

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO.
FACULTAD DE ACUICULTURA Y CS. VETERINARIAS.
ESCUELA DE ACUICULTURA.**



**“Pigmentación de *Galaxias maculatus* (Jenyms, 1842)
en Condiciones de Cultivo Experimental:
Efecto de la Salinidad y Color de Tanques de Cultivo.”**

Tesis de Grado presentada como parte
de los requisitos para optar al grado
de Licenciado en Ciencias de la
Acuicultura.

Francisco Javier Veas Moraga.

TEMUCO CHILE

-2003-

*Agradezco sinceramente a mis amigos y
compañeros que siempre estuvieron conmigo,
a mis familiares, en especial a mis padres y
hermanos, que con su confianza e incondicional
apoyo estoy logrando las metas que me propuse.*

ÍNDICE.

	Página.
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo general.....	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
III. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS.....	12
3.1. En cuanto a la coloración de los tanques de cultivo	12
3.2. En cuanto a la salinidad de cultivo.....	12
3.3. En cuanto a la interacción de salinidad y color de tanques de cultivo...12	
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
4.1. Estudio del patrón de pigmentación del puye.....	13
4.2. Diseño experimental del cultivo de post-larvas cristalinas de puye.....	14
V. RESULTADOS	21
5.1. Descripción del patrón de pigmentación en estado embrionario y post-larval.....	21
5.2. Estimación de crecimiento.....	27
5.2.1. Diferencia en peso.....	27
5.2.2. Diferencia en talla.....	29
5.2.3. Índice de condición 'K'.....	30
5.3. Estimación de la pigmentación.....	31
5.3.1. Área cubierta por melanóforos.....	31
5.3.2. Niveles de Pigmentación.....	32
5.3.3. Melanóforos en zona lateral.....	33
5.4. Supervivencia.....	35

VI. DISCUSIÓN.....36

VII. CONCLUSIONES.....42

VIII. BIBLIOGRAFÍA43

RESUMEN.

El cultivo del puye (*Galaxias maculatus*) está aún en periodo experimental, por esto no se conoce completamente los parámetros ambientales y de cultivo que permitan lograr óptimos resultados en las fases de producción. En favor de mejorar la tecnología existente para el cultivo de esta especie, se planteó el presente estudio sobre los parámetros condicionantes de la pigmentación externa del puye. Se trabajó con ejemplares silvestres de retorno (post-larvas cristalinas) distribuidas en 18 tanques, 9 de color verde y 9 de color blanco. Los puyes se distribuyeron a distintas salinidades 0, 15 y 25 ‰, cada una se realizó por triplicado con 70 individuos. Se realizó un seguimiento de los patrones de pigmentación en estado embrionario y larval. Al final del experimento se tomaron los registros de peso, longitud, índice de condición (*K*), cantidad de melanóforos en zona lateral, área cubierta por melanóforos en la zona dorsal anterior, niveles de pigmentación y sobrevivencia. Las post-larvas respondieron al tratamiento de color blanco y salinidad de 15 ‰ con un menor grado de pigmentación, con $0,728 \% \pm 0,38$ del área corporal cubierta por melanóforos y una sobrevivencia cercana al 98 %. En los demás parámetros no se obtuvieron diferencias significativas.

Palabras clave: Galaxias maculatus, post-larva, pigmentación, melanóforos.

ABSTRACT.

The culture of puye, *Galaxias maculatus* is still in experimental phase, for this reason it is not known all the parameters to achieve good results in culturing. In order to improve its present technology of culturing, pigmentation studies on conditioning parameters was worked out in captivity. For this purpose, 70 wild collected post-larval were placed into each of 18 tanks of 4,5 liters of capacity, 9 of them were of green color and the others of white color. Both of them were worked at three water salinities (0, 15 and 25 ‰). Each treatment has three replicated. Pigmentation was monitored from embryonic to larval states. At the end of the experiment, individual weight and length, condition factor (K), melanophores quantity on medium lateral line, melanophores covered area on previous dorsal zone, pigmentation levels and survival were registered. Less pigmentation level was obtained into white color tank and salinity of 15 ‰, in terms of $0,728 \% \pm 0,38$ of covered area of the fish body and 98 % of survival. Other parameters measured were not significant differences.

Key words: Galaxias maculatus, post-larvae, pigmentation, melanophores.

I. INTRODUCCIÓN.

Galaxias maculatus (Jenyns, 1842) es un pez que tiene una distribución circun-antártica, posee diferentes denominaciones vernáculares según la zona en que se encuentre; conocido como “Puye” en Chile, “Puyen” en Argentina, “Whitebait” e “Inanga” en Nueva Zelanda y Australia, y en Tasmania como “Jellytail” (Mardones *y col.*, 1999).

En Chile, habita el sur del país, preferentemente desde los 32° de Latitud Sur, en la zona central, hasta los 52° de Latitud Sur, en la región patagónica de Tierra del Fuego (Fletcher, 2000).

El puye se puede encontrar en ambientes dulceacuícolas, estuarinos y marinos. Las poblaciones son pequeñas y se agregan por clases de edad. Existen dos poblaciones de puyes que difieren en su morfología: diadrómicas, con un número alto de vértebras (59-62) y dulceacuícolas, con un número bajo de vértebras (52-59), siendo ambas poblaciones capaces de adaptarse al agua salobre (Vega, 1999).

Los especímenes de puye no presentan escamas en su piel (Campos, 1977) y son anguiliformes en su estado post-larval. Alcanzan una talla máxima de 16 centímetros como adultos maduros. Poseen una conducta migratoria anual asociada a las fases reproductivas. Las poblaciones asociadas a los estuarios desovan en otoño, ajustándose a las más altas mareas, desovando entre la vegetación adyacente (McDowall, 1999), manteniéndose los huevos fertilizados en desarrollo en un ambiente húmedo, eclosionando las larvas en la

más alta marea siguiente. Estos animales son organismos dióicos, la proporción entre machos y hembras es 1:1, poseen madurez desfasada, respecto a que las hembras son estacionales y en los machos se pueden encontrar ejemplares maduros todo el año. Los especímenes maduros de puyes se diferencian por el color y forma del abdomen, siendo plateado en los machos, transparente y abultado en las hembras. La cantidad de huevos varía con la edad y tamaño de las hembras; de 800 a 1200 ovas en su primer año de vida hasta 7400 ovas en una hembra más longeva. Los especímenes inmaduros son de pequeño tamaño y muy delgados (Valdebenito, 1999).

Las larvas diadrómicas migran al mar y retornan en primavera con una edad de 6 a 8 meses. Las post-larvas de puye son carnívoras y caníbales, alimentándose de zooplancton. En estado adulto se alimentan de artrópodos y otros organismos (Vega, 1999).

Las post-larvas de puye alcanzan tamaños de 5 centímetros en 6 meses, siendo totalmente cristalinas, los cambios morfológicos ocurren cuando las post-larvas comienzan a pigmentarse (estado adulto), alcanzando una talla de 8 centímetros entre los 12 a 15 meses. Alrededor de un 70 % de la población de cristalinos alcanza la madurez sexual durante la primavera del primer año (aproximadamente 9 meses de edad), con un peso de $1,12 \pm 0,38$ gramos y una longitud de $55,60 \pm 5,20$ milímetros (Valdebenito *y col.*, 1996). Las poblaciones de puye tienen individuos de longevidad promedio de 1 a 2 años, aunque se pueden encontrar especímenes de 4 años de edad (Vega, 1999).

La post-larva de puye es el estado de desarrollo que se comercializa y consume, siendo un recurso muy apetecido por parte de restaurantes y hoteles, alcanzando valores de US\$ 12 la porción de 100 gramos. En playa, el kilogramo fresco se encuentra cerca de US\$ 8,5. En el comercio, su precio fluctúa entre US\$ 27 y US\$ 28,5 el kilogramo, dependiendo de su forma de presentación (Fletcher, 2000), teniendo un similar en España la “Angula” y un sucedáneo en base a surumi, la “Gula” (Mardones *y col.*, 1999).

Las poblaciones de puye han sido drásticamente depredadas y afectadas por la sobre explotación de pescadores artesanales. Debido a este problema, ha aumentado la demanda por parte de los consumidores, lo que ha llevado a la experimentación para su cultivo, este sería el primer pez nativo que en la actualidad podría integrarse a la piscicultura nacional (Bórquez & Dangtagnan, 1999).

Esta especie, posee una serie de características que facilitan su cultivo y que han permitido desarrollar su ciclo de vida en cautiverio: tamaño pequeño, ciclo reproductivo corto, cosechas y madurez sexual antes del año de vida, desoves en cautiverio, fácil adaptación a sistemas de cultivo y al alimento artificial (Vega *y col.*, 1996). Para poner en práctica lo anterior se debe trabajar para que en cultivo se logre; a) la obtención de reproductores; b) mantención y acondicionamiento de los reproductores; c) determinación de los estados de madurez y obtención de gametos; d) altas tasas de fertilización artificial; f) alta sobrevivencia en incubación; g) altas tasas de eclosión; h) mantención de las larvas en sistemas de cultivo (Velásquez, 1999).

Debido a la escasez de la angula europea, se presenta una favorable posibilidad para posicionar al puye en el mercado europeo. En España, se determinó que el puye preparado con las mismas formulaciones que se utilizan para la angula, tiene una muy buena aceptación. El ingreso al mercado español debería hacerse como producto nuevo. Las exportaciones que se realizan en Chile son de pequeñas cantidades y precios diversos. El mejor mercado internacional es México, estando el producto ya posesionado (Mardones *y col.*, 1999).

G. maculatus, al igual que la mayor parte de los peces teleósteos, presenta una pigmentación al alcanzar el estado adulto, pero durante el estado post-larval es característico que su cuerpo sea completamente cristalino con escasa pigmentación. Las post-larvas son animales transparentes y pelágicos, presentando sólo una línea de melanóforos a lo largo del intestino y ojos pigmentados negros.

Hoar & Randall (1988) proponen criterios para establecer cuando un animal cordado, en este caso peces, realiza un verdadero estado de metamorfosis:

- a) La larva ocupa un nicho ecológico diferente al del embrión y adulto, debido a su forma.
- b) Un cambio en las estructuras no reproductivas entre la vida embrionaria y la maduración sexual.
- c) El cambio morfológico al final de la vida larval (clímax) se activa por un factor externo (medioambiental) y/o interior (por ejemplo, hormonal).

La longitud de tiempo entre la iniciación de metamorfosis y la aparición de un fenotipo definitivo (juvenil, smolt o adulto) es generalmente especie-

específico. La duración de la fase metamórfica, refleja a menudo la magnitud del cambio morfológico y fisiológico, o la importancia de sincronizar la terminación del cambio con la disponibilidad de comida y con las condiciones medioambientales existentes.

