

## Influencia de la temperatura en la proporción de sexos en juveniles de lenguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839)

Andrea V. López, Mariela Radonić\*, Mónica I. Müller, Gabriel A. Bambill

Estación Experimental de Maricultura. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). Paseo Victoria Ocampo N° 1. B7602HSA Mar del Plata, Provincia de Buenos Aires, República Argentina.  
e-mail: mradonic@inidep.edu.ar

### Resumen

El objetivo de este trabajo fue de analizar el efecto de la temperatura de cultivo sobre la proporción de sexos de juveniles de *Paralichthys orbignyanus*. Las hembras cultivadas a 23°C resultaron mayores en talla y peso que aquellas cultivadas a 20°C. Respecto a la proporción de sexos se registraron 22.4 y 45.0% de hembras a 20° y 23°C, respectivamente. El lenguado *Paralichthys orbignyanus* representa un excelente candidato como especie de cultivo, debido a su rápida adaptación al cautiverio, buenas tasas de crecimiento e índice de conversión. El crecimiento diferencial de las hembras sugiere la conveniencia de realizar monocultivos de los futuros engordes comerciales.

*Palabras clave:* lenguado, condiciones de cultivo, parámetro térmico, relación de sexos, talla.

### Summary

Influence of temperature on the sex ratio of juvenile Brazilian flounder

The objective of this study was to evaluate the effect of water temperature on sex ratio in juveniles of *Paralichthys orbignyanus*. Female fish cultivated at 23°C were heavier and larger than those grown at 20°C. The percentage of females was 22.4 and 45.0% at 20° and 23°C, respectively. Flounder *Paralichthys orbignyanus* is an excellent candidate species for aquaculture due to its quick acclimation to captive conditions, excellent growth and conversion rates. Differences in growth rates between sexes suggests the convenience of producing monosex populations of only faster-growing females.

*Key words:* flounder, rearing conditions, thermal conditions, sex proportion, growth rate.

### Introducción

En la Estación Experimental de Maricultura (EEM) perteneciente al Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), se desarrolla la tecnología de producción masiva de alevines de besugo *Pagrus pagrus* y de lenguado *Paralichthys orbignyanus* (Aristizabal y cols. 1997, Bambill y cols. 20031).

En julio de 2002, 753 juveniles de *P. orbignyanus* nacidos en la EEM (peso promedio de 0,59±0,36g) iniciaron la etapa de engorde a nivel experimental. A los 16,9 meses posteriores, el 22,5% de los individuos registró pesos de entre 800 g y 1,5 kg. Se hallaron diferencias altamente significativas para las tallas medias por sexo ( $p < 0,01$ ), mientras que para pesos medios por sexo las diferencias fueron significativas ( $0,01 < p < 0,05$ ) (Müller y cols., 2006a; Müller y cols., 2006b). Esta experiencia preliminar de engorde demostró que

el lenguado *P. orbignyanus* representa un excelente candidato como especie de cultivo, debido a su rápida adaptación al cautiverio, buenas tasas de crecimiento (1,38%/día) e índice de conversión (0,98). Asimismo, el crecimiento diferencial de las hembras sugirió la conveniencia de realizar monocultivos de los futuros engordes experimentales. Es por ello, que en julio de 2005 se inició un nuevo engorde con juveniles cultivados en la EEM (n: 2825). Mensualmente se registró un histograma de clases de talla, determinándose el rango y la frecuencia de los individuos de mayor tamaño. Los individuos menores al rango seleccionado fueron eliminados, manteniéndose una diferencia  $\leq 5$  cm entre los peces que quedaron en el tanque. La proporción de sexos fue 74% de hembras y 26% de machos a los 15,2 meses de iniciado el engorde. El elevado porcentaje de hembras podría deberse a la selección por tallas aplicada donde se vieron favorecidos los individuos de mayor tamaño que quedaron en el tanque (Radonic y cols., 2007). Del primer engorde de esta especie iniciado en 2002, mencionado anteriormente, en el cual no hubo selección por tallas, se comprobó que la proporción de sexos fue de 20,6% de hembras y 79,4% de machos, siendo las hembras de mayor tamaño que los machos (Müller y cols., 2006b), quedando demostrado que el manejo de selección por tallas facilitaría la obtención de stocks monosexo con prevalencia de hembras.

