

*Research Article*

## Acondicionamiento de reproductores, desove y cultivo larval de *Graus nigra* (Philippi, 1887) (Kyphosidae: Girellinae)

Avelino Muñoz<sup>1,4</sup>, Elio Segovia<sup>2,4</sup> & Héctor Flores<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Área de Desarrollo Acuícola, CORDUNAP, Playa Brava 3256, Iquique, Chile

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias del Mar, Universidad Arturo Prat  
Av. Arturo Prat 2120, Iquique, Chile

<sup>3</sup>Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar  
Universidad Católica del Norte Coquimbo, Chile

<sup>4</sup>Programa Magister en Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar  
Universidad Católica del Norte, P.O Box 117, Coquimbo, Chile

**RESUMEN.** Se describen resultados sobre acondicionamiento reproductivo, desove y cultivo larval de *Graus nigra* ("vieja negra", "mulata"). Peces adultos silvestres se recolectaron y se utilizaron como reproductores, los que al final del período de acondicionamiento alcanzaron el estado de maduración gonadal y desovaron en forma natural y espontánea. Los huevos fueron recolectados y después de 36 h de incubación eclosionaron, con una tasa de eclosión promedio de 60%. Las larvas recién eclosionadas midieron  $2,9 \pm 0,23$  mm y alcanzaron el día 50 post-eclosión (PE) una longitud total de  $12,6 \pm 0,37$  mm. La sobrevivencia larval posterior a la eclosión fue entre 50,9 y 79,1% y al día 30 PE fue de 12,1%. El cultivo larval se desarrolló en estanques con suministro de agua de mar filtrada y esterilizada. Después de la reabsorción del saco vitelino se produjo el desarrollo del tracto digestivo y las larvas se alimentaron con dieta viva enriquecida con emulsión de ácidos grasos altamente insaturados. A los 35 días de cultivo se ofreció alimento artificial a las larvas cuyo tamaño fue aumentando progresivamente a medida que progresó su desarrollo ontogénico. Se describe la evolución anatómica de las larvas y las relaciones morfométricas que representan su desarrollo; se caracteriza el patrón de crecimiento de las larvas hasta los 50 días post-eclosión y se discuten aspectos relacionados con la sobrevivencia larval y la introducción de mejoras para optimizar la producción de larvas y juveniles.

**Palabras clave:** reproductores, acondicionamiento, desove, larvas, *Graus nigra*, Chile.

## Broodstock conditioning, spawning and larval culture of *Graus nigra* (Philippi, 1887) (Kyphosidae: Girellinae)

**ABSTRACT.** In this study results related to reproductive conditioning, spawning and larval culture of *Graus nigra* ("vieja negra", "mulata") are given. Wild adult fishes were collected and used as brooders which at the end of the conditioning period reached gonadal maturation state and spawned naturally and spontaneously. Eggs were collected and after 36 hours of incubation they hatched at average rate of 60%. The hatched larvae measured  $2.9 \pm 0.23$  mm and at day 50th post hatching (PE) reached a total length of  $12.6 \pm 0.37$  mm. The larval survival after hatching was between 50.9-79.1%, and at day 30 PE it was 12.1%. Larval culture was developed in tanks supplied with filtered and sterilized seawater. After yolk sac reabsorption the digestive tract development occurs and larvae were fed with live foods enriched with highly unsaturated fatty acids emulsions. Then, at day 35th larvae were offered with artificial food with size progressively greater as ontogenetic development progressed. Anatomical evolution of larvae and morphometric relationships depicting its development is described. Larval growth pattern up to 50 days post-hatching is characterized. Aspects related to larval survival and the introduction of improvements optimizing larvae and juvenile production of this species are discussed.

**Keywords:** broodstocks, conditioning, spawn, larvae, *Graus nigra*, Chile.

## INTRODUCCIÓN

Para iniciar el cultivo de una especie, se requiere disponer de un grupo de reproductores que deben ser capturados del ambiente natural y ser acondicionados al cautiverio, generalmente, estos cultivos comienzan con la captura de juveniles (Sadovy & Pet, 1998; Botero & Ospina, 2002; Papandroulakis *et al.*, 2004; Belmonte *et al.*, 2007; Grignon, 2010). Estos peces permiten constituirse como futuros reproductores, como útiles para estudios relacionados con su comportamiento, manejo, aceptación de alimento, sobrevivencia y crecimiento.

En Chile, el cultivo de peces marinos nativos es un tema de reciente data, orientado principalmente a la investigación, donde se ha capturado juveniles silvestres de *Merluccius australis* (merluza del sur), *Cilus gilberti* (corvina), *Eleginops maclovinus* (róbalo), *Seriola violacea* (cojinoba), *Seriola lalandi* (palometa), *Paralichthys adpersus* (lenguado chileno), *Oplegnathus insignis* (San Pedro) y *Medialuna ancietae* (pez acha) (Silva & Flores, 1989; Cortes *et al.*, 2001; Bustos & Landaeta, 2005; BCG, 2007).

Una de estas especies nativas y potenciales para la acuicultura es *Graus nigra* ("mulata" o "vieja negra"), que habita principalmente en costas rocosas hasta 25 m de profundidad y su distribución geográfica va desde el sur de Perú a Valdivia, Chile (Mann, 1954; Vargas & Pequeño, 2004). Su cuerpo es generalmente alargado, de tonalidad negruzca resaltando manchas blancas en línea (1 a 4) sobre ambos costados y en la parte posterior del cuerpo. Es de cabeza grande, donde la boca se caracteriza por sus labios gruesos, su alimentación es carnívora, predando principalmente sobre equinodermos, crustáceos, moluscos y peces (Moreno, 1972; Fuentes, 1982; Vargas *et al.*, 1999). Los juveniles habitan pozas intermareales, donde constituyen uno de los componentes ícticos más importantes en cuanto a su presencia y función (Varas & Ojeda, 1990; Stepien, 1990; Berríos & Vargas, 2000; Hernández *et al.*, 2002).

Es un pez de carne blanca, firme y consistente, constituyéndose en un recurso importante para los buzos mariscadores (Schneider, 2008) y deportistas submarinos (Godoy, 2008). Las estadísticas muestran variabilidad en las capturas, con 24 ton en promedio anual entre 1995 y 2009 (SERNAPESCA, 2010), encontrándose con síntomas de sobre-explotación (Godoy *et al.*, 2010).

