

Research Article

Efecto de la temperatura en la sobrevivencia embrionaria del puye *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842)

Juan Bariles¹, Eriko Carreño¹, Manuel Escudero¹ & Ariel Bello¹

¹Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco
Av. Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Chile

RESUMEN. Se evaluó el efecto de seis temperaturas constantes en la sobrevivencia embrionaria, periodo embrionario y periodo de eclosión de *Galaxias maculatus* de 7 a 22°C, en condiciones de laboratorio. Los resultados de la sobrevivencia embrionaria fueron: 90,6 ± 2,0; 88,7 ± 8,6; 87,7 ± 0,7; 89,7 ± 4,2; 70,0 ± 5,6 y 49,5 ± 7,4% a temperaturas de 7, 10, 13, 16, 19 y 22°C. Exceptuando la temperatura de 22°C, no hay diferencias significativas entre ellas ($P > 0,05$). Estos resultados caracterizan al embrión como euritérmico independientemente de ser una especie de aguas subantárticas. En relación al periodo embrionario ($t_{H50\%}$), los resultados fueron de 40,8 ± 0,6; 27,0 ± 0,0; 17,3 ± 0,6; 16,3 ± 0,6 y 13,3 ± 0,6 días a temperaturas de 7, 10, 13, 16 y 19°C respectivamente, con diferencias significativas entre ellas ($P < 0,05$), y en el caso del periodo de eclosión ($t_{H50\%}$), fue de 8,3 ± 0,6; 6,3 ± 1,5; 5,0 ± 0,0; 6,3 ± 0,6; 5,0 ± 1,0 y 4,3 ± 0,6 días a temperaturas de 7, 10, 13, 16, 19 y 22°C respectivamente, con diferencias significativas entre ellas ($P < 0,05$). Los resultados sugieren que el rango de temperaturas entre 10 y 16°C es óptimo para la incubación de ovas de *G. maculatus*, ya que se obtienen combinadamente altos porcentajes de sobrevivencia embrionaria >87,7%, periodos embrionarios <27 días y periodos de eclosión <6,3 días. Estos resultados permitirán optimizar la sobrevivencia embrionaria y el eventual cultivo de la especie para fines comerciales o de repoblamiento.

Palabras claves: *Galaxias maculatus*, puye, eclosión, incubación, tolerancia térmica, sobrevivencia embrionaria.

Effect of temperature on survival of embryos of puye *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842)

ABSTRACT. We evaluated the effect of six constant temperatures on embryonic survival, embryonic period and hatching period of *Galaxias maculatus* from 7 to 22°C under laboratory conditions. The results of embryo survival were: 90.6 ± 2.0, 88.7 ± 8.6, 87.7 ± 0.7, 89.7 ± 4.2, 70.0 ± 5.6 and 49.5 ± 7.4% at temperatures of 7, 10, 13, 16, 19 and 22°C. Except for the temperature of 22°C, there were no significant differences between them ($P < 0.05$). These results characterize the embryo as eurythermic regardless of being a subantarctic waters species. Regarding the embryonic period ($t_{H50\%}$), the results were 40.8 ± 0.6, 27.0 ± 0.0, 17.3 ± 0.6, 16.3 ± 0.6 and 13.3 ± 0.6 days at temperatures of 7, 10, 13, 16 and 19°C respectively, with significant differences between them ($P < 0.05$) and in the case of the hatching period ($t_{H50\%}$), was 8.3 ± 0.6, 6.3 ± 1.5, 5.0 ± 0.0 and 6.3 ± 0.6, 5.0 ± 1.0 and 4.3 ± 0.6 days at temperatures of 7, 10, 13, 16, 19 and 22°C respectively with significant differences between them ($P < 0.05$). These results suggest that the range of temperatures between 10 and 16°C is optimal for the incubation of *G. maculatus* eggs, since in that range high embryonic survival (>87.7%) combined with embryonic periods of less than 27 days and hatching periods less than 6.3 days were obtained. These results will optimize embryo survival and eventually rearing of the species for commercial purposes or restocking.

Keywords: *Galaxias maculatus*, puye, hatching, incubation, thermal tolerance, embryonic survival.

