor de los recursos que encontramos en el mercado y el consumo per cápita de pescado registrado, encontrando un alza de 4 puntos desde el 2010 al 2018 con un promedio de 14 kg/persona de acuerdo al Ministerio de Producción (PRODUCE, 2020).

La Chita es un pez marino que forma cardúmenes en aguas abiertas sobre arrecifes rocosos, sustratos duros con buen movimiento de agua y viven en un rango entre los 3 a 30 metros de profundidad (Humann & DeLoach, 1993) abarcando un territorio geográfico desde Manta, Ecuador hasta Antofagasta, Chile, incluyendo las Islas Galápagos (Chirichigno & Vélez, 1998). Su reproducción generalmente se da en las épocas de primavera-verano, y como producto de su reproducción encontramos huevos pelágicos que flotan bajo la capa superficial de la columna de agua, esta característica es un distintivo de los huevos viables mientras que

los huevos no viables se hunden en el fondo. La diferenciación ontogénica del sistema digestivo de la larva se diferencia en:

La primera fase comienza con la eclosión de las larvas y comprende la etapa en que las larvas se alimentan de las reservas de su saco vitelino y gota de aceite; la segunda fase comprende desde la apertura de la boca e inicio de la alimentación exógena hasta el momento anterior a la formación de las glándulas gástricas en el estómago, en esta etapa, el principal órgano encargado de la secreción de enzimas es el páncreas exocrino y en el intestino se absorben los nutrientes a través de difusión simple, intercambio iónico (en el caso de algunos minerales), transporte activo y pinocitosis y la tercera fase, con el desarrollo de las glándulas gástricas y los ciegos pilóricos, el sistema digestivo está funcionalmente maduro, anatómica y fisiológicamente listo para aceptar alimento balanceado (Rust, 2002, como se citó en Cota, 2016, p. 10).

Es de acuerdo al desarrollo ontogénico del sistema digestivo de la larva, que se opta por escoger el mejor alimento de acuerdo a la fase evolutiva del pez. En el mismo estudio citado anteriormente, Cota resalta la baja digestibilidad que tiene el alimento balanceado en el sistema digestivo rudimentario de la larva en los primeros estadios, ya que este, al poseer un mayor porcentaje de materia seca (60-90%) resulta más difícil romper las partículas secas y duras debido a que las enzimas digestivas son hidrolíticas (que requieren que el sustrato esté disuelto en agua); y así mismo, resalta la importancia de suministrar presas vivas para su mayor digestibilidad y asimilación nutricional. En la larvicultura marina, los rotíferos *Brachionus* sp. son los mejores candidatos para suministrarse como el primer alimento exógeno a las larvas obtenidas. Gracias a su pequeño tamaño, entre los 0,5 y 2,5 mm (Sánchez, 2011), y corto ciclo de vida son considerados excelente alimento para larvas de peces marino (Prieto, 2006). Sin embargo, a pesar de sus características ideales como presas atractivas para estimular la alimentación larvaria, son incompletos como fuente de alimento, ya que son bajos en ácidos

grasos altamente insaturados n-3 docosahexaenoico (HUFA), pues los ácidos (DHA, 22:6n-3) y eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) son requeridos para el desarrollo y supervivencia en las larvas (Cavalin & Weirich, 2009; Haga et al., 2006; Brown et al., 2005; Mercier et al., 2004, como se citó en Cisneros, 2011). Pese a su deficiencia nutricional, los rotíferos poseen una ventaja en el campo de la larvicultura, ya que son filtradores no selectivos y consumen gran parte de la materia orgánica que se encuentra en la columna de agua, es decir, consumen microalgas, levaduras y bacterias que encuentran en el medio; por lo que son usados estratégicamente como bioencapsuladores para suministrar vitaminas, lípidos esenciales o incluso algún antibiótico (Sánchez, 2011) que necesite la larva. Según Castro et al. (2021) sugiere el suministro de rotíferos enriquecidos con emulsiones de DHA y EPA desde el día 2 hasta el día 20 después de la eclosión, luego de ello se le alimenta con presas de mayor tamaño como nauplios de Artemias. Para el enriquecimiento de rotíferos y artemias existen en el mercado diferentes productos que cumplen la función de complementar la dieta con el fin de otorgar nutrientes esenciales que la larva necesita para su mejor desarrollo. El presente estudio tiene por finalidad realizar un análisis del efecto que tienen los enriquecedores sobre el crecimiento de las larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos por tres diferentes fuentes: Selco S. presso, Algamac 3050 y una dieta combinada de *Nannochloropsis* sp. e *Isochrysis galbana* con el fin de evaluar las diferencias en el crecimiento longitudinal (mm) y la supervivencia larval desde el día 1 hasta el día 20 después de eclosión.

1.1 Descripción y formulación del problema

La pesca local abastece constantemente de biomasa para consumo directo de *A. scapularis*, sin embargo, en el Perú, desde el 01 al 31 de diciembre de cada año se restringe esta actividad extractiva para dar lugar a un periodo de veda productiva, en la que se le permita

reproducirse a la especie y evitar la sobrepesca de la misma (PRODUCE, 2018); estos periodos de abstinencia por extraer el recurso del mar, afecta directamente el desarrollo económico en distintos sectores del país que trabajan con este producto hidrobiológico. Es por ello que la acuicultura marina aparece como una de las opciones más viables para sostener el abastecimiento del recurso, con producciones constante que impidan la escasez.

Dentro del ciclo productivo acuícola, la larvicultura es el periodo más frágil de la cadena, ya que es la fase en donde existe mayor mortalidad en el cultivo, se presenta la mayor complejidad por alimentar a la especie y el suministro de nutrientes esenciales es un cuello de botella necesario de resolver para lograr el éxito productivo sostenible en el tiempo. Existe una mayor fragilidad y mortalidad en las larvas de peces marinos durante la transición de la alimentación endógena a la alimentación exógena, puesto que, las larvas experimentan una serie de cambios morfológicos y funcionales en su sistema digestivo (Calzada et al., 1998; Sarasquete et al., 1993, como se citó en Cota, 2016). Diferentes investigaciones describen que, las larvas de los huevos demersales producen un desarrollo acelerado del sistema digestivo, por otro lado, como es el caso de la chita, las larvas de los huevos pelágicos eclosionan con un sistema digestivo poco desarrollado y rudimentario (Alarcón y Martínez, 1998, como se citó en Suárez Ramírez, 2015).

El cuello de botella radica en la lentitud evolutiva ontogénica de la larva que no desarrolla rápidamente un sistema digestivo completamente funcional que pueda digerir los nutrientes del alimento formulado hasta el día 40 después de eclosión aproximadamente (Castro et al., 2021), dado que las larvas de peces marinos no secretan pepsinógeno para digerir las proteínas, por lo cual la digestión reposa esencialmente sobre las enzimas pancreáticas e intestinales activas en un medio alcalino (Lazo, 2000). Además, el alimento balanceado puede contener ingredientes o partículas que la larva no pueda digerir, tales como proteínas, polímeros sintéticos, aglutinantes u otros factores anti nutricionales (Kolkovski, 2001; Rust et al., 2012,

como se citó en Cota, 2016). Es por ello que se recomienda el uso de alimento vivo para la primera alimentación exógena de la larva; sin embargo, el zooplancton como el rotífero y la artemia, son de forma natural deficientes en HUFAs de la serie w-3, en especial en DHA (Rainuzzo et al., 1994; Sargent, 1997, como se citó en Lazo, 2000). Cisnero (2011) también menciona la importancia de los rotíferos, otorgándole un rol propicio como primer alimento exógeno en la alimentación de las larvas pero resaltando que, como fuente de alimento, son incompletos nutricionalmente, específicamente bajos en ácidos grasos altamente insaturados n-3 (HUFA), debido a que el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6N-3) y ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) se requieren esencialmente para el desarrollo y supervivencia de las larvas. (Calvin & Weirich, 2009; Haga et al., 2006; Brown et al., 2005; Mercier et al., 2004, como se citó en Cisneros, 2011). Es debido a esta deficiencia de nutrientes esenciales que es preciso enriquecer a los rotíferos antes de ser suministrados como alimento vivo, ligando los objetivos de este trabajo a la búsqueda por evidenciar el mejor enriquecedor en base a microalgas o productos disponibles en el mercado que aseguren la mayor tasa de crecimiento y supervivencia en el estadio larval.

En este contexto y basándonos en lo previamente expuesto, surge la siguiente interrogante: ¿Cuál es el efecto en el desarrollo de las larvas de *Anisotremus scapularis* alimentadas con rotíferos potenciados con dos enriquecedores comerciales y una combinación de microalgas?.

1.2 Antecedentes

Luego de la eclosión, las larvas obtienen sus nutrientes a través de su saco vitelino que le proveerá de todos aquellos elementos esenciales necesarios para su crecimiento. A partir del día 1 después de eclosión (dependiendo de la especie), el saco vitelino ha sido absorbido casi

en su totalidad para dar paso a la alimentación exógena, donde la larva tendrá que encontrar en el medio, todos aquellos componentes que le asegurarán la supervivencia en el tiempo.

Existen diversas investigaciones que buscan otorgar nutrientes esenciales que necesita la larva para su adecuado crecimiento y muchas de estas investigaciones coinciden con estrategias que incorporan enriquecedores a la dieta del alimento vivo, que cumplirán una función de bioencapsulación de nutrientes, y que más tarde la larva podrá consumir y digerir correctamente a través de sus presas vivas del medio.

Según la investigación realizada por Liñan (2008), la primera alimentación exógena para la especie *Paralabrax maculatofasciatus*, comienza a los 2 días después de la eclosión (DDE) mediante el suministro de rotíferos *Brachionus plicatilis* durante los primeros 15 días, los siguientes 10 días las larvas se alimentan con nauplios de artemias de 2 días y para culminar, se suministran artemias de 5 días hasta los 30 DDE. El suministro de alimento vivo posee la ventaja de poder ser digerido correctamente por las larvas recién eclosionadas, sin embargo, carecen de un potencial nutricional que pueda sostener el mayor porcentaje de supervivencia en la larva. Es por ello, que en la investigación de (Liñan, 2008), señala la necesidad de enriquecer el alimento vivo como mejor estrategia para destinar nutrientes mediante la adición de una emulsión comercial Super SELCO 3000 como potenciador de su dieta.

Cisneros (2011), alude la importancia de potenciar el alimento vivo utilizando diferentes enriquecedores y basa su prueba en el rendimiento poblacional del rotífero mediante el uso de diversos enriquecedores comerciales como el Marol-E, Protein Hufa, Selcon e Easy Super Selco y la microalga *Nannochloropsis oculata* sin suplemento, como control de la investigación.

Castro (2014), trabajó en un diseño experimental de alimentación a base del enriquecimiento de *Artemia franciscana* como alimento vivo para ser suministrado a las larvas

de lenguado *Paralichthys adspersus* debido a la incapacidad de los mismos de sintetizar ácidos grasos altamente insaturados y la necesidad de otorgar estos nutrientes esenciales requeridos para el desarrollo digestivo y el crecimiento normal de las larvas. Es por ello que utilizó la técnica de coacervación simple para poder generar la microencapsulación e incorporar estos ácidos grasos en el alimento vivo como estrategia de alimentación enriquecida con el objetivo de poder llevar los nutrientes esenciales que requieren las larvas de lenguado utilizando como medio de transporte al alimento vivo.

Fuentes (2014), evalúa la caracterización de la actividad de la lipasa dependiente de las sales biliares (LDSB) y la fosfolipasa A₂ (FLA₂) en el tracto digestivo del lenguado de California *Paralichthys californicus* y la evaluación del efecto del tipo de lípido en el crecimiento, supervivencia y actividad enzimática de la larva de lenguado, en donde evaluó dos tipos de lípidos usados como enriquecedores en rotíferos y artemias, uno de origen marino (Algamac-3000) y otro de origen terrestre (aceite de linaza). Demostrando de igual forma, que la mejor manera de suministrar los nutrientes, es a través de bioencapsuladores usando alimento vivo.

Suárez (2016) menciona de igual forma la importancia de conocer la necesidad nutricional en ácidos grasos poliinsaturados y de enriquecer rotíferos *Brachionus plicatilis* como vía de suministro de nutrientes esenciales para alimentar a las larvas de dentón hasta el día 22 posteclosión a base una serie de tratamientos de enriquecimiento con varias especies de microalgas (*Nannochloropsis gaditana*, *Isochrysis galbana*, *Chlorella* sp. y *Tetraselmis suecica*) y un enriquecedor comercial (Protein-Selco) para posteriormente evaluar el desempeño de la larva en la ganancia de peso y talla, así como los valores de biomasa obtenida y la supervivencia final.

La deficiencia nutricional sigue siendo una de las principales causas de la mortalidad masiva en el cultivo de larvas. Bentacor et al. (2019) enfocó su estudio en las diferentes estrategias de alimentación durante las primeras semanas de vida de la larva y evaluó el rendimiento, composición y perspectiva molecular. Para ello alimentó dos grupos de larvas con un enriquecedor comercial Algamac 3050 usando como bioencapsulador de nutrientes al alimento vivo como el rotífero, nauplios de artemia y copépodos para luego alimentar a la larva del atún rojo del atlántico desde la apertura de boca hasta los 13 y 18 días después de la eclosión.

Fu et al. (2021) evaluó los efectos de los rotíferos enriquecidos con tres productos comerciales de mejora como el Algamac 3080, S. presso y la *Nannochloropsis* sobre el crecimiento, supervivencia, deformidad mandibular, composición de ácidos grasos corporales y expresión genética relacionada con el desarrollo óseo de las larvas de pámpano dorado, mostrando así la necesidad de enriquecer el alimento vivo para mejorar la alimentación de las larvas.

1.3 Objetivos

- **Objetivo general:**

Evaluar el efecto en el desarrollo de las larvas de *Anisotremus scapularis* alimentadas con rotíferos potenciados con dos enriquecedores comerciales y una combinación de microalgas.

- **Objetivos específicos:**

- Evaluar el efecto en la supervivencia de las larvas de *Anisotremus scapularis* alimentadas con rotíferos potenciados con dos enriquecedores comerciales y una combinación de microalgas.
- Evaluar el efecto en el crecimiento longitudinal (mm) de las larvas de *Anisotremus scapularis* alimentadas con rotíferos potenciados con dos enriquecedores comerciales y una combinación de microalgas.

1.4 Justificación

La etapa más crucial y con mayor porcentaje de mortalidad en la cadena acuícola es la larvicultura, puesto que existe mayor fragilidad y el éxito productivo depende de asegurar esta fase.

Luego de la apertura de boca y la total absorción del saco vitelino, es imprescindible abastecer de nutrientes esenciales que permitan el óptimo desarrollo de la larva; cabe resaltar que, el suministro de alimento balanceado es inviable frente a los primeros días después de la eclosión debido a la presencia de un sistema digestivo poco desarrollado y rudimentario.

Es por ello que el uso del alimento vivo permanece como mejor alternativa a pesar de poseer bajos niveles nutricionales.

La característica filtradora no selectiva de los rotíferos la convierte en la mejor estrategia zooplanctónica funcional como bioencapsuladores para abastecer de nutrientes esenciales en el desarrollo ontogénico de la larva.

De esta forma, se presenta la viabilidad de este proyecto de investigación para dar a conocer la mejor fuente nutricional, ya sea usando un enriquecedor comercial o una

combinación de microalgas, que exponga el mejor desempeño en el crecimiento y supervivencia de la larva. Contribuyendo de esta forma con la promulgación de avances investigativos que ayuden con la elección de la óptima alternativa factible en el uso de enriquecedores para sostener la etapa larval en la cadena productiva de la chita y un beneficio metodológico que pueda servir como base a futuras investigaciones relacionadas con el tema para contribuir en el desarrollo de la investigación y comparar nuevas fuentes que proporcionen el éxito viable de la larvicultura marina en el Perú.

1.5 Hipótesis

- H_0 = cada uno de los tratamientos poseen el mismo efecto sobre el desarrollo de la larva.
- H_1 = por lo menos uno de los tratamientos posee diferencias significativas con respecto a los otros dos tratamientos en el desarrollo de la larva.

II. MARCO TEÓRICO

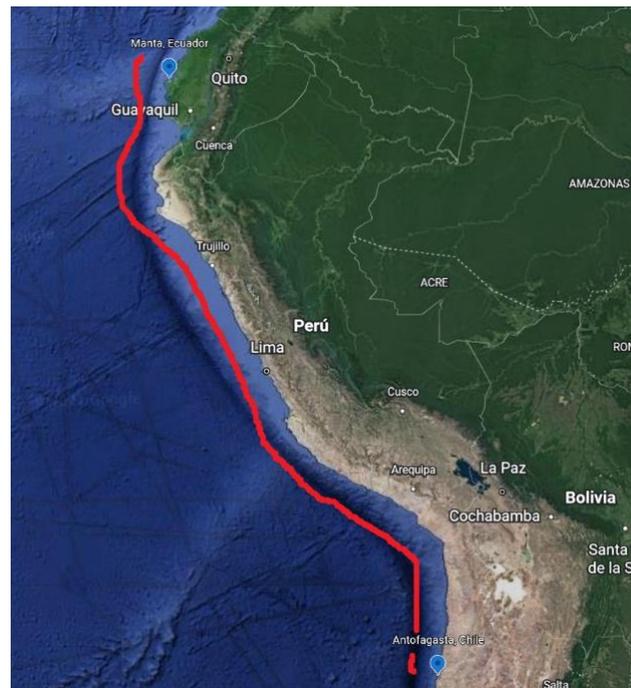
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 *Anisotremus scapularis*

2.1.1.1 Hábitat y ecología. La chita *A. scapularis* es una especie del Pacífico Sur Oriental, habita zonas rocosas y sustratos duros con fuertes corrientes mareales de 3 a 35 m de profundidad (Carrillo, 2009, como se citó en Espinoza, 2019) formando cardúmenes; se distribuye desde Manta en Ecuador, incluyendo las Islas Galápagos y Cocos hasta Antofagasta en Chile (Chirichigno N. , 1974), como se muestra en la **Figura 1**. Los ejemplares juveniles generalmente se encuentran en las pozas intermareales y los adultos son bentopelágicos de fondos arenosos (Kong & Castro, 2002).

Figura 1

*Distribución geográfica de *A. scapularis* (línea roja)*



Nota. Relieve geográfico de América del Sur. Adaptado de Google Maps

(<https://www.google.com/maps>).

2.1.1.2 Taxonomía. *Anisotremus scapularis*, llamado comúnmente como Chita, Roncador peruano, Sargo o Corcovado pertenece al orden Perciformes, donde se encuentra la familia Haemulidae. El género *Anisotremus* está compuesta por 10 especies entre las que se encuentra *scapularis* catalogada por Johann Jakob von Tschudi en 1846.

La clasificación taxonómica (Integrated Taxonomic Information System, 2004) de la chita es la siguiente:

Reino: Animalia

Subreino: Bilateria

Infrareino: Deuterostomia

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Infrafilo: Gnathostomata

Superclase: Actinopterygii

Clase: Teleostei

Superorden: Acanthopterygii

Orden: Perciformes

Suborden: Percoidei

Familia: Haemulidae

Género: *Anisotremus* Gill, 1861

Especie: *A. scapularis* (Tschudi, 1846).

2.1.1.3 Morfología. Entre sus características morfológicas encontramos una coloración gris plateada, en la axila de la aleta pectoral posee una mancha negra mientras que los juveniles se presentan sin barras oscuras longitudinales, ni mancha caudal y son de color gris plateado uniforme (Chirichigno N. , 1974).

Posee un cuerpo alto y comprimido lateralmente. Su cabeza tiene un perfil convexo y un hocico romo en la etapa adulta con una boca pequeña, baja y terminal. Los dientes se presentan en la mandíbula superior como inferior posicionados en una banda ancha. El margen del preopérculo es aserrado. En la aleta dorsal anterior, la cuarta espina es de mayor longitud y la parte posterior de la aleta dorsal es más baja y con los márgenes ligeramente cóncavos que la parte anterior. La aleta caudal tiene el lóbulo superior ligeramente más grande que la inferior; la aleta anal con espinas gruesas, siendo la segunda espina más larga que la tercera; las aletas ventrales posicionadas ligeramente más atrás de la base de las aletas pectorales puntiagudas. (Kong & Castro, 2002). En la **Figura 2** podemos encontrar una fotografía referencial de las características morfológicas de la especie en estudio.

Figura 2

Chita Anisotremus scapularis



Nota. Fotografía referencial de la especie chita *Anisotremus scapularis*, por Tu Pesca, 2020 (<https://tupesca.pe/?s=chita>).

2.1.1.4 Alimentación. La Chita es una especie eurífaga, son poco selectivas y pueden nutrirse de una variedad muy amplia de alimentos. De acuerdo a estudios realizados, se encontró una diversidad de especies que son consumidas por la chita en su medio natural, entre las que podemos encontrar son: Chlorophyta, Rhodophyta, Phaeophyta, Gasterópodos, Bivalvos, Larvas planctónicas, Ostrácodos, Misidáceos, Estomatópodos, Tanaidáceos, Isópodos y Anfípodos (Angel & Ojeda, 2001).