*Graus nigra* es un atractivo recurso íctico, de probada demanda, los juveniles provenientes del ambiente toleran el cautiverio, aceptan alimentación formulada, el manejo y tienen sobrevivencia relati-

vamente alta, que la hace una especie atractiva para la acuicultura chilena (Flores & Rendic, 2011). Para evaluar esta alternativa se capturó potenciales reproductores de *G. nigra* y se describe su acondicionamiento al cautiverio, sus desoves y cultivo larval.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Captura y transporte de reproductores silvestres

Los reproductores silvestres de *G. nigra* fueron capturados mediante caza submarina en la zona costera de Pisagua, Chile (19°36'22,57"S, 70°12'09,96"W). En la captura participaron buceadores especializados, que usaron arpón con elásticos y varillas modificadas de 75 cm de largo y 6 mm de diámetro sin lengüeta en su punta. El punto de impacto en los peces fue generalmente en la parte superior del cuerpo, afectando principalmente la zona dorsal, tratando de evitar la cabeza, zona abdominal y línea media del pez.

Los ejemplares capturados fueron acopiados *in situ* durante la faena de extracción en una jaula de red con marco metálico de 1x1,5x0,6 m. Finalizada esta faena, los peces capturados fueron trasladados hasta un lugar de desembarque accesible por tierra, donde se efectuó su traspaso a dos estanques de transporte de fibra de vidrio de 1.000 L de capacidad, con agua de mar fresca, sin tratamiento y adición de aire.

### Recepción y aclimatación

Los peces fueron recepcionados en una unidad de recuperación consistente en un estanque de 4 m de diámetro y 15.000 L, con flujo abierto de agua de mar, sin tratamiento previo. Las heridas producidas durante la captura fueron tratadas externamente con una solución yodada y en algunos casos suturadas inmediatamente en la unidad de recuperación. Transcurridas 24 h desde la recepción de los peces, se evaluó la sobrevivencia y el estado sanitario externo, seleccionándose aquellos sobrevivientes que mostraron la mejor condición sanitaria. Estos peces fueron pesados y medidos, se les aplicó tratamiento antiparasitario con formalina al 40% en una relación de 1:6.000, por un período de cuatro días no consecutivos (d1, d3, d5 y d8). Los peces se mantuvieron en ayuno durante las dos primeras semanas, luego se trasladaron a un segundo estanque de iguales características, dando inicio al período de aclimatación; transcurrido este plazo los peces aceptaron el alimento ofrecido. La dieta, en esta etapa, consistió en alimento fresco compuesto por una mezcla de pejerrey de mar (*Odontesthes regia*), moluscos (*Protothaca thaca* y *Aulacomya ater*),

crustáceos (*Grapsus grapsus*) y equinodermos (*Loxechinus albus* y *Tetrapygus niger*), entregados *ad libitum* en dos raciones diarias (8:00 y 17:00 h). Diariamente (09:00 y 16:00 h) se registraron los niveles de oxígeno disuelto ( $\text{mg L}^{-1}$ ) y la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) del agua de mar en los estanques de recuperación y aclimatación. La densidad máxima fue de  $1 \text{ kg m}^{-3}$ , a una tasa de renovación de agua de mar de 0,2 veces el volumen por hora ( $52,08 \pm 5,12 \text{ L min}^{-1}$ ).

### Acondicionamiento reproductivo

El sistema de acondicionamiento lo conformaron cuatro estanques de fibra de vidrio de 4 m de diámetro y de 20.000 L. Los estanques de acondicionamiento estaban conectados a dos estanques cilíndricos de 1.000 L, usados como soporte a los colectores de huevos, que en su interior tenían instalado un marco de PVC de 32 mm de diámetro de  $50 \times 50 \times 50 \text{ cm}$ , forrado en malla de  $112 \mu\text{m}$  de abertura para retener los huevos producidos en los desoves. Diariamente se registró la temperatura, oxígeno, pH y tasa de renovación de agua. Mensualmente se realizaron controles de longitud total ( $L_t$ ) y peso total ( $P_t$ ) del 100% de los peces. Para anestésiar a los peces se usó benzocaína, en una dosis de  $0,15 \text{ mL L}^{-1}$  por 3 a 5 min. Durante el primer muestreo los peces fueron canulados para la determinar el sexo, esto se efectuó con una cánula de silicona de 30 cm largo por 2 mm de diámetro y, posteriormente, fueron marcados con un Pit-tag de 1 mm de diámetro por 12 mm de largo (Pit-tag, Destron Fearing Co. Ltda.). Para el control de la temperatura se empleó un sistema de recirculación parcial (40% de recambio de agua de mar por día) consistente en una bomba de calor de 5 HP, conectada a una red de tuberías con un filtro de arena de  $0,11 \text{ m}^3$  y un caudal de filtrado de  $6,6 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  y un equipo de desinfección UV. La alimentación de los peces consistió en una dieta en base a componentes frescos (pescado trozado, mitílidos y almejas sin concha, pulpo y jibia trozados, jaibas sin caparazón y gónadas de erizos), entregada en dos raciones diarias (08:00 y 17:00 h), a una tasa de 2,5% del peso corporal. La proporción sexual fue de 1:1.

### Desove y manejo de los huevos

Ocurrido el desove, los huevos retenidos en la bolsa colectora se depositaron en un recipiente plástico de 10 L, para ser trasladados a las instalaciones de incubación y cultivo larval. Los huevos se colocaron en un incubador cilindro cónico de 80 L de capacidad, donde se limpió con agua de mar filtrada a  $1 \mu\text{m}$  y desinfectada con UV. Para el recuento total de huevos se tomaron 10 muestras de 500 mL del estanque y se fijaron con lugol. Se contó el número total de huevos

en cada muestra, el valor obtenido fue promediado y extrapolado al volumen total de agua en el estanque. Luego se dejó decantar los huevos en el estanque por 5 min para determinar el número de huevos viables de acuerdo a su capacidad de flotación. Los huevos acumulados en el fondo fueron eliminados y el resto que se mantuvo en la superficie del agua fue contado de la misma forma descrita anteriormente.

### Incubación y eclosión

La etapa de incubación se realizó en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio de 500 L de capacidad, utilizando agua de mar filtrada en un set de cinco filtros de cartucho tipo CUNO a 50, 25, 10, 5 y  $1 \mu\text{m}$ , desinfectada con un equipo UV, capaz de entregar una dosis germicida mínima de  $30.000 \mu\text{watts s}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ . El volumen de incubación fue de 400 L, el estanque se mantuvo con aireación leve y sin renovación de agua.