INTRODUCCIÓN

Galaxias maculatus (Jenyns, 1842) conocido en Chile como “puye”, es un pez pequeño de 8 a 12 g de peso, con distribución circumpolar antártica (McDowall, 1971; Andrews, 1976, 1982; Barriga *et al.*, 2002). Se reconocen dos poblaciones naturales, una que realiza su ciclo de vida completo en cuerpos de agua dulce (landlocked) y otra migratoria (diadromous), que vive como adulto en agua dulce y en la época reproductiva migra hacia los estuarios para desovar y completar su desarrollo embrionario entre dos a cuatro semanas (Taylor & Kelly, 2001). Posteriormente, las larvas se dirigen al mar y después de aproximadamente 6 meses retornan como post-larvas a los cuerpos de aguas continentales donde alcanzan su adultez (McDowall, 1971, 1972, 1988; Campos, 1973; Mitchell, 1991; Barriga *et al.*, 2007).

Considerando que las poblaciones naturales de este recurso en Nueva Zelanda, Australia y Chile, han declinado por sobre-explotación pesquera, degradación del hábitat (Jowett, 2002), e introducción de nuevos depredadores y competidores (Allibone, 1999; Aigo *et al.*, 2008; Arismendi *et al.*, 2009), su importancia en la red trófica en los cuerpos de agua dulce amerita realizar estudios sobre su reproducción artificial, para fines de repoblamiento y/o cultivo comercial. En este sentido, un paso necesario para generar la reproducción artificial es determinar las condiciones ambientales óptimas para la incubación de las ovas. Al respecto, la temperatura del agua junto con la salinidad, representan los factores ambientales más importantes para el desarrollo de embriones y larvas de peces estuarinos, influyendo en las tasas de sobrevivencia; tasas de crecimiento y eclosión; longitud al momento de la eclosión; volumen de vitelo; tamaño de la ova y porcentaje de larvas deformes (Mihelakakis & Kitajima, 1994; Hart & Purser, 1995; Watson & Chapman, 1996; Pepin *et al.*, 1997; Mihelakakis & Yoshimatsu, 1998; Atse *et al.*, 2002; Blood, 2002; Ekmekçi, 2002; Albert *et al.*, 2004; O'Neal & Weirich, 2004; Bhattacharya *et al.*, 2006; Hassell *et al.*, 2008). En el caso específico de la temperatura, valores fuera del rango óptimo generan escasa sobrevivencia embrionaria, bajo éxito de eclosión, reducción de las tasas de crecimiento y aumento de enfermedades en los alevines (Watson & Chapman, 1996; Bunn *et al.*, 2000; De Assis *et al.*, 2004). En el caso de la población migratoria del puye, se desconoce el rango de temperatura en que se desarrolla su ontogenia embrionaria, la hipótesis es que el embrión es estenotérmico considerando que su distribución natural está circunscrita a aguas frías.

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la temperatura en la sobrevivencia embrionaria, periodo embrionario y tasa de eclosión de una población migratoria de puye, sometida a diferentes temperaturas constantes de incubación, desde 7 a 22°C, en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra biológica

Las ovas se obtuvieron de reproductores provenientes de una población migratoria de *G. maculatus* criada en cautiverio. Un total de 20 hembras fueron desovadas mediante masaje abdominal y posteriormente fertilizadas artificialmente con un pool de semen de 15 machos. La selección de los especímenes maduros se determinó mediante una escala macroscópica de madurez sexual, adaptada para esta especie (Bariles *et al.*, 2003).

Condiciones de incubación de los embriones

El acondicionamiento de los embriones, previo al tratamiento, se adecuó según lo mencionado por Bariles *et al.* (2003) y Mitchel (1989), manteniéndolos en agua dulce, preparada con sal de mar comercial, a salinidad de 10 ups, con recambio total de una vez día, fotoperiodo de luz natural y temperatura constante de $10 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Estas condiciones se mantuvieron durante el bioensayo cambiando sólo las temperaturas a las que fueron expuestos los embriones de cada tratamiento.

Diseño experimental

Se seleccionaron embriones, con disco embrionario en desarrollo, al quinto día post-fertilización, mediante microscopio estereoscópico e incubados en placas Petri estériles dispuestas en incubadores termoregulados a temperaturas constantes de: 7, 10, 13, 16, 19 y $22 \pm 0,2^\circ\text{C}$, previa aclimatación a una tasa de 2°C h^{-1} . Cada uno de los seis tratamientos de temperatura se realizó con tres réplicas, utilizando un total de 1.800 embriones, distribuidos en 18 placas Petri, cada una con 100 embriones. En cada tratamiento, diariamente se contabilizaron y retiraron los embriones muertos.