En cuanto al manejo alimenticio acuícola, aún se está trabajando en el desarrollo de dietas formuladas para el procesamiento de alimento balanceado peletizado que pueda cubrir con la demanda nutricional requerida. “Los peces marinos como otros animales no tienen un requerimiento de proteína “per se”, sino un requerimiento por una mezcla balanceada de aminoácidos provenientes de la dieta.” (Olivia-Teles, 2000, como se citó en Yanac , 2021, p. 7).

A lo largo del estadio larval se trabaja objetivamente con presas vivas, ya que durante los primeros días después de la eclosión, la larva aun posee un sistema digestivo rudimentario que aún no está listo para aceptar completamente el alimento balanceado. Es por ello que la elección del alimento vivo va conforme al tamaño de apertura de boca y al número de días transcurridos desde la eclosión. Estratégicamente se utilizan rotíferos y nauplios de artemia enriquecidas para nutrir y adaptar a la larva al consumo de partículas cada vez más grandes hasta lograr la transición del alimento vivo a una dieta balanceada inerte que se pueda suministrar con mayor facilidad.

2.1.2 *Brachionus plicatilis*

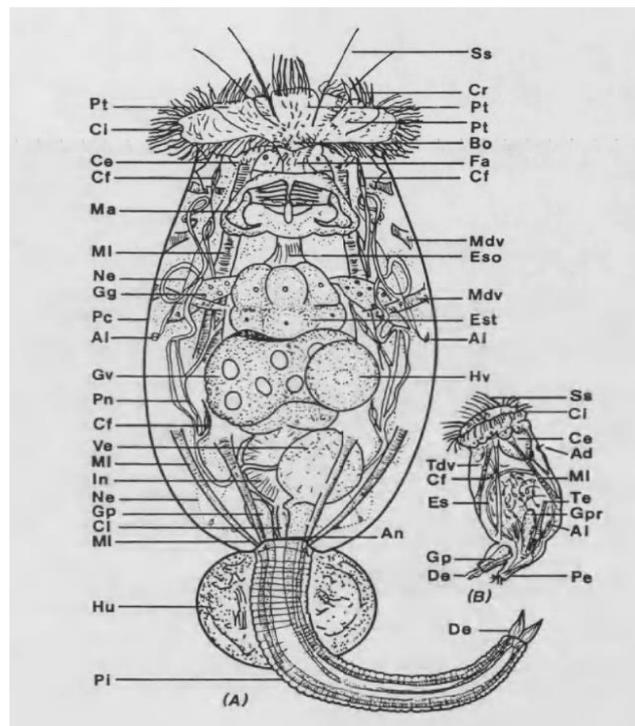
El rotífero *Brachionus plicatilis* es un organismo zooplanctónico usado frecuentemente como primera alimentación en el cultivo de peces en estado larval. Son organismos

politérmicos y eurihalinos que soportan un amplio espectro en relación a los parámetros fisicoquímicos ambientales. Su tolerancia a las altas concentraciones de salinidad indica que posee cierta tolerancia a las bajas concentraciones de oxígeno en el medio (Walker, 1981, como se citó en Carmona, 1992).

Los rotíferos son organismos pseudocelomados de tamaño microscópico oscilando en un rango entre los 40 a 500 μm de longitud. El cuerpo de *Brachionus plicatilis* puede dividirse en una breve región anterior o cabeza, un tronco largo, y un apéndice posterior llamado pie terminal. La cabeza lleva la corona u órgano rotatorio con función locomotora y de captura del alimento. Este aparato ciliado es común a todos los rotíferos y da nombre al grupo. Debido a la forma característica en que baten sus cilios, da la impresión de una rueda que gira, y de ahí el nombre de rotíferos o "portadores de ruedas". (Carmona, 1992). En la **Figura 3** se muestran los órganos y estructuras del rotífero *Brachionus plicatilis*. Entre ellas podemos encontrar: (A) hembra, aspecto ventral; (B) macho, aspecto lateral. Ad, antena dorsal; An, ano; Al, antena lateral; Bo, boca; Ce, cerebro; Cf, célula flamígera; Ci, cíngulo; Cl, cloaca; Cr, cirro; De, dedo; Es, espermatozoides; Eso, esófago; Est, estómago; Fa, faringe; Gg, glándula gástrica; Gp, glándula pedal; Gr, glándula prostática; Gv, germovitelario; Hu, huevo; In, intestino; Ma, mástax; Ml, musculo longitudinal; Ne, nervio; Ss, seda sensitiva; Pc, pared del cuerpo; Pe, pene; Pi, pie; Pn, protonefridio; Pt, pseudotronco; Tdv, tubo digestivo vestigial; Te, testículo; Ve, vesícula (Tomada de Serra, 1987; a su vez modificada a partir de Koste, 1980, como se citó en Carmona, 1992).

Figura 3

Rotífero Brachionus plicatilis



Nota. Tomado de *Partes del rotífero Brachionus plicatilis*, Carmona, 1992, Inducción a la fase sexual y aspectos relacionados en el rotífero *Brachionus plicatilis*.

Los rotíferos son organismos filtradores polívoros no selectivos que conducen el alimento hacia su boca gracias a una corona de cilios que produce un flujo en el medio. Por su pequeña talla y longitud de apertura bucal, se alimentan principalmente de microalgas como *Nannochloropsis*, *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis* sp., *Chaetoceros muelleri*, etc. pero debido a la gran demanda, extenso espacio y el esfuerzo que implica el cultivo de microalgas, se han desarrollado técnicas con alimentos almacenables, tal como la levadura de pan *Saccharomyces cerevisiae* para proporcionar elevadas densidades de cultivo de rotífero a bajo costo de producción (Reguera et al., 1982; Hirayama & Funamoto, 1983, como se citó en Gómez & Gómez, 1997). Sin embargo, los rotíferos cultivados en levaduras de pan, presentan

escasos niveles nutricionales debido al bajo contenido de ω 3-acidos grasos poliinsaturados (HUFA) que constituyen parte de los componentes esenciales (EFA= essential fatty acids) en la dieta de los peces marinos (Watanabe et al., 1978, como se citó en Reguera et al., 1982). No obstante, existen formas de suplir esta deficiencia nutricional con la que se cosechan los rotíferos, pues, se procede a enriquecerlos suspendiendolos en un cultivo de microalgas (Watanabe, 1983, como se citó en Gómez & Gómez, 1997) o usando enriquecedores comerciales disponibles en el mercado.

En la **Figura 4** podemos observar un rotífero fotografiado con la cámara de alta velocidad CMEX-18 Pro del microscopio Euromex iScope IS.

Figura 4

Fotografía del rotífero Brachionus plicatilis



Nota. Fotografía tomada bajo el lente de la cámara de alta velocidad CMEX-18 Pro.

2.1.3 *Enriquecedores*

El uso de enriquecedores es utilizado de manera estratégica para potenciar nutricionalmente la composición orgánica del zooplancton antes de ser suministrado como primer alimento a las larvas en cultivo. Ya sea a base de una mezcla de microalgas o a partir de un producto comercial, los enriquecedores proporcionan de nutrientes esenciales indispensables en el crecimiento larval.

Entre los enriquecedores comerciales tenemos:

2.1.3.1 Selco S. presso. Según las especificaciones del fabricante INVE Aquaculture, Selco S. presso, es un enriquecedor diseñado para satisfacer las necesidades en términos de mejora de la calidad del alimento vivo, producido con un proceso de suspensión y emulsión acuosa que permite la incorporación de ingredientes benéficos como oligoelementos, microelementos, lípidos, vitaminas y proteínas.

Es un enriquecedor para rotíferos y artemias, desarrollado a partir de las necesidades nutricionales de las larvas; una mezcla de partículas líquidas e insolubles que garantiza una ingesta óptima de los diversos ingredientes para alcanzar una relación DHA/EPA óptima.

En la **Tabla 1** podemos encontrar la composición del enriquecedor Selco S. presso mostrando los ingredientes o insumos de formulación junto con el porcentaje de contenido de acuerdo a las características que brinda el fabricante.

Tabla 1

Composición de Selco S. presso de acuerdo al fabricante (INVE Aquaculture, Belgium)

(Prusinska, Kushniryk, Khudyi, Khuda, & Kolman, 2015)

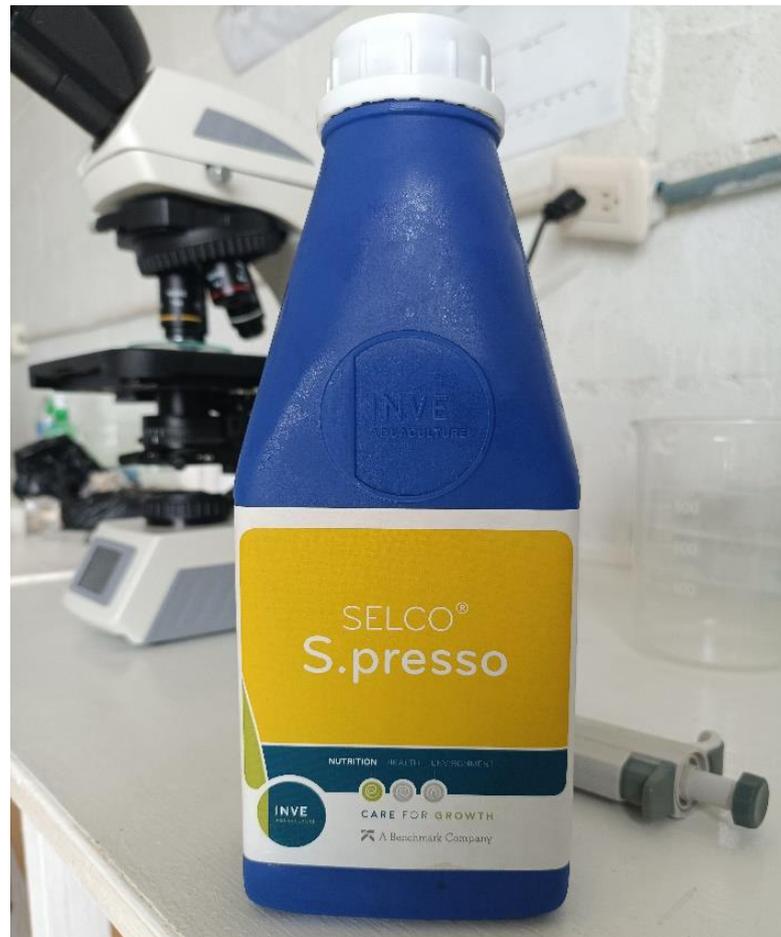
Ingredients	Content
Moisture (%)	58
Crude oils and fats (%)	33
Crude protein (%)	3
Crude ash (%)	1
Crude fiber (%)	0.5
Phosphorus (%)	0.2
Sodium (%)	0.2
Calcium (%)	0.1
$\Sigma\omega 3$ PUFA (mg g ⁻¹ dwt)	150
DHA/EPA	9
vitamin A (IU kg ⁻¹)	110.00
vitamin D ₃ (IU kg ⁻¹)	10.000
vitamin E (mg kg ⁻¹)	5.400
vitamin C (mg kg ⁻¹)	8.000
Zinc (mg kg ⁻¹)	125
Selenium (mg kg ⁻¹)	0.35
Ethoxyquin (mg kg ⁻¹)	200
BHA (mg kg ⁻¹)	50
Propyl gallate (mg kg ⁻¹)	50

Nota. Adaptado de *Impact of enriching larval brine shrimp (Artemia sp.) with a supplement containing polyunsaturated fatty acids on their growth and mortality* (p. 151), por Prusinska, Kushniryk, Khudyi, Khuda, & Kolman, 2015.

La **Figura 5** muestra una fotografía del enriquecedor Selco S. presso destinado para el enriquecimiento de rotíferos.

Figura 5

Fotografía del enriquecedor Selco S. presso



2.1.3.2 Algamac 3050. Según las especificaciones del productor Aquafauna, Algamac 3050 es un producto de nutrición acuícola a base de algas puras ricas en DHA secado en tambor y presentada en forma de escamas. Este producto está direccionado para el enriquecimiento de zooplancton como rotíferos y artemias en el reemplazo de algas vivas. Nutricionalmente balanceado con aminoácidos, vitaminas, minerales y niveles extremadamente altos de DHA (22:6w3).

En la **Tabla 2** se muestra el análisis proximal, de acuerdo al fabricante, del enriquecedor Algamac 3050 utilizado para el enriquecimiento de rotíferos.

Tabla 2

Análisis proximal de Algamac 3050 (Aqua fauna, s.f.)

PROXIMATE ANALYSIS	
Ingredients	Content (%)
Protein	32.5
Fat	34.7
Carbohydrates (by calculation)	17.6
Ash	10.8
Moisture	4.4

Nota. Adaptado de *Nutritional profile*, por Aqua fauna, s.f.

(<https://www.aquafauna.com/algamac-3050>).

La **Tabla 3** muestra el perfil de ácidos grasos del enriquecedor Algamac 3050, información obtenida de acuerdo a la información del fabricante.

Tabla 3

Perfil de ácidos grasos de Algamac 3050 (Aqua fauna, s.f.)

FATTY ACID PROFILE	FATTY ACID CONTENT (%W/W)	%
NAME	FATTY ACID	(%TFA)
Myristate	14:0	8.85
Palmitate	16:0	26.6
Palmitoleate	16:1	0.42
Stearate	18:0	0.64
Oleate	18:01	0.11
Eicosatrienoic acid (ETA)	20:3w6	0.22
Eicosapentaenoic acid (EPA)	20:5w3	2.88
Docosapentaenoic acid (DPA)	22:5w6	17.04
Docosahezaenoic acid (DHA)	22:6w3	43.27

Nota. Adaptado de *Nutritional profile*, por Aqua fauna, s.f.

(<https://www.aquafauna.com/algamac-3050>).

La **Tabla 4** nos muestra el perfil de aminoácidos del enriquecedor Algamac 3050 en relación a sus componentes y la concentración presente por cada 100 g del producto. Información obtenida de acuerdo al fabricante.

Tabla 4

Perfil de aminoácidos de Algamac 3050 (Aquafauna, s.f.)

AMINO ACID PROFILE	mg/100g
Alanine	750
Arginine-HCL	1650
Aspartic Acid	1260
Glutamic Acid	4180
Glycine	640
Histidine-HCL	240
Isoleucine	400
Leucine	700
Lysine-HCL	530
Phenylalanine	420
Proline	400
Serine	460
Threonine	440
Tyrosine	300
Valine	610

Nota. Adaptado de *Nutritional profile*, por Aquafauna, s.f.

(<https://www.aquafauna.com/algamac-3050>).

La **Figura 6** muestra una fotografía del producto Algamac 3050 utilizada para el enriquecimiento de rotíferos en el diseño experimental. La presentación de este producto proviene en un empaque hermético de bolsa trilaminada de aluminio para salvaguardar el insumo y su tiempo de vida en almacenamiento.

Figura 6

Fotografía del enriquecedor Algamac 3050



2.1.3.3 Microalgas. La comunidad microalgal tiene una relevante importancia en la acuicultura por su participación en el aporte de proteínas (Fábregas & Herrero, 1985, como se citó en Lopez-Muñoz & Herrero, 1992), vitaminas, β -caroteno y ácidos grasos (Karni & Avron, 1988; Ben-Amotz et al., 1986, como se citó en Lopez-Muñoz & Herrero, 1992). Así mismo, aportan polisacáridos, aminoácidos y enzimas que varían según la especie de la microalga, por lo que son implementadas como una mezcla para balancear y satisfacer la necesidad nutricional de los organismos cultivados (Barrera et al., 2003, como se citó en Pereira et al., 2017).

La composición nutricional de las microalgas también va en relación al medio nutritivo utilizado para su crecimiento, sin embargo, la densidad celular va sostenida de los factores ambientales en los que se encuentra la microalga, entre ellas tenemos:

- Luz: no solo juega un papel importante en el proceso bioquímico de la fotosíntesis en la microalga, sino también, la intensidad de luz proyectada puede significar una variación en el volumen celular, tasa de crecimiento y actividad enzimática de las microalgas (López, Abalde, & Herrero, 1992) para transformar un sustrato inorgánico en material energético orgánico aprovechable.
- Temperatura: influye directamente en el metabolismo de la microalga. Tiene una estrecha relación con la intensidad de luz proyectada sobre la misma, puesto que, para cada temperatura, existe una tasa máxima de crecimiento asociada a la intensidad de luz óptima (Dauta et al., 1990, como se citó en Lopez-Muñoz & Herrero, 1992).

Microalgas usadas como enriquecedor en el diseño experimental:

- a) *Nannochloropsis sp.*, esta microalga marina unicelular fotosintética posee gran productividad de lípidos y “pertenece a la clase Eustigmatophyceae, que agrupa a las especies que contienen la mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA’s) especialmente ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA) y ácido docosahexaenoico (DHA)” (Avila, 2015, p. 13). Es una célula redondeada de 2 a 4 μm que no posee flagelos, posee altas concentraciones de EPA, proteínas y carbohidratos (Pereira et al., 2017). Esta microalga se encuentra ampliamente usada en el cultivo de rotíferos por su rápido crecimiento exponencial, tamaño y por su alta producción de ácidos grasos poliinsaturados, ideales para el cultivo de larvas de peces (Saracco, 2003). La microalga *Nannochloropsis oculata* presenta una composición proximal promedio de 1.5 pg cel^{-1} de lípidos, 2.7 pg cel^{-1} de proteínas y 0.3 pgcel^{-1} de carbohidratos, cultivados a 25°C y una intensidad de luz de 340 $\mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Saracco, 2003). Saracco (2003), encuentra que las mayores concentraciones de

proteínas en la microalga *N. oculata* las obtiene a 25°C con un valor de 1.92 pg cel⁻¹, 0.45 pg cel⁻¹ carbohidratos, 1.48 pg cel⁻¹ para lípidos a una intensidad de luz de 140 µE.m⁻².s⁻¹ (Saracco, 2003). En el estudio de Navarro et al. en el 2017 demuestra que los valores nutricionales más altos se encuentran cultivando la microalga a 25° en F medio con promedios de 72.67 ± 6.7 µg ml⁻¹ para proteínas, 41.01 ± 5.5 µg ml⁻¹ para carbohidratos y 57.46 ± 4.1 µg ml⁻¹ para lípidos (Navarro, y otros, 2017). La **Tabla 5** muestra la composición de ácidos grasos de la microalga *Nannochloropsis oculata*.

Tabla 5

Composición de ácidos grasos en Nannochloropsis oculata (Avila, 2015)

Tipo de lípidos	Compuesto	Nombre común	C:Δ	Masa molecular (g mol)	Composición en la muestra (%)
SATURADOS	Ac. Decanoico	Ac. Láurico	12:0	200.31	-
	Ac. Tetradecanoico	Ac. Mirístico	14:0	228.37	7.69
	Ac. Hexadecanoico	Ac. Palmítico	16:0	256.42	35.43
	Ac. Octadecanoico	Ac. Esteárico	18:0	284.48	2.50
	Ac. Eicosanoico	Ac. Araquídico	20:0	312.54	-
MONOINSATURADOS	Ac. Hexadecenoico	Ac. Palmitoleico	16:1	254.41	27.54
	Ac. cis-9-octadecenoico	Ac. Oleico	18:1	282.46	8.62
	Ac. trans-9-octadecenoico	Ac. Eláidico	18:1	282.46	-
POLIINSATURADOS	Ac. cis-9, 12-octadecadienoico	Ac. Linoleico	18:2	280.45	5.22
	Ac. cis-5, 8, 11, 14-eicosatetraénico	ARA	20:4	304.47	2.47
	Ac. cis-5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoico	EPA	20:5	302.45	8.29
	Ac. cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoico	DHA	22:6	328.49	2.24

Nota. Adaptado de *Caracterización del perfil lipídico de la microalga Nannochloropsis oculata por GC-MS* (p. 14), por Avila, 2015.

b) *Isochrysis galbana*, esta es una microalga ovoide de 5 a 7 μm , con dos flagelos y ricas en DHA benéfico para el desarrollo y crecimiento de las larvas de peces marinos (Pereira et al., 2017). Posee altos niveles de ácidos grasos insaturados docosahexaenoico (DHA) que favorecen en el desarrollo, supervivencia y crecimiento en las larvas marinas. (Cambefort & Arcos, 2009). Los reportes sobre esta microalga exponen que tiene una productividad lipídica que va desde los 7.0 a 40.0% de lípidos (en peso seco), con una de biomasa de 0.32 a 1.60 g/l/día (Sánchez et al., 2000, como se citó en Torres, 2019). Esta microalga marina también posee la característica por acumular y sintetizar grandes cantidades de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) por lo que se le atribulle perfectos valores nutricionales (especialmente DHA y EPA) e ideales para el cultivo de larvario (Sánchez et al., 2000, como se citó en Torres, 2019). Según Rodríguez (2002), cita los componentes nutricionales encontrados en diversos estudios: “ácidos grasos dominantes encontrados en la microalga *Isochrysis* sp. fueron los altamente insaturados (37,7%), saturados (23,5%), monoinsaturados (19,2%) y poliinsaturados (12,2%)” (D’Souza y Loneragan, 1999, como se citó en Rodríguez, 2002, p. 7), en otro estudio se reporta que “los ácidos grasos saturados fueron los más abundantes (70.6%), seguido de los monoinsaturados (20.53%), altamente insaturados (5.86%) y poliinsaturados (1.03%)” (Carrillo, 2000, como se citó en Rodríguez, 2002, p. 8) y finalmente encontramos que la mayoría de ácidos grasos encontrados fueron los “poliinsaturados con 41.3%, seguidos de los saturados con 32.2% y monoinsaturados con 26.1%” (Boeing, 1999, como se citó en Rodríguez, 2002, p. 7). La **Tabla 6** muestra la composición bioquímica de la microalga *Isochrysis galbana*.

