

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO
FACULTAD DE ACUICULTURA Y Cs. VETERINARIAS
ESCUELA DE ACUICULTURA



“Diseño de un método estándar de cultivo para la evaluación de la calidad ova - larva de “puye”, *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842)”

*Tesis de Grado presentada
como requisito para optar al
grado de Licenciado en Ciencias
de la Acuicultura*

Sr. Juan Pablo Araneda Vergara

Profesor Guía: Sr. Rolando Vega Aguayo

TEMUCO CHILE

-2004-

Agradezco:

A Dios

A mis padres y a mi hermano, por todo su apoyo y confianza.

A Susana por su comprensión y por todo su amor

Agradezco a todos mis amigos por su compañía, por los momentos inolvidables que compartimos, y que seguiremos compartiendo.

Al profesor Rolando, por su paciencia y apoyo al momento de realizar esta Tesis.

I. Índice

Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción	3
2. Antecedentes Bibliográficos	6
3. Justificación	14
4. Objetivos	15
4.1. Objetivo general	15
4.1.1. Objetivos específicos	15
5. Hipótesis	16
5.1. Supervivencia larval entre tratamientos.	16
5.2. Crecimiento larval entre tratamientos.	16
5.3. Calidad larval según origen.	16
6. Material y Método	17
6.1. Lotes Experimentales	17
6.2. Diseño del método estandarizado para medir la calidad ova-larva.	18
6.2.1. Desove y Fertilización	18
6.2.2. Estándar de Incubación.	19
6.2.3. Mediciones Asociadas al Control de Calidad en Ovas	20
6.2.4. Manejo técnico durante la incubación	21
6.2.5. Condiciones estándar del cultivo larval	21
6.2.6. Mediciones asociadas al Control de Calidad en larvicultura.	23
6.2.7. Manejo técnico durante la larvicultura	25
6.2.8. Cultivo de Rotíferos.	26
6.2.9. Cultivo de Microalgas	27
6.3. Diseños Experimentales.	28
6.3.1. Diseño experimental para el método de cultivo a Temperatura variable y estándar de Temperatura Controlada ($12 \pm 1^\circ\text{C}$).	28
6.3.2. Diseño experimental para la evaluación de la calidad ova - larva de distintos orígenes.	30
6.4. Análisis Estadístico	31
7. Resultados	33
7.1 Método de cultivo a Temperatura Ambiental y estándar de Temperatura Controlada.	33
7.1.1. Grupo Hormonal (Eclosión el 4 -Octubre- 2003)	33
7.1.2. Grupo Silvestres Toltén (Eclosión el 15 - Diciembre 2003)	35
7.1.3. Grupo F4 (Cuarta generación en cautiverio, con eclosión el 27 - Diciembre - 2003)	38
7.1.4. Grupo Faja Maisan. (Eclosión el 27 - Diciembre -2003)	40

7.2. Efecto de la Temperatura, variable y controlada ($12 \pm 1^{\circ}\text{C}$), en la Supervivencia al estrés y en el Índice de Crecimiento (SGR).	43
7.3. Calidad Ova-Larva según origen.	45
7.3.1 Antecedentes de los Reproductores.	45
7.3.2. Calidad de la Ova	46
7.3.3. Longitud Inicial y Longitud del Saco Vitelino	47
7.3.4. Calidad larval (1° y 2° Semana) en Supervivencia Total.	48
7.3.5. Calidad de la Técnica de Cultivo (3° y 4° Semana) en Supervivencia Total.	49
7.3.6. Crecimiento Total	51
8. Discusión	54
8.1. Evaluación del método de cultivo a Temperatura variable y estándar de Temperatura Controlada ($12 \pm 1^{\circ}\text{C}$).	54
8.2 Calidad Ova -Larva según el origen.	59
9. Conclusiones	64
10. Bibliografía	65

II. Índice de Tablas y Figuras

Tablas

<i>Tabla 1: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en °C y UTA para cada semana, Porcentaje de sobrevivencia (S%) y Crecimiento (mm).</i>	34
<i>Tabla 2: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en °C y UTA para cada semana, Porcentaje de sobrevivencia (S%) y Crecimiento (mm).</i>	36
<i>Tabla 3: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en °C y UTA, para cada semana, Crecimiento (mm) y Porcentaje de sobrevivencia (S%).</i>	38
<i>Tabla 4: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en °C y UTA, Crecimiento (mm), Porcentaje de sobrevivencia (S%), para cada semana.</i>	41
<i>Tabla 5: Resumen de la sobrevivencia al estrés (% S estrés), Crecimiento (SGR %/d) y la Temperatura promedio del medio de cultivo.</i>	43
<i>Tabla 6: Resumen Longitud (cm.) promedio de reproductores (H3 y M3) utilizados.</i>	46
<i>Tabla 7: Resumen de las mediciones relacionadas al estándar de calidad de la ova; % Fertilización (%F), % Ova Ojo (%O/O), % de Eclosión (%E) y UTA durante la incubación.</i>	47
<i>Tabla 8: Resumen de la longitud total (LT mm) y Longitud del Saco vitelino (LSV μm) al momento de la eclosión de larvas de <i>G. maculatus</i>.</i>	47
<i>Tabla 9: Porcentaje (%) de sobrevivencia larval semanal para los diferentes orígenes en el Tratamiento de Temperatura Controlada.</i>	50
<i>Tabla 10: Crecimiento larval (mm) semanal para los diferentes orígenes en el Tratamiento de temperatura controlada.</i>	52

Figuras

<i>Figura 1: Placa Petri con cuna incubadora.</i>	19
<i>Figura 2: Cultivo de Rotíferos, en estanques de 60 litros.</i>	26
<i>Figura 3: Cultivo de <i>Nannochloropsis oculata</i>, en bolsas de polietileno</i>	27
<i>Figura 4: Estructura de cultivo para el grupo Control de temperatura variable</i>	29
<i>Figura 5: Estructura de cultivo semi-sumergida del Tratamiento de Temperatura Controlada (12 ± 1 °C)</i>	29
<i>Figura 6: Relación de las medias de sobrevivencia y crecimiento entre Control (Temperatura variable) y Tratamiento (temperatura controlada). GH: Grupo Hormonal; ST: Silvestres Toltén; F4: Larvas cuarta generación en cautiverio; FM: Grupo Faja Maisan. R: Replicas.</i>	31
<i>Figura 7: Relación entre las medias de sobrevivencia y crecimiento de los distintos orígenes, para evaluar la calidad larval, a los 15 días de cultivo. GH: Grupo Hormonal; ST: Silvestres Toltén; F4: Larvas cuarta generación en cautiverio; FM: Grupo Faja Maisan</i>	32
<i>Figura 8: Sobrevivencia larval de <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4).</i>	34
<i>Figura 9: Crecimiento larval semanal promedio (mm) de <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), a partir de la longitud inicial (S0), $6,1 \pm 0,5$ mm.</i>	35

Figura 10: Supervivencia larval <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4) _____	36
Figura 11: Crecimiento larval semanal <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), partiendo de una longitud (S0), $5,5 \pm 0,4$ mm. _____	37
Figura 12: Supervivencia larval <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4) _____	39
Figura 13: Crecimiento larval semanal <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), partiendo de una longitud (S0), $6,6 \pm 0,3$ mm. _____	40
Figura 14 : Supervivencia larval <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4). _____	41
Figura 15: Crecimiento larval semanal <i>G. maculatus</i> y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), partiendo de una longitud (S0), $6,5 \pm 0,3$ mm. _____	42
Figura 16: Efecto de la Temperatura, variable y controlada (12 ± 1 °C), en la supervivencia al estrés para cada origen. GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; F.M: Grupo Faja Maisan. ____	44
Figura 17: Efecto de la Temperatura, variable y controlada (12 ± 1 °C), en el índice de crecimiento (SGR) para cada origen. GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; F.M: Grupo Faja Maisan. 45	
Figura 18 : Supervivencia (%) larval de <i>G. maculatus</i> de distintos órdenes a temperatura controlada (12 ± 1 °C). _____	50
Figura 19: Crecimiento larval de <i>G. maculatus</i> de distintos órdenes a temperatura controlada (12 ± 1 °C).53	

Resumen

*En el cultivo del “puye” (*Galaxias maculatus*), los resultados de los métodos de cultivo han sido variables, no comparables, debido a que no se contaba con un método estándar de cultivo para la evaluación de la calidad ova-larva. Para determinar el efecto de la temperatura en la sobrevivencia y crecimiento de la larva del “puye”, se diseñó un método estándar de cultivo que mantuvo la temperatura constante del agua (12 ± 1 °C), color de estanque, salinidad, densidad, luminosidad y alimentación (dosis – frecuencia). Esto permitió que se evaluaran distintas cepas de “puye” diadrómico (Ovas y larvas de los siguientes orígenes: de reproductores inducidos con hormonas, de reproductores de tercera generación en cautiverio, de reproductores silvestres de la barra del río Toltén y de reproductores acondicionados en Faja Maisan), para los primeros 15 días de cultivo, tomando como base los resultados en incubación (sistema húmedo estandarizado). Se tuvo que comprobar el efecto de la temperatura variable, en la sobrevivencia y crecimiento, a los 30 días de cultivo. Se mantuvo un control de temperatura variable (ambiente) y un tratamiento con temperatura controlada (12 ± 1 °C), por cada origen, con cinco réplicas cada uno. Los resultados de este experimento demostraron la variabilidad que producen las temperaturas, entre los 13 a 19 °C, en la sobrevivencia total y en el crecimiento de la larva de “puye” diadrómico. La calidad ova – larva, medida con los estándares de incubación y de cultivo larval mostró que los grupos silvestres Toltén, Faja Maisan y F4, fueron los que obtuvieron buenos resultados en la incubación (>70 % eclosión) y en los primeros 15 días de cultivo (> 80 % sobrevivencia), el grupo hormonal, en cambio, obtuvo resultados inferiores (< 80 % sobrevivencia), a los demás grupos en los primeros 15 días de cultivo. El crecimiento (SGR), fue similar entre los grupos silvestres Toltén, Faja Maisan y F4 (1,4 – 1,6 %/día), pero la longitud inicial marcó la diferencia entre estos grupos, siendo las larvas de mayor longitud al eclosionar y a los 15 días las pertenecientes a F4 ($7,8 \pm 0,4$ mm) y Faja Maisan ($7,6 \pm 0,4$ mm). Conclusiones: Por medio de este experimento se determinó que la temperatura de cultivo, tiene un efecto directo, en la sobrevivencia y crecimiento, por lo tanto debe ser controlada. Por medio de un método estándar de cultivo es posible evaluar la calidad ova-larva.*

Palabras claves: *Galaxias maculatus*, calidad ova-larva, temperatura, método estándar de cultivo.

Abstract

In culture of "puye" (Galaxias maculatus), the results of cultivation methods have been variable, not comparable because didn't have a standard cultivation method for egg-larvae quality evaluation. To determine the effect of the temperature in survival and growth of "puye" larvae, a standard method of culture was designed that maintained constant water temperature (12 ± 1 °C), pond color, salinity, density, lighting and feeding (dose - frequency). This allowed that different stumps of diadromic "puye" were evaluated (eggs and larvae of the following origins: broodstock induced with hormones, of broodstock of third generation in captivity, of wild broodstock of "barra río Toltén" and of broodstock in Faja Maisan conditioned), for first 15 days of cultivation, taking like base the results in incubation (standardized humidity system). To proven variable temperature effect, in the survival and growth, to 30 days of cultivation. Stayed a control of variable environmental temperature and treatment with controlled temperature (12 ± 1 °C), for each origin, with five samples each one. The results of this experiment demonstrated the variability that produced by temperatures, among the 13 to 19 °C, in the total survival and growth of diadromic "puye" larvae. The quality egg - larvae, measure with incubation standards and larval cultivation parameters showed the wild groups Toltén, Faja Maisan and F4, those that obtained good results in incubation (>70% appearance) and on first 15 days of cultivation (> 80% survival), the hormonal group, obtained inferior results (<80% survival), to the other groups in first 15 days of cultivation. The growth (SGR), it was similar among the wild groups Toltén, Faja Maisan and F4 (1,4 - 1,6% /day), but the initial longitude marked the difference among these groups, being the larvae of more longitude to eclosion and the 15 days those belonging to F4 ($7,8 \pm 0,4$ mm) and Faja Maisan ($7,6 \pm 0,4$ mm). Conclusions, by means of this experiment were determined that cultivation temperature, has a direct effect, in the survival and growth, therefore it should be controlled. By means of a standard method of cultivation is possible evaluate the egg-larvae quality.

Keywords: *Galaxias maculatus*, egg – larvae quality, temperature, standar culture method.

1. Introducción

Se estima que producto de la utilización de alimentos extruidos para salmones, en el cultivo de reproductores de *G. maculatus*, se producen ovas que no tienen la misma calidad que en ovas generadas desde individuos silvestres, y se origina una gran variabilidad en este aspecto. Esto es producto que los cultivos larvales se realizan en invierno o en verano sin control de la temperatura de cultivo, salinidad, color estanque y luminosidad, haciendo que los resultados no sean comparables. En estas condiciones no se puede evaluar la calidad de la ova, medida, como rendimiento larval durante la primera etapa de cultivo. (Sobrevivencia y crecimiento).

Se ha estandarizado el método de incubación de ovas del “puye” diadrómico, en sistemas de incubación en un medio húmedo (no sumergido) a 10 °C, pero los resultados de este estándar no se han evaluado en relación a la larva eclosionada, con un método estándar de cultivo larvario. Es por esto, que se debe estandarizar un método de cultivo larval, para medir la calidad de ova – larva como consecuencia de un buen o mal resultado en incubación.

La calidad de la ova se define por las características que debe tener la ova para determinar su alta capacidad de sobrevivencia y viabilidad. Esta debe ser evaluada en los estadios tempranos de desarrollo, permitiendo eliminar a tiempo los embriones no viables y optimizar la capacidad del hatchery (Bromage, 1995). Además, desde el punto de vista económico, es muy importante medir efectivamente la calidad de la producción lo más tempranamente que sea posible por medio de adecuados procedimientos de evaluación. (Planas. & Cunha , 1999). Es por esto que se deben definir límites estándar razonables para

continuar o no una producción de ovas de *G. maculatus*, es decir, límites de aceptación para los porcentajes de fertilización, ova ojo y eclosión, como además los porcentajes sobrevivencia durante los primeros días de vida de las larvas.

Se consideran huevos de calidad aquellos que se distinguen por altos porcentajes de supervivencia durante incubación y eclosión, así como las características de las larvas que han dado lugar, especialmente referido a su estado físico y rapidez de crecimiento.(Blanco,1995).

La formación del huevo, la aparición del corión, y de gotas lipídicas, son características que se relacionan con la calidad. El porcentaje de fertilización es un buen índice de calidad en especies marinas como en salmonídeos. Una buena correlación entre el porcentaje fertilización y el porcentaje ova con ojo demostraría ovas de buena calidad. (Bromage, 1995). Los porcentajes de fertilidad obtenidos en el “puye” (*G. maculatus*), se encuentran alrededor del 90%, dependiendo de la calidad de la ova y del semen (Valdebenito *et al*, 1999).

Entre otros factores que se relacionan con la calidad de la ova están: la nutrición y genética de reproductores, las condiciones de incubación, la composición química y la colonización microbiana, de acuerdo a lo informado por Bromage (1995).

Cuando se cultiva una nueva especie con carácter comercial, es importante determinar las condiciones óptimas para el crecimiento y sobrevivencia por cada etapa a lo largo de su vida; pero, quizás lo más crucial es determinar las condiciones ideales para las etapas

tempranas de las larvas, como es su sobrevivencia y crecimiento (Bidwell & Howell, 2001). El desconocimiento de las condiciones óptimas de cultivo y de la conducta larvaria constituye una dificultad importante para evaluar la calidad de los primeros estados de desarrollo larval en la ausencia de una tecnología adecuada de cultivo (Planas & Cunha, 1999). El resultado que se esperaría obtener al desarrollar una tecnología de cultivo de los reproductores *G. maculatus* sería la obtención de ovas y larvas de calidad.

Pocos son los métodos que existen para evaluar la calidad o viabilidad de las larvas de los peces marinos. Existen diferentes métodos de tolerancia de los animales a condiciones extremas. Las pruebas se basan sobre supuestos de la fragilidad del pez, su débil tolerancia a un tratamiento, lo que provoca necesariamente su muerte. Algunas de estas pruebas son cambios a salinidad extrema, exposición al aire y temperatura. (Karlsen & Mangor-Jensen, 2001). Planas & Cunha, (1999), han informado sobre la evaluación de la *calidad larval* frente a la exposición de bacterias (*Vibrio* sp.) en larvas de “turbot”, evaluando la sensibilidad al impacto o la patogenicidad de esta.

