

UNIVERSIDAD CATOLICA DE TEMUCO

ESCUELA DE ACUICULTURA



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS PARAMETROS REPRODUCTIVOS DE  
HEMBRAS DE PUYE (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842) SILVESTRES Y DE  
CULTIVO EXPERIMENTAL (F1).**

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

**ALUMNA: PATRICIA GALLEGOS CUEVAS  
PROFESOR GUÍA: IVAN VALDEBENITO ISLER**

**Temuco**

**2003**

### *AGRADEZCO*

*A Dios por su compañía en los largos días y noches de estudio.*

*A mi madre por su incondicional apoyo y oportunos comentarios a veces duros pero necesarios.*

*A mi hijo, que es la razón de mi vida y quien me dio las fuerzas para seguir adelante y no flaquear.*

*A mis hermanas que muchas veces no entendieron el gran sacrificio que realizaba, les agradezco su paciencia.*

*A las personas que me brindaron su valioso apoyo: Familia Serrano Pizarro, en especial a Carlos y Sr, Carmen, a mis amigos Juanita, Guido, Gustavo y Marcelo Bernalés y a mis profesores en particular al Sr, Iván Valdevenito.*

## INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
I. INTRODUCCIÓN	6
II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	9
1. Factores que regulan la calidad de los gametos en peces	
1. Indicadores de la calidad de huevos en peces	
III. OBJETIVOS	22
IV. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS	23
V. METODOLOGÍA	24
1. Obtención de los reproductores	
2. Obtención de los gametos y fertilización	
3. Determinación de los parámetros reproductivos y biométricos	
VI. RESULTADOS	29
1. Determinación de los parámetros reproductivos	
2. Correlación entre la fertilidad y los parámetros morfométricos	
VII. DISCUSIÓN	39
VIII. CONCLUSIONES	51
IX. BIBLIOGRAFÍA	52
X. ANEXO	63

## RESUMEN

*Galaxias maculatus* es un pequeño pez que se encuentra en las aguas frías del hemisferio sur. En la etapa de juveniles cristalinos es cuando son capturados para ser comercializados como un sustituto de la anguila europea, alcanzando un alto valor comercial. Debido a la disminución de las poblaciones nativas producto de la sobreexplotación, se está desarrollando la tecnología de cultivo de esta especie con fines comerciales. La selección de los reproductores para determinar los “stocks” está en función de la calidad de los gametos, y el patrón de comparación para el puye, es la calidad de los huevos en ambiente silvestre ya que, esta especie no se cultiva en ninguna otra parte del mundo, sino que recientemente se está aplicando la tecnología experimental para trasladarla a una experiencia comercial. Para llevar a cabo esta investigación se utilizaron 20 hembras (F1) descendientes de reproductores silvestres, del estuario Hornopiren, acondicionados en cautiverio durante todo su ciclo de vida en el hatchery de la Universidad Católica de Temuco y 20 hembras silvestres del mismo estuario, se utilizó un pool de semen de machos silvestres para fertilizar ambas poblaciones.

Los resultados mostraron que las hembras de cultivo (F1) son de mayor tamaño en peso ( $3.1 \pm 1.1$ g) y longitud total ( $7.7 \pm 0.9$ cm) que las hembras silvestres ( $1.6 \pm 0.4$ g y  $6.9 \pm 0.6$ cm, respectivamente). Además, poseen mayor fecundidad total ( $1244.0 \pm 444.0$  huevos/hembra) y menor fecundidad relativa ( $407.0 \pm 108.0$  huevos/g) que las hembras silvestres ( $968.0 \pm 285.0$  huevos/hembra y  $620.0 \pm 163.0$  huevos/g, respectivamente). Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el porcentaje de fertilización, sobrevivencia a “ova ojo” y eclosión siendo, los valores obtenidos más favorables para la población silvestre ( $66.3 \pm 16.3\%$ ,  $56.5 \pm 29.0\%$ ,  $49.4 \pm 27.7\%$ , respectivamente) que para la población F1 ( $36.0 \pm 26.8\%$ ,  $25.4 \pm 20.0\%$ ,  $39.3 \pm 35.5\%$ , respectivamente). El porcentaje de sobrevivencia larval a los 20 días, en periodo de inanición, fue significativamente ( $p < 0.05$ ) mayor en la población F1 ( $33.2 \pm 24.0\%$ ) que en la población silvestre ( $12.3 \pm 16.3\%$ ).

Se encontró una relación directa entre la fecundidad total y el tamaño de las hembras en peso y longitud total, en ambas poblaciones estudiadas. No se encontró relación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre la fertilidad y los parámetros biométricos del huevo.

## ABSTRACT

*Galaxias maculatus* is a small fish that lives in the cold waters of the southern hemisphere. In the stage of crystalline juvenile they are captured to be commercialized as the substitute one of the european eel, reaching a high commercial value. Due to native populations depletion, by the excessive exploitation, there is an interest in the technology development of this resource, with commercial aims. The selection of the breeding animals to determine the "stocks" is depending on the quality of the gametes, and the boss of comparison for the puye, it is the quality of the eggs in wild environment since, this species is not cultivated in any other part of the world, but recently the experimental technology is applied to move her to a commercial experience. To carry out this investigation, 20 females fishes (F1), offspring from wild animals from Hornopiren estuary, conditioned in captivity form 1 year approximately in the hatchery of the Catholic University of Temuco's, and 20 wild females fishes of the same estuary was used. A pool of semen of wild males was used to fertilize both populations.

The results showed that the culture females fishes (F1) was statistically ( $p < 0.05$ ) higher in weight ( $3.1 \pm 1.1g$ ) and total length ( $7.7 \pm 0.9cm$ ) than the wild females fishes. Furthermore, they possess a higher total fecundity ( $1244.0 \pm 444.0$  eggs/female) and less relative fecundity ( $407.0 \pm 108.0$  eggs/g) than the wild females fishes ( $968.0 \pm 285.0$  eggs/female y  $620.0 \pm 163.0$  eggs/g, respectively). Significant differences ( $p < 0.05$ ) between the fertilization percentage, survival percentage till "eyed egg" stage and survival percentage at swim up was found; being this values, more favorable for the wild population ( $66.3 \pm 16.3\%$ ,  $56.5 \pm 29.0\%$ ,  $49.4 \pm 27.7\%$ , respectively) than for the culture population ( $36.0 \pm 26.8\%$ ,  $25.4 \pm 20.0\%$ ,  $39.3 \pm 35.5\%$ , respectively). The larval survival percentage, in period of starvation, was significantly ( $p < 0.05$ ) higher in the culture population ( $33.2 \pm 24.0\%$ ) than in the wild population ( $12.3 \pm 16.3\%$ ).

Finally, a direct relation between the total fecundity and the size of the females in weight and total length, was found in both populations. There was no relation between the fertility and morph metric parameters of the egg.

## I. INTRODUCCION

En Chile, la Acuicultura ha experimentado un gran auge en la última década, sobre todo en la salmonicultura, esto gracias al enorme esfuerzo dedicado a la investigación, al desarrollo de tecnologías propias y a la introducción de especies nuevas, consolidándose como el segundo productor de salmones de cautiverio, siendo sus principales especies producidas el salmón del Atlántico (*Salmo salar*), salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) y trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), estimándose que para el año 2010 esta actividad generará 2825 millones de dólares (Aquanoticias, 2000). A pesar de las buenas perspectivas que se tengan sobre la salmonicultura, no se puede depender únicamente de ella, por lo tanto, es necesario diversificar los cultivos, para ello en Chile se están desarrollando numerosos proyectos para determinar las tecnologías de cultivo de algas, crustáceos, moluscos y algunos peces nativos.

Entre las especies atractivas para el cultivo comercial se encuentra el puye (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842), debido al elevado precio que alcanza su postlarva cristalina, tanto en el mercado nacional como internacional, encontrándose que en Chile el precio del kilo fresco varía entre \$19000 y \$21000 (Aquanoticias, 1999). Este es un recurso que hoy, por causa de la pesca se encuentra colapsado (Sernapesca, 1999) y que a través de la acuicultura se puede crear una nueva actividad comercial con buenas proyecciones económicas y sociales, como también permitiría conservar este recurso y la pesquería artesanal del Sur de Chile mediante el repoblamiento y manejo de las poblaciones silvestres.

El “puye o angula” (*G. maculatus*) es un pequeño pez que presenta poblaciones diadrómicas y dulceacuícolas que se diferencian por el número de vértebras (Campos 1970) y que posee distribución circum-antártica, encontrándose en Sudamérica (Chile, Argentina e Islas Malvinas); Sudáfrica, Australia, Nueva Zelanda, Islas Chatham y Tasmania (Campos, 1979; Ferriz, 1987). En Chile, habita preferentemente sistemas lacustres y estuariales desde los 32° LS en la zona central hasta los 53° LS en la región patagónica de Tierra del Fuego (Campos, 1979; Peredo & Sobarzo, 1993).

En Chile, no existen estadísticas reales de la pesca del puye, sin embargo se conocen datos de la pesquería artesanal en la IX y X Regiones donde se encuentra colapsada desde hace décadas. En 1990 se capturaban 14 toneladas, las cuales disminuyeron en 1998 a menos de 10 toneladas para desaparecer en 1999 de los registros de captura (Sernapesca, 1999).

El puye es un recurso que se ha explotado en Chile y Nueva Zelanda debido al gran valor de las postlarvas cristalinas, las cuales son comercializadas como un símil de las larvas cristalinas de la anguila europea (*Anguilla anguilla*), las que son consideradas un fino plato de mesa. Por lo tanto, tienen un mercado atractivo debido a la gran demanda del recurso y a la disminución de su abundancia (Vega *et al.*, 1994). Esta desmedida explotación de las poblaciones naturales y el importante valor comercial de las larvas cristalinas ha causado preocupación y gran interés por estudiar la biología de este pez, y para ello un grupo de investigadores de la Universidad Católica de Temuco ha trabajado en el estudio de las bases biológicas y tecnológicas para el cultivo del puye en diversas investigaciones financiadas por Fondecyt, Diuc, Fondef, entre otros.

Uno de los primeros y más importantes objetivos para el desarrollo de la tecnología de cultivo intensivo de cualquier especie, es completar su ciclo de vida en cautiverio. Para tal fin, es preciso tener la capacidad de ejercer el control exhaustivo de los procesos que controlan la reproducción. Esto hace necesario conocer algunos factores ambientales, alimenticios, y reproductivos bajo las cuales se encuentra en la naturaleza, para aplicarlos en un centro de cultivo y de esta manera entregar condiciones similares para el éxito de una especie en cautiverio.

Para que el cultivo de las especies acuícolas sea una actividad rentable desde el punto de vista comercial, es necesario un continuo aporte de huevos y larvas de buena calidad. La obtención de gametos del medio natural, a partir de individuos que han madurado en condiciones naturales, no es la solución práctica a este problema. Debido a ello, se hace necesaria la utilización de técnicas de control ambiental que posibiliten la reproducción durante todo el año de las especies en cautiverio, y que no vayan en

detrimento de la sobrevivencia de la progenie. De ahí, la importancia de conocer los avances que se han logrado, en el puye, bajo condiciones de cultivo, ya que se pretende que los reproductores alcancen el mayor tamaño posible para producir la mayor cantidad de huevos y para tal fin es clave seleccionar un buen grupo de reproductores y a su vez conocer las características de un reproductor de buena calidad, es decir, que tenga la capacidad de generar una progenie viable. Al efectuar la comparación de los parámetros reproductivos entre una población silvestre y de cultivo se evaluó indirectamente el efecto del cautiverio sobre la calidad de los huevos, lo cual contribuye a conocer que tan cerca se encuentra la tecnología desarrollada para el cultivo del puye de asemejarse a la naturaleza. Para evaluar la calidad de los huevos de puye, se determinaron algunos parámetros reproductivos y biométricos tales como el peso, longitud total, índice de condición, fecundidad, tamaño del huevo, número y diámetro de las gotas lipídicas, porcentaje de fertilización, sobrevivencia en incubación, eclosión y sobrevivencia larval. También se determinó si alguno de los parámetros estudiados está correlacionado con la fertilidad.

## IV. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 1. FACTORES QUE REGULAN LA CALIDAD DE LOS GAMETOS EN PECES

Respecto a la biología del puye existen antecedentes sobre la conducta de desove, fecundidad y desarrollo embrionario (Campos, 1970; Ferriz, 1987; Benzie, 1968); de la microestructura del ovario y ovogénesis (Peredo & Sobarzo 1993); sobre la actividad gonádica estacional (Peredo & Sobarzo 1994); antecedentes cuali y cuantitativos del semen (Valdebenito *et al.*, 1995; Fletcher, 2000); parámetros reproductivos de una población silvestres de puye en cultivo experimental (Valdebenito *et al.* 1996), bioensayos preliminares para criopreservación de semen de *G. maculatus* (Valdebenito *et al.*, 1995 y Muñoz, 2001); respecto al cultivo en laboratorio y sus potenciales aplicaciones (Mitchell 1989); sobre la alimentación del puye (Ferriz, 1984; Infante, 1989); de los efectos de distintas dietas en la sobrevivencia y crecimiento del puye (Dantagnan *et al.*, 1995; Dantagnan *et al.*, 2002); y respecto, a la tolerancia a la salinidad de una población lacustre de puyes entregados por Vega *et al.*, (1993).

*G. maculatus* presenta un período de maduración sexual anual, el cual se inicia a comienzos de invierno, y alcanza su madurez máxima al final del invierno registrándose el periodo de desove a partir del inicio de la primavera para alcanzar valores máximos de desove en el mes de agosto (fines de invierno) (Peredo & Sobarzo, 1994), también presenta maduración asincrónica entre machos y hembras, lo cual dificulta el proceso de fertilización en cultivo (Valdebenito *et al.*, 1996).

En cautiverio a los especímenes se les impone una serie de restricciones ambientales, hormonales, genéticas, sociales y nutricionales que determinan que algunas no maduren y que otras no lleguen a su maduración máxima (Bromage, 1995). En el mejor de los casos, algunas especies se reproducen exitosamente, ofreciendo considerables dificultades cuando se las maneja inadecuadamente. En un hatchery, el objetivo primario es producir el máximo de huevos viables a partir de los reproductores disponibles, para esto es fundamental una detección temprana de la ovulación, para que la manipulación de los

reproductores y de los huevos sea la apropiada, ya que esto, permite obtener huevos y alevines de la mejor calidad (Estay *et al.*, 1994). Entendiéndose por huevos de calidad a aquellos que presentan una excelente tasa de sobrevivencia durante la incubación, alevinaje y primera alimentación, es decir, que tengan la capacidad de generar una descendencia viable, que llegue al estado adulto en las mejores condiciones para su comercialización (Kjorsvik *et al.*, 1990).

Muir (1988); Kjorsvik *et al.*, (1990) y Bromage (1995) señalan que el manejo y la selección de los reproductores es clave para obtener gametos viables o de buena calidad, y que ésta o la capacidad de fecundar varía a nivel individual y en función de varios factores relacionados con los reproductores como la alimentación, los parámetros físico-químicos, la genética, la edad y características propias de los gametos, sobre todo las relacionadas con el envejecimiento asociado al tiempo de permanencia en el tracto reproductivo, o el tiempo transcurrido entre el desove y la fecundación. Además, de las condiciones del medio ambiente donde el huevo es fertilizado y posteriormente incubado. Otros factores que pueden estar implicados en la determinación de la calidad del huevo, son aquellos relacionados con la composición química y las dimensiones físicas del huevo, además de la calidad del semen (Kjorsvik *et al.*, 1990)

Kjorsvik *et al.* (1990) y Brooks *et al.*, (1997) señalan que el crecimiento gonadal, la fecundidad y la viabilidad del huevo son muy susceptibles a las condiciones del medio ambiente, siendo afectados por factores tales como temperatura, stress y principalmente por la nutrición de los peces. Respecto a lo último, indican que las restricciones alimenticias generalmente reducen la fecundidad total y pueden demorar la maduración y disminuir la proporción de peces maduros. Además, estos autores señalan que cambios en la composición, peso y tamaño del huevo, parecen ser afectados fuertemente por los diferentes niveles alimenticios y que el efecto de la alimentación en la composición del saco vitelino es de particular importancia para la calidad de las larvas.

En cuanto a los óvulos, la polarización del vitelo su distribución heterogénea en el folículo y la permeabilidad de la membrana, son caracteres negativos para la calidad del huevo (Piper *et al.* 1982)

Para determinar la calidad del huevo en los peces, muchos investigadores utilizan como criterio la fecundidad, tamaño, forma, transparencia, aspecto del corion, simetría celular, distribución de las gotas de lípidos, tasa de flotabilidad, porcentaje de fertilización y eclosión, sobrevivencia larval al tiempo de reabsorción del vitelo y la composición bioquímica de huevos y larvas (Kjorsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1994; Kjorsvik, 1994).

