

# TALLER REGIONAL



## TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA Y ESCALAMIENTO PRODUCTIVO DEL CULTIVO DE PECES PLANOS EN AMÉRICA LATINA

PROYECTO: PRODUCCIÓN DE SEMILLA DEL LENGUADO  
*Paralichthys adspersus* EN CAUTIVERIO:  
I MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD Y CANTIDAD DE DESOVES

Contrato N° 051-FINCyT-PIBAP-2009

Ing. Lili Carrera Santos

Lima, 26 al 28 de setiembre del 2012



# OBJETIVO

- Mejorar la cantidad y calidad de los desoves del lenguado en cautiverio.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Formación de un stock de reproductores de lenguado.
- Evaluación de técnicas de criopreservación de espermatozoides
- Estandarización de técnicas inducción hormonal.
- Estandarización de técnicas de evaluación de calidad de huevos y larvas.



# COMPONENTES

I. Formación del stock de reproductores.

II. Acondicionamiento de reproductores al cautiverio.

III. Criopreservación de espermatozoides.

IV. Inducción del desove y perfil bioquímico de huevos y larvas.

V. Divulgación de resultados.

# I. Formación del stock de reproductores



*Colecta y transporte  
de ejemplares*



*Aclimatación y  
estabulación*



*Marcaje y Sexado*

# Biofiltro



# Lámpara UV



# Sensor T°C (bomba calor)



# Sistema Iluminación



# SRA



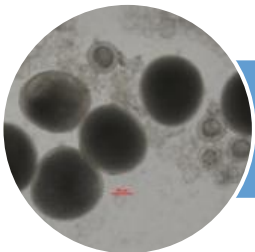
## II. Acondicionamiento de reproductores al cautiverio



Alimentación



Control de calidad de agua



Seguimiento de la madurez gonadal

# Alimentación



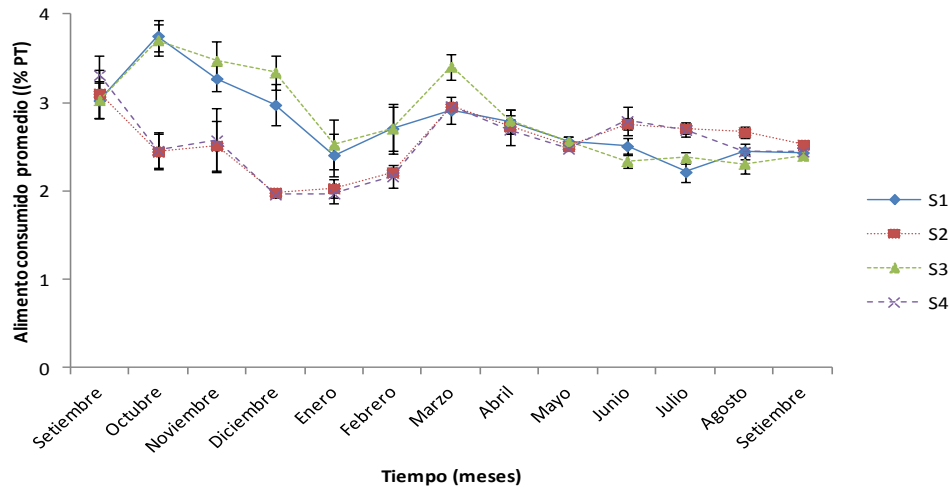
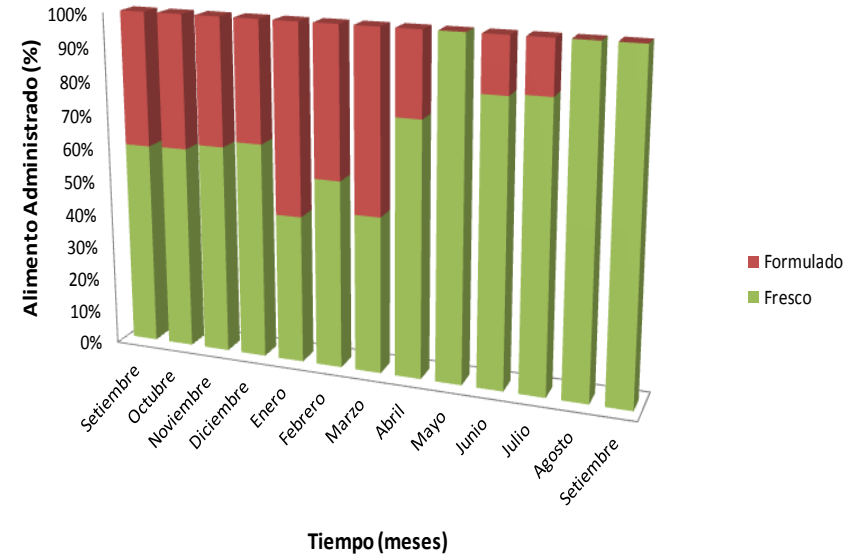
Preparación de ración de anchoveta



Alimento semi-húmedo



Administración



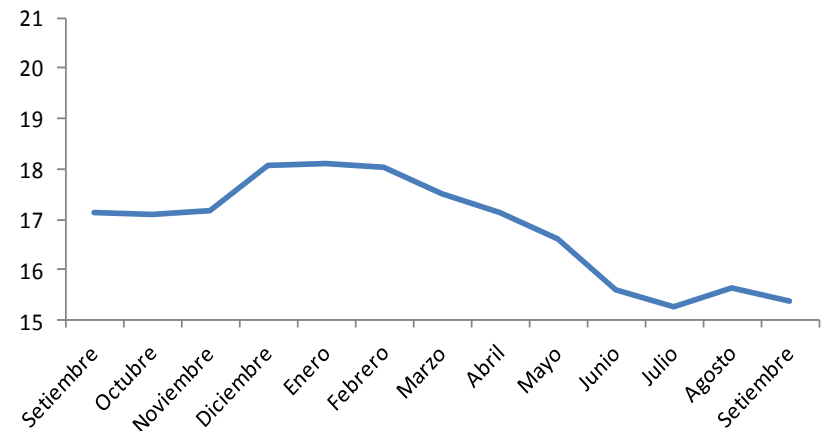
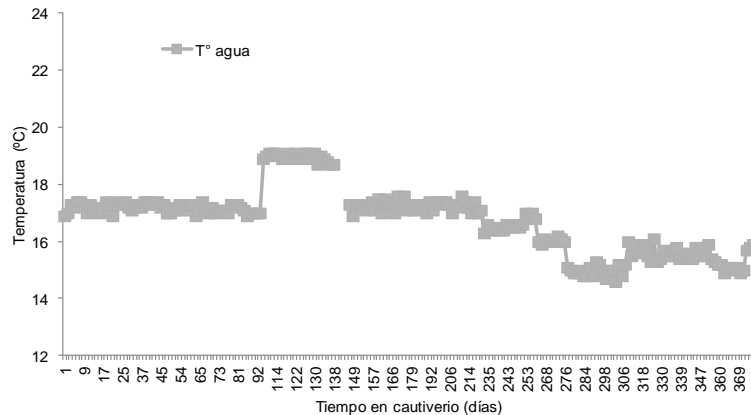
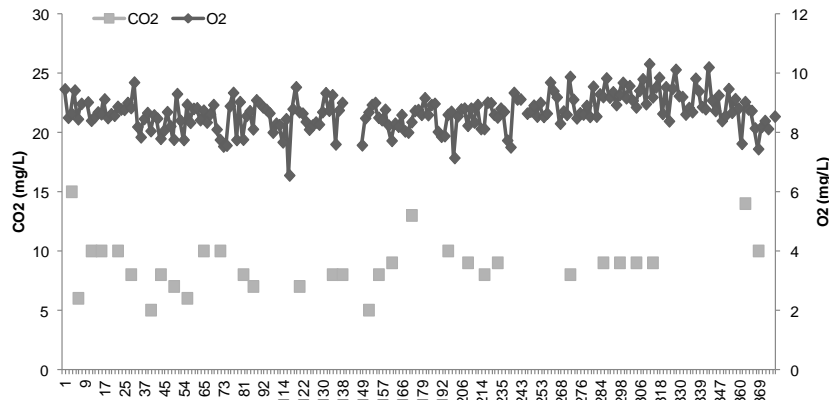
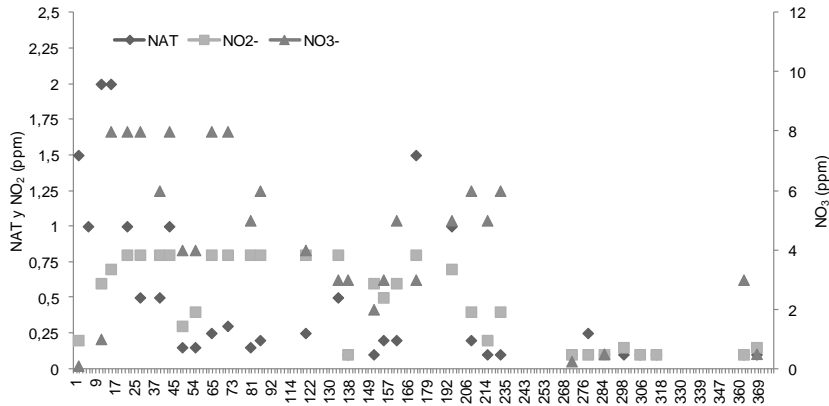


