



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAÍSO  
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES  
ESCUELA DE CIENCIAS DEL MAR

Evaluación del crecimiento de peces triploides y diploides de turbot  
(*Scophthalmus maximus*) durante la etapa juvenil en condiciones de  
cultivo.

Proyecto para optar al Título de Ingeniero Acuicultor  
por  
Sonia Gabriela Arenas Proaño

Valparaíso  
2012

**Comité de Titulación:**

**Profesor Guía : Dr. José Andrés Gallardo Matus**

**Profesor : Sr. Gabriel Yany**

**Profesor : Srta. Mariel Campalans**

## **AUTORIZACIÓN DE USO**

Al presentar este Proyecto como último requisito para la obtención del título de Ingeniero Acuicultor, autorizo a la biblioteca de la Escuela de Ciencias del Mar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, para que disponga libremente de ella. Autorizo además reproducciones parciales o totales de este Proyecto sólo con fines académicos.

---

Sonia Arenas Proaño

## **DEDICATORIA**

A mis tíos Patricio y Ximena.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer en primer lugar al Dr. José Gallardo Matus, profesor guía de este Proyecto, por su apoyo, consejos y conocimientos.

A la empresa Seafood Resource Chile S.A., en especial a Marcelo Meneses, Cristian Iglesias y al equipo del hatchery por el tiempo dedicado y la confianza otorgada.

A mi familia, mi especial compañero, colegas, futuros colegas y amigos por el apoyo y los consejos.

## CONTENIDO

	<b>pág.</b>
Portada de presentación	
Comité de Titulación.....	i
Autorización de uso.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Contenido.....	v
Índice de tablas.....	vi
Índice de figuras.....	vii
Índice de gráficos.....	vii
Abstract.....	viii
Resumen.....	ix
Introducción.....	1
Objetivos.....	3
Antecedentes.....	4
Materiales y métodos.....	16
Resultados.....	20
Análisis del modelo estadístico.....	20
Datos históricos.....	20
Datos ensayo grupo de hermanos completos de un mismo batch.....	22
Discusión.....	24
Conclusiones.....	26
Referencias.....	27
Anexo 1.....	31
Anexo 2.....	34
Anexo 3.....	35
Anexo 4.....	37

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>pág.</b>
Tabla 1. Parámetros de cultivo de turbot ( <i>S. maximus</i> ) en etapa juvenil-adulta.....	6
Tabla 2. Métodos experimentales utilizados para la obtención de poliploides.....	7
Tabla 3. Antecedentes sobre el efecto de la triploidía en salmónidos de importancia comercial parte 1.....	9
Tabla 3. Antecedentes sobre el efecto de la triploidía en salmónidos de importancia comercial parte 2.....	10
Tabla 4. Antecedentes sobre el efecto de la triploidía en peces planos.....	11
Tabla 5. Condiciones de cultivo etapa juvenil.....	14
Tabla 6. Número de observaciones de peso muestreado de cada año y ploidía.....	16
Tabla 7. Descripción de las variables identificadas del set de datos históricos.....	17
Tabla 8. Antecedentes del ensayo experimental de grupos de hermanos completos.....	18
Tabla 9. Niveles de significación del efecto de los factores del modelo para datos históricos, utilizando procedimiento GLM del software SAS.....	20
Tabla 10. Niveles de significación del efecto de los factores del modelo para datos de ensayo, utilizando procedimiento GLM del software SAS.....	22
Tabla 11. Tasa de crecimiento observado durante el ensayo.....	23

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>pág.</b>
Figura 1. Vista frontal de turbot.....	4
Figura 2. Esquema de la obtención de individuos triploides mediante la aplicación de un choque físico (térmico o hidrostático).....	8
Figura 3. Ubicación de instalaciones de <i>S.R.C.</i> .....	12
Figura 4: Proceso productivo del turbot ( <i>S. maximus</i> ). .....	13
Figura 5. Imagen de la base de datos histórica final presentada en planilla Excel.....	17
Figura 6. Imagen de la base de datos final del ensayo experimental de grupos de hermanos completos realizado en el año 2010.....	18
Figura 7. Estimación de mínimos cuadrados del peso promedio (LSMEAN) del efecto año.....	21
Figura 8. Estimación de mínimos cuadrados del peso promedio (LSMEAN) de efecto ploidías.....	21
Figura 9. Peso promedio por edad para cada ploidía para los datos del ensayo realizado en el año 2010.....	23

## ABSTRACT

The present project generates a precedent that supports production-level decisions of Seafood Resources Chile SA (SRC), to identify the effect of triploidization in turbot (*Scophthalmus maximus*) on growth during the juvenile stage under culture conditions. The objective is to evaluate the average growth in weight of triploid turbot (*S. maximus*) respect of diploid produced by SRC from the analysis of two data sets, of which the first is of historical information (years 2007, 2008 and 2009), and the second corresponding to a test conducted in 2010 which produced a complete brother batch of triploides and diploides. To identify the effect variables and their interactions on weight, was performed a generalized linear model (GLM) appropriate for unbalanced data structure. Moreover, experimental design of the second data set, also allowed estimating and comparing growth rate (TC) of the two types of fish.

The results of the analysis of the historical information, using a model who explains 85% of the weight variation, threw that the variability of the weight is explained significantly by all the variables analyzed (year, batch, ploidies and interaction age\*ploidy). The average weight of the observed years was significantly different ( $p < 0.001$ ) for every period, with an average observed for the years 2007, 2008 and 2009 of 3.68, 4.69 and 5.59 grams respectively. The same thing happened on having observed the average weight of every ploidia, in which was observed an average of 4.90 grams in diploides and 4.41 grams in triploides. The effect of the interaction age\*ploidy, through the estimated (slope), threw that the effect of triploides is significantly different ( $p < 0.001$ ) and higher than the effect of diploides (age\*ploidyT=0.188 and age\*ploidyD=0.156). However, the group of test data, using a model which explains 88 % of the variation of the weight, threw that the variability of the weight around the average depends significantly on the age, with no higher effect found of the ploidia and its interaction with the age. The growth rate (TC) indicated that triploids have a better rate with a TC = 5.11 and TC = 4.55 for a diploid, with a starting weight of 0.5 g. and 0.7 gr. respectively.

Finally, both results indicated that the induction of triploid during the juvenile stage in culture conditions, does not mean an increase in the average weight, being observed that the turbot triploid which initially are in a minor weight, reach the weight of the diploidies as they increase of age, it means that the turbot triploid would reach at his par diploid.

## RESUMEN

El presente proyecto de título surge con la pretensión de generar un antecedente que respalde las decisiones a nivel productivo de Seafood Resources Chile S.A. (S.R.C.), al identificar el efecto de la triploidización en turbot (*Scophthalmus maximus*) sobre el crecimiento durante la etapa juvenil, bajo condiciones de cultivo. El objetivo es evaluar el crecimiento en peso promedio observado de turbot (*S. maximus*) triploides respecto de diploides producidos por S.R.C. a partir del análisis de dos grupos de datos: 1) Información histórica de peces triploides y diploides del año 2007, 2008 y 2009; y 2) Información correspondiente a un ensayo realizado en el año 2010 en el que se produjo un batch de peces hermanos triploides y diploides. Para identificar el efecto que tienen las variables y sus interacciones sobre el peso, se realizó un modelo lineal generalizado (GLM) adecuado para estructura desbalanceada de datos. El diseño experimental del segundo grupo de datos, permitió estimar y comparar además del peso, la tasa de crecimiento (TC) de los dos tipos de peces.

El análisis de los datos históricos, con un modelo que explica el 85% de la variación del peso, arrojó que la variabilidad del peso es explicada significativamente por todas las variables analizadas (año, batch, ploidía e interacción edad x ploidía). Los pesos medios de los años observados fueron significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ) para cada período, con una media observada para los años 2007, 2008 y 2009 de 3,68, 4,69 y 5,59 gramos respectivamente. Lo mismo ocurrió al observar los pesos medios de cada ploidía, con 4,90 gramos en diploides y 4,41 gramos en triploides. El efecto de la interacción edad x ploidía, a través del estimado (pendiente), arrojó que el efecto de la triploidía es significativamente diferente ( $p < 0,001$ ) y mayor que el de diploidía (edad x triploidía = 0,188 y edad x diploidía = 0,156). En cambio, el grupo de datos del ensayo, con un modelo que explica el 88% de la variación del peso, arrojó que la variabilidad del peso alrededor del promedio depende significativamente de la edad; no encontrándose mayor efecto de la interacción edad x ploidía. La tasa de crecimiento (TC) indicó que los triploides, en comparación a los diploides presentan una mejor tasa (5.11 triploides > 4.55 diploides), con un peso inicial de 0.5 gr. en triploides y 0.7 gr. en diploides.

Finalmente, ambos resultados indicaron que la inducción de triploidía durante la etapa juvenil, en condiciones de cultivo, no significa un aumento en el peso promedio; observándose que los turbot triploides que inicialmente están en un peso menor, lograrían el peso de los diploides a medida que aumentan de edad, es decir, que a mayor edad los turbot triploides alcanzarían a sus pares diploides.

## 1.- INTRODUCCIÓN

Una tendencia actual en la producción acuícola nacional es el desarrollo de tecnologías de cultivo dirigidas a nuevas especies con un alto valor económico en el mercado internacional, tales como los peces planos y otras especies marinas. Una de estas especies es el turbot (*Scophthalmus maximus*), pez plano de carne fina, que es cultivado a nivel comercial en varios países Europeos incluyendo España, Dinamarca, Alemania, Islandia, Irlanda, Italia, Noruega, Gales (Reino Unido), Portugal, y últimamente también en China (FAO, 2009). La producción de turbot presenta un futuro alentador, ya que puede ser una alternativa de diversificación para los productores de salmonídeos en Chile y consecuentemente lograría satisfacer la expansión del consumo de peces de carnes blancas, acreditando una producción con eficiencia. En Chile el cultivo de turbot se inició a fines de 1980 llegando a ser actualmente uno de los productores más importantes (Alvial & Manríquez, 1999). La producción actualmente está siendo liderada por la empresa Seafood Resources Chile S.A. (SRC), con una producción que bordea las 300 toneladas anuales, llegando a un máximo de 321 toneladas en el 2009, según datos del Servicio Nacional de Pesca.

Entre las herramientas productivas desarrolladas para lograr una producción eficiente, manteniendo la calidad del cultivo, se encuentran los métodos biotecnológicos. La biotecnología moderna se relaciona con la implementación de técnicas de modificación genética que derivan en cambios de las características de los organismos y sus progenies (Díaz & Neira, 2005). Entre los métodos biotecnológicos está el uso de la poliploidización, una de las alternativas más empleadas para producir esterilidad. Dentro de las técnicas de poliploidización se destacan la triploidización, técnica que permite obtener individuos triploides que funcionalmente son estériles, condición que facilita el aumento en la eficiencia de producción de carne, al reducir el gasto de energía en el proceso de maduración sexual, incrementando el crecimiento, evitando el deterioro en la calidad de carne y previniendo cambios en la coloración de la piel. De esta forma, la producción de peces estériles permite retrasar las cosechas, con peces de mayor peso, controlar la aparición de machos precoces entre los destinados a cosecha y mejorar la supervivencia en períodos de madurez sexual, al disminuir la mortalidad asociada a la condición post-reproductora (Cal *et al.* 2005; Díaz & Neira, 2005; Cal *et al.*, 2006).