La calidad del semen también puede afectar la viabilidad del embrión, ya que este puede influir directamente en la fertilidad de las ovas (Estay *et al.*, 1994). Este autor, menciona algunas características macroscópicas del semen que pueden ser indicadores de su calidad, por ejemplo, en trucha arcoiris un buen semen es de color blanco o levemente rosado y de consistencia lechosa o cremosa. Si la consistencia es acuosa o grumosa, recomienda evitar su utilización. Billard (1988); Aas *et al.* (1991) y Estay *et al.* (1994) de forma similar señalan características microscópicas, también utilizadas para evaluar la calidad del semen, como la densidad espermática, motilidad y composición del plasma seminal.

### **A. Sobremaduración de huevos**

Como la sobremaduración de las ovas ocurre en el interior de los reproductores, es de gran importancia el tiempo que debe transcurrir entre la ovulación y el momento de extraer y fertilizar los huevos. Bajo condiciones de cultivo artificial los huevos de los salmónidos son ovulados, pero no llegan a ser liberados al exterior, esto se convierte en un problema debiendo ser los peces desovados y los huevos fecundados artificialmente. Durante la sobremaduración, los huevos sufren una serie de cambios en su morfología y composición bioquímica, traduciéndose en una progresiva pérdida en la calidad o viabilidad (Springate *et al.*, 1984).

La tasa de sobremaduración es dependiente de la temperatura (Gillet, 1991). El periodo óptimo para el desove varía para las diferentes especies de peces, por ejemplo; para trucha arcoiris es de 4-10 días después de la ovulación a 10°C (Springate *et al.*, 1984 en Bromage *et al.*, 1994). Este autor, determinó que huevos fertilizados inmediatamente después de la ovulación y 3 días después, muestran que la sobrevivencia es menor que la de huevos fertilizados 4-6 días después de la ovulación. Y señala además, que huevos de trucha arcoiris retenidos en el cuerpo por más de 12 días pueden ser fertilizados, pero su sobrevivencia embrionaria es baja. De forma similar, Barnes *et al.* (2000b) determinó en salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) que huevos de hembras con notable sobremaduración poseen 30% de sobrevivencia a estado de “ova ojo”, en cambio en huevos de hembras no sobremaduras este porcentaje corresponde a 50.6%.

Por otro lado, Devauchelle *et al.* (1988, en Kjorsvik *et al.* 1990) encontró que huevos sobremaduros de turbot (*Scophthalmus maximus*) contenían más lípidos que los huevos viables y que éstos a su vez, contienen menor cantidad de todos los grupos de lípidos, especialmente de fosfolípidos.

Por lo tanto, es de suma importancia que se realicen suficientes chequeos de madurez a los reproductores, para detectar lo más temprano posible la ovulación, ya que la sobremaduración puede ser una causa significativa de pérdida de viabilidad de los huevos, particularmente para salmónidos (Bromage & Cumaranatunga, 1988).

## **B. Nutrición**

Muir (1988); Kjorsvik *et al.* (1990) y Bromage (1995) señalan que la nutrición puede afectar el tamaño y peso y la composición del huevo. Kjorsvik *et al.* (1990) señala que las restricciones alimenticias generalmente, reducen la fecundidad total y pueden inhibir la maduración gonadal y disminuir la proporción de peces maduros en especies tales como la trucha café (*Salmo trutta* L.), trucha arcoiris (*O. mykiss*) y bacalao (*Gadus morhua*). En cambio, la excesiva alimentación incrementa el número total de huevos, pero no incrementa su tamaño, por éstas razones se cree que la calidad y cantidad del alimento

son factores importantes en la viabilidad del huevo. Al respecto, Springate *et al.* (1990) y Cerdá *et al.* (1990a, en Carrillo *et al.*, 1995) determinaron en reproductores de trucha arcoiris (*O. mykiss*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*), respectivamente, que grupos alimentados con una ración completa en comparación con hembras alimentadas con la mitad de la ración, exhiben cambios en la fecundidad, pero los efectos más significativos de la alimentación con una baja ración fue una disminución en el tamaño del huevo y un incremento en la fecundidad relativa. Otro importante efecto de la variación en el tamaño y constituyentes de la ración fue un incremento en los niveles de atresia folicular en peces pre-desovados, lo cual podría explicar, en parte, las alteraciones en la fecundidad y tamaño del huevo. Por otra parte, Kjesbu (1988, en Kjorsvik *et al.*, 1990), concluye que la fecundidad y el factor de condición de peces en cautiverio fueron 2.5 y 1.5 veces, los de “bacalaos” (*Gadus morhua* L.) silvestres del mismo tamaño, respectivamente.

Carrillo y Zanuy (1995) y Brooks *et al.* (1997); señalan que la calidad del huevo y la sobrevivencia embrionaria en los peces teleósteos es afectada por el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) particularmente n-3 incluyendo docosahexanoico (DHA) y eicosapentanoico (EPA), las vitaminas, sobre todo la C y la E, los carotenoides (astaxantina) y los elementos trazas.

Respecto a los ácidos grasos, se ha encontrado que con un incremento en los niveles de n-3 PUFA (particularmente DHA) en la dieta de reproductores de *Sparus aurata* L. se incrementa el porcentaje de huevos morfológicamente normales, la incorporación de ácidos grasos en los huevos y se mejora significativamente el porcentaje de sobrevivencia larval después de la reabsorción del vitelo (Fernández – Palacios *et al.*, 1995; Tandler *et al.*, 1995 en Izquierdo *et al.*, 2001) pero, excesivos niveles de n-3 HUFA producen hipertrofia del saco vitelino en la larva y una disminución en la sobrevivencia larval (Fernández – Palacios *et al.*, 1995) y también se ha determinado que con una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales (AGEs) se incrementa el número de gotas lipídicas en huevos de dorada (*Sparus aurata* L.) (Fernández – Palacios *et al.*, 1997) como también en dorada del Japón (*Pagrus major*) (Watanabe *et al.*, 1984a) indicando así, la importancia de los AGEs para el desarrollo normal de huevos y embriones de estas especies.

Por otra parte, huevos de dorada (*Sparus aurata*) considerados de mejor calidad, tienen un contenido más alto de ácidos grasos totales n-3, donde se incluyen DHA y EPA (Izquierdo *et al.*, 2001). Similarmente, Watanabe *et al.* (1985b, en Kjorsvik *et al.*, 1990) evaluó dos dietas en reproductores de “dorada del Japón” (*Pagrus major*) donde una contenía alta cantidad de aceite de maíz (EPA deficiente) y encontró que el porcentaje de huevos flotantes, la tasa de incubación y producción final de huevos fueron significativamente reducidos en comparación con la dieta control. Por otra parte, en la lubina (*Dicentrarchus labrax*) Cerdá *et al.*, (1995) observaron una clara relación entre la composición de lípidos en la dieta y los resultados de los desoves, encontrando que si los reproductores ingerían niveles bajos de PUFA de la serie n-3 se producía una dramática reducción de la fecundidad y de la viabilidad de los huevos con respecto a especies con dietas más equilibradas.

El ácido ascórbico ha mostrado jugar un rol importante en la reproducción de salmónidos (Eskelinen, 1989) particularmente en la vitelogénesis (Sandnes, 1991). Al respecto, Sandnes *et al.* (1984); Dabrowski y Blom (1994) e Izquierdo *et al.* (2001) demostraron que la vitamina C es un nutriente esencial, y que una deficiencia de esta vitamina en la dieta resulta en huevos que muestran mortalidades considerablemente más altas que huevos de hembras alimentadas con dietas enriquecidas con vitamina C y reduce la concentración de espermatozoides y la motilidad durante y después del período de desove (Sandnes, 1991).

Al respecto, estos autores, demostraron que reproductores de trucha arcoiris alimentados con una dieta que contenía un suplemento en el nivel de ácido ascórbico provoca un aumento en el porcentaje de sobrevivencia en incubación comparado con truchas alimentadas sin suplemento de vitamina C. También se ha demostrado en los trabajos de Sandnes *et al.* (1984) y Eskelinen (1989) el efecto positivo del ácido ascórbico sobre la eclosión de los huevos. Otro nutriente que juega un rol importante en la reproducción de los peces es la vitamina E, tanto así, que por ejemplo los requerimientos de vitamina E en reproductores de trucha arcoiris son sobre 8 veces más que los juveniles (Blom & Dabrowski, 1995). La vitamina E junto con la vitamina C proporcionan un papel protector importante para las células del espermatozoide durante la espermatogénesis hasta

la fertilización reduciendo el riesgo de peroxidación de los lípidos, lo cual es perjudicial para la motilidad del espermatozoide (Ciereszco & Dabrowski, 1995). Watanabe *et al.* (1991a) estudio el efecto de un incremento de vitamina E en la dieta (sobre 200mg/k) en *Pagrus major* y encontró que esto mejora el porcentaje de huevos flotantes, la tasa de incubación y el porcentaje de larvas normales.

En cuanto al nivel de proteína en la dieta, Al-Hafedh *et al.* (1999) realizaron un experimento, donde compararon peces de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con distintos porcentajes de proteína en la dieta (25, 35, 40 y 45%), para visualizar si las influencias sobre la maduración son significativas. Al respecto estos autores, encontraron que cuando son alimentados con 45% de proteína en la dieta los machos maduran a las 14 semanas, en cambio con 25 a 40% los machos maduran a las 16 semanas. También encontró que el número de huevos aumenta con el incremento de proteína en la dieta. La fecundidad relativa fue significativamente mayor para peces alimentados con 25 a 35% de proteína en la dieta que para peces alimentados con 40-45% de proteína.

Washburn *et al.* (1990, en Brooks *et al.*, 1997) determinaron que reproductores de trucha arcoiris (*O. mykiss*) alimentados con una dieta baja en carbohidratos tienen una reducción en la fecundidad relativa y los huevos tienen menor sobrevivencia a estado de ova con ojo y durante la incubación.

Harel *et al.* (1994, en Brooks *et al.*, 1997) respecto a la naturaleza de las dietas, han encontrado que reproductores alimentados con dietas naturales producen huevos de mejor calidad que los alimentados con dietas formuladas comercialmente. Por ejemplo, en la dorada (*Sparus aurata*), peces alimentados con calamares frescos producen huevos tres veces más viables que peces alimentados con dietas comerciales basadas en gluten de trigo.

### **C. Manejo de reproductores**

Puesto que el principal responsable de la variación en la calidad de los gametos es el piscicultor, para conseguir gametos de alta viabilidad es fundamental el buen manejo y la selección de los reproductores. Entre los factores medio ambientales que son determinantes en la viabilidad del huevo y de la larva se encuentran la temperatura, salinidad y el fotoperiodo. Respecto a la temperatura, Buckley *et al.* (2000) determinaron que en el transcurso del periodo de desove de bacalao atlántico (*G. morhua*) y eglefino (*Melanogrammus aeglefinus*) el diámetro del huevo es mayor durante la mitad de la estación de desove, debido a una disminución en la temperatura del agua, lo cual señala que existe una relación inversa entre el diámetro del huevo y la temperatura en ambas especies.

Según Bromage *et al.* (1992) y Brooks *et al.* (1997), un factor clave de manejo que comúnmente pueden tener efectos negativos sobre el proceso reproductivo y cuya última consecuencia, generalmente, es producir una progenie poco viable es la prolongada exposición de los reproductores al estrés (como el confinamiento y las altas densidades utilizadas en cautiverio). Al respecto, Schreck *et al.* (2001) encontró que peces medianamente estresados durante todo el periodo vitelogénico no afectan el tamaño promedio del huevo aunque, este es más heterogéneo. Por otra parte, Campbell *et al.* (1994) demostraron que en trucha arcoiris (*O. mykiss*) el estrés crónico del confinamiento afectó en primer lugar la secreción hormonal, elevando los niveles de cortisol y bajando los de algunos esteroides sexuales. Además, la vitelogenina, compuesto muy importante para el crecimiento de los ovocitos, también presentó valores muy bajos. En segundo lugar, esta manipulación tuvo como consecuencia la obtención de huevos de pequeño tamaño y de tasas de sobrevivencia de la progenie más bajas que en los controles. En machos estresados el espermatozoides también disminuyó. De acuerdo con estos autores, el estrés medioambiental y particularmente nutricional puede afectar la fecundidad y la calidad del gameto, ya que los huevos en distintos estados de desarrollo tienen límites diferentes de tolerancia a factores de estrés (Westernhagen, 1988 en Kjorsvik, 1995).

Según Billard (1988) otros manejos que en cautiverio también influyen en la viabilidad de los huevos son las prácticas adoptadas para el proceso de fertilización, la sobremaduración de los huevos y la colonización bacterial.

## **2. INDICADORES DE LA CALIDAD DE HUEVOS EN PECES**

### **A. Morfología**

En peces, el ovocito maduro (telolecítico) recién desovado está constituido por una gran masa de vitelo que ocupa el mayor volumen del huevo y por una delgada capa periférica denominada lámina cortical, en la cual se encuentran el núcleo y otros organelos celulares. La membrana plasmática está protegida externamente por el corion. Antes de la activación, el corion es de consistencia flácida y está colapsado sobre la membrana del ovocito. El corion presenta uno o varios orificios (micrópilos), con aspecto de cráter, por donde penetra el espermatozoide durante la fecundación. Tras la fecundación los alvéolos corticales se rompen y descargan su contenido formando el llamado espacio perivitelino y a su vez el corion, sufre una serie de cambios estructurales, se endurece protegiendo al embrión de posibles daños o agresiones que pueda sufrir durante la incubación, al mismo tiempo, el diámetro del huevo varía ligeramente. Se observan también una o varias gotas lipídicas, que se encargan de mantener la flotabilidad del huevo (peces marinos) durante la incubación y servir de último alimento a la larva, una vez que el vitelo se ha consumido (Estévez, 1992; Estay, 1994).

Durante la fertilización y activación del huevo, la reacción cortical toma lugar en todos los huevos de los teleósteos que hayan sido o no fertilizados (Kjorsvik *et al.*, 1990). El proceso de fertilización es seguido por el clivaje, una serie de rápidas divisiones mitóticas de las células, donde el citoplasma se divide en numerosas células llamadas blastómeros. Estos disminuyen en tamaño con cada sucesiva división. En peces el gran volumen de vitelo restringe el clivaje a una pequeña área del citoplasma en el polo animal. En huevos no pigmentados como los de puye (*G. maculatus*) son fácilmente visibles los primeros blastómeros de gran tamaño (Benzie, 1968). Para muchas especies un blastómero

temprano "normal" es de tamaño y forma regular, no así para "wolffish" (*Anarhichas lupus* L.) (Pavlov *et al.*, 1992) que tiene blastómeros desiguales durante las primeras divisiones. Al respecto, Kjorsvik *et al.* (1990) y Estévez (1992) describen que huevos de buena calidad, en especies como bacalao (*Gadus morhua*), lubina (*D. labrax*) y rodaballo (*Scophthalmus maximus*) la reacción cortical es completa, el espacio perivitelino es más desarrollado y después del clivaje éstos son transparentes, perfectamente esféricos con blastómeros simétricos. En cambio, en huevos de pobre calidad el espacio perivitelino está poco desarrollado y el clivaje es incompleto, lo que puede ocasionar un bajo incremento en el diámetro del huevo después de la fertilización.

Varios autores (Kjorsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1994; Brooks *et al.*, 1997), señalan que otros buenos indicadores morfológicos de la calidad del huevo durante los primeros estados de desarrollo son la simetría de los blastómeros iniciales, la transparencia y distribución de las gotas lipídicas, tamaño del espacio perivitelino y cambios en el diámetro del huevo después de la fertilización. Dentro de la morfología se utiliza también el porcentaje de embriones y larvas deformes, aunque esta característica puede estar más relacionada con estudios de polución que de calidad de huevos. Las posibles alteraciones morfológicas de las primeras células indiferenciadas en el embrión, invariablemente afectarán la posterior viabilidad y desarrollo de este. El tipo de morfología de estas células ha sido bastante utilizada en estudios de contaminación y ha resultado ser un parámetro más sensible que la evaluación de la sobrevivencia (Kjorsvik *et al.* 1990). Se ha demostrado en varios estudios toxicológicos (Kjorsvik, 1990), que muchos huevos anormales, no completan la embriogénesis, lo cual sugiere que estos blastómeros anormales pueden generalmente responder a huevos de baja viabilidad, y por lo tanto, este parámetro serviría para evaluar la viabilidad o calidad de los huevos. (Kjorsvik *et al.*, 1990; Shields, 1997). De modo similar, Vallin & Nissling (1998) incubaron huevos de bacalao de aspecto regular e irregulares, y en promedio, la tasa de incubación que obtuvo fue menor para huevos irregulares (35%) que regulares (80%), sugiriendo que la morfología ovocitaria puede ser un indicador directo de la viabilidad de los huevos.