Producir ovas de calidad y medir el rendimiento larval, durante los primeros 15 días, tomando como parámetros de calidad el crecimiento y la sobrevivencia, además de los parámetros establecidos en la evaluación de la calidad de la ova. (*Porcentaje de fertilización, porcentaje ova ojo y el porcentaje de eclosión*), permitiría certificar que las ovas producidas por un método estándar de incubación, y evaluadas con un *método estándar de cultivo*, sean de buena o mala calidad.

2. Antecedentes Bibliográficos

Biología del Puye.

El “puye”, *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842), es un pez del orden osmeriforme de la familia Galaxiidae, con una distribución circunscrita a los extremos del hemisferio sur: Australia, Nueva Zelanda, Tasmania, Península del Cabo en Sudáfrica y cono sur de Sudamérica en Argentina y Chile (Campos, 1970). Este pez puede habitar áreas donde la salinidad fluctúa desde oligohalinas hasta polihalinas, es decir, zonas de baja salinidad de características dulceacuícolas hasta zonas de alta salinidad de características estuariales o marinas (Mc Dowall, 1988). En estas áreas es posible encontrar adultos, juveniles y larvas de poblaciones diadrómicas, que migran regularmente entre aguas dulce y marina para cumplir su ciclo de vida. En el mar se encuentran larvas y juveniles cristalinos diadrómicos. (Mc Dowall y Robertson, 1975). Vega R., en comunicación personal define a este pez como eurioico (amplia tolerancia a distintos habitats), ya que puede vivir en salinidades que van desde 0 g/l- 35 g/l y temperaturas que oscilan entre 4 – 25°C.

Los individuos retornantes del mar, donde han permanecido entre 4 a 6 meses, alcanzan tallas de 4 a 7 cm. de longitud total y un peso de 0,3 a 0,35 gr. Una vez en agua dulce, las post-larvas cristalinas comienzan a pigmentarse hasta llegar a convertirse en individuos adultos, los cuales al cabo de un año de su nacimiento alcanzan la primera maduración gonadal. (Mc. Dowall, 1988; Mitchell 1989; Barile, *et al*, 2003). Las poblaciones de agua dulce y estuarinas, presentan un marcado pico de desoves a fines de invierno e inicio de la primavera, y otro, al término del verano. (Valdebenito *et al*, 1999). Normalmente estos individuos desovan en la marea más alta producida en el estuario; aunque algunos

individuos pueden desovar en zonas de agua dulce. Los desoves masivos se producen en otoño a temperaturas aproximadas a los 10°C, la cual sería la temperatura óptima natural aparentemente. (Benzie, 1968; Mitchell, 1989; Barile, *et al*, 2003). Al desovar las salinidades pueden variar de 0 g/l a 35 g/l, por ende los huevos se pueden desarrollar en esta amplia gama de salinidades. Un rasgo distintivo de este pez es que la hembra adhiere los huevos entre la vegetación terrestre aprovechando la marea alta, definido así por la periodicidad lunar en la migración y desove de los peces adultos. Los huevos se mantienen húmedos por la atmósfera producida dentro de la vegetación pudiendo sobrevivir durante seis semanas sin re-inmersión. Después de este tiempo, los huevos eclosionan cuando son nuevamente recubiertos por el agua, de esta forma las larvas van inmediatamente al mar arrastradas por la corriente. (MC Dowall, 1988).

Las únicas experiencias conducentes al desarrollo de una tecnología productiva comercial, se lleva a cabo en Chile por un equipo de investigadores de la Universidad Católica de Temuco, los que se encuentran desarrollando un sistema de cultivo en donde la generación de reproductores y larvicultura se realiza en estanques de tierra y/o en sistemas intensivos de producción. (Barile, *et al*, 2003).

En condiciones de cultivo experimental, se determinó que el “puye” es una especie iterópara dioica, que presenta varios eventos reproductivos a lo largo de su vida con diferenciación sexual, realiza dos desoves por temporada (invierno-primavera), de manera parcial durante un período de entre 10 a 60 días . (Campos, 1970; Valdebenito *et al*, 1999; Valdebenito & Vega, 2003).

Se ha caracterizado de forma macroscópica el estado de madurez en *G. maculatus* (Valdebenito & Vega, 2003), dado por:

Virginales (V): Ejemplares que no presentan señales visibles de maduración.

Madurez Inicial (M1-H1): Las hembras (H) poseen huevos pequeños de color amarillo grisáceo, identificables por la transparencia del poro genital. En los machos (M), es posible identificar por transparencia un testículo rudimentario de color plateado, el semen es escaso y muy denso.

Madurez Media (M2-H2): Las hembras poseen huevos de mayor tamaño, formando hileras de huevos hacia la región posterior. Los machos, muestran un abultamiento de la región abdominal hasta el borde del poro genital, el semen es poco abundante y espeso.

Madurez Máxima (M3-H3): Los ejemplares hembras presentan el abdomen distendido y el poro genital muy dilatado; los huevos son transparentes y están sueltos en la cavidad abdominal y pueden ser liberados con suaves masajes abdominales. Los machos, presentan el abdomen y testículos muy abultados, el semen sale fácilmente mediante una leve presión en la región abdominal y se caracteriza por ser blanco y fluido.

Reabsorción (R): En hembras el abdomen esta poco desarrollado, con texturas, formas y colores irregulares. Los machos, presentan abdomen abultado y plateado, pero sin salida de gametos maduros.

En laboratorio se ha estandarizado la secuencia del desarrollo embrionario de *Galaxias maculatus*. En síntesis, seis horas después de la fertilización, a una temperatura de 10 °C, se puede calcular el porcentaje de fertilización, momento en el cual el espacio perivitelino está totalmente desarrollado y se puede observar los dos primeros blastómeros. A las 400 horas,

a una temperatura de incubación de 10°C, es posible calcular el porcentaje de ova con ojo. En esta etapa los ojos están intensamente negros y las gotas lipídicas se han fusionado. A las 720 horas, aproximadamente, a 10°C el embrión esta en condiciones de eclosionar, siendo auxiliada su salida por medio de shocks térmicos, lumínicos y mecánicos. (Benzie, 1968; Mitchell, 1989; Barile *et al*, 2003).

De esta manera, imitando las condiciones de la naturaleza, en la disposición de los huevos, se determinó que las ovas con escasa, o ausencia de agua (método húmedo), continua su desarrollo normal, obteniendo mayores sobrevivencias embrionarias, frente al método sumergido, además, el método húmedo permite la automatización del proceso de cosecha, hace posible el control de la temperatura, humedad; optimiza la manipulación sobre el desarrollo del proceso, e impide la propagación de las bacterias que utilizan como vehículo el agua, disminuyendo de esta manera la contaminación horizontal de las ovas.(Barile, 1999)

La larva recién eclosionada, posee una longitud total de aproximadamente $6,4 \pm 0,5$ mm. Se desplaza nadando por la superficie del agua y cerca de las paredes del estanque. Sus movimientos son armónicos y activos, presentando fototactismo positivo, es decir, se dirige hacia la luz que exista en algún extremo del estanque. (Mitchell, 1989; Barile *et al*, 2003).

Larvicultura.

La operación eficiente en un hatchery depende de innumerables factores. Dentro de estos está la elección de un sitio adecuado, características del suelo, calidad del agua, adecuado diseño, estructuras del suministro de agua, y tratamiento del efluente del hatchery. (Piper *et al*, 1982).

La larvicultura intensiva siempre se ha llevado a cabo en *ambientes controlados*, puesto que estos organismos requieren de cuidados específicos, como el control microbiano, estrategias de alimentación, luz, color del estanque, entre otros. Todo esto se debe a que las larvas son organismos frágiles, pequeños y cuentan con una fisiología poco desarrollada.¹

Bernabé (1991), considera a la larvicultura ejecutada en cubetas, con un control integral de la alimentación, temperatura, luz y calidad del agua, como sumamente dependiente de la condiciones de este medio.

Factores Ambientales y Alimento Larval

Salinidad

La mayoría de los peces sólo toleran salinidades similares a aquellas en la que residen. Sin embargo, hay algunas especies capaces de sobrevivir en un amplio rango de salinidades, las que se denominan eurihalinas (Calderer, A. 2001), donde se incluye el “puye” diadrómico. Los rangos de salinidad a los que pueden ser expuestos los juveniles de “puye” diadrómico en cautiverio varían entre 5 g/l hasta 25 g/l, permitiendo prevenir enfermedades ectoparasitarias del agua dulce. (Vega *et al*, 1993). La salinidad óptima de cultivo está entre los 10 g/l y 15 g/l (Bórquez A. & Dantagnan P. *et al*, 1999). En el bioensayo que se basa esta investigación se utilizará 10 g/l de salinidad, coincidiendo con la salinidad utilizada en ensayos anteriores.

¹Referencia Electrónica: Sitio Oficial de la FAO:

<http://www.fao.org/docrep/003/w3732e/w3732e00.htm>

Temperatura

Cada especie tiene un rango de tolerancia de temperatura del agua, pero también requieren de temperaturas óptimas para su crecimiento y reproducción. Las temperaturas óptimas producen el máximo crecimiento del pez. Muchas de las operaciones de un hatchery dependen del conocimiento detallado de cada temperatura influyente en cada etapa productiva. (Piper *et al*, 1982).

Además, Calderer, (2001), enuncia que la temperatura idónea para un crecimiento más rápido es la que permite la reducción del tiempo productivo y una mejor eficacia alimenticia, con el consiguiente ahorro en alimento.

La temperatura óptima natural utilizada en el cultivo larval del “puye” fluctúa entre los 12 y 15 °C, (Mitchell, 1989), utilizándose en este bioensayo la temperatura de 12° C y no una temperatura más alta para evitar la proliferación de enfermedades bacterianas.

Luminosidad y Contraste con el medio

Otro factor es el contraste con el medio que puedan presentar las presas que sirven de alimentos a las larvas, las que son cazadoras visuales. Por ello, en determinadas especies se obtienen mayores sobrevivencias en estanques de paredes negras que en otras de coloraciones más claras, pues en el primer caso la localización de la presa es más eficiente. (Ostrowski, 1989, citado por Cardona, 1993). En el cultivo del “turbot”, la coloración negra del estanque tiene un efecto positivo en la sobrevivencia y crecimiento de las larvas frente a la coloración blanca (Howell, 1979, citado por Liewes,1984).

La decisión de utilizar estanques negros generalmente se adopta por la alta mortalidad observada en estanques de color blanco. Aún no hay estudios sobre el mejor color para un estanque de larvas de “puye”, de acuerdo a lo comentado por Vega R., en conversación

personal. Probablemente los estanques negros son los mejores para reproducir las condiciones de luminosidad natural. Los estanques blancos serían una trampa fototáctica para las larvas, por la atracción constante hacia las paredes y la nulidad del contraste de la presa. En este sentido, las larvas criadas en estanques de color negro se ven beneficiadas en crecimiento y sobrevivencia, lo que se enlaza positivamente con las condiciones nutricionales. (Planas & Cunha, 1999).

Alimento Vivo y Calidad del Alimento

Uno de los retos más importantes que tiene actualmente la acuicultura marina es la alimentación de las larvas y post-larvas. Durante los primeros días de vida, las larvas se alimentan básicamente de las reservas almacenadas en el saco vitelino, representada por una gota lipídica presente en la región abdominal. (Cardona, 1993). Las larvas de *G. maculatus*, eclosionan con una pequeña reserva vitelina que dura alrededor de 5 – 7 días, a una temperatura de 13 °C, lo que le permite sobrevivir entre los 15 – 18 días. La larva nace con la boca funcional y desde su eclosión posee una conducta de búsqueda del alimento. (Dantagnan *et al*, 1995; Dantagnan *et al*, 2002).

En el medio natural, la totalidad de las larvas de peces marinos son zooplanctófagos, con independencia en su alimentación siendo sus principales presas copépodos y copepoditos como, también, presas de menores tamaños: rotíferos, ciliados y larvas de moluscos. Su captura es siempre individual, sin que exista en ningún caso una filtración del medio (Bone & Marshall, 1982, citado por Cardona, 1993).

Las microalgas son una importante fuente intermediaria de alimentación, como una forma indirecta de enriquecer nutritivamente a aquellas especies de producción masiva como peces, crustáceos y moluscos, que suelen ser gran importancia económica.

Las principales variables a considerar en el cultivo algal son principalmente el entorno físico (temperatura, luz y agitación), y el entorno químico (esterilización, sales minerales, CO₂, pH y la salinidad). (Barnabé, 1991).

Para este caso, la alimentación sólo tendrá como finalidad mantener vivas a las larvas y en ningún caso se estará midiendo su eficacia nutricional como alimento.

Su administración será por vía rotíferos de la especie *Brachiounus plicatilis*, debido a que estos organismos presentan tamaños adecuados para la alimentación larval. A ello se suma su fácil cultivo y rápida reproducción. Además, que su valor nutritivo es enriquecido por la microalga de la especie *Nannochloropsis* sp.

3. Justificación

La finalidad de estandarizar un método que mida la calidad de las ovas y larvas es para proporcionar la información necesaria que debiera tener un acuicultor a la hora de evaluar cepas de *G. maculatus* diadrómico con fines productivos, desde la fertilización hasta los primeros 15 días de alimentación.

En los ensayos anteriores la temperatura no era controlada lo que repercutía en las pequeñas reservas vitelinas y en la calidad del agua. Esto se debe a que los cultivos se realizan en diferentes épocas del año donde las temperaturas tienen un alto rango de variabilidad entre invierno y verano. Por esto, es necesario determinar si la temperatura del medio de cultivo repercute en la sobrevivencia y crecimiento larval del “puye”, así como, evaluar diferentes cepas de *G. maculatus* diadrómico, desde la fertilización a los primeros 15 días de cultivo, en un ambiente estándar.

Se hace indispensable diseñar y probar un método estándar el cual considere una *temperatura constante, color de estanque, salinidad, alimentación y luminosidad para* evaluar la calidad larval del “puye” *G. maculatus*.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

- Diseño de un método estándar de cultivo para evaluar la calidad de ova - larva de *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842).

4.1.1. Objetivos específicos

- Diseñar y probar un método estándar para medir la calidad de larvas de *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842).
- Comprobar, que las condiciones de cultivo larval no controladas, producen variabilidad en los resultados (*sobrevivencia y crecimiento*)
- Evaluar la calidad de ova - larva de diferentes orígenes de cultivo, en *sobrevivencia y crecimiento*.

5. Hipótesis

5.1. Sobrevivencia larval entre tratamientos.

Ho: La sobrevivencia larval a una temperatura constante (Tratamiento), no presenta diferencias significativas con respecto al Control de temperatura variable.

Ha: La sobrevivencia larval presenta diferencias significativas a una temperatura constante (Tratamiento), con respecto al grupo Control de temperatura variable.

5.2. Crecimiento larval entre tratamientos.

Ho: El Crecimiento larval a una temperatura constante (Tratamiento), no presenta diferencias significativas con respecto al grupo control de temperatura variable hasta la cuarta semana de cultivo

Ha: El crecimiento larval presenta diferencias significativas a una temperatura constante (Tratamiento), con respecto al grupo control de temperatura variable hasta la cuarta semana de cultivo.

5.3. Calidad larval según origen.

Ho: La calidad larval (Sobrevivencia y Crecimiento), no presenta una diferencia significativa con respecto al origen de sus reproductores a la segunda semana de cultivo a temperatura controlada.

Ha: La calidad larval (Sobrevivencia y Crecimiento), presenta una diferencia significativa con respecto al origen de sus reproductores a la segunda semana de cultivo a temperatura controlada.

6. Material y Método

6.1. Lotes Experimentales

Para la realización de los experimentos, se contó con ovas y semen de reproductores de “puye” diadromico de los siguientes orígenes y en las siguientes fechas*:

- Ovas de reproductores inducidos al desove a través de hormonas (Lh-Rh), en la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco², alimentados con pellets de salmón, crumble 1, crumble 2, (Biomar-ecoline). *(4-Septiembre-2003)*
- Reproductores (M2-H2) capturados en la barra del río Toltén acondicionados durante un mes hasta la máxima maduración (M3-H3) en la Escuela de Acuicultura de la UCT, alimentados con pana de vacuno (dos semanas) y pellets (Biomar-ecoline) (dos semanas). *(13-Septiembre-2003)*.
- Reproductores (M3-H3) acondicionados en la Faja Maisán provenientes de la barra del río Toltén, alimentados de forma mixta (Alimento vivo + pellets). *(27-Septiembre-2003)*
- Reproductores F3 (Tercera generación en cautiverio) (M3-H3) acondicionados en la Faja Faisán y alimentados de forma mixta (Alimento vivo + pellets). *(27-Septiembre-2003)*

² La dosis hormonal utilizada en los reproductores se desconoce, por ser parte de otro experimento.

* Fecha de desove y fertilización de los gametos.