King y cols. (2001) registraron en juveniles de lenguado *P. dentatus* un mayor crecimiento en peso de las hembras en cautiverio. Asimismo, López Cazorla (2005) estudió la estructura de edades y parámetros de crecimiento por sexo para la población natural de *P. orbignyanus* presente en el estuario de Bahía Blanca (39° LS), determinando que las hembras son más grandes en peso y talla que los machos.

En base a estas observaciones, es evidente la necesidad de producir stocks monosexo con predominio de hembras para iniciar engordes comerciales. Por lo tanto, es fundamental el conocimiento del proceso de diferenciación sexual para poder controlar el sexo y optimizar los cultivos a mayor escala. Yamamoto (1999) y Luckenbach y cols. (2003) citan a la temperatura como factor importante en la determinación de sexos en especies del género *Paralichthys*, aplicada en estadios tempranos del desarrollo larvario, previo a la diferenciación sexual. Cuando larvas de *P. olivaceus* son sometidas a temperaturas entre 20 y 22,5°C, se registra un porcentaje de hembra:macho cercano a 1:1 (Yamamoto, 1999). Por el contrario, a temperaturas menores y mayores del rango mencionado, se incrementa la proporción de machos. Este mismo patrón se observa para el lenguado *P. lethostigma*, siendo 23°C el límite intermedio de producción de camadas con un porcentaje de hembras no superior al 50% (Luckenbach y cols., 2003). Mediante técnicas histológicas se comprobó que en *P. olivaceus* y *P. lethostigma* el sexo se diferencia entre los 27 y 37 mm LT y 75 y 120 mm LT, respectivamente (Yamamoto, 1999; Luckenbach y cols., 2003). En este sentido Radonic y Macchi (2009) realizaron un estudio histológico de las gónadas de juveniles de *P. orbignyanus* con la finalidad de describir el desarrollo gonadal en machos y en hembras de esta especie, provenientes de cultivo, concluyendo que la diferenciación sexual en esta especie ocurre entre el rango de tallas de 41 y 75 mm LT y edades entre 3,5 y 5,6 meses de vida, respectivamente.

Dado que se conoce poco sobre los mecanismos que regulan el control del sexo en *P. orbignyanus*, el presente estudio se llevó a cabo con el propósito de determinar el efecto de la temperatura de cultivo sobre la determinación sexual y prevalencia de hembras en los cultivos.

## Materiales y métodos

La EEM cuenta con grupos de reproductores silvestres aclimatados a condiciones controladas de fotoperíodo y temperatura desde el año 1999. Estos ejemplares (11 hembras; 28 machos) se ubicaron en un tanque circular de 5 m de diámetro con

sistema de recirculación de agua de mar, siendo alimentados diariamente a saciedad con calamar fresco (*Illex argentinus*), anchoita (*Engraulis anchoita*), jurel (*Trachurus lathami*) y pejerrey (*Odonthestes argentinensis*). Dos meses previos al desove la alimentación se reforzó con alimento balanceado suplementado con vitaminas y minerales (Bambill y cols., 2006).

Para el estudio del efecto de la temperatura en la proporción de sexos, se emplearon huevos fecundados obtenidos el 8 de febrero de 2005. Dicha camada consistió en 610.000 huevos fecundados (diámetro promedio  $849.71 \pm 9.40 \mu\text{m}$ ), con tasa de eclosión de 79%. Las larvas recién eclosionadas midieron en promedio  $2.43 \pm 0.06 \text{ mm}$ . El diseño de la experiencia constó de dos tratamientos de temperatura, cada uno mantenido por duplicado, hasta la finalización del estudio (día 164 posterior a la eclosión): a) temperatura ambiente ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , control) y b) temperatura experimental ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ), mantenida mediante calentadores eléctricos. Se utilizaron tanques de policarbonato de 1000 l de capacidad, donde se colocaron larvas recién eclosionadas a una densidad de 30 larvas por litro.