Considerando las posibles ventajas de la triploidía, el centro de cultivo de turbot Seafood Resources Chile S.A. (S.R.C.), desarrolló y ejecutó un proyecto de innovación biotecnológica denominado “Producción comercial de triploides mediante técnicas de manipulación cromosómica, para turbot (*S. maximus*) y abalón rojo (*Haliotis rufescens*)”, permitiendo generar dos nuevos productos, juveniles y semillas triploides de turbot y abalón rojo respectivamente. El proyecto se llevó a cabo a partir los siguientes objetivos específicos planteados: identificar las técnicas de biotecnología que permitirían obtener altos porcentajes de triploidía; identificar metodologías eficientes de evaluación de ploidía; y evaluar el real beneficio de la triploidización en turbot y abalón a nivel productivo.

Los resultados obtenidos del proyecto permitieron desarrollar, respecto al turbot, un protocolo de inducción a la triploidía, con porcentajes de triploidía superiores al 90% y sobrevivencia relativa sobre el 80%; establecer el mejor método identificador de ploidía y evaluar el rendimiento de triploides respecto a normales (diploides) de 7 a 17 meses de edad. Respecto a esto último concluye que aún es necesario evaluar el efecto de la triploidía sobre el crecimiento hasta la etapa de madurez, siendo necesario evaluar el crecimiento en cada etapa, de manera que, además de identificar las diferencias en el crecimiento se pueda identificar si es necesario efectuar protocolos de manejo diferentes, apuntando a explotar al máximo los beneficios fisiológicos de la triploidía.

Tomando en cuenta estos últimos antecedentes, en el presente proyecto se pretende evaluar a peces triploides respecto de diploides de turbot (*S. maximus*), producidos por S.R.C. durante la etapa juvenil, de manera que a partir de los resultados se puedan apreciar los beneficios de la triploidización en turbot, generando de esta manera un antecedente que respalde las decisiones a nivel productivo durante la etapa evaluada.

## **2.- OBJETIVOS**

### **2.1.- Objetivo general**

Evaluar el crecimiento de peces triploides y diploides de turbot (*Scophthalmus maximus*) durante la etapa juvenil en condiciones de cultivo.

### **2.2.- Objetivos específicos**

- Comparar el crecimiento de peces triploides y diploides de turbot (*Scophthalmus maximus*) usando datos históricos de producción.
- Comparar el crecimiento de peces triploides y diploides de turbot (*Scophthalmus maximus*) en un grupo de peces hermanos.

### 3.- ANTECEDENTES

#### 3.1.- ANTECEDENTES DE LA ESPECIE

Taxonomía:

Nombre Científico: *Scophthalmus maximus*

Nombre Común: turbot, rodaballo.



Figura 1. Vista frontal de turbot. Fuente: Subpesca.

#### Características biológicas

Es un pez plano, de forma redondeada con cabeza grande de ojos pequeños, con una boca provista de pequeños dientes afilados, de hábito carnívoro. El lado aculado posee una coloración variada, desde el gris oscuro al marrón oscuro con variaciones negras y verdosas (Fig.1); la cara ventral es de color blanco o crema (Chimbore, 2007).

La tasa de crecimiento de machos y hembras de turbot, en medio natural, son relativamente iguales, hasta que alcanzan una longitud aproximada de 45 cm a la edad de seis a siete años, después el crecimiento de los machos se hace más lento que el de las hembras. Normalmente las hembras miden entre 50 y 80 cm de longitud, mientras que los machos miden 45 cm de longitud, llegando a alcanzar tallas de 60 cm a los 15 años que pueden llegar a vivir (Chimbore, 2007).

#### Características Reproductivas

El turbot es dioico con hembras que maduran sexualmente a partir de los cuatro años y medio cuando alcanzan los 40 cm y 1 kg de peso, mientras que los machos maduran sexualmente a partir de 1,3 kg de peso a los 30 cm (tres años). Las hembras desovan huevos de 1mm de diámetro transparentes, los cuales son pelágicos (planctónicos) al momento de ser fecundados (Alvial, 1994).

Posterior a la fecundación al momento de la eclosión, la larva mide entre 2,6 y 2,8 mm, no tiene boca ni ano, y es ciega. Posee simetría bilateral y es planctónica. Los dos o tres primeros días no come, se nutre de las reservas que almacena en su saco vitelino. Al cabo de estos días ya han desarrollado los mecanismos necesarios para iniciar la alimentación exógena.

A los 20 días después de la eclosión del huevo, las larvas comienzan la metamorfosis, empezándose a aplanar, el ojo derecho migra hacia el izquierdo y desaparece la vejiga natatoria. A los 30 días este proceso ya casi se ha completado, con peces planos y con los dos ojos en el lado izquierdo. A los 60 días las larvas, con un tamaño de 2,5 - 3 cm, han acabado la metamorfosis y permanecen posados en el fondo (Alvial, 1994).

En el cultivo intensivo la maduración sexual se induce manipulando el fotoperiodo (Forés *et al.*, 1988), y la fertilización se realiza de forma artificial luego de obtener los gametos de cada individuo por medio de masaje abdominal (Piferrer *et al.*, 2007). Durante la fase de engorde los peces presentan crecimientos más rápidos que el que desarrollan en estado natural, con hembras que crecen más que los machos, diferencia que aumenta con la edad, y que contribuye al incremento en la dispersión de tallas en las unidades de cultivo y conlleva a que los peces tarden menos tiempo en alcanzar la talla de primera madurez sexual, iniciándose la producción de gametos (huevos o esperma, según sean hembras o machos) y la reproducción (Thorpe, 2004; Piferrer *et al.*, 2007).

Respecto a la etapa de reproducción, Cal *et al.*, (2006) señalan que el turbot bajo condiciones de cultivo puede alcanzar la primera madurez sexual a una edad de alrededor de 24 meses. Como es el caso en muchos peces, la primera madurez no afecta negativamente al crecimiento, ya que por ese momento, las gónadas son pequeñas. No obstante, en peces cultivados hasta alcanzar mayores tallas de cosecha (*e.g.* cuatro kilogramos) se observa una segunda y hasta una tercera madurez sexual, con efectos más marcados en el crecimiento que en la primera madurez sexual, debido principalmente al tamaño alcanzado por sus gónadas. Además de afectar al crecimiento, la condición que alcanza el pez al pasar por la etapa de madurez sexual, consecuentemente genera muertes durante y después de estos períodos, pues esta condición denominada post-reproductora se caracteriza por alterar el comportamiento, pues los peces rechazan el alimento, son más sensibles a las variaciones de temperatura del agua y a los bajos niveles de oxígeno. Cal *et al.*, (2006), asimismo, indican que peces de 24 a 48 meses de edad, después de la primera madurez sexual, presentarían una supervivencia menor en diploides (91,9%) y mayor en triploides (100%) (Peces estériles), atribuyéndolo principalmente a que estos últimos no presentan mortalidad asociada a la condición post-reproductora.

### Parámetros de calidad de agua

Los parámetros de calidad del agua que tolera normalmente el turbot varían de acuerdo al estado de desarrollo que presente (Van Ham *et al.*, 2003). Los parámetros de cultivo y sus rangos para el estado juvenil-adulto se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Parámetros de cultivo de turbot (*S. maximus*) en etapa juvenil-adulta.

Parámetros de cultivo	Rango tolerable	Referencia
Oxígeno	4 a 8 mg.L-1	Medas, 2004.
Salinidad	25 a 35 ‰	Menú & Person, 1991.
Temperatura	8- 22°C	Coll, 1986.
Ph	8,0-8,4	Coll, 1986.
Amoniaco	0,3-0,5 mg.L-1	Coll, 1986.

Fuente: Chimbore, 2007.

La temperatura del agua es un factor importante en el crecimiento de los peces (Brett & Groves, 1979; Corey *et al.*, 1983) y ha sido estudiada en el turbot por diversos autores, los que indican un rango óptimo variable según el origen y talla del pez (Van Ham *et al.*, 2003). Algunos de estos rangos son entre 16 y 19 °C para turbot noruego de 25 a 75 g (Imsland *et al.*, 1996); 16 y 20 °C para turbot francés de 35 a 140 g (Burel *et al.*, 1996).

### 3.2.- BIOTECNOLOGÍA APLICADA AL CULTIVO DE PECES

El aporte biotecnológico que existe en la acuicultura se desarrolla en diversos ámbitos como reproducción, nutrición, patología y mejoramiento genético de las especies en cultivo, esta última relacionada con la implementación de técnicas de modificación genética, las que derivan en cambios de las características de los organismos y sus progenies (Díaz & Neira, 2005). Entre los métodos biotecnológicos está el uso de la poliploidización, una de las alternativas más empleadas para producir esterilidad, condición que entrega ciertas características aplicables a la producción de peces, ya que ésta facilita el aumento de la eficiencia de producción de carne, al reducir el gasto de energía en el proceso de maduración sexual, incrementando el crecimiento, evitando el deterioro en la calidad de carne y previniendo cambios en la coloración de la piel (Díaz & Neira, 2005). De esta forma, la producción de peces estériles permite retrasar las cosechas, obteniéndose peces de mayor peso, controlar la aparición de machos precoces entre los destinados a cosecha y mejorar la supervivencia en períodos de madurez sexual, al disminuir la mortalidad asociada a la condición post-reproductora (Cal *et al.* 2005; Cal *et al.*, 2006).

La poliplodía es concebida como una variación cuantitativa del genoma que afecta al conjunto de los cromosomas de las células, aumentando el número de juegos cromosómicos (triploides y tetraploides). En peces, la inducción experimental de triploidía se realiza evitando que se complete la meiosis II una vez que el ovocito es fecundado, aplicando métodos físicos, químicos o genéticos (Tabla 2). De este modo se impide la reducción del número de cromosomas a la mitad (n). Por lo tanto, el embrión presentará una constitución cromosómica triploide (3n), formada por dos juegos cromosómicos maternos y uno paterno (Fig. 2) (Díaz & Neira, 2005).

Tabla 2. Métodos experimentales utilizados para la obtención de poliploides.

<b>Métodos experimentales</b>	<b>Técnicas</b>
Físicos	Choques térmicos de calor o frío, Choques de presión o termoeléctricos.
Químicos	Aplicaciones de citocalasina B, colchicina o 6-imetilaminopurina.
Genéticos	Cruzamiento de hembras diploides con machos tetraploides.

Fuente: Díaz & Neira, 2005.

De los métodos aplicados para la obtención de poliploides, el que ha sido más aplicado, según diversos estudios realizados respecto a la producción de individuos triploides en peces planos, es el método físico, específicamente la aplicación de choques térmicos de frío (Piferrer *et al.*, 2000). Concretamente para la especie turbot (*S. maximus*) Piferrer *et al.* (2007) señalan que para la obtención de peces triploides, ésta se puede inducir aplicando choques térmicos o de presión a huevos recién fertilizados.