Tabla 6*Composición bioquímica (% peso seco)*

Especie	Proteína (%)	CHO (%)	Lípido (%)	Mineral (%)	Total (%)
<i>Isochrysis galbana</i>	41	5	21	13	80
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	33	17	10	29	89

Nota. Adaptado de *Evaluación de la calidad nutricional de las microalgas producidas en un laboratorio comercial, en el desarrollo larvario de zoeas de camarón blanco Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) (p. 8), por Brow et al., 1989, como se citó en Rodríguez , 2002.*

Existen diversos estudios donde se compara la composición que poseen las microalgas en mención. Esto con el fin de demostrar las ventajas del suministro combinado de las microalgas como fuente bilateral compensatoria para una dieta provista de diversos ácidos grasos necesarios para una óptima nutrición.

En la **Tabla 7** y **Tabla 8** se muestra una comparación del contenido de ácidos grasos de acuerdo al trabajo de análisis por parte de diferentes autores para el estudio de las microalgas *Nannochloropsis gaditana* e *Isochrysis galbana*. En estos cuadros se pueden observar y comparar los diferentes tipos y concentraciones de ácidos grasos entre ambas microalgas bajo diferentes fuentes de estudio.

Tabla 7

Comparación del contenido de ácidos grasos del trabajo de autor y de diferentes fuentes de estudio para la microalga Nannochloropsis gaditana

Ácidos grasos <i>N. gaditana</i>	Datos del Experimento	James & Abu-Rezeq 1989 (<i>N. sp.</i>)	Mourente et al. 1993 (<i>N. gaditana</i>)	Maruyama et al. 1997 (<i>N. oculata</i>)	Muller-Feuga et al. 2003 a y b (<i>N. sp.</i>)	Patil et al. 2007 (<i>N. oceanica</i>)
16:0	24.52	22.6	13.0	14.0	28.8	17.2
16:1n-7	24.15	-	14.3	26	26.5	18.2
18:1n-9	6.45	3.0	1.5	2.6	5.5	4.1
18:2n-6	4.42	3.7	1.1	4.5	3.5	9.7
18:3n-3	0.20	0.33	0.1	0	0	0.5
18:4n-3	0.03	-	0.1	-	0	-
20:1n-9	0.163	-	-	-	0	0.5
ARA (20:4n-6)	6.34	-	3.2	6.6	6.2	3.7
EPA (20:5n-3)	24.14	31.2	23.5	40	19.5	23.4
DHA (22:6n-3)	0.04	-	0.1	0	0	Tr
Saturados	35.79	24.2	17.9	14.0	38.7	37.1
Monoinsaturados	33.42	21.75	16.9	28.6	32	22.8
Poliinsaturados	36.34	39.47	30.9	51.1	29.2	37.8
HUFA n-3	24.31	31.2	24	40	25.7	23.4
HUFA Total	30.66	35.4	28.1	46.6	25.7	27.6
DHA/EPA	0.0016	-	0.017	-	-	-
EPA/ARA	3.81	-	7.34	6.1	3.15	6.3
EPA/18:3n-3	120.7	94.5	235	-	-	46.8

Nota. Adaptado de *Cultivo larvario de dentón (Dentex dentex L.): contribución al establecimiento de las necesidades nutricionales en ácidos grasos poliinsaturados* (p. 143), por Suárez, 2015.

Tabla 8

Comparación del contenido de ácidos grasos del trabajo de autor y de diferentes fuentes de estudio para la microalga Isochrysis galbana

Ácidos grasos	Datos del Experimento	Fernández-Reiriz et al. 1989 (<i>I. galbana</i>)	Mourente et al. 1989 (<i>I. galbana</i>)	Volkman et al. 1989 (<i>I. galbana</i>)	Lie et al. 1997 (<i>I. galbana</i> , T-iso)	Reitan et al. 1997 (<i>I. galbana</i> , T-iso)	Muller-Feuga et al. 2003 a y b (<i>I. galbana</i> , T-iso)	Patil et al. 2007 (<i>I. galbana</i>)	Ferreira et al. 2008 (<i>I. galbana</i> , T-iso)
16:0	11.76	38.2	8.8	14.5	9.6	14.5	12	11.5	12.54
16:1n-7	5.9	32.2	4.3	4.2	3.3	4.2	4.5	3.3	5.19
18:1n-9	16.9	2.6	10.9	20.1	13.3	16.1	12.5	13.1	12.89
18:2n-6	12.8	2.6	9.6	2.5	9.9	8.6	14	7.0	5.37
18:3n-3	4.73	0.22	7.1	3.6	5.7	4.5	12	3.8	7.66
18:4n-3	3.31	-	9.8	17.4	18.1	15.4	14.8	12.5	20.16
20:1n-9	12.59	0.34	0.2	0.2	0.4	-	-	-	-
ARA (20:4n-6)	0.32	-	0.2	-	0.4	-	0.3	-	0.12
EPA (20:5n-3)	0.39	3.7	0.8	0.2	1.3	0.9	1.5	0.8	0.52
DHA (22:6n-3)	5.93	1.31	6.9	8.3	13.8	19.4	9.5	15.8	9.52
Saturados	28.3	59.3	31.9	32.2	16.3	25.9	32.8	20.4	30.27
Monoinsaturados	38.7	34.88	26.9	26.1	20.0	23	19.2	17.0	22.86
Poliinsaturados	32.3	5.79	40.2	41.3	50.6	48.8	44.6	39.9	46.36
HUFA n-3	6.7	5.0	7.7	8.5	15.7	20.3	11	16.6	10.0
HUFA Total	7.45	5.0	9.6	10.3	16.1	20.3	17.6	16.6	10.12
DHA/EPA	15.20	0.35	8.63	41.5	10.6	21.6	6.3	19.75	18.3
EPA/ARA	1.2	-	4	-	3.3	-	5	-	4.3
EPA/18:3n-3	0.08	16.82	0.11	0.06	0.23	0.2	0.13	0.21	0.07

Nota. Adaptado de *Cultivo larvario de dentón (Dentex dentex L.): contribución al establecimiento de las necesidades nutricionales en ácidos grasos poliinsaturados* (p. 143), por Suárez Ramírez, 2015.

En la **Tabla 9** se puede observar otro cuadro comparativo de la composición y concentración de ácidos grasos entre las microalgas *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*

Tabla 9

Composición de ácidos grasos de las microalgas Nannochloropsis oculata e Isochrysis galbana

Fatty acid composition		Amount of fatty acid (%)	
		N. oculata	t-ISO
SFA	Valeric acid (C5:0)	0.11	ND
	Myristec acid (C14:0)	0.44	5.16
	Palmitic acid (C16:0)	19.2	15.47
	Stearic acid (C18:0)	2.34	3.67
	Pentadecylic acid (C15:0)	ND	0.22
	Nonadecylic acid (C19:0)	ND	0.1
	Behenic acid (C24:0)	ND	0.25
	Lignoceric acid (C24:0)	ND	0.19
	Cerotic acid (C26:0)	ND	0.34
Total		22.09	25.4
MUFA	Palmitoleic acid (C16:1 (n-7))	2.18	3.05
	Elaidic acid (C18:1 (n-9))	23.92	18.83
	Oleic acid (C18:1 (n-9))	6.12	1.26
	Eicosenoic acid (C20:1 (n-9))	6.13	0.47
	Myristoleic acid (C14:1 (n-3))	ND	0.05
Total		32.53	23.66
PUFA	Hexadecatrienoic acid (HTA) (C16:3 (n-3))	5.24	3.76
	Linoleic acid (C18:2 (n-6))	17.36	12.24
	Alpha-linolenic acid (ALA) (C18:3 (n-3))	12.6	10.25
	Gamma-linolenic acid (GLA) (C18:3 (n-6))	ND	0.23
	Stearidonic acid (SDA) (C18:4 (n-3))	ND	3.41
	Arachidonic acid (AA) (C20:4 (n-6))	ND	0.18
	Eicosapentaenoic acid (EPA) (C20:5 (n-3))	ND	0.27
	Docosapentaenoic acid (DPA) (C22:5 (n-6))	ND	0.57
	Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6 (n-3))	ND	5
Total		35.2	35.91

Nota. Adaptado de *Fatty acid profiles and biological activity of Nannochloropsis oculata and Isochrysis galbana, clone t-ISO* (p. 5), por Putra, 2022.

En la **Figura 7** se observa una fotografía de la batería de acrílicos o biorreactores de 300 L utilizados para el cultivo y escalamiento de microalgas. Cuentan con un sistema de aireación para generar el movimiento de las microalgas, un sistema de cosecha y distribución a lo largo de todo el hatchery de producción e investigación y consta de iluminación constante para el crecimiento regular del fitoplancton en cultivo.

Figura 7

Fotografía del cultivo masivo en acrílicos de 300 L de microalgas



Nota. Batería de acrílicos o biorreactores de 300 L para el cultivo de las microalgas *Nannochloropsis* sp. (izquierda) e *Isochrysis galbana* (derecha).

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

Será un trabajo de investigación de naturaleza cuantitativa de Diseño Completamente al Azar (DCA) que busca evaluar el efecto que tienen los enriquecedores sobre el desarrollo de la larva de *Anisotremus scapularis* al comparar una mezcla de microalgas frente a dos enriquecedores comerciales, que nos llevará a conocer cuál de ellos tiene el mayor efecto positivo sobre el desarrollo de la larva, usando rotíferos como bioencapsuladores para el suministro estratégico de los enriquecedores.

3.2 Ámbito temporal y espacial

La investigación tendrá lugar en la Sala de Peces del área de Innovación del Hatchery de la empresa SEACORP PERÚ S.A.C. ubicada en el km 6 del distrito de Sechura en el departamento de Piura, Perú.

3.3 Variables

- Variables independientes:
 - Tipo de enriquecedor.

- Variables dependientes:
 - Supervivencia (%).
 - Talla (mm).

- Variables constantes:

- Temperatura del agua de mar.
- Salinidad del agua de mar.
- pH del agua de mar.
- Densidad de siembra.
- Densidad de rotíferos enriquecidos.

3.4 Población y muestra

La investigación se realizó a partir de tres tratamientos con enriquecedores (Selco S. presso, Algamac 3050 y Microalgas) y un tratamiento control sin enriquecedores añadidos. Cada tratamiento constó de cuatro repeticiones (una incubadora por cada repetición), de las cuales se distribuyó 100 larvas en cada incubadora. La designación de los tratamientos y sus respectivas repeticiones a las incubadoras fue totalmente al azar. Cada una de ellas fue rotulada para recordar su distribución en la unidad experimental. La población global fue de mil seiscientas (1600) larvas en todo el bioensayo, comenzando la corrida de evaluación biológica simultáneamente entre todos los tratamientos a partir del día 1 después de eclosión (DDE) hasta el día 20 después de la eclosión. Los datos del efecto de cada tratamiento se colectaron al finalizar el diseño experimental.

3.5 Instrumentos

3.5.1 *Material biológico*

- Reproductores de chita.
- Larvas de chita de 1 DDE.
- Rotíferos (alimento vivo).

- Microalgas.

3.5.2 *Enriquecedores*

- Selco S. presso.
- Algamac 3050.
- Combinación de microalgas (*Nannochloropsis* sp. e *Isochrysis galbana*).

3.5.3 *Abastecimiento de agua*

- Bomba de mar de 5 HP Hidrostal.
- Tanque de acumulación de 5 m³ Rotoplas.
- Lámpara UV de 180 watts Pentair.
- Bomba Espa 3 HP.
- Filtro mecánico Pentair modelo TR 140.
- Filtros de cartucho bobinado 10 µm.
- Filtros de cartucho bobinado 5 µm.
- Filtros de cartucho bobinado 1 µm.
- Lámpara UV de 150 watts.
- Cilindro de almacenamiento de 200 L.

3.5.4 *Área de evaluación*

- Aire acondicionado Coldpoint TCP-24CSA/ZI2.
- Incubadora de 20 L útiles.
- Manguera de acuario de 6 mm.

- Blower de 3.4 HP Pentair.
- Difusores.

3.5.5 Colección de huevos

- Tanque de reproductores de 5m³ Rotoplas.
- Manguera de 2”.
- Tamiz de 300 µm.
- Balde de 20L.

3.5.6 Equipos

- Microscopio Euromex iScope IS.1153-PLPHi.
- Cámara de alta velocidad CMEX-18 Pro.
- Estereoscopio trinocular NexiusZoom NZ.1703-P Euromex.
- Laptop ACER Swift 5.
- Multiparámetros HANNA HI98194.
- Refractómetro.

3.5.7 Materiales

- Porta objetos.
- Cubre objetos.
- Vaso Beaker de 100 ml.
- Vaso Beaker de 1000 ml.
- Micropipeta Boico 100 – 1000 µl.

- Tips para micropipeta.
- Pipeta Pasteur desechable de 3ml.
- Contador manual de 4 dígitos.
- Lugol Gram de 250 ml.
- Guantes quirúrgicos.
- Papel toalla.

3.5.8 *Insumos de esterilización*

- Legía de 1L.
- Tiosulfato de sodio.
- Peróxido de hidrógeno.

3.5.9 *Materiales de oficina*

- Lapiceros.
- Bitácora de trabajo.
- Cuadro de colección de datos.
- Hojas Bond.
- Impresora EPSON L355.

3.6 Procedimientos

El desarrollo de la investigación se realizó en la Sala de Peces del área de Innovación del Hatchery de la empresa SEACORP PERÚ S.A.C. dentro de un periodo de evaluación de 20 días a partir del día 1 después de eclosión de las larvas de *A. scapularis*. Para ello, se

instalaron 16 incubadoras sobre estantes individuales para facilitar su observación, evaluación y alimentación de las larvas con rotíferos enriquecidos. Se instalaron dos acrílicos de 200 litros para el cultivo de rotíferos. El agua fue tratada y almacenada en bidones de 200 litros para su uso diario. Se instaló luminaria LED Opalux de 150 w y 24000 Lm para la iluminación del área experimental, así mismo, se instaló una red de mangueras y difusores que alimenten de aireación constante el sistema de incubación de las larvas en cada incubadora. La **Figura 8** muestra una fotografía del proceso de instalación del área de cultivo experimental.

Figura 8

Instalación del sistema de cultivo experimental



Nota. En la fotografía se observa la instalación del sistema de aireación para el diseño experimental de las larvas de *Anisotremus scapularis*.

3.6.1 *Abastecimiento de agua de mar*

El agua de mar utilizada para el desarrollo del bioensayo nace desde un mismo punto del medio natural, pero sigue dos líneas de tratamientos diferentes dependiendo del grado de inocuidad requerido. El agua de mar abastecida llega en primera instancia a la Sala de Acumulación por accionamiento de dos bombas de mar Hidrostal de 5 HP, en donde se encuentran, en forma de rosario, tres reservorios Rotoplas intercomunicados de 5 m³ cada uno. Cada reservorio tiene un filtro mecánico Pentair TR140 y una bomba de mar Hidrostal de 3 HP que direccionan el agua de hacia todo el hatchery de la empresa pasando por una lámpara UV Pentair de 180 watts que da el primer paso de esterilización. La primera ruta que sigue el agua de mar, partiendo de la Sala de Acumulación, es directamente hacia la Sala de Peces donde se encuentran los reproductores de chita y su segunda ruta es hacia la Sala de Microalgas, donde el agua de mar es filtrada nuevamente por tres cartuchos bobinados de 10, 5 y 1 µm y una lámpara UV Pentair de 150 watts. Esta agua de mar tratada es almacenada en dos tanques de 200 L de volumen, donde pasa por un proceso de esterilización con hipoclorito de sodio a una concentración de 0.5 ml.L⁻¹. Finalmente, para su uso con los huevos y larvas recién eclosionadas de chita, el agua de mar es dechlorada con tiosulfato de sodio a razón de 0.025 ml.L⁻¹. Para mantener constante la temperatura del agua de mar, se usa aire acondicionado de la marca Coldpoint en todo momento.

3.6.2 *Obtención de microalgas*

La producción de microalgas tuvo lugar en la Sala de Microalgas, donde se realizó el cultivo desde la fase inicial de siembra en el Área de Cultivo Inicial con el cepario de la misma empresa, escalando hacia el Área de Cultivo Intermedio hasta llegar a la cosecha en el Área de Cultivo Masivo del mismo laboratorio. La empresa cuenta con una batería de 72 acrílicos de

300 L (también llamados biorreactores) en el Área de Cultivo Masivo, para la producción de microalgas, de los cuales, se usó el material orgánico para la formulación del enriquecedor. Se seleccionaron las microalgas *Nannochloropsis* sp. e *Isochrysis galbana* como cepas necesarias para aplicarlas en el diseño experimental como combinación para la formulación del enriquecimiento zooplanctónico. El cultivo de microalgas tuvo como medio nutritivo un abono foliar líquido comercial de la marca Bayfolan de Bayer, usando dosis de 0.025 ml/L. La **Figura 9** muestra matraces con diversas microalgas en cultivo.

Figura 9

Área de Cultivo Inicial de la Sala de Microalgas



Nota. Fotografía de la fase inicial de las microalgas en cultivo.

3.6.3 Obtención de rotíferos

La cepa de rotíferos *Brachionus plicatilis* fue obtenida desde las instalaciones del IMARPE. Su crecimiento fue escalado desde pequeños beaker hasta llegar al volumen máximo en acrílicos de 200 L, manteniendo una temperatura constante de 28 °C y una salinidad de 35 unidades prácticas de salinidad (ups) o ppt en su medio. Todos fueron alimentados únicamente con levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae*, realizando su adición bajo una constante de alimentación en relación a su crecimiento poblacional. Para alimentar a los rotíferos, se disolvió la levadura en agua de mar a razón de 1 g por cada millón de rotífero encontrado en el medio. Para el conteo de rotíferos, se saca una muestra del medio de cultivo, se toma 1 ml y se lleva a una cámara Sedgwick-Rafter; con ayuda de un contador manual, se lleva la data del número de rotíferos encontrados en 1 ml y se exponencia al volumen total del cultivo zooplanctónico. La cosecha poblacional de los mismos, se realiza con un tamiz de 85 µm. La **Figura 10** muestra el escalamiento de rotíferos alimentados con levadura de panificación.

Figura 10

*Cultivo en escalamiento del rotífero *Brachionus plicatilis**



3.6.4 *Obtención de enriquecedores comerciales*

Los enriquecedores comerciales del diseño experimental (Selco S. presso y Algamac 3050), serán obtenidos gracias a la compra comercial mediante el servicio tercerizado de un proveedor.

3.6.5 *Obtención de larvas de chita*

El proceso de obtención de larvas de chita comienza con la preparación de reproductores, donde son disgregados en tanques individuales exclusivos para machos y otro para hembras, sexados previamente por canulación e identificados por la colocación de marcadores electrónicos o pittag de reconocimiento. Este proceso de aislamiento está relacionado con la maduración gonadal y permite tanto la ovogénesis como la espermatogénesis necesaria para la reproducción. Este desarrollo de maduración sexual se acompaña tres meses antes con la adición de nutrientes en su alimento, provisto de mezclas de Marine Dry mix, Premix Vitamínico, aceite Omega Blend y capsulas de Omega 3 para lograr su vigor reproductivo.

Para permitir la reproducción, se emparejan machos y hembras en una relación de 2:1 en tanques acondicionados para facilitar la colección de huevos. Al cabo de 24 horas, se realizan muestreos con un tamiz de 300 μm sobre la superficie del agua para evidenciar el desove de la reproducción.

Los huevos fecundados y viables presentan flotabilidad y se mantienen sobre la capa superficial del agua, mientras que los huevos no fecundados o inviables se hunden en el fondo del tanque. Los tanques están diseñados para realizar la colecta mediante un flujo laminar continuo recirculante del medio donde se encuentran los huevos fecundados, llegando a un tamiz colector de 300 μm sumergido parcialmente en agua de mar para evitar una colisión

brusca y la deshidratación de los huevos. Una vez colectados los huevos de chita, pasa por un proceso de desinfección con peróxido de hidrógeno a 100 ppm. Luego de la desinfección, los huevos reposan sobre agua estéril para ser enjuagados y nuevamente diferenciados de los huevos no viables que pasaron al colector. Terminado este proceso, los huevos están listo para ser llevados a una incubadora general con un flujo moderado de aireación para permitir el movimiento suave de los huevos, donde permanecerán hasta la eclosión de las larvas y poder ser distribuidas en las incubadoras donde se realizará el bioensayo con los diferentes tratamientos de enriquecedores expuestos. La **Figura 11** muestra una fotografía de miles de larvas de *A. scapularis* en un vaso Beaker como muestra del éxito del proceso de reproducción.