6.2. Diseño del método estandarizado para medir la calidad ova-larva.

La calidad larval es medida en este método, mediante la sobrevivencia y crecimiento durante los primeros 15 días, de primera alimentación). Se extendió por 30 días para obtener mayor información sobre la técnica de cultivo.

El método estandarizado para medir la calidad de ovas y larvas se describe a continuación:

6.2.1. Desove y Fertilización

- Desove y Fertilización: Se realiza siguiendo el protocolo establecido para *G. maculatus*:

Las hembras plenamente maduras (H3), son puestas en una solución de anestésico (BZ – 20, en una concentración de 2 ml/10 l.) hasta su aletargamiento, luego son lavadas y secadas, y por medio de pequeños masajes abdominales comienza la extracción de sus ovas, los cuales se depositan en placas Petri previamente enumeradas. Con 3 ejemplares machos plenamente maduros (M3), por cada 10 hembras (H3), se sigue el mismo procedimiento anterior, pero, con la diferencia de que el semen es mezclado con el fin de generar un *pool* genético. Posteriormente, por cada placa Petri enumerada, se le adiciona una solución de semen con agua dulce (aproximadamente 2 ml de semen en 1000 ml de agua). Esta se mantiene por cinco minutos. Luego de este tiempo se recambia el agua y se debe esperar veinte minutos para que las ovas se hidraten antes de traspasarlas a las cunas de incubación, previamente etiquetadas.

6.2.2. Estándar de Incubación.

La incubación se realizó en sala de incubación de la Universidad Católica de Temuco, donde se mantuvo la temperatura alrededor de los 10 ± 1 °C.

La incubación de ovas de *G. maculatus* diadrómicos se realiza en incubadoras apilables (producción masiva) o en placas Petri (tipo experimental) con cunas adaptadas para muestras pequeñas. (Figura. 1)

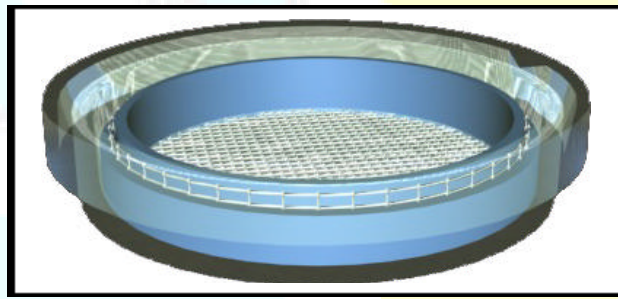


Figura 1: Placa Petri con cuna incubadora.

- Temperatura de incubación: La temperatura óptima a la cual se mantienen las ovas para un buen desarrollo del embrión corresponde aproximadamente a 10 °C.
- Luz: Sin luminosidad.

6.2.3. Mediciones Asociadas al Control de Calidad en Ovas

- Porcentaje de fertilización: Este porcentaje se obtiene a partir de la observación bajo lupa del primer clivaje de una muestra de 50 ovas al azar, a partir de las 6 horas después de la fertilización. El porcentaje de fertilización > **70 %** (*Buena calidad*), se estandariza como aceptable para continuar la incubación.

$$\% \text{Fertilización} = \frac{n * 100}{N}$$

Donde:

n = Número de ovas formando o finalizando el primer clivaje.

N = Cantidad total o muestra representativa de ovas.

- Porcentaje Ovas con Ojo: Este parámetro se calcula a partir del momento en que los embriones pigmentan bien sus ojos, tomando una muestra de 50 ovas al azar, las que se observan bajo lupa. El porcentaje de ova ojo > **70 %** (*Buena calidad*), se estandariza como aceptable para continuar la incubación.

$$\% \text{Ova Ojo} = \frac{n * 100}{N}$$

Donde:

n = Número de ovas con ojo

N = Cantidad total o muestra representativa de ovas.

- Porcentaje de Eclosión: Esta dado por el número de larvas eclosionadas hasta el tercer día, a partir del total de ovas por placa puesta en eclosión. (Shocks Térmico, Lumínico y Mecánico). El porcentaje de eclosión > **80 %** (*Buena calidad*), se estandariza como aceptable.

$$\% \text{ Eclosión} = \frac{n_{le}}{N_t} * 100$$

n_{le} = Número de larvas eclosionadas hasta el tercer día.

N_t = Número total de ovas de la placa puesta en eclosión.

6.2.4. Manejo técnico durante la incubación

- Aspersión con agua salada a 10 g/l tres veces al día, para mantener las ovas humedecidas y evitar la aparición de hongos.
- Extracción de ovas muertas después de haber obtenido el porcentaje de fertilización, ova ojo y shocking.
- Seguimiento periódico de las UTA (Unidades Térmicas Acumuladas), para cada etapa de desarrollo (ova ojo, eclosión).

6.1.5. Condiciones estándar del cultivo larval

La larvicultura se realizó en la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco, la que cuenta con un Laboratorio de Microalgas, un Laboratorio para el cultivo de Rotíferos, red de oxigenación y electricidad, agua de mar y agua de pozo, y un equipo enfriador que permitió mantener una temperatura relativamente constante del agua.

- Tipo de estanque: Estanque negro de 1 litro. de capacidad.
- Densidad de cultivo: 30 larvas por litro
- Temperatura (°C): La temperatura que se estandarizó para el cultivo larval de *G. maculatus* corresponde a 12°C, mediante un equipo enfriador.

- Salinidad (g/l): La salinidad del agua de cultivo para esta etapa corresponde al 10 g/l.
- Sistema de cultivo: Flujo cerrado con aireación constante con renovación total cada siete días.
- Medio de cultivo²: Mezcla (10 g/l) de agua mar filtrada (10 µm) y agua pozo.
- Luz: En esta etapa las larvas son iluminadas con la finalidad de reforzar la captura del alimento. El régimen de luz comienza con la alimentación y tiene una duración de seis horas sobre la luz del ambiente para no intervenir en el fotoperiodo natural.
- Alimentación larval: A partir de la eclosión se alimenta con rotíferos de la especie *B. plicatilis* enriquecidos con *Nannochloropsis oculata*, una vez al día. La concentración va en aumento de una semana a otra, como se muestra a continuación:

1° Semana	: 5 rot/ml
2° Semana	: 10 rot/ml
3° Semana	: 15 rot/ml
4° Semana	: 20 rot/ml
- Duración: 30 días.

³ Esterilizar , el medio de cultivo sería el procedimiento indicado, es pertinente agregarlo a la metodología

6.2.6. Mediciones asociadas al Control de Calidad en larvicultura.

Al final de cada semana de cultivo, las larvas fueron ser sifoneadas y traspasadas a un vaso precipitado de 1 litro de color negro. Las cubetas fueron lavadas y se renovó el agua a 10 g/l, además se evaluaron los siguientes parámetros:

- Medición del saco vitelino: En el momento de la eclosión se capturan al azar 10 larvas, y se procede a medir el saco vitelino por medio de un ocular micrométrico montado en el microscopio.
- Longitud: Al eclosionar y al final de cada semana de cultivo las larvas de “puye” deben ser medidas en su longitud total en milímetros con un pie de metro digital tomando 10 larvas al azar.
- Índice de Crecimiento (SGR): Se calcula al final del bioensayo (30 días), para obtener el porcentaje de incremento diario (%/d) en longitud de las larvas de “puye”.

$$SGR (\% / d) = \frac{(\ln L_2 - \ln L_1)}{t} * 100$$

Donde:

L_1 = Longitud promedio final (mm) a los 30 días

L_2 = longitud promedio inicial (mm) (Día 0)

t = Tiempo en días. (30 días)

- Porcentaje de Supervivencia Total: Al final de cada semana de cultivo se contaron las larvas vivas por cada cubeta de cultivo y de esta forma se calculó el porcentaje de supervivencia:

$$\% \text{ Supervivencia} = \frac{n * 100}{30}$$

Donde:

n = Número de larvas vivas al finalizar el período experimental.

El porcentaje de sobrevivencia que se estandarizó como aceptable (*buena calidad*), corresponde a:

1° semana: >90 % sobrevivencia larval

2° semana: >80 % sobrevivencia larval

3° semana: >65 % sobrevivencia larval

4° Semana: >60 % sobrevivencia larval,

luego de aplicado la prueba de sobrevivencia al estrés.

Calidad ova-larva

Téc. Cultivo

- Porcentaje de sobrevivencia al estrés: Al cumplir la cuarta semana de cultivo, y antes de evaluar la sobrevivencia larval, estas se someten a una prueba de resistencia a la exposición al aire, la cual consiste en dejar en seco a las larvas sobrevivientes por treinta segundos para luego devolverlas al estanque. Transcurrida una hora se evalúa su sobrevivencia.

$$\% \text{ Sobrevivencia al estrés} = \frac{N_i - N_f}{N_i} * 100$$

Donde:

N_i = Número inicial de larvas.

N_f = Número de larvas sobrevivientes después de una hora.

6.2.7. Manejo técnico durante la larvicultura

- Alimentación larval: La alimentación larval es por medio de rotíferos enriquecidos con *Nannochloropsis oculata*, con la frecuencia y dosis descrita anteriormente.
- Cultivo de rotíferos: Se debe mantener un cultivo rotíferos, alimentados con levadura de pan, proceso paralelo a la incubación para mantener un stock de alimento constante durante la larvicultura.
- Cultivo de Nannochloropsis: Además del cultivo de rotíferos se debe iniciar un cultivo de microalgas para enriquecer a los rotíferos antes de ser administrados como alimento vivo.
- Registro y control de la temperatura: Se debe llevar un registro de la temperatura diaria, tomada tres veces al día, con el fin de calcular la temperatura promedio de cada día y la cantidad de Unidades Térmicas Acumuladas (UTA), para cada semana de cultivo.
- Control del flujo de aire: Verificar el correcto funcionamiento de los difusores para evitar la alta turbulencia.
- Disponibilidad de agua para el cultivo: Al término de cada semana se debe contar con la cantidad de agua de renovación a la concentración salina y temperatura correspondiente.
- Higienización de cubetas: Desinfección semanal de las cubetas de cultivo con una solución al 0,1 % de Iodoforo y lavado posterior con abundante agua para evitar residuos venenosos.

6.2.8. Cultivo de Rotíferos.

Los rotíferos antes de ser utilizados como alimento enriquecido se mantuvieron en estanques cónicos de 60 litros, alimentados con levadura de pan (25-35 g), dependiendo de la densidad de rotíferos por estanque.(Figura 2). Una vez a la semana se renovó el agua de mar (35 g/l) y se alimentaron con una mezcla (8 litros, 50/50) de microalgas *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana* para favorecer solo su reproducción.

El procedimiento previo al enriquecimiento con microalgas consistió en sacar 1 litro de rotíferos de su estanque de cultivo a una densidad que oscilaba entre los 230 a 550 rot/ml, los cuales fueron depositados en un vaso precipitado de 1000 ml. y tamizados a 52 μm para limpiarlos de restos de levadura y posibles protozoos. Posteriormente, se concentraron en 500 ml. de agua de mar filtrada (10 μm), en un vaso precipitado de 1000 ml, y se procedió a enriquecer con microalgas durante 24 horas, con aireación constante a mediana turbulencia, para ello se utilizó 50 ml de microalgas, correspondiendo al 10 % del volumen total de rotíferos.

Pasado el tiempo de enriquecimiento, los rotíferos fueron lavados y tamizados a 52 μm y concentrados en 500 ml de agua a 10 g/l, quedando listos para ser entregados a las larvas.



Figura 2: Cultivo de Rotíferos, en estanques de 60 litros.

6.2.9. Cultivo de Microalgas

El cultivo de *Nannochloropsis oculata*, se realizó en el Laboratorio de Microalgas de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco, con los procedimientos estándares establecidos, a cargo del personal técnico de este laboratorio.

El cultivo de microalgas consiste en la inoculación de la microalga que se desea masificar en matraces (250–1000 ml), junto con la adición de un medio de cultivo (F/2 Guillard con agua de mar filtrada y autoclavada), en una relación 1:9.

A su vez, las microalgas se masifican en mangas de polietileno transparentes de 15 litros de capacidad, con agua de mar fertilizada con BAYFOLAN (producto comercial), esterilizada con hipoclorito de sodio y neutralizada con tiosulfato. Las microalgas son iluminadas (luz fría), aireadas constantemente y mantenidas a una temperatura de 20 °C. (Figura 3)



Figura 3: Cultivo de *Nannochloropsis oculata*, en bolsas de polietileno.

6.3. Diseños Experimentales.

6.3.1. Diseño experimental para el método de cultivo a Temperatura variable y estándar de Temperatura Controlada ($12 \pm 1^\circ\text{C}$).

Antes de evaluar la calidad larval según el origen, fue oportuno comprobar que condiciones no controladas de cultivo larvario, provocan resultados no comparables (*sobrevivencia y crecimiento*), es por esto, que se determinó como variable de cultivo la temperatura.

Con el semen y las ovas obtenidas de los reproductores de “puye” diadrómico se realizó la fertilización siguiendo el protocolo establecido y la incubación de las ovas.

Después del período de incubación, las larvas eclosionadas fueron puestas en las cubetas de cultivo larvario en las condiciones antes descritas. Las larvas fueron separadas en un *control* y un *tratamiento*, con cuatro réplicas más la adición de otro estanque con la finalidad de medir la longitud larval al final de cada semana, siendo en total cinco réplicas. Se realizaron cuatro experimentos probando distintas cepas de *G. maculatus* con desfase de tiempo, según la eclosión de las larvas. Se midió el efecto de la temperatura (condición ambiental no controlada anteriormente), en la *sobrevivencia y crecimiento*, entre el control y el tratamiento para cada experimento.

A continuación se describe cada sistema de cultivo:

- a) Control: El grupo control se compone de una estructura en el cual se montan las cubetas de cultivo, con aireación constante, luminosidad (60 watts), con alimentación una vez al día según la dosis descrita anteriormente. Todo a temperatura ambiental. (Figura .4)

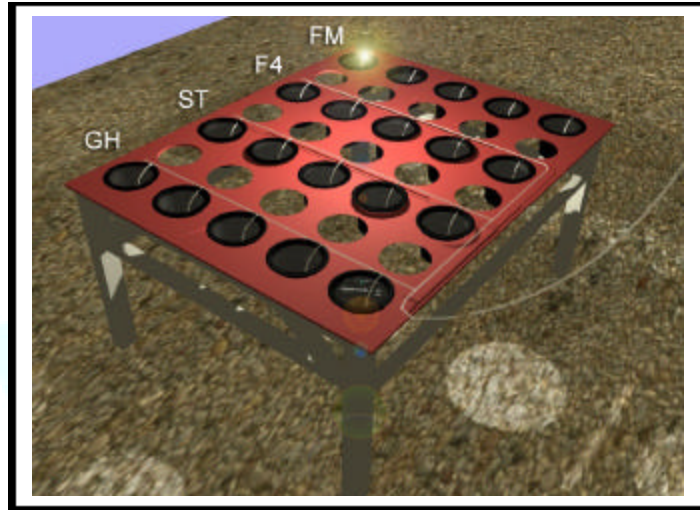


Figura 4: Estructura de cultivo para el Grupo Control con temperatura variable

- b) Tratamiento: Este grupo estuvo constituido por una estructura semi-sumergida dentro un estanque de mayor tamaño, donde la *temperatura fue constantemente controlada a 12 ± 1 °C*. Las cubetas tuvieron una luminosidad (60 watts), aireación constante y con la dosis alimenticia descrita anteriormente. (Figura 5)

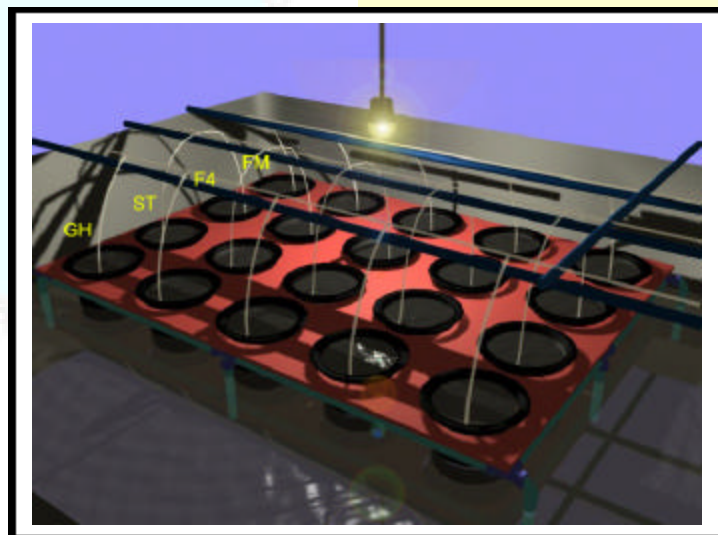


Figura 5: Estructura semi-sumergida para el grupo tratamiento con temperatura controlada (12 ± 1 °C)

Tanto en el control como en el tratamiento, se cultivaron larvas provenientes de los distintos orígenes, aunque con un desfase de tiempo, dado por la fecha de obtención de los gametos.