# Control de calidad de agua

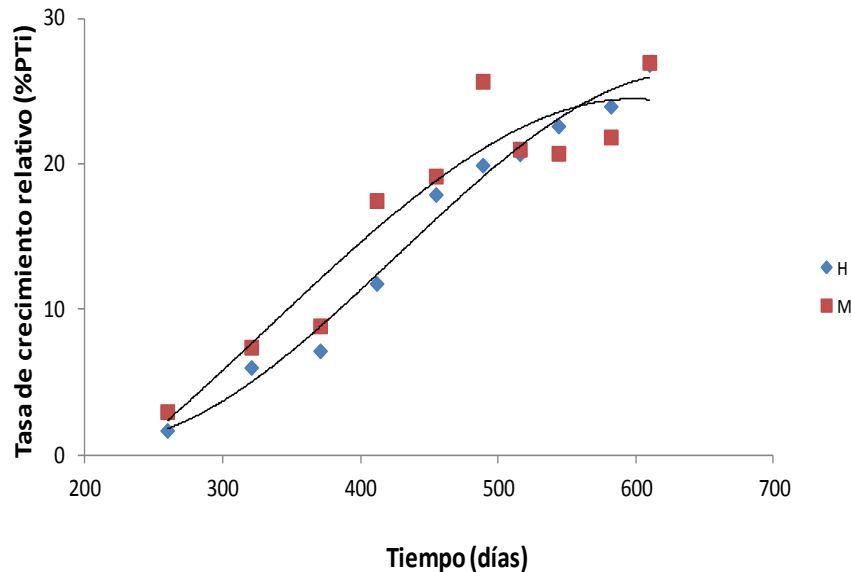
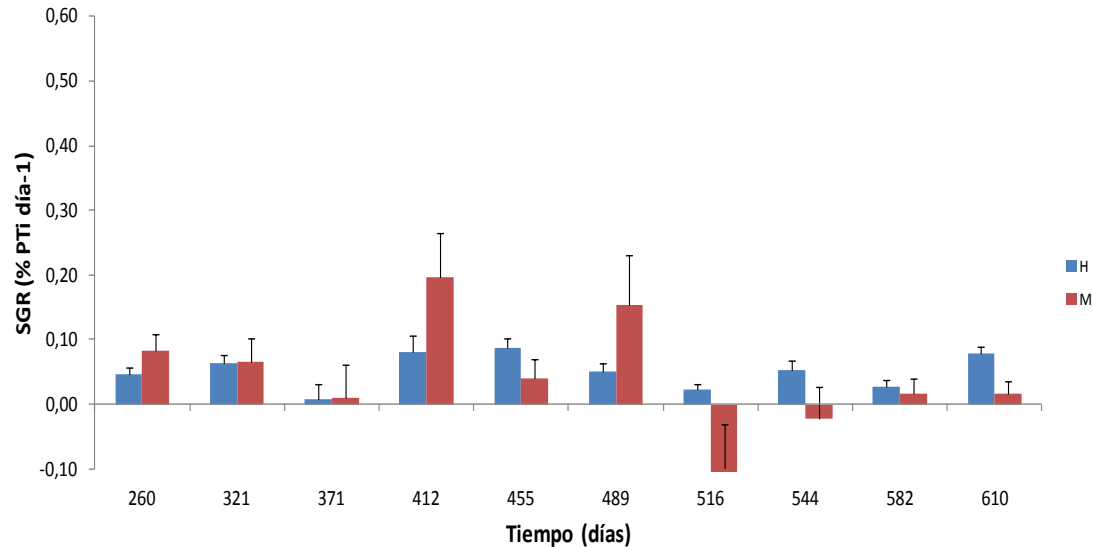
Nitrógeno amoniacal total (NAT)  
Nitrito (-NO<sub>2</sub>)  
Nitrato (-NO<sub>3</sub>)  
Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)  
Oxígeno disuelto (O<sub>2</sub>)  
Temperatura (T°)  
pH  
Intensidad luminosa (Lux)

## Sistema 3

Calidad de agua Sistema 3



Tasa de crecimiento específico Hembras: min. 0,007%/día y máx.. de 0,086%/día.  
Machos: min. -0,147%/día y máx. 0,196%/día.

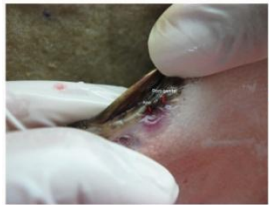


Tasa de crecimiento relativo:  
Hembras: min. 1,68%/día y máx.. de 26,83%.  
Machos: min. 2,98%/día y máx. de 26,99%.