El proceso de incubación se desarrolló a una temperatura entre  $17,4$  y  $19,8^{\circ}\text{C}$ . La densidad de incubación varió entre 2,6 y 111,1 huevos  $\text{L}^{-1}$  de acuerdo al número de huevos viables obtenidos en cada desove. Una vez verificada la eclosión de los huevos se realizó el recuento de larvas para determinar el porcentaje de eclosión por *batch*, posteriormente las larvas fueron trasladadas a los estanques de cultivo larval.

### Cultivo larval

En el cultivo de larvas se utilizaron 10 estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio de 750 L de capacidad total. El tratamiento del agua de mar fue similar al descrito para la fase de incubación. Los recambios parciales de agua se iniciaron a partir del día 4 de cultivo con un 10% del volumen total hasta un 50% el día 30. La temperatura y el pH fueron registrados diariamente (09:00 y 13:00 h). Los estanques se mantuvieron con aireación constante y fotoperíodo de 16 h de luz por 8 h de oscuridad.

### Alimentación de larvas

La alimentación inicial fue con rotíferos (*Brachionus plicatilis*) a una dieta de 10 rotíferos/ $\text{mL día}^{-1}$ , desde el día 3 post-eclosión (PE) y hasta el día 20 de cultivo. Posteriormente, la alimentación cambió a *Artemia* (*Artemia franciscana*), con una dieta que progresivamente aumentó de 10 a 50 nauplios/larva, a partir del día 15 hasta el día 40 PE. Para aumentar la calidad nutricional del alimento vivo, se realizó un enriquecimiento con emulsiones ricas en ácidos grasos poliinsaturados del tipo  $\omega 3$  (EPA y DHA), correspondiente a los enriquecedores comerciales Selco y A1 Super Selco. Como complemento

nutricional se agregó microalgas *Isochrysis galbana* y *Nannochloris* sp., 40% y 60% respectivamente, manteniendo una concentración en los estanques de 60.000 células mL<sup>-1</sup>.

## RESULTADOS

### Captura y aclimatación

Se capturó un total de 46 ejemplares adultos de *G. nigra* en un periodo de seis meses (octubre 2002 a marzo 2003), la sobrevivencia fue de 58,7%. Durante las primeras campañas de captura se registraron los índices de mortalidad más altos (50,0 a 57,1%), los que disminuyeron posteriormente a 33,3% y 27,3% (Tabla 1), producto de la mayor experiencia de los cazadores. El peso promedio total de los peces fue de 2.544 ± 466 g en hembras y de 1.256 ± 186 g en machos.

En el proceso de aclimatación, la mortalidad fue de 25,0% a 33,3% de los peces recepcionados (Tabla 2). Los dos primeros días después del arribo de los peces a las instalaciones fueron los más críticos y fue cuando se registró la mayor mortalidad. A la fase de aclimatación ingresaron 27 peces, de los cuales sobrevivieron 20, con un 74,1% de sobrevivencia. La oferta de alimento a los peces durante la aclimatación se inició la tercera semana, su entrega fue progresiva en el tiempo, observándose en la cuarta semana una apetencia regular de todos los peces.

### Acondicionamiento reproductivo

La etapa de acondicionamiento se inició en abril 2003, una vez finalizada la aclimatación de los 20 ejemplares sobrevivientes se registró su LT y PT. Mediante canulación de los peces se identificó a ocho hembras de peso promedio 2.543,7 ± 466,1 g y 12 machos de peso promedio 1.256,0 ± 185,6 g. Durante esta fase se registró la mortalidad de una hembra y dos machos, quedando finalmente un plantel de 17 reproductores (7 hembras y 10 machos). La temperatura del sistema se mantuvo entre 17,5 y 18,0 °C y el oxígeno disuelto entre 5,18 y 6,45 mg L<sup>-1</sup> (Fig. 1).

### Desoves

Luego de un acondicionamiento de 4,5 meses, los peces alcanzaron la madurez reproductiva y comenzaron a desovar en forma espontánea a partir del 5° mes, lo cual se prolongó por 48 días. Se registraron 37 desoves, con una cantidad total de 455.769 huevos, de los cuales 326.588 fueron viables. El mayor desove alcanzó a 57.225 huevos, mientras que el menor fue de 1.313 huevos. La temperatura del

agua durante el periodo de desove fue de 16,7 a 20,20°C (Fig. 2).

### Incubación y cultivo de larvas

Se dispuso en los sistemas de incubación de 271.768 huevos viables (Tabla 3). La eclosión ocurrió aproximadamente a las 36 ± 0,5 h de incubación. Se obtuvo un total de 161.920 larvas, con una eclosión media de 60,7% entre todos los *batch*.

En la etapa de cultivo larval, solo 10 desoves (*batch*), pasaron los 10 días PE, 7 los 20 días PE, 6 los 30 días PE y 5 los 40 días PE. La temperatura de cultivo fluctuó entre 16,8 y 21,5°C y el pH entre 7,9 y 8,0. La densidad inicial de cultivo fue de 0,7 y 35 larvas L<sup>-1</sup> producto de que cada *batch* se cultivó en forma separada. La alimentación exógena se inició con una dieta de 10 rotíferos mL<sup>-1</sup> por día, hasta el día 20 PE, *Artemia* enriquecida 20 nauplios/larva día<sup>-1</sup> hasta 70 nauplios/larva día<sup>-1</sup> desde el día 15 hasta el día 40 PE (Tabla 4).

Los cultivos se mantuvieron sin flujo de agua de mar, la renovación parcial de agua diaria se inició el día 4 post-eclosión con un 10% del volumen total de cultivo, hasta llegar a un 60% desde el día 40 en adelante.

Las larvas recién eclosionadas midieron 2,9 ± 0,23 mm y alcanzaron el día 50 PE los 12,6 ± 0,37 mm (Fig. 3). Durante la incubación y desarrollo de las larvas se identificaron tres fases: embrionaria, desde la fertilización hasta la eclosión; larva con saco vitelino, desde la eclosión hasta la completa absorción del vitelo; y, la fase larval, desde la absorción del vitelo hasta el estado de juvenil, que corresponde cuando las larvas adquieren la forma típica de un pez adulto.

*Fase Embrionaria* (-2 a 0 días PE). Huevos flotantes, esféricos de 1,2 ± 0,15 mm de diámetro y con una gota lipídica. Previo a la eclosión, los huevos son de forma elíptica y los embriones curvan su parte posterior. Durante esta fase se presentan algunos huevos con más de una gota lipídica y de forma irregular. Los huevos eclosionaron aproximadamente 36 h después de la fertilización (Fig. 4).

