



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y**  
**OCEANOGRÁFICAS**

**Evaluación de la respuesta de camuflaje del lenguado *Paralichthys adpersus* a un incremento térmico (+ 8°C).**

Sebastián Ignacio Peña Arteaga

Seminario de Título presentado al  
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA  
DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

Para optar al Título de  
BIOLOGO MARINO

Concepción – Chile

2023

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION  
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA

Este Seminario de Título ha sido realizado en el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas.

Profesor(a) Guía



---

Dr. Mauricio Urbina Foneron

Director de Tesis



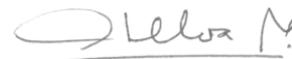
---

Dr. Mauricio Urbina Foneron

Ha sido aprobada por la

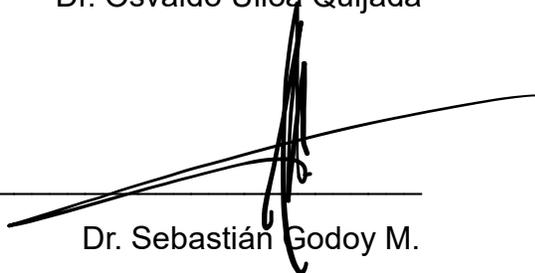
Siguiente Comisión

Evaluadora



---

Dr. Osvaldo Ulloa Quijada



---

Dr. Sebastián Godoy M.

Jefe de Carrera



---

Dr. Ariel E. Valenzuela Saldías

## INDICE

INDICE DE FIGURAS	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCION	4
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	9
METERIALES Y METODOS	10
Recolección y mantenimiento	10
Diseño experimental	10
Aclimatación	12
Toma de datos blancos	12
Incremento de temperatura	12
Calibración de la Cámara	13
Análisis de datos	15
Análisis estadístico	16
RESULTADOS	18
DISCUSION Y CONCLUSION	23
Implicancias en el estudio del camuflaje	23
Estrés térmico en teleósteos	24



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema extraído de Burton(2010).....	7
Figura 2: Esquema de diseño configuración experimental .....	11
Figura 3: línea de tiempo del experimento .....	13
Figura 4: Pecera experimental en proceso de calibrado .....	14
Figura 5: Imágenes de la configuración realizada para el experimento .....	15
Figura 6: Imagen hiperespectral y “Region of Interest” (ROI).....	16
Figura 7: Fotografías compuestas a partir de información espectral de los peces analizados .....	18
Figura 8: Grafico de líneas en donde se expresa el ángulo espectral SAM por imagen ordenados cronológicamente.....	19
Figura 9: Grafico de líneas comparativo de valor SAM .....	19
Figura 10: Boxplot comparativo de valor SAM por grupos .....	20
Figura 11: Matriz de gráficos que representan la firma espectral promedio de los peces de forma cronológica .....	21
Figura 12: Matriz de gráficos que representan la firma espectral promedio de los peces por grupos.....	22

## RESUMEN

Los peces planos son animales pertenecientes al orden Pleuronectiformes, descritos como depredadores carnívoros de fondos fangosos y arenosos. Se caracterizan por su distintivo camuflaje, debido a células pigmentarias llamadas cromatóforos. Estas células son capaces de modificar su exposición y así regular su visibilidad parcial, dándole a los peces planos su característico cambio de colores, con los cuales son capaces de camuflarse. El patrón de coloración relacionado con los cromatóforos de los peces planos suele ser descrito según las diferentes manchas presentes en su lado oculado, refiriéndose a ellas como manchas oscuras, anaranjadas, pálidas y negras, dadas según la concentración y el tipo de cromatóforos presentes en ellas. La respuesta de los cromatóforos al fondo está dada por movimientos intracelulares de la pigmentación en un lapso de segundos a horas. La glándula pituitaria juega un papel menor en las respuestas fisiológicas de los melanóforos frente cambios de fondo. Dicha respuesta está regulada por control neural, de manera más precisa, la regulación neural de la respuesta de los melanóforos es dada por el sistema nervioso simpático, siendo estas hormonas, adrenérgicas, adrenalina y noradrenalina quienes juegan un papel importante en la expresión de melanóforos. A raíz de esta información y de observaciones realizadas por Burton (2010) sobre *P. americanus*, describiendo patrones inversos en su camuflaje, en comparación con ejemplares en un laboratorio más al norte, es que este trabajo evalúa potenciales cambios en el camuflaje luego de un incremento térmico agudo. Para evaluar si el camuflaje del pez plano se ve afectado por variaciones de temperatura, fue desarrollado un diseño de medidas repetidas, donde cuatro ejemplares de *Paralichthys adspersus* fueron sometidos a un tratamiento térmico. Su respuesta cromática fue medida mediante métodos de imágenes hiperespectrales comparadas utilizando la métrica spectral angle mapper (SAM). Los resultados arrojan diferencias significativas en el camuflaje del pez plano *P. adspersus* luego de un tratamiento térmico que elevó su temperatura 8°C a partir de una temperatura de aclimatación de 15°C. En respuesta al aumento de temperatura, la intensidad de la señal comprendida entre los 420 y 550 nm aumenta en una magnitud de intensidad de 100 u.a. Por otra parte, la intensidad de la señal disminuye 100 u.a. entre los 600 a 750 nm.

## ABSTRACT

Flatfishes are animals belonging to the order Pleuronectiformes, described as carnivorous predators of muddy and sandy bottoms. They are characterized by their distinctive camouflage, due to pigment cells called chromatophores. These cells are able to modify their exposure and thus regulate their partial visibility, giving flatfish their characteristic color change, with which they are able to camouflage themselves. The chromatophore-related coloration pattern of flatfish is usually described according to the different spots present on their ocular side, referring to them as dark, orange, pale and black spots, given according to the concentration and type of chromatophores present in them. The response of the chromatophores to the background is given by intracellular movements of pigmentation within seconds to hours. The pituitary gland plays a minor role in the physiological responses of melanophores to background changes. This response is regulated by neural control, more precisely, the neural regulation of the melanophore response is given by the sympathetic nervous system, with these hormones, adrenergic, adrenaline and noradrenaline, playing an important role in melanophore expression. Following this information and observations made by Burton (2010) on *P. americanus*, describing inverse patterns in its camouflage, compared to specimens in a laboratory further north, it was decided to test empirically the difference in its camouflage related to its temperature. To understand whether flatfish camouflage is affected by temperature variations, a repeated measures design was developed, where four specimens of *Paralichthys adspersus* were subjected to a thermal treatment. Their chromatic response was measured by hyperspectral imaging methods compared using the spectral angle mapper (SAM) metric. The results show significant differences in the camouflage of *P. adspersus* flatfish after a heat treatment that raised their temperature by 8°C from an acclimatization temperature of 15°C. In response to the temperature increase, the signal intensity between 420 and 550 nm increases by an intensity magnitude of 100 u.a. On the other hand, the signal intensity decreases by 100 u.a. between 600 and 750 nm.

## INTRODUCCIÓN

Los peces planos, animales pertenecientes al orden Pleuronectiformes descritos como depredadores carnívoros de fondos fangosos y arenosos que asechan a sus presas. Se caracterizan por su distintivo camuflaje, herramienta que utilizan para cazar. Los peces planos deben sus colores a células pigmentarias llamadas cromatóforos, capaces de modificar su exposición y así regular su visibilidad parcial, dándole a los peces planos su característico cambio de colores, con los cuales son capaces de camuflarse (Scott, 1965; Akkaynak, et al 2017). Es bien sabido que los peces planos, post metamorfosis, presentan una asimetría cromática y migración ocular hacia uno de sus lados, adquiriendo flotabilidad negativa y hábitos bentónicos. Dado esto, desarrollan un lado ciego, y a la vez carente de células pigmentarias como melanóforos, xantoforos, etc. El otro lado, oculado, si presenta estas células (Suzuki & Tanaka, 2014). Las células conocidas como cromatóforos son nombradas acorde los pigmentos que poseen: células portadoras de melanina son conocidas como melanóforos, los llamados Xantoforos, contienen pigmentos carotenoides, iridoforos poseen cristales de guanina que les dan su característica iridiscencia y los leucoforos que, al igual que los iridoforos, poseen cristales de purinas (Burton, 2010; Fujii, 1993; Ahmad, 1979; Spaeth, 1913).