# Seguimiento de la madurez gonadal



## BIOPSIA OVÁRICA O CANULACIÓN



Ubicación del poro genital



Introducción de la cánula de polietileno



Extracción de la muestra ovárica

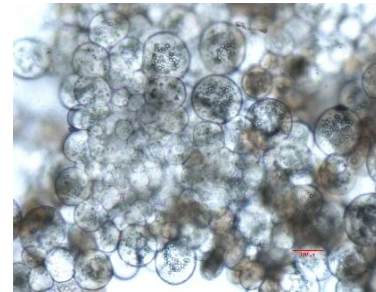
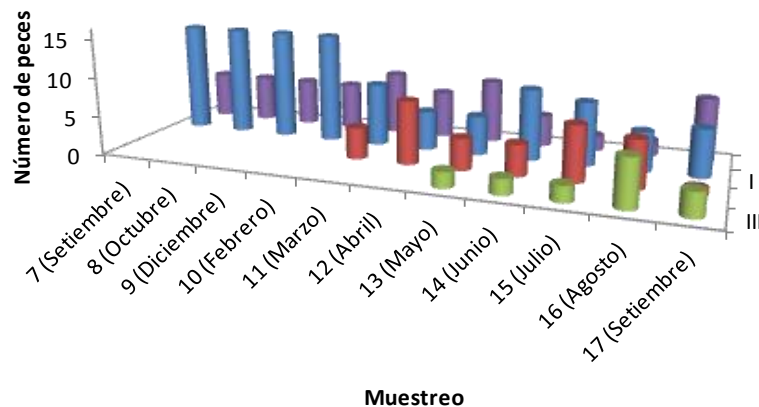