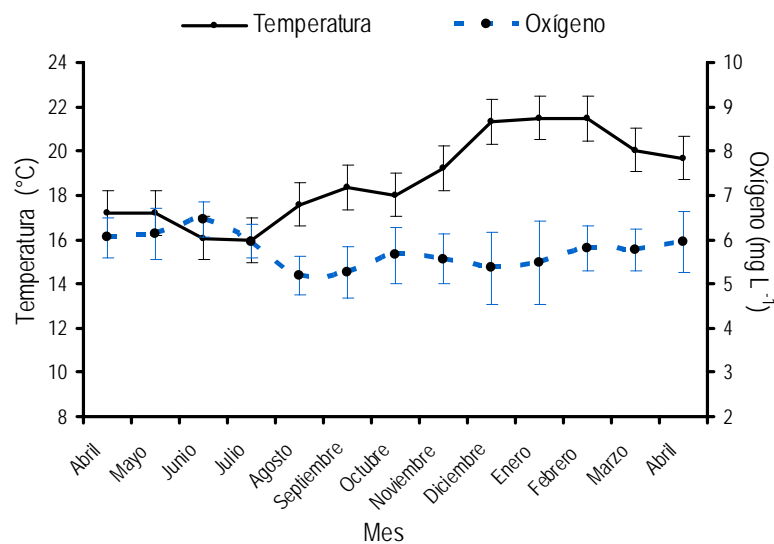
*Fase de larva con saco vitelino* (1 a 4 días PE). Día 1: Luego de la eclosión las larvas tienen ojos transparentes y cuerpo levemente pigmentado (Fig. 5). En las larvas recién eclosionadas la gota lipídica se ubica en la parte posterior del saco vitelino. Las larvas comienzan la absorción del vitelo y aumenta la pigmentación del cuerpo, se observa el comienzo del desarrollo del intestino. Día 2: se observó un marcado desarrollo de los ojos, que adquieren una coloración oscura, se observa el comienzo de la apertura de la boca y el estómago adquiere la forma de tubo. Día 3:

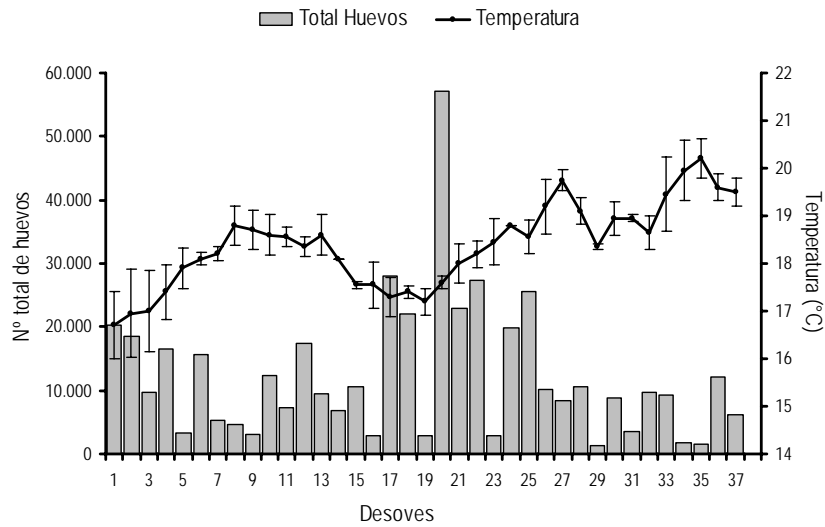
**Tabla 1.** Captura y porcentajes de sobrevivencia de reproductores silvestres de *Graus nigra* por campaña de pesca.**Table 1.** Catch and survival percentages of *Graus nigra* wild broodstock for each fishing campaign.

Campaña de pesca	Total capturados	N° muertos en faena	N° de sobrevivientes	Sobrevivencia (%)
1	8	4	4	50,0
2	7	4	3	42,9
3	9	4	5	55,6
4	5	2	3	60,0
5	6	2	4	66,7
6	11	3	8	72,7
Total	46	19	27	58,7

**Tabla 2.** Porcentajes de sobrevivencia de reproductores silvestres durante la aclimatación.**Table 2.** Percentages of wild broodstock survival during acclimatation.

Campaña de pesca	Total recepcionados	N° de muertos	N° de sobrevivientes	Sobrevivencia (%)
1	4	1	3	75,0
2	3	1	2	66,7
3	5	1	4	80,0
4	3	1	2	66,7
5	4	1	3	75,0
6	8	2	6	75,0
Total	27	7	20	74,1

**Figura 1.** Registro mensual de temperatura y oxígeno disuelto (media  $\pm$  DE), durante el período de acondicionamiento de reproductores salvajes de *Graus nigra*.**Figure 1.** Monthly record of temperature and dissolved oxygen (mean  $\pm$  SD), during the conditioning of wild *Graus nigra* broodstock.



**Figura 2.** Producción de huevos totales y temperatura (media  $\pm$  DE) obtenidos en desoves espontáneos de *Graus nigra*.

**Figure 2.** Total eggs production and temperature (mean  $\pm$  SD), in natural spawning of *Graus nigra*.

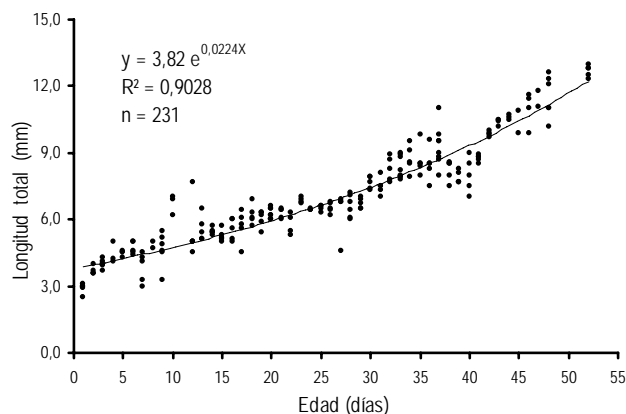
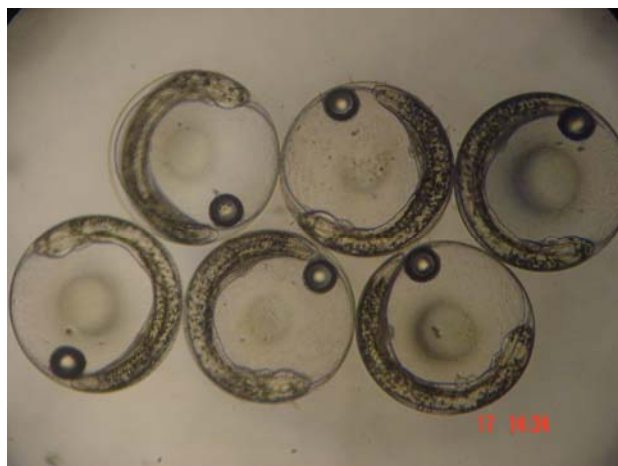
**Tabla 3.** Producción de huevos viables, porcentaje de eclosión, larvas con saco vitelino, densidad de incubación y de cultivo inicial de larvas de *Graus nigra*.