Para la producción de semilla o alevines y pre-engorde se siguieron los protocolos de Bambill y cols. (2003), Müller y cols. (2006a) y López y cols. (2009) para  $18\text{-}20^\circ\text{C}$  y sistema de agua verde. Las larvas fueron alimentadas, una vez reabsorbido el vitelo, con rotíferos *Brachionus plicatilis* enriquecidos con microalgas *Nannochloropsis oculata* hasta el día 29 de cultivo. Entre los días 25 y 45 de cultivo, se suministró *Artemia salina* enriquecida con una emulsión de DHA. El día 36 se comenzó con el destete, es decir, se reemplazó el alimento vivo por alimento balanceado. Los individuos fueron alimentados a saciedad, entre 4-6 veces al día con iniciadores formulados para el lenguado japonés *P. olivaceus* (Love Larva, Hayashikane Sangyo, Ltd., Japan). Durante los primeros 10 días de cultivo no hubo ningún recambio de agua en los tanques. En este sistema de cultivo semi-cerrado, el aumento del volumen de recambio diario es progresivo siendo del 10% al iniciar la larvicultura y del 300% al finalizar la misma. Diariamente se controló la temperatura, salinidad, pH y  $\text{NH}_4^+$ .

El muestreo final se realizó a los 164 días posteriores a la eclosión, registrándose valores de peso (a la centésima de gramo), de talla (a la décima de cm) y sexo (por disección y observación de gónadas) sobre 50 individuos por tanque. La incipiente diferenciación sexual en juveniles del lenguado *P. orbignyanus* ocurre entre el rango de tallas de 41 y 75 mm LT y edades entre 3,5 y 5,6 meses de vida, respectivamente (Radonic y Macchi, 2009).

#### Análisis estadístico

Para el estudio de la relación talla versus sexo se aplicó el test de ANOVA de una vía para las tallas medias. El test de igualdad de pendientes se utilizó para determinar la relación talla-peso versus sexo para las muestras de  $20^\circ$  y  $23^\circ\text{C}$  (independientes y agrupadas). En cada tratamiento se aplicó el test de comparación de proporciones para la relación de sexos (Sokal y Rohlf 1969).

### Resultados y Discusión

---

Los valores de salinidad y de pH fluctuaron entre 30 y 34 ppt y 6,60 y 7,80 respectivamente, mientras que  $\text{NH}_4^+$  se mantuvo por debajo de 0,5 mg/l. En la Tabla 1 se presentan los pesos y tallas promedio por sexo, además de la proporción de machos y de hembras registrados para cada temperatura en estudio. A  $23^\circ\text{C}$ , se hallaron diferencias significativas en favor de las hembras para los pesos promedio entre sexos ( $F=4,89$ ;  $0,01 < p < 0,05$ ) y para las tallas medias entre sexos ( $F=5,06$ ;

0,01<p<0,05), además de diferencias altamente significativas para el porcentaje de hembras (T=3,55; p< 0,01).

En la Fig. 1 se presentan los rangos de peso, el número de individuos y el porcentaje de hembras por rango para los grupos mantenidos a 20 y 23°C. Los individuos más grandes (13-14 g) se encontraron a 23°C. En general, para ambas temperaturas el porcentaje de hembras aumentó a medida que aumentó el rango en peso de los individuos. A 20°C el porcentaje de hembras no superó el 33% para los rangos mayores (11-12 g), mientras que a 23°C los valores hallados fueron  $\geq 35\%$ , alcanzándose un máximo de 59% de hembras para el rango de peso de 11-12 g.