La pigmentación de los peces se produce como respuesta a condiciones inducidas por alteraciones hormonales, y estas en respuesta a cambios repentinos de temperatura, estados de irritabilidad (salinidad, luminosidad, estrés), presencia de adversarios y presas (mimetismo) o diferenciación sexual (coloración nupcial). El color es el resultado de la percepción de estímulos luminosos que son producidos por diferentes longitudes de ondas que llegan a la retina. El rango de longitud de onda percible difiere entre diversas especies (Fujii, 1993^a). Estos cambios de color se producen por la activación o modificación de células especiales ubicadas en la dermis del animal denominados cromatóforos (Lagler *y col.*, 1990; Fujii, 1993^b). Estas células tienen la capacidad de redistribuir el pigmento de tal forma que se modifica la coloración del animal. Los cromatóforos, se ubican dentro de un conjunto de fibras de colágeno denominadas “laminillas de colágeno subepidérmicas”, cuya función primordial es fortalecer el tegumento frente a la acción mecánica de fuerzas externas (Fujii, 1993^b). Los mecanismos responsables de la manifestación de colores en peces son similares a los observados en organismos terrestres. El color de la piel es generado por la absorción, esparcimiento y reflexión de luz a distintas longitudes de onda (Fujii, 1993^a). Los pigmentos se encuentran en pequeñas vesículas de tipo punteado que proporcionan la coloración por su dispersión al cubrir una superficie mayor. Los cambios

fisiológicos de color implican la concentración y dispersión del pigmento. Los cambios morfológicos implican la acumulación, pérdida o destrucción de éstos pigmentos (Prosser & Brown, 1968).

Los pigmentos que determinan el color en los peces se pueden clasificar en 4 grupos:

Melaninas: son los más abundantemente distribuidos en peces, originando tonos oscuros, químicamente son compuestos polimerizados del aminoácido Tirosina. Estos se sintetizan y depositan en organelos oscuros, llamados melanosomas. Esto ocurre por la oxidación de la tirosina a dopatirosina y la oxidación de ésta a dopaquinona por acción de la tirosinasa. Estos compuestos son polimerizados oxidativamente para formar melanina (Lagler *y col.*, 1990; Evans, 1998 y Solbakken *y col.*, 1999).

Carotenoides: son pigmentos insolubles en agua, que se depositan en los xantóforos ó eritróforos. Existen diversas variedades moleculares pero todas provienen del alimento del pez. Se pueden modificar para formar carotenoides que son especie-específicos. Los más comunes son Tonaxantina (amarillo), Astaxantina (rojo) y β -caroteno (naranja) (Fujii, 1993^a).

Pteridinas: pigmentos de color amarillo a rojo, a diferencia de los carotenoides, estos son solubles en agua, se encuentran escasamente en poiquiloterms vertebrados y se alojan en los xantóforos y eritróforos.

Purinas: predomina principalmente la base nitrogenada guanina, en forma de cristales alojados en los iridóforos. Proporciona el color plateado característico de la parte ventral de los peces (Fujii, 1993^a).

La coloración básica en los peces es la brillantez que prevalece en la superficie ventral del cuerpo, la oscuridad en la parte dorsal y un cambio gradual de intensidad en los lados. Este es un principio de ocultamiento mediante la anulación de sombra contraria. A esto se le denomina Principio de Thayer (Lagler *y col.*, 1990).

Los melanóforos son un tipo de cromatóforos ampliamente distribuidos en la piel de vertebrados poiquiloterms, incluyendo peces. Los melanosomas son organelos de color marrón a negro, estos pueden encontrarse en cada parte en donde la piel presente cualquier señal de sombra oscura reconocible (Fujii, 1993^b). El movimiento de pigmentos de los melanóforos contribuye en gran medida a la sobrevivencia de los individuos, jugando importantes roles en las interrelaciones diarias. Algunos organismos poseen colores de baja o poca importancia, frecuentemente la coloración tiene valor adaptativo con relación a factores ambientales tanto bióticos como abióticos (Peredo, 1980). El colorido o pigmentación de los organismos cumple las funciones básicas de:

-Ocultamiento y otras interrelaciones entre diferentes especies, especialmente el complejo presa-predador. Para sobrevivir el pez necesita cambiar sus colores rápida y eficazmente, por ello sus cambios son controlados por fibras nerviosas y efectos hormonales (Fujii, 1993^a).

-Comunicación social entre individuos de la misma especie, relaciones intra e inter específica involucradas con el comportamiento sexual, reconocimiento de sexos, animales inmaduros e individuos de otras especies (Peredo, 1980).

Los cromatóforos derivan de un extremo nervioso, y todos tienen un origen embrionario común, siendo categorizados como "páraneuronas".

Los tipos de cromatóforos que se encuentran en los peces pueden alojar distintos tipo de pigmentos: amarillo (xantóforos), pigmento rojo (eritróforos), y blancos (iridoleucóforos), además de los melanóforos que alojan melanina. Muchos peces contienen cromatóforos y pequeños acúmulos de cristales brillantes o en forma de placas, que dan un color azul-verdoso en la estructura (iridosomas) (Prosser & Brown., 1968; Takashima & Hibiya., 1995).

La actividad de los melanóforos es la que interviene en mayor medida en respuesta a la luz y oscuridad y a los medios blancos y oscuros (Prosser & Brown, 1968). Es una interacción entre los controles nerviosos y hormonales, el oscurecimiento considerado como una respuesta a fondos oscuros involucra a la hormona dispersora de melanina (MDH) procedente del lóbulo intermedio de la hipófisis, y el empaledecimiento en fondos claros a la secreción de hormona acumuladora de melanina (MAH) procedente del lóbulo posterior de la hipófisis (Lagler *y col.*, 1990; Abdel-Malek *y col.*, 1992 y Fujii, 1993^b).

Los cambios en el color o patrón del colorido de un pez son producto de la movilidad de los cromatóforos y/o por cambios en la cantidad de material pigmentario depositado en la piel.

Las modificaciones en el color de la piel, debido a la movilidad de los pigmentos en los cromatóforos se denominan “cambios fisiológicos de color”, son controlados principalmente por el sistema nervioso y/o endocrino, estos son cambios rápidos y están relacionados con la adaptación cromática del animal. Cambios en la cantidad neta de pigmentos en la piel se denominan “cambios morfológicos de color”, que ocurren a una velocidad más lenta, principalmente regida por el sistema endocrino, estos cambios ocurren en

etapas críticas del pez, como en época reproductiva la expresión de los colores nupciales (*Oncorhynchus mykiss*, *Pomacanthus semicircitlatiis*) o el paso de juvenil a adulto (*Anguilla anguilla*) (Fujii, 1993^b).

Los puyes se comercializan en su forma post-larval cristalina. Los adultos pigmentados carecen de valor comercial, es entonces fundamental que estos alcancen un tamaño adecuado como cristalinos para su cosecha. Las post-larvas de puye, en condiciones naturales se pigmentan alrededor de las 24 semanas post-eclosión (Valdebenito *y col.*, 1996). En condiciones de cultivo las post-larvas de puyes han alcanzado una pigmentación alrededor de las 15 semanas post-eclosión (Encina *y col.*, 1999). Esta velocidad de pigmentación acarrea dificultades para su comercialización, debido a que la cantidad de biomasa comercializable se reduce como consecuencia de cosechas adelantadas de cristalinos de bajo calibre. Es entonces importante conocer las condicionantes que afectan a esta pigmentación acelerada y lograr un desarrollo adecuado en cautiverio.

Existen escasos antecedentes acerca del proceso de pigmentación en puye, el único estudio encontrado presenta que una de las variables que regulan la pigmentación en peces son el color de los tanques de cultivo (Encina *y col.*, 1999), quien experimentando con tanques de color negro, blanco, verde y gris, consigue ejemplares pigmentados a las 10 semanas en los tanques negros y grises. Pigmentación a las 15 semanas para los ejemplares de los tanques blancos y verdes. Esta experiencia se realizó modificando gradualmente la salinidad de 10 ‰ a 30 ‰.

Por lo anteriormente señalado es de gran importancia conocer los mecanismos y parámetros que influyen en los procesos biológicos de crecimiento y pigmentación para determinar e incrementar los conocimientos en la tecnología de cultivo del puye. Esta especie tiene perspectivas de desarrollo de amplio alcance, tanto económicas como sociales, el estudio de los factores que determinan la pigmentación en esta especie es fundamental para que se pueda obtener un producto de alto valor comercial, lo que está relacionado con un espécimen anguiliforme y transparente. Por esto, en la presente investigación se pretende estudiar los procesos de pigmentación en puye (*G. maculatus*) bajo condiciones de cultivo experimental, este conocimiento permitirá sentar las bases para una tecnificación de la industria del cultivo del puye.

II. OBJETIVOS.

2.1. Objetivo General.

- Estudiar el proceso de pigmentación externa en puye (*Galaxias maculatus*) bajo condiciones de cultivo experimental.

2.2. Objetivos Específicos.

- Caracterizar el patrón de pigmentación embrionario y larval del puye en condiciones de cultivo experimental.
- Determinar el efecto de la salinidad y color del estanque en la pigmentación del puye.
- Establecer una escala de evaluación de pigmentación, en donde se pueda cuantificar objetivamente el nivel de pigmentación, con parámetros que puedan ser observables y medibles para *G. maculatus*.

III. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS.

3.1. En cuanto a la coloración de los tanques de cultivo.

H₀: El color de los tanques de cultivo no afecta la pigmentación de los puyes.

H₁: El color de los tanques de cultivo sí afecta la pigmentación de los puyes.

3.2. En cuanto a la salinidad de cultivo.

H₀'': La concentración salina del agua no afecta la pigmentación de los puyes.

H₁'': La concentración salina del agua sí afecta la pigmentación de los puyes.

3.3. En cuanto a la interacción de la salinidad y el color de los tanques.

H₀''': La interacción color de los tanques de cultivo y salinidad del agua no tiene efecto sobre la pigmentación de los puyes.

H₁''': La interacción color de los tanques de cultivo y salinidad del agua sí tiene efecto sobre la pigmentación de los puyes.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

La experimentación se llevó a cabo durante los meses de Septiembre a Diciembre del 2001, en las dependencias del hatchery de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco (38° 40' Latitud Sur, 72° 35' Longitud Oeste).

4.1. Estudio del patrón de pigmentación.

Se realizó una incubación de ovas de *Galaxias maculatus* procedentes del hatchery de dicha casa de estudios. Las ovas fueron fecundadas y puestas en placas petri, con una salinidad de 15 ‰, se incubaron en una sala aclimatada con temperaturas medias de $9,52 \pm 1,17$ °C (Figura 1A). Diariamente se registró los patrones de pigmentación de los embriones, detectando la aparición de los melanóforos en el estado embrionario y post-eclosión. Dos veces al día se evaluó la temperatura de incubación con el fin de determinar las unidades térmicas acumuladas (UTA) a las que se alcanzaban las distintas etapas de desarrollo.