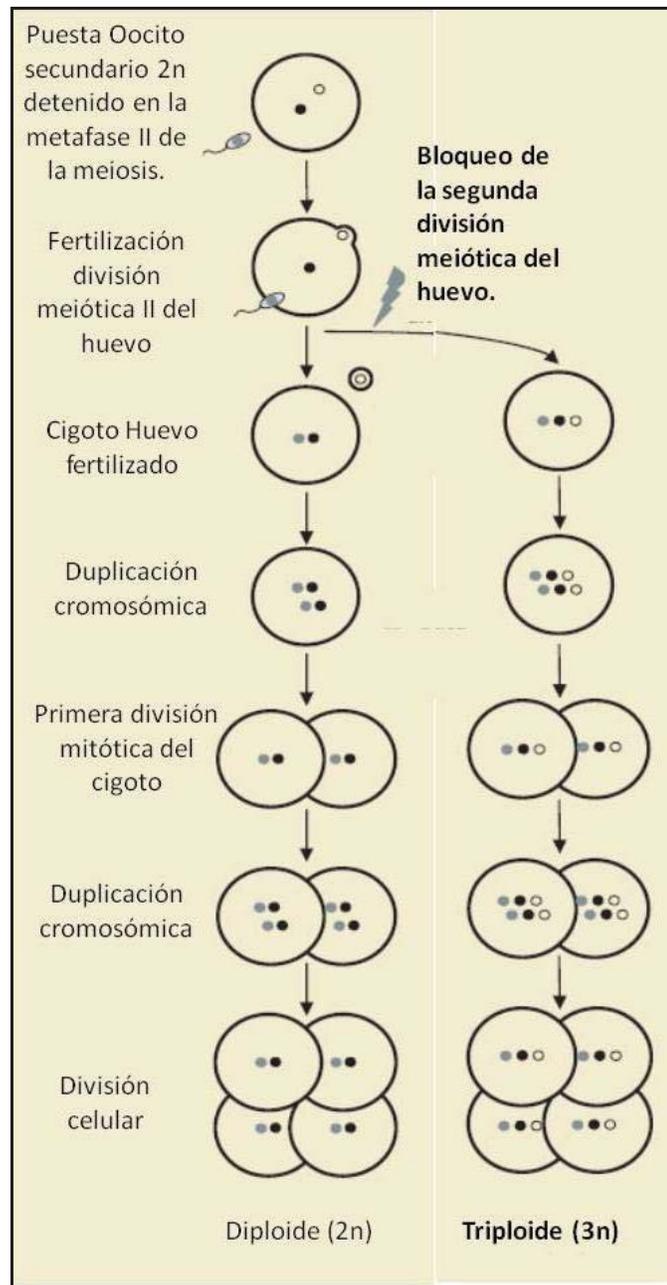


Figura 2. Esquema de la obtención de individuos triploides mediante la aplicación de un choque físico (térmico o hidrostático) (Modificado de Piferrer *et al.*, 2007).

### 3.3.- ESTUDIOS DE TRIPLIODIZACION EN PECES Y SUS EFECTOS EN LA PRODUCCION.

Varios estudios realizados sobre los efectos de la triploidía en peces revelan que los valores de crecimiento y viabilidad postlarvaria observados en los triploides respecto de sus controles diploides, son variables según la especie. En general, el crecimiento de peces triploides dependen de factores como edad, sexo y condiciones externas (Hulata, 2001; Mori *et al.*, 2006).

La inducción de triploidía se ha realizado en numerosas especies, de las cuales la familia *Salmonidae* es la que presenta mayores estudios. En su mayoría éstos indican, que individuos triploides en comparación con diploides tienen un rendimiento igual o menor en cuanto a sobrevivencia larvaria/juvenil, talla y peso (Overturf, 2009). Algunos antecedentes desarrollados a partir de estudios sobre el efecto de la triploidía en salmónidos de importancia económica se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Antecedentes sobre el efecto de la triploidía en salmónidos de importancia comercial parte 1.

Espece	Referencias	Antecedente
<i>Salmo salar</i> (salmón atlántico)	Taylor J., Preston A., Guy D. & Migaud H. 2011	Triploides pueden tener un comportamiento similar respecto a diploides en cuanto a sobrevivencia, deformidad y rendimiento si se realiza un buen manejo en la etapa de incubación y se selecciona a los ejemplares reproductores.
	Taylor J. <i>et al</i> 2011	Los smolt triploide pueden acelerar el proceso de smoltificación mediante un manejo en el fotoperíodo. Existe un efecto en el crecimiento y la condición de los triploides dado por la descendencia o familia. Señala la necesidad de más estudios para optimizar y perfeccionar los protocolos de manejo y en general comprender mejor la fisiología de salmón triploide.
	Benfey, T. J. 2001	Identifica un similar o bajo rendimiento de sobrevivencia en etapa juvenil. En etapa adulta (cultivo en jaulas en mar) <i>Salmo salar</i> presenta un buen crecimiento, pero con bajas tasas de sobrevivencias y altas tasas de deformación mandibular. Señala que los peces triploides deberían ser tratados como una nueva especie de manera que se pueda identificar los requisitos óptimos para su cultivo.

Tabla 3. Antecedentes sobre el efecto de la triploidía en salmónidos de importancia comercial parte 2.

Especie	Referencias	Antecedente
<i>Salmo salar</i> (salmón atlántico)	Oppedal, Taranger & Hansen, 2003.	Triploides presentan un rendimiento similar o mejor que diploides (durante la etapa adulta) en condiciones de cultivo intensivas en las que se emplearon diferentes régimen de luz.
	Friars <i>et al.</i> , 2001.	Triploides presentan mayor variabilidad en parámetros de peso y talla respecto a diploides. Una mejora de la población triploide podría ser la selección de los reproductores diploides que intervienen en su reproducción.
	Johnston, Strugnell, McCracken & Johnstone, 1999	En triploides, parte del desarrollo muscular se desarrolla antes que los diploides. No se encontraron pruebas de que la triploidización afecta significativamente el tiempo de formación de los órganos.
	Benfey & Sutterlin, 1984.	Triploides y diploides no presentan diferencias en crecimiento durante la etapa juvenil, no así al llegar a etapa adulta en la cual los triploides presentan un mayor crecimiento.
<i>Oncorhynchus kisutch</i> (salmón coho)	Withler <i>et al.</i> , 1998.	Triploides y diploides no presentan diferencias en crecimiento durante la etapa juvenil, no así al llegar a etapa adulta (hasta los dos años) en la cual los triploides presentan un mayor crecimiento.
	Withler <i>et al.</i> , 1995.	Triploides y diploides no presentan diferencias en crecimiento durante la etapa juvenil.
	Johnson, Dickhoff & Utter, 1986.	Triploides y diploides no presentan diferencias en crecimiento durante la etapa adulta (hasta los tres años).
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (trucha arco iris)	Bonnet <i>et al.</i> , 1999.	En todas las etapas, el peso corporal, longitud y factor de condición fue significativamente mayor en la trucha arco iris diploide que en triploides. Esto también se observó en la trucha marrón.
	Lincoln & Scott, 1984.	Triploides y diploides no presentan diferencias en crecimiento durante la etapa juvenil, no así al llegar a etapa adulta (hasta los dos años) en la cual los triploides presentan un mayor crecimiento.

Otra de las familias de importancia económica en la cual se ha inducido la triploidía es en los peces planos (*Pleuronectiformes*). El desarrollo del cultivo de peces planos es una de las áreas de diversificación de especies en la acuicultura que está actualmente a nivel experimental en Chile, razón por la cual la evaluación de los individuos triploides, en algunas de estas especies, no está completamente indagado. No obstante, existen estudios en peces planos de importancia comercial, en los cuales se procura dar a conocer los efectos que la triploidía conlleva, principalmente relacionados con el crecimiento (Tabla 4).

Tabla 4. Antecedentes sobre el efecto de la triploidía en peces planos.

Especie	Referencias	Antecedente
<i>Paralichthys olivaceus</i> lenguado japonés (hirame)	You <i>et al.</i> , 2000.	La manipulación cromosómica de óvulos y espermios en el rendimiento de larvas de <i>Paralichthys olivaceus</i> triploides y diploides ginogenéticos no presentan diferencias en crecimiento larval.
	Tabata <i>et al.</i> , 1989.	señala que los individuos triploides presentan un crecimiento similar a su control diploide en estado juvenil y los adultos triploides crecen lentamente respecto a los adultos diploides incluso en época de desove
lenguado <i>Verasper moseri</i>	Mori <i>et al.</i> , 2006.	Describe que el crecimiento del lenguado <i>Verasper moseri</i> triploide no es mejor que los diploides, destacando que en estos casos el beneficio de la triploidía en esta especie podría estar orientados a la calidad de la carne
turbot ( <i>Scophthalmus maximus</i> )	Cal <i>et al.</i> , 2006.	Durante el primer año de vida no hay diferencias significativas de crecimiento entre triploides y diploides. Posteriormente al año, el crecimiento es significativamente mayor en triploides, siendo éstas más marcadas durante la maduración.
	Budiño <i>et al.</i> , 2006.	Las actividades de los componentes del sistema inmune innato del turbot son similares en diploides y triploides.
	Vázquez <i>et al.</i> , 2002.	Los peces diploides y triploides de turbot no presentan diferencias significativas en tasa de crecimiento (medidos en grupos de peces entre 9-39 y 6-25 meses de edad). Existe una diferencia favorable a los triploides al acercarse a la etapa de primera madurez.

La condición de triploidía puede favorecer al crecimiento en varias especies de peces planos en las que se da que la hembra alcanzan la talla comercial antes que los machos, ya que se pueden presentar proporciones sexuales desviadas a favor de las hembras al poseer dos genomas femeninos y uno masculino (Piferrer *et al.*, 2000; Felip *et al.*, 2001; Martínez, 2005). En general, en algunas especies de peces planos se ha identificado que el crecimiento en etapa juvenil no se diferencia significativamente entre triploides y diploides, pero sí al alcanzar la primera madurez (Tabata *et al.*, 1989; Vázquez *et al.*, 2002; Cal *et al.*, 2006). Al respecto se señala la posibilidad de que sea necesario

identificar cuáles son las diferencias productivas que existen en cada etapa, entre triploides y diploides, ya que como señala Benfey (1996), los peces triploides pueden tener requisitos productivos diferentes a los diploides, y estos deben ser estudiados y discutidos a fin de generar un manejo productivo óptimo.

### 3.4.- ANTECEDENTES DE LA EMPRESA

Una de las empresas productoras de turbot en Chile es Seafood Resource Chile S.A. (S.R.C.), el centro de cultivo se emplaza junto al borde costero en la Ruta 5 Norte, km. 183, Los Molles, V Región de Valparaíso (Fig. 3).



Figura 3. Ubicación de instalaciones de S.R.C. Fuentes: Google Earth y Sernatur.

El sistema de cultivo de turbot, en S.R.C., integra las etapas de producción de juveniles (hatchery), etapa de pre-engorda y engorda. De forma complementaria al cultivo, existe una planta que permite el procesamiento de la cosecha. A demás, la empresa comparte sus instalaciones con South Pacific Abalone S.A., filial productora de abalón, la cual posee su centro de cultivo en el sector sur del predio.