**Table 3.** Viable egg production, hatching percentage, yolk sac larvae, density incubation and initial rearing larvae of *Graus nigra*.

Desove	N° total huevos incubados	Densidad incubación (huevos/L)	N° de larvas	Eclosión (%)	Densidad del cultivo (larvas/L)
3	3.920	9,80	2.380	60,71	3,97
4	13.650	34,13	9.712	71,15	16,19
5	14.700	36,75	11.633	79,14	19,39
6	8.050	20,13	4.095	50,87	6,83
7	8.750	21,88	5.075	58,00	8,46
8	19.950	49,88	17.290	86,67	28,82
9	10.500	26,25	6.300	60,00	10,50
10	7.350	18,38	4.558	62,01	7,60
11	25.550	63,88	12.750	49,90	21,25
12	17.850	44,63	3.600	20,17	6,00
13	1.200	3,00	427	35,58	0,71
14	44.450	111,13	21.000	47,24	35,00
15	17.213	43,03	4.200	24,40	7,00
16	22.400	56,00	20.160	90,00	33,60
17	1.043	2,61	675	64,72	1,13
18	17.830	44,58	14.000	78,52	23,33
19	31.062	77,66	18.112	58,31	30,19
20	6.300	15,75	5.953	94,49	9,92
	271.768		161.920	60,66	

**Tabla 4.** Alimento vivo durante el cultivo larval de *Graus nigra*.**Table 4.** Live food for *Graus nigra* larval culture.

Alimento vivo	Especie	Dieta	Días post-eclosión
Microalgas	<i>Isochrysis galbana</i> (40%)	60.000 células mL <sup>-1</sup> /día	1 - 40+
	<i>Nannochloris</i> sp. (60%)		
Rotíferos	<i>Brachionus plicatilis</i>	10 rotíferos mL <sup>-1</sup> /día	3 - 20
<i>Artemia</i>	<i>Artemia franciscana</i>	20 nauplios/larva/día	15 - 19
		30 nauplios/larva/día	20 - 24
		40 nauplios/larva/día	25 - 29
		50 nauplios/larva/día	30 - 34
		60 nauplios/larva/día	35 - 39
		70 nauplios/larva/día	40 +

**Figura 3.** Incremento en longitud total (LT) en el cultivo larval de *Graus nigra*.**Figure 3.** Increase in total length (LT) in *Graus nigra* larval culture.**Figura 4.** Huevos embrionados de *Graus nigra* (30 h post-desove).**Figure 4.** Embryonated eggs of *Graus nigra* (30 h after spawning).**Figura 5.** Larva con saco vitelino de *Graus nigra* (1 día post-eclosión).**Figure 5.** Yolk-sac larvae of *Graus nigra* (1 day after hatching).

se aprecia un desarrollo mayor del estómago, que se divide en dos secciones. Se observa una total apertura de la boca y del ano. Se inicia la alimentación exógena con presas vivas (rotíferos). Día 4: se observa la aparición de vellosidades en el intestino.

*Fase larval* (5 a 35 días PE). Día 5: se completa la absorción del vitelo, las larvas se alimentan en forma regular de rotíferos con gran apetencia (Fig. 6). Día 8: las mandíbulas y el tracto digestivo terminan su desarrollo. Día 12: la cabeza aumenta considerablemente de tamaño y se completa el desarrollo de los ojos. Día 15: aumenta el tamaño de la boca y la movilidad de las mandíbulas permite la captura de presas de mayor tamaño, produciéndose el cambio de dieta de manera progresiva a nauplius de *Artemia*. Día 23: se termina el desarrollo de las aletas pectorales y aleta caudal. Día 25: se completa la formación de la



**Figura 6.** Larva de *Graus nigra* (5 días post-eclosión).

**Figure 6.** Larvae of *Graus nigra* (5 days after hatching).

aleta dorsal y anal y se adquiere la forma típica de un pez. Día 30: se forman los radios de la aleta caudal. Día 35: se adquiere la forma y coloración típica de un juvenil.

La sobrevivencia larval de los 5 *batch* cultivados hasta los 45 días PE evidenció una marcada mortalidad entre el día 1 y 20 PE. Se registró en promedio una baja del 76,8% en todos los *batch*, al día 30 PE la sobrevivencia promedio alcanzó a 12,1% y al día 45 PE a 1,6%. El *batch* 3 alcanzó el mayor porcentaje de sobrevivencia con un 3,1% a temperatura de 17,1 a 20°C y el *batch* 9 registró el menor porcentaje de sobrevivencia con 0,24% a temperatura de 16,8 a 20,3°C (Fig. 7).

## DISCUSIÓN

El cultivo de peces nativos, por lo general comienza con la captura de juveniles del ambiente natural (Sadovy & Pet, 1998; Lecaillon, 2004; Roo *et al.*, 2005; Vermond, 2007; Grignon, 2010; Flores & Rendic, 2011), para lo cual existen directrices que orientan este proceso y el posterior confinamiento de los individuos capturados, mediante sistemas amigables y que proporcionen un adecuado bienestar a los peces en su nuevo ambiente (ASIH, 1988; De Tolla *et al.*, 1995; AFS, 2004). Sin embargo, desde la captura de juveniles silvestres hasta que ellos pueden desovar al ser mantenidos en sistemas de cultivo controlados, puede transcurrir cierto tiempo que no puede ser definido con precisión. Por ello, para acortar este lapso, se procede muchas veces a capturar peces de mayor talla, mediante uso de redes de enmalle, espineles y arpón, métodos que no siempre resultan ser amigables.

No obstante lo anterior, en esta oportunidad se obtuvo una adecuada recuperación en los peces capturados, reflejada en los porcentajes de sobrevivencia que fluctuaron entre 75 y 80%, lo que concuerda con lo reportado por Silva (2001), para reproductores silvestres de *Paralichthys microps* (Paralichthyidae).