Análisis microscópico

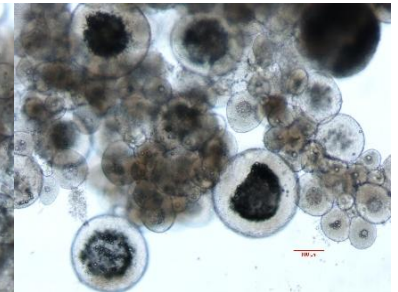


Muestra ovárica en lámina porta objetos

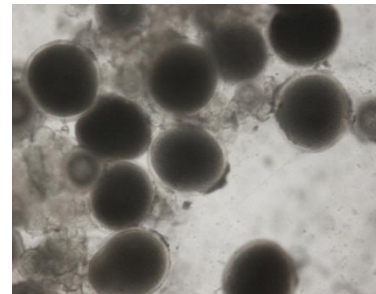
**S4**



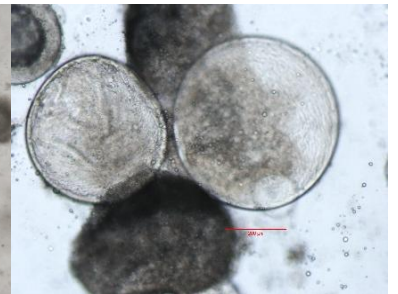
Estadio 0



Estadio II



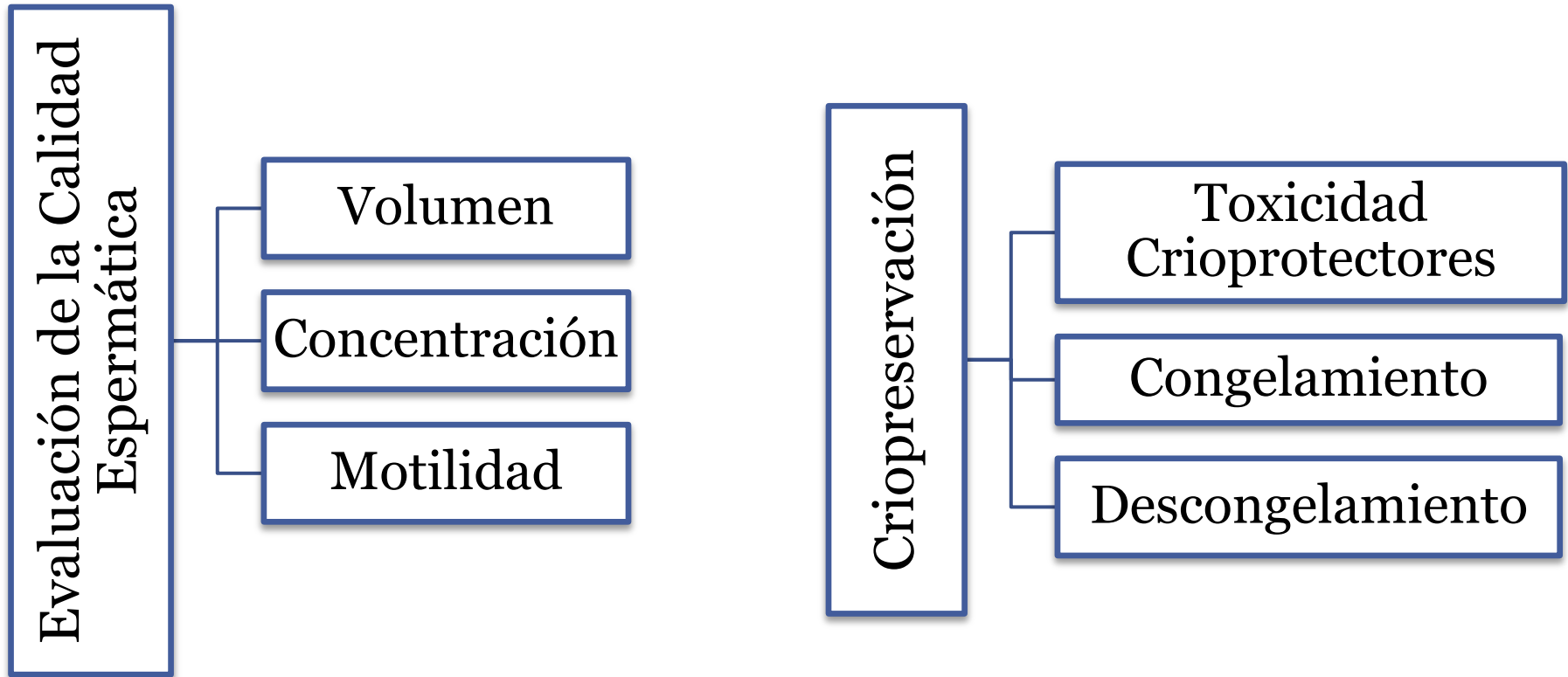
Estadio III



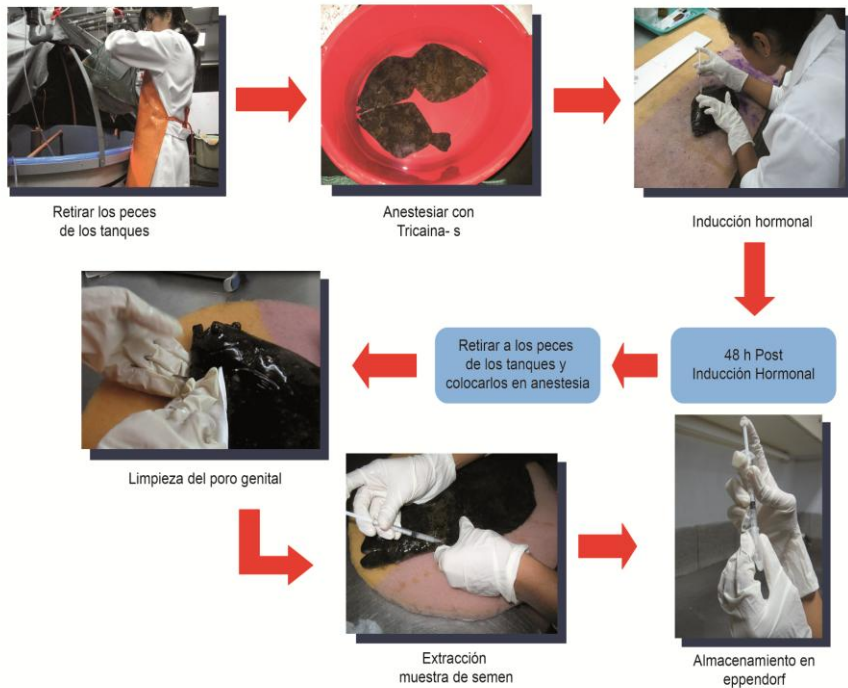
Estadio IV

Escala de madurez gonadal del  
lenguado *Paralichthys adspersus*

### III. Criopreservación de espermatozoides

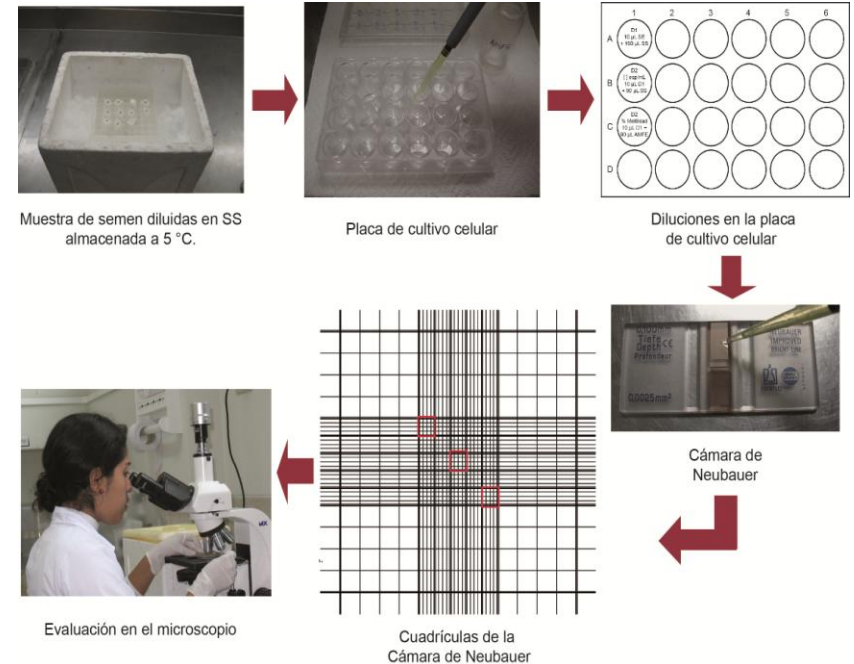


# Evaluación de la calidad espermática

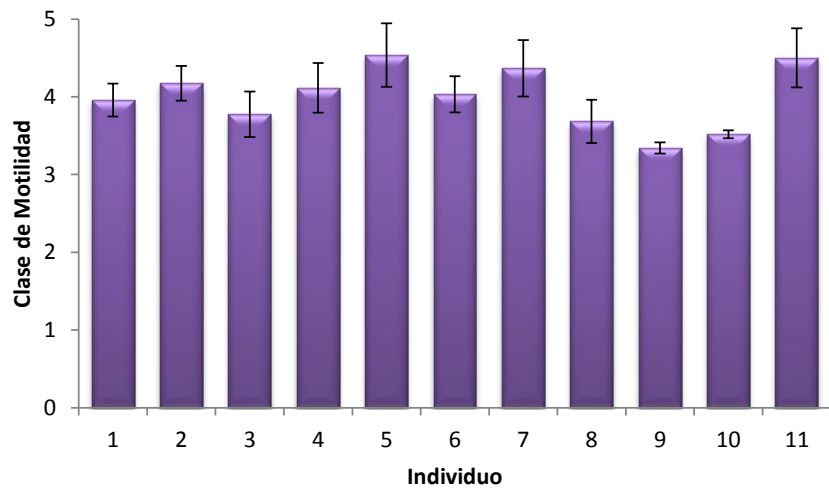
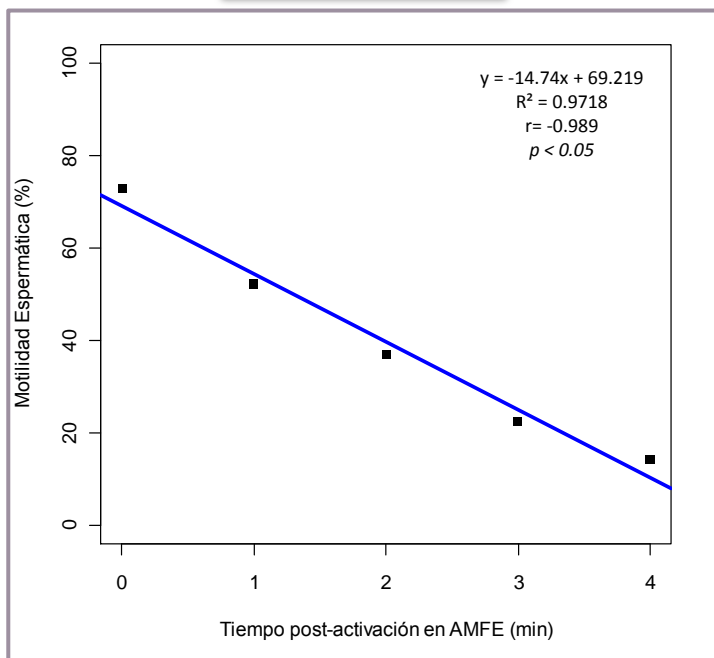


Extracción de muestra de semen y determinación del volumen espermáticos

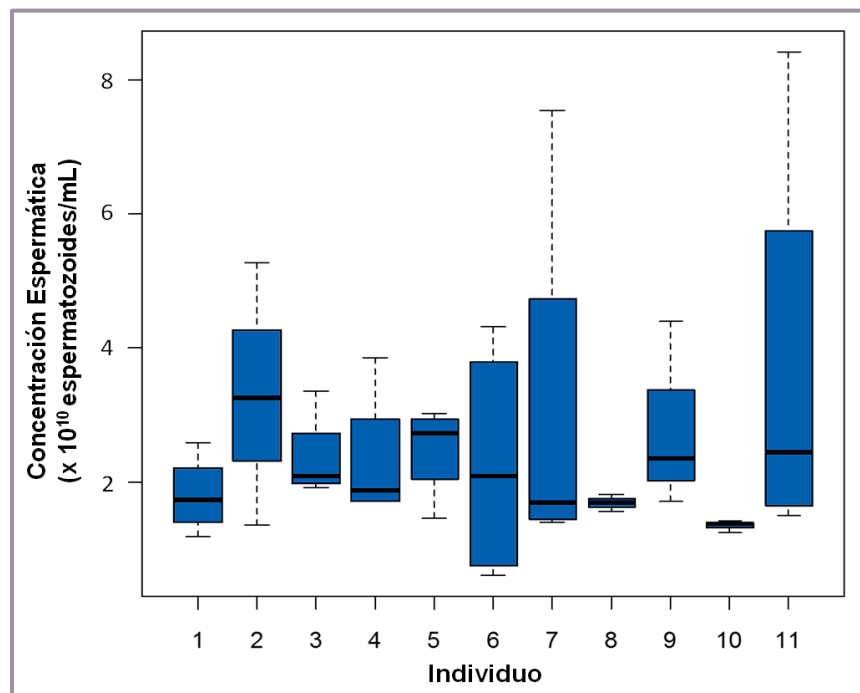
## Evaluación de la concentración y motilidad espermática