4.2. Diseño experimental del cultivo de post-larvas cristalinas de puye.

Se obtuvo una cohorte de ejemplares diadrómicos de cristalinos de puyes (*G. maculatus*) procedentes de la desembocadura del río Toltén (39° 17' Latitud Sur, 73° 10' Longitud Oeste). Estos fueron distribuidos al azar en un sistema de tanques de cultivo con capacidad de 4,5 litros, los cuales con anterioridad fueron recubiertos con resina Gelcoat de color verde y blanco. En la investigación se utilizaron 18 tanques, 9 de color verde y 9 de color blanco, para distribuir a 70 individuos en cada uno (Figura 1B), dando una densidad de cultivo de 9.46 g/lt. El experimento se llevó a cabo con aireación continua durante las 24 horas. Los puyes se distribuyeron a salinidades de 0 ‰ (control), 15 ‰ y 25 ‰ (tratamientos), cada salinidad de tanque de cultivo se realizó por triplicado.

El agua de cultivo se preparó con agua de pozo extraída del hatchery de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco y agua de mar previamente filtrada. La mezcla, para obtener las salinidades requeridas se realizó con ayuda de un refractómetro. El recambio de agua fue de tres cuartos del volumen de cada estanque por día, esta actividad se realizaba antes de mediodía, antes de la alimentación, actividad que se utilizaba además para remover material particulado en suspensión como restos de alimento del día anterior y materia fecal. La temperatura media de cultivo fue de $16,84 \pm 1,32$ °C. Al iniciar la experiencia se registraron los parámetros de longitud y peso de una muestra de la población (n=30) para realizar una comparación al final de la

experiencia. Los peces se alimentaban diariamente a saciedad con starter de trucha con bajo nivel de aceite.

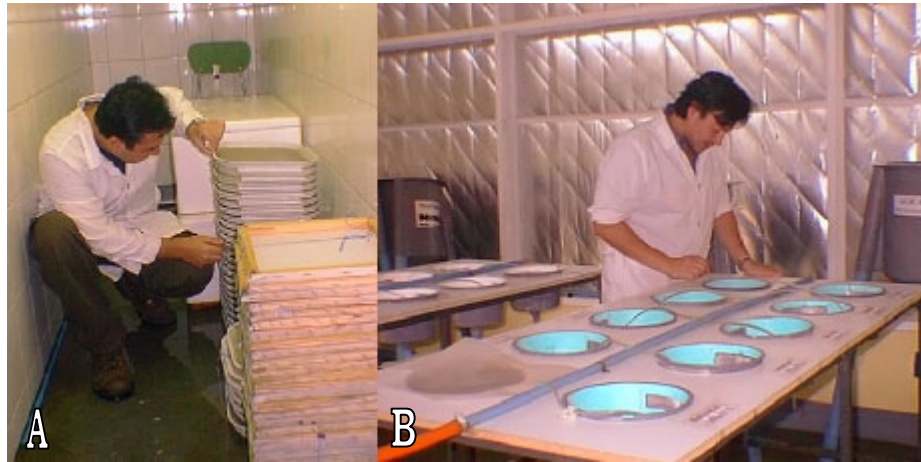


Figura 1. A) Sala aclimatada de incubación de embriones y larvas de puye (*G. maculatus*). B) Sistema de cultivo experimental de cristalinos de puye (*G. maculatus*) bajo tratamiento de color y salinidad de tanques de cultivo (n=30).

Después de 30 días de experimentación se anestesió y sacrificó a 30 ejemplares por tratamiento, posteriormente fueron fijados en Formalina al 5 %, para registrar los parámetros de longitud (mm) y peso (mg) con los que se determinó el índice de condición (K) mediante la siguiente fórmula:

$$K = \{P \text{ (g)} / L^3 \text{ (cm)}\} \times 100$$

Donde P (g) es el peso de los individuos expresado en gramos y L^3 (cm) es la longitud cúbica de los individuos expresado en centímetros. Se realizó una evaluación de células cromáticas (melanóforos) en áreas determinadas del cuerpo del pez por ser estas las zonas de pigmentación más frecuentes: en la zona lateral detrás de las aletas pectorales y en la parte dorsal, detrás de la mancha craneal.

La evaluación del porcentaje de pigmentación corporal se realizó utilizando un micro ocular graduado (Wolfe) de 10x y bajo un aumento total de 40x: en la zona lateral, se delimitó una longitud de 1728 μm (longitud de la graduación del ocular), cuantificando la cantidad de melanóforos existentes en esa distancia. En la parte dorsal, se delimitó un cuadrante de $2,986 \times 10^6 \mu\text{m}^2$ ($1728\mu\text{m} \times 1728\mu\text{m}$), en el cual se cuantificó la cantidad de melanóforos. El área que estos ocupan dentro de la superficie señalada, el porcentaje de la superficie total se cuantificó estimando el diámetro de los melanóforos (expandidos y punteados) y el área que ocupó cada una. Mediante la sumatoria de las áreas se extrajo el porcentaje de área pigmentada.

Además, se realizó un estudio de los niveles de pigmentación utilizando la metodología propuesta por Haro & Krueger (1987), la que en base a una

observación macroscópica de los ejemplares se pueden clasificar en orden ascendente de 1 a 7 los niveles de pigmentación, siendo el nivel 1 totalmente cristalinos y el nivel 7 completamente pigmentados (Figura 2) (Tabla 1).

Para determinar la existencia de una interacción entre la salinidad y el color del tanque de cultivo en la pigmentación, el diseño del experimento se trató como un experimento factorial (3 X 2) (Walpole & Myers,1997). Para los análisis estadísticos descriptivos y gráficos se utilizaron los programas StatMost 3.0 y Microsoft Excel, las diferencias muestrales se analizaron con el test de ANOVA y la significancia de las diferencias con el test de Tukey, para los datos paramétricos, la utilización de la transformación de los datos al arco seno se ocupó para la evaluación de los datos no paramétricos.

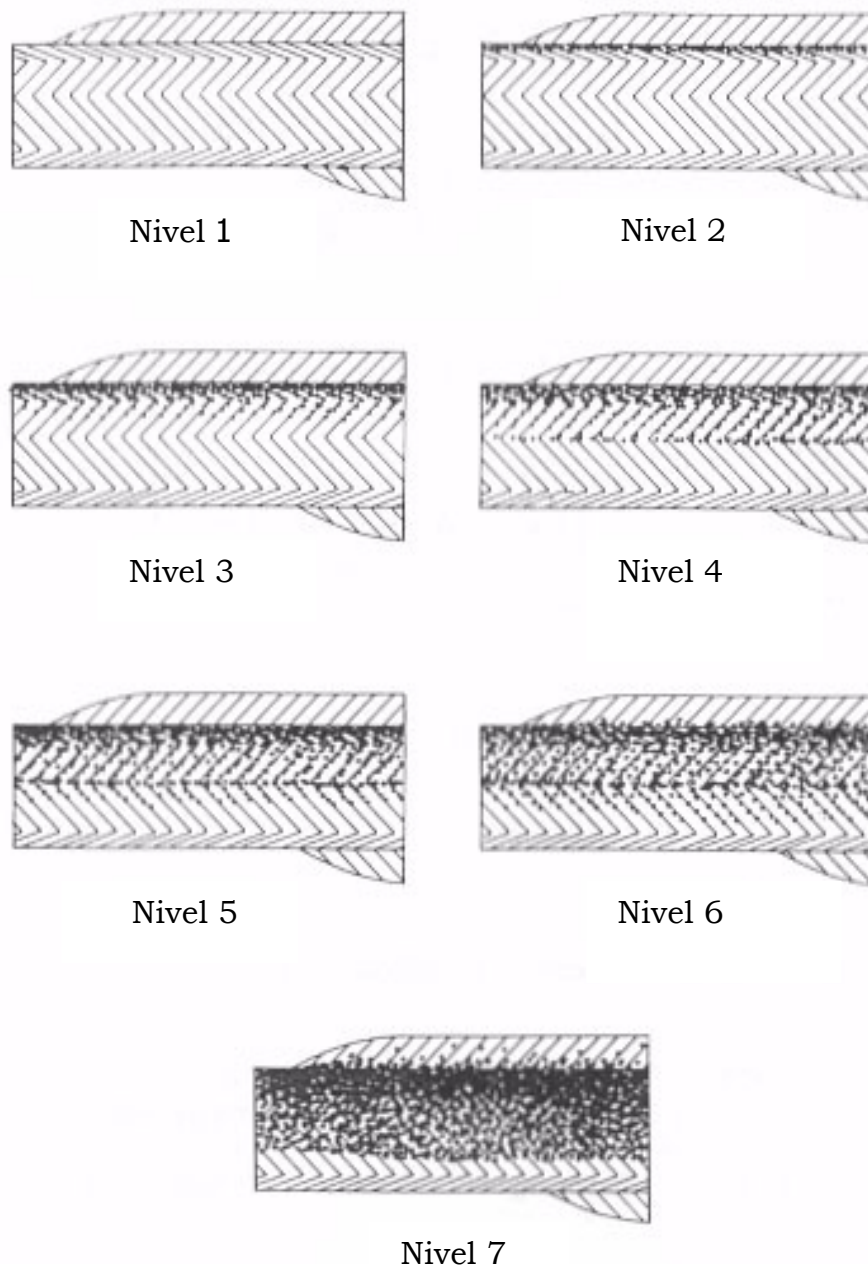


Figura 2. Niveles de pigmentación según método propuesto por Haro & Krueger en 1987, para registro de anguilas (*A. anguilla*), utilizado en cristalinos de puye (*G. maculatus*).

Tabla 1. Descripción de los niveles de pigmentación según método propuesto por Haro & Krueger en 1987, para registro de anguilas (*A. anguilla*), utilizado en cristalinos de puye (*G. maculatus*).

<p>Nivel 1. Ningún pigmento se presenta en el cuerpo entre los orígenes de la aleta dorsal y anal.</p>
<p>Nivel 2. Pigmentación a lo largo de la base de aleta dorsal, pero no se extiende debajo de los ápices de los miocitos del cono posterior dorsal.</p>
<p>Nivel 3: El pigmento se extiende ventralmente a lo largo de los miocitos. A medio camino de la línea lateral los pigmentos intermiocitales pueden estar presentes o ausente.</p>
<p>Nivel 4: El pigmento se extiende a la línea lateral. Los pigmentos intermiocitales están presentes normalmente en la parte dorsolateral.</p>
<p>Nivel 5: El pigmento se extiende ventralmente a la mitad del camino entre la línea lateral y los ápices de los miocitos del cono posterior ventral, los intermiocitos siempre se pigmentan dorsolateralmente, se expresa una pigmentación más intensa a lo largo de los miocitos.</p>
<p>Nivel 6: El pigmento se pronuncia más ventralmente a lo largo de los miocitos formando un margen ventral irregular, la porción dorsolateral aparece pigmentada uniformemente; los intermiocitos se pigmentan normalmente debajo de la línea lateral. Pigmentos en la aleta dorsal en su porción basal, pueden estar presentes o ausentes.</p>
<p>Nivel 7: Las áreas previamente pigmentadas ahora se presentan uniformemente pigmentadas, disimulando la pigmentación de los miocitos, la base de la aleta dorsal normalmente se pigmenta, la base de la aleta anal puede o no presentar pigmentación.</p>

V. RESULTADOS.

5.1. Descripción de la pigmentación en estado embrionario y post-larval.

La descripción de la pigmentación en el estado embrionario y las UTA registradas se realizó con ovas extraídas de 12 hembras fertilizadas, con una proporción de 3 hembras por macho.