Figura 11

Fotografía de larvas obtenidas del proceso de reproducción



La **Figura 12** muestra una fotografía de las larvas de chita recién eclosionadas observadas al ocular del microscopio Euromex iScope IS.

Figura 12

Fotografía de larvas muestreadas al ocular del microscopio



3.6.6 Bioensayo

- a) Siembra: una vez eclosionados los huevos en la incubadora general, se dispusieron las larvas en incubadoras horizontales de 20 L, de fondo oscuro y con aireación moderada. Cada una de ellas contó con 100 larvas de chita para el diseño experimental. La temperatura fue regulada mediante el uso de aire acondicionado dentro de la sala experimental, lo que permitió mantener todo el sistema experimental a 18 °C.

La **Figura 13** muestra una fotografía de la disposición de incubadoras que se usaron para el desarrollo de la evaluación del efecto de los enriquecedores sobre las larvas de chita.

Figura 13

Módulos para las incubadoras del diseño experimental

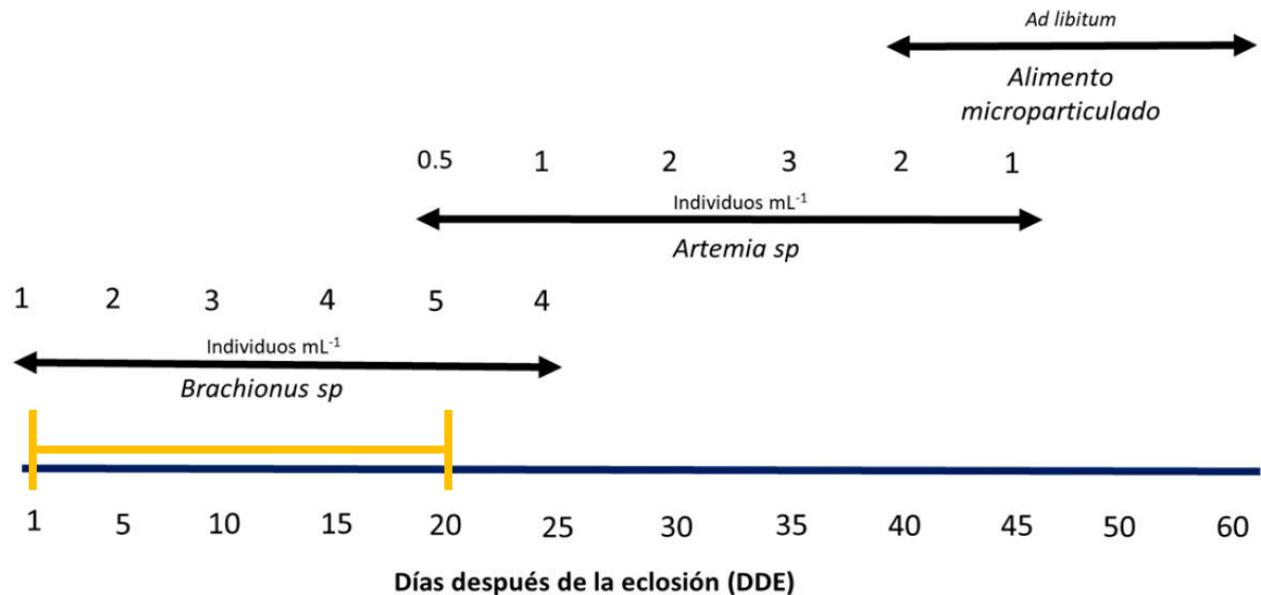


- b) Alimentación: para la alimentación de las larvas, se suministró alimento vivo teniendo como ejemplar zooplanctónico al rotífero *Brachionus plicatilis* enriquecidos de acuerdo al tratamiento designado para cada incubadora. Las densidades zooplanctónicas de alimentación están en relación con las densidades recomendadas en el Protocolo del cultivo larvario de Chita *Anisotremus scapularis* (Castro et al., 2021), en donde establece el suministro de alimento vivo a la larva de chita en relación a la cantidad de días después de eclosión. En la **Figura 14** se establece el número de individuos zooplanctónicos en base al número de días después de eclosión (DDE), resaltado con una línea naranja que delimita el periodo de alimentación usando el rotífero *Brachionus plicatilis*.

La **Figura 14** muestra un esquema del protocolo de alimentación utilizado como referencia para el suministro de rotíferos en la dieta de las larvas de *A. scapularis*.

Figura 14

Esquema de alimentación larvaria de chita Anisotremus scapularis



Nota. Adaptado de *Protocolo del cultivo larvario de chita Anisotremus scapularis en condiciones de laboratorio* (p. 21), por Castro et al., 2021.

- c) Recambios de agua: se realiza de acuerdo al protocolo de cultivo (Castro et al., 2022) donde dispone de un porcentaje de recambio de agua en relación a la cantidad de días después de eclosión de la larva. El porcentaje de recambio de agua por día se encuentra establecido en la Tabla 10 enmarcando la columna referente mediante dos líneas naranjas que indican la relación de recambio de agua y el número de días después de eclosión de la larva de *A. scapularis*.

La **Tabla 10** muestra una referencia utilizada como guía para el recambio de agua en las incubadoras del diseño experimental.

Tabla 10

Referencia del porcentaje de recambio de agua extraído de Castro et al. (2022) enmarcados entre líneas amarillas

Días después de la eclosión	Rotíferos (ml ⁻¹)	Artemia (ml ⁻¹)	Alimento micro-particulado	Recambio de agua (% d ⁻¹)	Volumen de agua efectiva (l)	Microalga Iso-Np (l)
0			0	60	0,4-1,6	
2	1			0	70	0,4-1,6
3	1			0	80	0,2-0,8
4	1			0	90	0,4-1,6
5	2			0	100	0,2-0,8
6	2			50	60	0,8-3,2
7	2			0	70	0,8-3,2
8	2			0	80	0,8-3,2
9	2			0	90	0,4-1,6
10	3			0	100	0,4-1,6
11	3			10	100	0,8-3,2
12-14	3			20	100	1,6-6,4
15-16	4			30	100	1,6-6,4
17-20	4	0,5		40	100	1,6-6,4
21-25	3	1,0		70	100	0,8-3,2
26-30	0	2,0		100	100	0,4-1,6
31-35	0	3,0		100	100	0,2-0,8
36-40	0	2,0	<i>Ad libitum</i>	100	100	0,2-0,8
41-45	0	1,0	<i>Ad libitum</i>	100	100	0,2-0,8
46-60	0	0,0	<i>Ad libitum</i>	100	100	0

Nota. Adaptado de *Evaluación de la densidad de cultivo sobre el crecimiento y la supervivencia de larvas de chita Anisotremus scapularis (Tschudi, 1846) en laboratorio* (p. 10), por Castro et al., 2022.

- d) Diseño Experimental: el bioensayo estuvo constituido por tres tratamientos (dos enriquecedores comerciales y una combinación de microalgas) y un tratamiento control sin enriquecedores.

Para los enriquecedores comerciales se usaron las marcas Selco S. presso (T1) y Algamac 3050 (T2), para el enriquecedor a base de microalgas (T3) se usó una combinación de *Nannochloropsis* sp. e *Isochrysis galbana* y para el tratamiento control (T4) no se usaron enriquecedores. Y finalmente los rotíferos solo fueron alimentados con levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae*.

Los tratamientos serán denominados de la siguiente manera:

- T1: Tratamiento 1 (usando el enriquecedor Selco S. presso).
- T2: Tratamiento 2 (usando el enriquecedor Algamac 3050).
- T3: Tratamiento 3 (usando el enriquecedor de mezcla de microalgas).
- T4: Tratamiento 4 (control, no contará con ningún tipo de enriquecedor).

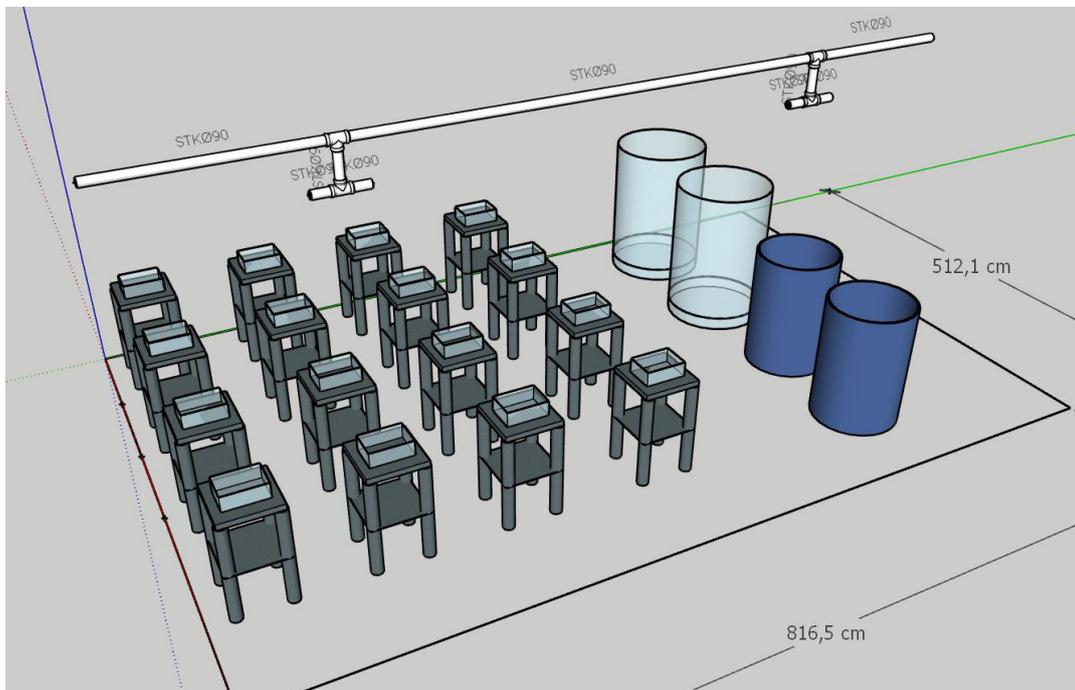
Cada tratamiento mencionado contó de cuatro replicas o repeticiones por cada uno y distribuidas aleatoriamente en los módulos de incubación.

El experimento estuvo compuesto en total de 16 incubadoras de 20 L cada uno, en los cuales se sembraron las larvas recién eclosionadas en agua de mar estéril y con temperatura controlada a 18 °C. Se destinaron 100 larvas para cada incubadora independiente, haciendo una población total de 1600 larvas en todo el diseño experimental. El bioensayo tendrá una duración total de 20 días, partiendo desde el día 1 después de eclosión (con la apertura de la boca y absorción total del saco vitelino), hasta el 20^{vo} DDE.

La **Figura 15** muestra el modelamiento de la disposición de las incubadoras y de todo el sistema experimental utilizado en la evaluación de los enriquecedores como tratamientos sobre las larvas de chita.

Figura 15

Modelamiento del diseño experimental



Nota. El modelamiento del diseño experimental fue realizado utilizando el software de diseño 3D SketchUp Pro 2021.

- e) Preparación de enriquecedores: el método de suministro de los enriquecedores fue por medio de la bioencapsulación de estos insumos mediante el uso de rotíferos como vía de suministro.

Para preparar al alimento vivo, es necesario agregar el enriquecedor al medio donde se encontrará el rotífero. Cabe resaltar que cada producto posee sus propios procesos de preparación, pero ambos cumplen el mismo propósito de dilución y suministro:

- Selco S. presso: Según los datos del fabricante, se emulsionan 300 g por litro en agua dulce (a una temperatura de 35 a 40 °C) durante 3 minutos. Para el suministro a rotíferos, se añade un máximo de 260g/m³ de 2 veces con una densidad máxima de mil rotíferos/ml, de los que podrán ser cosechados luego de 9 a 12 horas.

- Algamac 3050: Según los protocolos del fabricante, se hidratan las escamas secas del producto con agua dulce o salada, se mezclan en una licuadora por alrededor de un minuto en una proporción de 30 gramos por litro. La mezcla obtenida se transfiere a los rotíferos en un tanque destinado para el enriquecimiento (no superar los 500 mil rotíferos/L de agua de mar). Se agrega el producto a razón de 300 mg por millón de rotíferos. Se coloca aireación y evitar de descienda de los 4 ppm durante 8 horas de enriquecimiento (Aquafauna, s.f.).

- Combinación de microalgas: Las microalgas son obtenidas directamente del laboratorio de la Sala de Microalgas de la empresa SEACORP PERÚ. Son cultivadas con Bayfolan, un abono foliar líquido agrícola comercial a razón de 0.025 ml/L. Las microalgas pasan por un proceso de coteo celular como indicador de cosecha, para ello se usa una cámara Neubauer y un contador manual para registrar la densidad celular microalgal. La densidad celular de cosecha usada para la microalga *Nannochloropsis* sp. fue de 20 x 10⁶ cel/ml y la densidad para la microalga *Isochrysis galbana* fue de 4 x 10⁶ cel/ml. En cuanto a las

proporciones volumétricas usadas en la combinación de microalgas como enriquecedor fue a razón de 1:1.

3.7 Análisis de Datos

3.7.1 Muestreo y análisis

- a) Colección de parámetros fisicoquímicos: para la recopilación de los parámetros fisicoquímicos del medio, se registró la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH, salinidad (ppt), porcentaje de saturación de oxígeno (%) y oxígeno disuelto (mg/L) con el uso del equipo Multiparámetros HANNA HI98194 (**Figura 16**). El registro diario de cada uno de ellos se llevó a cabo en una bitácora de trabajo para su posterior análisis en el programa estadístico RStudio. Los compuestos nitrogenados como el amoníaco (NH_3), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) fueron registrados con ayuda de un kit de prueba API para acuarios de agua salada.

Figura 16

Multiparámetros HANNA HI98194



- b) Evaluación de supervivencia (S): la supervivencia poblacional fue tomada al finalizar el periodo de evaluación, en donde los datos registrados fueron expresados en porcentajes en relación al número de peces final (N_f) con respecto al número de peces inicial (N_0) (Yanac , 2021) en cada incubadora del bioensayo.

$$S (\%) = (N_f/N_0).100$$

- c) Evaluación de crecimiento (ΔL): el crecimiento longitudinal (mm) será evaluado al finalizar el experimento, donde se trabajó con la diferencia entre la longitud final (L_f) y la longitud inicial (L_0) (Yanac , 2021) de las larvas alcanzadas a lo largo del bioensayo. Se usó el software ImageFocus Alpha de la cámara de alta velocidad CMEX-18 Pro del microscopio Euromex iScope IS para realizar, de manera más precisa, las mediciones longitudinales de la larva en evaluación.

$$\Delta L (\text{mm}) = L_f - L_0$$

3.7.2 *Análisis estadístico*

El diseño experimental consistió en tres tipos de enriquecedores (Selco S. presso, Algamac 3050 y Microalgas) y un tratamiento control sin el uso de enriquecedores. Las variables de respuesta fueron la talla de crecimiento (mm) y la supervivencia, de los cuales, los datos fueron analizados en el software estadístico SPSS y R-Studio para Windows.

Para el análisis estadístico de supervivencia se aplicaron las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk (donde se encontró que los datos tienden a una distribución normal) y la prueba de homogeneidad de Levene (donde se evidenció que las varianzas son iguales entre grupos), por lo que se tomó la prueba de diferencia de medias con varios grupos (ANOVA: análisis de varianza) y como post prueba (post hoc) la técnica de Tukey para determinar cuáles grupos específicos difiere entre sí.

Mientras que para el análisis crecimiento se utilizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (donde se evidenció que los datos no tienden a una distribución normal), por lo que se utilizó la prueba de Kruskal Wallis para determinar diferencia significativa entre los diferentes grupos de tratamiento.

IV. RESULTADOS

4.1 Parámetros fisicoquímicos

El promedio total del registro diario de los parámetros fisicoquímicos en las incubadoras del bioensayo mostró resultados estables y dentro de los límites aceptables de las condiciones óptimas para la especie.

La temperatura promedio registró valores de $18,95 \pm 0,38$ °C en T1; $18,89 \pm 0,39$ °C en T2; $18,84 \pm 0,4$ °C en T3 y $18,86 \pm 0,44$ °C en T4. Los rangos de pH se encontraron en $7,45 \pm 0,01$ (T1); $7,45 \pm 0,01$ (T2); $7,46 \pm 0,01$ (T3) y $7,46 \pm 0,01$ (T4). Los valores de salinidad se encontraron en $33,87 \pm 0,02$ ppt (T1); $33,86 \pm 0,02$ ppt (T2); $33,86 \pm 0,02$ ppt (T3) y $33,86 \pm 0,02$ ppt (T4). El porcentaje de saturación de oxígeno se registró en $77,55 \pm 0,37$ % (T1); $77,48 \pm 0,32$ % (T2); $77,36 \pm 0,31$ % (T3) y $77,46 \pm 0,33$ % (T4). El oxígeno disuelto en las incubadoras tuvo valores registrados de $5,59 \pm 0,02$ mg/L (T1); $5,58 \pm 0,04$ mg/L (T2); $5,56 \pm 0,03$ mg/L (T3) y $5,57 \pm 0,02$ mg/L (T4), tal como se muestran en la **Tabla 11**. Finalmente, los compuestos nitrogenados se mantuvieron dentro del rango óptimo registrando valores promedio de $0,25$ mg/L para NH_3 , 0 mg/L para NO_2^- y 0 mg/L para NO_3^- en las incubadoras del bioensayo aplicado, tal como se muestran en la **Figura 17**.

Tabla 11

Parámetros fisicoquímicos

Tratamiento	Temperatura (°C)	pH	Salinidad (ppt)	Saturación (%)	OD (mg/L)
T1	$18,95 \pm 0,38$	$7,45 \pm 0,01$	$33,87 \pm 0,02$	$77,55 \pm 0,37$	$5,59 \pm 0,02$
T2	$18,89 \pm 0,39$	$7,45 \pm 0,01$	$33,86 \pm 0,02$	$77,48 \pm 0,32$	$5,58 \pm 0,04$
T3	$18,84 \pm 0,4$	$7,46 \pm 0,01$	$33,86 \pm 0,02$	$77,36 \pm 0,31$	$5,56 \pm 0,03$
T4	$18,86 \pm 0,44$	$7,46 \pm 0,01$	$33,86 \pm 0,02$	$77,46 \pm 0,33$	$5,57 \pm 0,02$

Figura 17

Compuestos nitrogenados**4.2 Evaluación de supervivencia**

Se evaluó la supervivencia de los cuatro tratamientos al finalizar el bioensayo (día 20 después de eclosión) utilizando el software estadístico SPSS. El mayor porcentaje de supervivencia se presentó con el enriquecedor de Microalgas (T3), los enriquecedores Selco S. presso (T1) y Algamac 3050 (T2) presentan similitud en los resultados y el tratamiento Control (T4) presentó un menor desempeño en comparación a los tratamientos enriquecidos en la unidad experimental.

Los resultados promedio de la supervivencia fueron de 66,25 % con el enriquecedor Selco S. presso (T1); 63,25 % con el enriquecedor Algamac 3050 (T2); 75,75 % con el

enriquecedor de Microalgas (T3) y 54,50 % con el tratamiento Control o sin enriquecedores (T4), mostrando similitud entre los tratamientos T1 y T2; y diferencias significativas entre los tratamientos T3 y T4 como se observa en la **Tabla 12**.

Tabla 12

Resultados porcentual de supervivencia

Tratamientos	Supervivencia (%)
T1	66.25
T2	63.25
T3	75.75
T4	54.50

Para hallar los resultados, en el análisis estadístico se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (**Anexo H**) a un nivel de significancia del 5%, donde se evidenció que los datos tienden a una distribución normal, además se desarrolló la prueba de homogeneidad de varianzas (prueba de Levene - **Anexo I**) a un nivel de significancia del 5% encontrando que las varianzas son iguales entre los cuatro grupos de tratamientos, por lo que se tomó la prueba de diferencia de medias para varios grupos (**Tabla 13** - Análisis de varianza: ANOVA) encontrando que existe diferencias significativas a un nivel de significancia del 5% entre los cuatro tratamientos y como post prueba el test de Tukey a un nivel de significancia del 5% (**Tabla 14**) que estableció al tratamiento T3 (enriquecedor de Microalgas) como la mejor respuesta a los índices de supervivencia.

En la **Tabla 13** se muestran los resultados del análisis de varianza donde el p valor (Sig.) se muestra menor al nivel de significancia alfa (igual al 5%), sugiriendo que al menos un tratamiento del bioensayo es significativamente diferente de los demás.