6.3.2. Diseño experimental para la evaluación de la calidad ova - larva de distintos orígenes.

Para comparar la calidad larval para los distintos orígenes se relacionó la información obtenida desde el estándar de incubación seguida por el estándar de cultivo larvario dado por el grupo *tratamiento*, en sobrevivencia y crecimiento, para los primeros 15 días de cultivo. (Figura 5). El estándar de cultivo (T° , salinidad, alimentación, color de estanque), y los estándares establecidos (*buena calidad*) para la incubación y para los primeros 15 días de larvicultura hacen posible comparar los distintos orígenes entre sí.

Los resultados de las semanas siguientes (3^o y 4^o semana), sólo permitieron evaluar la calidad de la técnica de cultivo, como método estándar, esta información no se analizó profundamente.

El control de la temperatura, del cultivo larval, se realizó por medio de un enfriador marca Julabo (1200 watt) el que cuenta con un serpentín que está sumergido en el estanque de mayor tamaño que rodean las cubetas de cultivo montadas en su estructura con el fin de regular la temperatura, manteniéndola a $12 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

6.4. Análisis Estadístico

El análisis estadístico, utilizado para evaluar el método de cultivo larvario sin condiciones controladas frente al estándar de condiciones controladas, relacionó las medias de sobrevivencia y crecimiento semanal entre el *grupo control* y el *de tratamiento*. Para ello se estandarizaron los valores porcentuales de mortalidad larval utilizando la operación matemática de $\arcsen(x)$. Con estos valores se verificó la existencia de una diferencia significativa entre ambos grupos utilizando para este propósito el análisis de medias de T-Student.(Figura 6)

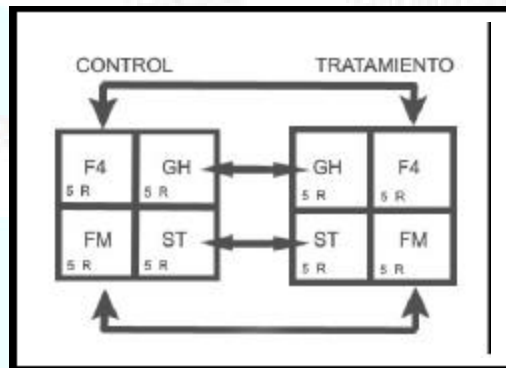


Figura 6 : Relación de las medias de sobrevivencia y crecimiento entre Control (Temperatura variable) y Tratamiento (temperatura controlada). GH: Grupo Hormonal; ST: Silvestres Toltén; F4: Larvas cuarta generación en cautiverio ; FM: Grupo Faja Maisan. R: Replicas.

Para evaluar la calidad de las larvas de distintos orígenes, se aplicó un Análisis de Varianza de una vía (ANOVA) y el Test de Tuckey, cuando correspondía, para interrelacionar las medias, de la sobrevivencia y crecimiento, para las dos primeras semanas, de cada origen en el Tratamiento (debido al control de los factores ambientales) para, de esta manera,

demostrar la existencia de diferencias significativas en la calidad larval con respecto a su origen. (Figura 7)

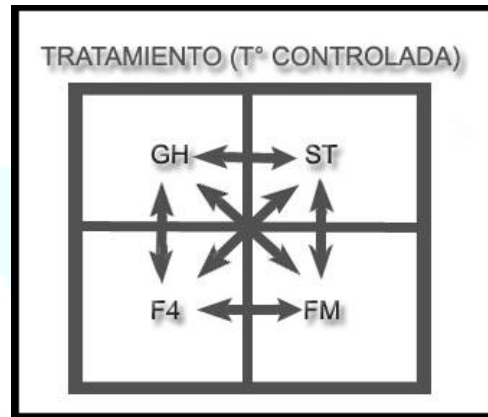


Figura 7: Relación entre las medias de sobrevivencia y crecimiento de los distintos orígenes, para evaluar la calidad larval, a los 15 días de cultivo. GH: Grupo Hormonal; ST: Silvestres Toltén; F4: Larvas cuarta generación en cautiverio; FM: Grupo Faja Maisan

El procesamiento estadístico y graficado de los datos se realizó por medio del programa Estadístico StatMost 3.0 y Excel XP para Windows.

7. Resultados

7.1 Método de cultivo a Temperatura Ambiental y estándar de Temperatura Controlada.

Se realizó un seguimiento semanal de la sobrevivencia larval y del crecimiento de *G. maculatus* por cada origen entre el grupo Control, con la temperatura del agua variable por el ambiente, y el grupo Tratamiento con la temperatura controlada 12 ± 1 °C (con desfase de tiempo entre orígenes), evaluando la diferencia entre éstas al fin de cada semana.

7.1.1. Grupo Hormonal (Eclosión el 4 –Octubre - 2003)

Sobrevivencia

En la segunda semana, se observa una alta fluctuación en la sobrevivencia del Grupo Control (62 ± 16 %) con 189,3 UTA comparado con el Grupo Tratamiento (75 ± 4 %) con 166,7 UTA. Esta variabilidad permite que no exista una diferencia significativa. ($P > 0,05$)

En la tercera semana, la sobrevivencia larval entre el Control (50 ± 10 %) con 286,4 UTA y el Tratamiento (66 ± 8 %) con 251,1 UTA muestra una diferencia significativa ($P < 0,05$).

La diferencia térmica fue de 1,9 °C entre el Control ($13,9 \pm 0,8$ °C) y el Tratamiento ($12 \pm 0,7$ °C). (Tabla 1 y figura 8)

A la cuarta semana, aplicando la prueba de sobrevivencia al estrés, el Control (36 ± 7 %) con 374,4 UTA fue significativamente menor ($P < 0,05$) al Tratamiento ($50,2 \pm 2$ %) con 332,5 UTA. La diferencia térmica fue de 0,8 °C entre el Control ($12,4$ °C) y el Tratamiento ($11,9$ °C). A mayor temperatura (Control) se observa una menor sobrevivencia. (Tabla 1 y figura 8)

Tabla 1: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en °C y UTA para cada semana, Porcentaje de sobrevivencia (S%), Crecimiento (mm) y SGR (%/día).

Grupo Hormonal								
	CONTROL				TRATAMIENTO			
	T °C	UTA	%S	Long mm	T °C	UTA	%S	Long mm
S0	(-)	0	100	6.1 ± 0.5	(-)	0	100	6.1 ± 0.5
S1	13,8 ± 0,8	96,8	88 ± 7 ^a	6,4 ± 0,5 ^a	11,9 ± 0,1	83,5	93 ± 9 ^a	6,1 ± 0,4 ^a
S2	13,2 ± 0,2	189,3	62 ± 16 ^a	6,9 ± 0,5 ^a	11,9 ± 0,2	166,7	75 ± 4 ^a	6,6 ± 0,5 ^a
S3	13,9 ± 0,6	286,4	50 ± 10 ^a	7,4 ± 0,9 ^a	12,0 ± 0,7	251,1	66 ± 8 ^b	6,9 ± 0,6 ^a
S4	12,4 ± 1,4	374,4	36 ± 7 ^a	7,9 ± 1,9 ^a	11,6 ± 0,3	332,5	50 ± 2 ^b	7,4 ± 0,5 ^b
SGR (%/d)				0,9 ± 0,1^a				0,6 ± 0,1^b

Sobrevivencia Larval de Puyes del Grupo Hormonal.

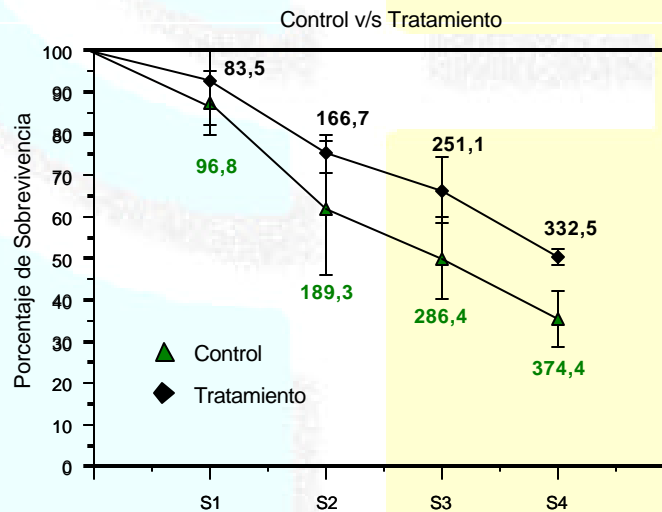


Figura 8: Sobrevivencia larval de *G. maculatus* y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4).

Crecimiento

En la segunda semana de cultivo no se observan diferencias significativas ($P > 0,05$) en el Crecimiento, entre el Control ($6,9 \pm 0,5$ mm) con 189,3 UTA, y el Tratamiento ($6,6 \pm 0,5$ mm) con 166,7 UTA. La diferenciación ($P < 0,05$) se produce en la cuarta semana de cultivo, cuando el Control ($7,9 \pm 1,9$ mm) acumulaba 374,4 UTA y el Tratamiento ($7,4 \pm 0,5$ mm) alcanzaba las 332,5 UTA, respectivamente. El SGR mayor ($P < 0,05$) fue del

Control ($0,9 \pm 0,1$ %/d) que el Tratamiento ($0,6 \pm 0,1$ %/d) en un $0,4$ %/d. La diferencia térmica fue de $0,8$ °C entre el Control ($12,4 \pm 1,4$ °C) y el Tratamiento ($11,6 \pm 0,3$ °C). Con la temperatura más alta (Control) se generó un mayor crecimiento. (Tabla 1 y Figura 9).

Crecimiento Larval de Puyes del Grupo Hormonal

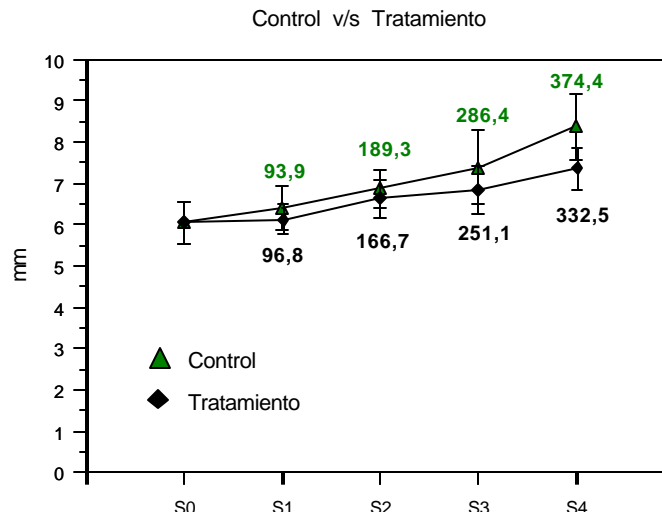


Figura 9: Crecimiento larval semanal promedio (mm) de *G. maculatus* y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), a partir de la longitud inicial (S0), $6,1 \pm 0,5$ mm.

7.1.2. Grupo Silvestres Toltén (Eclosión el 15 – Diciembre 2003)

Sobrevivencia

La sobrevivencia total larval presenta una apreciable diferencia ($P < 0,05$) en la segunda semana de cultivo cuando el Control (77 ± 3 %) alcanzó las 232,2 UTA y el Tratamiento (87 ± 3 %) con 180,4 UTA. En este período la diferencia térmica promedio fue de $3,9$ °C entre el Control ($15,8 \pm 0,8$ °C) y el Tratamiento ($11,9 \pm 0,1$ °C). A mayor temperatura del agua (Control) se generó una menor sobrevivencia. (Tabla 2 y Figura 10).

A la cuarta semana de cultivo, aplicando la prueba de sobrevivencia al estrés, el Control (42 ± 4 %) con 444,3 UTA fue significativamente menor ($P < 0,05$) al Tratamiento (69 ± 6 %)

con 333,4 UTA y con 1,8 % diario de incremento en longitud, con una diferencia de temperatura de 5,7 °C entre el Control ($18,7 \pm 1,3$ °C) y el Tratamiento ($13,0 \pm 0,9$ °C). A mayor temperatura del agua (Control) se generó una menor sobrevivencia. (Tabla 2 y Figura 10).

Tabla 2: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en °C y UTA para cada semana, Porcentaje de sobrevivencia (S%), Crecimiento (mm) y SGR (%/día)

Grupo Silvestres Toltén								
	CONTROL				TRATAMIENTO			
	T °C	UTA	%S	Long mm	T °C	UTA	%S	Long mm
S0	(-)	0	100	$5,5 \pm 0,4$	(-)	0	100	$5,5 \pm 0,4$
S1	$15,1 \pm 0,9$	105,6	95 ± 7^a	$6,7 \pm 0,6^a$	$12,0 \pm 0,7$	96,1	95 ± 3^a	$6,6 \pm 0,2^a$
S2	$15,8 \pm 0,5$	232,2	77 ± 3^a	$7,4 \pm 0,7^a$	$11,9 \pm 0,1$	180,4	87 ± 3^b	$6,5 \pm 0,4^b$
S3	$16,5 \pm 0,7$	314,6	52 ± 4^a	$9,1 \pm 0,5^a$	$12,5 \pm 0,4$	241,8	80 ± 3^b	$8,2 \pm 0,4^b$
S4	$18,7 \pm 1,3$	444,3	42 ± 4^a	$9,5 \pm 1,0^a$	$13,0 \pm 0,9$	333,4	69 ± 6^b	$8,8 \pm 1,2^b$
SGR (%/d)				$1,9 \pm 0,1^a$				$1,6 \pm 0,2^b$

Sobrevivencia Larval de Puyes del Grupo Silvestres Toltén

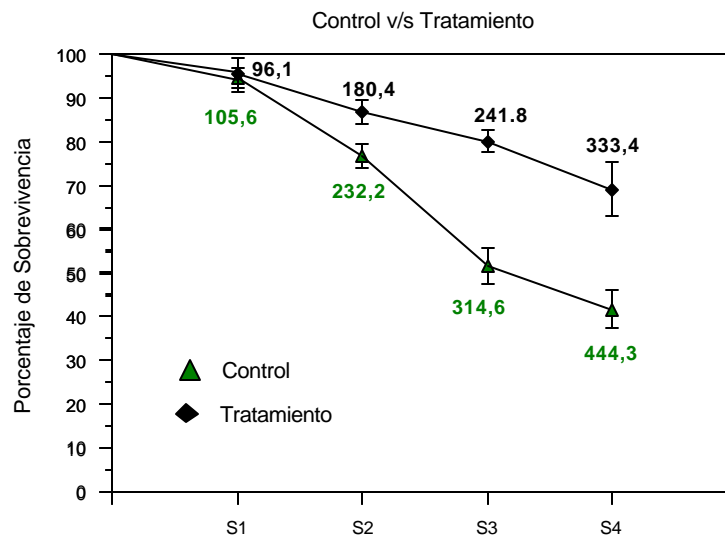


Figura 10: Sobrevivencia larval *G. maculatus* y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4)

Crecimiento

En la segunda semana se observan notorias diferencias ($P < 0,05$), entre el Control ($7,4 \pm 0,7$ mm) con 232,2 UTA y el Tratamiento ($6,5 \pm 0,9$ mm) con 180,4 UTA. La diferencia térmica fue de $3,9$ °C entre el Control ($15,8 \pm 0,5$ °C) y el Tratamiento ($11,9 \pm 0,1$ °C). (Tabla 5 y Figura 11). La longitud observada en la cuarta semana en el grupo Control ($11,6 \pm 1,3$ mm) fue ostensiblemente mayor ($P < 0,05$) al grupo Tratamiento ($10,3 \pm 1,7$ mm). A su vez, la diferencia térmica fue de $5,7$ °C entre el Control ($18,7 \pm 1,3$ °C) y el Tratamiento ($13,0 \pm 0,9$ °C). El SGR mayor ($P < 0,05$) fue el Control ($1,9 \pm 0,1$ %/d) que el Tratamiento ($1,6 \pm 0,2$ %/d). A mayor temperatura (Control) se generó un mayor crecimiento. (Tabla 2 y Figura 11).

Crecimiento Larval de Puyes del Grupo Silvestres Toltén

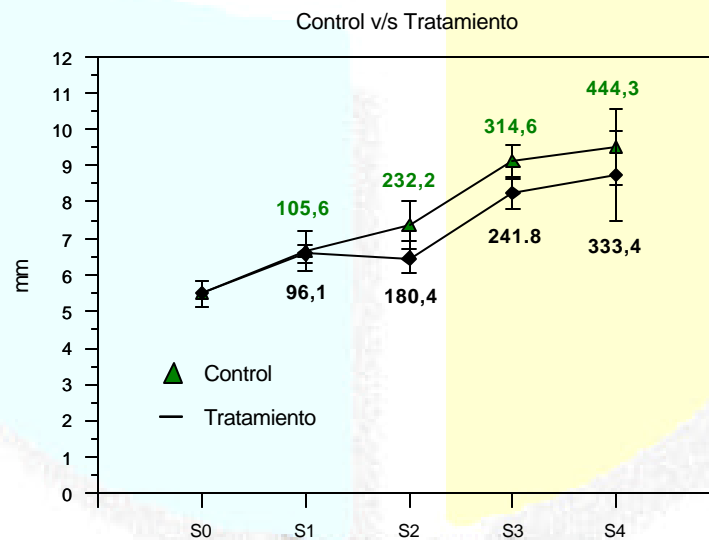


Figura 11: Crecimiento larval semanal *G. maculatus* y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), partiendo de una longitud (S0), $5,5 \pm 0,4$ mm.