La pigmentación de *G. maculatus* comienza tempranamente en el estado embrionario, registrándose los primeros esbozos pigmentarios a las 116,15 UTA (12 días de incubación) con el inicio de la pigmentación de los ojos, desarrollándose esta hasta las 123,45 UTA. Los registros de melanóforos en el saco vitelino comenzaron a las 123,45 UTA con un melanóforo cerca de la gota lipídica, manifestándose de 1 a 3 melanóforos a las 159,20 UTA, esta cantidad aumenta en medida que el desarrollo embrionario persiste. La manifestación de melanóforos en la aleta caudal se produce a las 186,80 UTA (Figura 3) (Tabla 2).

Después de la eclosión de las larvas (307,85 UTA) comienza la pigmentación del tubo digestivo que se extiende hasta el ano (Figura 4). Posteriormente, se ramifican y forman un solo complejo pigmentado que involucra al saco vitelino, tubo digestivo y ano, registrándose de 12 hasta 18 melanóforos a la 392,25 UTA en 41 días de cultivo (Figura 5).

En los ejemplares post-larvales de retorno se registraron los parámetros de longitud y peso, se evaluó la pigmentación en las zonas específicas anteriormente señaladas (Figura 6).

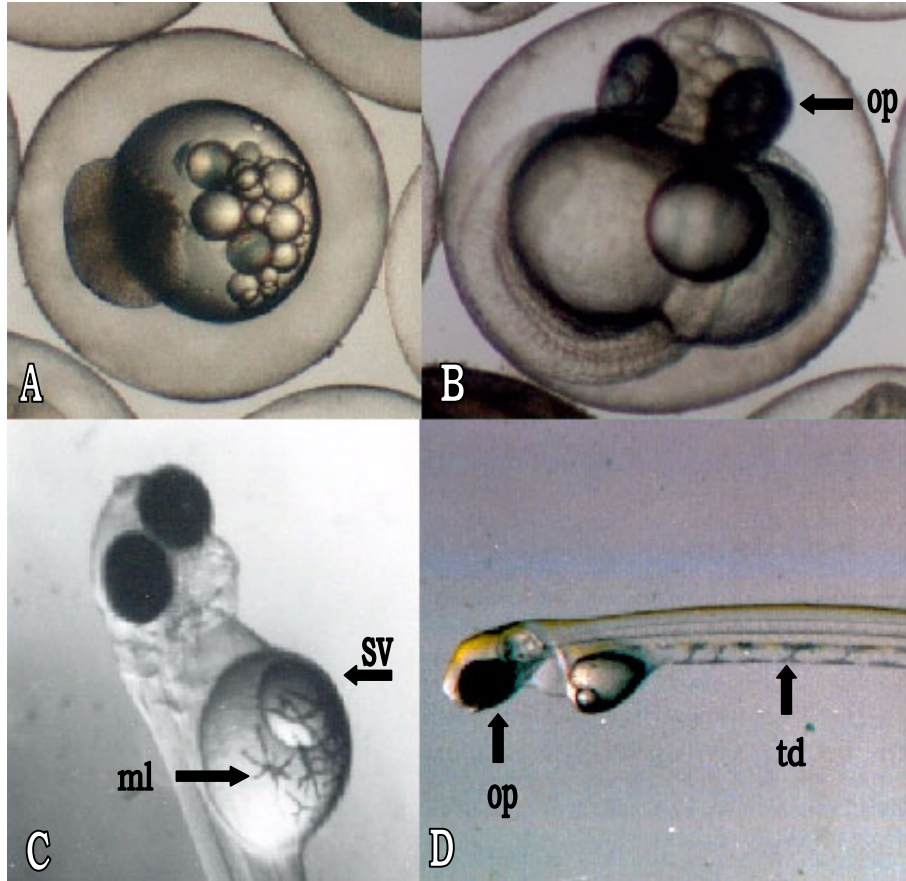


Figura 3. Desarrollo embrionario y larval de *Galaxias maculatus*. A) ova con 4 horas de incubación, aumento 7,5x. B) Embrión con ojos pigmentados (op) de 135 UTA, aumento 15x. C) Larva recién eclosionada de 307 UTA con pigmentación ocular y melanóforos (ml) en saco vitelino (sv), objetivo aumento 7,5x. D) Pigmentación en ojos (op) y tracto digestivo (td) 404 UTA, aumento 3x.

Tabla 2. Resumen del proceso de pigmentación de *G. maculatus* en el periodo de incubación y post-eclosión.

DÍA	FECHA	UTA	OBSERVACIONES
1	Sept-15	0	Fertilización e incubación de las ovas.
12	Sept-26	116,15	Inicio de pigmentación en ojos.
13	Sept-27	123,45	Pigmentación en ojos completa y un melanóforo presente en el saco vitelino.
17	Oct-01	159,20	La mayoría de ejemplares con 1 a 3 melanóforos en saco vitelino.
20	Oct-04	186.80	Inicio de la pigmentación en zona del pedúnculo caudal.
22	Oct-06	206,40	Coloración amarillenta en la región dorsal de algunos ejemplares.
26	Oct-10	247,85	Aumento de la pigmentación en tracto digestivo. 3-5 melanóforos en saco vitelino.
29	Oct-13	277,55	Se observan hasta 10 melanóforos en saco vitelino. La pigmentación abarca el saco vitelino, el tubo digestivo y la aleta caudal
32	Oct-16	307,85	Inicio de la eclosión.
34	Oct-18	329,05	La pigmentación del tubo digestivo se inicia en la parte dorsal y se desplaza hacia la zona ventral.
35	Oct-19	339,75	En región caudal, sólo se observa una pigmentación periférica y no en los radios de la aleta.
36	Oct-20	353,05	Ramificación de los melanóforos ventrales y dorsales, envolviendo al tubo digestivo.
38	Oct-22	367,05	Presencia de 7 a 9 melanóforos en el tubo digestivo, 7 melanóforos en el pedúnculo caudal.
41	Oct-25	392,25	Presencia de 12 a 18 melanóforos en el tubo digestivo hasta el ano.

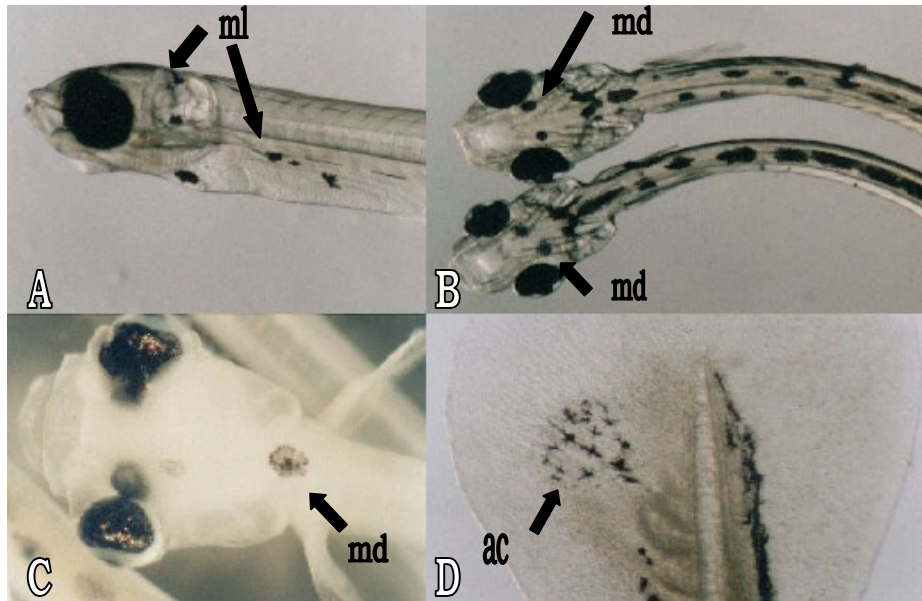


Figura 4. A) Larva cristalina de *G. maculatus* de 74 días, se observan melanóforos en la región dorsal anterior y tracto digestivo (ml), aumento 9,25x. B) Larvas cristalinas de 74 días, se observa pigmentación ocular, tracto digestivo y un par de melanóforos dorsales (md), larva superior vista ventral, larva inferior vista dorsal, aumento 6,25x. C) Larva cristalina de 75 días, con un melanóforo dorsal (md), aumento 5,75x. D) Melanóforos en la aleta caudal (ac), en una larva cristalina de 75 días, aumento 12,75x.

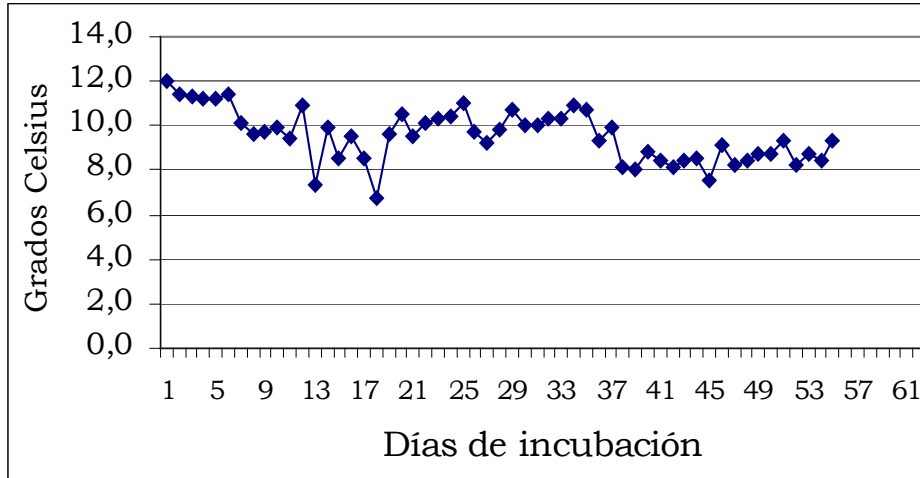


Figura 5. Temperaturas medias diarias en sala aclimatada utilizada para la incubación de ovas de puye (*G. maculatus*).