Tabla 13*Cuadro de análisis de varianza - ANOVA*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	921,6875	3	307,2291667	62,22362869	1,38673E-07
Dentro de grupo	59,25	12	4,9375		
Total	980,9375	15			

Luego de realizar el análisis de varianza ANOVA, la prueba de Tukey (**Tabla 14**) proporciona información adicional sobre las diferencias significativas entre los tratamientos, ayudando a determinar qué pares específicos de tratamientos son significativamente diferentes entre sí.

Tabla 14*Diferencias significativas entre tratamientos (Tukey)*

Tratamientos	Supervivencia (%)	Grupos
T1	66.25	b
T2	63.25	b
T3	75.75	a
T4	54.50	c

Por lo tanto, se puede observar que entre el tratamiento T1 (Selco S. presso) y el tratamiento T2 (Algamac 3050) no hay diferencias significativas, los porcentajes de supervivencia son similares y no se puede afirmar que uno sea mejor que el otro en términos de supervivencia.

Entre el tratamiento T1 (Selco S. presso) y el tratamiento T3 (Microalgas), si encontramos diferencia significativa entre estos dos tratamientos. El Tratamiento T3 tiene una

supervivencia significativamente mayor que el Tratamiento T1, lo que sugiere que el Tratamiento T3 es más efectivo que el T1.

Entre el tratamiento T1 (Selco S. presso) y el tratamiento T4 (Control) se observa que existe diferencia significativa. El Tratamiento T1 tiene una supervivencia significativamente mayor que el Tratamiento T4, lo que sugiere que el Tratamiento T1 es más efectivo en términos de supervivencia que el T4.

Entre el T2 (Algamac 3050) y el tratamiento T3 (Microalgas) se evidencia una diferencia significativa entre ambos tratamientos. El Tratamiento T3 tiene una supervivencia significativamente mayor que el Tratamiento T2, lo que sugiere que el Tratamiento T3 es más efectivo que el T2.

Entre el tratamiento T2 (Algamac 3050) y el tratamiento T4 (Control) también se evidencia una diferencia significativa entre estos dos tratamientos. Y entre el tratamiento T3 (Microalgas) y el tratamiento T4 (Control) también existe una gran diferencia significativa entre ambos tratamientos, lo que demuestra que el T3 tiene una supervivencia significativamente mayor que el Tratamiento T4, lo que sugiere que el Tratamiento T3 es el que presenta mejor rendimiento en cuanto a la tasa de supervivencia del bioensayo.

En resumen, según los resultados de la prueba de Tukey, el tratamiento T3 (Microalgas) es el tratamiento más efectivo en términos de supervivencia, ya que es significativamente mayor a los otros tratamientos. Por otro lado, los tratamientos T1 (Selco S. presso) y T2 (Algamac 3050) no muestran diferencias significativas a lo que no se puede afirmar que uno sea mejor que el otro. Finalmente se observa que el T4 (Control) se muestra como el menos efectivo, ya que tiene la tasa más baja de supervivencia y es significativamente diferente de los otros tratamientos.

4.3 Evaluación de crecimiento

La talla inicial de las larvas fue medida en el día 1 después de eclosión obteniendo un valor promedio global de $2,524 \pm 0,02$ mm de siembra en las incubadoras de la unidad experimental.

La **Tabla 15** muestra una comparación de tallas (en mm) encontradas al iniciar (1 DDE) y terminar el bioensayo (20 DDE).

Tabla 15

Talla promedio (en mm) de larvas al día 1 y al día 20 (DDE)

Día	T1	T2	T3	T4
1	2.52 ± 0.02	2.52 ± 0.02	2.52 ± 0.02	2.52 ± 0.02
20	7.47 ± 0.02	6.98 ± 0.01	6.26 ± 0.03	5.54 ± 0.06

El crecimiento de las larvas se evaluó al concluir el bioensayo a los 20 DDE utilizando el software estadístico SPSS y para el diseño del diagrama de cajas se usó el software R-Studio. Los datos analizados de talla (mm) fueron sometidos a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (**Anexo S**) donde encontramos que los datos no tienden a una distribución normal por lo que se utilizó la prueba de Kruskal Wallis (**Tabla 17**) determinando la existencia de diferencia significativas entre los cuatro tratamientos. Los tratamientos Selco S. presso (T1), Algamac 3050 (T2), Microalgas (T3) y Control (T4) registraron promedios de crecimiento con valores de $7,474 \pm 0,17$ mm (T1); $6,976 \pm 0,14$ mm (T2); $6,255 \pm 0,29$ mm (T3) y $5,537 \pm 0,41$ mm (T4) respectivamente, cada una de ellas con sus desviaciones estándar.

La **Tabla 16** muestra la diferencia entre las medianas de los coeficientes de variación de los tratamientos obtenida en el programa SPSS.

Tabla 16*Mediana de coeficientes de variación de tratamientos*

Tratamientos	N	Mediana	Coefficiente de variación
T1	80	280,5	0,00280
T2	80	200,5	0,01846
T3	80	120,5	0,05531
T4	80	40,5	0,01033
Total	320		

Como prueba no paramétrica, utilizamos Kruskal- Wallis para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados al no presentar una distribución normal. Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis indican que existe al menos una diferencia significativa entre los tratamientos aplicados en cuanto a las tallas finales de las larvas de Chita. Estas diferencias son estadísticamente significativas debido a que el p valor (sig. asintótica) es menor al nivel de significancia alfa (igual al 5%), como se observa en la **Tabla 17**, dando una prueba significativa habiendo diferencias entre las medianas.

Tabla 17*Prueba de Kruskal Wallis*

Estadísticos de prueba^{a,b}	
Talla_20	
H de Kruskal-Wallis	299,082
gl	3
Sig. asintótica	1,57206E-64

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: tratam

Los resultados mostrados en la **Tabla 18** evidencian las diferencias significativas entre las tallas alcanzadas con los enriquecedores aplicados encontrando grupos diferenciados entre sí para todos los tratamientos.

Tabla 18

Diferencia significativa de las tallas finales entre tratamientos

Tratamientos	Promedio	Grupos
T1	7,472 ± 0,02	a
T2	6,976 ± 0,01	b
T3	6,255 ± 0,03	c
T4	5,540 ± 0,05	d

El tratamiento T1 (Selco S. presso) presenta diferencia significativa en comparación a los demás tratamientos T2 (Algamac 3050), T3 (Microalga) y T4 (Control) en términos de crecimiento sugiriendo que es el más efectivo en cuanto a ganancia de tallas hasta el día 20 después de eclosión.

El tratamiento T2 (Algamac 3050) muestra resultados de tallas significativamente diferenciados en relación con los tratamientos T3 (Microalga) y T4 (Control).

Y entre los tratamientos T3 (Microalgas) y T4 (Control) también encontramos diferencias significativas en las tallas finales.

En resumen, podemos observar que el tratamiento T1 (Selco S. presso) presenta ser el enriquecedor más efectivo en cuanto a la ganancia de tallas hasta el día 20 después de eclosión siendo significativamente diferenciado en comparación con los demás tratamientos, sugiriendo la efectividad positiva en el crecimiento evaluado mostrando la talla promedio más alta; seguido por el tratamiento T2 (Algamac 3050), T3 (Microalgas) y T4 (Control) en orden

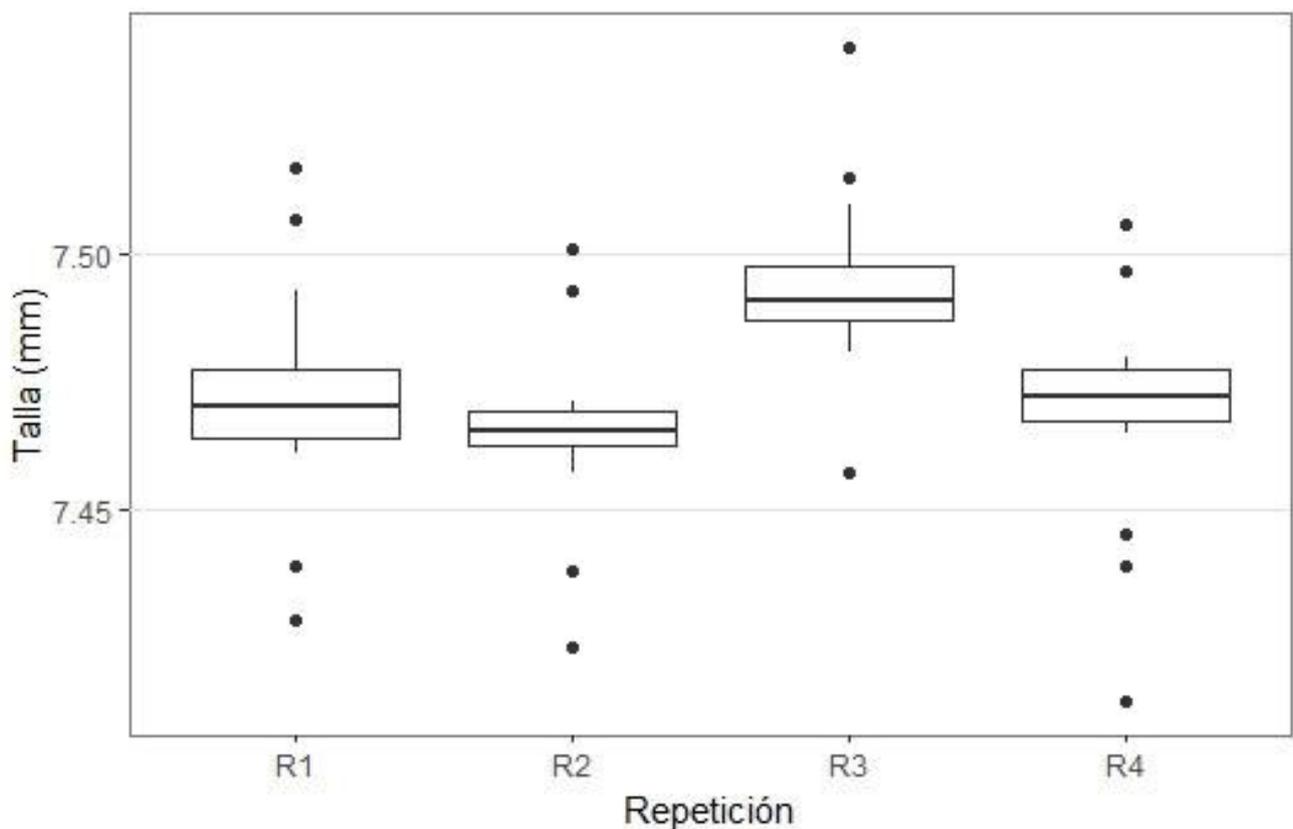
descendente. Esto proporciona información sobre cómo se comparan los tratamientos específicos entre sí en función de las diferencias en el crecimiento de las larvas.

Para la interpretación visual de los datos obtenidos, los resultados fueron procesados en R studio usando los plots de cajas y bigotes o también conocidos como diagrama de cajas para la distribución de los datos de cada tratamiento. Los plots nos permiten la comparación de datos entre repeticiones y tratamientos utilizados en el diseño experimental.

En la **Figura 18** encontramos la distribución de los resultados del Tratamiento Selco S. presso (T1), en donde el rango intercuartílico y promedio encuentran entre los 7,45 y 7,50 mm, sin embargo, también se visualizan ciertos valores atípicos presentes en el diagrama. El diagrama de cajas muestra poca dispersión del tratamiento T1 durante la investigación.

Figura 18

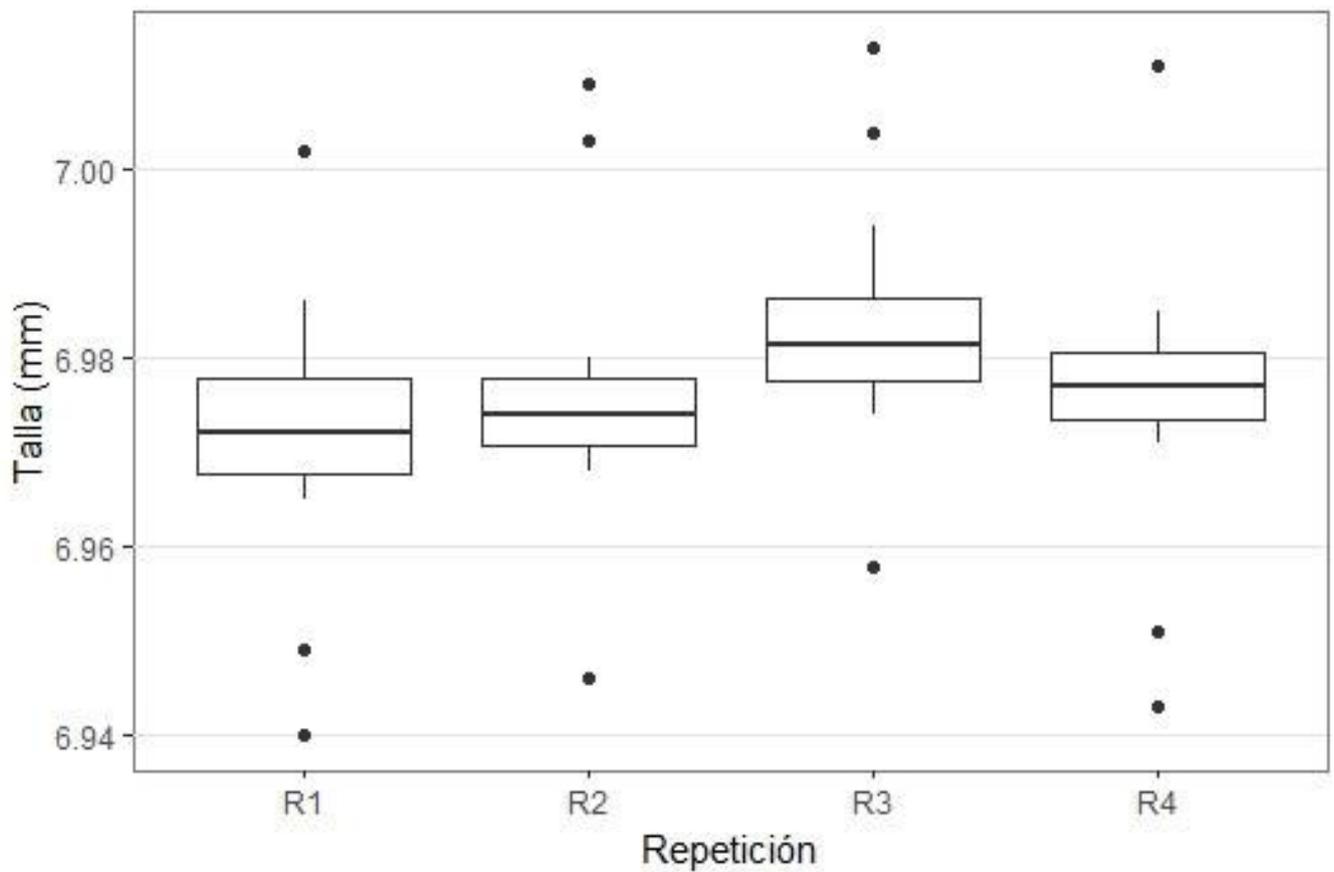
Rango de tallas del T1 (Selco S. presso)



En la **Figura 19** encontramos datos promediados del tratamiento Algamac 3050 (T2) en 6,9 mm con pocos valores atípicos por fuera del rango de los bigotes de cada caja, visualizando cierta equivalencia en la tendencia de datos.

Figura 19

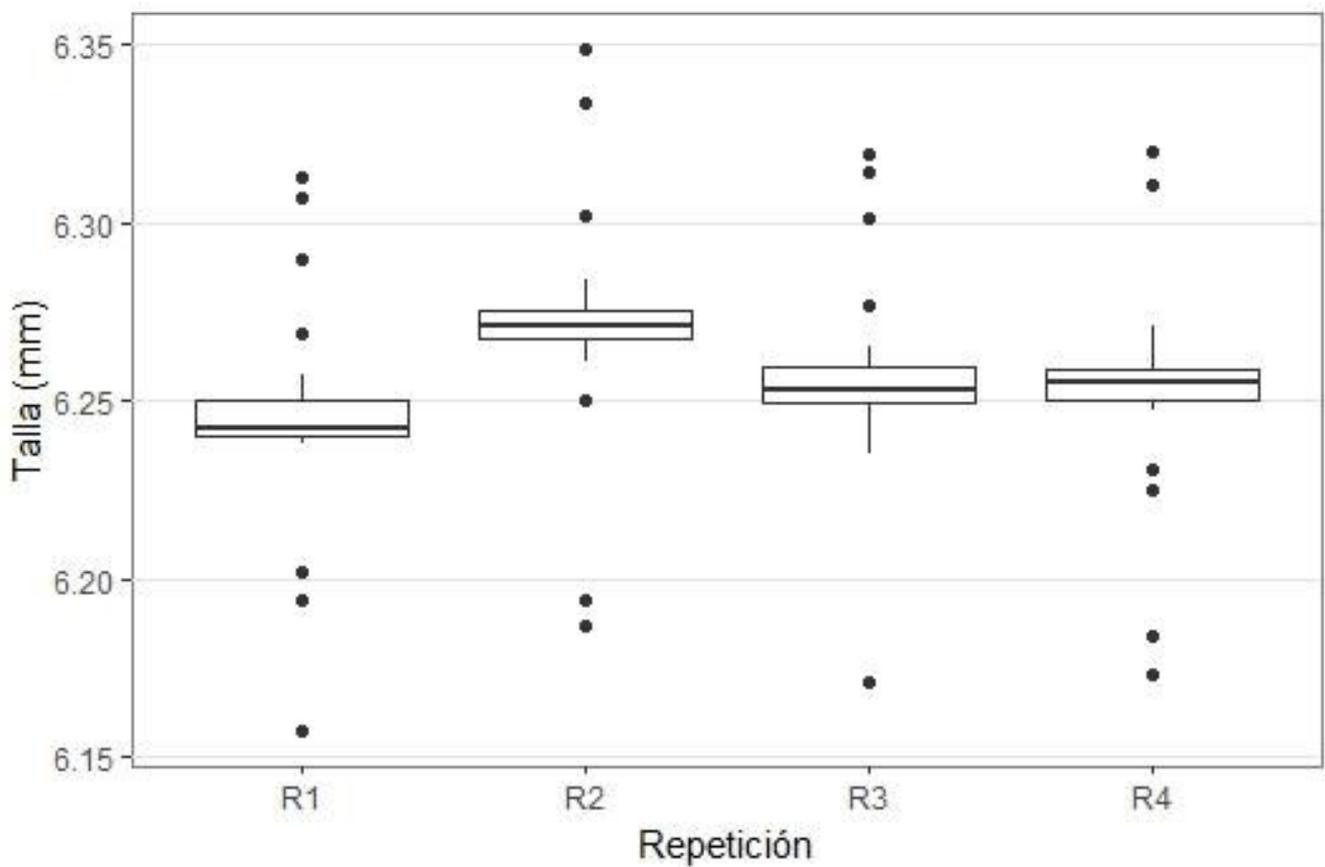
Rango de tallas del T2 (Algamac 3050)



En la **Figura 20** encontramos varios datos atípicos del tratamiento Microalgas (T3) reflejados en la uniformidad de tallas evidenciadas por el número de puntos individuales por fuera del rango de los bigotes del diagrama. Este comportamiento se observa en las cuatro repeticiones del tratamiento empleado, abarcando tallas poco simétricas dentro de todo el rango mostrado.