## B. Tamaño del huevo

Aunque es conocido que huevos grandes producen también larvas más grandes, el tamaño del huevo ha sido un criterio para evaluar la calidad del huevo de gran controversia. Al respecto, Bromage *et al.* (1992) indican que en trucha arcoiris el tamaño del huevo no parece tener importancia sobre la calidad del huevo, no obstante Kamler *et al.* (1982, en Kjorsvik *et al.*, 1990) señalan que la variación en el diámetro del huevo parece ser uno de los criterio más importante en la determinación de la calidad del huevo para peces.

La variabilidad intra específica en el tamaño del huevo está asociada con la edad, el tamaño, las condiciones fisiológicas de la hembra, con el tiempo de desove y la variación en las condiciones medioambientales en que se encuentra el pez (Baynes & Howell, 1996). Uno de los factores que influyen tanto la fecundidad como el tamaño de los huevos es la dieta (Bromage, 1995). Al respecto, Springate *et al.* (1985) encontró que reproductores de trucha arcoiris alimentados con la mitad de la ración (0.35% peso corporal por día) reducen el número y el tamaño de los huevos producidos en comparación con peces alimentados con el 0.7 % de su peso corporal por día. Otro de los factores importantes que influyen el número y tamaño del huevo es el tamaño de la hembra, generalmente, así como incrementa el tamaño del pez, también aumenta la fecundidad total y el diámetro de los huevos producidos, particularmente en salmónidos y como consecuencia, las hembras muestran una fecundidad relativa reducida (Bromage y Camaranatunga, 1988). Tal aseveración ha sido demostrada en los trabajos de Coates (1988) en el catfish africano (*Clarias gariepinus*) y los de Pavlov y Moksness (1994) en wolffish (*D. labrax*) y Schreck *et al.* (2001) en trucha arcoiris (*O. mykiss*), quienes señalan además que estos resultados también podría estar asociado con la edad del pez, aunque en algunas especies el efecto de la edad sobre la fecundidad puede ser muy pequeño o inexistente, mientras que en otras parece ser altamente significativo. Por tanto, el efecto de la edad del pez sobre el número de huevos producidos se considera que no es consistente entre todas las especies estudiadas (Wootton, 1979 en Cerda, 1993)

Gall (1974) y Brooks *et al.* (1997) indican que en trucha arcoiris la hembra produce mayor cantidad de huevos y de mejor calidad en la segunda estación de desove que en la primera. Similarmente, Bromage & Camaranatunga (1988) señalan que la sobrevivencia a "ova con ojo" de huevos ovulados en la segunda estación fue significativamente más alta comparada con huevos de hembras de primer desove (75% versus 58%, respectivamente).

Por otra parte, los efectos del tamaño del huevo en la sobrevivencia durante el periodo de incubación son controversiales. Algunos autores (Richter *et al.* 1995; Barnes *et al.*, 2000a), sugieren que huevos pequeños tienen pobre sobrevivencia mientras que otros (Cerdá *et al.*, 1990a; Estay *et al.* 1994; Kjorsvik *et al.*, 1998), argumentan que este tamaño no tiene efecto en la calidad del huevo ya que huevos pequeños poseen similares tasa de fertilización que huevos más grandes. Estos últimos, producen alevines de trucha arcoiris (*O. mykiss*) más grandes a primera alimentación, pero si los alevines se encuentran bajo condiciones de pobre calidad de agua, estresados o con alimentación inapropiada, estos alevines pueden sufrir mortalidades más altas que alevines pequeños. También, el alevín de saco nacido de huevos grandes en periodo de inanición, tiene mejor sobrevivencia, aunque si en el hatchery se proveen las mismas condiciones de manejo, tanto los huevos pequeños como los grandes tendrán igual oportunidad de sobrevivencia (Blaxter y Hempel, 1963 en Muir 1988 y Gisbert *et al.*, 2000). Springate and Bromage, (1985a) concluyen que pequeños huevos no son básicamente de menor calidad que huevos grandes, ya que, estos autores habrían descubierto, que la sobrevivencia de los huevos no es afectada por el tamaño del huevo, sino más bien por una diferencia en el estado de madurez de los huevos, es decir, un efecto más bien de sobremaduración que del tamaño del huevo.

Es conocido que el tamaño del huevo y de la larva están correlacionados (Baynes & Howell, 1996; Gisbert *et al.* 2000). Al respecto, Beacham *et al.* (1985) y Baynes & Howell (1996) determinaron en salmón chum (*O. keta*), salmón coho (*O. kisutch*) y en "sole" (*Solea solea*) que las larvas con mayor volumen de vitelo provienen de huevos más grandes y alcanzan mayor talla que las larvas provenientes de huevos pequeños, pero esta ventaja de tamaño es generalmente más corta después de la primera alimentación (Springate y

Bromage 1985a) tal como ocurre en esturión siberiano (*Acipenser baeri*) (Gisbert *et al.* 2000) y en salmón Atlántico (*Salmo salar*) (Poxton, 1991) donde se observó una habilidad de los especímenes pequeños para crecer a la misma tasa que un alevín inicialmente más grande.

### **C. Número de gotas lipídicas**

La información disponible respecto a las gotas lipídicas que contienen los huevos es limitada sin embargo, para evaluar la calidad de huevos en peces, especialmente marinos, también se puede utilizar el número y distribución de las gotas de lípidos. Por ejemplo, en dorada del Japón (*P. major*), huevos normales de cultivo tienen diámetros de 0.66 a 1.03mm y contienen una gota de aceite de 0.25mm (Fukuhara, 1985) y en huevos que poseen más de una gota su posterior desarrollo es anormal (Watanabe y Kiron, 1995).

## II. OBJETIVOS

### 1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar comparativamente parámetros reproductivos de hembras de puye (*Galaxias maculatus*) silvestres y de cultivo experimental (F1).

### 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar y comparar los parámetros biométricos y reproductivos de hembras silvestres y de cultivo experimental de *Galaxias maculatus*.
- Determinar el grado de correlación existente entre los parámetros reproductivos estudiados y la fertilidad de hembras silvestres y de cultivo experimental de *Galaxias maculatus*.

### III. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS

Para determinar si existen diferencias entre los parámetros biométricos y reproductivos de hembras silvestres y de cultivo experimental de *G. maculatus* se planteó la siguiente hipótesis:

**H<sub>0</sub>**: Los parámetros biométricos y reproductivos de hembras silvestres no difieren significativamente de los parámetros biométricos y reproductivos de hembras de cultivo experimental.

**H<sub>1</sub>**: Los parámetros biométricos y reproductivos de hembras silvestres difieren significativamente de los parámetros biométricos y reproductivos de hembras de cultivo experimental.

En la fase final, se correlacionaron los parámetros reproductivos y la fertilidad de las hembras silvestres y de cultivo experimental; para ello se planteó la siguiente hipótesis:

**H<sub>0</sub>**: No existe correlación entre los parámetros biométricos de las hembras y la fertilidad.

**H<sub>1</sub>**: Existe correlación entre los parámetros biométricos de las hembras y la fertilidad.

## V. METODOLOGÍA

La presente investigación, se basó en el estudio de hembras de puye (*Galaxias maculatus*) de una población estuarina silvestre y de una población (F1) de cultivo experimental. Los individuos de la población estuarina silvestre fueron capturadas en octubre de 2000 en el sector de Río Negro, Hornopiren, X Región. Chile. Los reproductores F1 fueron mantenidos bajo condiciones de cultivo experimental durante todo su ciclo de vida en el hatchery de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco, el cual fue implementado por los proyectos Fondef D96I1071 y D99I1003. Para evaluar los parámetros reproductivos estudiados en este trabajo se utilizaron 20 hembras adultas de puye, sexualmente maduras, de la población silvestre y F1, estas hembras fueron desovadas, en octubre y en agosto-septiembre de 2000, respectivamente, para obtener los gametos y evaluar los parámetros biométricos del huevo. Para realizar el proceso de fecundación se utilizó un pool de semen de 4 machos por hembra.

### 1. OBTENCIÓN DE LOS REPRODUCTORES

Los puyes de la población silvestre fueron capturados con una malla de arrastre, de 2 mm de abertura, la cual se colocó en la desembocadura del río y entre dos personas se hizo un lance encerrando la mayor cantidad de peces. Luego de ser capturados, los especímenes silvestres que se encontraban sexualmente maduros, fueron mantenidos durante 7 días en estanques de fibra de vidrio de 100L de capacidad con flujo abierto utilizando agua de pozo (14°C) a una tasa de cambio de 2 veces/hora, con fotoperiodo natural y sin alimentación, con el fin de que alcanzaran la madurez máxima y no fueran afectados por las condiciones de cautiverio.

Los reproductores F1 son descendientes de padres silvestres, que luego de ser capturados como postlarvas fueron acondicionados en el hatchery de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco. Las condiciones de cultivo bajo las cuales fueron mantenidos estos individuos corresponden a las mismas de los ejemplares silvestres, con la salvedad que estos son nacidos y criados en cautiverio y fueron

alimentados “*ad libitum*” con starter para salmónidos durante todo su ciclo de vida (excepto la etapa larval).

## **2. OBTENCIÓN DE LOS GAMETOS Y FERTILIZACIÓN**

Una vez detectada la madurez máxima de los reproductores, la cual se evaluó mediante observación macroscópica, según escala de maduración para *G. maculatus* (Anexo N°1), estos fueron anestesiados en una solución de Benzocaína a una concentración de 0.3ml/l. Posteriormente, vía masaje abdominal se extrajeron los gametos, recepcionándolos en cápsulas de Petri debidamente rotuladas. Ambos procedimientos se efectuaron en seco, con el objeto de evitar la activación de los gametos al tomar contacto con el agua.

Para realizar el pool de semen se utilizaron 4 machos de población silvestre por cada hembra, con el objeto de obtener una muestra homogénea y evitar la influencia individual de cada macho. Una vez obtenido los gametos se realizó el proceso de fertilización de los huevos, para lo cual se utilizó 0.01 ml del pool de semen y 10 ml de agua de pozo por cada réplica (n=20 hembras desovadas), luego de cinco minutos de efectuada la fecundación se realizó un enjuague de las ovas, para eliminar el resto de semen y cualquier impureza que acompañe a las ovas, posteriormente se dejó reposar por unos breves minutos, antes de ser instalados en la sala de incubación.

## **3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS Y BIOMÉTRICOS**

### **A. PESO Y LONGITUD TOTAL**

Luego de ser anestesiados, los peces fueron pesados en una balanza (0.1g de precisión) y medidos en un ictiómetro.

### **B. ÍNDICE DE CONDICIÓN**

El índice de condición es utilizado para determinar el estado de gordura de los peces, éste indica si la cantidad de alimento entregada a los peces es la óptima o es insuficiente.

$$K: \frac{P}{L^3} * 100$$

Donde, L= Longitud del individuo (mm)

P= Peso del individuo (g)

### C. FECUNDIDAD TOTAL Y RELATIVA

El número de huevos maduros que produce un reproductor o son ovulados es denominado fecundidad conocido como fecundidad. La fecundidad puede ser expresada en términos de el número de huevos producidos por hembra denominado fecundidad total o absoluta, también puede ser expresada por unidad corporal del pez post-desove, el cual es conocido como fecundidad relativa. En este estudio la fecundidad total se determinó empleando el método de conteo directo del número de huevos producidos por hembra y la fecundidad relativa se obtuvo en relación al peso de ellas.

$$\text{Fecundidad relativa: } \frac{FT}{P}$$

Donde, FT= Fecundidad total (Nº de huevos)

P= Peso del individuo (g)

### D. PARÁMETROS BIOMÉTRICOS DEL HUEVO

Para determinar los parámetros biométricos del gameto femenino, después de la fertilización (hidratación) se determinó el diámetro del huevo; para ello se tomó una muestra al azar de 20 huevos por cada hembra desovada, para realizar esta medición se utilizó un ocular graduado y un microscopio óptico; luego se determinó el número total de gotas lipídicas visibles en cada ova contando bajo microscopio óptico y se midió el diámetro de las 10 gotas de mayor tamaño utilizando un ocular graduado.

$$\text{Diámetro del huevo: } m * F$$

Donde, m= Diámetro del huevo o gotas (mm,  $\mu\text{m}$ )

F= Factor del ocular graduado

### E. DENSIDAD ESPERMÁTICA

La densidad espermática se determinó realizando un recuento de espermatozoides en una cámara de Neubauer, utilizando el método descrito por Oppenheim (1973) para

recuento de eritrocitos y la densidad espermática por ova se determinó de la siguiente forma:

$$\text{Densidad espermática/ova: } \frac{\text{Densidad espermática/ml}}{\text{FT}} \quad \text{Donde, FT= Fecundidad total}$$

## F. PORCENTAJE DE FERTILIZACIÓN

Transcurridas 5 horas, después de fecundar, se determinó el porcentaje de fertilización o fecundación temprana tomando 50 ovas por réplica (hembra desovada) y contando bajo estéreo microscopio cuántas de ellas fueron fertilizadas. Se considero como ova fertilizada a aquella que presentó blastómeros de tamaño uniforme (Fig. N°12.).

$$\text{Porcentaje de Fertilización: } \frac{\text{HF}}{\text{N}} * 100 \quad \text{Donde, HF= N° huevos fertilizados}$$

N= Tamaño de muestra (50)

## G. PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA A “OVA OJO” Y ECLOSIÓN

Una vez que se pigmentaron los ojos se calculó la sobrevivencia a “ova ojo” y luego, a eclosión a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Sobrevivencia “ova ojo” : } \frac{\text{HP}}{\text{N}} * 100 \quad \text{Donde, HP= N° huevos pigmentados}$$

N= Tamaño de muestra (50)

$$\% \text{ Sobrevivencia a eclosión : } \frac{\text{HE}}{\text{HI}} * 100 \quad \text{Donde, HE= N° huevos eclosionados}$$

HI= N° huevos incubados

## H. UNIDADES TERMICAS ACUMULADAS

Para incubar las ovas se utilizó el método de inmersión con agua de pozo, usando como sistemas de incubación cápsulas de Petri, las cuales fueron mantenidas en un rango de temperatura que varió entre 10.0 y 12.0°C en oscuridad las 24 horas del día. Diariamente, se les cambió el agua y se extrajeron las ovas muertas para evitar la proliferación de hongos durante la incubación. La temperatura se registró en la mañana, al medio día y en la tarde, con estos valores se obtuvo el promedio diario de la temperatura en incubación. Para

determinar las unidades térmicas acumuladas al estado de ova ojo, al inicio,  $L_{50}$  y fin de la eclosión se utilizó la siguiente relación:

UTA:  $^{\circ}\text{C} * \text{D}$

Donde,  $^{\circ}\text{C} = \text{T}^{\circ}$  promedio/día

D= N° días acumulados

### I. LONGITUD LARVAL

Al momento de comenzar el proceso de eclosión se tomó una muestra de 20 larvas por hembra desovada, con el objetivo de determinar la longitud total de la larva recién eclosionada, para realizar esta medición se utilizó un ocular graduado.

### J. SOBREVIVENCIA LARVAL

Una muestra de 20 larvas por hembra fueron mantenidas en vasos precipitados de 1L de capacidad a una temperatura de  $13^{\circ}\text{C}$  con 12hr luz y 12hr oscuridad, con aireación constante, para evaluar tanto la sobrevivencia  $L_{50}$  como la sobrevivencia a los 20 días, en período de inanición. El porcentaje de sobrevivencia se determinó de la siguiente forma:

% sobrevivencia  $L_{50}$ :  $\frac{50\% \text{ larvas}}{N_i} * 100$

Donde, 50% larvas = 10

$N_i = \text{N}^{\circ}$  inicial de larvas vivas

% Sobrevivencia a 20 días:  $\frac{N_f}{N_i} * 100$

$N_f = \text{N}^{\circ}$  final de larvas

### K. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar si existen diferencias significativas entre los promedios de los parámetros reproductivos y biométricos obtenidos en los individuos de cada población se realizó el test t-student, utilizando un nivel de confianza del 95%. Para determinar si existe correlación ( $r$ ) entre las variables estudiadas se aplicó el test de spearman con un nivel de confianza del 95%. Estos análisis se realizaron en el programa estadístico statmost.

## VI. RESULTADOS

### 1. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS

Los resultados obtenidos del experimento se resumen en la Tabla N°1, en la cual, se observa que los parámetros reproductivos como peso y longitud total de las hembras silvestres ( $1.6 \pm 0.4\text{g}$  y  $6.9 \pm 0.6\text{cm}$ , respectivamente) fueron significativamente menor ( $p < 0.05$ ) que los de hembras de cultivo experimental ( $3.1 \pm 1.1\text{g}$  y  $7.7 \pm 0.9\text{cm}$ , respectivamente) (Fig. N° 1, a y b).