## Motilidad



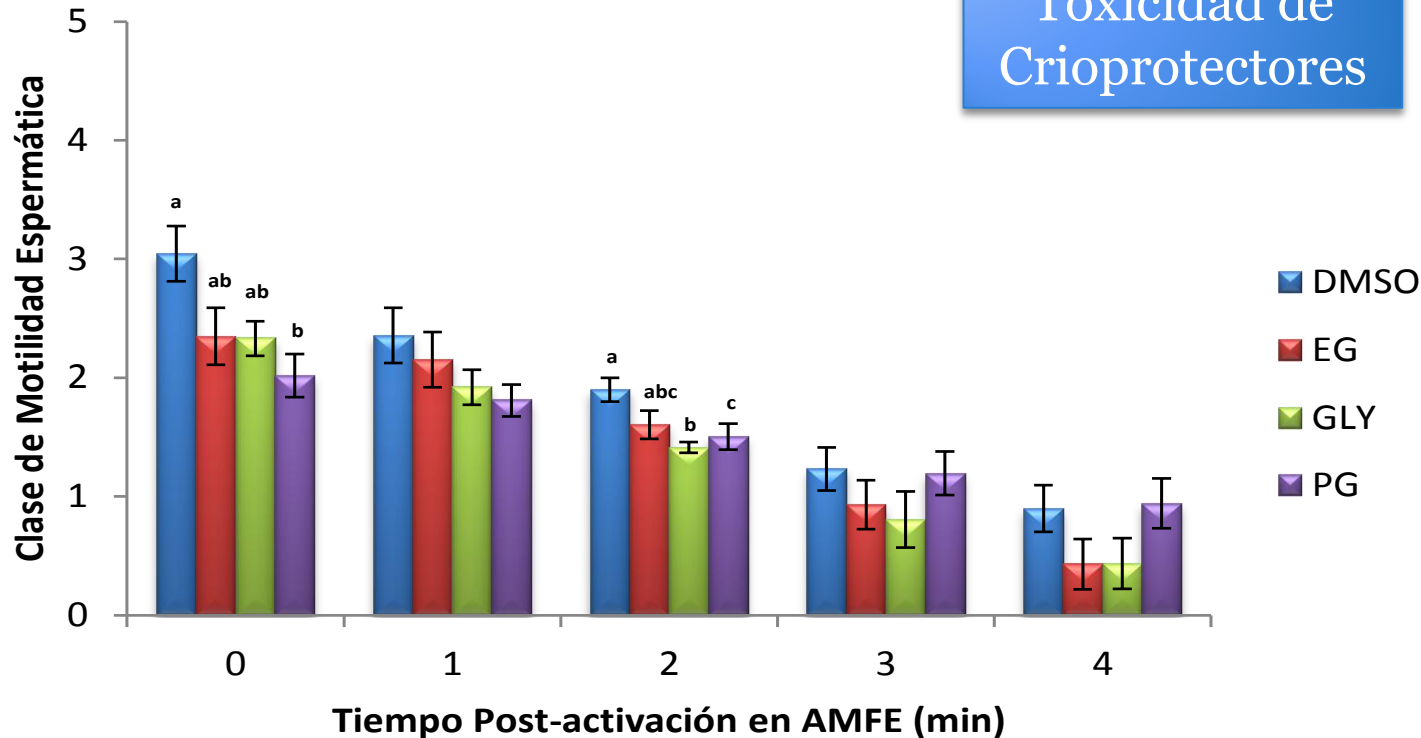
## Concentración



# Criopreservación de espermatozoides



## Toxicidad de Crioprotectores



Motilidad espermática post-incubación en crioprotectores a concentración 1.5 M.

# Congelamiento y Descongelamiento



Toxicidad de Crioprotectores



Congelador Mecánico



Congelamiento

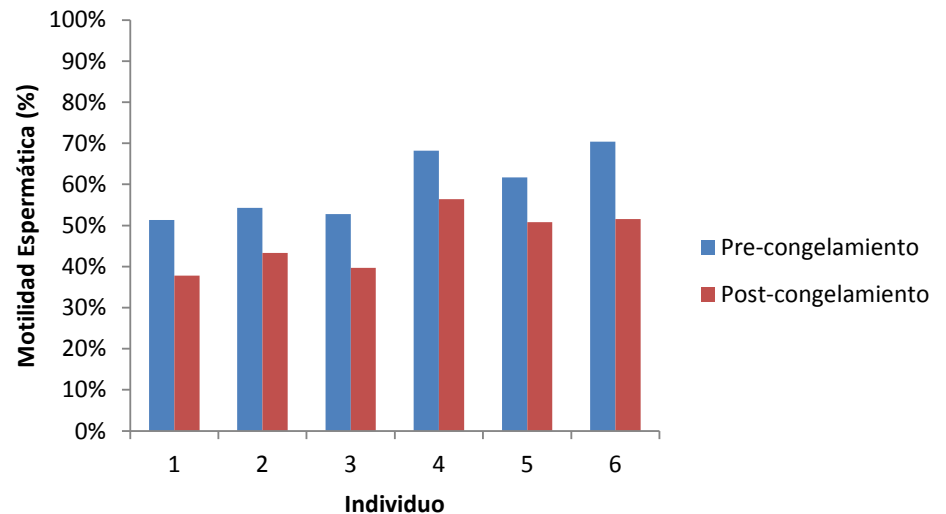


Almacenamiento en tanque de nitrógeno líquido



Descongelamiento

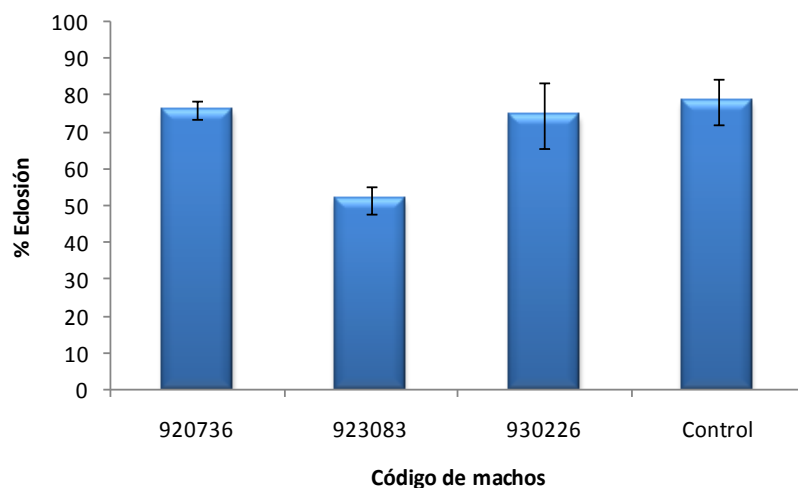
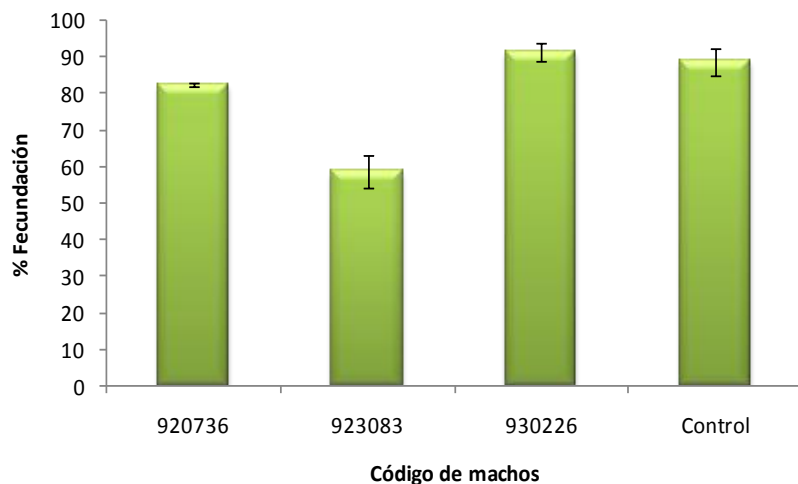
Semen: Solución Crioprotectora (1 : 3)  
Tasa de congelamiento a  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$   
Tasa de descongelamiento a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



# Pruebas de fecundación



Fecundación artificial : 0.1 mL de ovocitos con 50  $\mu$ L de semen criopreservado.