Figura 20

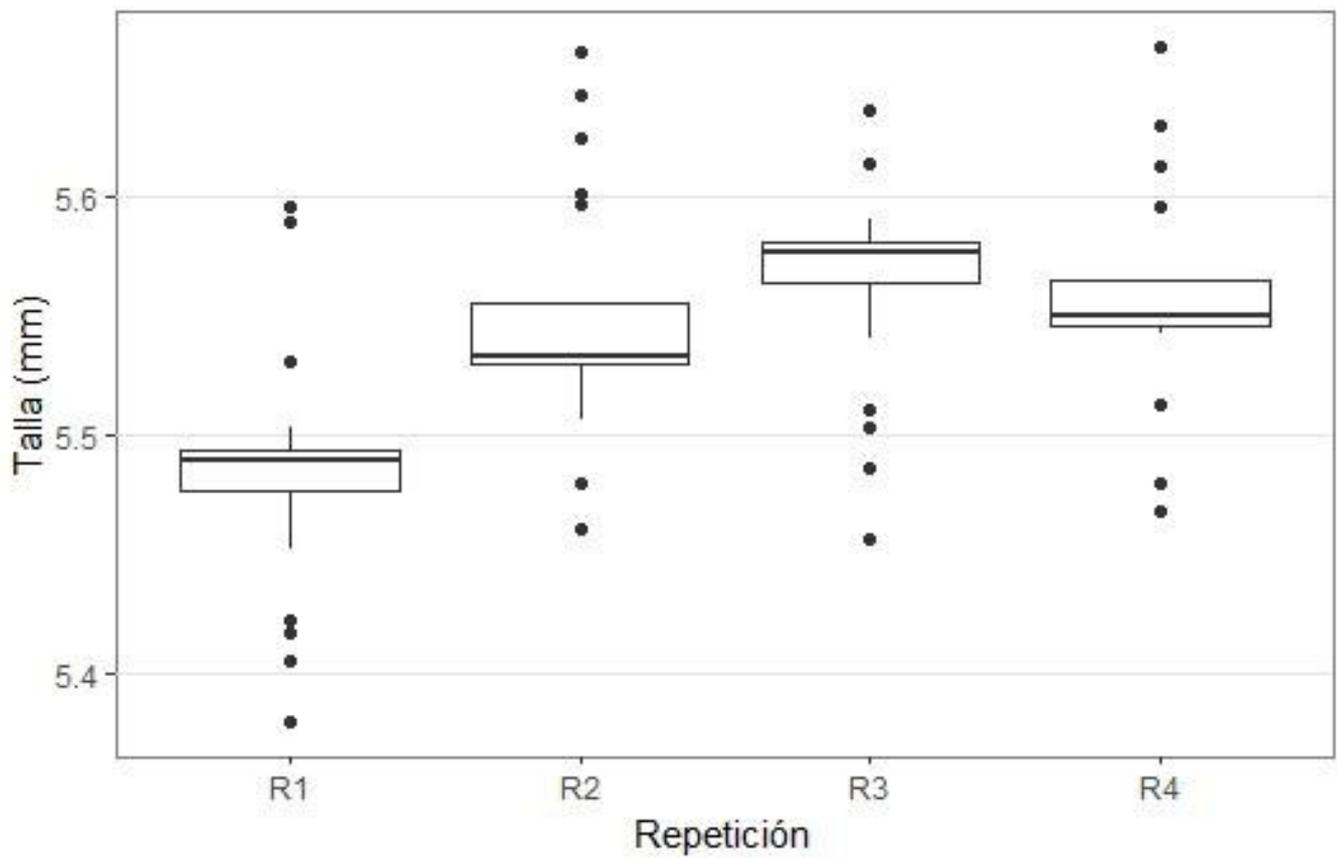
Rango de tallas del T3 (Microalgas)



La **Figura 21** muestra el menor crecimiento de larvas reflejadas en la ganancia de talla por parte del tratamiento Control (T4) y la mayor dispersión de datos atípicos entre los rangos mostrados en el diagrama de cajas.

Figura 21

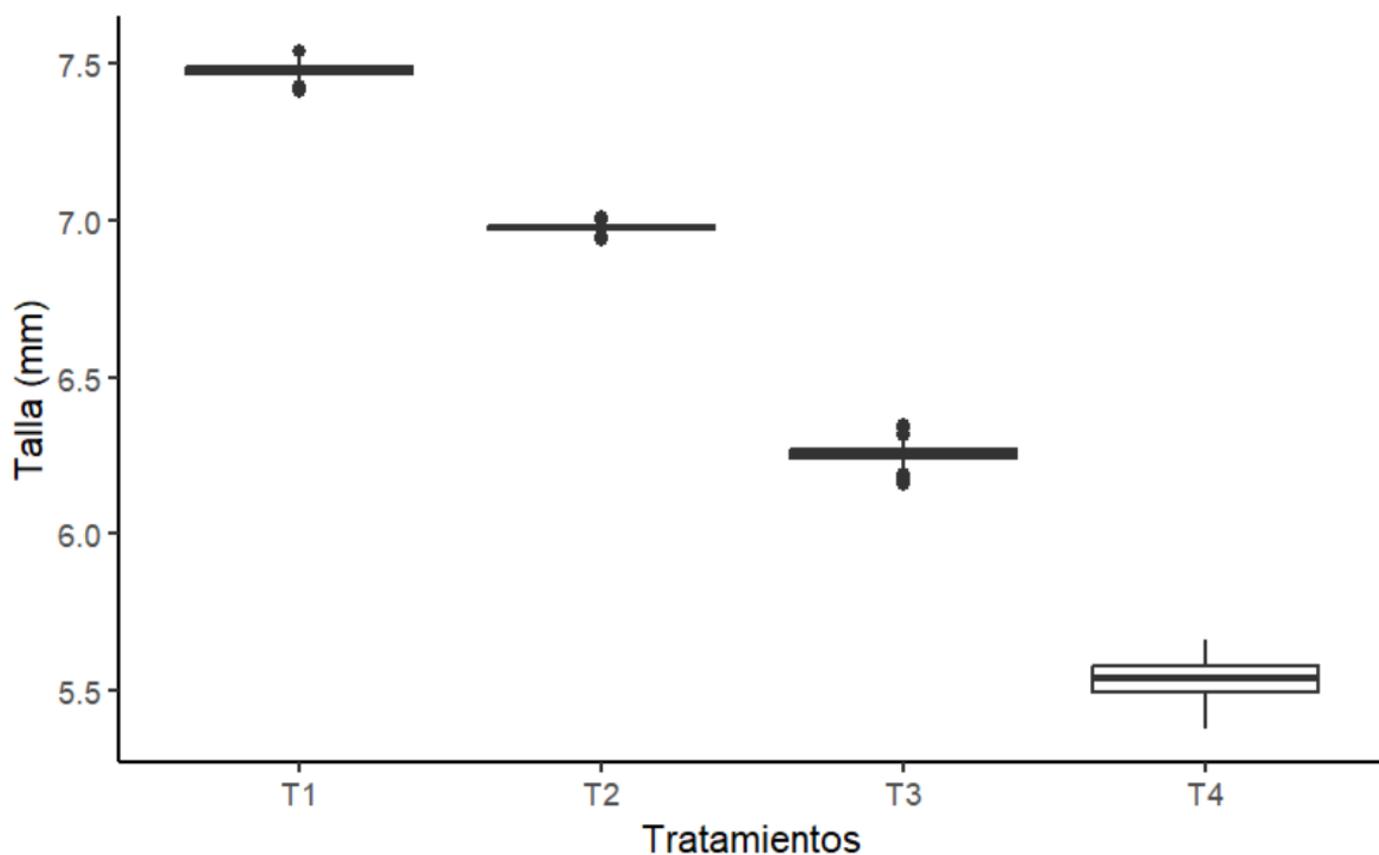
Rango de tallas del T4 (Control)



En la **Figura 22** se evidencia la diferencia significativa entre los cuatro tratamientos empleados realizando una comparación de tallas alcanzadas en un solo plot de cajas de todo el periodo experimental. El tratamiento con mayor crecimiento se encuentra representado por el tratamiento T1 con valores de $7,474 \pm 0,17$ mm y el de menor crecimiento por el tratamiento Control T4 (aquel que no empleó enriquecedores en su alimentación) con valores de $5,537 \pm 0,41$ mm.

Figura 22

Plots comparativos de rangos entre tratamientos

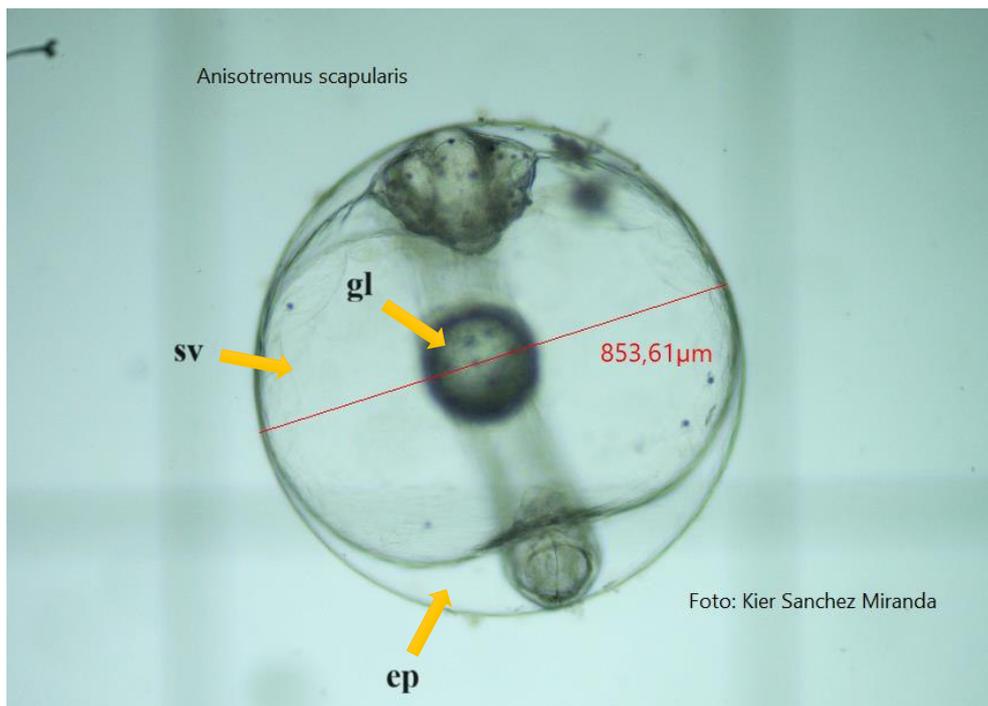


El desarrollo de la larva fue fotografiado con una cámara de alta velocidad CMEX-18 PRO equipada en el microscopio Euromex iScope IS y procesado con la ayuda del software ImageFocus Alpha que permitió realizar las mediciones en directo de las larvas al finalizar el periodo experimental.

La intervención de la larva para la captura fotográfica significaba la muerte de la misma, por dicha razón, se evitó lo mayor posible manipulación en el proceso para no influir en la evaluación de la mortalidad. El registro fotográfico que se muestra a continuación, emplea cuatro hitos importantes en el desarrollo ontogénico de la larva. La **Figura 23** muestra al embrión de *Anisotremus scapularis* aun dentro del huevo sin eclosionar, poseía un diámetro de 853,61 μm o 85 mm. En la fotografía se puede observar la gota lipídica (gl), el espacio perivitelino (ep) y el saco vitelino del embrión (sv).

Figura 23

Embrión de Anisotremus scapularis presente dentro del huevo

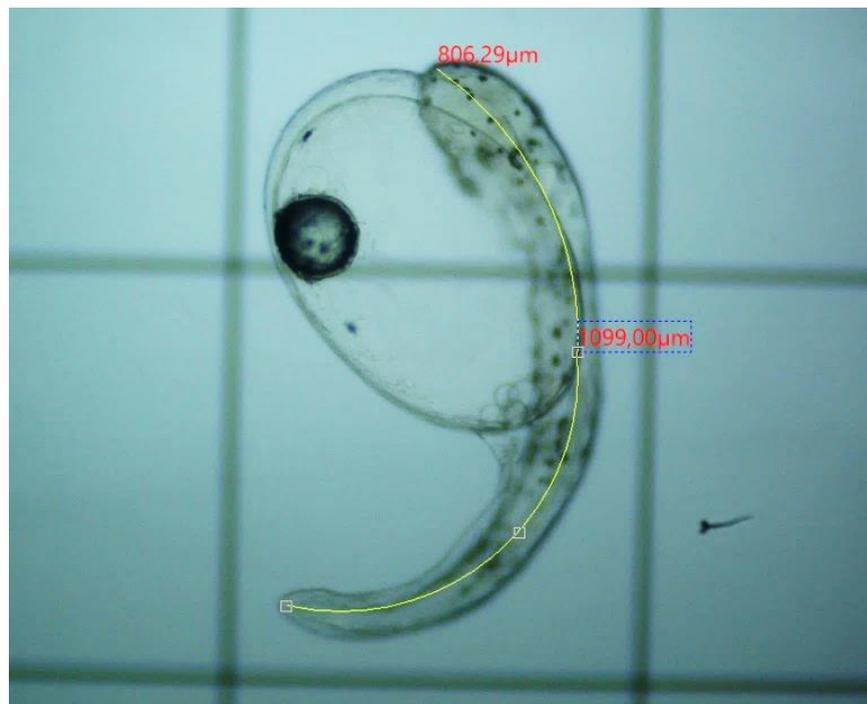


Nota. Fotografía realizada con una cámara de alta velocidad CMEX-18 PRO.

La **Figura 24** muestra a una larva de *A. scapularis* recién eclosionada, con una longitud corporal de 1,90 mm. Para realizar esta fotografía, la larva fue colocada sobre una cámara Sedgewick Rafter.

Figura 24

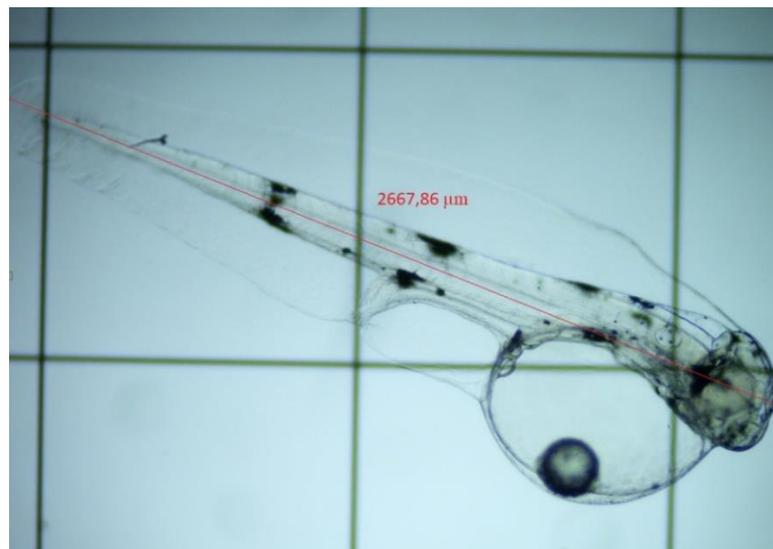
Larva recién eclosionada de 1,90 mm



La **Figura 25** muestra una larva de *A. scapularis* a 1 día después de eclosión (DDE). La fotografía fue tomada al mínimo aumento disponible por el microscopio (4x). A tan solo 24 horas de su eclosión, la larva ya posee 2,66 mm de longitud corporal dando inicio a la etapa de evaluación de los tratamientos.

Figura 25

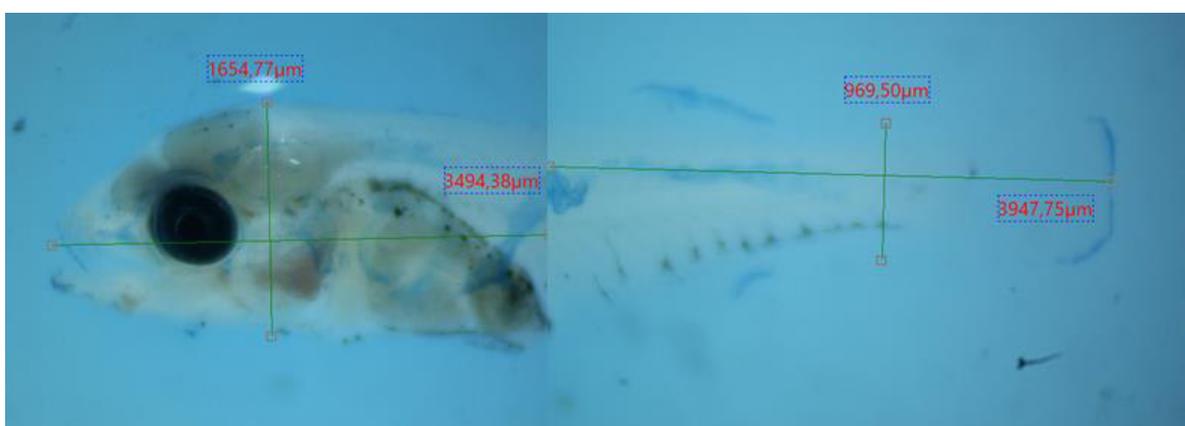
Larva con 1 DDE de 2,66 mm



La etapa experimental finalizó el día 20. La **Figura 26** muestra un ejemplar del tratamiento Selco S. presso (T1) que alcanza una longitud total de 7,44 mm. Para lograr el contraste de la fotografía se usó una gota de azul de metileno como ayuda para observar los límites corporales de la larva.

Figura 26

Larva con 20 DDE de 7,44 mm (larva muestreada del tratamiento T1)



Nota. Fotografía dividida en dos partes para capturar la longitud total de la larva.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La etapa larval, en la mayoría de las especies, se caracteriza por ser una fase susceptible y propensa a una descompensación nutricional que provoque la muerte si no se tiene un buen control sobre la técnica o estrategia de alimentación durante su cultivo.

Autores como Yanac (2021) han reportado la incapacidad de síntesis de los ácidos eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido araquidónico (ARA) por parte de los peces marinos, por lo que se hace necesario la búsqueda estratégica de integrarlas en las dietas larvales.

El alimento balanceado se establece como una de las principales estrategias de alimentación en peces adultos pero un cuello de botella en la alimentación larval, lo mismo ocurre con el caso de las larvas de *A. scapularis*, que aún se desconocen los requerimientos específicos necesarios para la elaboración de un alimento balanceado propio para la especie (Dionicio et al., 2017, como se citó en Yanac, 2021) y que reemplace en su totalidad el uso del alimento vivo (Lazo, 2000) durante los primeros días post eclosión.

Debido a procesos de lento desarrollo ontogénico, la larva presenta incapacidad para digerir y asimilar una dieta artificial que se le pueda suministrar en esta etapa. Es por ello que, hasta el momento, todas las estrategias de alimentación larval en los cultivos comerciales incluyen alimento vivo al inicio de su alimentación (Lazo, 2000).

Al igual que con este estudio, muchas investigaciones coinciden con el uso del rotífero como primer alimento suministrado debido a su pequeño tamaño y su lentitud al nadar lo que estimula el comportamiento depredador de la larva, tampoco compromete la calidad del agua y son fáciles de digerir. A pesar de las características idóneas como primero alimento, los rotíferos no disponen de muchas cualidades nutricionales, pero poseen la peculiaridad de transferir nutrientes (o bioencapsulación) cuando son enriquecidos, tal como lo reporta Prieto

(2005). Si bien es cierto, los rotíferos son ideales como primer alimento exógeno, pero por sí solos, contienen un bajo contenido nutricional que dificulta el adecuado desarrollo de la larva (Anaya, 2019). Citando a Cisneros (2011), son incompletos nutricionalmente puesto que poseen bajas concentraciones de ácidos grasos altamente insaturados n-3 (HUFA). No obstante, como lo reporta Samat et al. (2020), y coincidiendo con la misma afirmación, se puede producir alimento vivo con los perfiles nutricionales que necesita la larva a través del enriquecimiento y la bioencapsulación como medio de integración de compuestos esenciales para potenciar su valor nutritivo por medio de dietas formuladas, aceites o microalgas (Anaya, 2019) antes de suministrarlas a las larvas (Lazo, 2000).

Lazo (2000) menciona en su trabajo la diversidad de productos comerciales (e.g., Selco, SuperSelco y RotiMac, etc) para el enriquecimiento del alimento vivo en base a microdietas formuladas que contienen ácidos grasos esenciales, de tal forma que este trabajo aplica la evaluación de los efectos de los mismos sobre la larva de *Anisotremus scapularis* conforme a la disposición de enriquecedores existentes en el mercado.

Así mismo, las variables de experimentación de este bioensayo demuestran la importancia de enriquecer el alimento vivo (ya sea bajo un concepto de enriquecedor natural a base de microalgas o uno comercial), tal como los objetivos de análisis del trabajo de Silva (1999) que usa el enriquecedor comercial DHA Selco y la microalga *Isochrysis galbana* como potenciadores nutricionales de rotíferos para alimentar a la larva de *Paralichthys adspersus* por un periodo de evaluación de 20 días partiendo desde la eclosión con el fin comparar ambos enriquecedores en el desarrollo de la larva.

Del mismo modo, otros autores como Suárez (2016) centraron su investigación en el suministro de dietas enriquecidas con diferentes contenidos de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) usando como vehículo de introducción a los rotíferos enriqueciéndolos con una

combinación de microalgas (*Chlorella* sp., *Nannochloropsis gaditana*, *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*) y un enriquecedor comercial Protein – Selco para evaluar, del mismo modo que este trabajo, el efecto de los enriquecedores sobre la supervivencia y calidad de las larvas de *Dentex dentex* hasta los 22 días después de eclosión.

De tal forma que el trabajo realizado se basó en el estudio del efecto que poseen los enriquecedores sobre el desarrollo de la larva de *Anisotremus scapularis* alimentadas con rotíferos potenciados en base a tres enriquecedores: Selco S. Presso, usando una línea de la misma marca Liñan (2008) emplea este enriquecedor para potenciar rotíferos usados como alimento vivo en la dieta de las larvas de *Paralabrax maculatofasciatus* hasta los 15 días después de eclosión.

Algamac 3050, Bentacor et al. (2019) usando este mismo producto evaluó las estrategias de alimentación en las larvas de *Thunnus thynnus* hasta sus 13 días después de eclosión.

Y por último, una combinación de microalgas, tal como lo presenta Suárez (2016) en su trabajo de investigación donde usa una combinación de microalgas como enriquecedor bioencapsulado por medio de rotíferos, contrastándolo con dietas artificiales para comparar los efectos de crecimiento y supervivencia de las larvas de *Dentex dentex*.