El patrón tegumentario de los peces planos suele ser descrito según las diferentes manchas presentes en su lado oculado, refiriéndose a ellas como manchas oscuras, anaranjadas, pálidas y negras, dadas según la concentración y el tipo de cromatóforos presentes en ellas (Akkaynak et al., 2017; Ejaz Ahmad, 1979). La descripción del patrón tegumentario de los peces planos es tal que: Las manchas oscuras poseen un gran número de melanóforos y pocos iridoforos. Las manchas blancas que tienen muchos iridoforos y pocos o ningún melanóforo. Manchas anaranjadas tienen un gran número de xantoforos. Y aquellas manchas oscuras y pálidas que pueden tener desde un moteado fino a un tono uniforme, son también llamadas como patrón general de fondo o en inglés "general background pattern". La respuesta de los cromatóforos al fondo está dada por

movimientos intracelulares de la pigmentación en un lapso de segundos a horas, en contraste con aquellos cambios en los cromatóforos que son dados por variaciones morfológicas en intervalos de días a semanas (Burton, 2010). Un buen ejemplo de este último caso se da en el pez plano *Pseudopleuronectes americanus* de la cual fue descrito que la densidad de sus melanóforos varía a lo largo del año, siendo esta de unos 60 melanóforos por mm<sup>2</sup> entre los meses de julio a septiembre y de unos 380 melanóforos por mm<sup>2</sup> entre los meses de diciembre a mayo. Igualmente mencionan que la densidad de cromatóforos estuvo estrechamente correlacionada con el espesor de la epidermis (Burton & Fletcher, 1983).

Kelman et al, (2006) examinaron los patrones de camuflaje del pez plano *Pleuronectes platessa* mediante el uso de una cámara digital y técnicas de caracterización del patrón de su piel. El estudio concluyó que había una alta correlación entre las manchas del pez y la capacidad de adaptarse visualmente a diferentes fondos, lo que sugiere que dicho pez plano podría responder a cambios en el contraste del sustrato. Es descrito también, mediante fotografías y comparación de granularidad por software, como *Bothus lunatus*, platijas de arrecife de coral, prefieren fondos con una coincidencia similar a sus patrones corporales (Tyrie et al., 2015). Mas recientemente Akkaynak et al., (2017) demostró mediante mediciones espectrales, que el camuflaje de *Paralichthys dentatus* y *Scophthalmus aquosus* coincidía espectralmente con la granularidad de fondos arenosos y graba, hasta un límite en el sustrato rocoso, que poseía la más alta granularidad. Se ha avanzado en el estudio del camuflaje a través del uso de métodos espectrales.

### **Regulación de cambios de color**

Se tiene conocimiento del rol de las glándulas pituitarias y pineal probando el estímulo de los cromatóforos con extracto pituitario crudo obteniendo como resultado la dispersión de los xantoforos, en tanto los melanóforos no presentan

respuesta. La inyección de extracto de la hipófisis, en cambio, produce efectos de agregación de los melanosomas (Burton, 1981). Burton además, sostiene, a raíz de investigaciones de fluoro-inmunoensayos de resolución temporal, para evaluar los niveles de la hormona estimulante de melanocitos en exposición a diferentes fondos, que la glándula pituitaria juega un papel menor en las respuestas fisiológicas de los melanóforos frente cambios de fondo, sosteniendo que dicha respuesta está regulada por control neural de manera más precisa, que, si dependiera de los niveles hormonales regulados por la hipófisis, dado a que los cambios en ellos ocurren lentamente. Sin embargo, asegura que podría influir en el grado de dispersión de los melanosomas. (Burton, 2010; Burton & Vokey, 2000).

La regulación neural de la respuesta de los melanóforos es dada por el sistema nervioso simpático, siendo estas neuronas, adrenérgicas (Hewer, 1927; Fernando & Grove, 1974; Fernando & Grove, 1974; Burton, 2010).

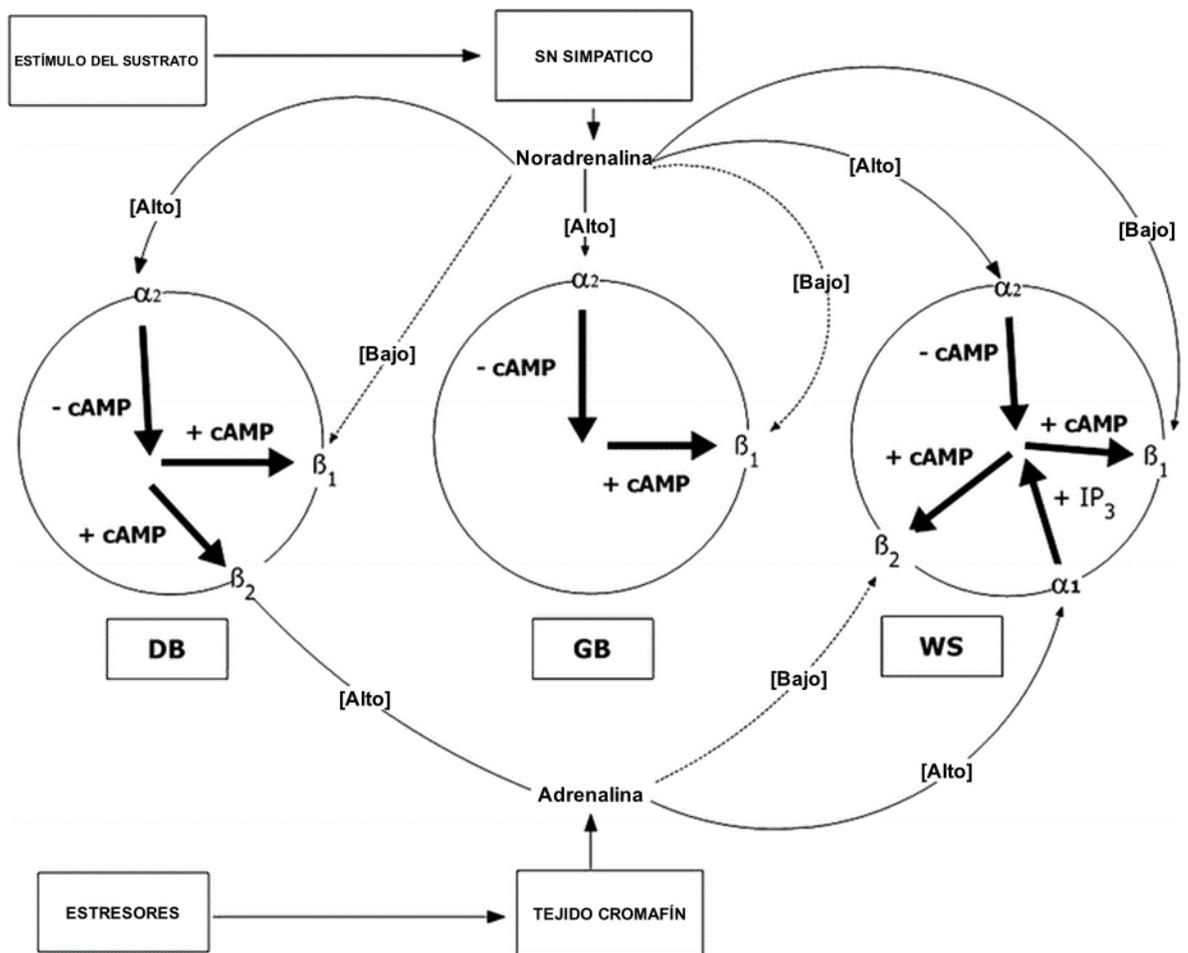


Figura1: Esquema extraído de Burton (2010). Representa la regulación adrenérgica de los melanosomas en melanóforos. Las flechas representan la agregación o dispersión de los melanosomas con respecto de los círculos, puestos para dar sentido a las flechas y agrupar a los melanóforos de bandas oscuras (DB), melanóforos presentes en el patrón general de fondo (GB) y melanóforos presentes en las manchas blancas (WS).  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_2$  representan los adrenoreceptores. Las flechas señalando a los diferentes adrenoreceptores representan los niveles relativos de adrenalina y noradrenalina, señalados como “Alto” y “Bajo”. +cAMP y – cAMP representa la actividad del segundo mensajero Adenosín monofosfato cíclico que, según el signo, se expresa que esta es aumentada o reducida, +IP<sub>3</sub> representa la actividad aumentada del segundo mensajero trifosfoinositol.

A raíz de la complejidad de los cambios de color en peces planos es que Burton (2010) propuso el modelo esquemático de *Pseudopleuronectes americanus*, apoyando como modelo comparativo en estudios de otras especies de peces planos. Sin embargo, algo que no se trata muy a fondo es la influencia de agentes estresores específicos en este modelo, centrándose en definir los mecanismos a partir de experimentos in vitro. Por ejemplo, Burton (2010) sugiere en base al comportamiento de *P. americanus*, que migra a aguas más frías y profundas en verano, que podría existir una relación entre el estrés térmico y las “respuestas inversas” en las áreas de sus patrones, dado que se observaron diferencias visuales en comparación con ejemplares de un laboratorio más al norte. Aunque tratándose de una afirmación subjetiva, pues faltan datos que respalden estas afirmaciones, tiene un planteamiento interesante y es que, hasta el momento no han sido cuantificados los aspectos de camuflaje de peces planos en función de su temperatura mediante métodos comparativos de camuflaje moderno. No sabemos realmente cómo afecta el cambio agudo de temperatura al camuflaje de los peces planos, si este cambio es perceptible a simple vista o si estas diferencias objetivas se perciben como verdaderas únicamente a través de análisis de datos.