En cada tratamiento se mantuvieron 48 larvas recién eclosionadas en vasos de precipitado de 1000 mL, con agua de pozo preparada a 10 ups de salinidad, fotoperiodo natural, aireación constante, temperatura entre 14 y 16°C , previa aclimatación de las larvas al cambio de temperatura, a razón de 1°C h^{-1} y alimentación en base a rotíferos enriquecidos

(*Brachionus plicatilis*) a razón de 10 rotíferos mL⁻¹ día⁻¹ (Dantagnan, 2003). Cada tratamiento se realizó con tres réplicas, determinando la sobrevivencia larval a los 10 días posteriores a la eclosión.

Para cuantificar el efecto de la temperatura en los embriones, se determinó la sobrevivencia embrionaria, que correspondió a la diferencia entre el número total de embriones al inicio del periodo experimental y el número total de embriones eclosionados al final de dicho periodo, expresados en porcentaje día⁻¹. Periodo embrionario ($t_{H50\%}$), definido como el intervalo de tiempo desde la fertilización del huevo hasta que el 50% de ellos eclosiona, expresado en días. Periodo de eclosión ($t_E 50\%$), definido como el intervalo de tiempo desde el día en que eclosionó el primer embrión hasta que eclosionó el 50% de ellos, expresado en días. Sobre-vivencia larval expresada en porcentaje, correspondiente a la diferencia entre el total de larvas al inicio del experimento y el total de larvas sobrevivientes al décimo día.

Análisis estadístico

Los datos de sobrevivencia embrionaria y larval, periodo embrionario y periodo de eclosión de los distintos tratamientos se presentan como media matemática y su desviación estándar. Se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y el test de Tukey para determinar diferencias *a posteriori* ($P < 0,05$). El test de Shapiro-Wilk y el test de Levene se emplearon para evaluar los supuestos de normalidad y homocedasticidad respectivamente. Los datos porcentuales se transformaron mediante la transformación angular. Para estimar el periodo embrionario y periodo de eclosión se utilizó la regresión probit graficando el porcentaje de ovas eclosionadas (H , %) contra el tiempo (t , días) y para linealizar la curva (H , %) fueron convertidos a unidades probit (y) y graficados contra el logaritmo del tiempo ($x = \log t$), usando la regresión lineal $y = a + bx$ (Kamler, 2002). Los análisis anteriormente señalados se realizaron empleando los programas computacionales SPSS 20 y Sigmaplot 12.0.

RESULTADOS

Sobrevivencia embrionaria y de post-eclosión

Los promedios porcentuales de sobrevivencia embrionaria disminuyeron en la medida en que aumentó la temperatura, obteniéndose sobrevivencia embrionaria de $90,6 \pm 2,0$ y $49,5 \pm 7,4\%$ para las temperaturas extremas de 7 y 22°C respectivamente, con diferencias significativas entre el tratamiento de 22°C *versus* los

restantes tratamientos ($P < 0,05$) (Tabla 1). La sobrevivencia embrionaria acumulada por día de cada tratamiento se muestra en la Figura 1. En la Figura 2 se muestra la dependencia en que a mayor temperatura menor sobrevivencia embrionaria ($r^2 = 0,95$). La sobrevivencia promedio de larvas al décimo día de los distintos tratamientos, no registró diferencias significativas ($P > 0,05$) entre ellas (Tabla 1).

Periodo embrionario ($t_{H50\%}$)

El periodo embrionario disminuyó conforme aumentó la temperatura en los tratamientos de 7 y 19°C fue de $40,8 \pm 0,6$ y $13,3 \pm 0,6$ días respectivamente, registrán-

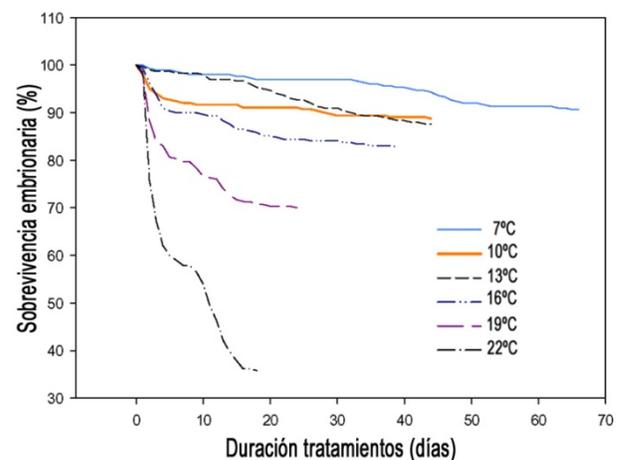


Figura 1. Porcentaje promedio de sobrevivencia embrionaria ($n = 3$ réplicas) de *Galaxias maculatus* y duración del periodo de incubación (días) a distintas temperaturas.