7.1.3. Grupo F4 (Cuarta generación en cautiverio, con eclosión el 27 – Diciembre -2003)

Sobrevivencia

La sobrevivencia larval de este grupo presenta apreciables diferencias ($P < 0,05$) en la segunda semana de cultivo cuando el Control ($73 \pm 3 \%$) alcanzaba las 241,2 UTA y el Tratamiento ($84 \pm 4\%$) las 177,0 UTA. Las diferencias de temperatura registradas estuvieron en el rango de $5,4 \text{ }^\circ\text{C}$ entre el Control ($18,4 \pm 1,4 \text{ }^\circ\text{C}$) y el Tratamiento ($13 \pm 0,8 \text{ }^\circ\text{C}$). A mayor temperatura (Control) se generó una menor sobrevivencia. (Tabla 3 y Figura 12).

A la cuarta semana, aplicando la prueba de sobrevivencia al estrés, el Control ($30 \pm 5 \%$) con 493 UTA fue significativamente menor ($P > 0,05$), al Tratamiento ($64 \pm 3 \%$) con 354 UTA. A mayor temperatura (Control) del agua se genera una menor sobrevivencia. (Tabla 3 y Figura 12).

Tabla 3: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en $^\circ\text{C}$ y UTA, para cada semana, Porcentaje de sobrevivencia (S%), Crecimiento (mm) y SGR (%/día)

Grupo F4								
	CONTROL				TRATAMIENTO			
	T $^\circ\text{C}$	UTA	%S	Long mm	T $^\circ\text{C}$	UTA	%S	Long mm
S0	(-)	0	100	$6,6 \pm 0,3$	(-)	0	100	$6,6 \pm 0,3$
S1	$16,1 \pm 0,6$	112,5	91 ± 2^a	$7,2 \pm 0,6^a$	$12,3 \pm 0,4$	85,9	92 ± 5^a	$6,9 \pm 0,4^a$
S2	$18,4 \pm 1,4$	241,2	73 ± 3^a	$8,3 \pm 0,9^a$	$13,0 \pm 0,8$	177,0	84 ± 4^b	$7,8 \pm 0,4^a$
S3	$18,3 \pm 1,3$	369,2	47 ± 5^a	$9,2 \pm 0,3^a$	$12,9 \pm 0,5$	265,1	73 ± 4^b	$8,3 \pm 0,3^b$
S4	$17,7 \pm 1,1$	493,2	30 ± 5^a	$11,9 \pm 1,6^a$	$12,7 \pm 0,4$	354,0	64 ± 3^b	$10,1 \pm 1,8^b$
SGR (%/d)				$2,0 \pm 0,1^a$				$1,4 \pm 0,2^b$

Sobrevivencia Larval de Puyes del Grupo F4

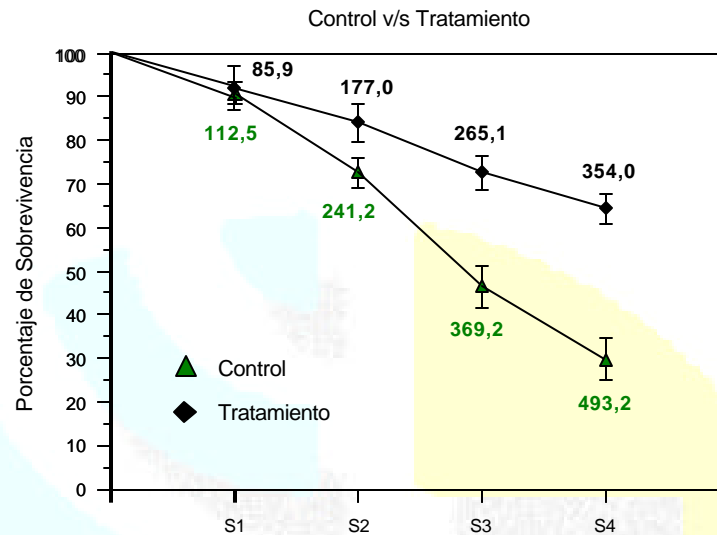


Figura 12: Sobrevivencia larval *G. maculatus* y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4)

Crecimiento

En la segunda semana de cultivo no existen diferencias importantes ($P > 0,05$) entre el Control ($8,3 \pm 0,9$ mm) con 112,5 UTA y el Tratamiento ($7,8 \pm 0,4$ mm) con 177,0 UTA. La diferencia térmica en este caso fue de $5,4$ °C, entre el Control ($18,4 \pm 1,4$ °C) y el Tratamiento ($13,0 \pm 0,8$ °C). En la tercera semana, el Control ($9,2 \pm 0,3$ mm) con 369,9 UTA es significativamente mayor ($P < 0,05$) al Tratamiento ($8,3 \pm 0,3$ mm) con 265,1. A mayor temperatura (Control) se genera un mayor crecimiento. (Tabla 3 y Figura 13).

A la cuarta semana, el Control ($11,9 \pm 1,6$ mm) con 493,3 UTA se diferencia significativamente ($P < 0,05$) al Tratamiento ($10,1 \pm 1,8$ mm) con 354,0 UTA. La desigualdad térmica fue de 5 °C entre el Control ($17,7 \pm 1,1$ °C) y el Tratamiento ($12,7 \pm 0,4$ °C). El SGR fue mayor ($P < 0,05$) en el Control ($2,0 \pm 0,1$ %/d) que en el Tratamiento ($1,4 \pm 0,2$ %/d). (Tabla 3 y Figura 13).

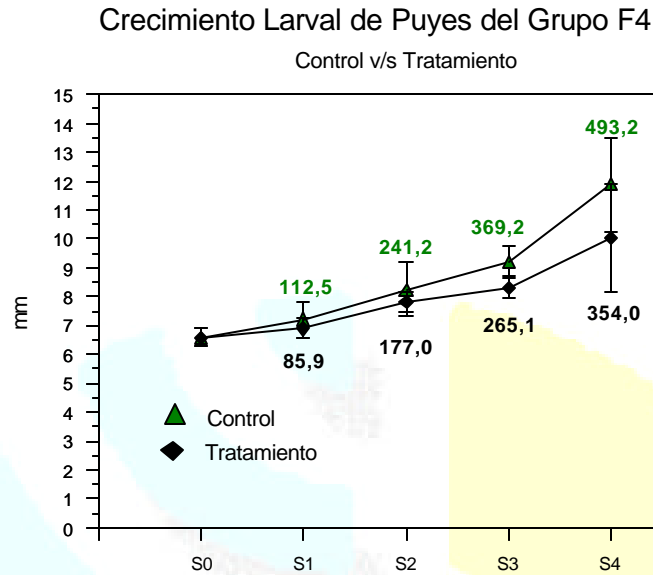


Figura 13: Crecimiento larval semanal *G. maculatus* y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), partiendo de una longitud (S0), $6,6 \pm 0,3$ mm.

7.1.4. Grupo Faja Maisan. (Eclosión el 27 – Diciembre -2003)

Sobrevivencia

En la segunda semana, el Control (68 ± 6 %) con 241,2 UTA fue significativamente menor ($P < 0,05$) al Tratamiento (84 ± 3 %) con 177,0 UTA. La diferencia térmica fue de $5,4$ °C entre el Control ($18,4 \pm 1,4$ °C) y el Tratamiento ($13 \pm 0,8$ °C). A mayor temperatura del agua (Control) se generó una menor sobrevivencia. (Tabla 4 y Figura 14).

A la cuarta semana de cultivo la prueba de sobrevivencia al estrés el Control (33 ± 6 %) con 493 UTA fue apreciablemente menor ($P < 0,05$) al Tratamiento (58 ± 6 %) con 354,0 UTA. La diferencia térmica fue de 5 °C entre el Control ($17,7 \pm 1,1$ °C) y el Tratamiento ($12,7 \pm 0,4$ °C). A mayor temperatura del agua (Control) se generó una menor sobrevivencia (Tabla 4 y Figura 14).

Tabla 4: Resumen de la Temperatura Promedio del agua en °C y UTA, Crecimiento (mm), Porcentaje de sobrevivencia (S%), para cada semana.

Silvestres Faja Maisan								
	CONTROL				TRATAMIENTO			
	T °C	UTA	%S	Long mm	T °C	UTA	%S	Long mm
S0	(-)	0	100	6,5 ± 0,3	(-)	0	100	6,5 ± 0,3
S1	16,1 ± 0,6	112,5	95 ± 4 ^a	7,4 ± 0,5 ^a	12,3 ± 0,4	85,9	92 ± 4 ^a	7,4 ± 1,0 ^a
S2	18,4 ± 1,4	241,2	68 ± 6 ^a	7,9 ± 0,3 ^a	13,0 ± 0,8	177,0	84 ± 3 ^b	7,6 ± 0,3 ^b
S3	18,3 ± 1,3	369,2	46 ± 6 ^a	9,2 ± 0,7 ^a	12,9 ± 0,5	265,1	73 ± 6 ^b	8,8 ± 0,8 ^a
S4	17,7 ± 1,1	493,2	33 ± 6 ^a	11,6 ± 1,3 ^a	12,7 ± 0,4	354,0	58 ± 6 ^b	10,3 ± 1,7 ^b
SGR (%/d)				1,9 ± 0,2 ^a				1,5 ± 0,2 ^a

Sobrevivencia Larval de Puyes del Grupo Faja Maisan

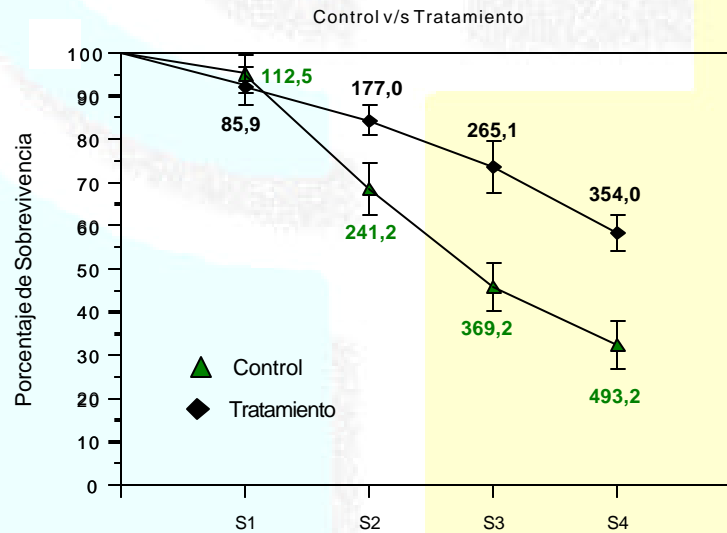


Figura 14 : Sobrevivencia larval *G. maculatus* y UTA para cada semana (S1-S2-S3-S4).

Crecimiento

En la segunda semana de cultivo, el Control ($7,9 \pm 0,3$ mm) con 241,2 UTA tuvo un incremento apreciable ($P < 0,05$) al Tratamiento ($7,6 \pm 0,4$ mm) con 177,0 UTA. La diferencia térmica en esta semana alcanzó a los $5,4$ °C entre el Control ($18,4 \pm 1,4$ °C) y el Tratamiento ($13,0 \pm 0,8$ °C). A mayor temperatura se observa un mayor crecimiento. (Tabla 4 y Figura 15).

A la cuarta semana, la longitud del Control ($11,6 \pm 1,3$ mm) con 493,2 UTA fue comparativamente mayor ($P < 0,05$) al Tratamiento ($10,3 \pm 1,7$ mm) con 354,0 UTA. La diferencia térmica fue de 5 °C entre el Control ($17,7 \pm 1,1$ °C) y el Tratamiento ($12,7 \pm 0,4$ °C). El SGR no evidenció diferencia significativa ($P > 0,05$) entre el Control ($1,9 \pm 0,2$ %/d) y el Tratamiento ($1,5 \pm 0,2$ %/d). Aunque a mayor temperatura (Control) se generó un mayor crecimiento. (Tabla 4 y Figura 15).

Crecimiento Larval de Puyes del Grupo Faja Maisan

Control v/s Tratamiento

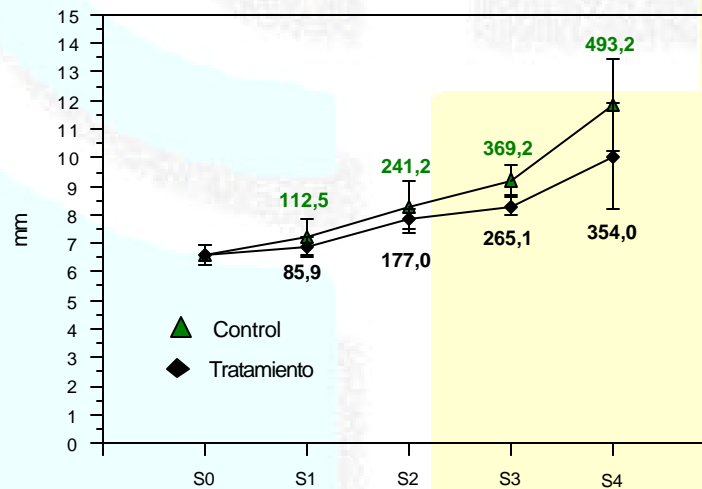


Figura 15: Crecimiento larval semanal *G. maculatus* y UTA para cada semana (S0-S1-S2-S3-S4), partiendo de una longitud (S0), $6,5 \pm 0,3$ mm.

7.2. Efecto de la Temperatura, variable y controlada ($12 \pm 1^\circ\text{C}$), en la Sobrevivencia al estrés y en el Índice de Crecimiento (SGR).

En la figura 16, se puede observar el efecto que tuvo la temperatura, variable y controlada ($12 \pm 1^\circ\text{C}$), del medio de cultivo, en la sobrevivencia al estrés. Se aprecia que la sobrevivencia del Grupo silvestres Toltén ($42 \pm 4\%$), tiende a soportar temperaturas más altas ($18,7^\circ\text{C}$), mientras que el Grupo Hormonal obtuvo menores sobrevivencias ($36 \pm 7\%$), siendo que estuvo a temperaturas similares ($12,4 \pm 1,4^\circ\text{C}$) al Tratamiento. Esto demostraría que el Grupo silvestres Toltén junto con el grupo F4 son los más viables, debido a que a temperatura controlada ($12 \pm 1^\circ\text{C}$), obtuvieron las mayores sobrevivencias (ANOVA $P < 0,05$), $69 \pm 6\%$ y $64 \pm 3\%$, respectivamente. (Tabla 5 y Figura 16).

Tabla 5: Resumen de la sobrevivencia al estrés (% S estrés), Crecimiento (SGR %/d) y la Temperatura promedio del medio de cultivo.