Índice de Supervivencia Larval (ISL)

Día	Número larvas muertas	% Larvas muertas	Mortalidad acumulada	% Mortalidad acumulada
Larvas iniciales	30			
0	0	0.00	0.00	0.00
1	0	0.00	0.00	0.00
2	0	0.00	0.00	0.00
3	0	0.00	0.00	0.00
4	0	0.00	0.00	0.00
5	0	0.00	0.00	0.00
6	0	0.00	0.00	0.00
7	5	16.67	5.00	16.67
8	25	83.33	30.00	100.00
ISL			26.83	
ISL promedio			25.17	

## IV. Inducción del desove y pruebas de fecundación

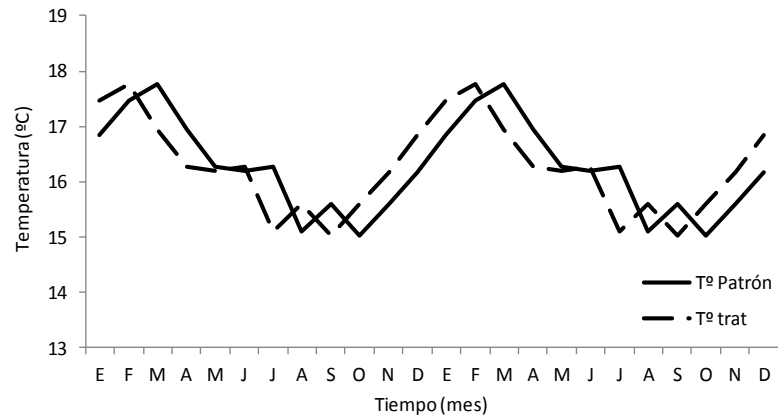
Inducción del  
desove

Fecundación

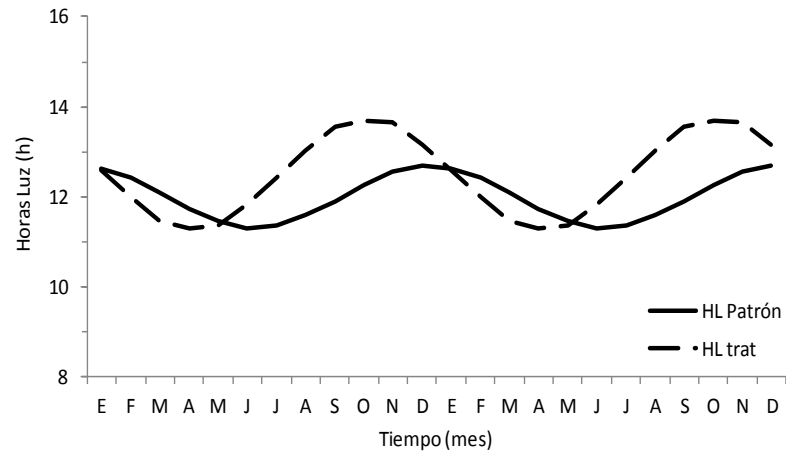
Determinación de  
porcentajes de  
eclosión y huevos  
viabiles

Determinación de  
perfil bioquímico  
de huevos y larvas

# Inducción del desove



## Termoperiodo



## Fotoperiodo



Implantes  
hormonales  
Ovaplant (75  $\mu\text{g/Kg}$ )



Hormona LH-RH  
(Acetato de Buserelina con una  
concentración de  
0,0042 mg/mL)