Antecedentes en cambios de color en animales relacionados con la temperatura los hay en reptiles. *Pogona vitticeps* se correlaciona significativamente con los cambios de temperatura, además se han estudiado la respuesta de los iridoforos del lagarto *Urosaurus ornatus* (Smith et al., 2016; Morrison et al., 1996). Se sugiere que estos cambios de coloración tienen como funcionalidad el mejorar la termorregulación en reptiles (Smith et al., 2016; Stuart-Fox et al., 2017).

El lenguado de tres manchas, *Paralichthys adspersus* es un animal nativo en Chile que habita en golfos y bahías someras en busca de resguardo y temperaturas adecuadas. Sus aspectos biológicos y de cultivo están bien documentados, en donde se informa que sus rangos mínimos y máximos de temperatura para el desove oscilan entre los 12,7°C y los 19,7°C (Silva & Oliva, 2010; Acuña & Cid, 1995). Datos de temperatura obtenidos desde el centro de

datos oceanográficos y meteorológicos (CDOM) del año 2017 en la bahía de Dichato, lugar donde habita esta especie, nos hablan de variaciones de temperatura por hora de hasta 4°C y máximos de temperatura por sobre los 23°C (Sur-Austral,2023,p. <http://www.cdom.cl/>). A su vez, parámetros utilizados en el estudio fisiológico de trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* nos permite establecer antecedentes metodológicos (Templeman et al., 2014).

### **Hipótesis**

El camuflaje del pez plano *Paralichthys adspersus* se verá afectado negativamente por un incremento agudo de temperatura.

### **Objetivo general**

Evaluar el camuflaje de *Paralichthys adspersus* antes, durante y después de un incremento agudo de temperatura.

### **Objetivos específicos**

- Desarrollar un método in vivo que permita el estudio del camuflaje en *Paralichthys adspersus* en función de agentes agudo provocado por la temperatura.
- Diseñar y construir un mecanismo compatible con la toma de datos de cubo hiperespectral, capaz de modificar de manera controlada los gradientes de temperatura a los cuales se someterán los ejemplares de *Paralichthys adspersus*.
- Tomar datos de cubo hiperespectral del lenguado *Paralichthys adspersus* para caracterizar su respuesta frente a los agentes anteriormente mencionados.
- Establecer a través de la literatura los mecanismos que podrían afectar el camuflaje de *Paralichthys adspersus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Recolección y mantenimiento:**

Se utilizaron en este trabajo 4 ejemplares adultos (25,8 cm longitud total y 208,6 gramos en promedio) de *Paralichthys adspersus* colectados en el Golfo de Arauco mediante redes desde la orilla, los cuales fueron transportados hacia la Universidad de Concepción en Concepción. Los peces mantuvieron en acuarios dentro de una cámara termorregulada a una temperatura aproximada de 15°C. Los peces se mantuvieron en un sistema cerrado de peceras con dimensiones de 60 x 35 x 5 cm (largo x ancho x alto), con recirculación de agua y recambio de agua dos veces por semana. Fueron alimentados con pejerrey vivo, les fue programado un ciclo 12D: 12N.

### **Diseño experimental:**

Para abordar esta pregunta se diseñó una configuración que permite modificar parámetros como la temperatura en una pecera, monitorear y tomar imágenes RGB e hiperespectrales de los peces (figura 2). De modo que sea posible variar la temperatura sin alterar otros factores. Esta configuración consta de dos peceras dentro de las cuales una de ellas tendrá un termostato de baño termorregulado, esquematizado en la figura 2 con un icono de termómetro junto con la leyenda “regulador de temperatura”. Este aparato hará la función de incrementar la temperatura y recircular el agua. Una bomba de agua moverá agua salada, desde una pecera hacia la otra. Una fuente de oxígeno mantendrá niveles de normoxia en el agua. La pecera que albergará al pez tendrá dos placas perforadas, una que distribuya el flujo de agua de manera uniforme a través de la pecera y otra que mantenga el nivel de agua a una altura constante. En esta última pecera se tomarán las imágenes hiperespectrales y es sobre esta pecera donde irá el montaje de los focos led tanto como el desplazador para la cámara hiperespectral.

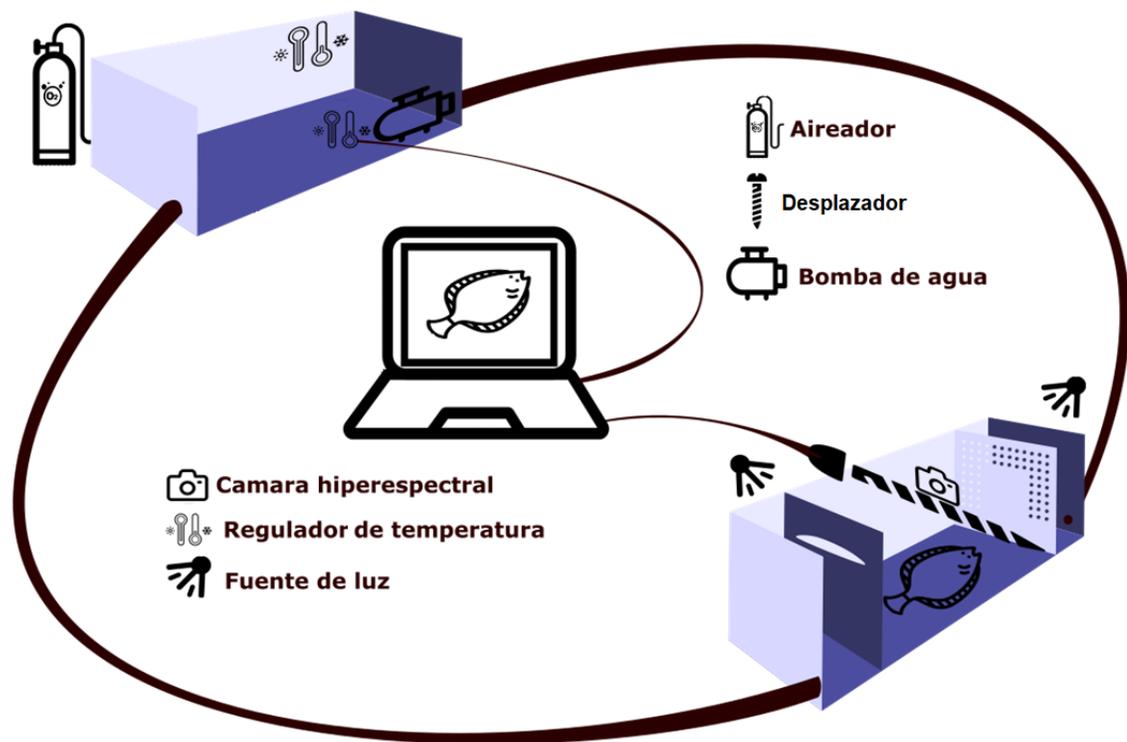


Figura 2: Esquema de diseño configuración experimental. En él se aprecian rotulados iconos que representan elementos dentro de la configuración. Como lo son las fuentes de iluminación, el desplazador para la cámara y el diseño las peceras. El flujo de agua en esta ilustración se mueve en sentido horario. En el esquema se aprecian rotulados a través de iconos los diferentes instrumentos utilizados en este experimento. “Cámara hiperespectral” corresponde a la cámara Resonon modelo Pika L. “Regulador de temperatura” corresponde a un termostato de baño termostático. “Fuente de luz” corresponde a fuentes de luz led. “Aireador” corresponde a un aireador utilizado para mantener niveles de normoxia. “Desplazador” corresponde a la banda transportadora de precisión Zaber. “Bomba de agua” corresponde a la bomba que mueve el agua de forma activa desde una pecera a otra.

**Aclimatación:**

El pez es movido a la pecera experimental, la cual poseía un sustrato de arenas claras, la noche anterior al experimento, con el sistema de recirculación de agua en funcionamiento a la temperatura inicial del experimento que son 15°C. Antes de iniciar el experimento moveremos 2 veces la banda transportadora en un lapso de 30 minutos; Por primera vez y otra vez pasado 15 minutos, replicando el movimiento de la banda transportadora al momento en el que la cámara toma datos. Esto con el motivo de controlar potenciales cambios en el camuflaje a consecuencia del movimiento de la cámara percibido por el pez, procurando que este esté presente previo a la toma de datos del blanco en nuestro tratamiento.

Se utilizó un diseño de medidas repetidas para la realización de este experimento (Sullivan, 2008) explicado a continuación.

**Toma de datos blancos:**

En un intervalo de 30 minutos, tomamos tres imágenes. La primera imagen fue tomada 15 minutos después de haber movido la banda transportadora en el periodo de aclimatación. Luego de 15 minutos, tomamos la segunda imagen. La tercera imagen tomada del periodo de aclimatación corresponde también al inicio del incremento de temperatura.

**Incremento de temperatura:**

Una vez tomada la tercera imagen, se dio inicio al incremento de temperatura, habiendo configurado previamente el termostato del baño termorregulado comenzará a subir la temperatura 8°C, desde la temperatura inicial, en un periodo de 15 minutos. Llegada a la temperatura tomamos la cuarta imagen y 15 minutos después de llegada a esa temperatura tomamos la 5ta imagen (figura 3).