Grupo	Control			Tratamiento		
	T°C	%S estrés	SGR (%/d)	T°C	%S estrés	SGR (%/d)
GH	$13,3 \pm 0,8$	36 ± 7	$0,9 \pm 0,1$	$11,8 \pm 0,3$	50 ± 2^a	$0,6 \pm 0,1^a$
ST	$16,6 \pm 1,2$	42 ± 4	$1,9 \pm 0,1$	$12,4 \pm 0,7$	69 ± 6^b	$1,6 \pm 0,2^b$
F4	$17,6 \pm 1,1$	30 ± 5	$2,0 \pm 0,1$	$12,7 \pm 0,4$	64 ± 3^b	$1,4 \pm 0,2^b$
FM	$17,6 \pm 1,1$	33 ± 6	$1,9 \pm 0,2$	$12,7 \pm 0,4$	58 ± 6^c	$1,5 \pm 0,2^b$

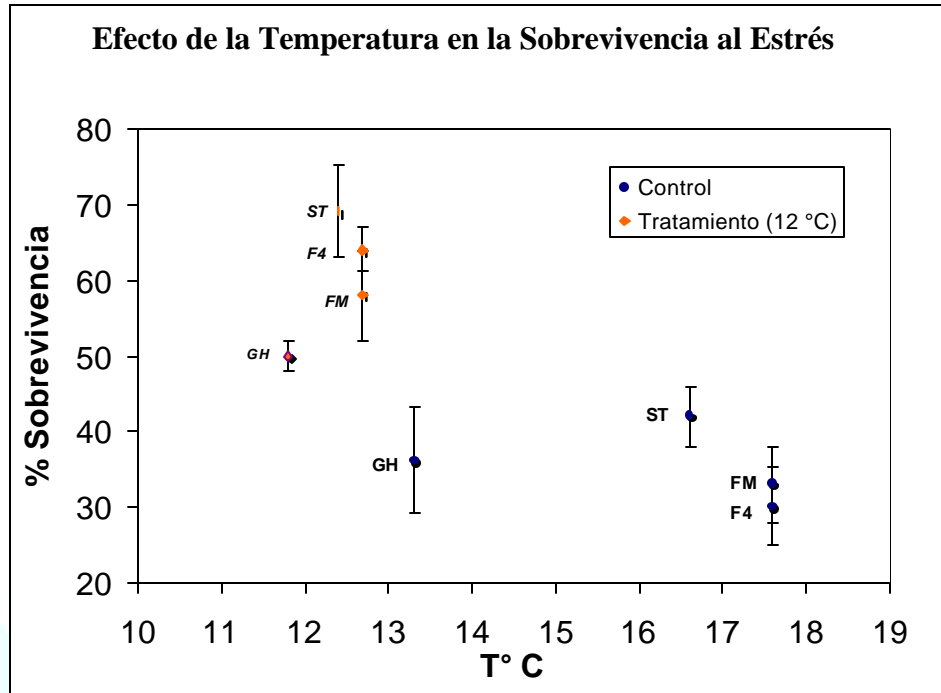


Figura 16: Efecto de la Temperatura, variable y controlada ($12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), en la supervivencia al estrés para cada origen. GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; F.M: Grupo Faja Maisan.

Con respecto, al índice de crecimiento (SGR), se observó que la temperatura ($15 - 19 \text{ }^\circ\text{C}$) ejerció un efecto positivo en el porcentaje de crecimiento diario para todos los grupos, estando entre los $1,8 - 2,0 \text{ } \%/día$. (ST, FM y F4), siendo el menor el Grupo Hormonal a temperatura de $12,4 \pm 1,4 \text{ }^\circ\text{C}$ con $0,9 \pm 0,1 \text{ } \%/día$. Estos índices de crecimiento (SGR) estuvieron por sobre a los obtenidos a temperatura controlada ($12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), siendo los índices mayores (Tukey $P < 0,05$), los Grupos: Silvestres Toltén ($1,6 \pm 0,2 \text{ } \%/d$), Faja Maisan ($1,5 \pm 0,2 \text{ } \%/d$), F4 ($1,4 \pm 0,2 \text{ } \%/d$) y el menor el Grupo Hormonal ($0,6 \text{ } \%/d$). (Tabla 5 y Figura 17).

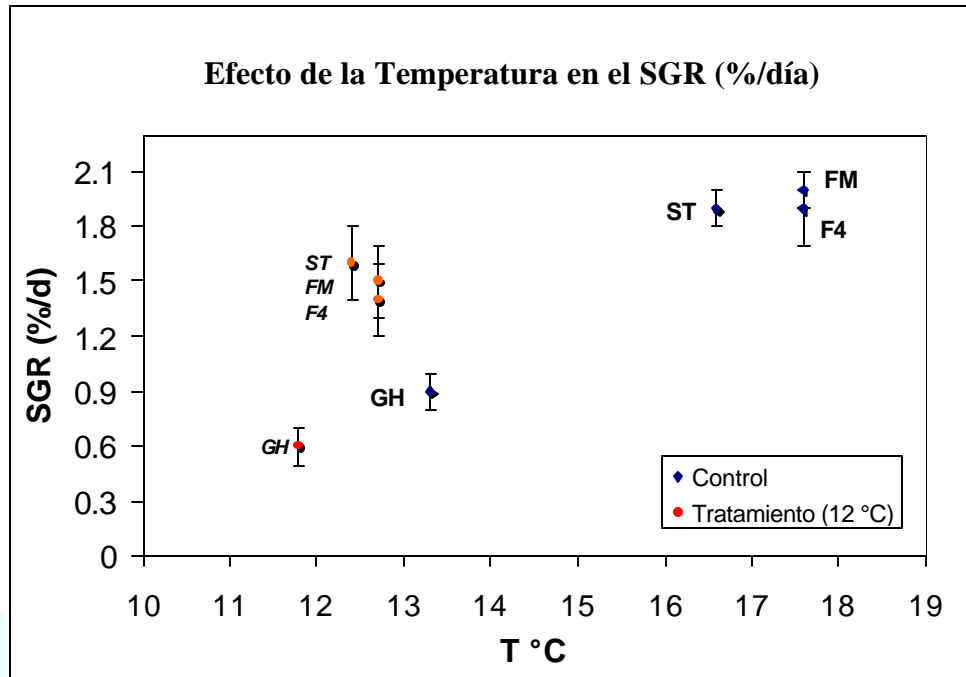


Figura 17: Efecto de la Temperatura, variable y controlada (12 ± 1 °C), en el índice de crecimiento (SGR) para cada origen. GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; F.M: Grupo Faja Maisan.

7.3. Calidad Ova-Larva según origen.

7.3.1 Antecedentes de los Reproductores.

Los reproductores hembras de mayor tamaño fueron las F3 (tercera generación en cautiverio) ($9,9 \pm 1,7$ cm) y de la Faja Maisan ($8,7 \pm 0,6$ cm). Las hembras de menor tamaño son silvestres Toltén ($5,6 \pm 0,1$ cm). Las hembras inducidas a hormonas se desconocen su tamaño, debido a que sólo se obtuvieron los gametos ya fertilizados, por ser parte de otro experimento. (Tabla 6)

Tabla 6: Resumen Longitud (cm.) promedio de reproductores (H3 y M3) utilizados.

Longitud de reproductores desovados		
Origen	M3 (cm)	H3(cm)
G. H	s/m	s/m
S.T	4.7 ± 0.5	5.6 ± 0.1
F3	12.4 ± 0.7	9.9 ± 1.7
FM	8.5 ± 1.3	8.7 ± 0.6

Reproductores: GH: Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F3: Tercera Generación; F.M: Grupo Faja Maisan.

s/m: Sin medición.

7.3.2. Calidad de la Ova

Se aplicaron las mediciones relacionadas al control de calidad de las ovas, obteniendo buenos porcentajes de fertilización, entre el 78 % para el Grupo Hormonal y 94 % en el grupo Faja Maisan, por sobre el estándar establecido (> 70%). Los porcentajes de ova ojo estuvieron entre 81 % para el Grupo F4 y 87 % para el Grupo Faja Maisan, por arriba del estándar establecido (> 70 %). La menor pérdida entre estas dos mediciones la presentó el Grupo F4 con un 4 %. Los porcentajes de eclosión fueron de un 78 % para el Grupo F4 y un 82% para el Grupo Faja Maisan, similar al porcentaje establecido para la eclosión (> 80%). La pérdida menor, entre estas mediciones, se registró en el grupo F4, con un 3%. Por lo tanto, las ovas incubadas resultaron de buena calidad. En síntesis, el Grupo Faja Maisan fue el que presentó un mayor porcentaje de fertilización, ova ojo y eclosión (94, 87 y 82 %). El menor porcentaje de fertilización lo presentó el Grupo Hormonal (78 %). No obstante, a pesar de ser menor a los otros grupos, también fueron de buena calidad. (Tabla 7).

Tabla 7: Resumen de las mediciones relacionadas al estándar de calidad de la ova; % Fertilización (%F), % Ova Ojo (%O/O), % de Eclosión (%E) y UTA durante la incubación.

Origen	% F (> 70 %)	% O/O (>70 %)	% E (> 80 %)	UTA
F.M	94	87 (7)	82 (5)	307
S.T	93	84 (9)	80 (4)	305
F4	85	81 (4)	78 (3)	307
G.H	78	s/m	s/m	s/m

GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; F.M: Grupo Faja Maisan.

s/m: Sin medición.

7.3.3. Longitud Inicial y Longitud del Saco Vitelino

La longitud inicial muestra una diferencia importante (Tukey $P < 0,05$) entre el Grupo Silvestres Toltén ($5,4 \pm 0,4$ mm) y el Grupo Hormonal ($6,1 \pm 0,5$ mm), además se diferencian ambos significativamente con los Grupos F4 ($6,6 \pm 0,3$ mm) y Faja Maisan ($6,5 \pm 0,3$ mm). Entre éstos últimos no existe diferencia significativa ($P > 0,05$) .Esto quiere decir que las larvas de mayor longitud pertenecen a los Grupos F4 y Faja Maisan. (Tabla 8).

Con respecto a la longitud del saco vitelino no hay diferencias entre los orígenes (ANOVA $< 0,05$), aunque se observa el doble de variabilidad en el grupo Silvestres Toltén (522 ± 43 μ m), comparado con el Grupo F4 y Faja Maisan (525 ± 24 y 527 ± 28 μ m). (Tabla 8)

Tabla 8: Resumen de la longitud total (LT mm) y Longitud del Saco vitelino (LSV μm) al momento de la eclosión de larvas de *G. maculatus*.

Origen	LT(mm)	LSV(μm)
F4	$6,6^a \pm 0,3$	525 ± 24^a
F.M	$6,5^a \pm 0,3$	527 ± 28^a
G.H	$6,1^b \pm 0,5$	s/m
S.T	$5,4^c \pm 0,4$	522 ± 43^a

GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; F.M: Grupo Faja Maisan.

s/m: Sin Medición

7.3.4. Calidad larval (1° y 2° Semana) en Supervivencia Total.

En la primera semana no hubo diferencias estadísticamente notorias (ANOVA $P > 0,05$) en la supervivencia larval al comparar sus distintos orígenes. La mejor supervivencia se observó en el Grupo Silvestres Toltén ($95 \pm 3 \%$) y la menor en el Grupo Faja Maisan ($92 \pm 4 \%$). A una temperatura $12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ (Tratamiento), no hay diferencia en calidad larval en cuanto a supervivencia, además los orígenes están por sobre el estándar establecido ($>90 \%$), para esta semana. (Tabla 9 y Figura 18).

En la segunda semana, se observa que el Grupo Hormonal ($75 \pm 4 \%$) es aquel que muestra un decrecimiento (Tukey $P < 0,05$) con respecto a los otros grupos, disminuyendo su supervivencia en 18% con respecto a la semana anterior. El mayor porcentaje de supervivencia en esta semana fue el Grupo Silvestres Toltén ($87 \pm 3 \%$) sin diferencias apreciables (Tukey $P > 0,05$) con los grupos restantes. A temperatura 12 ± 1 (Tratamiento), la calidad larval del Grupo Hormonal es menor en cuanto a supervivencia, frente a los otros

grupos, además de estar por debajo del estándar establecido ($> 80 \%$) para esta semana. (Tabla 8 y Figura 18).

7.3.5. Calidad de la Técnica de Cultivo (3° y 4° Semana) en Supervivencia Total.

Para la tercera semana de evaluación se apreció que el Grupo Hormonal ($66 \pm 8 \%$) presentó una supervivencia menor (Tukey $P < 0,05$) a los otros Grupos, donde la más alta supervivencia la logra el Grupo Silvestres Toltén ($80 \pm 3 \%$), sin diferencias significativas (Tukey $P > 0,05$) con el Grupo Faja Maisan ($73 \pm 6 \%$). A temperatura $12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ (Tratamiento) la calidad de la técnica de cultivo, produce que el grupo hormonal sea de menor calidad en cuanto a supervivencia, pero se encuentra dentro del estándar establecido ($> 65 \%$) para esta semana.

En la cuarta semana, la supervivencia al estrés, el Grupo Silvestres de Toltén ($69 \pm 6 \%$) y el Grupo F4 ($64 \pm 3 \%$) tuvieron una mayor supervivencia (Tukey $P < 0,05$) comparada en relación con los otros orígenes. El Grupo Hormonal fue el que tuvo una supervivencia menor (Tukey $P < 0,05$) respecto al resto de los otros orígenes. A temperatura $12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ (Tratamiento), según esta técnica de cultivo los grupos Silvestres Toltén y Faja Maisan resultaron superiores (más viables) a los otros grupos, el Grupo Hormonal es el de menor calidad (menos viable), en cuanto a supervivencia, e inferior al estándar ($> 60\%$) establecido para esta semana. (Tabla 9 y figura 18).

Tabla 9: Porcentaje (%) de sobrevivencia larval semanal para los diferentes orígenes en el Tratamiento de Temperatura Controlada.

% Sobrevivencia Larval				
Semana (%S.E)	G.H	S.T	F4	FM
S1 (> 90 %)	93 ± 9 ^a	95 ± 3 ^a	92 ± 5 ^a	92 ± 4 ^a
S2 (>80 %)	75 ± 4 ^a	87 ± 3 ^b	84 ± 4 ^b	84 ± 3 ^b
S3 (>65 %)	66 ± 8 ^a	80 ± 3 ^b	73 ± 4 ^c	73 ± 6 ^{bc}
S4 (>60%)	50 ± 2 ^a	69 ± 6 ^b	64 ± 3 ^b	58 ± 6 ^c

GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; FM: Grupo Faja Maisan.

(S.E): Sobrevivencia estándar; S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4.

Sobrevivencia (%) larval de larvas *G. maculatus* distintos orígenes con Temperatura controlada

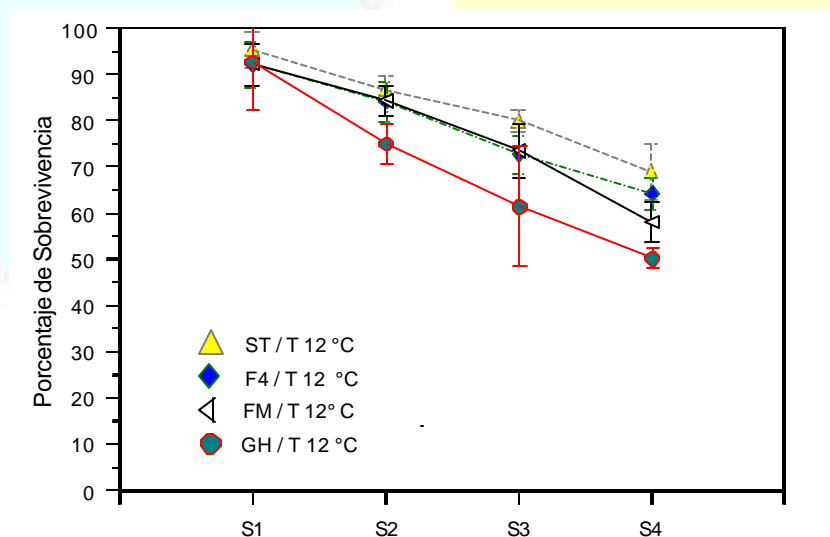


Figura 18 : Sobrevivencia (%) larval de *G. maculatus* de distintos orígenes a temperatura controlada (12 ± 1 °C).

GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; FM: Grupo Faja Maisan.

S0: Longitud inicial S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4.

7.3.6. Crecimiento Total

La longitud inicial de las larvas para distintos orígenes se evaluó en el ítem 6.3.3., tratado anteriormente.

En la primera semana, la longitud del Grupo Hormonal ($6,1 \pm 0,4$ mm) fue significativamente menor (Tukey $P < 0,05$) con respecto a los otros orígenes. El mayor crecimiento lo obtuvo el Grupo Faja Maisan ($7,4 \pm 1,0$ mm), sin embargo, este grupo tuvo una mayor variabilidad. A una temperatura 12 ± 1 °C el Grupo Hormonal presenta una menor calidad con respecto a los otros orígenes referente al crecimiento.

En la segunda semana, la longitud de las larvas del Grupo Hormonal ($6,6 \pm 0,5$ mm) y el Grupo Silvestres Toltén ($6,5 \pm 0,4$ mm) presentan un tamaño menor (Tukey $P < 0,05$) en longitud en relación con la de los Grupos F4 ($7,8 \pm 0,4$ mm) y Faja Maisan ($7,6 \pm 0,4$ mm). A una temperatura controlada (Tratamiento) el Grupo F4 y Faja Maisan son de mayor calidad con respecto al crecimiento.

En la tercera semana, las larvas del Grupo Hormonal ($6,9 \pm 0,6$ mm) exhiben un menor crecimiento (Tukey $P < 0,05$) con respecto a los otros grupos. El Grupo Faja Maisan ($8,8 \pm 0,8$ mm) es el que mostró un mayor crecimiento, aunque sin diferencias notables con los grupos restantes. A una temperatura controlada (Tratamiento) los grupos Faja Maisan, F4 y Silvestres Toltén tuvieron una mayor calidad en cuanto a longitud.

En la cuarta semana, los ejemplares de los grupos Hormonal ($7,4 \pm 0,5$ mm) y Silvestres Toltén ($8,8 \pm 1,2$ mm) alcanzaron un crecimiento significativamente menor (Tukey $P < 0,05$) a los de los grupos F4 ($10,1 \pm 7,8$ mm) y Faja Maisan ($10,3 \pm 1,7$ mm). A temperatura

controlada (Tratamiento) los Grupos F4 y Faja Maisan son de mejor calidad en cuanto a longitud. (Tabla 10 y Figura 19).