#### 3.4.1.- Proceso productivo

El proceso se inicia con la recepción de los ejemplares reproductivos en salas previamente acondicionadas en el sector de cría (hatchery). Cuando los reproductores están en etapa reproductiva, se procede a realizar la fertilización de los huevos en la sala de incubación. Si los huevos fecundados están en un nivel de densidad aceptable y presentan un desarrollo óptimo, con larvas aparentemente viables, estas continúan el ciclo productivo pasando a la etapa de cultivo larval, post-larval y juveniles, etapa final del proceso de cría y luego del cual los peces juveniles pasan al sector de pre-engorda, posteriormente engorda y finalmente, a procesamiento en planta, donde se obtiene el producto final (Fig. 4). Mayor detalle del proceso productivo ver anexo uno.

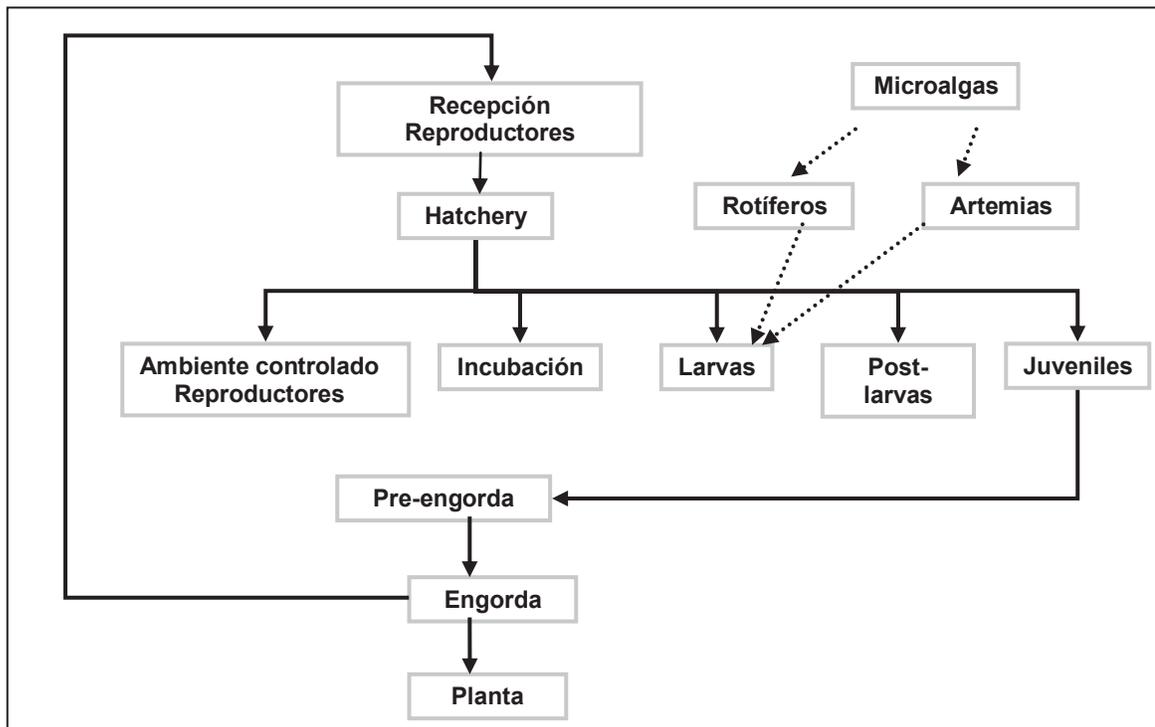


Figura 4: Proceso productivo del turbot (*S. maximus*). Fuente: S.R.C.

### 3.4.2.- Manejos y condiciones de cultivo en etapa juvenil.

Las condiciones de cultivo (tipo y volumen de los estanques, temperatura, oxígeno, iluminación y alimentación) y manejos efectuados durante la etapa juvenil son aplicados igualmente a batch triploides y diploides, los cuales se mantienen en estanques separados (Tabla 5).

Respecto a los muestreos estos se realizan desde los 45 hasta los 90 a 120 días de edad, período que corresponde a la etapa juvenil. Este consiste principalmente en el pesaje de un grupo de peces en un volumen de agua conocido. El número de peces muestreados varía de acuerdo a la talla que presenten los peces, siendo mayor para peces pequeños (100 aproximadamente en peces de un gramo) y menor para los juveniles de mayor tamaño (50 aproximadamente en peces de cinco gramos). La periodicidad con la cual se realiza el muestreo es en intervalos de cinco a siete días, contados desde el primer muestreo. El resultado obtenido del muestreo se extrapola al total de los individuos del estanque y se registra en una planilla Excel para cada batch en proceso productivo.

Tabla 5. Condiciones de cultivo etapa juvenil.

<b>Densidad de cultivo</b>	1500 individuos/m <sup>3</sup>
<b>Oxígeno</b>	85-100% saturación
<b>Temperatura</b>	20 °C
<b>No3, No-2 y NH4</b>	Control semanal
<b>Mortalidad</b>	Control diario
<b>Alimentación (manual)</b>	cada 15 a 30 minutos a saciedad
<b>Calibre alimento</b>	1,5, 2,0, 4,0 y 5,0 mm
<b>Limpieza de estanques</b>	Semanal

Fuente: S.R.C.

### 3.4.3.- Proyecto de innovación biotecnológica

En varias especies ya se ha demostrado la factibilidad de producir peces triploides en condiciones de cultivo intensivas (Cal *et al.* 2006). Seafood Resource Chile S.A. (S.R.C.) por medio de su proyecto de innovación biotecnológica “Producción comercial de triploides mediante técnicas de manipulación cromosómica, para turbot (*Scophthalmus maximus*) y abalón rojo (*Haliotis rufescens*)”, (código de proyecto innovachile de CORFO 204-4046) (CORFO, 2007), inició este tipo de cultivo con una producción de triploides que ha significado alrededor del 20% del total de los peces cosechados a preengorda por el hatchery con porcentajes de triploidía sobre el 90% y sobrevivencias aceptables, reconociendo que los peces triploides no poseen una condición sanitaria inferior a la de diploides.

El proyecto, ejecutado por S.R.C. se efectuó con el objeto de generar dos nuevos productos tales como juveniles y semillas triploides de turbot y abalón rojo respectivamente, los cuales dado sus características implican una mejora sustancial del proceso de producción, optimizando su competitividad debido a una probable baja en sus costos de producción.

Los objetivos técnicos desarrollados en el proyecto fueron formular un protocolo de inducción a la triploidía (90% eficiencia) para ambas especies, con una sobrevivencia larvaria de 60%, establecer metodologías eficientes de evaluación de ploidía e identificar los efectos de la triploidía en el crecimiento. Los resultados obtenidos permitieron desarrollar un protocolo de inducción a la triploidía en Turbot, con porcentajes de triploidía superiores al 90% y sobrevivencia relativa sobre el 80%, establecer el mejor método

identificador de ploidía y en cuanto a las diferencias en el crecimiento de individuos triploides y normales (diploides), se indica que en los batch producidos y evaluados (desde los 7 hasta los 17 meses de edad) de triploides y diploides (nueve batch triploide y dos batch diploides), se observó que los triploides demostraron un menor rendimiento al inicio, alcanzando el rendimiento del batch diploide al final de la etapa. Con esto concluye que aún es necesario hacer un seguimiento al crecimiento de individuos triploides hasta la etapa de madurez, siendo necesario evaluar cada etapa productiva, de manera que, además de identificar las diferencias en el crecimiento se pueda identificar si es necesario efectuar protocolos de manejo diferentes, apuntando a explotar al máximo los beneficios fisiológicos de los peces triploides.

## 4.- MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluó el crecimiento de turbot triploides respecto a diploides a partir de datos de muestreo de peso promedio registrados durante la etapa juvenil por la empresa Seafood Resources Chile S.A. (SRC). Con los datos y las variables disponibles se procedió a construir las bases de datos estructuradas para ser analizadas estadísticamente (dos set de datos), previo diseño del modelo estadístico a aplicar. Cabe señalar que la variable analizada corresponde al peso promedio observado en un grupo de peces de un mismo estanque y no al peso individual de cada pez.

### 4.1.- BASE DE DATOS

Se construyeron dos set de datos de muestreo de peso promedio a partir de datos otorgados por SRC. El primero de ellos corresponde a registros históricos de producción, mientras que el segundo corresponde a un ensayo experimental de batch de hermanos completos.

Respecto de los registros históricos de producción, los cuales constituyeron aproximadamente seis set de datos por año (2007, 2008 y 2009), en total se analizaron 3.617 registros correspondientes a la etapa de producción de juveniles (hatchery), con 572 registros de peso para peces triploides (T) y 3.045 para peces diploides (D) (Tabla 6).

Tabla 6. Número de observaciones de peso promedio muestreado de cada año y ploidía.

AÑO	PLOIDÍA		TOTAL
	T	D	
2007	55	1.445	1.500
2008	76	582	658
2009	441	1.018	1.459
TOTAL OBS.	572	3.045	3.617

Donde T = triploide y D = diploide.

De la base de datos histórico se identificaron seis variables de producción que podrían explicar de forma individual o combinada la variación del crecimiento en peso de los peces. Estas variables fueron año, edad, batch, ploidía, estanque y fecha de muestreo, éstas se describieron e identificaron según tipo de variable y número de observaciones (Tabla 7). Los batch se identifican según “año-mes-día” en la cual se llevó a cabo la fertilización encontrándose en el grupo de datos del 2007, 2008 y 2009 un total de 18, 10 y 20 batch respectivamente (Anexo 2). La ploidía del batch se distingue con una letra según sea triploide (T) o diploide (D). Las fechas de muestreo registradas se realizan cada siete o cinco días contados desde el último muestreo. El rango de edad al que corresponden las observaciones es de entre 39 y 135 días desde la fecundación.

Tabla 7. Descripción de las variables identificadas del set de datos históricos.

<b>Variables</b>	<b>AÑO</b>	<b>EDAD (Días)</b>	<b>BATCH</b>
<b>Tipo de variables</b>	Cuantitativa Discreto ordinal	Continua	Cualitativa, Discreta, Nominal
<b>Nº de niveles</b>	3	81	48
<b>Descripción</b>	2007, 2008 y 2009	Rango de edad entre 39-135 días.	Fecha de fecundación (año/mes/día).
<b>Variables</b>	<b>PLOIDÍA</b>	<b>ESTANQUES</b>	<b>FECHA MUESTREO.</b>
<b>Tipo de variables</b>	Cualitativa, Discreta, Nominal dicotómica	Cuantitativa, Discreto ordinal	Cualitativa, Discreto ordinal
<b>Nº de niveles</b>	2	74	135
<b>Descripción</b>	T (triploide) o D (diploide)	Enumerados del 1-56 y del 61- 78.	Para cada estanque por los tres años.

Para el análisis estadístico, se construyó una base de datos final, la cual reúne la información de los tres años en una planilla de Excel estructurada en siete columnas en las que se identifica el año, batch, ploidía, estanque, fecha de muestreo, edad y peso promedio (Fig. 5).