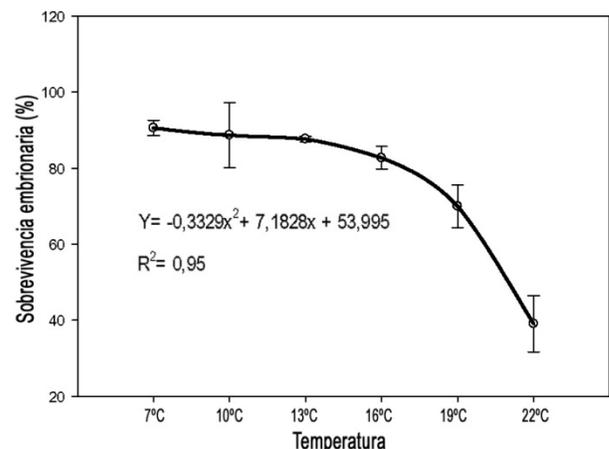


Figura 2. Relación entre la temperatura (°C) y la sobrevivencia embrionaria (%), ajustada a una regresión cuadrática en embriones de *Galaxias maculatus*.

Tabla 1. Resultados de sobrevivencia embrionaria, periodo embrionario, periodo de eclosión, sobrevivencia larval a los 10 días post-eclosión y días de ocurrencia de etapas del proceso embrionario de *Galaxias maculatus* sometidas a seis temperaturas de incubación (los números entre paréntesis corresponden a la desviación estándar).

Variable	Tratamiento					
	7°C	10°C	13°C	16°C	19°C	22°C
[1] Sobrevivencia embrionaria (%)	90,6 (2,0) ^a	88,7 (8,6) ^a	87,7 (0,7) ^a	89,7 (4,2) ^a	70,0 (5,6) ^b	49,5 (7,4) ^c
[2] Periodo embrionario al (tE 50%) (días)	40,8 (0,6) ^a	27,0 (0,0) ^b	17,3 (0,6) ^c	16,3 (0,6) ^c	13,3 (0,6) ^d	-
[3] Periodo de eclosión al (tE 50%) (días)	8,3 (0,6) ^a	6,3 (1,5) ^{a,b}	5,0 (0,2) ^b	6,3 (0,6) ^{b,a,b}	5,0 (1,0) ^b	4,3 (0,6) ^b
Sobrevivencia larval (%)	86,0 (2,5) ^a	88,0 (1,8) ^a	86,0 (1,4) ^a	86,0 (1,1) ^a	88,0 (2,3) ^a	86,0 (1,9) ^a
*Inicio pigmentación ocular (días)	13	7	4	4	3	3
*Inicio movimiento embrión (días)	24	11	8	8	7	6
*Inicio eclosión (días)	33	19	13	11	9	8

ANOVA: [1] $F = 29,00$ (_{5,17}) $P = 0,001$ [2] $F = 1398,1$ (_{4,14}) $P = 0,001$ [3] $F = 8,19$ (_{5,17}) $P = 0,001$ [4] $F = 0,930$ (_{5,17}) $P = 0,495$

(Letras iguales no hay diferencias significativas)

(-) No se alcanza el 50% de sobrevivencia embrionaria

(*) Corresponde al tiempo desde la fertilización del huevo

dose diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos (Tabla 1). Del análisis se exceptuó el tratamiento a 22°C, ya que no alcanzó al 50% de sobrevivencia embrionaria. Los valores de intercepto y pendiente de la regresión probit para la estimación teórica de los días del periodo embrionario se entregan en la Tabla 2.