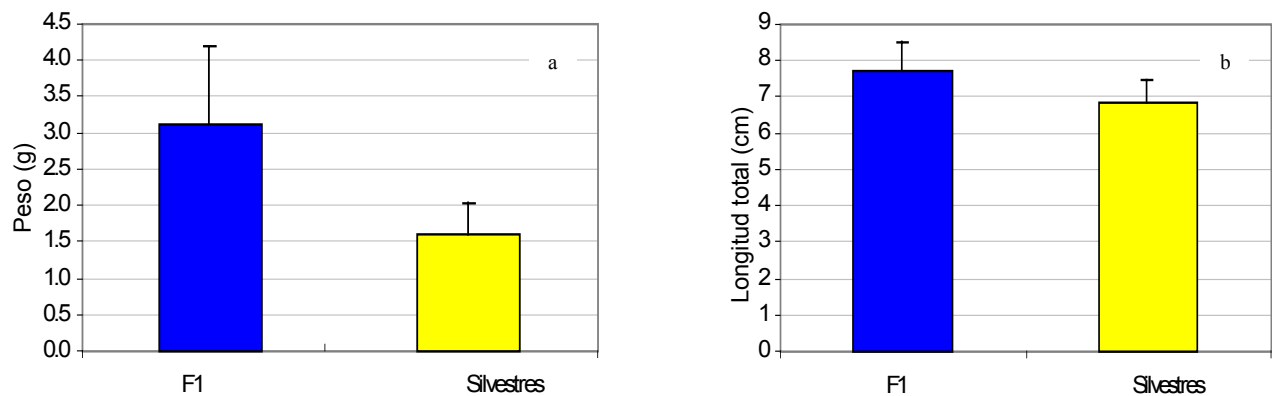


Fig. N°1. Peso (a) y longitud total (b) de 20 hembras maduras de *G. maculatus* de una población silvestre y F1.

El índice de condición fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) para las hembras de cultivo experimental (F1) ( $0.68 \pm 0.09$ ) que para las hembras de población silvestre ( $0.48 \pm 0.09$ ) (Fig. N°2).

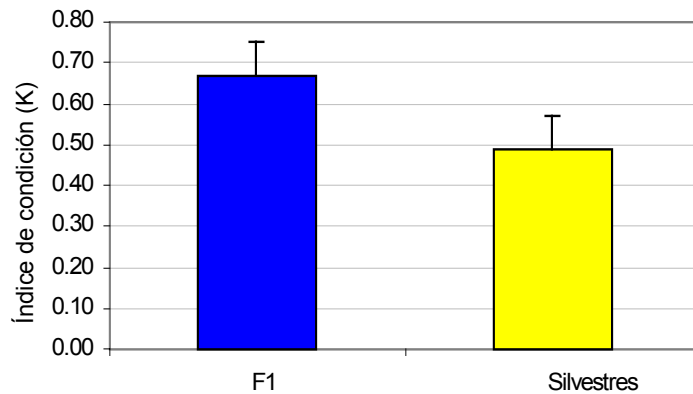


Fig. N°2. Índice de condición para 20 hembras de *G. maculatus* de una población silvestre y F1.

El promedio de la fecundidad total determinada para las hembras silvestres fue de  $968.0 \pm 285.0$  ovas, con un valor mínimo de 495 y un máximo de 1544 huevos/hembra. Para las hembras F1 el promedio fue de  $1244.0 \pm 444.0$  ovas, con valores mínimos y máximos de 419 y 1986 huevos/hembra, respectivamente, siendo significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) la fecundidad total promedio en hembras F1 que en hembras silvestres (Fig. N°3a). La fecundidad relativa promedio, en cambio, fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) para hembras silvestres ( $620.0 \pm 163.0$  huevos/g) que para hembras F1 ( $407.0 \pm 108.0$  huevos/g) (Fig. N°3b).

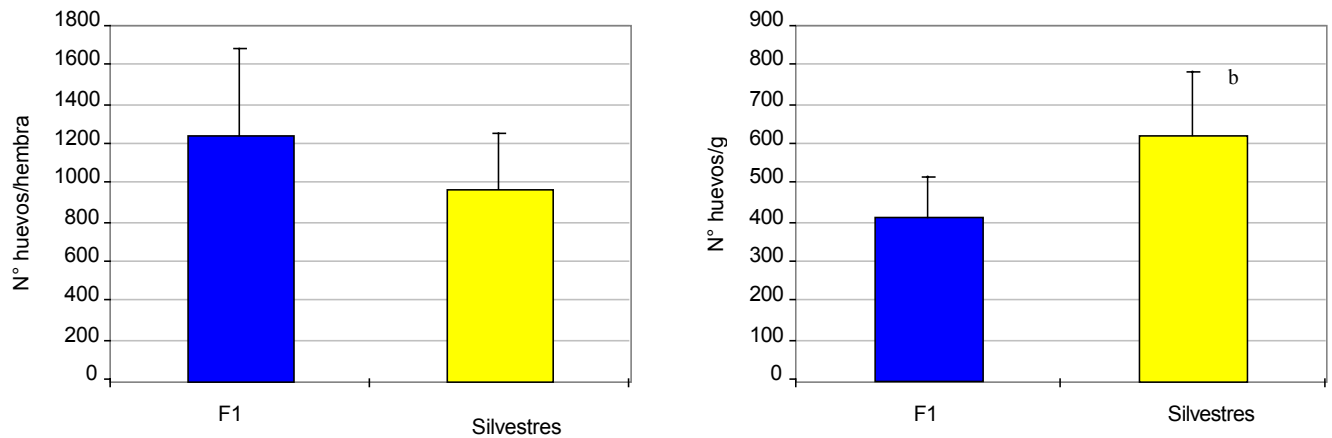


Fig. N°3. Fecundidad total (a) y relativa (b) de 20 hembras de *G. maculatus* de una población silvestre y F1.

Luego de la hidratación, el tamaño promedio del huevo fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) (Fig. N°4) en los de origen silvestre ( $1.1 \pm 0.03$  mm) que los provenientes de cultivo experimental ( $1.2 \pm 0.05$  mm).

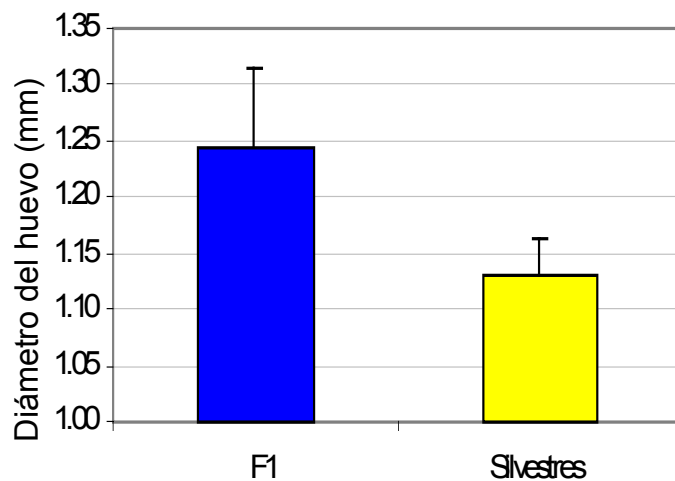


Fig. N°4. Tamaño del huevo de *G. maculatus* para una población silvestre y F1, considerando  $n=20$  por hembra.

El número promedio de gotas lipídicas observadas en huevos provenientes de hembras silvestres fue de  $16.0 \pm 8.0$  y en huevos de hembras F1 de  $21.0 \pm 12.0$ , estas diferencias estadísticamente ( $p < 0.05$ ) no son significativas (Fig. N°5a), no así, el diámetro promedio de estas gotas, el cual difiere entre ambas poblaciones, siendo significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en los huevos de hembras F1 que en los de hembras silvestres ( $110.0 \pm 15.6\mu\text{m}$  y  $102.0 \pm 9.0\mu\text{m}$ , respectivamente) (Fig. N°5b).

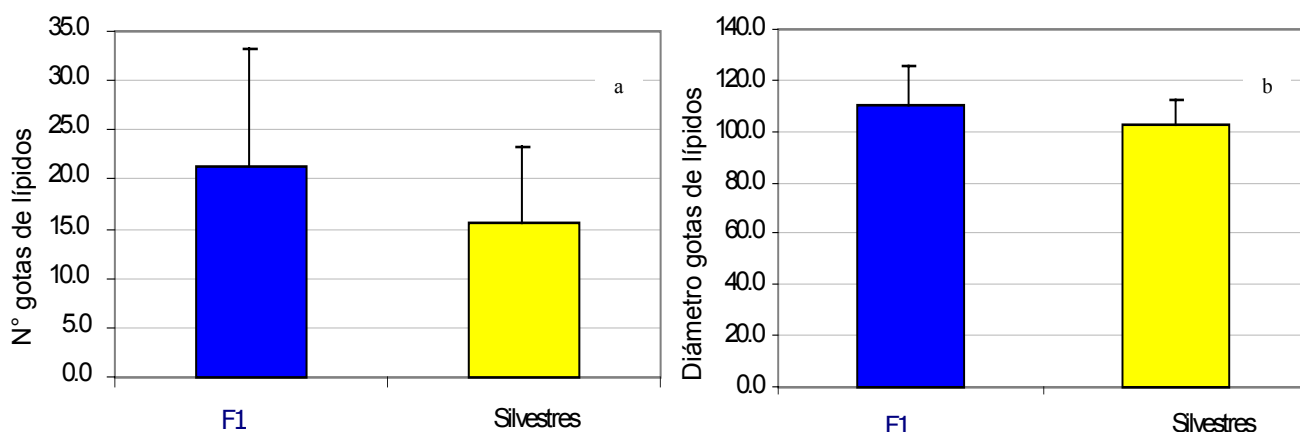


Fig. N°5. Número (a) y tamaño promedio de las gotas lipídicas ( $\mu\text{m}$ ) (b) de los huevos de *G. maculatus* de una población silvestre y F1.

La densidad espermática promedio obtenida en el semen de especímenes silvestres, utilizada para fertilizar huevos de la población F1 ( $44.4 \pm 7.2 (*10^9)$  espermatozoides/ml) fue significativamente ( $p < 0.05$ ) mayor que la utilizada para fertilizar huevos de la población silvestre ( $37.4 \pm 1.5 (*10^9)$  espermatozoides/ml). En cambio, el número promedio de espermatozoides por ova utilizado durante la fertilización no difiere significativamente ( $p < 0.05$ ) entre ambas poblaciones, siendo de  $421520.0 \pm 132385.0$  espermatozoides/ova para huevos de hembras silvestres y  $427727.0 \pm 257001.0$  espermatozoides/ova para huevos de hembras F1.

El porcentaje promedio de fertilización obtenido en huevos de hembras silvestres ( $66.3 \pm 16.3\%$ ) fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que en huevos de hembras F1 ( $39.3 \pm 35.5\%$ ). Para la población silvestre y F1 los valores mínimos y máximos oscilaron entre

32.0-96.0% y 0-95%, respectivamente. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el porcentaje de sobrevivencia a incubación u “ova con ojo” de la población silvestre ( $57.0 \pm 29.0\%$ ) y de la población F1 ( $36.0 \pm 26.8\%$ ) como también en el porcentaje de eclosión siendo los valores obtenidos para la población silvestre ( $49.4 \pm 27.7\%$ ) mayores que para la población F1 ( $25.4 \pm 20.0\%$ ) en ambos parámetros (Fig. N°6).

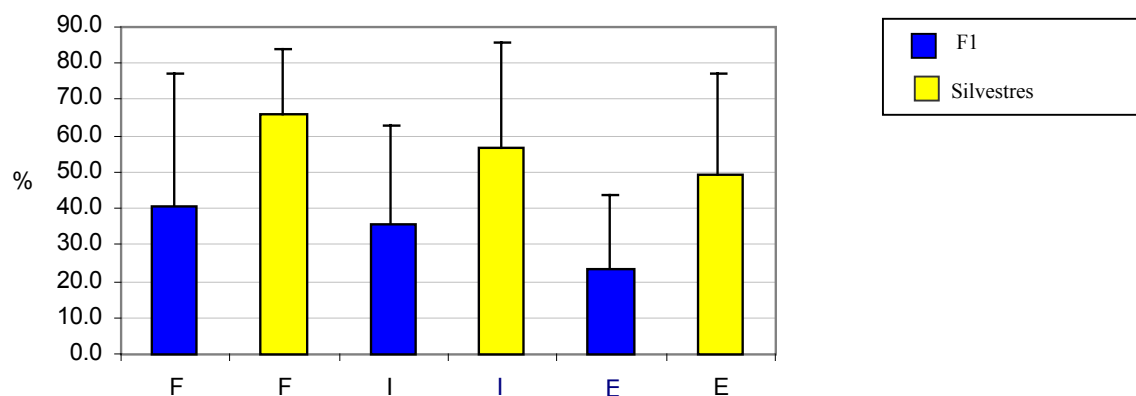


Fig. N°6. Porcentaje de fertilización (F), sobrevivencia a incubación (I) y eclosión (E) de *G. maculatus* de una población silvestre y F1.

La temperatura promedio utilizada para la incubación de ovas de hembras silvestres (octubre-noviembre) y de hembras F1 (agosto-septiembre) fue de  $11.5$  y  $10.6^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. El estado de “ova con ojo” se alcanzó en la población silvestre a  $159.0 \pm 10.7\text{UTA}$  y en la población F1 a  $143.0 \pm 16.0\text{UTA}$ , lo que en ambos corresponde a 14 días. La eclosión, se inició a  $355.0 \pm 23.2\text{UTA}$  en ovas de origen silvestre y  $384.0 \pm 34.5\text{UTA}$  en ovas de F1, lo que corresponde a 31 y 36 días, respectivamente. El 50% de eclosión en la población silvestre y F1 se registró a las  $425.0 \pm 46.0\text{UTA}$  y  $482.0 \pm 75.0\text{UTA}$ , respectivamente. La eclosión finalizó más tarde en la población de cultivo, con  $688.0 \pm 116.0\text{UTA}$ , que en la población silvestre ( $665.0 \pm 123.0\text{UTA}$ ), donde esta última tardó 58 días (Fig. N°7). Solo en éste último parámetro no hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

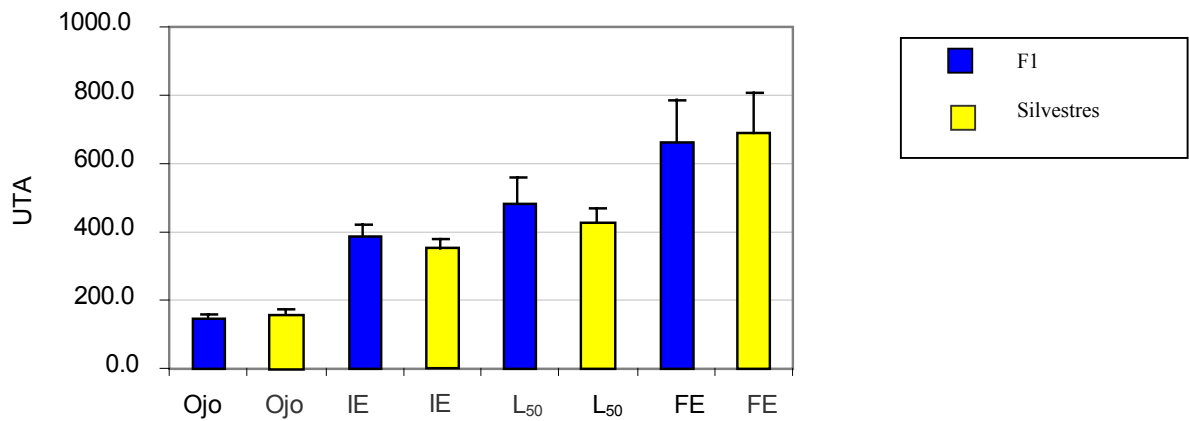


Fig. N°7. Unidades Térmicas Acumuladas (UTA) a las cuales se alcanzó el estado de “ova con ojo” (Ojo), inicio de la eclosión (IE), el 50% de eclosión (L<sub>50</sub>) y final de la eclosión (FE) en *G. maculatus* de una población silvestre y F1.

Las larvas provenientes de reproductores silvestres eclosionaron con una menor longitud ( $6.1 \pm 0.24\text{cm}$ ) que las de progenitores de cultivo experimental, que eclosionaron con una longitud promedio de  $6.6 \pm 0.28\text{cm}$ . Estas diferencias son estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

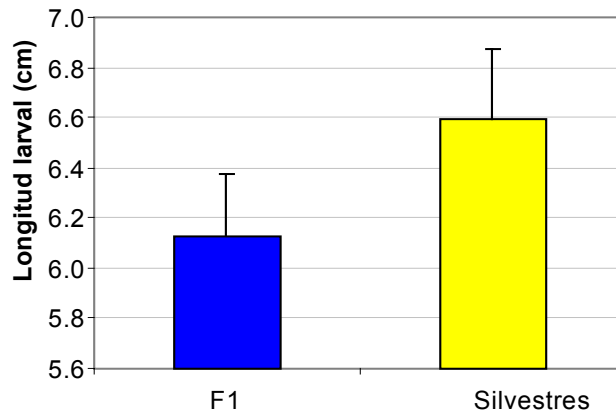


Fig. N°8. Longitud de las larvas (N=20) recién eclosionadas de puye de población silvestre y F1.