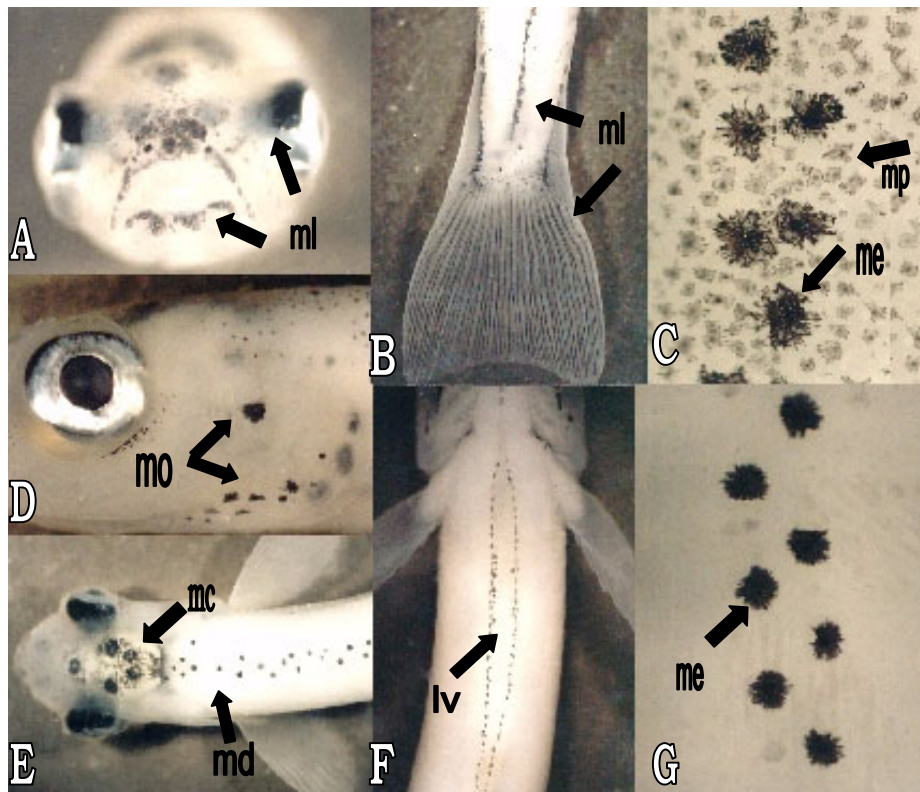


Figura 6. Pigmentación de *Galaxias maculatus* en ejemplares de retorno. A) Pigmentación facial, melanóforos (ml) en ojos y alrededor de la boca, aumento 2,5x. B) Pigmentación caudal, zona lateral del pedúnculo y melanóforos (ml) de radios caudales, aumento 2,5x. C) Detalle de melanóforos dorsales expandidos (me) y punteados (mp), aumento 15,8x. D) Pigmentación ocular y melanóforos en el opérculo (mo), aumento 2,5x. E) Mancha craneal (mc) y melanóforos dorsales (md), aumento 2,5x. F) melanóforos de líneas ventrales (lv), aumento 3,1x. G) Melanóforos dorsales expandidos (me), aumento 11,3x.

5.2 Estimación de crecimiento.

5.2.1. Diferencia en peso.

Al comenzar la alimentación los ejemplares tuvieron un peso individual promedio de $610 \pm 8,0$ mg y arrojaron un bajo nivel de crecimiento durante el desarrollo del experimento (30 días), con un valor mínimo para el tratamiento Blanco de 0 ‰ con 610 ± 7 mg y un valor máximo para el tratamiento Verde de 15 ‰ de $670 \pm 0,11$ mg, las diferencias registradas no mostraron ser significativas entre los tratamientos (Figura 7) (tabla 3).

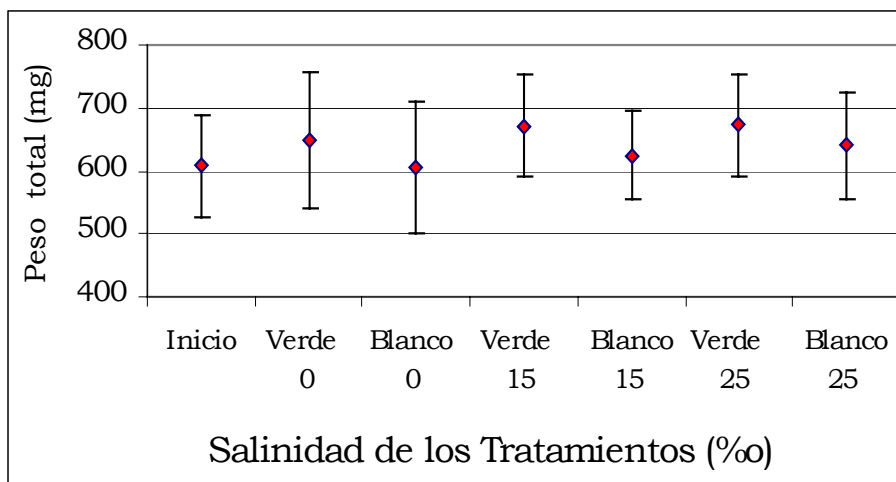


Figura 7. Peso total ($x \pm DE$) de cristalinios de puye (*G. maculatus*) mantenidos durante un mes a diferentes salinidades y colores de estanque (n=30).

Tabla 3. Registro de crecimiento, grado de pigmentación y sobrevivencia de ejemplares cristalinos *G. maculatus* cultivados a diferentes salinidades y colores de estanque. Los cifras muestran valor de significancia con $p < 0,05$. Letras iguales significan diferencias no significativas.

	INICIO T₀	VDE 0 ‰	BCO 0 ‰	VDE 15 ‰	BCO 15 ‰	VDE 25 ‰	BCO 25 ‰
N° de ejemplares.	30	30	30	30	30	30	30
Peso total (mg). $\bar{x} \pm DE$.	608,0 ^a ± 82,0	649,0 ^a ± 108,0	605,0 ^a ± 104,0	671,0 ^a ± 81,0	625,0 ^a ± 70,0	673,0 ^a ± 81,0	640,0 ^a ± 85,0
Varianza.	6742,0	11664,0	10846,0	6561,0	4900,0	6561,0	7225,0
Longitud total. (mm) $\bar{x} \pm DE$.	50,40 ^a ± 2,61	51,74 ^a ± 2,29	51,54 ^a ± 1,39	50,88 ^a ± 2,02	51,78 ^a ± 1,58	50,93 ^a ± 1,65	51,99 ^a ± 1,44
Varianza.	6,88	4,92	1,92	4,07	2,50	2,71	2,07
Índice K. $\bar{x} \pm DE$.	0,48 ^a ± 0,11	0,47 ^a ± 0,06	0,46 ^a ± 0,07	0,51 ^a ± 0,06	0,45 ^a ± 0,04	0,48 ^a ± 0,06	0,46 ^a ± 0,05
Varianza.	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
% área cubierta. $\bar{x} \pm DE$.	0,668 ^a ± 0,50	1,28 ^{ab} ± 0,70	1,50 ^{ab} ± 0,57	1,74 ^b ± 0,54	0,73 ^a ± 0,38	1,28 ^{ab} ± 0,69	0,76 ^a ± 0,24
Varianza.	0,25	0,49	1,14	0,47	0,17	0,48	0,06
Niveles de pigmentación. $\bar{x} \pm DE$.	1,885 ± 0,22	2,00 ^a ± 0	2,00 ^a ± 0,26	1,97 ^a ± 0,18	1,87 ^a ± 0,35	2,07 ^a ± 0,25	2,00 ^a ± 0
Varianza.	0,05	0	0,07	0,03	0,12	0,06	0
Melanóforos Zona Lateral. $\bar{x} \pm DE$.	6,78 ^a ± 0,81	7,07 ^a ± 0,79	6,87 ^a ± 0,77	6,83 ^a ± 0,79	6,80 ^a ± 0,71	7,20 ^a ± 0,76	6,83 ^a ± 0,79
Varianza.	0,65	0,62	0,60	0,66	0,51	0,58	0,63
% Sobre- vivencia. $\bar{x} \pm DE$.		60,48 ^b ± 28,07	60,48 ^b ± 31,54	97,14 ^a ± 2,39	97,62 ^a ± 2,06	65,71 ^b ± 27,06	64,76 ^b ± 29,42
Varianza.		787,92	994,77	5,71	4,24	732,24	865,53

5.2.2. Diferencia en talla.

El crecimiento registrado como longitud de los individuos no tuvo una variación considerable respecto al valor inicial de $50,40 \pm 2,61$ mm, después de 30 días de cultivo el valor mínimo se registro en el tratamiento Verde de 15 ‰ con $50,88 \pm 2,01$ mm y el valor máximo en el tratamiento Blanco de 25 ‰ con $51,99 \pm 1,44$ mm. Las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Figura 8) (Tabla 3).

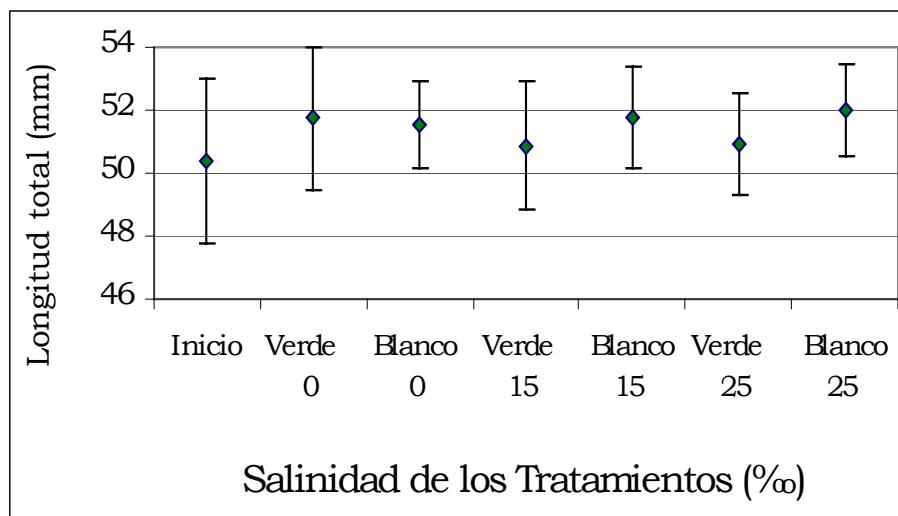


Figura 8. Longitud total ($x \pm DE$) de cristalinos de puye (*G. maculatus*) mantenidos durante un mes a diferentes salinidades y colores de tanque de cultivo (n=30).

5.2.3. Índice de condición 'K'.

El índice de condición de los peces no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, el valor inicial fue de $0,48 \pm 0,11$. Después de 30 días de experimentación el valor mínimo fue del tratamiento Blanco de 15 ‰ con $0,45 \pm 0,04$ y el valor máximo para el tratamiento Verde de 15 ‰ con $0,51 \pm 0,06$ (Figura 9) (tabla 3).