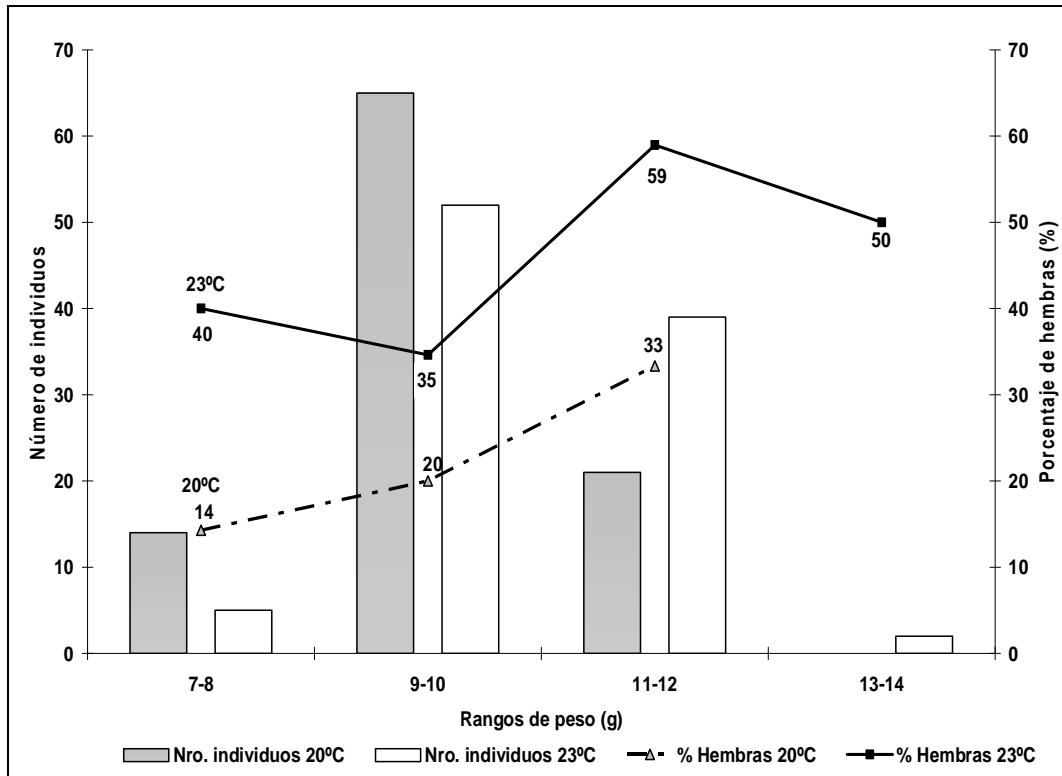
Tabla 1: Peso y talla promedio y proporción de sexos de juveniles de *Paralichthys orbignyanus* cultivados a 20° y 23°C.

Temperatura Sexo	20°C		23°C	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Peso (g)	9.4±2.9	10.7±3.2 (n.s.)	10.9±2.6 <sup>a</sup>	12.5±3.5 <sup>b*</sup>
Longitud (cm)	9.4±1.0	9.9±1.1 (n.s.)	10.0±0.9 <sup>a</sup>	10.5±1.0 <sup>b*</sup>
Proporción (%)	77.6	22.4 <sup>a</sup>	55.0	45.0 <sup>b**</sup>

n.s.= diferencias no significativas.

Diferentes letras indican diferencias estadísticas. \* Diferencias significativas (P < 0.05). \*\* Diferencias altamente significativas (P < 0.01).

Figura 1: Rangos de peso, número de individuos y porcentaje de hembras por rango para juveniles de *Paralichthys orbignyanus* mantenidos a 20° y 23°C.



En el presente estudio se comprobó que las hembras de *P. orbignyanus* fueron de mayor tamaño y peso que los machos a la temperatura de cultivo de 23°C. Asimismo, a esta temperatura la relación de sexos fue cercana a 1:1.