Se utilizaron en esta parte del experimento un total de 20 larvas por réplica, y se determinó que no hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la sobrevivencia del 50% de las larvas de los reproductores de cultivo ( $15.0 \pm 4.0$  días), y las larvas de origen silvestre ( $12.0 \pm 7.0$  días) (Fig N°8a). En la sobrevivencia larval durante un periodo de inanición de 20 días (Fig N°8b), se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), siendo mayor el porcentaje de sobrevivencia de las larvas provenientes de reproductores de cultivo ( $33.2 \pm 24.0\%$ ) que las de progenitores silvestres ( $12.3 \pm 16.3\%$ ).

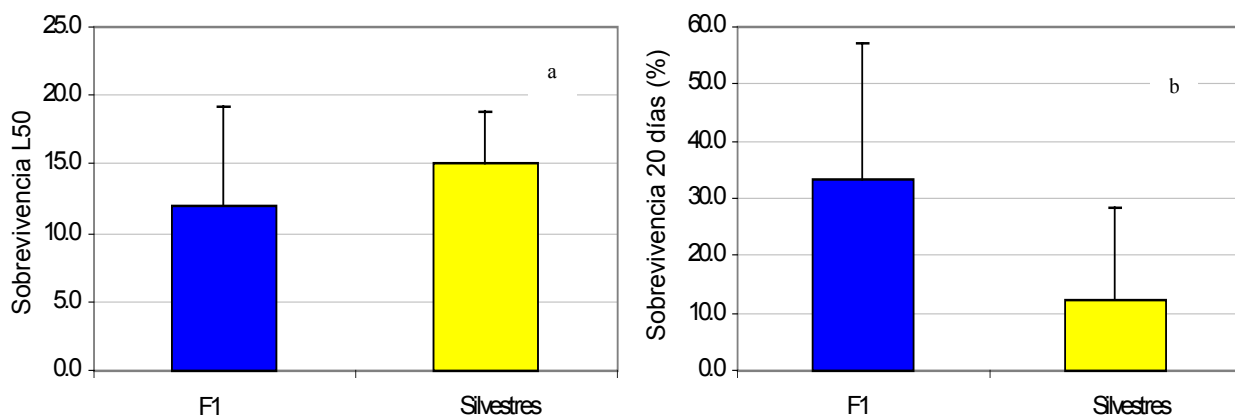


Fig. N°9. Sobrevivencia  $L_{50}$  (a) y a los 20 días (b), en periodo de inanición, en larvas de *G. maculatus* de una población silvestre y F1.

## 2. CORRELACION ENTRE LA FERTILIDAD Y PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS

Estadísticamente ( $p < 0.05$ ) los resultados obtenidos en ambas poblaciones, silvestre y F1, muestran que no existe grado de correlación entre la fertilidad y el diámetro del huevo ( $r: 0.05$  y  $r: -0.05$ , respectivamente), entre la fertilidad y el número de gotas lipídicas ( $r: 0.2$  y  $r: -0.2$ , respectivamente) y entre la fertilidad y el diámetro de las gotas lipídicas ( $r: 0.3$  y  $r: -0.2$ , respectivamente).

Se determinó que la fecundidad total está directamente correlacionada ( $p < 0.05$ ) con el peso y con la longitud total de las hembras (Fig. N° 9a,b y 10a,b), tanto en la población de puye silvestre como de cultivo.

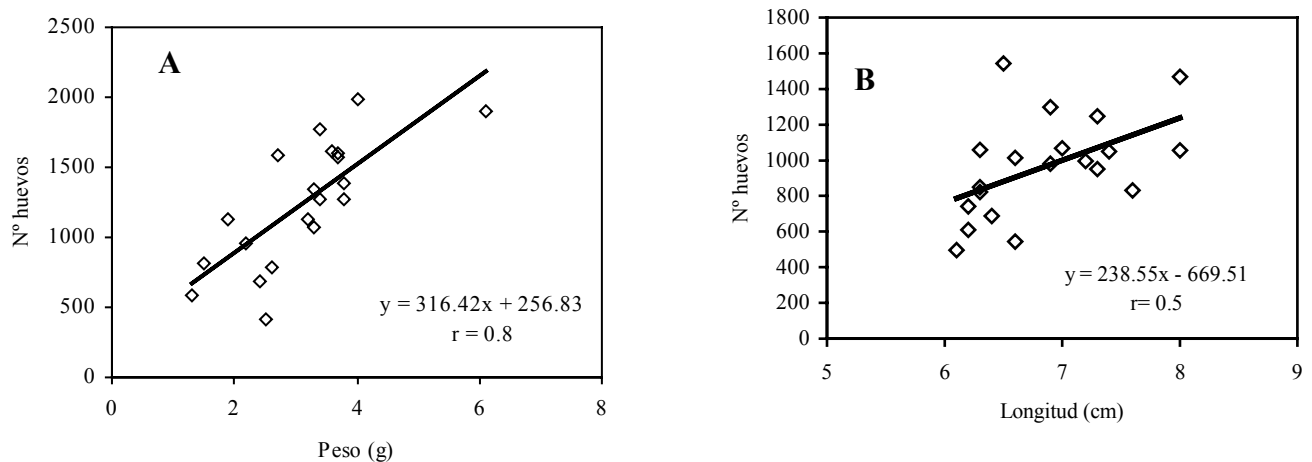


Fig. N°10. Correlación obtenida entre la fecundidad total y el tamaño en peso (A) y longitud total (B) para 20 hembras adultas de *G. maculatus* de una población silvestre.

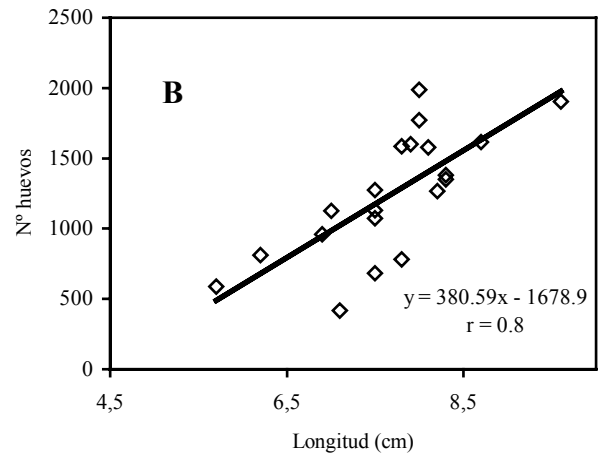
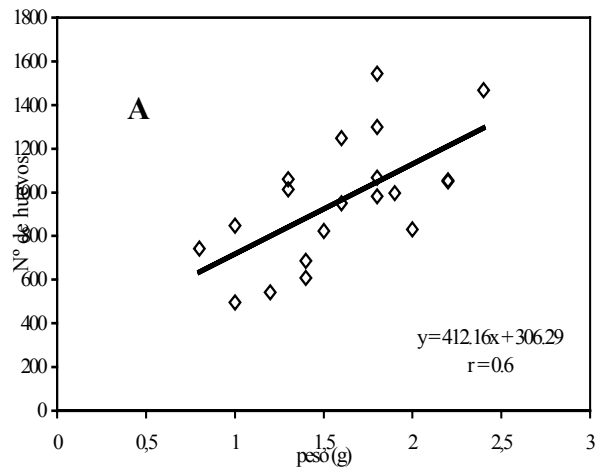


Fig. N°11. Correlación obtenida entre la fecundidad total y el tamaño en peso (A) y longitud total (B) para 20 hembras adultas de *G. Maculatus* de una población F1.

Se determinó que existe correlación positiva ( $p < 0.05$ ) entre el tamaño de los huevos de la población F1 y el número de gotas lipídicas que estos poseen (Fig. N°11).

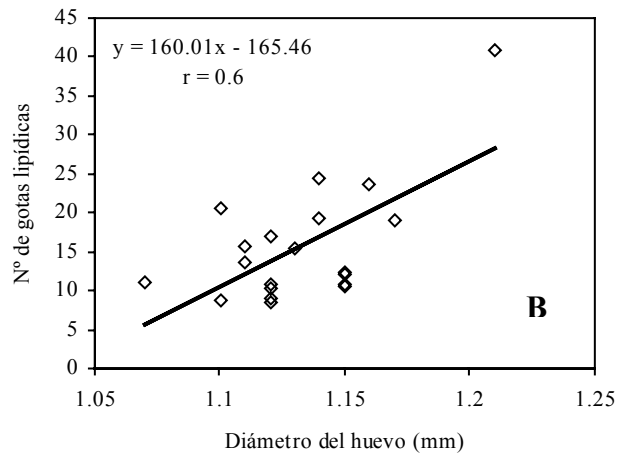
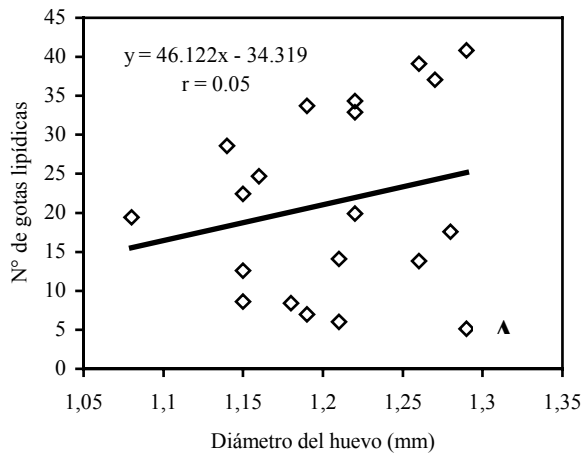


Fig. N°12. Correlación obtenida entre el tamaño y el número de gotas lipídicas del huevo de *G. maculatus* de una población silvestre (A) y de cultivo experimental (F1) (B).

Tabla N° 1. Tabla resumen de los parámetros reproductivos estudiados en hembras de *G. maculatus* silvestres y F1 (promedios más desv. estándar).

<b>Parámetros reproductivos (n=20)</b>	<b>Silvestres</b>	<b>F1</b>
Peso (g)	1.6 ± 0.4 (b)	3.1 ± 1.1 (a)
Longitud (cm)	6.9 ± 0.6 (b)	7.7 ± 0.9
Índice de condición (K)	0.68 ± 0.09 (b)	0.48 ± 0.09
Fecundidad total (Nºhuevos/hembra)	968.0 ± 285.0 (b)	1244.0 ± 444.0
Fecundidad relativa (Nºhuevos/g)	620.0 ± 163.0 (b)	407.0 ± 108.0
<b>Parámetros morfométricos de los gametos</b>	<b>Silvestres</b>	<b>F1</b>
Diámetro huevo (mm)	1.1 ± 0.03 (b)	1.2 ± 0.05
Nº gotas lipídicas *	16.0 ± 8.0	21.0 ± 12.0
Diámetro gotas lípidos (µm)	102.0 ± 9.0	110.0 ± 15.6
Densidad espermática (esperm./ml)	37.4 ± 1.5	44.4 ± 7.2
Nº espermatozoides/ova *	421520.3 ± 132385.0	427727.0 ± 257001.0
<b>Indicadores de calidad del huevo</b>	<b>Silvestres</b>	<b>F1</b>
Fertilización (%)	66.3 ± 16.3	39.3 ± 35.5
Sobrevivencia ova ojo (%)	57.0 ± 29.0	36.0 ± 26.8
Eclosión (%)	49.4 ± 27.7	25.4 ± 20.0
<b>Unidades Térmicas Acumuladas</b>	<b>Silvestres</b>	<b>F1</b>
UTA Ova ojo *	159.0 ± 10.7	143.0 ± 16.0
UTA Inicio eclosión	355.0 ± 23.2	384.0 ± 34.5
UTA L <sub>50</sub> eclosión	425.0 ± 46.0	482.0 ± 75.0
UTA Fin eclosión *	688.0 ± 116.0	665.0 ± 123.0
<b>Parámetros larvales (n=20)</b>	<b>Silvestres</b>	<b>F1</b>
Sobrevivencia 20 días (inanición)	12.3 ± 16.3	33.2 ± 24.0
Sobrevivencia L <sub>50</sub> días (inanición) *	15.0 ± 4.0	12.0 ± 7.0
Longitud de la larva recién eclosionada (mm)	6.1 ± 0.24	6.6 ± 0.28

\* Indica que estadísticamente ( $p < 0.05$ ) no se encontraron diferencias significativas entre ambas poblaciones.

## VII. DISCUSIÓN

En el presente estudio, se encontró que el peso y la longitud total promedio de las hembras de puye (*Galaxias maculatus*) de origen silvestre fue de  $1.6 \pm 0.4\text{g}$  y  $6.9 \pm 0.6\text{cm}$ , estos valores son mayores que los señalados por Vega *et al.* (1993), quien menciona para la misma especie y ambiente, medidas de 0.9g y 5.8cm. Los valores de esta investigación están dentro del rango de tallas registradas por Campos (1970) de 4.8g y 16cm en la zona de Valdivia en puyes de una población lacustre. La media del peso y de la longitud total de las hembras de puyes de cautiverio (F1) fue de  $3.1 \pm 1.1\text{g}$  y  $7.7 \pm 0.9\text{cm}$ , estos valores son mayores que las medias señaladas por Valdebenito *et al.* (1996) de 0.9g y 4.6cm para puyes en condiciones de cautiverio de una población lacustre.

Al comparar la media del peso y de la longitud total de las hembras de *G. maculatus* entre ambas poblaciones estudiadas, considerando que todos los ejemplares tenían aproximadamente la edad de un año y se encontraban en su primera madurez sexual, se determinó que los ejemplares F1 son de mayor talla que los de origen silvestre. También se determinó que el factor de condición de las hembras de población F1 ( $0.68 \pm 0.09$ ) es estadísticamente mayor ( $p < 0.05$ ) que el de las hembras silvestres ( $0.48 \pm 0.09$ ), lo cual indica que las hembras en condiciones de cultivo son más robustas que las hembras silvestres.

Tales diferencias en el tamaño de los ejemplares podrían adjudicarse a la permanente disponibilidad de alimento que tienen los peces en condiciones de cautiverio, a diferencia de los peces que habitan en ambiente natural, donde estos últimos se encuentran constantemente compitiendo por el alimento con peces de la misma y de otras especies, además se sabe que los peces en ambiente natural no destinan la mayor parte de su energía para el crecimiento sino, más bien para sobrevivir y poder reproducirse exitosamente. Un buen ejemplo de esto, son los peces que migran a los ríos a desovar, como es el caso del salmón atlántico (*S. salar*), el cual incluso deja de alimentarse durante este periodo porque su objetivo final es simplemente tener éxito en la reproducción y para ello lo más importante es la estrategia de reproducción (Kjorsvik, 1990), en contraste con

reproductores mantenidos en cautiverio, donde lo más importante es maximizar el crecimiento y por ende la fecundidad ya que en cautiverio los peces son alimentados para que alcancen un gran tamaño en el menor tiempo posible y una vez que son reproductores, lo que interesa es maximizar el número de huevos y su calidad, ya que a partir de la fecundidad se determina la producción y los stocks de reproductores necesarios para el desarrollo de un cultivo (Coates, 1988). Similar objetivo se pretende alcanzar en el cultivo del puye, es decir, que las hembras puedan producir gran cantidad de huevos y por ende juveniles cristalinos, ya que estos últimos son los que tienen un alto valor comercial, para esto es fundamental maximizar el crecimiento de los reproductores.

Para las tallas consideradas en este trabajo, la fecundidad total determinada en hembras de puye silvestre fue de 495 a 1544 huevos con una media de  $968 \pm 285$  huevos/hembra, este valor es mayor que el determinado por Campos (1970), quien señala fecundidades que oscilan entre 500 a 800 huevos/hembra para tallas que varían entre un valor mínimo y máximo de 4.8 y 16cm, respectivamente en puyes de una población lacustre en la zona de Valdivia. La fecundidad total determinada en este estudio se encuentra dentro de los rangos de fecundidad señalados por Ferriz (1987) de 107-1825 huevos/hembra para la misma especie en un embalse de Argentina. La media de la fecundidad total de las hembras F1 fue de  $1244 \pm 444$  huevos/hembra, este valor es mayor que el mencionado por Vega (1996) de 404-872 huevos /hembra para tallas similares a las de este trabajo en ejemplares provenientes del estuario del Río Toltén. Tal como indica Bromage (1995), uno de los factores más importantes que influyen tanto el número como el tamaño de los huevos es el tamaño del reproductor, ya que un incremento de la fecundidad total con el incremento en el peso y longitud corporal de la hembra ha sido documentado en salmónidos como salmón coho (*O. kisutch*) (Estay, 1997) y trucha arcoiris (*O. mykiss*) (Gall, 1974; Estay *et al.* 1994). Si bien la fecundidad es afectada por el tamaño del reproductor, esto último es modificado por la disponibilidad de alimento con la que cuentan los peces y al respecto Barnes *et al.*, (2000) le atribuyen las diferencias en la fecundidad total del salmón chinook (*O. tshawytscha*) del Lago Oahe con los de otros lugares, a las dietas. Por otra parte Houde (1989) señala que las larvas de latitudes bajas probablemente pasan más hambre que las larvas de latitudes altas debido a la influencia que tiene la temperatura sobre

el potencial alimenticio de un medio acuático y Fleming & Gross (1990) mencionan además que en salmón coho (*O. kisutch*) a mayor latitud disminuye el tamaño del huevo y también la biomasa total de huevos producidos, de acuerdo a estos autores tanto el tamaño corporal de los reproductores como la latitud de los sistemas en los cuales habitan estas poblaciones de individuos puede explicar las diferencias encontradas entre la fecundidad de puyes estuariales de este trabajo versus los lacustres que estudió Campos (1970).