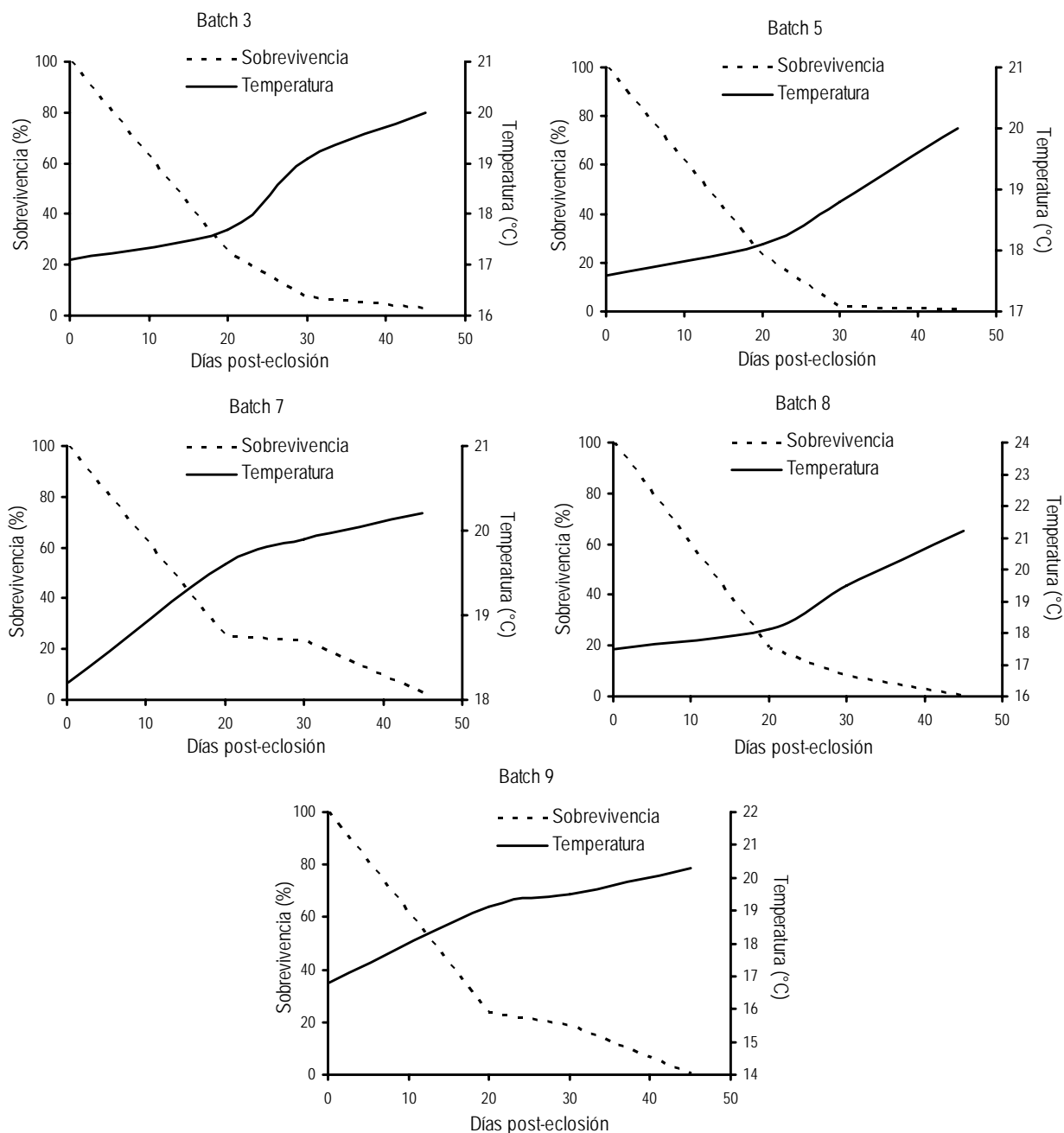
Para la alimentación de reproductores de peces marinos, se recomienda porcentajes de proteína y lípidos superiores al 45% y 10% respectivamente (Pavlov *et al.*, 2004). Para satisfacer estos requerimientos, los peces se alimentaron con mezcla de trozos de pescado, mitílidos y almejas sin concha, pulpo y jibia, jaibas sin caparazón y gónadas de erizos.

*Graus nigra* experimentó desoves espontáneos en cautiverio, condición que es propia de una variedad de especies, tanto pelágicas como asociadas a arrecifes, tal como ocurre con otras especies nativas como *Paralichthys microps*, *P. adspersus*, *Seriollella violacea* (Centrolophidae) y *Seriola laladi* (Carangidae), Wilson, 2009; Silva & Oliva, 2010) y especies de otras latitudes como *Cromileptes altivelis*, *Epinephelus tauvina*, *E. merra*, *E. fuscoguttatus*, *E. coioides*, *Plectropomus leopardus* (Serranidae), *Lutjanus guttatus*, *L. sebae*, *L. argentimaculatus* (Lutjanidae) (Sugama *et al.*, 2004; Jagadis *et al.*, 2007; Herrera-Ulloa *et al.*, 2009; Mathew, 2010). En estas especies los huevos fecundados son recolectados y dispuestos en incubadores.

Para los desoves espontáneos se recomienda estanques cilíndricos, superiores a 60 ton y de una profundidad entre 2 y 2,5 m (Sugama *et al.*, 2004), dimensiones y forma que permite que los reproductores nadan alrededor del estanque durante el desove. En este estudio, los estanques utilizados de 20 ton permitieron que los reproductores de *Graus nigra* desovaran en forma espontánea una vez aclimatados y acondicionados reproductivamente, en estos sistemas de confinamiento.

La sobrevivencia larval al momento de la eclosión fue entre 50,87% y 79,14%, valores semejantes a los registrados para *Paralichthys microps*, *P. adspersus* y *Epinephelus merra* (Silva, 1988; Silva & Flores, 1989; Jagadis *et al.*, 2007; Silva & Oliva, 2010). La mortalidad de larvas en cultivo se debería a cambios significativos en las variables ambientales y/o microbiológicas, donde *Vibrio* es un agente significativo en la muerte de larvas en cultivo. Ambos aspectos se mejoran teniendo un control de las variables ambientales y de un buen sistema de tratamiento de agua, los que mejoran significativamente al usar sistemas de recirculación.