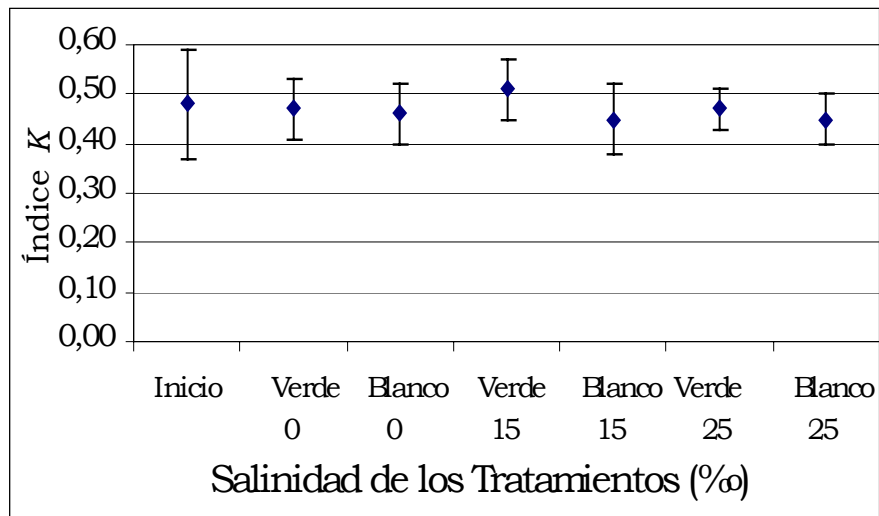


Figura 9. Índice de condición K ($x \pm DE$) de cristalinos de puye (*G. maculatus*) mantenidos durante un mes a diferentes salinidades y colores de tanque de cultivo (n=30).

5.3. Estimación de pigmentación.

5.3.1. Área cubierta por melanóforos.

Los valores del porcentaje de área corporal cubierta por melanóforos registran diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, con un valor máximo de pigmentación para el tratamiento Verde de 15 ‰ con $1,74 \pm 0,64$ %. El valor mínimo se registró en el tratamiento Blanco de 15 ‰ con $0,73 \pm 0,38$ %. No se registró diferencias estadísticas entre los valores iniciales y los tratamientos Blanco 15 ‰ y Blanco 25 ‰. El área pigmentada de cada melanóforo puede variar de $11,10 \mu\text{m}^2$ para melanóforos punteados a $50590,98 \mu\text{m}^2$ para melanóforos expandidos (Figura 10) (tabla 3).

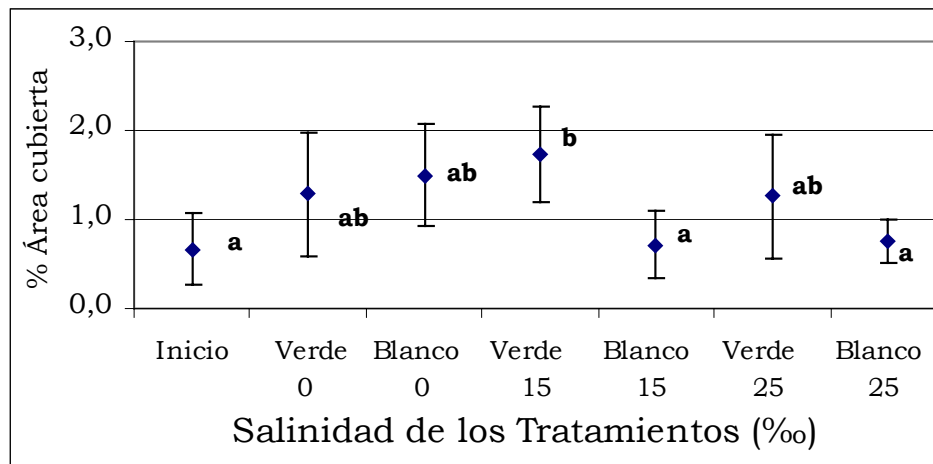


Figura 10. Porcentaje del área corporal cubierta por melanóforos ($x \pm \text{DE}$) de cristalinos de puye (*G. maculatus*) mantenidos durante un mes a diferentes salinidades y colores de tanque de cultivo ($n=30$). Letras iguales no presentan diferencias significativas, nivel de significancia de $p < 0,05$.

5.3.2. Niveles de pigmentación.

El nivel de pigmentación indicó un valor máximo para el tratamiento Verde de 25 ‰ con $2,07 \pm 0,25$, un valor mínimo de pigmentación para el tratamiento Blanco de 15 ‰ con $1,87 \pm 0,35$, no arrojando diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y con la muestra inicial. (Figura 2 y 11) (tabla 1 y 3).

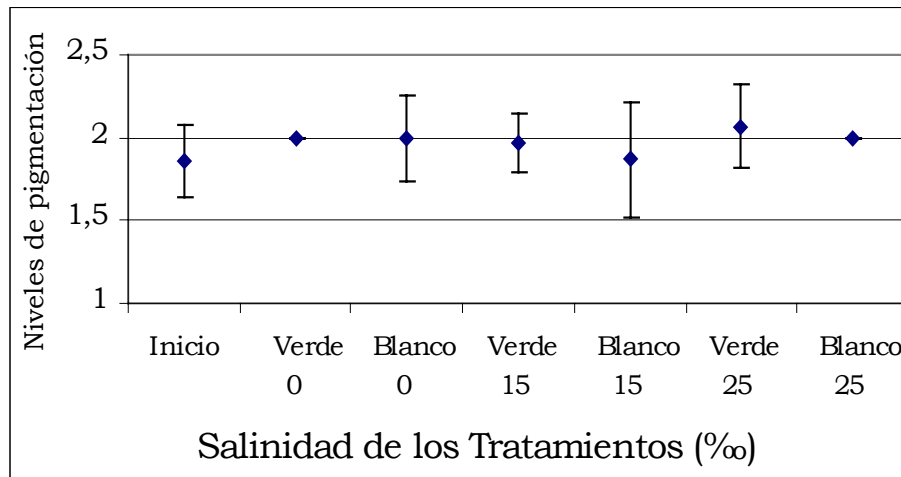


Figura 11. Niveles de pigmentación ($\bar{x} \pm DE$) de cristalinos de puye (*G. maculatus*) según metodología de Haro & Krueger (1987), mantenidos durante un mes a diferentes salinidades y colores de tanque de cultivo (n=30).

5.3.3. Melanóforos en zona lateral.

La estimación numérica de la cantidad de melanóforos presentes en la zona lateral (Z.L) en 1728 μm marca una mínima variación con respecto a las muestras de todos los tratamientos. El valor inicial fue de $6,78 \pm 0,81$. El mínimo valor fue para el tratamiento Blanco de 15 ‰ con $6,80 \pm 0,71$ y el máximo valor fue para el tratamiento Verde de 25 ‰ con $7,20 \pm 0,76$; no presentando diferencias significativas (Figura 12 y 13) (Tabla 3).

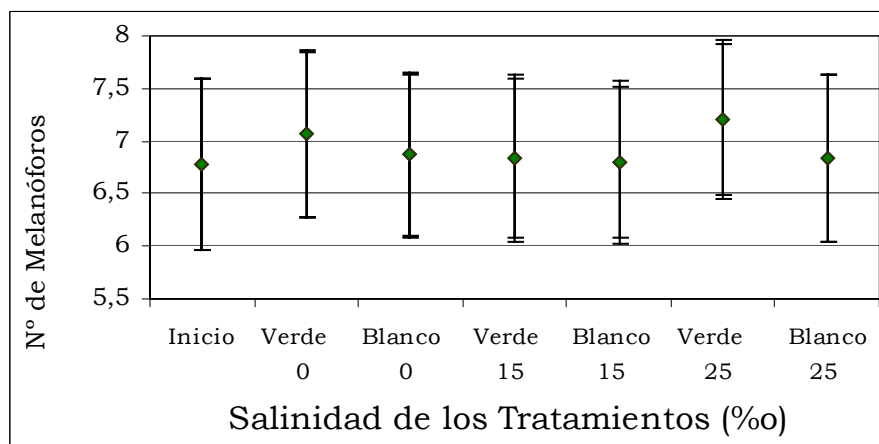


Figura 12. Nº de melanóforos en zona lateral ($x \pm \text{DE}$) de cristalinos de puye (*G. maculatus*) mantenidos durante un mes a diferentes salinidades y colores de tanque de cultivo (n=30).

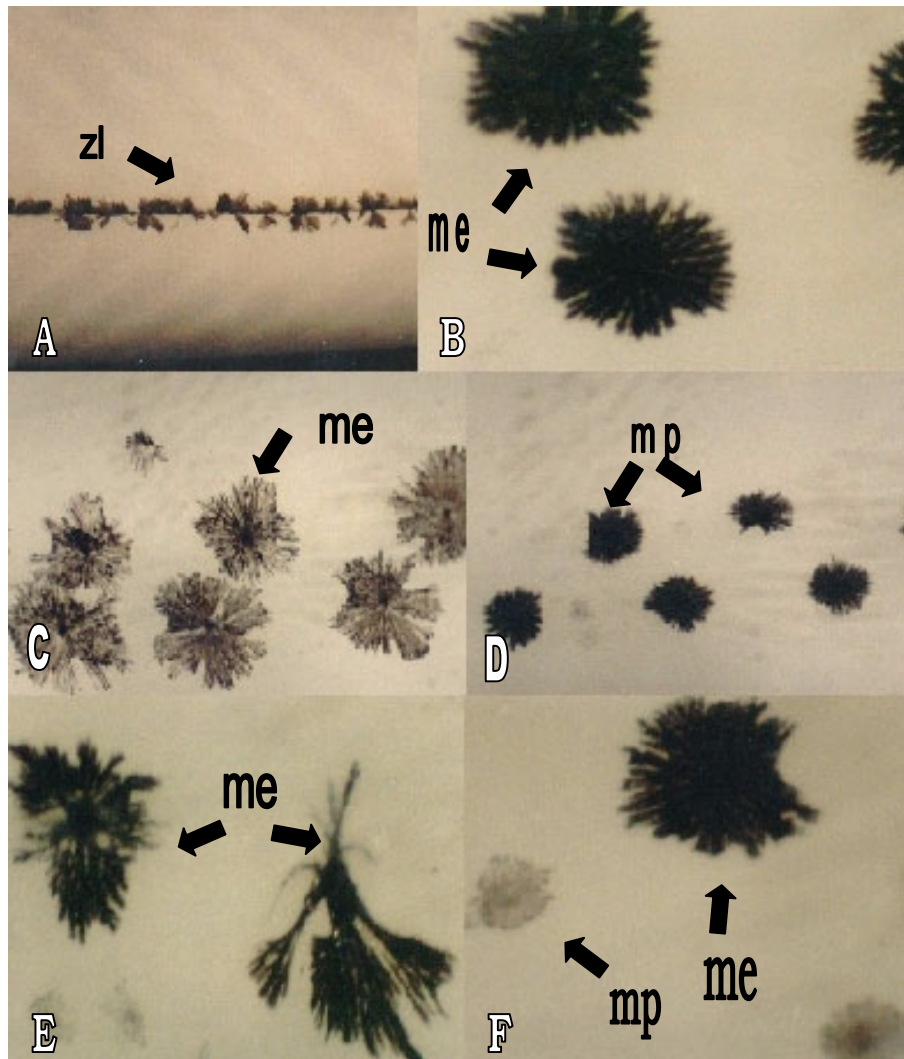


Figura 13. A) Desarrollo de melanóforos en zona lateral (zl), aumento 2,5x. B) Melanóforos expandidos (me), aumento 15,8x. C) Melanóforos expandidos de la región dorsal (me), aumento 11,3x. D) Melanóforos punteados de la región dorsal (mp), aumento 11,3x. E) Melanóforos expandidos de la región dorsal (me), aumento 15,8x. F) Melanóforos expandidos (me) y punteados de la región dorsal (mp), aumento 15,8x.