	A	B	C	E	F	G	H
	AÑO	BATCH	Ploidía	ESTANQUE	FECHA MUESTREO.	EDAD (Días)	PESO PROM
1							
2	2007	06-12-10	D	35	08-ene	29	0,59
3	2007	06-12-10	D	36	08-ene	29	0,58
4	2007	06-12-10	D	37	08-ene	29	0,60
5	2007	06-12-10	D	38	08-ene	29	0,62
6	2007	06-12-10	D	39	08-ene	29	0,60
7	2007	06-12-10	D	35	29-ene	50	1,40
8	2007	06-12-10	D	36	29-ene	50	1,40
9	2007	06-12-10	D	37	29-ene	50	1,70
10	2007	06-12-10	D	38	29-ene	50	1,36
11	2007	06-12-10	D	39	29-ene	50	1,61
12	2007	06-12-10	D	40	29-ene	50	1,32
13	2007	06-12-10	D	35	05-feb	57	2,1
14	2007	06-12-10	D	36	05-feb	57	2,1
15	2007	06-12-10	D	37	05-feb	57	2,3
16	2007	06-12-10	D	38	05-feb	57	1,9
17	2007	06-12-10	D	39	05-feb	57	2,4

Figura 5. Imagen de la base de datos histórica final presentada en planilla Excel.

Respecto del ensayo experimental de grupos de hermanos completos realizado en el año 2010, cabe señalar que hubo tres intentos de fertilización, buscando obtener una sobrevivencia larval aceptable (80%). Las fertilizaciones se efectuaron los días 15, 21 y 24 de agosto, de las cuales la última fue aprobada, generando un batch (10/08/30) con una sobrevivencia del 80% de larvas viables (Tabla 8). Del batch 10/08/30, se obtuvo un total de 28 observaciones de peso promedio medidos entre los meses de octubre y diciembre, con peces entre los 40 y 100 días de edad (Fig. 6).

Tabla 8. Antecedentes del ensayo experimental de grupos de hermanos completos.

	<b>Inicio de la prueba</b>	<b>% Sobrevivencia</b>	<b>Evaluación</b>
<b>Ensayos</b>	Primer (15/08/2010)	70%	Rechazada
	Segundo (21/08/2010)	50%	Rechazada
	<b>Tercer (24/08/2010)</b>	<b>80%</b>	<b>Aprobada</b>

	C	D	E	F	G
	<b>Ploidía</b>	<b>ESTANQUE</b>	<b>FECHA MUESTREO.</b>	<b>EDAD (Días)</b>	<b>PESO PROM</b>
1					
2	D	49	09-oct	40	0.6
3	D	51	09-oct	40	0.8
4	D	49	19-oct	50	1.1
5	D	51	19-oct	50	1.3
6	D	49	03-nov	65	2.4
7	D	51	03-nov	65	2.9
8	D	49	08-nov	70	3.3
9	D	51	08-nov	70	4.2
10	D	1	18-nov	80	5.4
11	D	2	18-nov	80	5.1
12	D	1	28-nov	90	9.6
13	D	2	28-nov	90	8.4
14	D	1	08-dic	100	11.5
15	D	2	08-dic	100	10
16	T	45	09-oct	40	0.5
17	T	47	09-oct	40	0.5
18	T	45	19-oct	50	0.8
19	T	47	19-oct	50	1.1
20	T	45	03-nov	65	1.8
21	T	47	03-nov	65	2.5
22	T	45	08-nov	70	2.4
23	T	47	08-nov	70	3.4
24	T	3	18-nov	80	4.8
25	T	4	18-nov	80	3.7
26	T	3	28-nov	90	8.9
27	T	4	28-nov	90	6.8
28	T	3	08-dic	100	11.5
29	T	4	08-dic	100	10

Figura 6. Imagen de la base de datos final del ensayo experimental de grupos de hermanos completos realizado en el año 2010 presentada en planilla Excel.

Los parámetros temperatura y oxígeno, durante el ensayo experimental fueron medidos diariamente con el objeto de registrar la condición de cultivo (Anexo 2).

## 4.2 ANALISIS ESTADÍSTICO.

Para identificar el efecto que tienen las variables y sus interacciones sobre el peso, se aplicó un modelo lineal generalizado (SAS, Statistical Analysis Systems Institute Inc., 2002) diferente para cada grupo de datos. De forma complementaria, al grupo de datos del ensayo, se le realizó un análisis aplicando la fórmula empleada por Vázquez *et al* (2002) para calcular la tasa de crecimiento (TC).

$$TC = [(ln pT - ln pt) / (T - t)] * 100$$

Donde:

pT y pt representan los pesos medios en los muestreos efectuados en los tiempos final (T) e inicial (t) y (T - t) es la diferencia de días transcurridos entre ambos controles.

Cabe señalar que en el análisis de datos por SAS, el batch se identifica con una denominación diferente, siendo esta “mes (año)”.

### 4.2.1 Modelo estadístico datos históricos

$$W_{ijkl} = \mu + A_i + B(A)_j + P_k + b_e E_l + PE_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

$W_{ijkl}$ : Representa el peso promedio de los peces muestreados en el estanque.;  $\mu$ : Media general de las observaciones;  $A_i$ : Efecto del año;  $B(A)_j$ : Efecto del batch dentro de año;  $P_k$ : Efecto de la ploidía;  $E_l$ : Efecto de la edad;  $b_e$ : Representa el coeficiente de regresión de w sobre E;  $PE_{kl}$ : Efecto de la interacción ploidía (P) edad (E) y  $\varepsilon_{ijkl}$ : Representa el error experimental.

### 4.2.2 Modelo estadístico datos ensayo grupo de hermanos completos de un mismo batch

$$W_{ij} = \mu + P_i + b_e E_j + PE_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$W_{ij}$ : Representa el peso promedio de los peces muestreados en el estanque.;  $\mu$ : Media general de las observaciones;  $P_i$ : Efecto de la ploidía;  $E_j$ : Efecto de la edad;  $b_e$ : Representa el coeficiente de regresión de w sobre E;  $PE_{ij}$ : Efecto de la interacción ploidía P y edad E y  $\varepsilon_{ij}$ : Representa el error experimental.

### 4.2.3 Definición de hipótesis de trabajo (H0).

**H0:  $PT \geq PD$** ; el peso promedio de triploides es mayor o igual al de peces diploides (PT=peso promedio triploide; PD = peso promedio diploide).

Sea Ho: “La condición de triploidía de peces turbot (*Scophthalmus maximus*), genera diferencias favorables en el peso promedio respecto a individuos diploide”.

## 5.- RESULTADOS

### 5.1.- ANÁLISIS DEL MODELO ESTADÍSTICO

Los resultados arrojados mediante el procedimiento de Análisis General Lineal (GLM) efectuado mediante el programa computacional SAS indican que ambos modelos, de datos históricos y ensayo, explican gran parte de la variación de peso observado, con un 85% y un 88% respectivamente. Entre cada grupo de datos analizados se observan diferencias en los resultados que se atribuyen principalmente a la cantidad de variables y datos observados.

#### 5.1.1.-Datos históricos

El análisis estadístico de los datos históricos indicó que la variabilidad del peso alrededor del promedio depende significativamente de los efectos del año, el batch, ploidía y de la interacción edad\*ploidía (Tabla 9).

Tabla 9. Niveles de significación del efecto de los factores del modelo para datos históricos, utilizando procedimiento GLM del software SAS.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Año	2	860,938	430,469	233,36	<,0001
mes(año)	17	3303,664	194,333	105,35	<,0001
Ploidia	1	196,315	196,315	106,42	<,0001
edad*ploidia	2	26705,918	13352,959	7238,73	<.0001

Los pesos medios del efecto año fueron significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ) con una media observada para los años 2007, 2008 y 2009 de 3,68, 4,69 y 5,59 gramos respectivamente (Fig.7). De igual forma ocurre al observar los pesos medios de cada ploidía, con una media de  $4,90 \pm 0,071$  gramos en diploides y  $4,41 \pm 0,038$  gramos en triploides (Fig. 6).

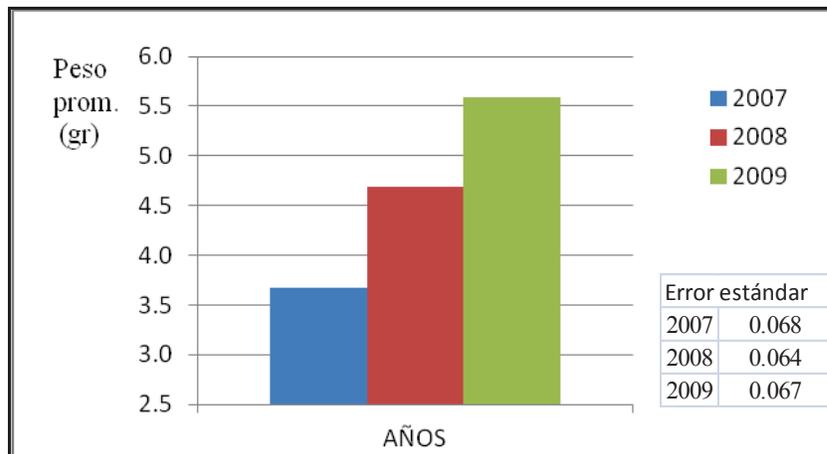


Figura 7. Estimación de mínimos cuadrados del peso promedio (LSMEAN) del efecto año.

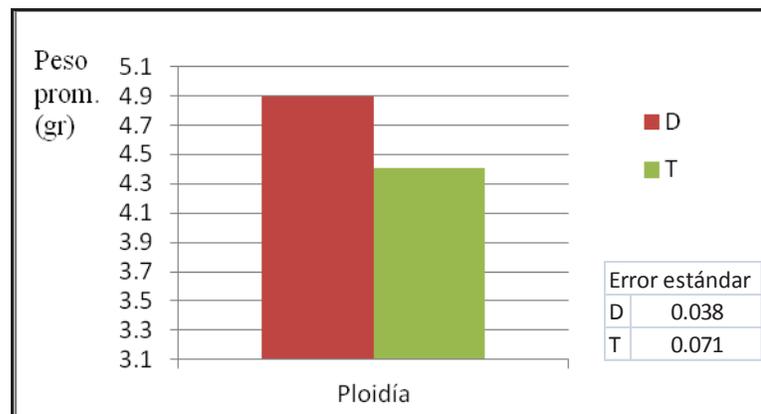


Figura 8. Estimación de mínimos cuadrados del peso promedio (LSMEAN) de efecto ploidías.

Los valores de crecimiento en peso observados en el análisis GLM para cada ploidía en interacción con la edad, indican que estas presentan una pendiente positiva, significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,001$ ) de acuerdo al contraste de homogeneidad. El estimado del parámetro edad\*ploidia D (diploide) y T (triploide) es de 0,16 y 0,19 respectivamente. El batch (mes (año)) tiene un efecto significativo si estos corresponden a los meses más cálidos (diciembre, enero y febrero) (Anexo 4).

### 5.1.2 Datos ensayo grupo de hermanos completos de un mismo batch

No se encontró efecto significativo de la ploidía y de la interacción edad\*ploidia sobre el peso. El análisis estadístico arrojó que la variabilidad del peso alrededor del promedio depende significativamente del efecto edad ( $p < 0,001$ ) (Tabla 10).

Tabla 10. Niveles de significación del efecto de los factores del modelo para datos de ensayo, utilizando procedimiento GLM del software SAS.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
ploidia	1	0,009	0,009	0,01	0,9431
Edad	1	317,299	317,299	190,46	<,0001
edad*ploidia	1	0,102	0,102	0,06	0,8065

Los pesos medios observados, del análisis GLM para cada ploidía, son significativamente diferente de cero, con valores que se consideran cercanos y que son de 4,76 gr. en diploides y 4,19 gr. en triploides, con un error estándar de 0,34 para cada ploidía. Los valores de crecimiento de los pesos promedios observados en el análisis GLM, en el contraste de homogeneidad de las pendientes, para cada ploidía en interacción con la edad, indicaron que estas presentan una pendiente positiva y similar, (no se encontraron diferencias significativas) (anexo 4).