El experimento consta de una duración de 90 minutos y tomando 5 imágenes con la cámara hiperespectral. Para este experimento se llevarán a cabo 3 réplicas.

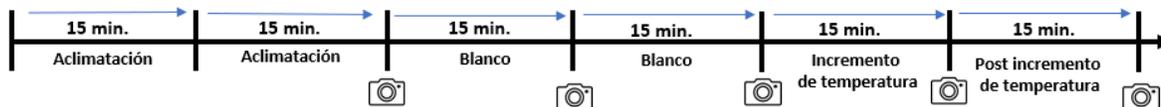


Figura 3: línea de tiempo del experimento. La banda transportadora es accionada en intervalos regulares cada 15 minutos representados en las líneas ortogonales. Los iconos de cámara fotográfica indican momentos en donde se tomaron datos.

### **Calibración de la cámara:**

La calibración del equipo es llevada a cabo en el lugar donde son tomado los datos. La cámara hiperespectral fue montada en una habitación termorregulada y oscura.

Para calibrar el equipo se requiere una referencia del máximo de reflectancia y otra del mínimo de reflectancia. Para calibrar el máximo de reflectancia, se requiere de un elemento altamente reflectante, conocido también como estándar de reflectancia, para esto usamos una placa de teflón blanca adaptada al campo de visión de la cámara que será utilizado como referencia. Esta placa es ubicada al fondo de la pecera Figura 4, a modo de corregir la interferencia de la señal producida por el campo de agua. Luego, procedemos a la calibración del mínimo de reflectancia, donde cubrimos el lente de la cámara para que no reciba luz.

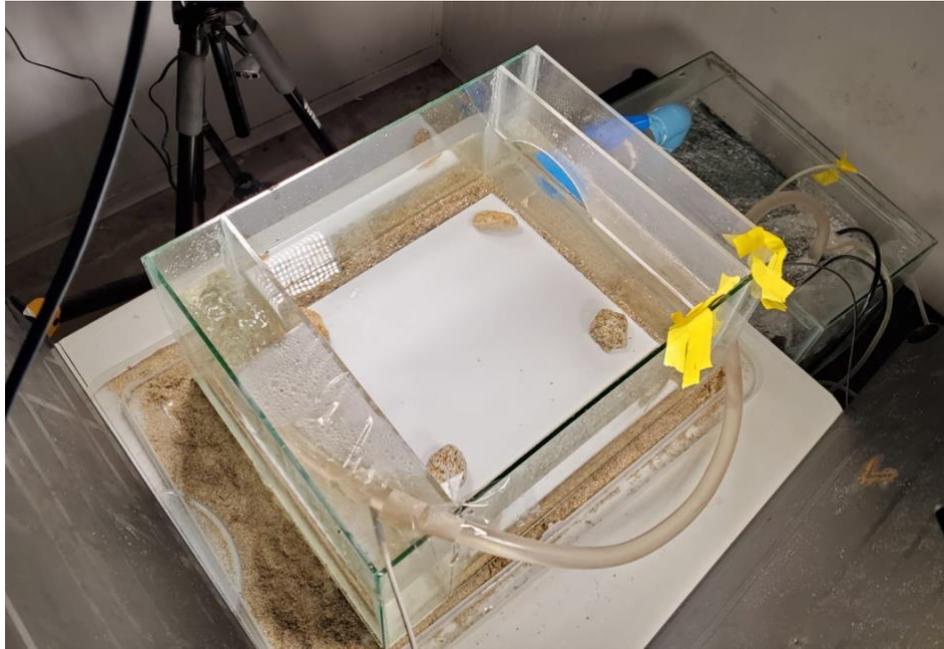


Figura 4: Pecera experimental en proceso de calibrado. La placa de teflón utilizada en la calibración del máximo de reflectancia fue fijada al fondo de la pecera por pesos, en este caso rocas, puestas en las esquinas. La presencia de las rocas no interfiere de ninguna manera con la calibración de la Cámara.

Otros factores que influye en la señal espectral son las fuentes de luz, las cuales deben ser homogéneas y no deben tener interferencia, como lo puede ser una fuente de luz ajena al experimento. Para ello apagamos todas las luces de la habitación, quedando únicamente encendidos los focos led que usamos como fuente de luz (figura 5). La intensidad lumínica de estas fuentes de luz fue sincronizada con el fin de que ambos focos operen a la misma intensidad. Los focos de luz fueron ubicados equidistantes respecto de la pecera experimental. Este último punto es relevante, dado que, en datos de prueba previos al experimento, fueron percibidas inconsistencias en la señal entregada por la cámara, siendo esto solucionado al posicionar los focos de luz equidistantes entre si con respecto a la pecera experimental.



Figura 5: Imágenes de la configuración realizada para el experimento. La configuración consta de un trípode (3) sosteniendo una cámara RGB marca Basler modelo ac2500 (7). La cámara hiperespectral marca Resonon modelo Pika L (6) fue acoplada en una banda transportadora de precisión de marca Zaber (1), que a su vez fue puesta sobre dos trípodes (2). La pecera experimental (4) fue posicionada de forma equidistante respecto de ambas fuentes de luz led (5), además, se utilizaron dos planchas de plástico (8) para impedir la visión del pez al entorno.

## Análisis de datos

### Spectral angle mapper:

Definida como:

$$SAM(v1, v2) = \cos^{-1} \left( \frac{v1 \cdot v2}{\|v1\| \|v2\|} \right)$$

Donde  $v1$  y  $v2$  son vectores creadores a partir de la información espectral de las imágenes a comparar.  $\|\cdot\|$  indica sus magnitudes. El valor de “spectral angle mapper” o “SAM” por sus siglas en inglés, corresponde al ángulo entre dos vectores formados cada uno a partir de datos espectrales. Este ángulo nos habla de cuan convergentes o divergentes son estos vectores entres si, con la finalidad de poder cuantificar la similitud espectral entre dos imágenes. El valor SAM no

evalúa ni refleja la intensidad de los vectores, únicamente representa la diferencia entre los vectores entre si (Sohn & Rebello, 2002). La métrica SAM ha sido utilizada ampliamente en análisis de data satelital (Zawada & Mazel, 2014) y más recientemente en análisis de datos hiperespectrales en el ámbito de estudios sobre el camuflaje de ciertos animales (Akkaynak et al., 2017; Chiao et al., 2011).

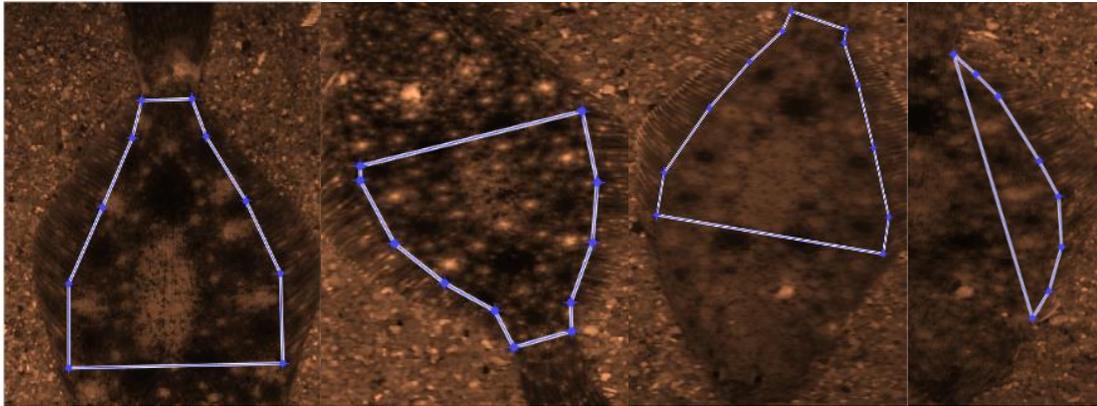


Figura 6: Imagen hiperespectral y “Region of Interest” (ROI). Correspondiente a cada uno de los 4 peces analizados.

Los ROI fueron seleccionados acorde a sus patrones tegumentarios, siendo característica en esta especie 3 puntos distintivos de su patrón (Silva & Oliva, 2010), de los cuales, usaremos dos de esos puntos ubicados posterior a su aleta pectoral para trazar una línea de corte sobre dichos puntos, fue seleccionado parte del pedúnculo caudal, a través del contorno del pez al margen del límite del origen radial, a excepción del pez numero 4, cuya selección del ROI se vio limitada por la exposición del pez a la cámara como se puede apreciar en las figuras 6 y 7.

### **Análisis estadístico**

Se compararon los datos obtenidos de la segunda imagen en el periodo de blanco del experimento, con los datos correspondientes a la temperatura de inicio, aumento de 8°C a partir de la temperatura de inicio y 15 minutos posterior a haber

aumentado la temperatura. Se llevó a cabo en el lenguaje de programación R una prueba estadística sobre los grupos, para las diferencias SAM.

Fue aplicado una prueba Shapiro-Wilk con un valor de significancia estándar (0.05) la cual determinó normalidad del conjunto de datos. Fue demostrado mediante una prueba Bartlett con un valor de significancia estándar la homogeneidad de varianzas.