En juveniles de *P. lethostigma* se observó que a 18 y 28°C el porcentaje de machos fue del 78 y 96% respectivamente; sin embargo a 23°C la relación de sexos fue cercana a 1:1 (Luckenbach y cols. 2003). En juveniles de *P. dentatus* de 8, 12 y 15 meses de edad se observó que el porcentaje de hembras y peso promedio de las mismas, se incrementó significativamente a medida que progresó el rango de peso y/o talla (King y cols. 2001).

Del presente estudio podemos concluir que existiría un rango de temperatura que induce la determinación sexual en el lenguado *P. orbignyanus*, similar al patrón observado en *P. lethostigma* y *P. olivaceus*. Sin embargo, es necesario ampliar las investigaciones utilizando rangos de temperaturas mayores y menores a las analizadas, con la finalidad de comprender mejor efecto de este factor sobre la sexualidad. Asimismo, el crecimiento diferencial de las hembras permitirá iniciar a futuro engordes comerciales con prevalencia de hembras.

## Bibliografía

1. Aristizábal EO, MI Müller, GA Bambill, AV López, M Sabatini, M Costagliola, S Incorvaia, A Vega, JC Carrizo, E Marca. 1997. Producción de alimento vivo y cría de besugo. Período 1995-1996. Informe Técnico Interno INIDEP 83, 92 pp.
2. Bambill GA, AV López, MI Müller, M Radonić, JJ Boccanfuso. 2003. Larvicultura del lenguado argentino *Paralichthys orbignyanus*. V Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar, 8-12 diciembre, Mar del Plata, Argentina: 70.
3. Bambill GA, M Oka, M Radonić, AV López, MI Müller, JJ Boccanfuso, FA Bianca. 2006. Broodstock management and induced spawning of wild black Argentine flounder *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) in captivity. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 41:45-55.
4. King NJ, GC Nardo, CJ Jones. 2001. Sex-linked growth divergent of summer flounder from a commercial farm: Are males worth the effort?. *Journal of Applied Aquaculture* 11: 77-88.
5. López Cazorla A. 2005. On the age and growth of flounder *Paralichthys orbignyanus* (Jenyns, 1842) in Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Hidrobiología* 537: 81-87.
6. López, AV; MI Müller, M Radonić, GA Bambill, JJ Boccanfuso, FA Bianca. 2009. Larval culture technique and quality control in juveniles of flounder *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) in Argentina. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2009 7(1), 75-82.
7. Luckenbach JA, J Godwin, HV Daniels, RI Borski. 2003. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture* 216:315-327.
8. Müller MI, M Radonić, AV López, GA Bambill, M Oka, M Odai, JJ Boccanfuso, FA Bianca & M Cadaveira. 2006a. Engorde a altas densidades del lenguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) en Argentina. Primera Conferencia Latino Americana sobre Cultivo de Peces Nativos y Tercera Conferencia Mexicana sobre Cultivo de Peces Nativos, 18-20 octubre, Morelia, Michoacán, México: 1-17.
9. Müller MI, M Radonić, AV López, GA Bambill. 2006b. Crecimiento y rinde en carne del lenguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) cultivado en Argentina. Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, 6 de diciembre 2006- 15 de enero 2007:1-6.
10. Radonić M, MI Müller, AV López, GA Bambill. 2007. El lenguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839): especie potencial de cultivo en argentina. XII Congreso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR, 15 a 19 de abril de 2007, Florianópolis, Brasil. 1-3.
11. Radonic M, GJ Macchi. 2009. Gonadal sex differentiation in cultured juvenile flounder, *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839). *Journal of the World Aquaculture Society* 40 (1): 129-133.
12. Sokal R, FJ Rohlf. 1969. Test de igualdad de dos porcentajes. Análisis de frecuencias. En: *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Blume Ediciones: 663-664.
13. Yamamoto E. 1999. Studies on sex-manipulation and production of cloned populations in hirame flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schelegel). *Aquaculture* 173: 235-246.