5.4. Supervivencia.

La supervivencia de los ejemplares mostr6 desigualdades entre los diferentes tratamientos, as4 los valores m4ximo se observaron para los tratamientos Verde de 15 ‰ con $97,14 \pm 2,39 \%$ y el tratamiento Blanco de 15 ‰ con $97,62 \pm 2,06 \%$ de supervivencia. Los valores de supervivencia m4nimos observaron en los tratamientos Verde de 0 ‰ con $60,48 \pm 28,07 \%$ y Blanco de 0 ‰ con $60,48 \pm 31,54 \%$, observ4ndose diferencias estad4sticamente significativas con los dem4s tratamientos (Figura 14) (Tabla 3).

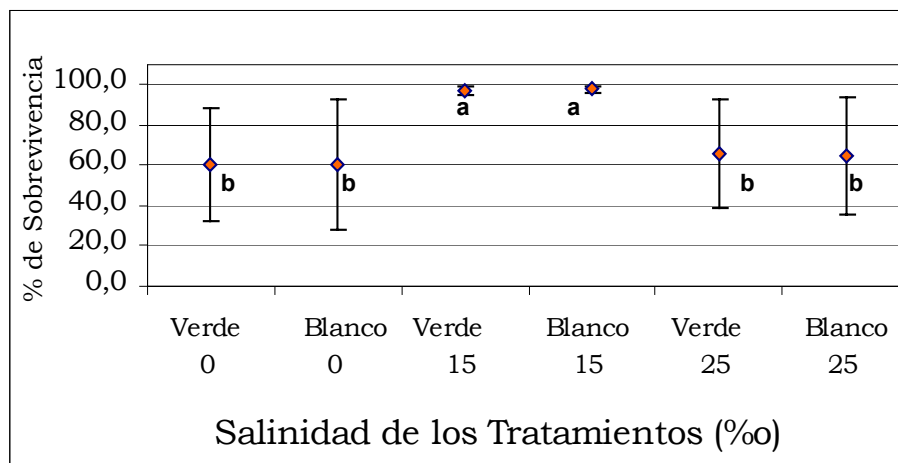


Figura 14. Supervivencia ($x \pm DE$) de cristalinos de puye (*G. maculatus*) mantenidos durante un mes a diferentes salinidades y colores de tanque de cultivo (n=30), nivel de significancia de $p < 0,05$.

VI. DISCUSIÓN.

Las poblaciones diadrómicas de puye poseen una conducta migratoria desde los estuarios, en donde nacen, hasta zonas marinas, de donde después de 6 a 8 meses retornan al río a madurar y reproducirse. En esta fase de migración, aún cristalinos, los puyes enfrentan diversos cambios tanto morfológicos como fisiológicos. Los cambios fisiológicos incluyen alteraciones en la química de la sangre, del equilibrio electrolítico, de los efectos hormonales y metabólicos en general (Mc Dowall, 1968 y Campos, 1970). Según estos autores, los cambios van mas allá de una modificación en la coloración de la piel, también en la estructura del tubo digestivo a nivel de estómago e intestino, además de cambios en la secreción hormonal a nivel del eje hipotálamo-hipófisis. La adquisición de los caracteres externos de juveniles, no es evidencia suficiente para asumir una metamorfosis, también conlleva una habilidad de los animales a la osmorregulación en su nuevo nicho.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, se puede señalar que la baja diferencia de crecimiento que muestran los ejemplares después de 30 días de experimentación es consecuencia del estado fisiológico en que se encontraban. El crecimiento normalmente se detiene en el período de metamorfosis para algunas especies de anguilas (*Anguilla anguilla*, *Anguilla rostrata*), esto ha sido corroborado a través del examen de otolitos, como lo informa Lecomte-Fineger & Yahayaoui (1989); Yahayaoui *y col.*, (1990) y Yahayaoui *y col.*, (1996).

Yahayaoui (1987) señala una similar situación en *Anguilla anguilla* con especímenes de retorno, donde el diferencial del gradiente salino tiene una tendencia a reducir la longitud y un efecto negativa en el crecimiento. Un factor de condición más alto, generalmente se encuentra en los animales en las fases tempranas de metamorfosis comparadas a las fases más tardías, debido a que las reservas energéticas son destinadas para la fase de metamorfosis.

Una explicación para esto según Hoar & Randall (1988), es el hecho que los peces que realizan procesos migratorios, con diferencial salino, desarrollan mecanismos de osmorregulación adecuados al nuevo ambiente. El paso desde un medio hipertónico a uno hipotónico, conduce a un gasto de las reservas energéticas, siendo destinadas a ofrecer al pez una mejor respuesta al desafío salino, en desmedro de un mayor crecimiento, ya sea este expresado en peso o longitud. Mc Dowall (1968) señala que la talla de los puyes cuando comienza la migración hacia los ríos es de 37 a 62 mm (\times 52,5 mm). En esta investigación la talla fue de $50,40 \pm 2,61$ mm. El índice de condición (K) de los ejemplares iniciales era de $0,48 \pm 0,11$ y el valor máximo fue de $0,51 \pm 0,06$ para el tratamiento Verde de 15 ‰. Boëtius & Boëtius, (1989^a) recoge para ejemplares de *A. anguilla* índices de condición fluctuantes entre 0,47 a 0,61 en periodo de ascenso. Boëtius (1976); Boëtius & Boëtius, (1989^b) y Barnabé (1991) asocian este decrecimiento en la condición de las anguilas en proceso de metamorfosis a un ayuno prolongado como consecuencia de su adaptación a salinidades más bajas, en la smoltificación de salmonídeos se observa un decrecimiento en el índice de condición (K), por el proceso migratorio del agua dulce al agua marina (Hansen, 2001). Yahayaoui (1987) señala que la

salinidad, a la vez, juega un importante papel en el apetito de las anguilas, esto a favor de salinidades bajas.

Seymour (1990) experimentando con el apetito de anguilas (*A. anguilla*), en estado cristalino, expresa que la temperatura juega un papel en el estímulo del apetito, por el diferencial que se produce de una homogeneidad relativa del agua de mar contra las variaciones que se presentan por la acción de los ríos por donde ellos ascienden. Haro & Krueger (1987) desarrollaron conclusiones similares en la costa Atlántica de Norteamérica con especímenes de *Anguilla rostrata*, recogidos y registrados desde Terranova hasta Florida, señalando que el alza de temperatura es un factor favorable para el crecimiento de las anguilas. Hoar & Randall (1988), informan que para lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*) y lampreas (*Lamprera planeri*), temperaturas más altas producen reducción en el tiempo de metamorfosis y los individuos se metamorfosean más pequeños. Esto debe ser considerado en el cultivo del puye, ya que *G. maculatus* es un pez de agua fría, por lo tanto sensible a las alzas de temperatura. Campos (1970) señala que en ambientes naturales esta especie tolera temperaturas de hasta 21°C, pero este valor en condiciones de cultivo produciría una disminución en la calidad del agua, bajas de oxígeno, presencia de protozoos y saprolegniasis (Blanco, 1995), lo que sería perjudicial para el cultivo. En el experimento realizado, la temperatura no superó los 18°C y la presencia de protozoos sólo se manifestó en los tratamientos con agua dulce, con el consiguiente aumento de mortalidad con respecto a los demás tratamientos. Se debe considerar dos problemáticas con relación al aumento de la temperatura; la primera, que un alza de ésta podría favorecer a una mejor

conducta alimentaria, y la segunda, que esta misma alza produciría un inicio de la metamorfosis más temprana, con el consiguiente aumento en la pigmentación.

Los resultados de la pigmentación externa de los puyes muestran que la pigmentación de la zona lateral, no es un buen indicador de la pigmentación, ya que la cantidad de melanóforos registrados en la longitud estimada (1728 μm) no es significativamente diferente entre los distintos tratamientos. En los resultados obtenidos con la estimación del porcentaje de área corporal cubierta por melanóforos se logró constatar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Era esperable que las salinidades bajas (0 ‰) fueran un gatillante medioambiental para la metamorfosis y el consiguiente aumento de la pigmentación de los individuos, como lo constató Encina *y col.*, (1999) en experiencias anteriores en la misma especie. Los especímenes que presentaron una superficie pigmentada más baja se obtuvieron con los tanques Blancos con 15 ‰ y 25 ‰. No obstante, en los tanques Verde de 15 ‰ se registró diferencias estadísticamente significativas con los anteriores, entonces, se puede argumentar que los tanques con agua de pozo (0 ‰) no son propicios para el cultivo de larvas cristalinas por acelerar la metamorfosis, independiente de su color (Blanco ó Verde), mientras que para los tratamientos salinos, la mejor opción son los tanques Blancos, independientemente de las variables analizadas solo se manifestó una interacción significativa entre la salinidad 15 ‰ y el color Blanco. Campos (1970) señala como factor de maduración el aumento de la temperatura y el incremento progresivo de la luminosidad. Mc Dowall (1968), señala que los puyes cuando entran al agua dulce son

transparentes, sólo pigmentados por xantóforos y melanóforos. Los xantóforos presentes en la cabeza y en la región medio dorsal, los melanóforos presentes en la zona lateral, líneas ventrales y manchas a través del dorso. También están presentes en la parte dorsal de la cabeza (mancha craneal), detrás de los ojos, alrededor de la boca, en el margen posterior del opérculo y en los radios de la aleta caudal (Figura 6).

Las altas mortalidades ocurridas en los tanques de 0 ‰ (Blanco y Verde), pueden ser producto de una mala calidad del agua, debido a la presencia de protozoos observados en periodos de grandes mortalidades, esto no ocurrió en los tratamientos con salinidades. Las mortalidades de los ejemplares de los tanques con salinidad de 25 ‰ (Blanco y Verde), podrían ser consecuencia de las condiciones fisiológicas de los individuos, ya que por su naturaleza migratoria y su reotactismo positivo, deben enfrentar salinidades más bajas, aumentando el estrés y bajando sus defensas.

La estabilidad de la sobrevivencia de los tratamientos con aguas salobres (15 ‰) próximo al 98 % confirma la condición de que las post-larvas pre-metamórficas son típicamente estuarinas, no presentando a través del experimento trastornos en su manejo ni en su cuidado.