Al comprobar que los grupos de datos cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad, se procedió a evaluar diferencias entre grupos mediante una prueba anova de un factor, sobre la cual se aplicó una prueba Tukey HSD con un valor de significancia estándar para determinar diferencias entre los grupos.

## RESULTADOS

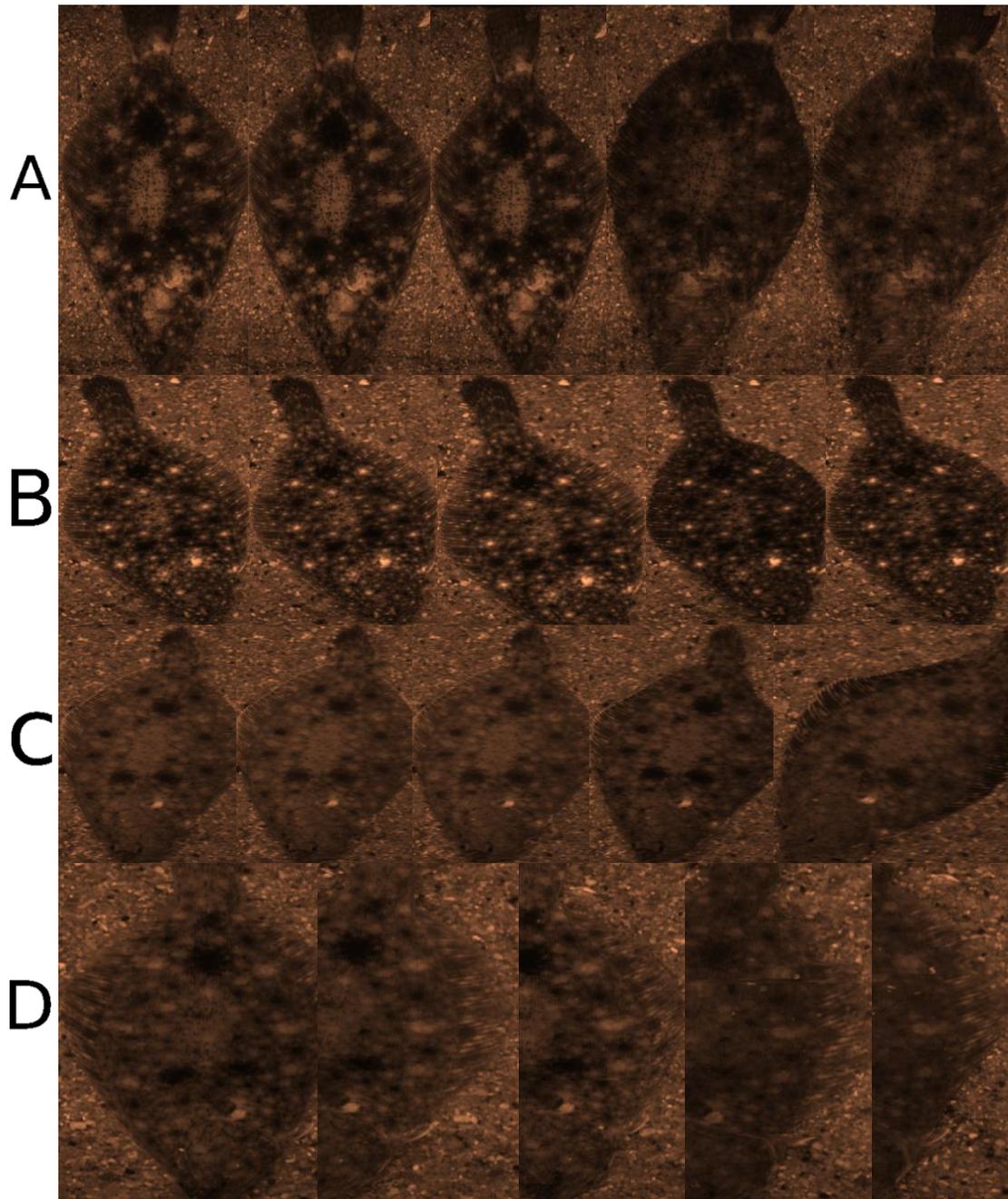


Figura 7: Fotografías compuestas a partir de información espectral de los peces analizados. De izquierda a derecha se observa de forma cronológica cada foto de un pez durante el experimento. De arriba hacia abajo se observa de forma secuencial los cuatro peces que fueron analizados identificados con letras de la “A” a la “D”.

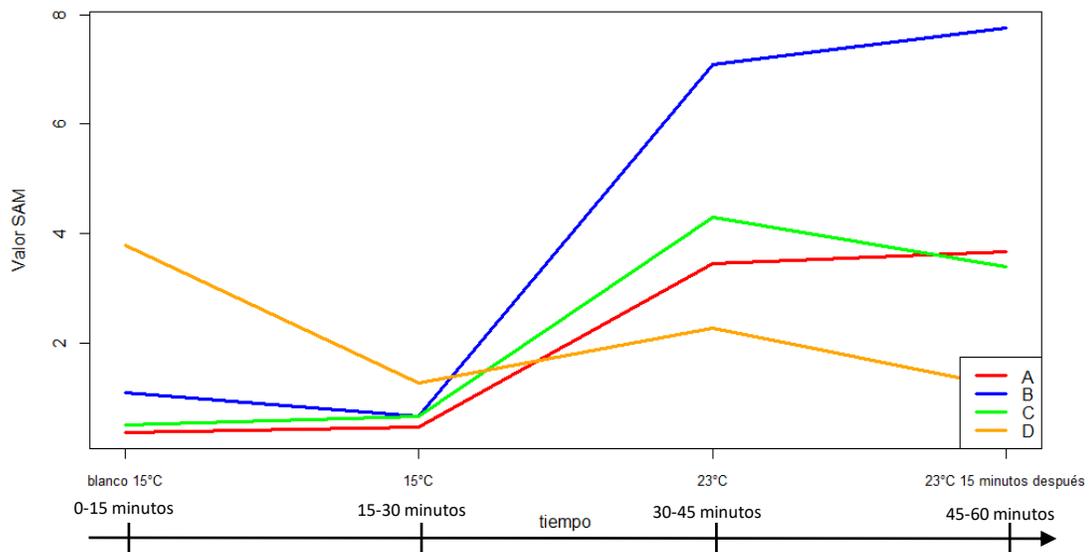


Figura 8: Grafico de líneas en donde se expresa el ángulo espectral SAM por imagen comparada ordenados cronológicamente. "A, B, C y D" fueron definidos en la figura 7. Las imágenes generadas fueron comparadas de la siguiente forma: "blanco 15°C" (Img1 vs Img2), "15°C" (Img2 vs Img3), "23°C" (Img3 vs Img4) y "23°C 15 minutos después" (Img4 vs Img5). Graficadas de forma cronológica con respecto al diseño experimental.

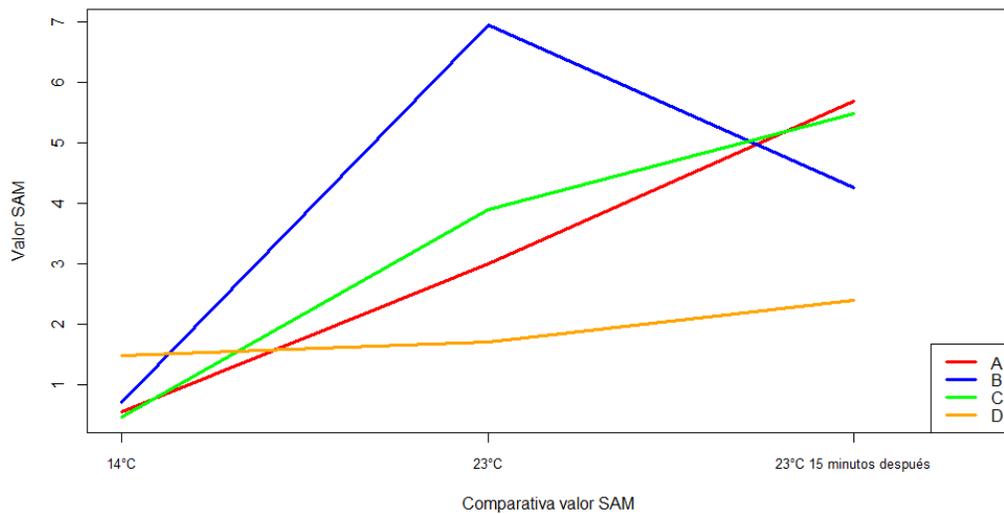


Figura 9: Grafico de líneas comparativo de valor SAM por grupos. "A, B, C y D" fueron definidos en la figura 7. Compara la segunda imagen tomada en el periodo de blanco del experimento con las imágenes en la temperatura de inicio, aumento de 8°C y 15 minutos posterior a haber aumentado 8°C.