Al graficar los pesos promedio observados para cada edad en las diferentes ploidías se tiene que el comportamiento en cuanto a crecimiento es muy similar diferenciándose principalmente en el valor de los peso al inicio y al final del ensayo (Fig.9). El efecto de la ploidía en peces hermanos, en este caso, no es significativo y esto se puede deber a que estadísticamente los datos no son representativos (insuficientes datos y el valor del peso promedio entregan un enfoque muy general). Al analizar los datos aplicando la fórmula de tasa de crecimiento es posible distinguir las diferencias que existen entre ambas ploidías. La tasa de crecimiento en triploides es superior que en diploides (Tabla 11). Con los datos analizados no es posible detectar algún efecto sobre el crecimiento dado por la condición de hermanos completos.

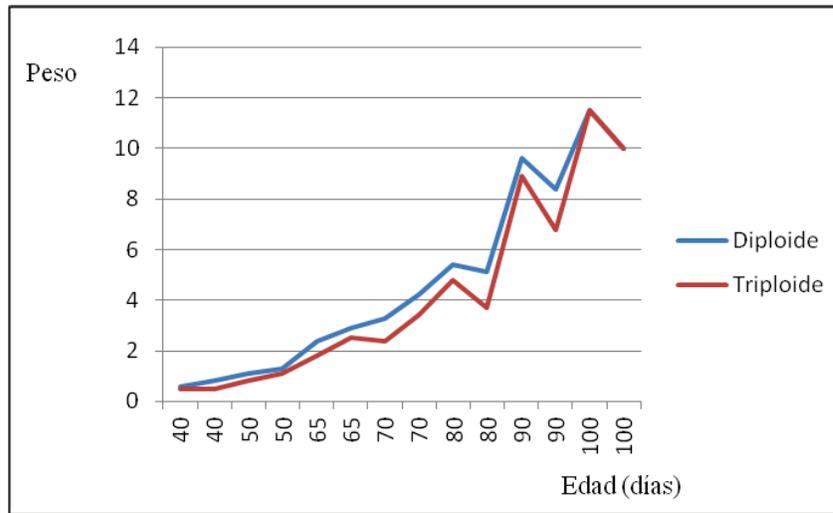


Figura 9. Peso promedio por edad para cada ploidía para los datos del ensayo realizado en el año 2010.

Tabla 11. Tasa de crecimiento observado durante el ensayo.

<b>Ploidía</b>	<b>Peso inicial (gr.)</b>	<b>Peso final (gr.)</b>	<b>Tasa de crecimiento</b>
Diploides	0,7	10,75	4,55
Triploides	0,5	10,75	5,11
<b>Tasa de crecimiento por período</b>			
<b>Rango Edad (días)</b>	<b>Diploide</b>	<b>Triploide</b>	
40-50	5,390	<	6,419
50-65	5,282	<	5,445
65-70	6,944	>	5,985
70-80	3,365	<	3,822
80-90	5,390	<	6,136
90-100	1,777	<	3,144

## 6.- DISCUSIÓN

La poliploidización como herramienta productiva en la acuicultura requiere de mayor desarrollo de antecedentes que permitan evidenciar los cambios que se logran al emplearla, principalmente en el cultivo de nuevas especies. De esta forma en el presente estudio se exponen análisis estadísticos de datos de peso de turbot (*S. Maximus*) triploides y diploides registrados por SRC durante la etapa de cultivo juvenil (bajo condiciones controladas y en sistema cerrado de recirculación de agua de mar).

Respecto a los análisis, en los datos históricos, es preciso indicar que las variables del modelo tienen un efecto sobre la variable peso sin haber correlación significativa entre éstas y que el análisis realizado a estos datos permitieron generar un resultado con un error mínimo, al considerar el efecto de todas las variables sobre la variable dependiente peso y al proporcionar un número de observaciones no depreciable (3.617 observaciones). El grupo de datos del ensayo, por el contrario, deja fuera el efecto de otras variables. Es decir, el análisis considera principalmente al efecto de la ploidía, con un número de observaciones menor (28 observaciones), lo cual consecuentemente arrojó resultados, del análisis estadístico, diferentes respecto a los obtenidos de los datos históricos, principalmente en la falta de explicación del efecto de la interacción edad x ploidía. Sin embargo, al emplear la fórmula de tasa de crecimiento (TC) se pudo observar la similitud de los resultados obtenidos en ambos grupos.

En el grupo de datos histórico el análisis del efecto año, permite suponer que en el crecimiento de los peces existe un efecto dado por probables mejoras en el manejo de factores incidentes en el proceso productivo o por otras variantes existentes entre los años (*e.g.* temperatura), ya que se observa un aumento progresivo del peso medio entre los años 2007, 2008 y 2009 con 3,68, 4,69 y 5,59 gramos respectivamente. Otro efecto que puede ser considerado en el crecimiento es la estacionalidad de los batch producidos, ya que durante los meses más cálidos (diciembre, enero y febrero) existen efectos estadísticamente significativos en el peso, pues la temperatura del agua es un factor importante en el crecimiento de los peces con rangos óptimos que pueden variar según el origen y talla (Brett & Groves, 1979; Corey *et al.*, 1983; Van Ham *et al.*, 2003).

Respecto al peso promedio observado, el análisis de los datos indicó que los turbot triploides durante la etapa juvenil no presentan un aumento de éste bajo condiciones productivas. Sin embargo, los estimados (pendientes) observados de la interacción edad x ploidia del grupo de datos históricos (0,16 en diploide y 0,19 en triploide) y la tasa de crecimiento (TC) determinada en el grupo de datos del ensayo (TC triploide = 5,11; TC diploide = 4,55), demuestran que los triploides, los cuales inicialmente están en un peso menor, alcanzarían el peso de los diploides a medida que aumentan de edad (al final de la etapa), reconociendo que a mayor edad los turbot triploides alcanzarían a sus pares diploides, concordando con lo señalado por otros autores respecto al hirame (*Paralichthys*

*olivaceus*) (Tabata *et al.*, 1989) y el lenguado (*Verasper moseri*) (Mori *et al.*, 2006), coincidiendo además, por lo señalado por Vázquez *et al.*, (2002) y Cal *et al.*, (2006) respecto a que existe una diferencia de crecimiento favorable a los turbot triploides a mayor edad. Sin embargo, ellos especifican que esta diferencia es notoria sólo al acercarse a la etapa de primera madurez, lo cual se difiere, ya que, esta tendencia favorable a los turbot triploides es observada también en la etapa juvenil con peces de hasta 120 días de edad y peso promedio que bordea los 18 gramos.

Como muestran los resultados y varios estudios realizados sobre crecimiento en peces triploides es notable que en algunas especies no exista una diferencia significativa favorable del peso en triploides respecto a diploides. El beneficio de producir triploides en estos casos se puede deber principalmente a la condición fisiológica que estos alcanzan al acercarse la talla de madurez sexual, pues al ser estériles no se evidencia la condición post-reproductora señalada por Cal *et al.*, (2006), permitiría retrasar las cosechas y consecuentemente obtener mayores tallas (Cal *et al.* 2005).

## 7.- CONCLUSIÓN

La evaluación del crecimiento de peces triploides y diploides de turbot (*S. maximus*) realizada sobre el grupo de datos históricos y del ensayo con hermanos completos, durante la etapa juvenil en condiciones de cultivo, muestran que el crecimiento en peso de peces triploides es menor respecto a los diploides. Es decir, la condición de triploidía de peces turbot no genera diferencias favorables en el peso promedio respecto a individuos diploide durante la etapa juvenil.

## 8.- REFERENCIAS

- Alvial, A. 1994.** “Turbot y Abalón” Aquanoticias internacional Chile. No 22 ed. Fundación Chile. pp: 34-40.
- Alvial A. & J. Manríquez. 1999.** Diversification of flatfish culture in Chile. *Aquaculture*, 176: 65–73.
- Avşar D. 1999.** Identification of turbot (*Scophthalmus maximus*) stock along the Turkish Black Sea coast. *Turk J Zool*, 23:207-213.
- Benfey, T. J. 2001.** Use of sterile triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) for aquaculture in New Brunswick, Canada. *ICES Journal of Marine Science*, 58:525–529.  
[icesjms.oxfordjournals.org/cgi/reprint/58/2/525.pdf]
- Benfey, T.J. 1999.** The physiology and behavior of triploid fishes. *Rev. Fish. Sci.*, 7:39–67.
- Benfey, T. J. 1996.** Use of all-female and triploid salmonids for aquaculture in Canada. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*, 96(2): 6–8.
- Benfey T. & A. Sutterlin. 1984.** Growth and gonadal development in triploid landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41:1387-1392.
- Bonnet S., P. Haffray, J. M. Blanc, F. Vallée, C. Vauchez, A. Fauré & B. Fauconneau. 1999.** Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seawater brown trout (*Salmo trutta*). *Aquaculture*, 173: 359–375.
- Brett, J.R. & T.D.D. Groves. 1979.** Physiological energetics. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J.R. (ed.). *Bioenergetics and Growth. Fish Physiology*. Academic Press, Londres, (8) pp. 599– 675.
- Budiño B., R. M. Cal, M. C. Piazzon & J. Lamas. 2006.** The activity of several components of the innate immune system in diploid and triploid turbot. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 145 (A): 108–113.
- Burel C., P. Person-Le Ruyet, F. Gaumet, A. Le Roux, A. Severe, G. Boeuf. 1996.** Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. *J. Fish Biol.*, 49: 678-692.
- Cal R.M., S. Vidal, T. Camacho, F. Piferrer & F. J. Guitian. 2005.** Effect of triploidy on turbot haematology. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 141 (A): 35–41.

**Cal R.M., S. Vidal, C. Gómez, B. Álvarez-Blázquez, P. Martínez & F. Piferrer, 2006.** Growth and gonadal development in diploid and triploid turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 251: 99-108.

**Chimbore C. 2007.** “Cultivo de turbot (*Scophthalmus Maximus*). [[www.aquahoy.com](http://www.aquahoy.com)]. Revisado: 10 Marzo 2009.

**Corey P.D., D. A. Leith, M. J. English. 1983.** A growth model for coho salmon including effects of varying ration allotments and temperature. *Aquaculture*, 30:125–143.

**CORFO, 2007.** “Producción comercial de triploides mediante técnicas de manipulación cromosómica, para Turbot (*Scophthalmus maximus*) y Abalón rojo (*Haliotis rufescens*)”, Proyecto de innovación biotecnológica. Código de proyecto 204-4046. Entidad beneficiaria y ejecutora: Seafood Resources Chile S.A, Chile, pp. 28-40.

**Coll J. 1986.** Acuicultura marina animal. 2da. edición. Mundi Prensa (ed.). Madrid. 629 p.

**Díaz N. & R. Neira. 2005.** Biotecnología Aplicada a la Acuicultura I. Biotecnologías clásicas aplicadas a la reproducción de especies cultivadas. *Cien. Inv. Agr.* 32(1): 45-59 [[www.rcia.puc.cl/Espanol/pdf/32-1/Biotecnologia.pdf](http://www.rcia.puc.cl/Espanol/pdf/32-1/Biotecnologia.pdf)] Revisado: 10 Marzo 2009.