Periodo de eclosión (tE 50%)

El periodo de eclosión promedio disminuyó en función de la temperatura desde $8,3 \pm 0,6$; a $4,3 \pm 0,6$ días a temperaturas de 7 y 22°C respectivamente, registrándose diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los distintos tratamientos. Estas diferencias también se observaron cuando los embriones comenzaron a eclosionar a 7°C, fue de 33 días post-fertilización a 22°C fue de 8 días (Tabla 1). Los valores de intercepto y pendiente de la ecuación probit para la estimación teórica de los días del periodo de eclosión se entregan en la Tabla 2.

DISCUSIÓN

Sobrevivencia de embriones

Los embriones de puye sobrevivieron desde 7 a 22°C, aunque esta última temperatura redujo significativamente su sobrevivencia. De acuerdo a los resultados, el rango térmico óptimo para el desarrollo de la ontogenia embrionaria se determinó entre 7 y 16°C con sobrevivencias promedio superiores al 87,7%. Bariles *et al.* (2003) reportaron que a temperatura de 5

$\pm 1^\circ\text{C}$ no hay división celular y sobre 15°C la sobrevivencia disminuye.

Considerando que la distribución natural de la especie está circunscrita a cuerpos de agua de regiones subantárticas, se esperaba que los embriones tuviesen un rango de tolerancia térmica restringido, al contrario, sobrevivieron en un amplio rango térmico (7 a 22°C). Lo anterior se podría explicar considerando que la especie desova en zonas intermareales (Balon, 1984; Mitchell, 1991; McDowall, 2006) y, por consiguiente, desarrolló una adaptación evolutiva para resistir amplias fluctuaciones de temperatura, al permanecer fuera y bajo el agua como resultado del ciclo mareal. No hay información de los límites termales de sobrevivencia del embrión a temperatura constante. A partir de estudios de campo, se han reportados rangos térmicos en los cuales ocurre el desove y el desarrollo embrionario de esta especie (Mitchell, 1989, 1991) y de otros galaxiidos con los cuales *G. maculatus* comparte habitat (Benzie, 1968; Hopkins, 1979; O'Connor & Koehn, 1998; Moore *et al.*, 1999; McDowall & Charteris, 2006; Lattuca *et al.*, 2008). En ensayos de laboratorio a temperatura constante, Benzie (1968), reportó sobrevivencias embrionarias a 4,4°C, en cambio Bariles *et al.* (2003) reportaron que ovas fecundadas a temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$ detienen su división celular, caracterizándolo como euritérmico de acuerdo a la clasificación de Dash & Dash (2009).

En relación a las larvas provenientes de los embriones expuestos a distintas temperaturas, incluidas las mantenidas a 22°C, se obtuvieron sobrevivencias promedios entre 84 y 86% a los 10 días post-eclosión,

Tabla 2. Valores de intercepto (a) y pendiente (b) de la regresión probit ($y = a+bx$) para estimar el periodo embrionario y el periodo de eclosión expresado en días ($n = 3$ réplicas) de embriones de puye *Galaxias maculatus* incubados a seis temperaturas diferentes.

Tratamiento (°C)	Periodo embrionario		Periodo de eclosión	
	a	b	a	b
7	-4,969	0,118	-1,281	0,118
10	-5,001	0,175	-1,844	0,175
13	-1,918	0,103	-0,677	0,103
16	-1,666	0,101	-0,647	0,101
19	-4,048	0,321	-1,476	0,321
22	-	-	-2,72	0,503

no habiendo diferencias significativas entre ellas, en los datos se observó que la temperatura de incubación (7 a 22°C), a diferencia de su incidencia en la sobrevivencia embrionaria, no influyó posteriormente en la sobrevivencia larval. En los promedios de 10 y 22°C se registró una alta variabilidad en los resultados producto de una alta mortalidad en una de las réplicas de cada tratamiento ($n = 3$), lo que incrementó la desviación estándar de los resultados promedios.

Al determinar una temperatura óptima de incubación se debería considerar además de los porcentajes de sobrevivencia y duración de los periodos embrionario y de eclosión, lo expresado por Kamler (2002), que a temperaturas bajas los gastos metabólicos del desarrollo embrionario son mayores comparativamente que a temperaturas mayores, sin embargo estos gastos en el presente trabajo no se expresaron en menor sobrevivencia embrionaria y larval.