**Figura 7.** Sobrevivencia de larvas de *Graus nigra* en condiciones semicontroladas.

**Figure 7.** Survival of *Graus nigra* larvae in semi-controlled conditions.

Las larvas de peces se alimentan preferentemente de copépodos (nauplios, copepoditos), organismos que no es fácil cultivar masivamente y que no se disponen para alimentar larvas de peces marinos. Para reemplazar este recurso se utilizan rotíferos, *Brachionus plicatilis* y *Artemia*, que se pueden cultivar masivamente y se emplean para alimentar larvas en hatchery. No son presas naturales y no tienen la misma calidad nutricional de los copépodos. Experiencias efectuadas en *Hippoglossus hippo-*

*glossus* (halibut) y *Scophthalmus maximus* (turbot) indican la preferencia por copépodos (alimento natural) respecto a rotíferos y nauplios de *Artemia* (Kuhlmann *et al.*, 1981; Shields *et al.*, 1999).

Para mejorar la calidad de rotíferos y *Artemia*, se procede a enriquecerlos, para ello se ofrecen una serie de enriquecedores que permiten que estos organismos, en algunos casos, incorporen micropartículas del enriquecedor. Durante el cultivo larval, hasta el día 20 PE, se expresa una marcada mortalidad, que podría ser

mejorada siempre que se busquen nuevas estrategias y concentraciones de enriquecimiento de rotíferos y una definición de la cantidad de rotíferos entregadas, que en este caso fue de 10 rotíferos/mL día<sup>-1</sup>, en consecuencia que Silva & Oliva (2010) recomiendan para larvas la misma cantidad pero en dos raciones diarias.

La alimentación de los reproductores juega un importante rol en el desarrollo embrionario y larval durante las fases de embriogénesis y los primeros días del cultivo larval, aspecto que fue reportado por Wilson (2009), para reproductores de *Paralichthys adspersus* y el efecto de la alimentación de los progenitores en el desarrollo larval. Por otra parte, los productos naturales no siempre aportan los niveles adecuados de los nutrientes requeridos por los reproductores, siendo necesario suplementar vitaminas (Alvarez-Lajonchere, 2006) y conocer los requerimientos nutricionales básicos y los mecanismos para satisfacer dichos requerimientos con dietas prácticas, para fomentar la producción rentable y sustentable de estos peces (Gatlin, 2000).

Este primer reporte sobre incubación y cultivo larval de *Graus nigra*, abre importantes perspectivas para un futuro cultivo, además de explorar la posibilidad de efectuar un repoblamiento con juveniles, especialmente cuando existe una importante fracción de pescadores artesanales y buzos mariscadores que depende de los peces del litoral rocoso, especies que no están sujetas a regulación de administración pesquera y que, en su mayoría, se encuentran en niveles de explotación máxima (Godoy *et al.*, 2010).

## AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue realizado a través del proyecto “Desarrollo del Cultivo de Peces Nativos del Litoral de la I Región de Chile”, 2002-2004, financiado por FDI-CORFO 00C7PT-09. Los autores agradecen al experto en producción de peces Sr. Masatoshi Futagawa, encargado del Área de Investigación y Desarrollo Tecnológico de CORDUNAP por su importante aporte y colaboración en este trabajo.

## REFERENCIAS

Alvarez-Lajonchere, L., L. Ibarra, N. García & Z. Ibarra. 2007. Manipulación y nutrición de reproductores de peces marinos. Panorama Acuícola Magazine, Nov-Dic: 10-24.

American Fisheries Society (AFS), American Institute of Fishery Research Biologists (AIFRB) & American

Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH). 2004. Guidelines for the use of fishes in research. Copyright 2004 by the American Fisheries Society, 58 pp.

American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH), American Fisheries Society (AFS) & (American Institute of Fishery Research Biologists (AIFRB). 1988. Guidelines for use of fishes in field research. Fisheries, 13(2): 16–23.

Belmonte, A., A. Ortega & F. de la Gándara. 2007. Cultivo de túnidos. Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, Vigo, España: 539-546.

Berrios, V. & M. Vargas. 2000. Estructura del ensamble de peces intermareales de la costa rocosa del norte de Chile. Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 35(1): 73-81.

Boston Consulting Group (BCG). 2007. Estudios de competitividad en clusters de la economía chilena. Documento de referencia acuicultura. Consejo de Innovación, mayo 2007, 261 pp.

Botero, J. & J.F. Ospina. 2002. Crecimiento y desempeño general de juveniles silvestres de mero guasa *Epinephelus itajara* (Lichtenstein) mantenidos en jaulas flotantes bajo diferentes condiciones de cultivo. Bol. Invest. Mar. Cost., 32: 25-36.

Bustos, C. & M. Landaeta. 2005. Desarrollo de huevos y larvas tempranas de la merluza del sur, *Merluccius australis*, cultivados bajo condiciones de laboratorio. Gayana, 69(2): 402-408.

Cortes, R., C. Jélves, E. Larraín, G. Parada & L. Vidal. 2001. Florece la acuicultura en el desierto. Aquanoticias, 12(59): 92 pp.

De Tolla, L.J., S. Srinivas, B.R. Whitaker, Ch. Andrews, B. Hecker, A.S. Kane & R. Reimschuesse. Guidelines for the care and use of fish in research. ILAR J., 37(4): 27 pp.

Flores, H. & A. Smith. 2010. Biología reproductiva de *Graus nigra* (Perciformes, Kyphosidae) en las costas del norte de Chile. Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 45(4): 659-670.

Flores, H. & J. Rendic. 2011. Conducta alimenticia, sobrevivencia y crecimiento de juveniles silvestres de *Graus nigra* Philippi, 1887 en cautiverio (Perciformes: Kyphosidae). Lat. Am. J. Aquat. Res., 39(3): 607-612.

Fuentes, H. 1982. Feeding habits of *Graus nigra* (Labridae) in coastal waters of Iquique, northern Chile. Japan. J. Ichthyol., 29(1): 95-98.

Gatlin, M. 2000. Nutrición de reproductores y juveniles de peces marinos. In: R. Civera-Cerecedo, C.J. Pérez-Estrada, D. Ricque-Marie & L.E. Cruz-Suárez (eds.). Avances en nutrición acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. La Paz, B.C.S., México: pp. 73-82.