**Erich H. Van Hama, M. Berntssen, A. Inslan, A. Parpoura, S. W. Bonga, S. O. Stefansson. 2003.** The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 217:547–558.

**FAO, 2009.** Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. “Cultivo de turbot”. Nd. [[www.FAO.org](http://www.FAO.org)].

**Felip A., S. Zanuy, M. Carrillo & F. Piferrer. 2001.** Induction of triploidy and gynogenesis in teleost fish with emphasis on marine species. *Genética*, 111: 175-195.

**Forés R., J. Iglesias, M. Olmedo, F. J. Sánchez & J. B. Peleteiro. 1988.** Induction of spawning in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) by sudden change in photoperiod. *Aquacult. Engineer*, 9: 357-366.

**Friars G., I. McMillan, M. Quinton, F. O’Flynn, A. McGeachy & T. Benfey. 2001.** Family differences in relative growth of diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 192: 23–29.

**Hulata, G. 2001.** Genetic manipulations in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. *Genética*, 111: 155-173.

**Imsland, A.K., L.M. Sunde, A. Folkvord, S.O. Stefansson. 1996.** The interaction between temperature and size on growth of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* Rafinesque). *J. Fish Biol.*, 49: 926–940.

**Johnston I., G. Strugnell, M. McCracken & R. Johnstone. 1999.** Muscle growth and development in normal-sex-ratio and all female diploid and triploid Atlantic salmon. *The Journal of Experimental Biology*, 202: 1991–2016.

**Johnson, O. W., W. Dickhoff & F. Utter. 1986.** Comparative growth and development in diploid and triploid coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, 57: 319-336.

**Lincoln, R.F., & A. P. Scott, 1984.** Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 25: 385-392.

**Martínez P. 2005.** Aplicaciones de la genética para la mejora de la acuicultura Bol. Inst. Esp. Oceanogr., 21 (1-4): 225-238.

**Medas. 2004.** Manual de producción del rodaballo. Proyecto Medas 21. Medidas contra la exclusión y el desempleo en áreas litorales. Equal. (ed.) tomo I. Universidad Politécnica de Madrid. 43p. [www.medas21.com]

**Menu, B. & J. Person .1991.** Cultivo de peces planos: lenguado, rodaballo: “Fase de criadero y engorde” *Aquaculture*, Gilbert Barnabé. Omega S. A. (ed.). Barcelona - España. (2) pp: 625-642.

**Mori, T., S. Saito, C. Kishioka, & K. Arai. 2006.** Aquaculture performance of triploid barfin flounder *Verasper Moseri*. *Fisheries Science*, 72(2): 270-277.

**Oppedal F., G. Taranger & T. Hansen. 2003.** Growth performance and sexual maturation in diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) in seawater tanks exposed to continuous light or simulated natural photoperiod. *Aquaculture*, 215:145–162

**Overturf K., 2009.** Molecular research in aquaculture. John Wiley and Sons, 395pp.

**Piferrer F., R. Felip & R. M. Cal. 2007.** Inducción de la triploidía y la ginogénesis para la obtención de peces estériles y poblaciones monosexo en acuicultura. *Genética y Genómica en la Acuicultura. Publicaciones científicas y tecnológicas del Observatorio Español de Acuicultura.* Madrid. 401-471 890 pp

**Piferrer F., R. M. Cal, B. Álvarez-Blázquez, L. Sánchez & P. Martínez. 2000.** Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*) I. Ploidy determination and the effects of cold shocks. *Aquaculture*, 188: 79–90. [www.elsevier.nl/locateraqua-online].

**Şahin T. & E. Güneş. 2011.** A preliminary study on population characteristics of turbot, *Psetta maxima*, in the Eastern Black Sea, Turkey. *Turk J Sci Tech*, 6(1):1-9.

**Sánchez-Molano E., A. Cerna, M. Toro, C. Bouza, M. Hermida, B. Pardo, S. Cabaleiro, J. Fernández & P. Martínez. 2011.** Detection of growth-related QTL in turbot (*Scophthalmus maximus*). BMC Genomics, 12:473.

**Sernatur.** Servicio nacional de turismo. nd. Mapa quinta región, Los molles. [www.sernatur.cl].

**S.R.C.** Seafood Resource S.A. Nd. [www.seafood.cl].

**Tabata K, S. Gorie & Y. Kawamura. 1989.** Growth, survival and maturation in the induced triploid hirame *Paralichthys olivaceus*. Suisanzoshoku, 36: 267-276.

**Taylor J., A. Preston, D. Guy & H. Migaud. 2011.** Ploidy effects on hatchery survival, deformities, and performance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 315: 61–68.

**Taylor J., E. Leclercq, A. Preston, D. Guy & H. Migaud. 2011.** Parr–smolt transformation in out-of-season triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). AQUA-629474, pp 9.

**Thorpe, J. E., 2004.** Life history responses of fishes to culture. J. Fish Biol., 65 (A): 263-285.

**Vázquez E., C. Fernández-Pato, C. Martínez-Tapia, G. Blanco & J. A. Sánchez Prado. 1998.** Triploid induction in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) using temperature shocks. Spec. Publ. Eur. Aquac. Soc., 26: 268-269.

**Vázquez E., C. Fernández-Pato, C. Martínez-Tapia, G. Blanco & J. A. Sánchez Prado. 2002.** Evolución de las tasas de crecimiento en individuos diploides y triploides de rodaballo *Scophthalmus maximus* (L., 1758). Bol. Inst. Esp. Oceanogr., 18 (1-4): 239-243.

**Withler R., T. Beacham, I. Solar & E. Donaldson. 1995.** Freshwater growth, smolting, and marine survival and growth of diploid and triploid coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture, 136: 91-107.

**Withler R., W. Craig, J. Blackburn & I. Baker. 1998.** Effect of triploidy on growth and survival of pre-smolt and post-smolt coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture, 168: 413-422.

**You F., L. Jing, W. Xin-Cheng, X. Yong-Li, H. Rui-Dong & Z. Pei-Jun. 2000.** Study on embryonic development and early growth of triploid and gynogenetic diploid left-eyed flounder, *Paralichthys olivaceus* (T. et S.). Chinese Journal of Oceanology and Limnology, Issue 2 (19) pp.147-151.

## ANEXO 1

### **S.R.C.: CULTIVO EN HATCHERY**

El área de Hatchery, con una capacidad anual de más de 1.000.000 de juveniles, está compuesta por sectores complementarios al cultivo, las que corresponden a salas de microalgas, rotíferos y artemias; y los sectores primarios que comprenden a las secciones de reproductores, incubación, larvas, post-larvas y juveniles.

#### Reproductores

Los reproductores son provenientes del Mar del Norte y algunos producidos en la piscicultura. Los stocks de reproductores potenciales deben renovarse en forma regular. Los reproductores son confinados en salas acondicionadas en foto y termo período, permitiendo controlar los estados de madurez de los ejemplares.

La densidad por estanque es de 3 a 10 kg/m<sup>3</sup> Aquí se considera las condiciones templadas de temperatura, salinidad, pH del agua de mar, iluminación (intensidad, cantidad y calidad de luz) y el régimen alimentario estricto.

La dieta se basa en alimento elaborado a partir de pescado fresco o congelado como jurel, sardina y anchoveta entre otros, harina de pescado, aceites esenciales, vitaminas y minerales. La alimentación es diaria de forma manual procurando entregar el alimento a saciedad, lo cual varía según el estado reproductivo.

#### Incubación

En esta sección se realiza la fecundación e incubación. La fecundación es realizada en acuarios luego de la extracción manual de los gametos masculinos y femeninos, por medio de masaje ventral de los reproductores. La fecundación puede ser normal o triploide, de acuerdo con los requerimientos de la empresa. La triploidía es obtenida por la técnica de shock térmico con temperaturas entre 0° C y -1°C.

Los ovocitos aptos para la fecundación son traslúcidos con un diámetro de entre 1 y 1,5 mm, y flotan gracias a la presencia de una gota de aceite. La esperma dispuesta para la fertilización, a la vista, debe ser poco diluida y la motilidad de los espermios debe ser comprobada por observación microscópica por la persona a cargo.

La densidad promedio del cultivo es de 2.000 huevos/L. Con una temperatura entre 13 a 16° C. Luego de realizada la fecundación los huevos viables son transportados a las incubadoras previamente acondicionadas con agua en calidad óptima, por seis a ocho días.

#### Crianza Larval

Las larvas al eclosionar miden entre dos a cuatro mm, se mantienen en la superficie del agua y tienen un peso aproximado de 0,3 mg. Se siembran a una densidad aproximada de 5.000 a 6.000 larvas/m<sup>3</sup> a una temperatura que está entre los 20 a 22° C.

Al transcurrir dos días los peces ya han desarrollado los mecanismos necesarios para empezar la alimentación exógena. Es en esta etapa que se inicia la alimentación en pequeñas dosis de rotíferos. A medida que crecen y desarrollan la habilidad para alimentarse se les entrega como alimento nauplios y metanauplios de Artemia.

#### Post-larva

A los 25 días aproximadamente los peces pasan a la etapa de post-larva. En esta etapa los peces miden entre uno a tres cm. La densidad del cultivo en esta etapa es de 2.000 a 4.000 individuos / m<sup>3</sup>. El alimento entregado es pellet comercial de calibre entre 0,3 y 0,8 mm.

#### Sección Rotíferos

EL cultivo de rotíferos se realiza de forma complementaria, permitiendo proveer de alimento a las larvas. Las especies cultivadas son *Brachionus rotundiformis* o *B. plicatilis*.

Necesita de un control de salinidad y temperatura riguroso (25° C aproximadamente). Son alimentados con levaduras y microalgas (*Nannochloris sp.*). Además, son enriquecidos con el objetivo de incrementar el valor nutritivo suministrado a las larvas.

#### Sección Microalgas

La especie utilizada como alimento para artemias y rotíferos es *Nannochloris sp.*. Su cultivo se inicia manteniendo un control sobre la luz y el manejo, evitando la contaminación del medio.

#### Sección Artemias

En la sala de artemias hay dos tipos de estanques, el de eclosión se mantiene a una temperatura entre 29 y 30°C y el de nauplios, que se encuentra a una temperatura entre 23 y 25° C.

#### Juvenil

Cerca de los 45 días pasan al sector juvenil peces previamente seleccionados por tamaño y apariencia. Luego estos se reparten homogéneamente de acuerdo al batch que corresponda, a los estanques previamente acondicionados para su recepción (los batch no se mezclan).

La densidad de cultivo es de aproximadamente 1.500 individuos / m<sup>3</sup> y la temperatura bordea los 20° C. Los peces son alimentados manualmente con pellet en lapsos de 15 a 30 minutos a saciedad. Al llegar a un peso de 8 a 10 gm, lo cual ocurre a los 90 días de edad aproximadamente, los peces pasan al sector de pre-engorda.