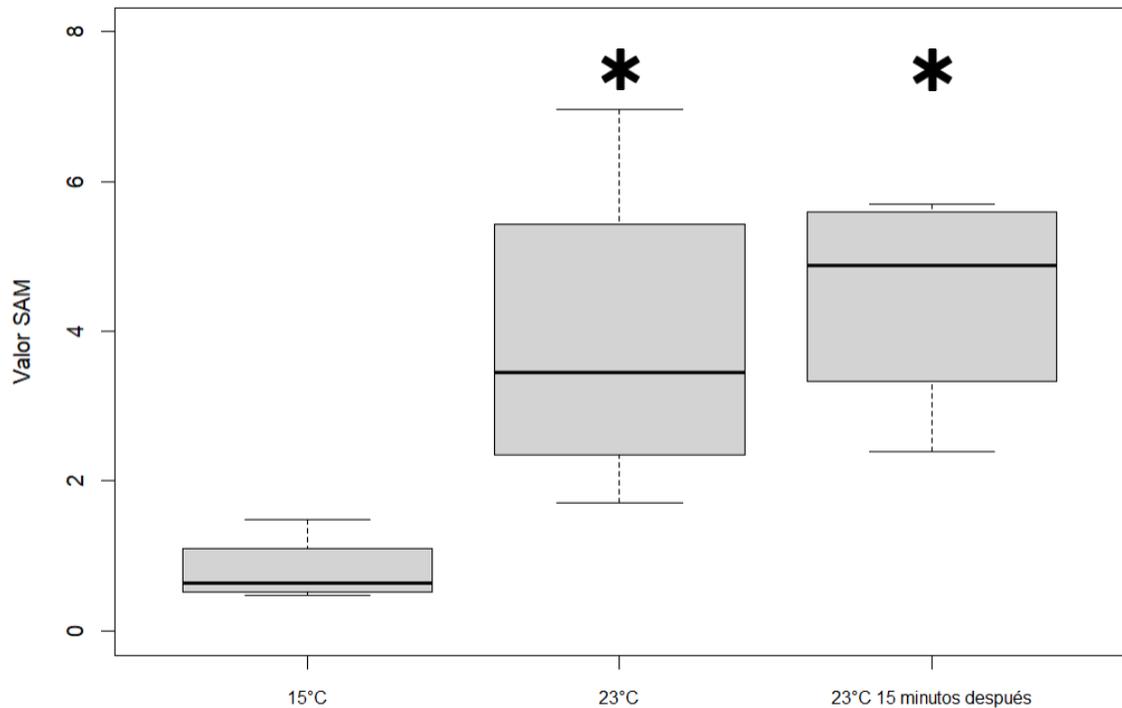


Figura 10: Boxplot comparativo de valor SAM por grupos. El grafico compara la segunda imagen tomada en el periodo de blanco del experimento, con los datos correspondientes a la temperatura de inicio, aumento de 8°C a partir de la temperatura de inicio y 15 minutos posterior a haber aumentado la temperatura. Los asteriscos indican diferencias significativas en los grupos.

A continuación, se detallan los resultados para las diferencias SAM representadas en los grupos de las figuras 9 y 10. La prueba de Shapiro-Wilk demostró normalidad con un Valor  $p = 0.361$ , mientras que la prueba de Bartlett demostró la homogeneidad de varianzas con un Valor  $p = 0.089$ .

La prueba Tukey HSD aplicada sobre análisis de varianza de un factor demostró que no hay evidencia estadística suficiente para determinar diferencias entre el grupo a 23°C y el grupo 15 minutos después de llegar a 23°C (Valor  $p = 0.869$ ). Hay evidencia estadística para determinar diferencias entre los valores SAM a temperatura inicial de 15°C y valores expresados a 23°C (Valor  $p = 0.052$ ). Hay evidencia estadística para determinar diferencias entre los valores SAM a temperatura inicial de 15°C y 15 minutos después de llegar a 23°C (Valor  $p = 0.0236$ ).

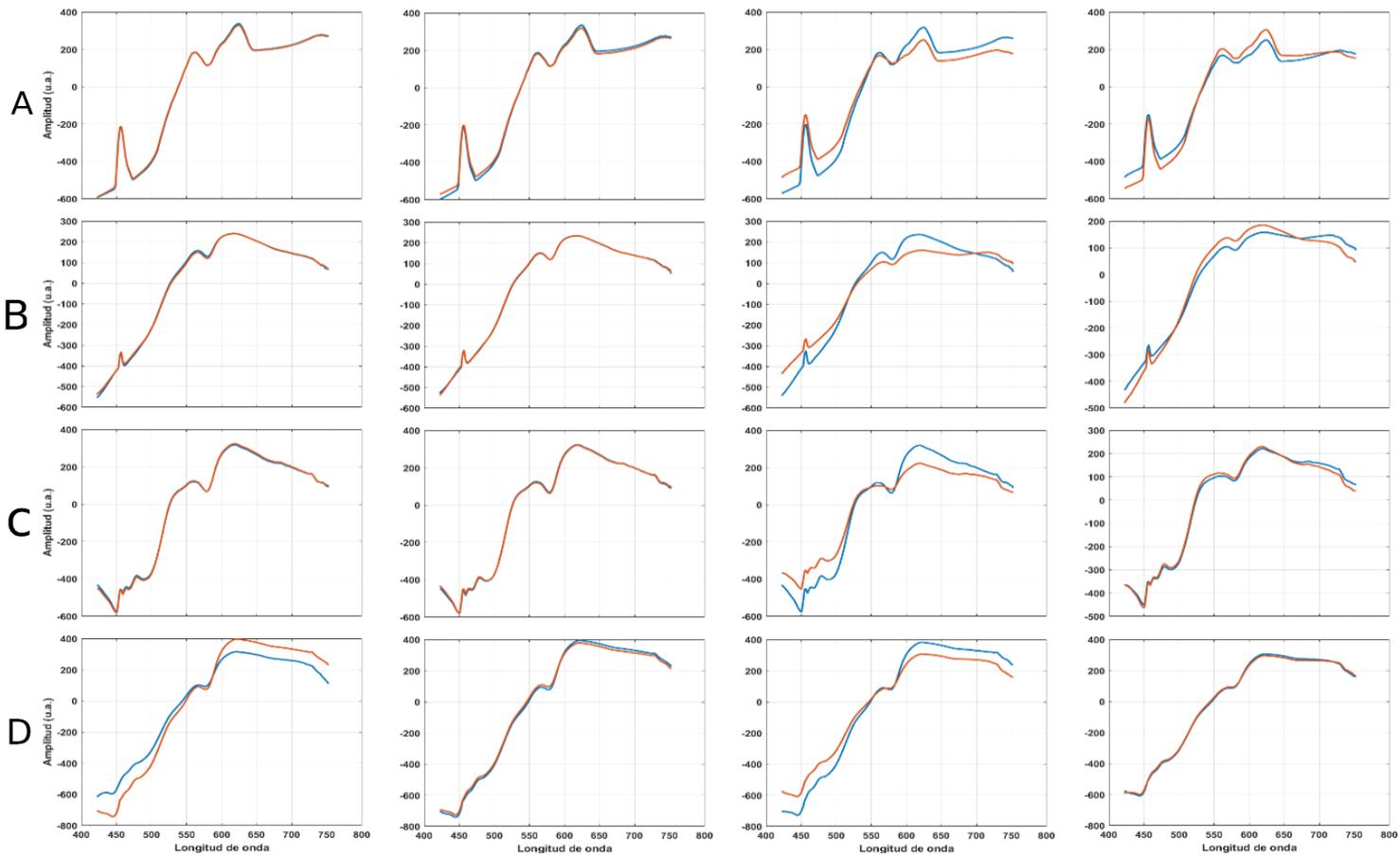


Figura 11: Matriz de gráficos que corresponde a los peces comparados de forma cronológica. "A, B, C y D" fueron definidos en la figura 7. Los datos de las imágenes obtenidas fueron comparados de igual forma a como se describe en la figura 8. El eje X representa longitudes de onda entre los 400 y 800 nm y el eje Y está representada la amplitud en unidades arbitrarias. Representan la firma espectral promedio, la cual, para una mejor visualización, se le restó su media en  $\lambda$ , centrando la media de los datos respecto a 0 en el eje de amplitud.