Los resultados estadísticos de la evaluación de crecimiento mostraron diferencias significativas entre las tallas de los tratamientos, obteniendo así, valores de $7,472 \pm 0,02$ mm para el enriquecedor Selco S. presso (T1), $6,976 \pm 0,01$ mm para el enriquecedor Algamac 3050 (T2), $6,255 \pm 0,03$ mm para el enriquecedor de Microalgas (T3) y $5,540 \pm 0,05$ mm para el tratamiento control (T4), en donde encontramos similitud de tallas alcanzadas con la publicación de la Serie de Divulgación Científica del IMARPE con el Ciclo de Vida de la Chita

Anisotremus scapularis en donde expone la talla de $7,20 \pm 1,19$ mm a los 20 DDE (IMARPE, 2015).

Los resultados obtenidos en la supervivencia de las larvas del diseño experimental evidencian una clara diferencia en comparación al porcentaje obtenido en el IMARPE. Los resultados para los tratamientos respectivos fueron de 66,25 % (T1), 63,25 % (T2), 75,75 % (T3) y 54,50 % (T4) en contraste con los resultados expuestos por el IMARPE (2017) donde presentan un 35.7 ± 3.2 % en la supervivencia larval y postlarval.

La desidad de cultivo experimental usada por incubadora para el bioensayo realizado fue de 5 larvas por litro de acuerdo Castro et al. (2022) quienes obtuvieron resultados de mayor supervivencia con densidades de 5 y 10 larvas por litro pero sin mostrar diferencias significativas en la relación peso-longitud en el cultivo de larvas de chita *Anisotremus scapularis*.

Existen trabajos de investigación donde afirman una influencia positiva de la coloración oscura en los fondos de las incubadoras sobre el crecimiento y supervivencia de las larvas, tal como con el caso de la especie *Scopthalmus maximus* (Howell, 1979, como se citó en Vega et al., 2012), de igual forma el trabajo realizado por Cassiano et al. (2012) en Seaword Park en Orlando donde utilizó incubadoras de fondo blanco y paredes oscuras para otorgar contraste y determinar el crecimiento y la supervivencia de las larvas de *A. scapularis*, análogamente este trabajo también usó incubadoras negras para el cultivo larval.

Por otro lado, autores como Suárez (2015) recomiendan la incorporación de microalgas en el medio de cultivo larval o técnica de “aguas verdes” con la finalidad de generar interacciones simbióticas entre algas y bacterias que permitan alcanzar mayores tasas de crecimiento y supervivencia en las larvas de peces marinos, sobre todo por el alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados como DHA y EPA (Nava, 2014) de las microalgas que son

transferidos a los organismos que la consumen. Es por estas razones que, contrariamente a lo sugerido, no se usaron microalgas en el medio de cultivo de las incubadoras para evitar modificar del perfil del alimento vivo adquirido objetivamente con los enriquecedores.

Los parámetros fisicoquímicos influyen directamente en los procesos fisiológicos, es por ello que tener un control óptimo sobre los parámetros ayuda a un desarrollo ontogénico estable en el cultivo larval. En el presente estudio, el valor de los parámetros fisicoquímicos se mantuvo similares al Protocolo del Cultivo Larvario de Chita, donde Castro (2021) mantiene la temperatura a $19,01 \pm 0,34$ °C, el potencial de hidrogeno (pH) a $7,86 \pm 0,37$, oxígeno disuelto en $6,41 \pm 0,41$ mg/L y el porcentaje de saturación en $80,81 \pm 4,41\%$, los que responden semejantes a este estudio donde la temperatura promedio en los tratamientos se mantuvo en $18,88 \pm 0,4$ °C, el potencial de hidrógeno en $7,46 \pm 0,01$, el oxígeno disuelto en $5,58 \pm 0,03$ y el porcentaje de saturación en $77,46 \pm 0,33$ %. Respaldando acertivamente los parámetros del trabajo desarrollado, León et al. (2017) con su trabajo de preferencia y tolerancia térmica en juveniles de chita, obtuvo resultados de $18,4 \pm 2$ °C consiguiendo mayores valores en crecimiento en talla y peso.

VI. CONCLUSIONES

- Al vincular los resultados de supervivencia y crecimiento, observamos que el tratamiento T1 (Selco S. presso) posee los mejores resultados en cuanto al crecimiento de larvas ($7,474 \pm 0,17$ mm) y se posiciona como el segundo mejor enriquecedor en términos de supervivencia (66,25 %). Estos resultados nos permiten concluir que el uso de Selco S. presso ofrece el mejor equilibrio entre el crecimiento y la supervivencia de la larva de *Anisotremus scapularis* hasta el día 20 después de eclosión.
- El uso de microalgas (tratamiento T3) se mostró como el tratamiento más efectivo para obtener el mayor porcentaje de supervivencia. Este tratamiento presentó grandes diferencias significativas respecto a los demás tratamientos alcanzando los mejores resultados en términos de supervivencia. Este enriquecedor se posiciona como una buena alternativa para resguardar la mayor población de larvas en cultivo, sin embargo, el solo uso combinado de las microalgas *Nannochloropsis* sp. e *Isochrysis galbana* no son suficientes para fomentar el rápido crecimiento de larval.
- La presencia de una alta mortalidad y un bajo crecimiento en el tratamiento T4 (Control) sostiene la importancia de potenciar el alimento vivo otorgado. Este tratamiento presentó la supervivencia (54,50 %) y la talla final ($5,537 \pm 0,41$ mm) más baja de los cuatro tratamientos, siendo la menos efectiva en términos de supervivencia y crecimiento. En tal sentido, se concluye una relación positiva entre el uso de enriquecedores para potenciar el desarrollo de las larvas de *Anisotremus scapularis* hasta el día 20 después de eclosión.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de Selco S. Presso como enriquecedor estratégico en beneficio para las larvas de *Anisotremus scapularis* basándonos en una evaluación integral de los parámetros de crecimiento y supervivencia. Estos resultados indican un potencial beneficio en términos de conservación y producción de larvas de Chita, siendo una buena alternativa para reducir la pérdida de ejemplares larvales y proporcionar un aumento significativo en la velocidad de crecimiento en comparación con otros tratamientos.
- La mayor supervivencia presentada entre los tratamientos se mostró a favor del uso de Microalgas como el enriquecedor con menores riesgos de pérdidas de ejemplares en la etapa larval dentro del periodo de los 20 DDE, sin embargo, estos resultados no se sostienen con el crecimiento de la larva. Se podría recomendar el uso de Microalgas como parte de la dieta para obtener un buen porcentaje de supervivencia y acompañar la formulación con el enriquecedor Selco S. presso para aumentar las tallas de las larvas.
- Se recomienda continuar con las investigaciones en el desempeño de la larva de *Anisotremus scapularis* en cuanto al rendimiento con los enriquecedores, en relación al crecimiento y la supervivencia, hasta culminar la transición entre el alimento vivo y el alimento balanceado (destete) que se proyecta hasta aproximadamente el día 45 después de la eclosión.

VIII. REFERENCIAS

- Anaya, Y. (2019). *Evaluación del enriquecimiento del rotífero Brachionus plicatilis [Tesis de maestría - Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C.]*. CIBNOR. Obtenido de <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2993>
- Angel, A., & Ojeda, P. (2001). Structure and trophic organization of subtidal fish assemblages on the northern Chilean coast: the effect of habitat complexity. *Marine Ecology Progress Series*, 81-91. doi:10.3354/meps217081
- Aquafauna. (s.f.). *Algamac Enrich*. Obtenido de Aquafauna Bio-Marine, INC: <https://www.aquafauna.com/algamac-enrich>
- Avila, B. (2015). *Caracterización del perfil lipídico de la microalga Nannochloropsis oculata por GC-MS [Tesis de pregrado - Instituto Politécnico Nacional]*. Repositorio DSpace. Obtenido de <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/24523>
- Bayfolan;. (s.f.). *Bayfolan 11-8-6*. Obtenido de https://www.agro.bayer.pe/es-pe/productos/product-details.html/fertilizer/bayfolan_complete.html
- Bentacor, M., Ortega, A., De la Gándara, F., Varela, J., Tocher, D., & Mourente, G. (2019). Evaluation of different feeding protocols for larvae of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.). *Aquaculture*, 505, 523-538. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.063>
- Cambefort, S., & Arcos, F. (2009). *Efecto de las microalgas Chaetoceros gracilis, Tetraselmis sp. e Isochrysis galbana sobre la reproducción y desarrollo naupliar en copépodos calanoideos marinos tropicales, Acartia spp. [Tesis de pregrado - Escuela Superior Politecnica del Litoral]*. Repositorio DSpace. Obtenido de <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/6970>

- Carmona, M. (1992). *Inducción a la fase sexual y aspectos relacionados en el rotífero Brachionus plicatilis [Tesis de doctorado - Universidad de Valencia]*. ProQuest LLC. Obtenido de <https://www.proquest.com/openview/342e518d04e87e03628d797c99c5c454/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>
- Cassiano, E., Wittenrich, M., Watson, C., & Violetta, G. (2012). Growth and survival of porkfish (*Anisotremus scapularis*) larvae: comparing rotifers and copepod nauplii during first feeding. *ABAH Bioflux*, 4(2), 72-78. Obtenido de https://journaldatabase.info/articles/growth_survival_porkfish_anisotremus.html
- Castro, A. (2014). *Enriquecimiento de Artemia franciscana (Kellog, 1906) con microencapsulado de subproducto de anchoveta para alimentación de larvas de lenguado Paralichthys adspersus (Steindachner, 1867) [Tesis de pregrado - Universidad Nacional Federico Villareal]*. Repositorio Digital IMARPE. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3058>
- Castro, A., Cota, N., Montes, M., & Carrera, L. (2021). Protocolo de cultivo larvario de chita *Anisotremus scapularis* en condiciones de laboratorio. *Repositorio Digital IMARPE*, 48(1), 20-24. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3534>
- Castro, A., Cota, N., Montes, M., & Carrera, L. (2022). Evaluación de la densidad de cultivo sobre el crecimiento y supervivencia de larvas de chita *Anisotremus scapularis* (Tschudi, 1846) en laboratorio. *Marine and Fishery Science*, 35(1), 7-18. doi:<https://doi.org/10.47193/mafis.3512022010102>
- Chirichigno, N. (1974). Clave para identificar los peces marinos del Perú. *Repositorio Digital IMARPE*(44), 387. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12958/272>

- Chirichigno, N., & Vélez, J. (1998). *Clave para identificar los peces marinos en el Perú* (2 ed.). Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3327>
- Cisneros, R. (2011). Rendimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. "Cayman", utilizando diferentes enriquecedores. *Ecología Aplicada*, 10(2), 99-105. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162011000200007
- Cota, N. (2016). *Ontogenia del sistema digestivo y caracterización de la actividad enzimática de las larvas de chita *Anisotremus scapularis* (Tschudi, 1846)* [Tesis de maestría - Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio Digital IMARPE. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3049>
- Espinoza, L. (2019). Captura, acondicionamiento y primer desove de sargo *Anisotremus scapularis* en la Región Tacna. *Ciencia & Desarrollo*, 18, 25(2), 68-74. doi:<https://doi.org/10.33326/26176033.2019.25.867>
- Fu, Z., Yang, R., Zhou, S., Ma, Z., & Zhang, T. (2021). Effects of Rotifers Enriched With Different Enhancement Products on Larval Performance and Jaw Deformity of Golden Pompano Larvae *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758). *Frontiers in Marine Science*, 7. doi:10.3389/fmars.2020.626071
- Fuentes Quesada, J. (2014). *Efecto del tipo de lípido en la actividad de las lipasas digestivas durante la etapa larvaria del lenguado de California (*Paralichthys californicus*)* [Tesis de maestría - Centro de Investigación y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. CICESE Repositorio. Obtenido de <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/125>

- Gómez, O., & Gómez, A. (1997). Cultivo masivo del rotífero *Brachionus plicatilis* (Muller, 1768) (cepa araya) con diferentes tipos de levadura. *Saber*, 9(2). Obtenido de <http://saber.udo.edu.ve/index.php/saber/article/view/941/734>
- Humann, P., & DeLoach, N. (1993). *Reef fish identification: Galápagos* (2 ed.). Florida: New World Publications Incorporated. Obtenido de <http://fishid.com/>
- Instituto del Mar del Perú (IMARPE). (2015). Ciclo de Vida de la Chita: *Anisotremus scapularis*. *Repositorio Digital IMARPE*, 1(1), 20. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3004>
- Instituto del Mar del Perú (IMARPE). (2017). *Cultivo de Anisotremus scapularis*. Repositorio Digital IMARPE. Obtenido de <https://www.fpas.pe/wp-content/uploads/Resultados-del-cultivo-de-la-Chita.pdf>
- Integrated Taxonomic Information System. (05 de Mayo de 2004). *Anisotremus scapularis* (Tschudi, 1846). Obtenido de ITIS: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=630236#null
- INVE Aquaculture. (s.f.). *S. Presso*. Obtenido de INVE Aquaculture: <https://www.inveaquaculture.com/product/s-presso/>
- Jhon, D. (2017). Evaluación de dietas comerciales en el crecimiento y su efecto en la composición bioquímica muscular de juveniles de chita, *Anisotremus scapularis* (Tschudi, 1846) (Familia: Haemulidae). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 45(2), 410-420. doi:10.3856/vol45-issue2-fulltext-16

- Kong , I., & Castro, H. (2002). Guia de Biodiversidad. *Centro Regional de Estudios y Educación Ambiental*, 1(3). Obtenido de https://www.academia.edu/28058729/guia_de_biodiversidad_numero_3_peces_
- Lazo, J. (2000). Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. *Avances en Nutrición Acuicola*. Obtenido de <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/279>
- León, C., Flores, G., Dionicio, J., Rosado, M., Flye, J., & Aguirre, A. (2017). Preferencia y tolerancia térmica de juveniles de chita *Anisotremus scapulae* (Pisces: Haemulidae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(3), 581-589. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572017000300014>
- Liñan, C. (2008). *Efecto de altos niveles de vitamina A en la expresión de los genes HOXA5 y RARα, en el desarrollo inicial de Paralabrax maculatofasciatus (Teleostei: Serranidae) [Tesis de maestría - Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.]*. CIBNOR. Obtenido de <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/212>
- López, I., Abalde, J., & Herrero, C. (1992). Crecimiento y contenido de pigmentos de cuatro especies de microalgas marinas cultivadas con diferentes temperaturas e intensidades de luz. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 3, 59-65. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10347/6203>
- Ministerio de Producción (PRODUCE). (2018). *Resolucion Ministerial 250-2018*. Lima. Obtenido de <https://www.gob.pe/institucion/produce/normas-legales/184662-250-2018-produce>
- Ministerio de Producción (PRODUCE). (2020). *Anuario Estadístico Pesquero y Acuicola*. Obtenido de <https://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/en/shortcode/oee-documentos->

publicaciones/publicaciones-anuales/item/1001-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2020

- Nava, B. (2014). *Cultivo de Nannochloropsis sp. con fertilizantes agrícolas y evaluación de floculados como alimento para Brachionus plicatilis (Muller, 1786) [Tesis de pregrado - Universidad Autónoma de Baja California]*. RI UABC. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12930/597>
- Navarro, R., Soto, S., Contreras, I., Piña, P., Viveros, T., Cuevas, E., & Nieves, M. (2017). Effects of temperature and nitrogen limitation on growth kinetics, proximate composition and fatty acid profile of *Nannochloropsis sp.* *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 359-369. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62052087003>
- Pereira, M., Jáuregui, G., Devia, A., & Rojas, J. (2017). Cultivo de microalgas *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis sp.* para alimentación de larvas de peces marinos. *MUTIS*, 7(2), 81-85. doi:10.21789/22561498.1246
- Prieto, M. (2006). Alimento vivo y su importancia en acuicultura. *Revista Electronica de Ingeniería en Producción Acuicola*, 2(2). Obtenido de <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/reipa/article/view/1597>
- Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura (PNIPA). (2021). Hoja de ruta para el cultivo de peces marinos en el Perú. *Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura*. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12864/310>
- Prusinska, M., Kushniryk, O., Khudyi, O., Khuda, L., & Kolman, R. (2015). Impact of enriching larval brine shrimp (*Artemia sp.*) with a supplement containing polyunsaturated fatty acids on their growth and mortality. *Archives of Polish Fisheries*, 23(3), 149-154. doi:10.1515/aopf-2015-0017

- Putra, Y., Mustikasari, I., Pangestuti, R., Rahmadi, P., & Siahaan, A. (2022). Fatty acid profiles and biological activity of *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana*, clone t-ISO. *IOP Conferences Series: Earth and Environmental Science*, 1083, 12079. doi:10.1088/1755-1315/1083/1/012079
- Reguera, B., Mosquera, C., & Fernández, C. (1982). Consideraciones acerca de la producción masiva del rotífero *Brachionus plicatilis* O.F. Muller alimentado con levadura de panificación. *Informes Técnicos. Instituto Español de Oceanografía*(2), 1-19. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10508/6671>
- Rodríguez , E., & López, J. (2002). *Evaluación de la calidad nutricional de las microalgas producidas en un laboratorio comercial, en el desarrollo larvario de zoeas de camarón blanco Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) [Tesis de maestría - Universidad de Sonora]*. Repositorio Institucional USON. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12984/786>
- Samat, N., Md Yusoff, F., W. Rasdi , N., & Murni, K. (2020). Enhancement of live food nutritional status with essential nutrients for improving aquatic animal health: A review. *Animals*, 10(12), 2457. doi:10.3390/ani10122457
- Sánchez, L. (2011). Alimento nutritivo, colorido y en movimiento: Los cultivos de apoyo en Acuicultura. *Ciencia y Mar*, 15(43), 55-60. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/260978052_Alimento_nutritivo_colorido_y_en_movimiento_Los_cultivos_de_apoyo_en_Acuicultura
- Saracco, M. (2003). *Cultivo y composición proximal de la microalga Nannochloropsis oculata bajo diferentes condiciones de temperatura e intensidad de luz [Tesis de pregrado - Universidad de Guadalajara]*. Repositorio CICESE. Obtenido de

<https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/download/RICA.2017.33.esp02.08/46690/152274>

Silva, A. (1999). Efecto de la microalga *Isochrysis galbana* en el cultivo temprano de larvas de *Paralichthys adspersus*. *Ciencias Marinas*, 25(2), 267-276. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48025207>

Suárez, C. (2015). *Cultivo larvario de dentón (Dentex dentex L.): contribución al establecimiento de las necesidades nutricionales en ácidos grasos poliinsaturados [Tesis de doctorado - Universidad de Alicante]*. Repositorio Institucional de la Universidad de Alicante. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10045/55730>

Torres, F. (2019). *Efecto de las microalgas Isochrysis galbana y Chaetoceros sp. en la producción de copépodos marinos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la región de Tacna [Tesis de pregrado - Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]*. REI UNJBG. Obtenido de <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3788>

Vega, R., Pradenas, M., Estrada, J., Ramírez, D., Valdebenito, I., Mardones, A., . . . Pichara, C. (2012). Evaluación y comparación de la eficiencia de dos sistemas de incubación de huevos de *Genypterus chilensis* (Guichenot, 1848). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40(1), 187-200. Obtenido de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-560X2012000100018&lng=es&nrm=iso

Yanac, C. (2021). *Efecto del contenido proteico en la dieta sobre el crecimiento y utilización del alimento en juveniles de chita (Anisotremus scapularis) [Tesis de pregrado - Universidad Nacional Agraria La Molina]*. Repositorio Institucional UNALM. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4783>

IX. ANEXOS

- Modelo de tablas usadas para la colección de datos:

El **Anexo A** y el **Anexo B** muestran un modelo de registro usado para la colección de datos durante el periodo de evaluación. Tanto en el registro de tallas como en el de parámetros fisicoquímicos, los datos fueron anotados y registrados según la necesidad de evaluación.

Anexo A

Modelo del registro de tallas

Observacion	Tratamiento	Repeticion	Larva	Dia	Talla (mm)
1	T1	R1	1	1	2,534
2	T1	R1	1	20	7,461

Nota. Modelo para el registro y posterior análisis de las larvas en evaluación sometidas a los diferentes tratamientos utilizados.

Anexo B

Modelo del registro de parámetros

Tratamiento	Repetición	Día	Hora	Temperatura (°C)	pH	Salinidad	Saturación (%)	OD
T1	R1	1	7:15:33	18,1	7,45	33,88	77,5	5,59
T1	R1	1	13:48:27	18,4	7,45	33,88	77,5	5,59
T1	R1	1	19:31:58	18,3	7,45	33,88	77,5	5,59

Nota. Modelo para el registro y posterior análisis de los parámetros fisicoquímicos en las diferentes incubadoras de los tratamientos aplicados.

- Datos de Supervivencia:

En el **Anexo C** se muestra el registro de la población inicial de siembra (día 1) con 100 ejemplares por incubadora y la población final al concluir el diseño experimental (día 20) para la obtención de la supervivencia por tratamiento.