La fecundidad total de las hembras silvestres en comparación con la de hembras F1 fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ). Posiblemente las diferencias en los tamaños corporales de las hembras estudiadas también pudieron ser influenciados por las distintas dietas. De acuerdo a Kjorsvik *et al.*, (1994) en bacalao (*G. morhua*) el número de huevos producidos es claramente a favor de los peces bien alimentados en cautiverio, en comparación con la fecundidad de los reproductores silvestres y según los resultados obtenidos en este estudio, tanto el tamaño corporal (peso y longitud total) como la fecundidad total del puye es beneficiada por las condiciones alimenticias ofrecidas en cautiverio, ya que ésta es permanente y “probablemente” adecuada, aunque cabe considerar que el alimento que consumen los puyes en cautiverio es para salmones ya que se está trabajando en la formulación de una dieta que contenga los requerimientos nutricionales del puye. Además, se debe considerar que en cautiverio, los peces se evitan la presión de seleccionar el alimento, como también el lugar para desovar y para la incubación. En cambio, bajo condiciones naturales, producto de la gran competencia por la restricción alimenticia, los peces se estresan, esto afecta indirectamente la fecundidad y produce alteraciones en la actividad endocrina (Van Den Beghe and Gross 1989 en Ashton 1993).

Si bien los grupos de puyes en cautiverio presentan mayor fecundidad, debido quizás a la mayor disponibilidad de alimento con la que cuentan, no presentan mejor porcentaje de fertilización o sobrevivencia en incubación y eclosión que los puyes de una población silvestres, lo cual indica que los puyes silvestres producen menor número de huevos pero estos parecen ser de mejor calidad que los de F1, ya que, si bien la restricción alimenticia que experimentan los peces en ambiente silvestre puede afectar fuertemente el tamaño del reproductor y también la fecundidad, no afecta la viabilidad del huevo, ya que

la calidad de la dieta tiene un efecto claro sobre los resultados de desove. Navas (1997) encontró, que un grupo de lubinas alimentadas con una dieta natural mostró valores de fecundidad y tasas de viabilidad y de eclosión claramente más elevadas que las de los otros grupos alimentados con dietas artificiales, este autor atribuyó las variaciones en la fecundidad a la calidad de las dietas administradas, y señala que a su vez la calidad de las dietas, estuvo determinada, en gran medida, por la composición en ácidos grasos, en concordancia Watanabe *et al.* (1984d) señala que el número de huevos se reduce si la dieta contiene un nivel deficiente de ácidos grasos de la serie n-3.

Como resultado de un aumento en la fecundidad total con el incremento del tamaño del pez, los peces de mayor tamaño tienen menor fecundidad relativa (Piper *et al.*, 1982; Springate, 1990). Esto fue también observado en puyes silvestres y F1, ya que la fecundidad total fue mayor en hembras F1, debido al mayor tamaño de estos ejemplares; sin embargo la fecundidad relativa fue significativamente menor en reproductores F1 ( $407 \pm 108$ huevos/g) que en silvestres ( $620 \pm 163$ huevos/g), pero en ambos grupos, mientras mayor es el tamaño de la hembra, menor es la fecundidad relativa.

También se observó que entre la fecundidad total y el tamaño corporal (peso y longitud total) del puye en ambas poblaciones existe una relación directamente proporcional (Fig. N°9a,b y 10a,b) ( $p < 0.05$ ) al igual que en los trabajos de Campos (1970) en Valdivia; Mc Dowall (1968) en Nueva Zelanda; Ferriz (1987) en Argentina quienes observaron una correlación positiva similar a la señalada en este estudio para la misma especie.

El diámetro del huevo determinado después de la hidratación en puyes de la población silvestre de  $1.1 \pm 0.03$ mm fue significativamente menor ( $p < 0.01$ ) que el diámetro de la ova de puyes de cultivo ( $1.2 \pm 0.05$ mm). El tamaño determinado para las ovas de puye coincide con el determinado por otros autores como Benzie (1968); Mitchell (1989,1991) y Valdebenito *et al.* (1996). Estadísticamente ( $p < 0.05$ ) en este trabajo, no se encontró relación entre el tamaño del huevo y la fecundidad del puye. Como tampoco se observó que dentro de la misma población peces más grandes produzcan huevos de mayor

tamaño, o viceversa, debido a una alta variabilidad en la fecundidad de las hembras, aunque en otras especies como trucha arcoiris (*O. mykiss*) (Schreck *et al.*, 2001); salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Jonson, 1997), “wolffish” (*A. lupus*) (Pavlov *et al.*, 1994); y esturión siberiano (*A. baeri*) (Gisbert *et al.*, 2000) se ha observado una relación entre estos parámetros.

Pavlov *et al.* (1994) determinó que el diámetro del huevo de “wolffish común” de cultivo es menor que el encontrado en una población silvestre, en discordancia con este autor, en este trabajo se determinó lo contrario, el huevo proveniente de reproductores silvestres es de menor tamaño que el de los reproductores mantenidos en cautiverio (F1) y estos últimos presentan menor porcentaje de fertilización, sobrevivencia en incubación y en eclosión, lo cual coincide con Barnes *et al.* (2000a) quienes mencionan que el salmón chinook (*O. tshawytscha*) exhibe una relación inversa entre el tamaño y la sobrevivencia del huevo, señalando que los huevos más grandes experimentan mayor porcentaje de mortalidad. Respecto a este parámetro, existen discrepancias como en trucha arcoiris (*O. mykiss*), donde Gall (1974) observó un incremento en la sobrevivencia embrionaria a medida que aumenta el tamaño del huevo sin embargo, Estay *et al.* (1994) no encontró correlación entre el diámetro y la sobrevivencia del huevo.

Srivastava & Brown. (1991 en Brooks 1997) encontraron que huevos de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) silvestres tienen un 25% más de fertilización y sobrevivencia en incubación que los huevos de cultivo, lo cual asocian con el mayor tamaño y sobrevivencia de los embriones y alevines, comparado con los de cultivo. De manera similar, Ashton *et al.* (1993) señala que los huevos de trucha arcoiris de cultivo tienen baja fertilidad y menor sobrevivencia a incubación que los huevos silvestres lo cual, coincide con Gillet (1991) y con lo observado en este trabajo, además este autor observó que el tamaño del huevo silvestre es menor que el de cultivo, y que esto se puede explicar por las diferencias entre las dietas formuladas y las naturales que son consumidas por los reproductores de “whitefish”, ya que los reproductores en el medio silvestre tienen mayor ventaja nutritiva puesto que disponen de ácidos grasos esenciales, carotenoides y vitaminas entre otros que consumen de manera directa, en cambio en cautiverio se alimentan con dietas formuladas, a las cuales, se les incorpora artificialmente los nutrientes y muchas veces no cumplen con

sus necesidades nutricionales, como ocurre en el puye, el cual está siendo alimentado con una dieta para salmones, debido a que actualmente el perfil de sus requerimientos nutricionales se encuentra en estudio además, el alimento desde su elaboración hasta que es consumido por el pez, pierde gran parte de estos elementos, lo cual se traduce en un aporte mínimo de ellos tanto para los reproductores como para los huevos en consecuencia, esto afecta muchas veces el crecimiento de los reproductores y por tanto la fecundidad y el tamaño de los huevos (Coates, 1988; Carrillo & Zanuy, 1995), como también la viabilidad de la progenie (Bagenal 1969a). De acuerdo a esto, es necesario que los huevos de peces tengan incorporados todos los nutrientes que el embrión requiere para su normal desarrollo hasta el momento de la eclosión y, además, para permitir el crecimiento de la larva mientras esta depende de las reservas del saco vitelino (Izquierdo *et al.*, 2001), de ahí la importancia que en cautiverio los reproductores sean alimentados con una dieta de alta calidad. Por otra parte, si las condiciones en cautiverio no son las adecuadas, se ve afectado el proceso de vitelogénesis y por ende la incorporación de vitelogenina y otros nutrientes al huevo, lo cual provoca un estado de inmadurez o sobremadurez de este afectando fuertemente su viabilidad (Bromage *et al.*, 1994).

Respecto al número de gotas lipídicas que contienen los huevos de puye se determinó que poseen mayor cantidad los huevos de puyes de cautiverio ( $21.0 \pm 12.0$ ) que los silvestres ( $16.0 \pm 8.0$ ), aunque estadísticamente ( $p < 0.05$ ) estas diferencias no son significativas. Estos valores coinciden con Benzie (1968) y Valdebenito *et al.* (1996) quienes mencionan que el huevo posee numerosas gotas de pequeño tamaño y con los mencionados por Mitchell (1989) quien señala haber observado entre 10-30 pequeñas gotas. En cuanto, al diámetro de las gotas de lípidos se determinó que este varía entre 80-140  $\mu\text{m}$  y que las gotas de los huevos de puye de cultivo ( $110.0 \pm 15.6\mu\text{m}$ ) son significativamente ( $p < 0.05$ ) de mayor tamaño que las de puye silvestre ( $102.0 \pm 9.1\mu\text{m}$ ). Al respecto, se puede señalar que a medida que transcurre el desarrollo embrionario la morfología de las gotas de lípidos que contienen los huevos varía, ya que durante este periodo las gotas se fusionan formando a partir de numerosas gotas de pequeño tamaño, una gran gota acompañada de 2-3 gotas más pequeñas, del mismo modo que lo señala Valdebenito *et al.* (1996) para esta misma especie y Makino *et al.* (1999) para lubina

japonesa (*D. labrax*). En algunas especies, como la dorada del Japón (*P. major*) (Fukuara, 1985) y la lubina (*D. labrax*) (Carrillo *et al.* 1995) se utiliza el número de gotas para evaluar la calidad del huevo, ya que huevos que poseen una sola gota lipídica tienen desarrollo normal, en cambio los que contienen más de una gota de lípido tienen un posterior desarrollo anormal. En este estudio no se estableció relación entre el número o el diámetro de las gotas lipídicas con la fertilidad, por ende, en puye este parámetro no presta utilidad como indicador de calidad del huevo. Sin embargo, se observó que en huevos sobremaduros las gotas de lípidos se encuentran formando un gran coagulo de aceite, lo que indica la mala calidad de estos huevos, pero la razón es más bien por causa del estado de madurez que por la cantidad de gotas que estos contienen, lo cual también se refleja en los bajos porcentajes de fertilización obtenidos. (Bromage *et al.*, 1994). No obstante, se encontró que existe relación directa entre el número de gotas lipídicas y el diámetro del huevo sólo en puyes F1.

La densidad espermática media obtenida en puyes de una población silvestre de  $44.4 \pm 7.2$  ( $\times 10^9$ ) espermatozoide/ml es inferior a la señalada por Valdebenito *et al.* (1995) y Fletcher (2000) quienes mencionan densidades espermáticas para la misma especie de  $55.3$  ( $\times 10^9$ ) y  $47.6$  ( $\times 10^9$ ) espermatozoides/ml respectivamente, bajo condiciones experimentales similares. La densidad espermática/ova utilizada en este trabajo de 424.624 es superior a la utilizada por Fletcher (2000) de 238.000 espermatozoides/ova. Una concentración óptima a utilizar en la fertilización de huevos de esta especie no está claramente definida, Mitchell (1989) recomienda una proporción de un macho por cada tres hembras. Difícilmente se puede extrapolar lo anterior a una cantidad de espermatozoides/ova ya que esta especie presenta una alta variabilidad en la fecundidad de las hembras y volumen de semen del macho (Valdebenito *et al.* 1995). Billard (1988) señala que para fertilizar un huevo de salmón se requiere entre 10.000 a 300.000 espermatozoides y Ginzburg (1972) señala que es conveniente utilizar una concentración media-alta de espermatozoides/ova, ya que cuando baja la concentración de espermatozoides en suspensión, el tiempo requerido para la fertilización de todos los huevos es mayor. De acuerdo con estos autores, la densidad de espermatozoides/ova utilizada en este trabajo fue adecuada, sobretodo si se considera que el huevo de puye es

más pequeño que los huevos de salmónes, y que al utilizar una alta concentración de espermatozoides/ml se asegura que todos los huevos tengan la misma probabilidad de ser fertilizados.

Utilizando agua de pozo para el proceso de fecundación se obtuvo un porcentaje de fertilización en huevos de puye de origen silvestre de  $66.3 \pm 16.3\%$  el cual, fue menor que el obtenido por Mitchell (1989); Valdebenito *et al.* (1996) y Fletcher (2000) quienes mencionan valores de 98, 91 y 78%, respectivamente. Estadísticamente ( $p < 0.05$ ), el porcentaje de fertilización ( $66.3 \pm 16.3\%$ ) determinado en huevos de origen silvestre fue mayor que el obtenido en huevos de F1 ( $39.3 \pm 35.5\%$ ). Este último, incluye los porcentajes mínimos de fertilización, “cero”, ya que desde el punto de vista comercial en un centro productivo el descarte de esta información no tiene mayor beneficio, puesto que al piscicultor lo que le interesa es estimar la producción de alevines a partir del número total de huevos incubados, considerando a aquellos huevos que fueron fertilizados y también los que no lo fueron. Entre las variables que pudieron provocar estas diferencias se encuentra el estado de madurez de los huevos, puesto que los máximos valores de desove de *G. maculatus* se alcanzan en el mes de agosto (Peredo & Sobarzo, 1994), y en este trabajo los reproductores de cautiverio fueron desovados a fines de agosto y comienzo de septiembre, momento en el cual, finaliza el periodo de desove, en cambio los reproductores silvestres fueron desovados en octubre (inicios de primavera) mes en el cual se inicia el periodo de desove, probablemente esto afectó el estado de madurez de los huevos, ya que durante la sobremaduración los huevos sufren cambios en su morfología y composición como también una progresiva pérdida en calidad o viabilidad (Springate *et al.*, 1984) en consecuencia, esto afecta el porcentaje de huevos fertilizados e incubados, tal como lo señala Bromage *et al.* (1994) para halibut del Atlántico (*H. hippoglossus*). Otra de las variables que pudo influenciar tanto el porcentaje de fertilización como el de incubación es el tamaño del huevo y su calidad, ya que por ejemplo, Barnes *et al.* (2002a) señala que huevos grandes de salmón chinook (*O. tshawytscha*) exhiben mayor porcentaje de mortalidad que huevos pequeños, lo cual coincide con lo determinado en este trabajo por otra parte, en condiciones naturales Kjesbu *et al.* (1996; en Brooks *et al.* 1997) menciona que la estrategia de desove del bacalao Atlántico indica que el tamaño del huevo tiene prioridad sobre la fecundidad,

dejando en claro la importancia que tiene el tamaño del huevo en el ambiente silvestre, ya que huevos grandes tienen más vitelo lo cual, le permite tener mayor cantidad de energía para nadar en busca de alimento exógeno.

También, se encontraron diferencias entre el porcentaje de sobrevivencia a estado de “ova con ojo” y a eclosión, las cuales fueron significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en huevos de origen silvestre ( $57.0 \pm 29.0\%$  y  $49.4 \pm 27.7\%$ , respectivamente) que en huevos de F1 ( $36.0 \pm 26.8\%$  y  $25.4 \pm 20.0\%$ , respectivamente). Estos valores son menores que los determinados por Vega (2002, Conv. Pers.), quien señala que al utilizar el sistema de aspersión para el proceso de incubación se mejora la sobrevivencia, debido a que existe mayor disponibilidad de oxígeno y este sistema se asemeja a lo que ocurre en la naturaleza, ya que en condiciones naturales esta especie deposita sus huevos adhesivos sobre el pasto a orillas de los estuarios y por efecto de las mareas los huevos son bañados por aspersión (Mitchell, 1989), sin embargo en esta experiencia se utilizó el sistema sumergido con el objeto de mantener la temperatura estable, en cada cápsula de Petri, puesto que, dentro de la sala de incubación se presentaban variaciones bruscas de temperatura.