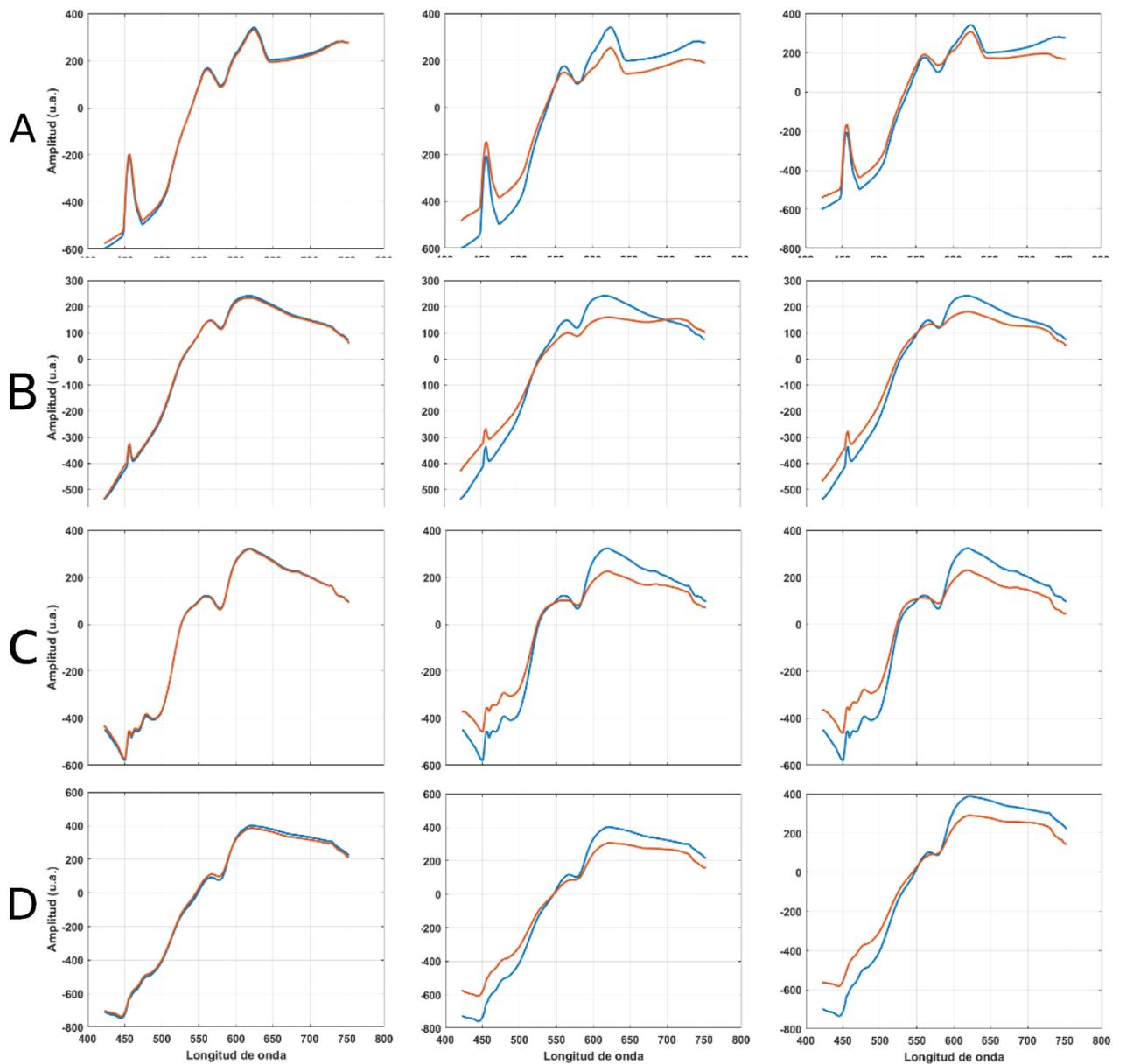


Figura 12: Matriz de gráficos que corresponde a los peces comparados por grupos. "A, B, C y D" fueron definidos en la figura 7. Los datos de las imágenes obtenidas fueron comparados de igual forma a como se describe en la figura 9. El eje X representa longitudes de onda entre los 400 y 800 nm y el eje Y está representada la amplitud en unidades arbitrarias. Representan la firma espectral promedio la cual, para una mejor visualización, se le restó su media en  $\lambda$ , centrado la media de los datos respecto a 0 en el eje de amplitud.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### Implicancias en el estudio del camuflaje

El estudio del camuflaje de animales marinos tiene gran relevancia ecológica (Russell & Dierssen, 2015; Nokelainen et al., 2017; Kolmann et al., 2021) haciéndose cada vez más común el uso de métodos multi e hiperespectrales en estudios recientes que caracterizan el camuflaje de diversas especies. (Akkaynak et al., 2017; Postema et al., 2022; Chiao et al., 2011).

Los datos expuestos en el presente estudio apuntan a un cambio en el camuflaje del pez plano, En la figura 11 y 12, se observa como en respuesta al aumento de temperatura la intensidad de la señal comprendida entre los 420 y 550 nm, que representa las longitudes de onda relativo a los azules, tiende al aumento en su intensidad de hasta 100 unidades arbitrarias en la amplitud. Se han realizado estudios con imágenes hiperespectrales, en donde se evalúa la correspondencia de colores en cangrejo asociados a sargazo, en conjunto con modelos tetracromatas en aves. Concluyendo que aves poseen una sensibilidad al rojo cercano pudiendo estos discriminar sobre cangrejos asociados a sargazos. (Russell & Dierssen, 2015). Estos antecedentes nos permitirían plantear estudios ecológicos relacionados al camuflaje en donde se relacionen aspectos espectrales en peces planos con su interacción trófica, lo que nos permitiría determinar si este cambio de coloración puede o no ser perjudicial para estos peces (Acuña & Cid, 1995). Ya se han establecido modelos cromáticos con respecto a diferentes observadores, calamar monocromático, cangrejo dicromático y pez guitarra tricromático, en peces planos, concretamente en *Paralichthys dentatus* y *Scophthalmus aquosus* (Akkaynak et al., 2017), aunque aún no se aborda el tema implicando factores biológicos que puedan mermar el camuflaje del pez.

Datos de temperatura obtenidos desde el centro de datos oceanográficos y meteorológicos (CDOM) en la bahía de Dichato, del año 2017 señalan variaciones de temperaturas por hora entre 3 a 4°C de una baja frecuencia (15/3000), registrando valores de temperatura superiores a 23°C entre los meses de enero y mayo del mismo año (Sur-Austral, 2023, p. <http://www.cdom.cl/>). A pesar de que se nos presentan datos que podrían sugerir un escenario similar al tratamiento realizado en este experimento, las variaciones de temperatura en un escenario natural en la bahía de Dichato no son tan abruptas como las realizadas en este experimento, no superando  $\Delta T > 4^\circ\text{C}$  requiriéndose más datos sobre las respuestas espectrales en peces planos a diferentes  $\Delta T$  en conjunto con datos actualizados de temperatura in situ en zonas donde suele habitar poblaciones de *Paralichthys adspersus*.

### **Estrés térmico en teleósteos**

En teleósteos es sabido que a medida que aumenta la temperatura aumenta de igual forma la tasa metabólica, lo que conlleva una mayor demanda energética, si esta se mantiene fuera de los rangos óptimos del individuo, lo que desencadena en una disminución del crecimiento, puesto que la energía será destinada a solventar las demandas metabólicas del animal (Martínez et al., 2009; Martín de los Santos Rodríguez de Vera, 2017). Se ha demostrado y asentado mediante diversas investigaciones y modelos matemáticos, el rol de la familia de proteínas chaperonas de shock térmico, aunque se discute la exclusividad de sus mediaciones en el papel de estrés y shock térmico, puesto que median y están presentes en otras relaciones metabólicas independientes del estrés térmico en peces, su papel como indicador del estrés térmico está bien establecido, cabe añadir que es conocida la relación de las catecolaminas, cortisol con la expresión de las proteínas de estrés térmico (Ravikumar & Muthuraman, 2014; Iwama et al., 1998).

Estudios hechos sobre trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* describen un aumento de hasta 100 veces en adrenalina y 50 veces en noradrenalina luego

de un choque térmico controlado a 25°C, 12°C por encima de la temperatura de aclimatación, junto con una potenciación adrenérgica en la expresión de proteínas de shock térmico (Currie et al., 2008). La relación fisiológica entre la expresión de proteínas de shock térmico quedó demostrada en un experimento in vivo en el cual se trataron peces con un inhibidor de la respuesta  $\beta$ -adrenérgica dando como resultado una reducción en la respuesta de la proteína HSP70 (Templeman et al., 2014).

La información entregada en este estudio nos habla sobre la respuesta espectral del lenguado *Paralichthys adspersus* frente a un tratamiento de shock térmico agudo. Según la información entregada por las pruebas estadísticas existe una diferencia significativa entre los grupos de temperatura representados en las figuras 9 y 10, en donde no hay evidencia estadística suficiente para determinar diferencias al llegar a 23°C y 15 minutos después de llegar a 23°C, sin embargo, hay evidencias suficiente para determinar diferencias entre la temperatura inicial de 15°C y la temperatura de tratamiento de 23°C, hay evidencia estadística para determinar diferencias entre la temperatura inicial de 15°C y 15 minutos después de llegar a 23°C. Entendiendo que al haber diferencias entre los grupos, no se rechaza la hipótesis establecida. Esta información sugiere la posibilidad de establecer nuevos métodos no invasivos de medición de estrés fisiológico en pleuronectiformes e incluso teleósteos, teniendo el potencial de desarrollar herramientas que ayuden en el cultivo y manejo de peces planos. Debiendo establecer para futuros proyectos mediciones de respuestas fisiológicas al estrés en relación con las respuestas espectrales entregadas en *Paralichthys adspersus* con el objetivo de correlacionar ambas respuestas y así instaurar modelos que nos ayuden al entendimiento de este fenómeno.