- Godoy, N. 2008. Pesca por buceo de peces litorales de roca: desembarques, composición de las capturas y efectos sobre la riqueza y la abundancia de las especies. Tesis de Magíster en Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, 75 pp.
- Godoy, N., S. Gelcich, J.A. Vásquez & J.C. Castilla. 2010. Spearfishing to depletion: evidence from temperate reef fishes in Chile. *Ecol. Appl.*, 20(6): 1504-1511.
- Grignon, J. 2010. Post-larval capture and culture (PCC) for coral reef fish stock enhancement in Fiji. Doctorat de l'Université de Perpignan Via Domitia et de l'Université du Pacifique Sud à Fidji, 197 pp.
- Hernández, C.E., P.E. Neill, J.M. Pulgar, F.P. Ojeda & F. Bozinovic. 2002. Water temperature fluctuations and territoriality in the intertidal zone: two possible explanations for the elevational distribution of body size in *Graus nigra*. *J. Fish Biol.*, 61: 472-488.
- Herrera-Ulloa, A., J. Chacón, G. Zuñiga-Calero, O. Fajardo & R. Jiménez-Montealegre. 2009. Acuicultura de pargo la mancha *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en Costa Rica dentro de un enfoque ecosistémico. *Rev. Mar. Cost.*, 1: 197-213.
- Jagadis, I., B. Ignatius, D. Kandasami & Md.A. Khan. 2007. Natural spawning of honeycomb grouper *Epinephelus merra* Bloch under captive conditions. *J. Mar. Biol. Assoc. India*, 49(1): 65-69.
- Kuhlmann, D., G. Quantz & U. Witt. 1981. Rearing of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) on cultured food organisms and postmetamorphosis growth on natural and artificial food. *Aquaculture*, 23(1-4): 183-196.
- Lecaillon, G. 2004. The "C.A.R.E." (collect by artificial reef eco-friendly) system as a method of producing farmed marine animals for the aquarium market: An alternative solution to collection in the wild. *SPC Live Reef Fish Inf. Bull.*, 12: 17-20
- Mann, G. 1954. Vida de los peces de aguas chilenas. Instituto de Investigaciones Veterinarias, Universidad de Chile, Santiago, 342 pp.
- Mathew, G. 2010. Spontaneous spawning of *Epinephelus tauvina* (Forsk.) in captivity. *J. Mar. Biol. Assoc. India*, 52(1): 14-18.
- Moreno, C.A. 1972. Nicho alimentario de la "vieja negra" (*Graus nigra* Philippi) (Osteichthyes Labridae). *Not. Mens. Mus. Nac. Hist. Nat.*, 186: 5-6.
- Papandroulakis, N., M. Suquet, M.T. Spedicato, A. Machias, C. Fauvel & P. Divanach. 2004. Feeding rates, growth performance and gametogenesis of wreckfish (*Polyprion americanus*) kept in captivity. *Aquacult. Int.*, 12: 395-407.
- Pavlov D., E. Kjorsvik, T. Refsti & O. Andersen. 2004. Brood stock and egg production. In: E. Moksness, E. Kjorsvik & Y. Olsen (eds.). *Culture of cold-water marine fish*. Blackwell Publishing, London, pp. 129-203.
- Roo, J., J. Socorro, R. Guirao, T. Reyes, C. Hernández-Cruz, H. Fernández-Palacios & M.S. Izquierdo. 2005. Primeras experiencias de engorde de jurel dentón *Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider, 1801) en tanques en laboratorio y jaulas flotantes en Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 21(1-4): 201-206.
- Sadovy, Y. & J. Pet. 1998. Wild collection of juveniles for grouper mariculture: just another capture fishery? *SPC Live Reef Fish Inf. Bull.*, 4: 36-39.
- Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA). 2010. Anuario estadístico de pesca. Servicio Nacional de Pesca. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, Chile.
- Shields, R., J.G. Bell, F.S. Luizi, B. Gara, N.R. Bromage & J.R. Sargent. 1999. Natural copepods are superior to enriched *Artemia* aaplpii as feed for halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids. *J. Nutr.*, 129: 1186-1194.
- Silva, A. 1988. Observaciones sobre el desarrollo del huevo y estadios larvarios de lenguado (*Paralichthys microps*, Gunter 1881). *Rev. Lat. Acuicult.*, 35: 19-25.
- Silva, A. 2001. Advance in the culture research of smalleye flounder, *Paralichthys microps*, and Chilean flounder *P. adspersus* in Chile. *J. Appl. Aquacult.*, 11(1-2): 147-164.
- Silva, A. & H. Flores. 1989. Consideraciones sobre el desarrollo y crecimiento larval del lenguado (*Paralichthys adspersus* Steindachner, 1887) cultivado en laboratorio. *Rev. Pac. Sur, Número Especial*: 629-634.
- Silva, A. & M. Oliva. 2010. Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 38(3): 377-386.
- Schneider, F. 2008. Caracterización de la actividad pesquera de los buzos de la caleta de Pan de Azúcar, Región de Atacama, Chile. Tesis de Biología Marina, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, 52 pp.
- Stepien, C.A. 1990. Population structure, diets and biogeographic relationships of a rocky intertidal fish assemblage in central Chile: high level of herbivory in a temperate system. *Bull. Mar. Sci.*, 47(3): 598-612.
- Sugama, K., A. Hanafi & M. Rimmer. 2004. Hatchery technology on the breeding and fry production of

- marine finfish in Indonesia. The Second Hatchery Feeds and Technology Workshop, Sydney, pp. 112-115.
- Vargas, L. & G. Pequeño. 2004. El estatus taxonómico de *Graus fernandezianus* Philippi, 1887; nuevo registro geográfico y comentarios sobre *Graus nigra* Philippi, 1887 (Osteichthyes: Perciformes). Gayana, 68(1): 68-74.
- Vargas, M., R. Soto & G. Guzmán. 1999. Cambios interanuales en la alimentación de peces submareales del norte de Chile entre los 20°11' y 20°20'S. Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 34(2): 197-210.
- Varas, E. & F.P. Ojeda. 1990. Intertidal fish assemblages of the central Chilean coast. Diversity, abundance and trophic patterns. Rev. Biol. Mar., 25(2): 59-70.
- Vermont, S. 2007. Development of multispecific postlarval rearing approach in aquarium. CRISP Internship Report. University of the South Pacific (Fidji), 30 pp.
- Wilson, R. 2009. Dietary effects of n-3 highly unsaturated fatty acid levels on egg and larval quality, and the fatty acid composition of the eggs of Chilean flounder *Paralichthys adspersus* broodstock. Aquacult. Res., 40: 1400-1409.

Received: 23 February 2011; Accepted: 30 April 2012