Anexo C

Base de datos de Supervivencia

Tratamiento	Repetición	Día	Población
T1	R1	1	100
T1	R2	1	100
T1	R3	1	100
T1	R4	1	100
T2	R1	1	100
T2	R2	1	100
T2	R3	1	100
T2	R4	1	100
T3	R1	1	100
T3	R2	1	100
T3	R3	1	100
T3	R4	1	100
T4	R1	1	100
T4	R2	1	100
T4	R3	1	100
T4	R4	1	100
T1	R1	20	65
T1	R2	20	67
T1	R3	20	64
T1	R4	20	69
T2	R1	20	61
T2	R2	20	64
T2	R3	20	66
T2	R4	20	62
T3	R1	20	74
T3	R2	20	78
T3	R3	20	76
T3	R4	20	75
T4	R1	20	56
T4	R2	20	54
T4	R3	20	51
T4	R4	20	57

Nota. En la tabla se muestran los datos de las cuatro repeticiones de cada tratamiento.

– Reporte SPSS de Supervivencia:

Los datos del **Anexo D**, **Anexo E**, **Anexo F** y **Anexo G** muestran los análisis estadísticos aplicados a los resultados de Supervivencia de cada tratamiento. En ellos se pueden identificar la media, el intervalo de confianza, la mediana, la varianza, desviación estándar, máximos y mínimos, rango, rango intercuartil, asimetría y curtosis.

Anexo D

Análisis de datos Supervivencia T1

Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Media		66.25	1.109
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	62.72	
	Límite superior	69.78	
Media recortada al 5%		66.22	
Mediana		66.00	
Varianza		4.917	
Desviación estándar		2.217	
Mínimo		64	
Máximo		69	
Rango		5	
Rango intercuartil		4	
Asimetría		.482	1.014
Curtosis		-1.700	2.619

Anexo E*Análisis de datos Supervivencia T2*

Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Media		63.25	1.109
95% de intervalo de confianza para la	Límite inferior	59.72	
	Límite superior	66.78	
Media recortada al 5%		63.22	
Mediana		63.00	
Varianza		4.917	
Desviación estándar		2.217	
Mínimo		61	
Máximo		66	
Rango		5	
Rango intercuartil		4	
Asimetría		.482	1.014
Curtosis		-1.700	2.619

Anexo F*Análisis de datos Supervivencia T3*

Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Media		75.75	.854
95% de intervalo de confianza para la	Límite inferior	73.03	
	Límite superior	78.47	
Media recortada al 5%		75.72	
Mediana		75.50	
Varianza		2.917	
Desviación estándar		1.708	
Mínimo		74	
Máximo		78	
Rango		4	
Rango intercuartil		3	
Asimetría		.753	1.014
Curtosis		.343	2.619

Anexo G

Análisis de datos Supervivencia T4

Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Media		54.50	1.323
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	50.29	
	Límite superior	58.71	
Media recortada al 5%		54.56	
Mediana		55.00	
Varianza		7.000	
Desviación estándar		2.646	
Mínimo		51	
Máximo		57	
Rango		6	
Rango intercuartil		5	
Asimetría		-.864	1.014
Curtosis		-.286	2.619

El **Anexo H** muestra la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la **Anexo I** muestra la prueba de homogeneidad de Levene para la toma de decisiones en cuanto a las pruebas correspondientes de análisis.

Anexo H

Prueba de normalidad Shapiro-Wilk

Tratamiento	Estadístico	gl	Sig.
T1	.963	4	.798
T2	.963	4	.798
T3	.971	4	.850
T4	.946	4	.689

Anexo I

Prueba de Homogeneidad de Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	.380	3	12	.769
Se basa en la mediana	.333	3	12	.802
Se basa en la mediana y con gl ajustado	.333	3	10.380	.802
Se basa en la media recortada	.379	3	12	.770

- Datos de Crecimiento:

El **Anexo J** muestra el registro de las tallas en el día 1 de las larvas de *Anisotremus scapularis* para lograr obtener el promedio para su posterior análisis y contraste con las tallas finales de evaluación.

Los datos del **Anexo K**, **Anexo L**, **Anexo M** y **Anexo N** muestran la base de datos de las tallas alcanzadas al finalizar bioensayo al día 20 de la evaluación. En ellas se observan los datos por tratamiento y repetición de las que fueron obtenidas para su análisis.

Anexo J*Base de datos para el registro de la talla inicial*

Observación	Larva	Día	Talla (mm)
1	1	1	2,534
2	2	1	2,504
3	3	1	2,531
4	4	1	2,570
5	5	1	2,533
6	6	1	2,521
7	7	1	2,474
8	8	1	2,530
9	9	1	2,528
10	10	1	2,521
11	11	1	2,549
12	12	1	2,509
13	13	1	2,484
14	14	1	2,517
15	15	1	2,499
16	16	1	2,558
17	17	1	2,491
18	18	1	2,522
19	19	1	2,512
20	20	1	2,526
21	21	1	2,535
22	22	1	2,523
23	23	1	2,485
24	24	1	2,515
25	25	1	2,525
26	26	1	2,498
27	27	1	2,549
28	28	1	2,525
29	29	1	2,570
30	30	1	2,531
31	31	1	2,506
32	32	1	2,561
33	33	1	2,529
34	34	1	2,498
35	35	1	2,465
36	36	1	2,521
37	37	1	2,559
38	38	1	2,526
39	39	1	2,526
40	40	1	2,510

Nota. Se tomaron muestras al azar de la población global de larvas para registrar la talla promedio inicial (día 1) del diseño experimental.

Anexo K

Base de datos Crecimiento – T1 (día 20)

Observación	Tratamiento	Repetición	Larva	Día	Talla (mm)
1	T1	R1	1	20	7,462
2	T1	R1	2	20	7,493
3	T1	R1	3	20	7,470
4	T1	R1	4	20	7,477
5	T1	R1	5	20	7,472
6	T1	R1	6	20	7,507
7	T1	R1	7	20	7,469
8	T1	R1	8	20	7,439
9	T1	R1	9	20	7,428
10	T1	R1	10	20	7,468
11	T1	R1	11	20	7,465
12	T1	R1	12	20	7,470
13	T1	R1	13	20	7,476
14	T1	R1	14	20	7,464
15	T1	R1	15	20	7,464
16	T1	R1	16	20	7,478
17	T1	R1	17	20	7,478
18	T1	R1	18	20	7,461
19	T1	R1	19	20	7,517
20	T1	R1	20	20	7,473
21	T1	R2	1	20	7,466
22	T1	R2	2	20	7,463
23	T1	R2	3	20	7,466
24	T1	R2	4	20	7,463
25	T1	R2	5	20	7,464
26	T1	R2	6	20	7,465
27	T1	R2	7	20	7,469
28	T1	R2	8	20	7,470
29	T1	R2	9	20	7,423
30	T1	R2	10	20	7,460
31	T1	R2	11	20	7,471
32	T1	R2	12	20	7,457
33	T1	R2	13	20	7,463
34	T1	R2	14	20	7,438
35	T1	R2	15	20	7,493
36	T1	R2	16	20	7,469
37	T1	R2	17	20	7,501
38	T1	R2	18	20	7,461
39	T1	R2	19	20	7,471
40	T1	R2	20	20	7,468
41	T1	R3	1	20	7,457
42	T1	R3	2	20	7,489
43	T1	R3	3	20	7,482
44	T1	R3	4	20	7,488
45	T1	R3	5	20	7,488
46	T1	R3	6	20	7,49
47	T1	R3	7	20	7,498
48	T1	R3	8	20	7,495
49	T1	R3	9	20	7,491
50	T1	R3	10	20	7,541
51	T1	R3	11	20	7,484
52	T1	R3	12	20	7,51
53	T1	R3	13	20	7,491
54	T1	R3	14	20	7,492
55	T1	R3	15	20	7,507
56	T1	R3	16	20	7,498
57	T1	R3	17	20	7,496
58	T1	R3	18	20	7,481
59	T1	R3	19	20	7,515
60	T1	R3	20	20	7,485
61	T1	R4	1	20	7,472
62	T1	R4	2	20	7,466
63	T1	R4	3	20	7,439
64	T1	R4	4	20	7,475
65	T1	R4	5	20	7,465
66	T1	R4	6	20	7,476
67	T1	R4	7	20	7,472
68	T1	R4	8	20	7,412
69	T1	R4	9	20	7,47
70	T1	R4	10	20	7,468
71	T1	R4	11	20	7,445
72	T1	R4	12	20	7,506
73	T1	R4	13	20	7,48
74	T1	R4	14	20	7,497
75	T1	R4	15	20	7,479
76	T1	R4	16	20	7,473
77	T1	R4	17	20	7,479
78	T1	R4	18	20	7,471
79	T1	R4	19	20	7,47
80	T1	R4	20	20	7,477

Anexo L

Base de datos Crecimiento – T2 (día 20)

Observación	Tratamiento	Repetición	Larva	Día	Talla (mm)
81	T2	R1	1	20	6,97
82	T2	R1	2	20	6,949
83	T2	R1	3	20	6,965
84	T2	R1	4	20	6,981
85	T2	R1	5	20	6,967
86	T2	R1	6	20	6,971
87	T2	R1	7	20	6,94
88	T2	R1	8	20	6,967
89	T2	R1	9	20	6,976
90	T2	R1	10	20	6,97
91	T2	R1	11	20	6,972
92	T2	R1	12	20	6,968
93	T2	R1	13	20	6,972
94	T2	R1	14	20	6,98
95	T2	R1	15	20	6,978
96	T2	R1	16	20	6,975
97	T2	R1	17	20	6,973
98	T2	R1	18	20	7,002
99	T2	R1	19	20	6,978
100	T2	R1	20	20	6,986
101	T2	R2	1	20	6,97
102	T2	R2	2	20	6,98
103	T2	R2	3	20	6,946
104	T2	R2	4	20	6,973
105	T2	R2	5	20	6,972
106	T2	R2	6	20	6,97
107	T2	R2	7	20	6,978
108	T2	R2	8	20	6,974
109	T2	R2	9	20	6,969
110	T2	R2	10	20	6,974
111	T2	R2	11	20	6,972
112	T2	R2	12	20	6,979
113	T2	R2	13	20	6,977
114	T2	R2	14	20	6,975
115	T2	R2	15	20	6,971
116	T2	R2	16	20	6,977
117	T2	R2	17	20	7,003
118	T2	R2	18	20	7,009
119	T2	R2	19	20	6,968
120	T2	R2	20	20	6,978
121	T2	R3	1	20	6,976
122	T2	R3	2	20	6,978
123	T2	R3	3	20	6,958
124	T2	R3	4	20	6,98
125	T2	R3	5	20	6,976
126	T2	R3	6	20	7,004
127	T2	R3	7	20	6,98
128	T2	R3	8	20	6,979
129	T2	R3	9	20	6,975
130	T2	R3	10	20	6,982
131	T2	R3	11	20	6,981
132	T2	R3	12	20	6,974
133	T2	R3	13	20	6,983
134	T2	R3	14	20	6,994
135	T2	R3	15	20	6,983
136	T2	R3	16	20	6,986
137	T2	R3	17	20	6,985
138	T2	R3	18	20	6,988
139	T2	R3	19	20	6,988
140	T2	R3	20	20	7,013
141	T2	R4	1	20	6,977
142	T2	R4	2	20	6,943
143	T2	R4	3	20	6,972
144	T2	R4	4	20	6,971
145	T2	R4	5	20	6,977
146	T2	R4	6	20	6,976
147	T2	R4	7	20	6,984
148	T2	R4	8	20	6,98
149	T2	R4	9	20	6,971
150	T2	R4	10	20	6,98
151	T2	R4	11	20	6,974
152	T2	R4	12	20	6,985
153	T2	R4	13	20	6,984
154	T2	R4	14	20	6,975
155	T2	R4	15	20	7,011
156	T2	R4	16	20	6,983
157	T2	R4	17	20	6,979
158	T2	R4	18	20	6,978
159	T2	R4	19	20	6,974
160	T2	R4	20	20	6,951

Anexo M

Base de datos Crecimiento – T3 (día 20)

Observación	Tratamiento	Repetición	Larva	Día	Talla (mm)
161	T3	R1	1	20	6,242
162	T3	R1	2	20	6,157
163	T3	R1	3	20	6,307
164	T3	R1	4	20	6,248
165	T3	R1	5	20	6,242
166	T3	R1	6	20	6,238
167	T3	R1	7	20	6,269
168	T3	R1	8	20	6,29
169	T3	R1	9	20	6,239
170	T3	R1	10	20	6,243
171	T3	R1	11	20	6,24
172	T3	R1	12	20	6,202
173	T3	R1	13	20	6,248
174	T3	R1	14	20	6,313
175	T3	R1	15	20	6,245
176	T3	R1	16	20	6,241
177	T3	R1	17	20	6,241
178	T3	R1	18	20	6,246
179	T3	R1	19	20	6,257
180	T3	R1	20	20	6,194
181	T3	R2	1	20	6,27
182	T3	R2	2	20	6,187
183	T3	R2	3	20	6,273
184	T3	R2	4	20	6,25
185	T3	R2	5	20	6,194
186	T3	R2	6	20	6,268
187	T3	R2	7	20	6,261
188	T3	R2	8	20	6,271
189	T3	R2	9	20	6,271
190	T3	R2	10	20	6,266
191	T3	R2	11	20	6,274
192	T3	R2	12	20	6,334
193	T3	R2	13	20	6,271
194	T3	R2	14	20	6,268
195	T3	R2	15	20	6,275
196	T3	R2	16	20	6,284
197	T3	R2	17	20	6,349
198	T3	R2	18	20	6,269
199	T3	R2	19	20	6,302
200	T3	R2	20	20	6,275
201	T3	R3	1	20	6,171
202	T3	R3	2	20	6,251
203	T3	R3	3	20	6,258
204	T3	R3	4	20	6,253
205	T3	R3	5	20	6,265
206	T3	R3	6	20	6,236
207	T3	R3	7	20	6,249
208	T3	R3	8	20	6,301
209	T3	R3	9	20	6,251
210	T3	R3	10	20	6,235
211	T3	R3	11	20	6,24
212	T3	R3	12	20	6,314
213	T3	R3	13	20	6,277
214	T3	R3	14	20	6,25
215	T3	R3	15	20	6,252
216	T3	R3	16	20	6,258
217	T3	R3	17	20	6,319
218	T3	R3	18	20	6,255
219	T3	R3	19	20	6,256
220	T3	R3	20	20	6,253
221	T3	R4	1	20	6,184
222	T3	R4	2	20	6,254
223	T3	R4	3	20	6,32
224	T3	R4	4	20	6,251
225	T3	R4	5	20	6,254
226	T3	R4	6	20	6,231
227	T3	R4	7	20	6,225
228	T3	R4	8	20	6,26
229	T3	R4	9	20	6,252
230	T3	R4	10	20	6,255
231	T3	R4	11	20	6,259
232	T3	R4	12	20	6,247
233	T3	R4	13	20	6,258
234	T3	R4	14	20	6,311
235	T3	R4	15	20	6,271
236	T3	R4	16	20	6,255
237	T3	R4	17	20	6,173
238	T3	R4	18	20	6,259
239	T3	R4	19	20	6,257
240	T3	R4	20	20	6,258

Anexo N

Base de datos Crecimiento – T4 (día 20)

Observación	Tratamiento	Repetición	Larva	Día	Talla (mm)
241	T4	R1	1	20	5,488
242	T4	R1	2	20	5,531
243	T4	R1	3	20	5,422
244	T4	R1	4	20	5,49
245	T4	R1	5	20	5,589
246	T4	R1	6	20	5,493
247	T4	R1	7	20	5,503
248	T4	R1	8	20	5,405
249	T4	R1	9	20	5,491
250	T4	R1	10	20	5,379
251	T4	R1	11	20	5,485
252	T4	R1	12	20	5,452
253	T4	R1	13	20	5,487
254	T4	R1	14	20	5,488
255	T4	R1	15	20	5,489
256	T4	R1	16	20	5,417
257	T4	R1	17	20	5,492
258	T4	R1	18	20	5,596
259	T4	R1	19	20	5,492
260	T4	R1	20	20	5,495
261	T4	R2	1	20	5,531
262	T4	R2	2	20	5,48
263	T4	R2	3	20	5,597
264	T4	R2	4	20	5,53
265	T4	R2	5	20	5,533
266	T4	R2	6	20	5,46
267	T4	R2	7	20	5,529
268	T4	R2	8	20	5,506
269	T4	R2	9	20	5,53
270	T4	R2	10	20	5,624
271	T4	R2	11	20	5,534
272	T4	R2	12	20	5,528
273	T4	R2	13	20	5,661
274	T4	R2	14	20	5,536
275	T4	R2	15	20	5,532
276	T4	R2	16	20	5,642
277	T4	R2	17	20	5,541
278	T4	R2	18	20	5,532
279	T4	R2	19	20	5,537
280	T4	R2	20	20	5,601
281	T4	R3	1	20	5,575
282	T4	R3	2	20	5,456
283	T4	R3	3	20	5,614
284	T4	R3	4	20	5,581
285	T4	R3	5	20	5,577
286	T4	R3	6	20	5,486
287	T4	R3	7	20	5,636
288	T4	R3	8	20	5,503
289	T4	R3	9	20	5,575
290	T4	R3	10	20	5,54
291	T4	R3	11	20	5,572
292	T4	R3	12	20	5,578
293	T4	R3	13	20	5,573
294	T4	R3	14	20	5,51
295	T4	R3	15	20	5,581
296	T4	R3	16	20	5,59
297	T4	R3	17	20	5,577
298	T4	R3	18	20	5,589
299	T4	R3	19	20	5,573
300	T4	R3	20	20	5,58
301	T4	R4	1	20	5,55
302	T4	R4	2	20	5,479
303	T4	R4	3	20	5,548
304	T4	R4	4	20	5,55
305	T4	R4	5	20	5,513
306	T4	R4	6	20	5,468
307	T4	R4	7	20	5,613
308	T4	R4	8	20	5,551
309	T4	R4	9	20	5,551
310	T4	R4	10	20	5,542
311	T4	R4	11	20	5,663
312	T4	R4	12	20	5,543
313	T4	R4	13	20	5,549
314	T4	R4	14	20	5,596
315	T4	R4	15	20	5,553
316	T4	R4	16	20	5,546
317	T4	R4	17	20	5,548
318	T4	R4	18	20	5,554
319	T4	R4	19	20	5,63
320	T4	R4	20	20	5,596

– Reporte SPSS Crecimiento:

Los datos del **Anexo O**, **Anexo P**, **Anexo Q** y **Anexo R** muestran los análisis estadísticos aplicados a los resultados de Crecimiento de cada tratamiento. En ellos se pueden identificar la media, el intervalo de confianza, la mediana, la varianza, desviación estándar, máximos y mínimos, rango, rango intercuartil, asimetría y curtosis.

Anexo O

Análisis de datos Crecimiento T1

Descriptivos	Estadístico	Error estándar
Media	74.750	.00234
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	74.704
	Límite superior	74.797
Media recortada al 5%	74.752	
Mediana	74.720	
Varianza	.000	
Desviación estándar	.02091	
Mínimo	7.41	
Máximo	7.54	
Rango	.13	
Rango intercuartil	.02	
Asimetría	-.051	.269
Curtosis	1.588	.532

Anexo P*Análisis de datos Crecimiento T2*

Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Media		69.768	.00144
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	69.739	
Media recortada al 5%	Límite superior	69.797	
Mediana		69.768	
Varianza		69.765	
Desviación estándar		.000	
Mínimo		.01288	
Máximo		6.94	
Rango		7.01	
Rango intercuartil		.07	
Asimetría		.01	
Curtosis		.102	.269
		2.354	.532

Anexo Q*Análisis de datos Crecimiento T3*

Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Media		62.562	.00387
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	62.484	
Media recortada al 5%	Límite superior	62.639	
Mediana		62.567	
Varianza		62.550	
Desviación estándar		.001	
Mínimo		.03460	
Máximo		6.16	
Rango		6.35	
Rango intercuartil		.19	
Asimetría		.03	
Curtosis		-.268	.269
		1.453	.532

Anexo R

Análisis de datos Crecimiento T4

Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Media		55.382	.00639
95% de intervalo de confianza para la Media recortada al 5%	Límite inferior	55.255	
	Límite superior	55.509	
Mediana		55.393	
Varianza		55.405	
Desviación estándar		.003	
Mínimo		.05720	
Máximo		5.38	
Rango		5.66	
Rango intercuartil		.28	
Asimetría		.09	
Curtosis		-.246	.269
		.186	.532

El **Anexo S** muestra la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov usada para encontrar la distribución de datos.

Anexo S

Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov

Tratamiento	Estadístico	gl	Sig.
T1	.126	80	.003
T2	.149	80	.000
T3	.150	80	.000
T4	.092	80	.094

- Rótulo modelo empleados en la identificación de incubadoras:

El **Anexo T** muestra el modelo de etiqueta utilizada para rotular las incubadoras por cada repetición y tratamiento a la que es destinada. En ella se observa el nombre de la empresa donde fue desarrollada la tesis, nombre del tesista, especie trabajada y número de tratamiento y repetición trabajado.

Anexo T

Rotulo modelo de identificación de prueba



Nota. Rótulo modelo utilizado para la identificación del número de repetición y tratamiento aplicado a la incubadora en evaluación.