## Bibliografía

Acuña, E., & Cid, L. (1995). On the ecology of two sympatric flounders of the genus *Paralichthys* in the Bay of Coquimbo, Chile. *Netherlands Journal of Sea Research*, 34(1–3), 7–18. [https://doi.org/10.1016/0077-7579\(95\)90011-x](https://doi.org/10.1016/0077-7579(95)90011-x)

Ahmad, E. (1979). The integumentary chromatophore patterns in the plaice *Pleuronectes platessa* L., with special reference to their responses towards different variegated backgrounds.

Akkaynak, D., Siemann, L. A., Barbosa, A., & Mäthger, L. M. (2017). Changeable camouflage: how well can flounder resemble the colour and spatial scale of substrates in their natural habitats? *Royal Society Open Science*, 4(3), 160824. <https://doi.org/10.1098/rsos.160824>

Burton, D. (1981). Physiological responses of melanophores and xanthophores of hypophysectomized and spinal winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* Walbaum. *Proceedings of the Royal Society of London*, 213(1191), 217–231. <https://doi.org/10.1098/rspb.1981.0063>

Burton, D., & Fletcher, G. L. (1983). Seasonal changes in the epidermis of the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. *Marine Biological Association of the United Kingdom*, 63(2), 273–287. <https://doi.org/10.1017/s0025315400070661>

Burton, D., & Vokey, J. E. (2000). The relative in vitro responsiveness of melanophores of winter flounder to alpha-MSH and MCH. *Journal of Fish Biology*, 56(5), 1192–1200. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2000.tb02133.x>

Burton, Derek. (2010). Flatfish (Pleuronectiformes) chromatic biology. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20(1), 31–46. <https://doi.org/10.1007/s11160-009-9119-0>

Chiao, C.-C., Wickiser, J. K., Allen, J. J., Genter, B., & Hanlon, R. T. (2011). Hyperspectral imaging of cuttlefish camouflage indicates good color match in the eyes of fish predators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(22), 9148–9153. <https://doi.org/10.1073/pnas.1019090108>

Currie, S., Reddin, K., McGinn, P., McConnell, T., & Perry, S. F. (2008). Beta-adrenergic stimulation enhances the heat-shock response in fish. *Physiological and Biochemical Zoology: PBZ*, 81(4), 414–425. <https://doi.org/10.1086/589095>

Fernando, M. M., & Grove, D. J. (1974a). Melanophore aggregation in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.) II. In vitro effects of adrenergic drugs. *Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology*, 48(4), 723–732. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(74\)90615-x](https://doi.org/10.1016/0300-9629(74)90615-x)

Fernando, M. M., & Grove, D. J. (1974b). Melanophore aggregation in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.)—I. Changes in in vivo sensitivity to sympathomimetic amines. *Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology*, 48(4), 711–721. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(74\)90614-8](https://doi.org/10.1016/0300-9629(74)90614-8)

Fujii, R. (1993). Coloration and chromatophores. *The physiology of fishes*. 535–562.

Hewer, H. R. (1927). III. Studies in colour changes of fish. - Part II. —An analysis of the colour patterns of the dab. - Part III. —The action of nicotin and adrenalin in the dab. - Part IV. —The action of caffeine in the dab, and a theory of the control of colour changes in fish. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 215(421–430), 177–200. <https://doi.org/10.1098/rstb.1927.0003>

Iwama, G. K., Thomas, P. T., Forsyth, R. B., & Vijayan, M. M. (1998). Heat shock protein expression in fish. *Reviews in fish biology and fisheries*, 8(1), 35–56. <https://doi.org/10.1023/a:1008812500650>

Kelman, E. J., Tiptus, P., & Osorio, D. (2006). Juvenile plaice (*Pleuronectes platessa*) produce camouflage by flexibly combining two separate patterns. *The Journal of Experimental Biology*, 209(Pt 17), 3288–3292. <https://doi.org/10.1242/jeb.02380>

Kolmann, M. A., Kalacska, M., Lucanus, O., Sousa, L., Wainwright, D., Arroyo-Mora, J. P., & Andrade, M. C. (2021). Hyperspectral data as a biodiversity screening tool can differentiate among diverse Neotropical fishes. *Scientific Reports*, 11(1), 16157. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95713-0>

Martín de los Santos Rodríguez de Vera, E. (2017). Respuesta fisiológicas de peces sometidos a estrés. Universidad de La Laguna.

Martínez, M., Martínez, L., & Enríquez, R. (2009). Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *PanAmerican Journal of Aquatic Sciences*, 4(2), 158–178.

Morgan, R., Andreassen, A. H., Åsheim, E. R., Finnøen, M. H., Dresler, G., Brembu, T., Loh, A., Miest, J. J., & Jutfelt, F. (2022). Reduced physiological plasticity in a fish adapted to stable temperatures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(22), e2201919119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2201919119>

Morrison, R. L., Sherbrooke, W. C., & Frost-Mason, S. K. (1996). Temperature-sensitive, physiologically active iridophores in the lizard *Urosaurus ornatus*: An ultrastructural analysis of color change. *Copeia*, 1996(4), 804. <https://doi.org/10.2307/1447641>

Nokelainen, O., Hubbard, N., Lown, A. E., Wood, L. E., & Stevens, M. (2017). Through predators' eyes: phenotype–environment associations in shore crab coloration at different spatial scales. *Biological Journal of the Linnean Society*. Linnean Society of London, 122(4), 738–751. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx101>

Noriega, A. (2013). Melatonina en la regulación de las respuestas al estrés en teleósteos : efectos comportamentales y acciones en el eje hipotálamo-hipófisis-interrenal. Universidad Complutense De Madrid.

Postema, E. G., Lippey, M. K., & Armstrong-Ingram, T. (2022). Color under pressure: how multiple factors shape defensive coloration. *Behavioral Ecology: Official Journal of the International Society for Behavioral Ecology*, 34(1), 1–13. <https://doi.org/10.1093/beheco/amac056>

Ravikumar, S., & Muthuraman, P. (2014). Cortisol effect on heat shock proteins in the C2C12 and 3T3-L1 cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Animal*, 50(7), 581–586. <https://doi.org/10.1007/s11626-014-9774-x>

Russell, B. J., & Dierssen, H. M. (2015). Use of hyperspectral imagery to assess cryptic color matching in *Sargassum* associated crabs. *PloS One*, 10(9), e0136260. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136260>

Scott, G. T. (1965). Physiology and pharmacology of color change in the sand flounder *scophthalmus aquosus* 1. *Limnology and Oceanography*, 10(suppl), R230–R246. <https://doi.org/10.4319/lo.1965.10.suppl2.r230>

Silva, A., & Oliva, M. (2010). Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). *Latin american journal of aquatic research*, 38(3), 377–386. [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-560X2010000300003](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-560X2010000300003)

Smith, K. R., Cadena, V., Endler, J. A., Kearney, M. R., Porter, W. P., & Stuart-Fox, D. (2016). Color change for thermoregulation versus camouflage in free-ranging lizards. *The American Naturalist*, 188(6), 668–678. <https://doi.org/10.1086/688765>

Sohn, Y., & Rebello, S. (2002). Supervised and Unsupervised Spectral Angle Classifiers. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, 68.

Spaeth, R. A. (1913). The physiology of the chromatophores of fishes. *The Journal of Experimental Zoology*, 15(4), 527–585. <https://doi.org/10.1002/jez.1400150405>

Stuart-Fox, D., Newton, E., & Clusella-Trullas, S. (2017). Thermal consequences of colour and near-infrared reflectance. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 372(1724). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0345>

Sullivan, L. M. (2008). Repeated measures. *Circulation*, 117(9), 1238–1243. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.654350>

Sur-Austral, C. (2023). Resgistro de temperatura Bahía Dichato año 2017. CDOM-Centro de datos Oceanográficos y Meteorológicos. <http://www.cdom.cl/>

Suzuki, T., & Tanaka, M. (2014). Development and regulation of external asymmetry during flatfish metamorphosis. En *Flatfishes* (pp. 171–184). John Wiley & Sons, Ltd.

Templeman, N. M., LeBlanc, S., Perry, S. F., & Currie, S. (2014). Linking physiological and cellular responses to thermal stress:  $\beta$ -adrenergic blockade reduces the heat shock response in fish. *Journal of Comparative Physiology. B*,

Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology, 184(6), 719–728.  
<https://doi.org/10.1007/s00360-014-0831-2>

Tyrie, E. K., Hanlon, R. T., Siemann, L. A., & Uyarra, M. C. (2015). Coral reef flounders, *Bothus lunatus*, choose substrates on which they can achieve camouflage with their limited body pattern repertoire: Coral reef flounders choose where to camouflage. *Biological journal of the Linnean Society*. Linnean Society of London, 114(3), 629–638. <https://doi.org/10.1111/bij.12442>

Zawada, D. G., & Mazel, C. H. (2014). Fluorescence-based classification of Caribbean coral reef organisms and substrates. *PloS One*, 9(1), e84570. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084570>