En cuanto a las unidades térmicas acumuladas (UTA) necesarias para llegar al estado de “ova ojo”, fue de  $159.0 \pm 10.7$  en la población silvestre y de  $143.0 \pm 16.0$  en la población F1, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre estos valores. Estos datos son similares a los obtenidos por Valdebenito (1996) quien menciona que con temperaturas de entre  $9$  y  $11^\circ\text{C}$  los ojos de los embriones se pigmentarían una vez que han acumulado alrededor de  $139.7$  unidades térmicas.

El proceso de eclosión se inició a las  $355.5 \pm 23.2$ UTA en los huevos de origen silvestre y a las  $384.0 \pm 34.5$ UTA en los provenientes de cautiverio, lo que en tiempo corresponde a 31 y 36 días, respectivamente. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre ambas poblaciones estudiadas. Estos valores no coinciden con los determinados por Valdebenito (2002, conv. pers.) quien señala que al incubar a  $8.5^\circ\text{C}$  utilizando un sistema seco o por aspersión, las ovas comienzan a eclosionar una vez que han acumulado  $293.7$  unidades térmicas, tampoco coinciden con los valores señalados por

Campos (1970) quien incubó a 17°C y la eclosión se inició a las 272UTA (16 días). Tales diferencias se pueden atribuir al sistema de incubación empleado en este estudio, el cual no favoreció el desarrollo embrionario y produjo gran variabilidad de la eclosión en los distintos grupos. Del trabajo de Benzie (1968b) se desprende que para las temperaturas utilizadas en este trabajo de 11.5°C (población silvestre) y 10.6°C (población de cultivo) los huevos de ambas poblaciones deberían haber iniciado la eclosión alrededor de los 20 y 18 días, respectivamente, lo cual no coincide con los resultados obtenidos en este trabajo de 31 y 36 días, respectivamente. Esto podría ser causa de que este autor trabajó con una sub especie llamada *G. m. attenuatus* y que habita cuerpos de agua de Nueva Zelanda.

Los alevines recién eclosionados de la población silvestre ( $6.1 \pm 0.24\text{mm}$ ) son más pequeños que los F1 ( $6.6 \pm 0.28\text{mm}$ ) estas tallas son similares a las registradas por Figueroa (1990); Valdebenito *et al.*, (1996) y Bernal (2000) quienes mencionan un rango de 6 a 7mm e inferiores a las señaladas por Mitchell (1989), quien menciona tallas de 7-8mm para la misma especie en Nueva Zelanda. Una razón por la cual, la progenie de las hembras de cautiverio son de mayor tamaño que las silvestres, podría estar dada por el mayor tamaño de los huevos, ya que se ha observado correlaciones positivas entre el tamaño del huevo y el tamaño de las larvas en algunas especies de salmónidos como *O. mykiss* (Gall, 1974 y Spingate *et al.*, 1985) y *S. trutta* (Bagenal, 1969a) aunque en este trabajo no se observó relación entre estos dos parámetros. Si bien en ambiente natural el tamaño del huevo parece tener ventajas sobre el tamaño y viabilidad de la larva en las condiciones de ingesta de alimento, la eficacia de conversión del alimento y la habilidad para competir con otras larvas, la capacidad de evitar depredadores y el crecimiento larval inicial, bajo condiciones de cautiverio no ocurre lo mismo, puesto que las larvas tienen iguales oportunidades de conseguir alimento si las condiciones de cultivo son favorables.

La sobrevivencia larval fue significativamente mayor ( $p < 0.050$ ) en larvas de cultivo ( $33.2 \pm 24.0\%$ ) que silvestres ( $12.3 \pm 16.3\%$ ) estas diferencias pueden estar dadas por el mayor tamaño que presentaron las larvas provenientes de cautiverio, respecto de las silvestres. Dado que, las larvas de mayor tamaño provienen de huevos grandes que poseen mayor cantidad de vitelo, tardan más tiempo en consumir sus reservas, lo cual favorece la

sobrevivencia en periodo de inanición, a diferencia de las larvas provenientes de huevos pequeños las cuales, contienen menor cantidad de vitelo. No obstante, no se encontró relación entre la sobrevivencia y el tamaño del huevo y la longitud larval del puye, probablemente por lo pequeño que fue el tamaño de la muestra. De igual forma Gisbert *et al.* (2000) señala que huevos grandes producen larvas más grandes en esturión siberiano. Respecto a las ventajas del tamaño larval, Bagenal (1969a) encontró que bajo condiciones naturales en el Lago District la sobrevivencia de la trucha es significativamente mayor en los alevines de huevos grandes que de huevos pequeños, lo que atribuye a que quizás en el medio natural necesitan mayor cantidad de reservas de vitelo para poder sobrevivir a la natación en busca del alimento y a las adversidades generales, por lo tanto se debería a una estrategia de vida. Contrariamente Gisbert *et al.*, (2000) no encontró que bajo condiciones de cautiverio el tamaño del huevo fuese una ventaja para la sobrevivencia de los alevines grandes, sino que tanto peces chicos como grandes crecen a la misma tasa.

Basándose en la mayor sobrevivencia obtenida en las larvas provenientes de cautiverio, se podría suponer que éstas son de mejor calidad que las silvestres, sin embargo, los resultados obtenidos durante el proceso de incubación tales como el porcentaje de fertilización, la sobrevivencia a “ova con ojo” y a eclosión indican lo contrario, es decir, que las larvas de huevos pequeños de origen silvestre serían de mejor calidad que las larvas de mayor tamaño provenientes de huevos grandes de cautiverio, a pesar de que estas últimas contienen mayor cantidad de vitelo, lo cual beneficia su sobrevivencia en periodo de inanición, respecto de las larvas silvestres. Según los resultados obtenidos en este estudio, se puede señalar que bajo las condiciones ofrecidas en cautiverio, si bien se esta mejorando el tamaño de los reproductores y el número de huevos que estos producen, no ocurre lo mismo con la calidad de los huevos, la cual se determinó que es mejor en huevos producidos por hembras silvestres, y quienes estarían causando estas diferencias son principalmente las dietas administradas a los reproductores, las cuales deben contener cantidades balanceadas de ácidos grasos, vitaminas, etc., y el manejo como la determinación del periodo óptimo para el desove de los huevos, ya que puede causar variación en la calidad del huevo en varios aspectos, tales como la sobremaduración o

disturbancias en el proceso de ovulación, lo cual puede afectar significativamente la calidad del huevo y la subsecuente viabilidad larval.

Puesto que el éxito de un centro de cultivo depende en gran parte de la producción de huevos, es necesario que estos sean de la mejor calidad, y para ello es importante tener un grupo de reproductores con buenas características de calidad, por esto es necesario continuar realizando evaluaciones que permitan dilucidar algunas de las observaciones que han quedado poco claras y algunas que no se tocaron en este trabajo. Desarrollar experiencias en la fase larval para visualizar el efecto del tamaño del huevo al final de la etapa larval, o sea, en la transición del alimento endógeno a exógeno una vez que ha consumido todas sus reservas de vitelo, las cuales dependerán del tamaño y de la calidad del huevo, todos estos antecedentes serían un buen aporte para el estudio de la calidad de los huevos de puye, ya que en algunas especies las diferencias iniciales de tamaño en las larvas, podrían suponer una influencia en las tasas de sobrevivencia en condiciones naturales, pero bajo las condiciones de cultivo artificial no dan lugar a ninguna ventaja o desventaja. Otro factor de suma importancia que se debe evaluar en el futuro es la dieta y su composición en ácidos grasos, proteínas, vitaminas, etc, que se entrega a los reproductores ya que, los requerimientos de estos componentes varían entre una especie y otra, motivo por el cual se recomienda continuar con este tipo de investigaciones ya que este factor tienen gran influencia en la viabilidad del huevo.

## VIII. CONCLUSIONES

1. Reproductores de *G. maculatus* provenientes de una población de cultivo experimental (F1) son, estadísticamente ( $p < 0.05$ ) de mayor tamaño en peso ( $3.1 \pm 1.1\text{g}$ ) y longitud ( $7.7 \pm 0.9\text{cm}$ ) que los reproductores provenientes de una población silvestre.
2. Reproductores de *G. maculatus* provenientes de una población de cultivo experimental (F1) poseen, estadísticamente ( $p < 0.05$ ), mayor fecundidad total ( $1244.0 \pm 444.0$  huevos/hembra) que hembras de origen silvestre. No obstante, la fecundidad relativa ( $407.0 \pm 108.0$  huevos/g) es menor que la de reproductores provenientes de una población silvestre.
3. El porcentaje de fertilización ( $66.0 \pm 16.3\%$ ), la sobrevivencia en incubación ( $56.5 \pm 29.0\%$ ) y a eclosión ( $49.4 \pm 27.7\%$ ) obtenida en huevos de origen silvestre, son significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) que las registradas en ovas de población F1.
4. El tamaño de las larvas es significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en aquellas provenientes de hembras F1 ( $6.59 \pm 0.28\text{cm}$ ) que de hembras silvestres.
5. 20 días después de la eclosión y en período de inanición, las larvas (F2) provenientes de cultivo presentan estadísticamente ( $p < 0.05$ ), mayor sobrevivencia ( $33.2 \pm 24.0\%$ ) que las larvas silvestres.
6. Existe una correlación directamente proporcional ( $p < 0.05$ ) entre la fecundidad total y el tamaño en peso y longitud de *G. maculatus* tanto en población silvestre ( $r: 0.6$  y  $r: 0.5$ ) como F1 ( $r: 0.8$  y  $r: 0.8$ ).
7. En los parámetros estudiados, no se determinó una relación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) con la fertilidad de las ovas producidas en hembras silvestres y F1

## IX. BIBLIOGRAFIA

- Aas, G.; Refstie, T. & Gjerde, B. 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture* 95: 125-132.
- Al-Hafedh, Y.; Siddiqui, A. & Al-Saiady, M. 1999. Effects of dietary protein levels on gonad maturation, size and age at first maturity, fecundity and growth of Nile tilapia. *Journal of the European Aquaculture Society* 7(5): 319-332.
- Ashton, H.; Farkvam, D. & March, B. 1993. Fatty acid composition of lipids in the eggs and alevins from wild and cultured Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50:648-655
- Aqunoticias internacional. 1998. 8(34). Chile.
- Aqunoticias internacional. 2000. 12(54). Chile.
- Bagenal. T. 1969a. Relationship between egg size and fry survival in brown trout *Salmo trutta* L. *Fish Biology* 1: 349-353.
- Bagenal. T. 1969b. The relationship between food supply and fecundity in brown trout *Salmo trutta* L. *Fish Biology* 1: 167-182.
- Baynes, S. M. & Howell, B. R. 1996. The influence of egg size and incubation temperature on the condition of *Solea solea* (L.) larvae at hatching and first feeding. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 199: 59-77.
- Barnes, M.; Hanten, R.; Cordes, R.; Sayler, W & Carreiro, J. 2000a. Reproductive performance of Inland fall chinook salmon. *North American Journal of Aquaculture* (62)3: 203-211.

- Barnes, M. Hanten, R.; Sayler, W. & Cordes, R. 2000b. Viability of Inland fall chinook salmon spawn containing overripe eggs and the reliability of egg viability estimates. *North American Journal of Aquaculture* 62: 237-239.
- Beacham, T.; Withler, F. & Morley, R. 1985. Effect of egg size on incubation time and alevin and fry size in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal Zoology* 63(4): 847-850.
- Benzie, V. 1968. Stages in the normal development of *Galaxias maculatus attenuatus* Jenyns. *New Zealand Journal Marine and Freshwater Research* 2(6):6-27.
- Bernales, M. 2002. Salinidad y relación n-3/n-6(PUFA) en la larvicultura del puye (*Galaxias maculatus*) efecto sobre el crecimiento, la sobrevivencia y resistencia al estrés. Tesis de grado para optar al grado de Licenciado en Ciencias de la Acuicultura. Universidad Católica de Temuco. Chile. 59 pp
- Billard, R. 1988. Artificial insemination and gamete management in fish. *Marine Behavior Physiology* 14: 3-21.
- Blom, J. y Dabrowski, K. 1995. Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biology Reproductive*. 52: 1073-1080.
- Bromage, N. & Cumaranatunga, R. 1988. Egg production in the rainbow trout. In *Recent Advances in Aquaculture*. Eds. J. F. Muir & R. J. Roberts. London and Sydney / Portland, Oregon. 3: 63-138.
- Bromage, N.; Jones, J.; Randall, C.; Trush, M.; Davies, B.; Springate, J.; Duston, J. & Barker, G. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 100:141-166.

- Bromage, N. ; Bruce. M.; Basavaraja. N. & Rana. K. 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. Journal of the World Aquaculture Society 25(1): 13-21.
- Bromage, N. 1995. Broodstock management and seed quality-general considerations. Broodstock management and egg and larval quality. Eds. Bromage, N. & Roberts, R. J. Editorial Blackwell Science. 424 pp.
- Brooks, S.; Tyler, CH.R. & Sumpter, J. P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. Reviews in Fish Biology and Fisheries 7 (4): 387 –416.
- Buckley, L.; Bradley, T. & Allen-Guilmette, J. 2000. Production, quality, and low temperature incubation of eggs of Atlantic cod *Gadus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus* in captivity. Journal of the World Aquaculture Society 31(1): 22-29.
- Campbell, P.; Pottinger, T. & Sumpter, J. 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. Aquaculture 120(1-2): 151-169.
- Campos, H. 1970. *G. maculatus* (Jenyns, 1842) en Chile, con especial referencia a su reproducción. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural. Santiago-Chile 31: 5-20.
- Campos, H. 1979. Avances en el estudio sistemático de la familia Galaxiidae (Osteichthys: Salmoniformes). Archivos de Biología y Medicina Experimental 12: 107-118.
- Carrillo, M.; Zanuy, S.; Prat, E.; Cerdá, J.; Mananos, E.; Bromage, N.; Ramos, J. & Kah, O. 1995. Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) En: Broodstock management and Egg

and Larval Quality. Eds. Bromage, N. & Roberts, R. J. Editorial Blackwell Science. 424 pp.

- Carrillo, M. & Zanuy, S. 1995. Manipulación de la reproducción de los teleósteos y calidad de las puestas. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, C.S.I.C., Universidad de Barcelona. España. 450pp.
- Cerdá, J. 1993. Nutrición de reproductores de lubina (*Dicentrarchus labrax L.*): efecto del nivel de ingesta y de la administración de diferentes dietas sobre el metabolismo intermediario del reproductor y la calidad de la progenie. Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad de Barcelona. 226pp.
- Cerdá, J; Carrillo, M; Zanuy, S; Ramos, J & De la Higuera, M. 1994. Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax L.*, reproductive performance and egg and larval quality. *Aquaculture* 128(314):345-361.
- Ciereszco, A. & Dabrowski, K. 1995. Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C, an across season study. *Biology Reproduction*. 52: 982-988.
- Coates, D. 1988. Length-dependent changes in egg size and fecundity in females, and brooded embryo size in males, of fork-tailed catfishes (Pisces: Ariidae) from the Sepik River, Papua New Guinea. *Journal Fish Biology* 33: 455-464.
- Dantagnan, P; Bórquez, A; Bariles, J; Valdebenito, N y Vega, R. 1995. Effects of different diets on the survival and growth of puye (*Galaxias maculatus*). LARVI'95-FISH & SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM. Eds. Lavens, P. Jaspers, E. and Roelants. I. European Aquaculture Society, Special Publication N° 24, Gent, Belgium.

- Dantagnan, P. Bórquez, A. Quevedo, J. & Valdebenito, I. 2002. Cultivo larvario del puye (*Galaxias maculatus*), en un sistema cerrado de recirculación. Información tecnológica. 13: 2.
- Dabrowski, K & Blom, JH. 1994. Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos. Comparative Biochemistry and Physiology, A. (1)108: 129-135.
- Eskelinen, P. 1989. Effects of different diets on egg production and egg quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture. 79(1-4): 275-281.
- Estay, F.; Cerisola, H. & Téllez, V. 1994. Biología del desarrollo y reproducción artificial en la trucha arcoiris. Conicyt-Fondef. Santiago. 28pp.
- Estévez, G.A. 1992. Reproducción en peces cultivados. Consellería de pesca, marisqueo & acuicultura. Dirección Xeral de Formación Pesquera e Investigación. 7(5).
- Fernández-Palacios, H.; Izquierdo, M.; Robaina, L.; Valencia, A.; Salí, M. y Vergara, J. 1995. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture. 132: 325-337
- Fernández-Palacios, H.; Izquierdo, M.; Robaina, L.; Valencia, A.; Salí, M. y Montero, D. 1997. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for Gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture. 148:233-246.
- Ferriz, A. 1984. Alimentación del puyen, *Galaxias maculatus* (Jenyns), en el Río Limay, provincia de Neuquen. Phycis (Buenos Aires), secc. B, 42 (102): 29-32.
- Ferriz, R. A. 1987. Biología del puyen *Galaxias maculatus* (Jenyns) (Teleostomi: galaxiidae) en un embalse norpatagónico, ciclo de vida, ciclo gonadal y fecundidad. Hidrobiología. Tomo VI. (5): 27-38.