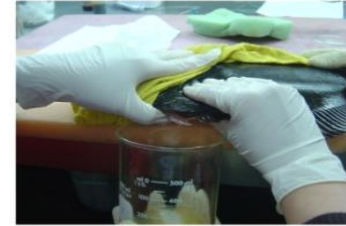
# Fecundación



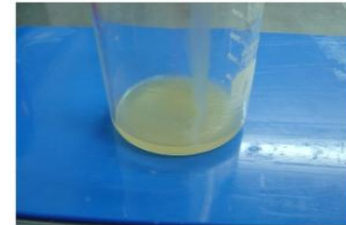
**Muestreo Biométrico**



**Visualización de  
vientre abultado**



**Masaje abdominal**



**Fecundación**



**Añadición de agua de  
mar esterilizada**

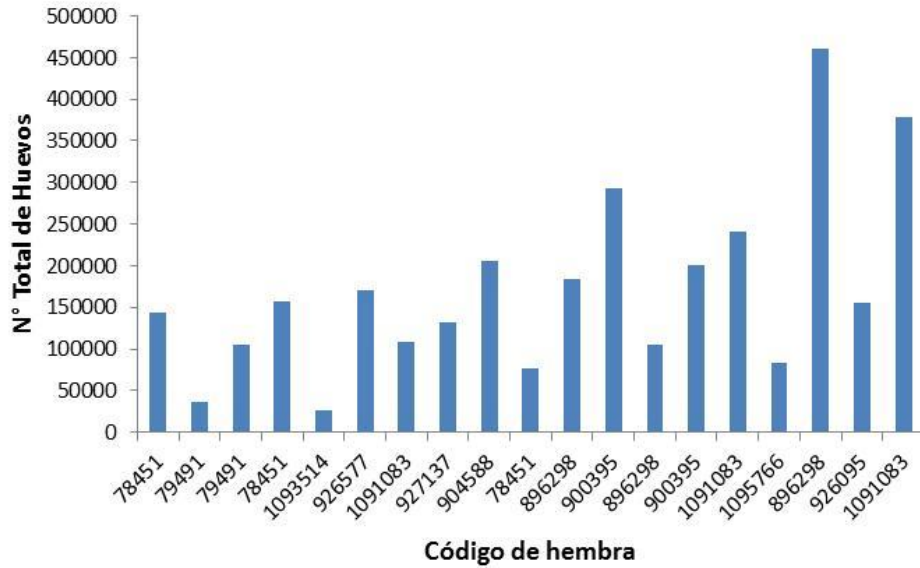


**Separación de huevos  
viables (flotantes) y  
no viables (no flotantes)**

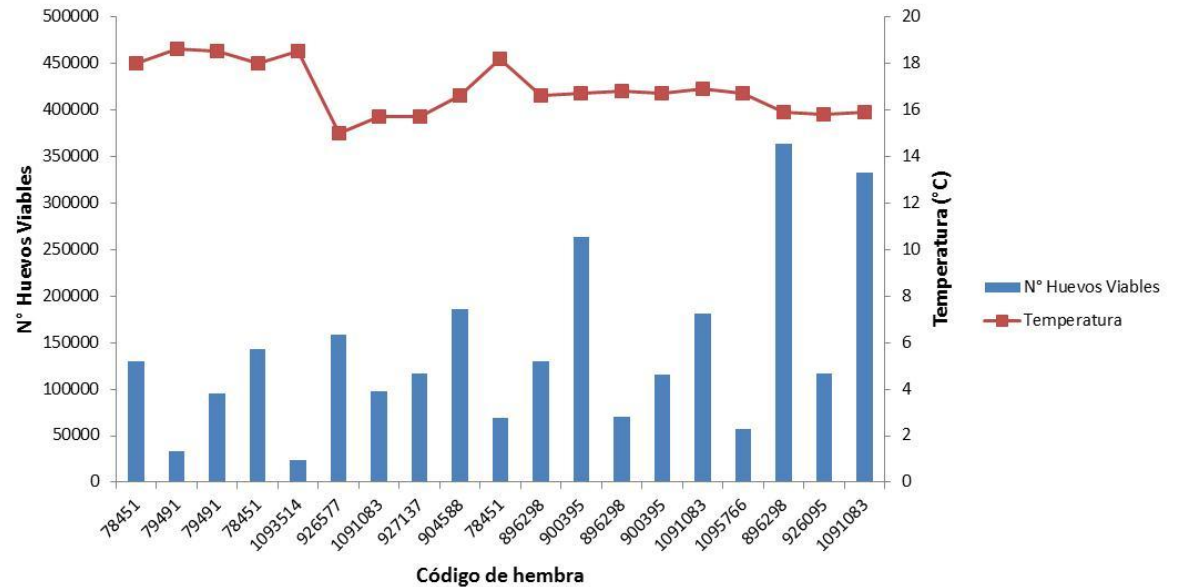


**Conteo de huevos  
por volumetría**

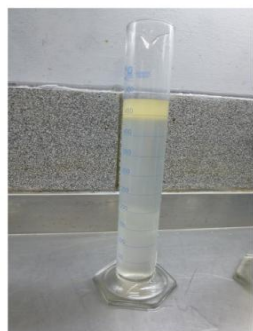
115,153 huevos viables/Kg  
 $901.28 \pm 74.72 \mu\text{m}$   
% Fecundación:  $85.40 \pm 9.86$   
138,831 ovocitos ovulados/Kg



Desoves



# Determinación de huevos viables y porcentajes de eclosión



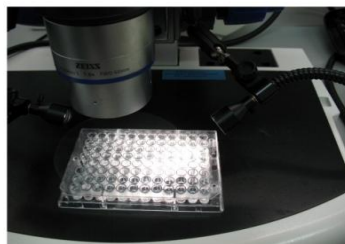
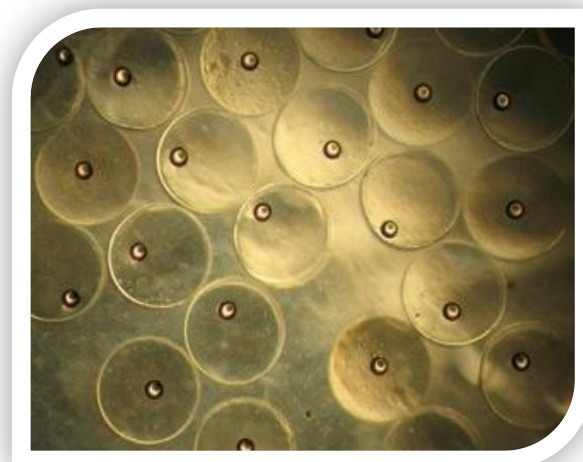
**Huevos Fecundados**



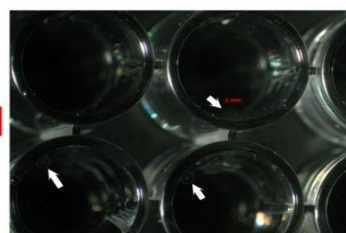
**Obtención de muestra de huevos**



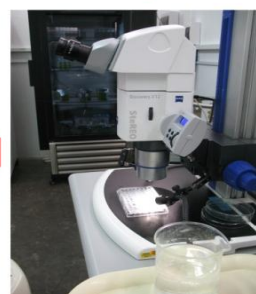
**Colocación de huevos en cada pocillo de la placa de 96**



**Análisis diario del estado de los huevos**



**Observación de huevos en los pocillos**



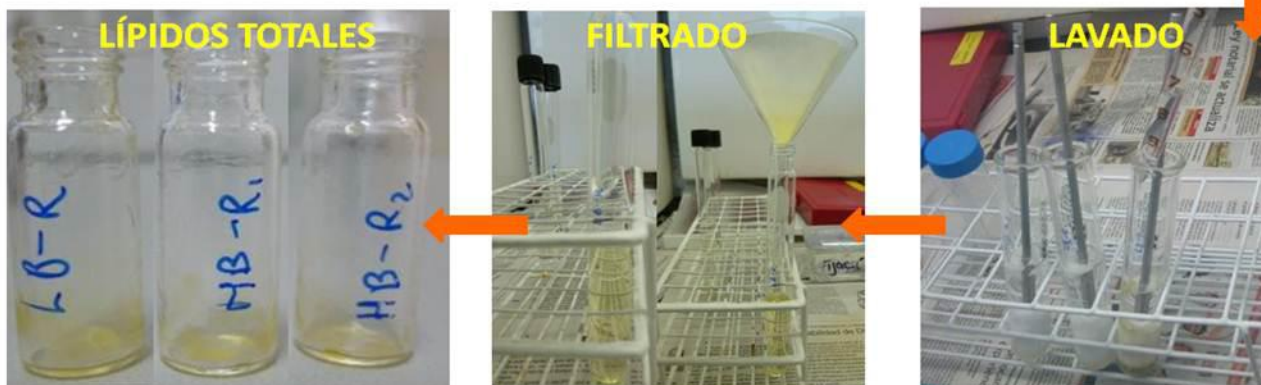
**Verificación de presencia de huevos**

La eclosión se produjo a las 48 horas a una temperatura de  $17.56 \pm 0.48$  °C con un porcentaje del 89,10 %.