## **PRE-ENGORDA**

El pre-engorde es la fase del proceso productivo intermedia entre la cría y el engorde. Se realiza en instalaciones situadas en tierra, próximas a la costa. Las condiciones de cultivo son similares a la engorda. La alimentación es manual a saciedad y depende del apetito de los peces, el cual varía según la estación del año y estado reproductivo. Al finalizar el proceso de pre-engorda, los turbots han alcanzado un peso aproximado de 900 gr pasando al sector de engorda donde los peces llegaran al peso comercial.

## **ENGORDA**

El engorde abarca desde el tamaño de recepción hasta que alcanza el tamaño de cosecha el que se encuentra entre los 0,5 hasta los cuatro kg aproximadamente. Su tasa de crecimiento varía entre 8 a 12% mensual y su factor de conversión varía entre 0,9 a 1,5.

## **PLANTA**

Los peces cosechados son transportados en bins con hielo escama a bajas densidades. El proceso de transformación es realizado en la planta, dependiendo de los productos requeridos por el mercado. La planta permite mantener un control estricto de las normas sanitarias, asegurando la condición de envío del producto.

## **DESCRIPCIÓN DE LA INFRAESTRUCTURA: HATCHERY**

El área Hatchery está dividido en ocho sectores: reproductores, incubación, larvas, post-larvas, juveniles, rotíferos, artemias y microalgas. Los reproductores se encuentran en salas de ambiente controlado, en estanques cuadrados de 16 x 16 x 0,8 m. Junto a estas, se encuentra la sala de incubación con estanques negros cilindro-cónicos de 90 litros aproximadamente. Estas dos secciones se encuentran con un suministro de agua proveniente de un sistema de recirculación.

Los sectores larvas, post-larvas y juveniles se encuentran en un mismo espacio. En el sector larvas se encuentran estanques circulares negros, para facilitar la captura del alimento, con una capacidad de 4000 litros aproximadamente, mantenido por un sistema de circulación abierto de caudal bajo, sin flujo. Las post-larvas son mantenidas en estanques verdes cuadrados de 2 x 2 x 0,3 m. El sistema de circulación se comparte con el de larvas, con la diferencia que en estos hay un flujo mayor y continuo. La sección de juveniles posee un sistema de recirculación que funciona exclusivamente para esta sección y los estanques son de las mismas características que el de post-larvas.

Cada sector posee las instalaciones necesarias para su funcionamiento, de acuerdo a los parámetros de cultivo, de mantención y requerimientos sanitarios. A demás, el hatchery cuenta con un laboratorio para análisis patológico equipado.

## ANEXO 2

Tabla: Batch observados por año.

AÑOS	BATCH (año/mes/día)						N° Batch/año
2007	07-01-11	07-03-14	07-04-16	07-04-22	07-04-27	07-04-28	18
	07-06-17	07-06-18	07-06-25	07-08-19	07-08-26	07-09-03	
	07-09-04	06-12-10	06-12-11	06-12-20	06-12-21	06-12-25	
2008	08-02-28	08-05-02	08-05-05	08-07-08	08-08-23	08-08-26	10
	08-10-11	08-10-12	08-10-15	07-12-22			
2009	09-02-04	09-02-07	09-02-10	09-02-21	09-04-08	09-06-15	20
	09-06-07	09-06-26	09-08-17	09-08-25	09-08-26	09-10-10	
	09-10-19	09-10-22	09-11-02	08-12-06	08-12-18	08-12-22	
	08-12-25	08-12-31					
<b>TOTAL</b>							<b>48</b>

### ANEXO 3

Temperatura y oxígeno medido durante la prueba para el batch 10/08/30. El oxígeno observado se mantuvo entre el 100-120% de saturación durante las etapas evaluadas en hatchery (larvas, post-larvas y juveniles). La temperatura de igual forma se mantuvo principalmente entorno a los 20°C.

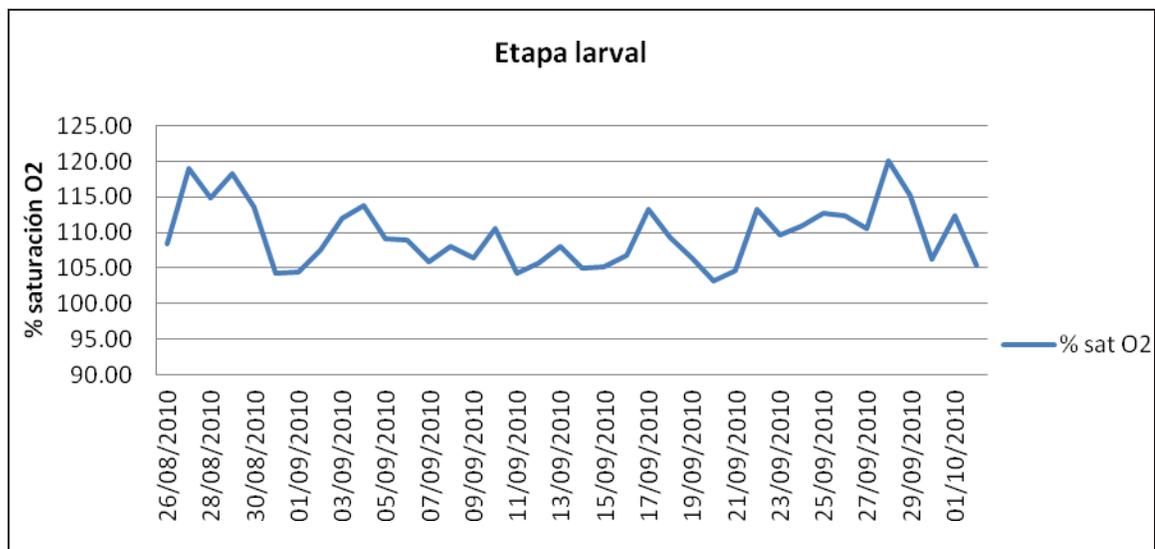


Figura. Porcentaje de saturación de oxígeno observado durante la etapa larval.

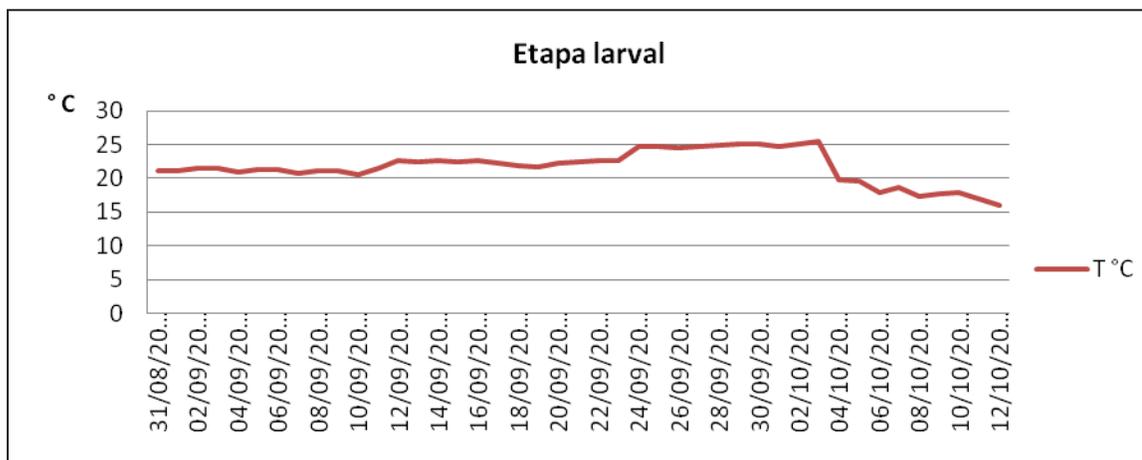


Figura. Temperatura (°C) observada durante la etapa larval.

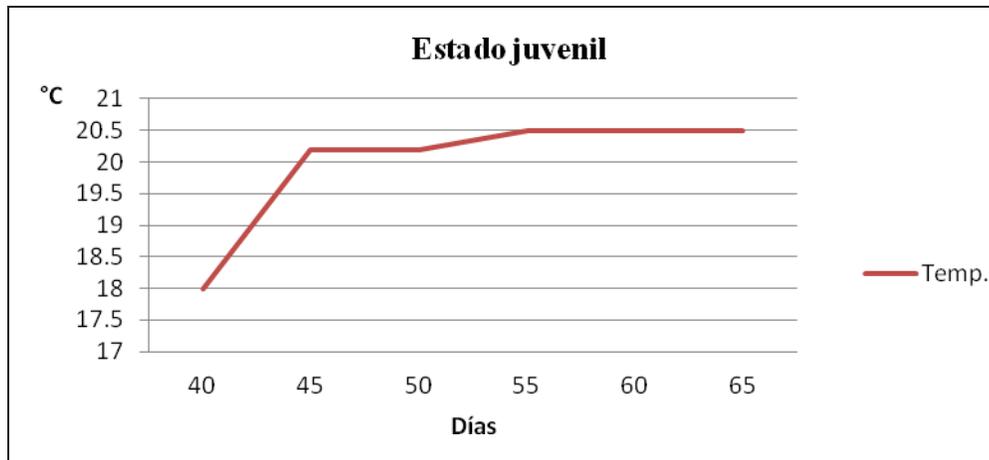


Figura. Temperatura (°C) observada durante la etapa juvenil.

## ANEXO 4

Resultados arrojados del análisis GLM por medio del software SAS (Statistical Analysis Systems) del análisis de los datos históricos y de ensayo 2010:

**Tabla.** Test de homogeneidad de pendientes de la interacción edadxploidia datos históricos.

Contraste	DF	Contraste SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
<b>Test homogeneidad de pendientes</b>	1	157,4	157,4	85,34	<,0001

**Tabla.** Análisis GLM de los parámetros edad\*ploidia y batch.

Parámetro	Estimado	Error estandar	Valor t	Pr >  t
<b>edad*ploidia D</b>	<b>0,16</b>	0,0015	107,01	<,0001
<b>edad*ploidia T</b>	<b>0,19</b>	0,0032	59,02	<,0001
<b>mes(ano) 1 2007</b>	3,05	0,2397	8,57	<,0001
<b>mes(ano) 12 2007</b>	2,8	0,227	12,36	<,0001
<b>mes(ano) 12 2008</b>	-0,95	0,1911	-4,98	<,0001
<b>mes(ano) 2 2008</b>	-1,39	0,1882	-7,4	<,0001
<b>mes(ano) 12 2009</b>	1,75	0,1251	13,96	<,0001
<b>mes(ano) 2 2009</b>	0,74	0,1026	7,2	<,0001

**Tabla.** Test de homogeneidad de pendientes de la interacción edadxploidia datos ensayo 2010.

Contraste	DF	Contraste SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
<b>Test homogeneidad de pendientes</b>	1	0.102	0.102	0.06	0.8065

**Tabla.** Análisis GLM de los parámetros edad\*ploidia, ploidia y edad del grupo de datos del ensayo 2010.

<b>Parámetro</b>	<b>Estimado</b>	<b>Error estandar</b>	<b>Valor t</b>	<b>Pr &gt;  t </b>
<b>edad*ploidia D</b>	0,006	0,0247	0,25	<b>0,8065</b>
<b>edad*ploidia T</b>	0,00	-	-	-
<b>ploidia D</b>	0,13	1,816	0,07	0,94
<b>ploidia T</b>	0,0	-	-	-
<b>Edad</b>	0,167	0,175	9,58	<,0001