- Figueroa, D. 1990. Antecedentes preliminares en la reproducción de *Galaxias maculatus*. Seminario de Investigación Biológica de la Pontificia Universidad Católica de Chile. 18pp.
- Fleming, IA. & Gross, MR. 1990. Latitudinal clines: A trade-off between egg number and size in Pacific salmon. *Ecology* 71(1): 1-11.
- Fletcher, CH. 2000. Estudio de los patrones de motilidad y fertilidad del espermatozoide de puye (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842) bajo condiciones de cultivo experimental. Tesis de grado para optar al grado de Licenciado en Ciencias de la Acuicultura. Universidad Católica de Temuco. Chile. 52 pp.
- Gall, G. 1974. Influence of size of eggs and age of female on hatchability and growth in rainbow trout. (*California Fish and Game*) 60 (1): 26-36.
- Ginzburg, A.S. 1972 Fertilization in fishes and the problem of polyespermy. *Academy of Sciences of the URSS*. Moscú. 366 pp.
- Gisbert, E., Williot, P. & Castelló-Orvay, F. 2000. Influence of egg size on growth and survival of early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions. *Aquaculture* 183: 83-94.
- Gillet, C. 1991. Egg production in whitefish (*Coregonus shinzi palea*) broodstock: Effects of photoperiod on the timing of spawning and the quality of eggs. *Aquatic living resources/Ressources vivantes aquatiques*. Nantes. 4 (1): 33-39.
- Houde, ED. 1989. Comparative growth and energetics of marine fish larvae. The early life history of fish. The third ices symposium, Bergen. 191: 479.

- Infante, M. 1989. Hábitos alimentarios de *Galaxias maculatus* (Jenyns) presente en el Río Cautín (IX Región, Chile). I Congreso Estudiantes de Ciencias Biológicas de Chile. Libro Resúmenes. U. De Talca. 26 pp.
- Izquierdo, M.; Fernández-Palacios, H. & Tacon, A. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197: 25-42.
- Jonsson, B. 1997. A review of ecological and behavioural between cultured and wild Atlantic salmon. *ICES Journal of Marine Science*. 54 (6): 1031-1039.
- Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A. & Holmefjord, I. 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology* 26: 71-113.
- Kjorsvik, E. 1994. Egg quality in wild and broodstock cod *Gadus morhua* L. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(1): 22-29.
- Kjorsvik, E. & Holmefjord, I. 1995. Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) and cod (*Gadus morhua*) En: Broodstock management and egg and larval quality. Eds. Bromage, N. & Roberts, R. J. Editorial Blackwell Science. 424 pp.
- Kjorsvik, E.; Hoehne, K.; Reitan, K.I. & Rainuzzo, J. 1998. International **Counc. Fro** the Exploration of the sea. Theme Sess. on Farming. Marine Fish beyond the year 2000. Copenhagen (Denmark). 12 pp.
- Linhart, O., Kudo, S., Billard, R., Slechta, V. & Mikodina, E. 1995. Morphology, composition and fertilization of carp eggs: a review. *Aquaculture* 129:75-93.
- Lozano, M. L. 1998. Acuicultura en Chile. Más allá del Salmón. *Aquanoticias Internacional*, 45: 69-70.

- Makino, N., Uchiyama, M., Iwanami, S., Tohyama, T. & Tanoka, M. 1999. Development changes in multiple oil globules of Japanese Sea Bass eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi* 65 (2): 168-277.
- Markus, R. 1997. Elementos de Estadística Aplicada. Parte I. Facultad de Agronomía de la Universidad Federal Do Río Grande Do Sul. 123 pp.
- Mitchell, Ch. 1989. Laboratory culture of *Galaxias maculatus* and potential applications. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 23: 325-336.
- Mitchell, Ch. 1991. Deposition of *Galaxias fasciatus* eggs with *Galaxias maculatus* eggs at a tidal site. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* (25): 201-205.
- Muñoz, A. 2001. Bioensayos preliminares para la criopreservación de semen de puye (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842) (PISCES: Salmoniformes). Tesis de grado para optar al grado de Licenciado en Ciencias de la Acuicultura. Universidad Católica de Temuco. Chile. 93 pp.
- Navas, J. 1997. Efecto del contenido lipídico de las dietas administradas a reproductores de lubina (*Dicentrarchus labrax* L.) sobre el proceso reproductor y sobre la calidad y composición de los huevos. Memoria presentada en el departamento de Biología Animal, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Valencia, para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas. 310pp
- Oppenheim, I. A. 1973. Manual para técnicos de laboratorio. Ed. Médica Panamericana, S. A. 107-111.
- Ortubay, S. & Wegrzyn, D. 1991. Fecundación Artificial y Desarrollo Embrionario de *Galaxias platei*. Steindachner (Salmoniformes: Galaxiidae). *Medio Ambiente* 11(2): 84-89.

- Pavlov, D. & Moksness, E. 1994. Production and quality of eggs obtained from wolfish (*Anarhichas lupus* L.) reared in captivity. *Aquaculture* 122: 295-312.
- Peredo, S & Sobarzo, C. 1993. Microestructura del ovario y ovogénesis en *G. maculatus* (Jenyns, 1842) (Teleostei: Galaxiidae). *Biología Pesquera* 22: 23-32.
- Peredo, S & Sobarzo, C. 1994. Actividad gonádica estacional de *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) en el río Cautín. IX Región, Chile. *Boletín Soc. Biol. Concepción, Chile* 65:65-70.
- Piper, R. G.; McElwain, I. B.; Orme, L. E.; McCaren, J. O.; Fowler, L. G. & Leonard, J. L. 1982. *Fish Hatchery Management*. U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, D.C. 517 pp.
- Poxton, M. G. 1991. Incubation of salmon eggs and rearing of alevins: natural temperature fluctuations and their influence on hatchery requirements. *Aquacultural Engineering* 10: 31-53
- Pryor, M. & Brown, J.A. 1999. Effect of temperature on incubation time and development of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and larvae. *Bulletin Aquaculture Assoc. of Canadá* (98)2: 38-40.
- Richter, C.; Eding, E.; Verreth, J. & Fleuren, W. 1995. African catfish (*Clarias gariepinus*). En: *Broodstock management and egg and larval quality*. Eds. Bromage, N. & Roberts, R. J. Editorial Blackwell Science. 424 pp.
- Sandnes, K.; Ulgenes, Y.; Braekkan, O. & Utne, F. 1984. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 43:167-177.

- Schreck, C.; Contreras-Sanchez, W. & Fitzpatrick, M. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture* 197: 3-24.
- SERNAPESCA, 1999. Anuario estadístico de Pesca. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción. Chile. 307-310.
- Shields, R.; Brown, N. & Bromage, N. 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture* 155: 1-12.
- Springate, J. & Bromage, N. 1984. Broodstock management husbandry and the ripening of eggs. *Fish Farmer* 7(3): 22-23.
- Springate, J. 1990. Egg quality and fecundity in rainbow trout factors and mechanisms of control. *Dissertation Abstracts International Part B: Science and Engineering* 51(4): 265.
- Valdebenito, I.; Bariles, J.; Vega, R.; Dantagnan, P.; Bórquez, A. & Carreño, E. 1995. Análisis cualitativo y cuantitativo del semen de puye. *G. maculatus*. (Jenyns, 1842) (SALMONIFORMES: GALAXIIDAE). *Biología Pesquera* 24: 17-21.
- Valdebenito, I.; Bariles, J.; Bórquez, A.; Dantagnan, P.; Carreño, E. & Uribe, C. 1996. Parámetros reproductivos de una población de puye (*Galaxias maculatus*) en condiciones de cultivo. IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. Universidad Católica del Norte. 365-369.
- Vallin, L. & Nissling, A. 1998. Cell morphology as an indicator of viability of cod eggs-results from an experimental study. *Fisheries Research* 38: 247-255.
- Vega, R.; Pizarro, A.; Figueroa, D.; Bariles, J.; Mardones, A.; Peredo, S.; Lara, G.; Valdebenito I. & Figueroa, F. 1993. Tolerancia a la salinidad de una población lacustre

de *Galaxias maculatus*. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Católica del Norte. Coquimbo, Chile. Serie ocasional 2:231-238.

- Vega, R.; Bariles, J.; Mardones, A.; Peredo, S.; Lara, G.; Dantagnan, P.; Figueroa, F. & Valdebenito, I. 1994. Antecedentes biológicos básicos del puye *Galaxias maculatus* para su cultivo en hatchery. Universidad Católica de Temuco. Chile. Publicación ocasional financiada por proyecto DIUC 89050 y FONDECYT 1930134.
- Watanabe, T.; Arakawa, T.; Kitajima, C. y Fujita, S. 1984a. Effect nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 50 (3): 495-501.
- Watanabe, T; Takeuchi, T; saito, M y Nishimura, K. 1984d. Effect of low protein-high calorie or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbouw trout. *Bull. JPN. Soc. Fish.* 50:1207-1215.
- Watanabe, T.; Lee, M.; Mizutani, J.; Yamada, T.; Satoh, S.; Takeuchi, T.; yoshida, N.; Kitada, T.; y Arakawa, T. 1991a. Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red sea bream *Pagrus major* eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57 (4):681-694.
- Watanabe. T. & Kiron. V. 1995. Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the Red Sea Bream (*Pagrus major*). En: Broodstock management and Egg and Larval Quality. Eds. Bromage, N. & Roberts, R. J. Editorial Blackwell Science. 424 pp.

**ANEXO N°1.** Escala de madurez mediante observación macroscópica de *Galaxias maculatus*, desarrollada por la Universidad Católica de Temuco utilizada en el centro de la Barra de Toltén.

ESTADO	CARACTERÍSTICAS EXTERNAS
<b>M-0</b>	Estado utilizado indistintamente para macho como para hembras, ya que corresponden a aquellos organismos que no presentan grado alguno de maduración. Los peces se caracterizan por presentar un abdomen completamente plateado. Difícilmente se puede diferenciar entre machos y hembras.
<b>M-1</b>	Estado que corresponde a la madurez inicial, caracterizada en el caso de las hembras por presentar huevos muy pequeños de color gris-amarillento, los cuales es posible identificar cerca del poro urogenital; generalmente la región anterior del abdomen permanece levemente plateada. En los machos es posible identificar un testículo con semen de color blanquecino, el cual no sale por presión abdominal.
<b>M-2</b>	Estado caracterizado en las hembras por la presencia de huevos más grandes orientados hacia la región posterior en forma de hileras de huevos; su coloración es blanca-grisáceo, presentándose un abdomen semiduro, por lo que sólo se obtienen ovas mediante un masaje abdominal con mucha presión. Los machos muestran un abultamiento importante en la base del lóbulo de la gónada, los testículos están próximos al gonoporo y solo se extrae de ellos mediante masaje abdominal un semen extremadamente espeso.
<b>M-3</b>	La hembra se caracteriza por presentar el abdomen distendido y el poro urogenital muy dilatado; los huevos se encuentran cubriendo el abdomen, caracterizándose por ser muy transparentes. Basta una pequeña presión abdominal para obtener ovas. Los machos presentan un testículo levemente abultado, extrayéndose semen fácilmente mediante una leve presión caracterizándose por ser muy líquido, diluyéndose rápidamente en el agua.

Fuente: Cristian Fletcher, 2000.



Fig. N°12. Huevo de *G. maculatus* recién desovado sin fertilizar. (Aprox. 1mm de diámetro).

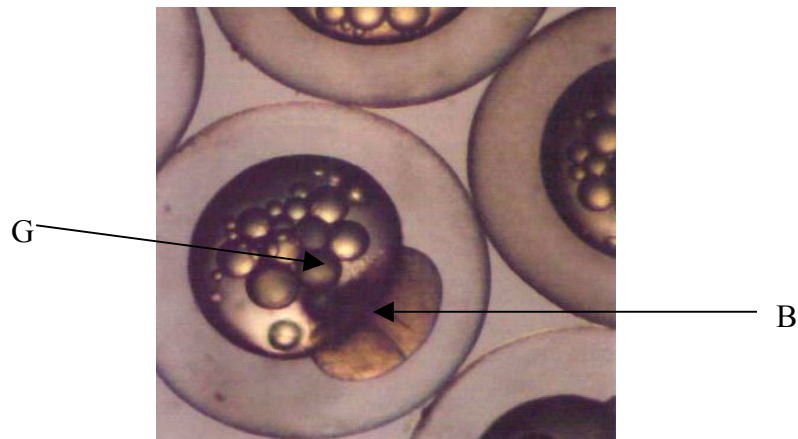


Fig. N° 13. Huevo de *G. maculatus* 5 horas después de ser fertilizado con dos blastómeros (B) uniformes. G: gotas de lípidos.

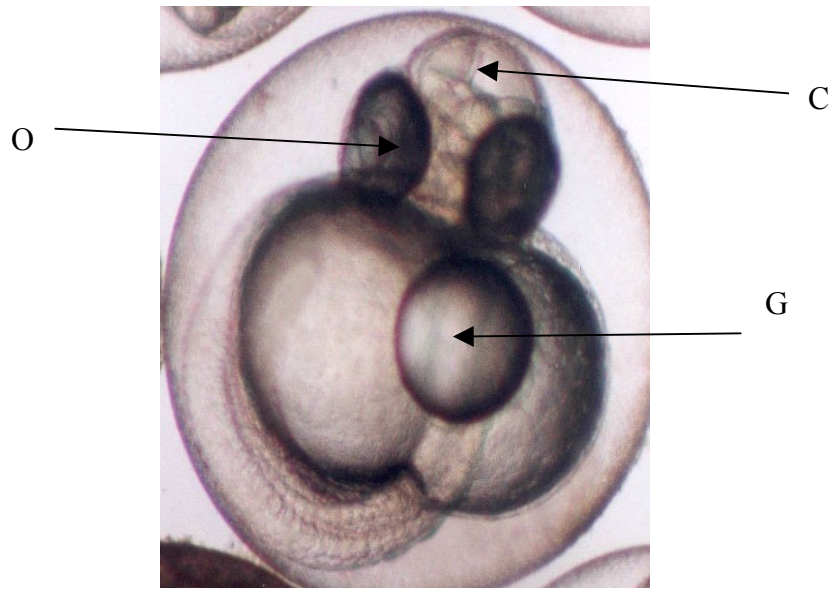


Fig. N°14. Huevo de *G. maculatus* con ojos pigmentados. O: ojos, C: cabeza, G: gota de lípido

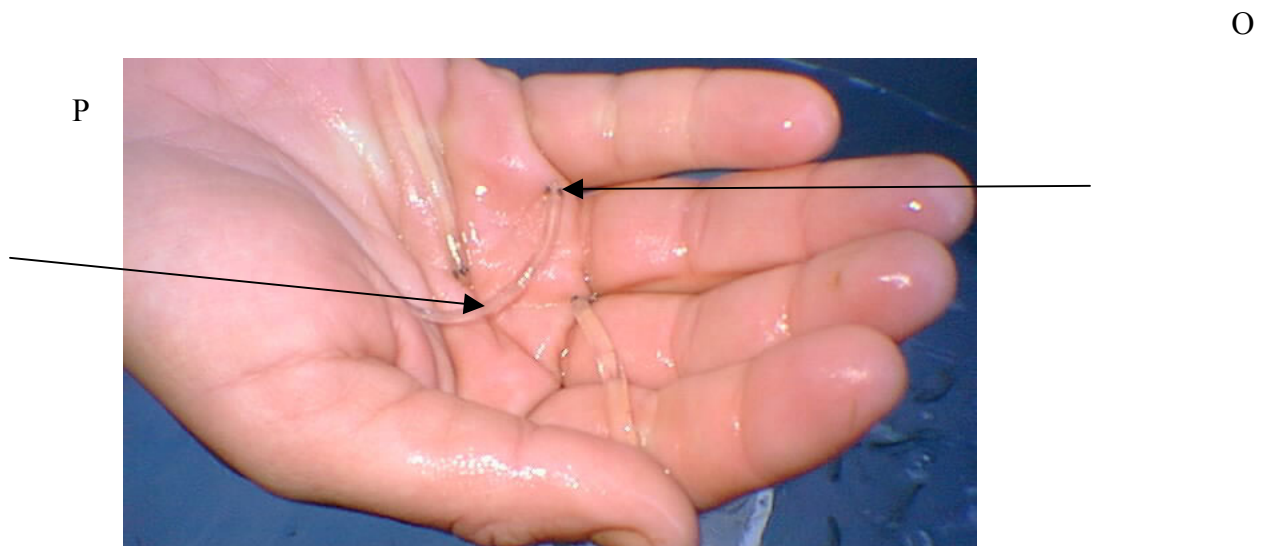


Fig. N°15. Postlarvas cristalinas (P) de *G. maculatus*, las que son comercializadas como un sustituto de la angula europea. O: ojos