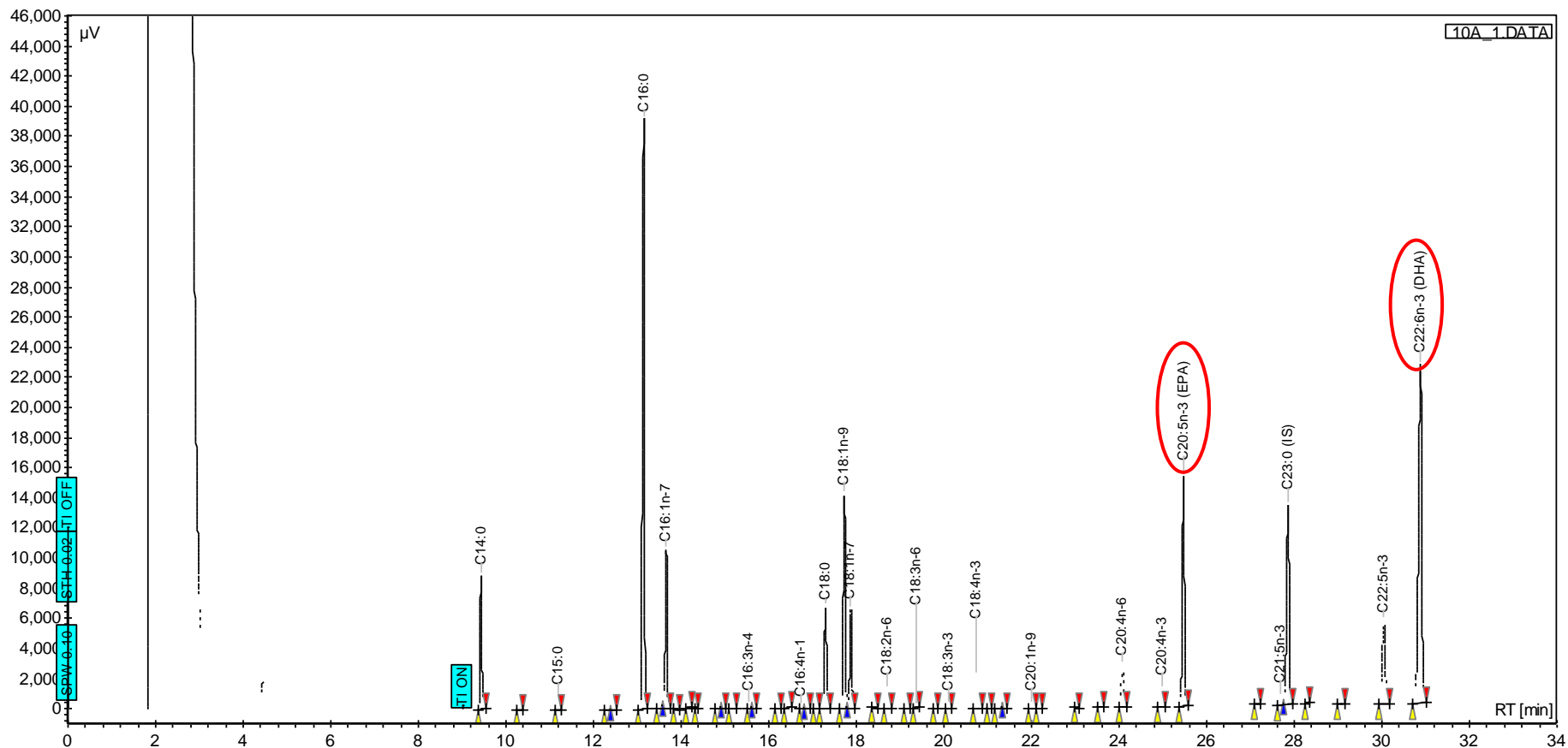
# Determinación de perfiles bioquímicos de huevos y larvas



## ANÁLISIS BIOQUÍMICO DE HUEVOS Y LARVAS DE *Paralichthys adspersus* (LÍPIDOS)



# Cromatograma de huevos





## Perfil bioquímico de huevos

Código de hembra	Humedad	Lípidos	Carbohidratos	Proteínas	Otros (minerales, fibra, vitaminas, etc.)	EPA (% Ácidos Grasos)	DHA (% Ácidos Grasos)
896298	91,64%	14,55%	2,08%	80,69%	2,68%	13,38%	14,65%
900395	92,22%	14,28%	2,15%	77,41%	6,15%	13,35%	17,97%
896298	92,16%	16,86%	1,22%	35,59%	46,34%	10,16%	22,04%
1091083	94,78%	22,02%				10,10%	22,51%

## Perfil bioquímico de larvas

Código de hembra	Humedad	Lípidos	Carbohidratos	Proteínas	Otros (minerales, fibra, vitaminas, etc.)	EPA (% Ácidos Grasos)	DHA (% Ácidos Grasos)
1091083	91,54%	19,53%	6,55%	49,48%	24,44%	10,50%	16,16%
1095766	90,76%	17,92%	6,19%	57,79%	18,10%	11,51%	19,11%
896298	90,51%	16,81%	1,28%	49,98%	31,93%	10,26%	24,03%
1091083	89,54%	18,48%				10,00%	22,45%

# V. Divulgación de resultados




**PROYECTO**  
**“Producción de semilla del lenguado *Paralichthys adspersus* en cautiverio: I Mejoramiento de la calidad y cantidad de desoves”.**

Contrato N° 051- PIBAP – Fincyt - 2009

**INFORME FINAL**



**RESULTADOS**



Técnificación del manejo de reproductores del lenguado *P. adspersus* como alternativas para la obtención de desoves programados.



Uso de técnicas de reproducción asistida (inducción hormonal)



Uso de técnicas de criopreservación de espermatozoides.



Obtención de perfiles lipídicos a nivel de ácidos grasos (DHA – EPA), como indicadores de la calidad de huevos y larvas.

**Coordinadora General**  
 Ing. Lili Carrera Santos  
 Laboratorio de Cultivo de Peces  
 Unidad de Investigaciones en Acuicultura


**Investigadores de la Entidad Ejecutora**  
 M. Sc. Carlos Espinoza Pardo  
 Blgo. Ángel Perea de La Mata  
 M. Sc. Carla Aguilar Samanamud  
 Dr. Enrique Mateo Salas  
 M. Sc. Verónica Sierralta Chichizola  
 Ing. Teresa Castro Barrientos  
 Ing. Rafael Inocente Julia

**Investigador del Proyecto**  
 Ing. Christian Catcoparco Salazar

**Investigadores de Entidades Colaboradoras**  
 Dra. Carmen Paniagua Chávez (CICESE – México)  
 Dra. Alicia Estévez García (IRTA – España)

**Testistas del Proyecto**  
 Bach. Noemí Cota Mamani  
 Bach. Melissa Montes Montes

**PROYECTO FINCYT**  
 Producción de semilla del *Paralichthys adspersus* en cautiverio

**COMPENDIO METODOLÓGICO PARA LA REPRODUCCIÓN DE LENGUADO “*Paralichthys adspersus*” EN CAUTIVERIO**

Proyecto Producción de semilla del Lenguado *Paralichthys adspersus* en cautiverio: I Mejoramiento de la calidad y cantidad de desoves. Contrato N° 051-FINCYT-PIBAP-2009

Lili Carrera S.  
 Noemí Cota M.  
 Melissa Montes M.  
 2011

**Broodstock management of the fine flounder *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) using recirculating aquaculture systems**

Lili Carrera<sup>1</sup>, Noemí Cota<sup>2</sup>, Melissa Montes<sup>2</sup>, Enrique Mateo<sup>3</sup>, Verónica Sierralta<sup>3</sup>, Teresa Castro<sup>3</sup>, Ángel Perea<sup>4</sup>, Cristian Santos<sup>1</sup>, Christian Catcoparco<sup>2</sup> & Carlos Espinoza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Cultivos Marinos; <sup>2</sup>Proyecto FINCYT; <sup>3</sup>Laboratorio de Patología Acuática

<sup>4</sup>Laboratorio de Biología Reproductiva

Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle s/n Chucuito Callao, Perú  
 lcarrera@imarpe.pe

# CAPACITACIONES



## Técnicas de criopreservación de espermatozoides de peces marinos



## Técnicas de determinación de calidad y composición bioquímica de puestas.



**Dra. Carmen Paniagua**  
**CICESE - México**

**Dra. Alicia Estévez**  
**IRTA - España**



# CONCLUSIONES

- Formación de stock de reproductores, 92 ejemplares acondicionados al SRA, con una mortalidad acumulada del 17.85% de los reproductores.
- El esperma criopreservado es una alternativa a la poca producción de semen.
- Se logro obtener ejemplares maduros con el acondicionamiento de foto y termo periodo.
- Se produjo los desoves inducidos con el uso de hormonas, permitiendo el manejo de los mismos.
- Los análisis bioquimicos permitió conocer la calidad de huevos y larvas obtenidas sobre el nivel de DHA y EPA.



Gracias !!!