Periodo embrionario (tE 50%)

Los embriones sometidos a distintas temperaturas de incubación tuvieron diferencias significativas en relación a la extensión del periodo de incubación. De acuerdo a los resultados, existió alta correlación ($r^2 = 0,99$) entre la temperatura y el periodo de incubación, concordando con lo reportado en la literatura, que bajas temperaturas retardan el desarrollo embrionario en los peces y altas temperaturas lo aceleran (Benzie, 1968; Mitchell, 1989; Asoh & Yoshikawa, 2002; Kamler, 2002). A temperatura de 7°C, la duración del periodo de incubación del embrión de *G. maculatus* fue en promedio, de $40,8 \pm 0,6$ días, valores similares a los reportados por Mitchell (1989), en cambio a 19°C la duración fue de $13,3 \pm 0,6$ días.

El desarrollo ontogénico del puye es muy sensible a la temperatura, el aumento de 7 a 10°C, redujo en 2/3 el periodo embrionario (50%) desde $40,8 \pm 0,6$ a

$27 \pm 0,0$ días. Del mismo modo a los 19°C el tiempo fue de $13,3 \pm 0,6$ días, comparativamente tres veces menor al requerido a 7°C. Este fenómeno ha sido reportado en otros peces (Hart & Purser, 1995; Mihelakakis & Yoshimatsu, 1998; Martell *et al.*, 2005; Saka *et al.*, 2005).

Periodo de eclosión (tE 50%)

Los valores del periodo de eclosión de *G. maculatus* fluctuaron entre $4,3 \pm 0,6$ y $8,3 \pm 0,6$ días, estos resultados indican que la temperatura influye sobre la extensión del periodo de eclosión, encontrándose diferencias significativas. La relación entre el tiempo de eclosión y la temperatura ha sido reportada en varios peces (Killeen *et al.*, 1999; Ojanguren & Brana, 2003; Yang & Chen, 2005; Das *et al.*, 2006). Al respecto, los resultados muestran que el tiempo de eclosión es menor a medida que aumenta la temperatura.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el rango de temperatura constante entre 10° y 16°C es óptimo para la incubación de ovas de la especie, ya que combinadamente se obtuvieron altos porcentajes de sobrevivencia embrionaria (>87,7%), periodos embrionarios (<27 días) y periodos de eclosión (<6,3 días). Información que se obtuvo con tres réplicas por tratamiento, no habiendo datos en literatura que permitan comparar los resultados obtenidos en este trabajo. Estos resultados son una contribución para entender las interacciones de la temperatura en la ontogenia de la especie y en general, optimizar la sobrevivencia embrionaria para un modelo de producción de la especie.

REFERENCIAS

- Aigo, J., V. Cussac, S. Peris, S. Ortubay, S. Gomez, H. Lopez, M. Gross, J. Barriga & M. Battini. 2008. Distribution of introduced and native fish in Patagonia (Argentina): patterns and changes in fish assemblages. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 18(4): 387-408.
- Albert, A., M. Vetemaa & T. Saat. 2004. Effects of salinity on the development of peipsi whitefish *Coregonus lavaretus maraenoides* poljakow embryos. *Ann. Zool. Fenn.*, 41(1): 85-88.
- Allibone, R.M. 1999. Impoundment and introductions: their impacts on native fish of the upper waipori river, New Zealand. *J. Roy. Soc. N.Z.*, 29(4): 291-299.
- Andrews, A.P. 1976. A revision of the family Galaxiidae (Pisces) in Tasmania. *Aust. J. Mar. Fresh. Res.*, 27: 297-349.
- Andrews, A.P. 1982. A Tasmanian landlocked population of the normally diadromous fish *Galaxias*