Los índices de crecimiento (SGR), indican que no hay diferencias (Tukey>0,05) entre los Grupos Silvestres Toltén (1,6 %/d), Faja Maisan (1,5 %/d), F4 (1,4 %/d) y una desigualdad con el Grupo Hormonal (0,6 %/d). En cuanto a crecimiento estos tres grupos serían de la misma calidad. (Tabla 5; 10 y Figura 19).

Tabla 10: Crecimiento larval (mm) semanal e índice de crecimiento (SGR) para los diferentes orígenes en el Tratamiento de temperatura controlada.

Crecimiento Larval (mm)				
Semana	G.H	S.T	F4	FM
S0	6,1 ± 0,5 ^b	5,4 ± 0,1 ^c	6,6 ± 0,3 ^a	6,5 ± 0,3 ^a
S1	6,1 ± 0,4 ^a	6,6 ± 0,3 ^b	7,2 ± 0,6 ^b	7,4 ± 1,0 ^b
S2	6,6 ± 0,5 ^a	6,5 ± 0,4 ^a	7,8 ± 0,4 ^b	7,6 ± 0,4 ^b
S3	6,9 ± 0,6 ^a	8,2 ± 0,4 ^b	8,3 ± 0,3 ^b	8,8 ± 0,8 ^b
S4	7,4 ± 0,5 ^a	8,8 ± 1,2 ^a	10,1 ± 1,8 ^b	10,3 ± 1,7 ^b
SGR (%/d)	0,6 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,2 ^b	1,4 ± 0,2 ^b	1,5 ± 0,2 ^b

GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; FM: Grupo Faja Maisan.

S0: Longitud inicial S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4.

Crecimiento larval de larvas *G. maculatus* distintos orígenes con
Temperatura controlada

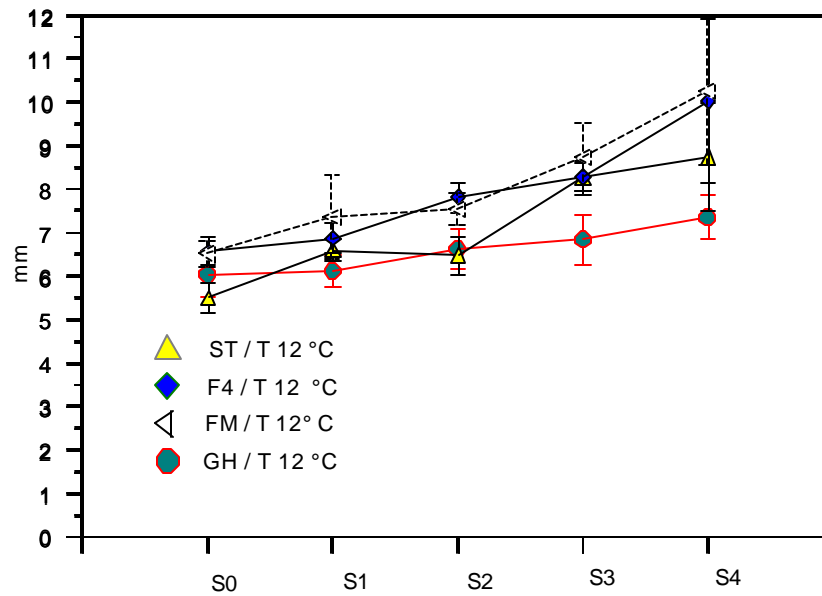


Figura 19: Crecimiento larval de *G. maculatus* de distintos orígenes a temperatura controlada (12 ± 1 °C).

GH: Grupo Hormonal; S.T: Silvestres Toltén; F4: Grupo F4; FM: Grupo Faja Maisan.

S0: Longitud inicial S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4.

8. Discusión

8.1 Evaluación del método de cultivo a Temperatura variable y estándar de Temperatura Controlada ($12 \pm 1^\circ\text{C}$).

Probar un método de cultivo larvario para el “puye” (*G. maculatus*), que mantenga una temperatura controlada, permitió comparar distintas cepas de “puye”, en diferentes períodos de tiempo pero con las mismas condiciones (temperatura, salinidad, color de estanque, cantidad alimento), algo que no sucedía anteriormente al realizar cultivos en verano ($T > 18^\circ\text{C}$) o en invierno ($T < 13^\circ\text{C}$). En experimentos anteriores estas condiciones hacían que los resultados en sobrevivencia y crecimiento no fueran comparables, debido a la variabilidad de la temperatura y su efecto directo en las larvas. Esto se observa en el grupo control de temperatura variable, para todos los orígenes, donde se producen diferencias de 2 grados Celsius en octubre (G. Hormonal), hasta 6 grados Celsius en enero (F4 y FM) con respecto al tratamiento de temperatura controlada ($12 \pm 1^\circ\text{C}$) en un mes de cultivo, esto es debido al incremento de la temperatura del ambiente por la aproximación de la época estival. Los índices metabólicos de los peces se incrementan rápidamente con temperaturas altas, por no poder controlar la temperatura de su cuerpo ya que son poiquiloterms. (Piper, 1982; Poxton, 1990; Bidwell & Huntting, 2001; Calderer A, 2001), En este aspecto radica la importancia de controlar los factores ambientales, ya que estos inciden directamente en el desarrollo de los organismos acuáticos.

Las mortalidades fueron superiores en todos los Grupos Control de los distintos orígenes estudiados frente a los Grupos Tratamiento. A mayor temperatura del agua se generó una

menor sobrevivencia. Debe considerarse que en el método de cultivo estándar el agua se cambia una vez a la semana y no fue esterilizada.

Sin embargo, en la primera semana de cultivo no se generaron diferencias importantes entre la sobrevivencia de las larvas de los Grupos de Control y el Tratamiento independiente de la temperatura e, incluso, en algunos casos el Control fue superior en sobrevivencia al Tratamiento [Grupos Faja Maisan ($95 \pm 4 \%$ a $16,1 \pm 0,1 \text{ } ^\circ\text{C}$) y Silvestres Toltén ($95 \pm 7 \%$ a $15,1 \pm \text{ } ^\circ\text{C}$)]. Ello se debió posiblemente a la buena calidad nutricional de las larvas en ese período por la utilización eficiente de su saco vitelino, ya que éste se absorbe entre los 5 y 7 días a 13°C en la larva del “puye”. (Dantagnan *et al*, 2002). Pero este resultado no se refleja a partir desde la segunda semana en adelante, porque la temperatura más alta probablemente generó mayores requerimientos nutricionales y como consecuencia una mayor mortalidad (Control), coincidiendo con Piper (1982) y Calderer (2001) que reportan que a mayor temperatura mayor metabolismo en los peces. Además Toroella, (1993), informa que la temperatura ambiental ejerce una gran influencia sobre todo en las funciones fisiológicas, incluida la respuesta inmune; la reacción frente a cambios de temperatura depende evidentemente de las especies, se afirma que aquellas temperaturas que se alejan de la óptima causan un descenso en la resistencia, siendo una explicación a la mayor sobrevivencia en el Tratamiento de temperatura controlada; además según Blanco (1994), las aguas no tratadas son vehículos habituales para la presencia de agentes bacterianos. La resistencia de los peces frente a los gérmenes se encuentra limitada a las condiciones del medio y a las medidas higiénico-sanitarias, constituidas principalmente por la flora normal del agua y, por lo tanto, pueden multiplicarse a medida que sube la temperatura y su carga

orgánica (Toroella, *op cit*). Dhert, (1998), señala que en el cultivo del “turbot” en estanques no tratados (antibióticos, UV, etc.), las altas mortalidades ocurrirían a partir del octavo día (18 °C) y superarían el 70%, estando claramente relacionadas con un crecimiento bacteriano y no atribuibles a un patógeno específico. En el cultivo de *G. maculatus* fue evidente el biofilm, adherido a las paredes de las cubetas, signos de la colonización bacteriana. Este fue removido con la limpieza al final de cada semana, con una solución de Yodo (0,1 %), éste biofilm se produce entre los 4-6 días de cultivo (Støttrup, 1993). Esta podría ser la posible explicación a las mortalidades larvales después de absorbido el saco vitelino en las larvas cultivadas a temperatura variable (Control), ocurridas desde la segunda semana en adelante (15 a 18 °C promedio), junto al observarse un posible aumento bacteriano y una carencia nutricional (descenso inmunológico y alza metabólica), ambas condiciones podrían ser provocadas por el aumento de la temperatura del medio de cultivo. Las mortalidades en el Tratamiento se explican asimismo por la carencia nutricional, después de absorbido el saco vitelino, debido a la cantidad mínima de rotíferos administrados. Además, como la temperatura de cultivo fue de 12 ± 1 °C. Blanco (1995), destaca que temperaturas límites inferiores (9 °C) en “truchas” tienen una menor importancia en cuanto a patologías, pero sí en términos económicos, por cuanto los índices de crecimiento disminuyen y la vitalidad de la trucha decrece.

El Grupo Hormonal, a pesar de tener diferencias menores de temperatura (< 2 °C), después de la tercera semana entre el Control y el Tratamiento, se observaron diferencias significativas de mortalidad entre ellos. También se notó una mayor variabilidad en las sobrevivencias, lo que se puede explicar por un error metodológico en el conteo de las larvas al fin de cada semana por el traspaso de estas a un vaso precipitado (1000 ml)

“transparente”. Este traspaso provoca a las larvas un estrés sumamente fuerte por la sobreestimulación de la luz (Fototactismo +), con una evidente manifestación como es el nado en todas las direcciones. A pesar que sus progenitores fueron inducidos hormonalmente al desove (Lh – Rh análoga) y con antecedentes en incubación (% Fertilización = 78 %), inferiores a los demás Grupos, no obstante, según Brooks *et al*, (1997) la evaluación de la dosis hormonal en reproductores y su subsecuente efecto en la calidad de la ova y de las larvas en los peces es muy dificultoso de determinar, sin embargo, la administración controlada de la hormona GnRha en “striped bass” (*Morone saxatilis*) y en “white bass” (*Morone chrysops*), no han tenido un aparente efecto negativo en las sobrevivencias post-eclosión (Brooks, *op cit*), aunque, todo tratamiento hormonal tiene un efecto en la calidad de ovas y larvas. Posiblemente en este caso la alta mortalidad y su alta variabilidad se deban al efecto conjunto de la hormona y al manejo.

Con respecto al crecimiento, se observó que a mayor temperatura se generó un mayor crecimiento en todos los grupos expuestos a temperatura variable (control). Esto se debe efecto que tiene la temperatura en el metabolismo y a la utilización más eficiente de los nutrientes contenidos en el saco vitelino, aunque la temperatura óptima aparente en la naturaleza descrita por Mitchell (1989), está entre 12-15 °C, deducida a partir de la temperatura del agua en el mar. Los mayores crecimientos se obtuvieron por sobre los 15 °C. Los adultos de esta especie toleran temperaturas entre los 7 – 21 °C (Campos, 1970; Mitchell, 1989); la temperatura óptima de cultivo se define como aquella que genera el máximo crecimiento (Piper *et al*, 1982), en este caso las temperaturas que generaron mayor crecimiento estaban entre los 15 – 18 °C. Similar a la temperatura óptima para el crecimiento de la “trucha arcoiris” de cultivo (16 – 17 °C) (Wedemeyer, 1996). Al igual

que la sobrevivencia, este crecimiento posiblemente pudo ser superior si la calidad del alimento hubiera sido mayor. Una buena correlación entre la sobrevivencia y crecimiento permitiría estandarizar una temperatura óptima para el cultivo del “puye” *G. maculatus* diadrómico. Sin embargo, la temperatura del agua requerida para un crecimiento óptimo, puede o no coincide con la temperatura requerida para prevenir algún tipo de enfermedad. (Wedemeyer, *op cit*).

Una solución metodológica a esta situación es la esterilización del medio de cultivo; además, aplicar una metodología de desinfección de ovas de *G. maculatus* momentos previo a la eclosión para evitar la transmisión de enfermedades y desarrollar una metodología que desinfecte los rotíferos previo a ser enriquecidos.

Los patógenos sobre todo *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* y la mayoría de los hongos que afectan a los peces constituyen la flora normal del agua. La esterilización del agua para el cultivo de cualquier especie es necesaria para evitar la probabilidad de contraer una enfermedad infecciosa como consecuencia del aumento del estrés. (Toroella, *op cit*). Planas *et al* (1994), sugiere que los rotíferos antes de ser enriquecidos estos deben estar en periodos cortos de inanición, para que estos organismos vacíen sus intestinos (posibles bacterias o protozoos), y posteriormente realizar baños con agua dulce, mediante esta acción es posible reducir la carga bacteriana.

Asimismo, la desinfección de las ovas se explica porque los huevos son un vehículo de transmisión de enfermedades desde los reproductores a la progenie (Transmisión Vertical y

Horizontal). Muchos de los patógenos pueden quedar en la epiflora del huevo (Mc Fadden, 1969; Bergh *et al*, 1991 citado por Plana & Cunha, 1999). Además se debe tener cuidado en identificar los reproductores e higienizar la fertilización. (Mangor-Jensen *et al*, 1998). Se ha estudiado el efecto con desinfectantes en ovas de *G. maculatus* inmediatamente después de la aparición del ojo con baños cada tres días con yodo, formalina y sal. Esta última arrojó los mejores resultados en la eclosión. ($96 \pm 3 \%$), seguida de la formalina ($80 \pm 7 \%$) y del yodo ($70 \pm 6 \%$). (Romero, J. 2003). Sin embargo, la carga bacteriana de las ovas del puye aun no es estudiada y por ende las enfermedades que pueden ser transmitidas desde la ova a larva.

8.2 Calidad Ova -Larva según el origen.

Como los estándares establecidos para la incubación, permitieron una pérdida alrededor del 30 % de las ovas, establecido así por el riesgo que se corre por la contaminación horizontal, de enfermedades y hongos; y la pérdida progresiva de las ovas viables. La evaluación de las pérdidas en incubación, evaluada económicamente, debería establecer estándares más exigentes, para asegurar la continuidad y éxito de la producción en la incubación y larvicultura.

Las ovas de *G. maculatus* diadrómico, fueron de buena calidad para todos los grupos por presentar porcentajes de fertilización altos ($>70\%$) entre un 78% hasta un 94%, similares a los porcentajes obtenidos por Muñoz (2001), en “puyes” entre los $86 \pm 0,1 \%$. Al mismo tiempo, los porcentajes ova ojo obtenidos fueron altos ($>70\%$) entre 80 a 87 %. Comparando estos resultados con los obtenidos por Gonzáles (2003) en “puyes”, estos fueron alrededor del 58% en ova ojo. La eclosión también fue de buena calidad ($>80\%$),

debido a que al tercer día se espera que eclosione alrededor del 80% de los huevos (Barile *et al*, 2003), y en el bioensayo la eclosión de todos los Grupos fue alrededor del 80 % al tercer día.

En la primera semana, se observó una buena calidad en la sobrevivencia larval (> 90%), en todos los grupos estudiados, debido a la presencia del saco vitelino y al posible uso eficiente de los nutrientes contenidos en el, siendo que este se absorbe entre los primeros 7 días a 13 °C (Dantagnan *op cit*, 2002).

Con respecto a la calidad larval, a la segunda semana en sobrevivencia, a temperatura controlada, las larvas que fueron de mayor calidad (>80 %) son los grupos Silvestres Toltén ($87 \pm 3\%$), F4 ($84 \pm 4 \%$) y Faja Maisan ($84 \pm 3 \%$). Estos grupos muestran una tendencia de mayor sobrevivencia al Grupo Hormonal ($75 \pm 4 \%$).

Bromage (1995), propone valores de calidad en ovas de “trucha arcoiris”, donde, valores cercanos al 90 % de fertilización, valores sobre el 85% de ova ojo, 80 % de eclosión y si sobre el 85% de los huevos eclosionados sobreviven a los 20 días, se catalogan como ovas de muy buena calidad. En el “puye”, los porcentajes de fertilización entre los 85 a 94 % con excepción del grupo hormonal (78 %), ova ojo entre 81 a 87% y en eclosión 78 a 82%, a la segunda semana sobrevive entre 84 y 87 % de las larvas, excepto el grupo hormonal con 75%. Los valores de calidad del “puye” se asemejan a los obtenidos de la “trucha arcoiris”.

Acerca de la técnica de cultivo, evaluada en la 3° y 4° semana, esta estuvo dentro de los estándares establecidos, sin embargo, aún se deben corregir los aspectos ambientales de cultivo para determinar un óptimo de cultivo larvario de *G. maculatus* diadrómico.