La pigmentación ocurre o se intensifica cuando las post-larvas entran al agua dulce (gradiente de salinidad). Inicialmente aparecen muchos pequeños melanóforos desarrollándose sobre la superficie, luego aumenta la densidad en el área dorsal y se extiende lateralmente. La pigmentación se intensifica sobre los miocitos, acumulos plateados de guanina se desarrollan en la cavidad abdominal y sobre la superficie latero-ventral del opérculo. Campos (1970),

señala puntos de pigmentación precisos como el saco vitelino, el tubo digestivo, la región caudal y la parte dorsal posterior, pero no señala el estado de desarrollo de los embriones en donde realizó sus observaciones. Las larvas cristalinas desarrollan pigmentación en la parte dorsal tempranamente. Los primeros esbozos de la mancha craneal se registran antes de los 75 días de cultivo, además de una intensificación progresiva de la pigmentación en el tubo digestivo (Figura 4).

Una escala de evaluación de la pigmentación específica para *G. maculatus* debiera hacerse sobre la base de establecer un límite máximo de pigmentación, estableciendo un porcentaje máximo aceptable para la comercialización del producto, siendo una estimación certera de las condiciones pigmentarias de la población de cultivo.

Una evaluación subjetiva de la pigmentación no demostraría con real confianza la diferencia entre grupos de cultivo. Métodos de evaluación macroscópicas de pigmentación propuestas por Boëtius (1976); Boëtius & Boëtius (1989^b) o la modificada por Haro & Krueger (1987) no revelaron significancia entre los tratamientos experimentados, pero deja abierta la alternativa de registrar toda la fase metamórfica de *G. maculatus* desde las post-larvas hasta adulto. Esto, facilitaría la labor del cultivador al poder predecir el comportamiento de la pigmentación y programar una eventual fecha de cosecha de cristalinos sin producir pérdidas en su cultivo. Investigaciones como esta deben continuar realizándose, sólo así, se alcanzará un nivel de conocimientos suficiente que permitirá manejar las fases de cultivo de manera que permitan obtener un producto acuático de alto valor comercial.

VII. CONCLUSIONES.

- La pigmentación del puye (*G. maculatus*) se inicia en estado embrionario con la pigmentación de los ojos a las 116,45 UTA y la presencia de melanóforos en el saco vitelino a las 123,45 UTA.
- No existen diferencia significativas en la determinación del crecimiento en los parámetros de longitud y peso después de un mes de cultivo experimental.
- En el sistema de cultivo experimental el menor grado de pigmentación se alcanza con tanques de color blanco y salinidad de 15 ‰.
- La mayor sobrevivencia se alcanzó con el tratamiento de tanque Blanco y salinidad de 15 ‰.
- El área cubierta por melanóforos, es el mejor indicador del grado de pigmentación de *Galaxias maculatus*.

VIII. BIBLIOGRAFÍA.

- ABDEL-MALEK, Z., V. SWOPE & J. NORDLUND. 1992. The nature and biological effects of factors responsible for proliferation and differentiation of melanocytes. *Pigment Cell Research Suppl*: 3-47.
- BARNABÉ, G. 1991. *Acuicultura. Volumen II*. Ed. Omega. Barcelona. España. 1099 pp.
- BLANCO, C. 1995. *La trucha, cría industrial*. 2º Ed. Mundi-Prensa. Madrid España. 238 pp.
- BOËTIUS, J. 1976. Elvers, *Anguilla anguilla* and *Anguilla rostrata* from two danish localities. Size, body weight, developmental stages and number of vertebrae related to time of ascent. *Meddr. Danm. Fisk og Havunders*: 199-220.
- BOËTIUS, I. & J. BOËTIUS. 1989^a. Ascendig elvers, *Anguilla anguilla*, from five european localities. Analyses of pigmentation stages, conditions, chemical composition and energy reserves. Dana. Charlottenlund [DANA.]: 1-12

- BOËTIUS, I. & J. BOËTIUS. 1989^b. Primary data of length/weight, pigmentation stages and chemical composition in ascending elvers, *Anguilla anguilla*. DFH rapport: 1-28.
- BÓRQUEZ, A. & P. DANTAGNAN. 1999. Larvicultura de *Galaxias maculatus* en sistema intensivo de producción. Seminario Internacional, Bases para la Piscicultura del Puye *Galaxias ssp*. Temuco, Chile: 21-23.
- CAMPOS, H. 1970. *Galaxias maculatus* (Jenyns) en Chile, con especial referencia a su reproducción. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural. Santiago. Chile. 31: 5-20.
- CAMPOS, H. 1977. Avances en el estudio sistemático de la familia Galaxiidae (*Osteichthys: Salmoniformes*). Archivos de Biología y Medicina Experimental. 12: 107-118.
- ENCINA, F., C. AGUAYO & C. SOBARZO. 2000. Parámetros fisiológicos para la estimación de capacidad de carga para cultivo de puye *Galaxias maculatus*. Seminario Internacional, Bases para la Piscicultura del Puye *Galaxias ssp*. Temuco, Chile: 13-15.
- EVANS, D. 1998. The physiology of fishes. 2° ed. CRC Press Inc. Florida. EE.UU. 519 pp.

- FLETCHER, C. 2000. Estudio de los patrones de motilidad y fertilidad del espermatozoide de puye, *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) bajo condiciones de cultivo experimental. Tesis para optar al grado de Licenciado en Ciencias de la Acuicultura. Temuco, Chile. 53 pp.
- FUJII, R. 1993^a. Cytology of fish chromatophores. International Review of Cytology. Academic Press. Inc. EE.U:191-253.
- FUJII, R. 1993^b. Coloration and chromatophores. CRC Press. Inc EE.UU: 535-562.
- HANSEN, T. 2001. Production strategies for smolt; 1 year smolt production; 0+ smolt production. Seminario Internacional Esmoltificación y Reproducción de Salmonídeos. Puerto Montt .Chile: 1-9.
- HARO, A., W & KRUEGER.1987. Pigmentation, size, and migration of elvers (*Anguilla rostrata* (Lesueur)) in a coastal Rhode Island stream. Department of Zoology. University of Rhode Island. Kingston.U.S.A. 2528-2533
- HOAR, W & D. RANDALL. 1988. Fish physiology. Volume XI, The physiology of developing fish. Part B, Viviparity and posthatching juvenile. Academic Press editions. California U.S.A: 474.

- LAGLER, K., J. BARDACH, R. MILLERS & D. MAY PASSINO. 1990. Ictiología. 1° ed. AGT. México: 489.

- LECOMTE-FINEGER, R & A. YAHAYAOU. 1989. La microestructure de l'otolite au service de la connaissance du développement larvaire de l'Anguille européenne *Anguilla anguilla*. Biologie Marine. C. R. Acad. Sci. Paris. Série III: 1-7.

- MARDONES, A., C. PICHARA & X. SALAS. 1999. Mercado y comercialización del puye, similes y sucedáneos. Seminario Internacional, Bases para la Piscicultura del Puye *Galaxias ssp*. Temuco, Chile: 10-12.

- MC DOWALL, R. 1968. *Galaxias maculatus* (Jenyns) the New Zealand whitebai. Fisheries research division. Marine department. Wellington. New Zealand : 1-26.

- MC DOWALL, R. 1999. The ecology of the inanga, *Galaxias maculatus* (Teleostei: Galaxiidae), in New Zealand. Seminario Internacional, Bases para la Piscicultura del Puye *Galaxias ssp*. Temuco, Chile: 12-14.

- PEREDO, S. 1980. Bases citológicas de la pigmentación en reptiles. Stylo. Editorial Universidad de la Frontera. 17 : 73 –103.
- PROSSER, C & F. BROWN. 1968. Fisiología comparada. Ed. Interamericana. México, 728 pp.
- SEYMOUR, E. 1990. Appetite of fingerling eels (*Anguilla anguilla* L.) in relations to temperature and deprivation time. Int. Revue ges. Hydrobiol. London, Great Britain: 895.
- SOLBAKKEN, J., B. NORBERG, K. WATANABE & K PITTMAN. 1999. Thiroxine as a mediator of metamorphosis of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. Enviromental biology of Fishes: 53-65.
- TAKASHIMA, F & T. HIBIYA. 1995. An atlas of fish histology, normal and pathological features. 2°ed.. Kodansha Ltd. Tokyo, Japan. 195 pp.
- VALDEBENITO, I. 1999. Manejo reproductivo del puye, *Galaxias maculatus* en condiciones de cultivo. Seminario Internacional, Bases para la Piscicultura del Puye *Galaxias ssp* . Temuco. Chile: 18-19.

- VALDEBENITO, I., J. BARILES, A. BÓRQUEZ, P. DANTAGNAN, R. VEGA, E. CARREÑO & C. URIBE. 1996. Parámetros reproductivos de una población de puyes (*Galaxia maculatus*) en condiciones de cultivo experimental. IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura y 2° Simposio de Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile. Coquimbo, Chile: 366-375.
- VEGA, R. 1999. Estado del conocimiento de la biología de *Galaxias maculatus* en Chile. Seminario Internacional. Bases para la Piscicultura del Puye *Galaxias ssp.* Temuco, Chile: 8-9.
- VEGA, R., I. VALDEBENITO, J. BARILES, P. DANTAGNAN, A. BÓRQUEZ & A. MARDONES. 1996. Estado actual de la investigación y desarrollo de la tecnología para el cultivo comercial del puye. (*Galaxias maculatus*). IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura y 2° Simposio de Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile. Coquimbo, Chile: 81-95.
- VELÁSQUEZ, A. 1999. Estudio base para el desarrollo del proyecto piloto de cultivo de puyes “ *Galaxias maculatus*” en la XI región. Seminario Internacional, Bases para la Piscicultura del Puye *Galaxias ssp.* Temuco, Chile: 24-26.
- WALPOLE, E & R. MYERS. 1997. Probabilidad y estadística. 4° ed. Mc Graw-Hill. Barcelona , España. 797 pp.

- YAHAYAOUÏ, A. 1987. Etude expérimentale de la croissance de la civelle d'Anguille (*Anguilla anguilla* L., 1758). Effets de la salinité et de l'alimentation et influence du tri en cours d'élevage. Université de Perpignan. Lab. de Bio. Mar. Cadex. France:1-13.

- YAHAYAOUÏ, A., A. BERRAHO & R. LECOMTE-FINIGER. 1990. Comparison of growth rate of culture elvers (*Anguilla anguilla*). Int. Revue ges. Hydrobiol. Université de Perpignan. Lab. de Bio. Mar. Cadex. France: 896.

- YAHAYAOUÏ, A., A. BERRAHO, R. LECOMTE-FINIGER & P. AGUESSE. 1996. Studies on the microstructure of otoliths and the estimation of the duration of larval stage in glass eel (*Anguilla anguilla*) in maroccan coastal waters. Arch. Ryb. Pol. Rabat. Morocco: 277- 284.