- maculatus* (Jenyns). Proc. Roy. Soc. Tasmania, 116: 85-90.
- Arismendi, I., D. Soto, B. Penaluna, C. Jara, C. Leal & J. Leon-Muñoz. 2009. Aquaculture, non-native salmonid invasions and associated declines of native fishes in northern patagonian lakes. *Freshwater Biol.*, 54(5): 1135-1147.
- Asoh, K. & T. Yoshikawa. 2002. The role of temperature and embryo development time in the diel timing of spawning in a coral-reef damselfish with high-frequency spawning synchrony. *Environ. Biol. Fish.*, 64(4): 379-392.
- Atse, C., C. Audet & J. De La Noüe. 2002. Effects of temperature and salinity on the reproductive success of arctic charr, *Salvelinus alpinus* (1): egg composition, milt characteristics and fry survival. *Aquac. Res.*, 33(4): 299-309.
- Balon, E.K. 1984. Patterns in the evolution of reproductive styles in fishes. *Fish reproduction: strategies and tactics*. Academic Press, London, 347 pp.
- Bariles, J., A. Bórquez, P. Dantagnan, A. Mardones, J. Quevedo, I. Valdebenito & R. Vega. 2003. Antecedentes para el cultivo del puye. Ediciones Universidad Católica de Temuco, Temuco, 144 pp.
- Barriga, J.P., M.A. Battini & V.E. Cussac. 2007. Annual dynamics variation of a landlocked *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) population in a northern Patagonian River: occurrence of juvenile upstream migration. *J. Appl. Ichthyol.*, 23(2): 128-135.
- Barriga, J., M. Battini, P. Macchi, D. Milano & V. Cussac. 2002. Spatial and temporal distribution of landlocked *Galaxias maculatus* and *Galaxias platei* (Pisces: Galaxiidae) in a lake in the South American Andes. *N.Z. J. Mar. Fresh. Res.*, 36(2): 345-359.
- Benzie, V. 1968. Stages in the normal development of *Galaxias maculatus attenuatus* (Jenyns) N.Z. *J. Mar. Fresh. Res.*, 2: 606-627.
- Bhattacharya, H., S.C. Zhang, Y.J. Wang & Y.Y. Xu. 2006. Effects of salinity on embryogenesis and hatching of the rosy barb *Puntius conchoniui* Hamilton, 1822 (Cyprinidae). *Trop. Zool.*, 19(1): 111-118.
- Blood, D. 2002. Low-temperature incubation of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) eggs from the southeast Bering Sea shelf and Shelikof Strait, Gulf of Alaska. *Deep-Sea Res. II*, 49(26): 6095-6108.
- Bunn, N., C. Fox & T. Webb. 2000. A literature review of studies on fish egg mortality: Implications for the estimation of spawning stock biomass by the annual egg production method. *Sci. Ser. Techn. Rep.*, 111: 37 pp.
- Campos, H. 1973. Migration of *Galaxias maculatus* (Jenyns) (Galaxiidae, Pisces) in Valdivia Estuary, Chile. *Hydrobiologia*, 43(3-4): 301-312.
- Dantagnan, P. 2003. Requerimientos de ácidos grasos esenciales en larvas de puye (*Galaxias maculatus*): efecto de la salinidad. Tesis Doctoral en Ciencias del Mar. Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Gran Canaria, 187 pp.
- Dantagnan, P., A. Bórquez, J. Barile, I. Valdebenito & R. Vega. 1995. Effect of different diets on the survival and growth of puye (*Galaxias maculatus*) larvae. In: P. Lavens, E. Jasper & I. Roelants (eds). *Fish and Shellfish Larviculture Symposium*. Europ. Aqua. Soc. Special Publ., 24: 435-437.
- Das, T., A. Pal, S. Chakraborty, S. Manush, R. Dalvi, K. Sarma & S. Mukherjee. 2006. Thermal dependence of embryonic development and hatching rate in *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). *Aquaculture*, 255(1-4): 536-541.
- Dash, M. & S. Dash. 2009. *Fundamentals of ecology*. Tata McGraw-Hill Education Private, New Delhi, 557 pp.
- De Assis, J., R. Carvalho, L. Barbosa, C. Agostinho & M. Dal Pal-Silva. 2004. Effects of incubation temperature on muscle morphology and growth in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, 237(1-4): 251-267.
- Ekmekçi, F.G. 2002. The effects of high salinity on the production of *Capoeta tinca* in a naturally contaminated river. *Turk. J. Zool.*, 26(3): 265-270.
- Hart, P. & G. Purser. 1995. Effects of salinity and temperature on eggs and yolk sac larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Gunther, 1862). *Aquaculture*, 136(3-4): 221-230.
- Hassell, K., P. Coutin & D. Nugegoda. 2008. Hypoxia, low salinity and lowered temperature reduce embryo survival and hatch rates in black bream *Acanthopagrus butcheri* (Munro, 1949). *J. Fish Biol.*, 72(7): 1623-1636.
- Hopkins, C.L. 1979. Reproduction in *Galaxias fasciatus* Gray (Salmoniformes: Galaxiidae). *N.Z. J. Mar. Fresh. Res.*, 13(2): 225-230.
- Jowett, I.G. 2002. In-stream habitat suitability criteria for feeding inanga (*Galaxias maculatus*). *N.Z. J. Mar. Fresh. Res.*, 36(2): 399-407.
- Kamler, E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 12(1): 79-103.
- Killeen, J., H. McLay & I. Johnston. 1999. Development in *Salmo trutta* at different temperatures, with a quantitative scoring method for intraspecific comparisons. *J. Fish Biol.*, 55(2): 382-404.