A la cuarta semana, luego de aplicado la prueba de sobrevivencia, los Grupos Silvestres Toltén ($69 \pm 6 \%$) y F4 ($64 \pm 4 \%$) fueron los que tienen una mayor viabilidad por la resistencia frente a los cambios ambientales. Bernal, (2001) aplicó este método en larvas de *G. maculatus* obteniendo sobrevivencias superiores al 60% del número inicial de individuos a los 20 días, pero sin control de la temperatura.

Si se compara la sobrevivencia del “puye”, frente a otras especies cultivadas, el “turbot” (*Colistium nudipinnis*) se caracteriza por una alta mortalidad post-eclosión a los 20 días (80%) (Tait, M. & Hickman R., 2001); “red porgy” (*Pagrus pagrus*) a los 15 días post-eclosión sobrevive el 70% (Kolios, P. et al, 1997); “halibut” (*Hippoglossus hippoglossus*), en los 80 días sólo sobrevive el 10%. Para el “turbot” (*Scophthalmus maximus*) la sobrevivencia es alta después de la metamorfosis (50%). En cambio, el “cod” (*Gadus morhua*) está normalmente entre los 5 – 20 %. (Olsen, 1997). En estudios sobre la sobrevivencia larval del “chub” (*Leuciscus cephalus*), se ha obtenido sobrevivencias del 80% antes de absorbido el saco vitelino y un 55% de sobrevivencia después de haberlo absorbido (Çalta M., 2000) Comparando el “puye” (*Galaxias maculatus*) con otras especies éste presenta buenas sobrevivencias larvales en los primeros 30 días.

Con respecto a la calidad larval en crecimiento, los Grupos Faja Maisan (1,5 %/d), F4 (1,4 %/d) y Silvestre Toltén, (1,6 %/d) presentaron índices de crecimiento similares (SGR). En cambio, el Grupo hormonal (0,6 %/d) presentó un índice de crecimiento menor. Dantagnan et al, (1995), obtiene resultados similares en “puye” (0,6 %/d), atribuyéndose a la mala nutrición de las larvas, debido a que solo utilizó rotíferos en una concentración constante de 5 rot/ml. En este sentido, las larvas de los grupos Faja Maisan, Silvestres Toltén y F4,

serían de la misma calidad y de menor calidad el Grupo Hormonal. Bernal (2001), probando dietas ricas en $n-3$ (PUFAS) logró índices similares de crecimiento 1,8 %/d a 10 g/l de salinidad, aunque obtuvo mayores índices de crecimiento (2,1 %/d) a 15 g/l.

A pesar de que el índice de crecimiento (SGR) fue similar para los tres grupos (ST, ST y FM), la longitud inicial no fue homogénea entre los Grupos y las mayores longitudes al eclosionar las obtuvieron los grupos F4 ($6,6 \pm 0,3$ mm) y Faja Maisan ($6,5 \pm 0,3$ mm), siendo el menor el Grupo Silvestres Toltén ($5,4 \pm 1$ mm). Estas longitudes son similares a las obtenidas por González (2003), en larvas de “puye” de primera generación en cautiverio (F1) ($6,6 \pm 0,3$ mm), y Silvestres ($6,1 \pm 0,2$ mm).

En la segunda semana las larvas de mayor calidad en crecimiento fueron las de Faja Maisan ($7,8 \pm 0,4$ mm) y F4 ($7,6 \pm 0,4$ mm).

La diferencia en la longitud inicial repercutió en la longitud a la cuarta semana donde el Grupo Faja Maisan ($10,3 \pm 1,7$ mm) y F4 ($10,1 \pm 1,8$ mm) lograron la mayor longitud, superando al Silvestres Toltén ($8,8 \pm 1,2$ mm) y al Grupo Hormonal, ($7,4 \pm 0,5$ mm) dando como resultado que las larvas de los grupos Faja Maisan y F4 son de mayor tamaño y calidad en cuanto a crecimiento, y que larvas más grandes al eclosionar serían de mejor rendimiento futuro, desde el punto de vista económico.

La diferencia del porte inicial de las larvas se podría deber al tamaño de los reproductores, debido a que no se midió el diámetro de la ova y su posible relación con el tamaño de la larva de “puye”, siendo la diferencia en la longitud entre las hembras F3 ($9,9 \pm 1,7$ cm), Faja Maisan ($8,7 \pm 0,6$) con respecto a Silvestres Toltén ($5,6 \pm 0,1$ cm) fue alrededor de 4

cms. Benzie, (1968), señala que el diámetro del huevo sin fertilizar varía ligeramente con el tamaño de la hembra de “puye”. Asimismo, Gonzáles (2003), determinó que huevos grandes de “puye” *G. maculatus*, producen larvas grandes en longitud. Aunque en el cultivo de la “trucha arcoiris,” el tamaño de la ova no parece ser un indicador importante de calidad del huevo, (no obstante que huevos grandes producirían larvas de mayor tamaño) pero esta ventaja de tamaño, se enmascara por otros factores ambientales de crecimiento. (Bromage *et al*, 1992; Brooks *et al*, datos sin publicar, citado por Brooks *et al*, 1997). Faltaría esta información en este trabajo para determinar este supuesto sobre el tamaño del huevo del “puye” como un importante parámetro de calidad.

En consecuencia, en el cultivo comercial del “puye”, conforme a la experiencia realizada, es particularmente importante mantener el control de la temperatura y la calidad del agua para lograr larvas sanas y abundantes, uno de los factores que pueden ser determinantes en el éxito del negocio.

Aún se deben evaluar otros criterios que demuestren la calidad larval, además de estudiar el efecto de la temperatura del agua como medio de cultivo esterilizado en el crecimiento y sobrevivencia larval, el efecto bacteriano en las ovas y su transferencia a las larvas y, de esta manera, lograr controlar la mayor cantidad de factores que se asocian a la sobrevivencia y crecimiento de *G maculatus* diadrómico.

9. Conclusiones

- El diseño de un método estándar permitió probar que la temperatura del medio de cultivo tiene un efecto determinante en la sobrevivencia y crecimiento de las larvas de *G. maculatus*.
- Se comprueba que las condiciones de cultivo larval no controladas, producen variabilidad en la sobrevivencia y crecimiento del “puye”, aceptando las hipótesis alternativas (H_a), para cada una.
- A temperatura variable se observa una menor sobrevivencia y un mayor crecimiento de *G. maculatus* diadrómico, ambos provocados por el incremento de la temperatura.
- Con la temperatura controlada (12 ± 1 °C), fue posible medir y comparar la calidad larval de ejemplares de distintos orígenes.
- La calidad ova-larva presenta diferencia con respecto al origen de sus progenitores, en sobrevivencia y crecimiento.

10. Bibliografía

- 📖 Barile, J. 1999. Incubación de *G. maculatus* en Hatchery. Seminario Internacional: Bases para la Piscicultura del puye *Galaxias spp.* Departamento de Ciencias de la Acuicultura. Universidad Católica de Temuco. p (20).
- 📖 Barile J.; Bórquez A.; Dantagnan P.; Mardones A.; Quevedo J.; Salgado I.; Valdebenito I.; Vega R. 2003. Antecedentes del Cultivo del Puye *Galaxias maculatus* (Pisces: Galaxiidae). GRAFICASUR Ltda. 144 pp (13)(17)(57).
- 📖 Barnabé, G. 1991. Acuicultura. Volumen I .Ediciones OMEGA, S.A., España. (156 – 157). 478 pp.
- 📖 Bernales, M. 2002. Salinidad y Relación n-3 (PUFA), en la Larvicultura del Puye (*Galaxias maculatus*). Efecto sobre el Crecimiento, Supervivencia y Resistencia al estrés. Tesis de grado. Universidad Católica de Temuco. 58 pp.
- 📖 Benzie, V. 1968. Stages in the Normal Development of *Galaxias maculatus attenuatus* (Jenyns). New Zealand Journal Freshwater. Res 2, (606 – 627).
- 📖 Bergh, Ø.; Hansen, G.; Jelmert, A. Skiftesvik, A; Taxt, R. 1991. Bacterial Diseases of the eggs and yolk sac larvae of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). En: Lavens, P; Sorgeloos, O.; Jasper. E.; Ollevier, F.(Eds). Proceedings of

the Fish and Crustacean Larviculture Symposium, Larvi'97, 27-30. August, 1991. Gent. Belgium, EAS Special Publ., Vol. 15, (389 – 391).

📖 Bidwell, D. & Howell H. 2001. The Effect of Temperature on First Feeding, Growth and Survival of Larval Witch Flounder. *Glyptocephalus cynoglossus*. Journal of the World. © Copyright by the World Aquaculture Society. Aquaculture Society. Vol 32. N° 4, (373 – 384).

📖 Bórquez, A., Dantagnan P. 1999. Larvicultura de *Galaxias maculatus* en un Sistema Intensivo de producción. Seminario Internacional: Bases para la piscicultura del puye *Galaxias sp*. Universidad Católica de Temuco, pp 21.

📖 Blanco, C. 1994. La Trucha: Cría Industrial. © Ediciones Mundi-Prensa. 503 pp.

📖 Bone, Q. & Marshall, N. 1982. Biology of Fishes. Ed Blackie. Glasgow y Londres. 523 pp.

📖 Bromage, N. 1995. Broodstock Management and Seed Quality General Considerations. En: Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Bromage N. & Roberts R. © Blackwell Science Ltda. 424 pp.

📖 Brooks, S; Tyler, C; Sumpter, J. 1997. Egg quality in Fish: what makes a good egg? Reviews in Fish Biology and Fisheries. 7 (387 – 416).

- Calderer, A. 2001. Influencia de la Temperatura y la Salinidad sobre el Crecimiento y Consumo de Oxígeno de la Dorada (*Sparus aurata* L.). Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universitat de Barcelona. 185 pp.
- Çalta, M. 2000. Morphological development and Growth of chub, *Leuciscus cephalus* (L.), larvae. J. Appl. Ichthyol. ©Blacwell Science Ltd. 16, (83-85).
- Campos, H. 1970. *G. maculatus* (Jenyns) en Chile, con especial referencia a su reproducción. Apartado Biológico. Museo Nacional Historia Natural Chile. 31 (5- 20).
- Cardona, L. 1993. Alimentación Larvaria de Peces. En: Acuicultura Marina: Fundamentos Biológicos y Tecnología de la Producción. Castelló F. (Ed). ©Publicacions Universitat de Barcelona. 739 pp.
- Dhert, P; Divanach P.; Kentouri M. & Sorgeloos P. 1998. Rearing Techniques for Difficult Marine Fish Larvae. World Aquaculture. 466 (48 -55).
- Dantagnan, P. Bórquez A; Bariles J. & Valdebenito, I.; Vega R. 1995. Effects of Different Diets on the Survival and Growth of Puye. Facultad de Acuicultura y Cs. Veterinarias. Universidad Católica de Temuco. Larvi95'- Fish and Shellfish Larviculture Symposium. © European Aquaculture Society 521 (435 - 437).

- 📖 Dantagnan, P; Borquez A; Quevedo J. & Valdebenito, I. 2002. Cultivo Larvario del Puye (*Galaxias maculatus*), en un Sistema Cerrado de Recirculación. Información Tecnológica. Vol. 13 N° 2, (15 – 21).
- 📖 Gonzáles, A. 2003. Estudio Comparativo de los parámetros reproductivos entre hembras de puye (*G. maculatus*) (Jenyns, 1842) Silvestres, de Primera y Segunda generación en Cautiverio. Tesis de grado. Universidad Católica de Temuco.
- 📖 Howell, B. 1979. Turbot, set to take off larvae supplies improve. Fish Farmer. 213, (26 – 27).
- 📖 Karlsen, Ø. & Mangor-Jensen A. 2001. A correlation between Phototactic response and First-Feeding of Atlantic Halibut (*Hipoglossus hipoglossus* L.) larvae. ©Blackwell science. Aquaculture research. 32, (907-912).
- 📖 Kolios, P.; Kiritsis S. & Katribusas N. 1997. Larval-rearing and growout of the red porgy (*Pagrus pagrus*), in the Riopesca hatchery (Greece). © Kluwer Academic Publishers. Hydrobiologia 358, (321 – 325).
- 📖 Liewes, E. 1984. Culture, Feeding and Disease of Commercial Flatfish Species. © A.A Balkema. 104 pp.

- 📖 Mangor-Jensen A., T. Harboe, J.S Hennø & R. Troland.1998. Design and Operation of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., egg incubators. ©Blackwell Science Ltda. Aquaculture research 29, (887 – 892).
- 📖 Mc Dowall R y D. Robertson.1975. Ocurrance of Galaxiid larvae and juveniles in the sea. N.Z. Journal of Marine and Freshwater Research 9(1),(1-9).
- 📖 Mc Dowall R. 1988. Diadromy in Fishes: Migrations between Feshwaters and Marine Environments. Printed in Great Britain at the University Press, Cambridge. 308 pp (80-81).
- 📖 Mc Dowall R. 1990. New Zealand Freshwaters Fishes: A natural History and Guide. Heinemann Reed Maf Puplishing Group. 553 (117-127).
- 📖 Mc Fadden, T. 1969. Effective disinfection of trout eggs to prevent egg transmision of *Aeromonas liquefaciens*. J. Fish. Res. Board. Can. 26, (2311 – 2318).
- 📖 Mitchell, C. 1989. Laboratory of *Galaxias maculatus* and potential applications. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. Vol. 23, (325 – 336).
- 📖 Olsen, Y. 1997. Larva-rearing Technology of Marine Species in Norway. © Kluwer Academic Publishers. Hydrobiologia 357, (28 – 36).

- 📖 Ostrowski, A. 1989. Effect of Rearing – Tank Background Color on Early Survival Rates of Dophin (*Conyphaera hippurus*). Prog. Fish – Cult.. 51 (161-163).
- 📖 Piper, R. 1982. Fish Hatchery Management. American Fisheries Society and the U.S. Fish and Wildlife Service. 370 pp.
- 📖 Planas, M.; Cunha, I., Munilla, R. 1994. Utilización de antibióticos para la mejora del cultivo larvario de rodaballo con fines experimentales. En: Castelló, F.; Calderer, A.(Eds) Proceeding of the Fifth National congress on Aquaculture, 10 – 30 May. Sant. Carles de la Rápita, Spain. (765 – 770).
- 📖 Planas, M. & Cunha I. 1999. Larviculture of Marine Fish: Problems and Perspectives. © Elsevier Science. Aquaculture. 177, (171 – 190).
- 📖 Poxton, M. 1990. A review of water quality for intensive fish culture. En: Aquaculture Europe'89-Business Science. N. de Pauw and R. Billard (Eds.) European Society Special Publications. Nº 12, (285 - 303).
- 📖 Romero, J. 2003. Uso y Comparación de Tratamientos Profilácticos en Ovas de *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842), para Mejorar la Sobrevivencia Embrionaria en la Eclosión. Tesis de Grado. Universidad Católica de Temuco. 50 pp.

- 📖 Støttrup, J. 1993. First Feeding in Marine Fish Larvae: Nutritional and Environmental Aspects. Physiological and Biochemical Aspect of Fish. Univ. of Bergen, Norway. Walther BT & Fyhn, H. (Ed).(123-138).
- 📖 Tait, M & Hickman R. 2001. Reproduction, Gamete and Larval rearing of New Zealand Turbot, *Coliustium nudipinnis* (Waite, 1910), and Brill, *Colistium guntheri* (Hulton, 1873): A potential New Aquaculture Species. Aquaculture research 32, (717 – 725).
- 📖 Toroella J. 1993. Problemática de la Patología. En: Acuicultura Marina: Fundamentos Biológicos y Tecnología de la Producción. Castelló F. (Ed). ©Publicacions Universitat de Barcelona. 739 pp.
- 📖 Valdebenito, I. 2001. Manejo Reproductivo del Puye (*Galaxias maculatus*) en condiciones de cultivo. Seminario Internacional: Bases para la Piscicultura del puye *Galaxias spp.* Departamento de Ciencias de la Acuicultura. Universidad Católica de Temuco. pp (18-19).
- 📖 Valdebenito, I & Vega, R. 2003. Capítulo 2: Reproductores y Producción de Ovas. En: Juan Bariles J. (Ed) Antecedentes para el Cultivo del Puye *Galaxias maculatus* (Pices Galaxiidae). GRAFICASUR Ltda. 144 pp.
- 📖 Vega R., A. Pizarro, D Figueroa, J. Bariles, A. Mardones, S. Peredo, G. Lara, I. Valdebenito y F. Figueroa. 1993. Tolerancia a la salinidad de una población

lacustre de puye *Galaxias maculatus*. Facultad de Ciencias agropecuarias y Forestales. Departamento de Acuicultura. Universidad Católica de Temuco.

📖 Wedemeyer, G. 1996. Physiology of Fish in Intensive Culture Systems. Northwest Biological Science Center. U.S. Department of the Interior. © Chapman & Hall. 232 pp.