- Lattuca, M., D. Brown, L. Castineira, M. Renzi, C. Luizon, J. Urbanski & V. Cussac. 2008. Reproduction of landlocked *Aplocheilichthys zebra* Jenyns (Pisces: Galaxiidae). *Ecol. Fresh. Fish*, 17: 394-405.
- Martell, D., J. Kieffer & E. Trippel. 2005. Effects of temperature during early life history on embryonic and larval development and growth in haddock. *J. Fish Biol.*, 66(6): 1558-1575.
- McDowall, R.M. 1971. The galaxiid fishes of South America. *Zool. J. Linn. Soc. London*, 50(1): 33-73.
- McDowall, R.M. 1972. The species problem in freshwater fishes and the taxonomy of diadromous and lacustrine populations of *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) *J. Roy. N.Z.*, 2(3): 325-387.
- McDowall, R.M. 1988. Diadromy in fishes. Migrations between freshwater and marine environments. Timber Press, Portland, 308 pp.
- McDowall, R. & S. Charteris. 2006. The possible adaptive advantages of terrestrial egg deposition in some fluvial diadromous galaxiid fishes (Teleostei: Galaxiidae). *Fish Fish.*, 7(3): 153-164.
- Mihelakakis, A. & C. Kitajima. 1994. Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate and morphogenesis of the silver sea bream *Sparus sarba* (Forsk., 1775). *Aquaculture*, 126(3-4): 361-371.
- Mihelakakis, A. & T. Yoshimatsu. 1998. Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate and morphogenesis of the red sea bream. *Aquacult. Int.*, 6(2): 171-177.
- Mitchell, C.P. 1989. Laboratory culture of *Galaxias maculatus* and potential applications. *N.Z. J. Mar. Fresh. Res.*, 23(3): 325-336.
- Mitchell, C.P. 1991. Deposition of *Galaxias fasciatus* eggs with *Galaxias maculatus* eggs at a tidal site. *N.Z. J. Mar. Fresh. Res.*, 25(2): 201-205.
- Moore, S., R. Allibone & C. Townsend. 1999. Spawning site selection by two galaxiid fishes, *Galaxias anomalus* and *G. depressiceps*, in tributaries of the Taieri River, South Island, N.Z. *J. Mar. Fresh. Res.*, 33: 129-139.
- O'Connor, W. & J. Koehn. 1998. Spawning of the broad-finned galaxias, *Galaxias brevipinnis* Gunther (Pisces: Galaxiidae) in coastal streams of southeastern Australia. *Ecol. Fresh. Fish*, 7: 95-100.
- Ojanguren, A. & F. Brana. 2003. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. *J. Fish Biol.*, 62(3): 580-590.
- O'Neal, C. & C. Weirich. 2004. Effect of low levels of salinity on production characteristics of channel catfish *Ictalurus punctatus* reared in multiple-crop ponds. *J. World Aquacult. Soc.*, 35(2): 284-290.
- Pepin, P., D. Orr & J. Anderson. 1997. Time to hatch and larval size in relation to temperature and egg size in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 2-10.
- Saka, S., K. Firat, O. Komaci & E. Buke. 2005. The effect of temperature on embryonic development of the red porgy (*Pagrus pagrus*) eggs. *E.U. J. Fish. Aquat. Sci.*, 22(1-2):95-99.
- Taylor, M. & G. Kelly. 2001. Inanga spawning habitats in the Wellington. National Institute of Water & Atmospheric Research, Wellington, 60 pp.
- Watson, C. & F. Chapman. 1996. Artificial incubation of fish eggs. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Florida, 32: 4.
- Yang, Z. & Y. Chen. 2005. Effect of temperature on incubation period and hatching success of obscure puffer *Takifugu obscurus* (abe) eggs. *Aquaculture*, 246(1-4): 173-179.

Received: 4 October 2012; Accepted: 21 August 2013