

Research Article

**Efecto de la salinidad en la supervivencia embrionaria de puye
Galaxias maculatus (Jenyns, 1842)**

Juan Barile¹, Manuel Escudero¹, Eriko Carreño¹ & David San Martín¹

¹Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco, P.O. Box 15-D, Temuco, Chile
Corresponding author: Juan Barile (jbariles@uct.cl)

RESUMEN. Se evaluó el efecto de la salinidad en la supervivencia embrionaria, período embrionario y período de eclosión de puye, *Galaxias maculatus*. Se utilizaron ocho tratamientos, con salinidades de 0, 4, 8, 12, 16 y 20 obteniéndose supervivencias embrionarias promedios respectivas de 84,9; 84,0; 85,5; 86,1; 82,6 y 75,8%, sin diferencias significativas entre ellas, mientras que con salinidad de 24 se obtuvo supervivencia de 10,4%, significativamente diferente al resto de los tratamientos y con salinidad de 28 causó 100% de mortalidad. A diferencia del estado juvenil y adulto, el embrión es incapaz de resistir la salinidad marina y su umbral de tolerancia se encuentra entre salinidades de 24 y 28. Las mayores supervivencias promedios larvales a 10 días de vida fueron con salinidades intermedias de 8, 12 y 16 de 79,3; 80,3 y 74,6% respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas, demostrando alta viabilidad del embrión post-eclosión. Los períodos embrionarios promedios (50%) más breves fueron a bajas salinidades 0, 4, 8, 12 con 28,7; 28,0; 29,7 y 29,7 días y los más extensos en los tratamientos con salinidades de 16 y 20, con 34,0 y 34,3 días, sin diferencias significativas entre ellos. Los períodos de eclosión promedio (50%) con salinidades de 0, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 fueron de 5,0; 5,5; 7,5; 8,8; 13,0; 14,3 y 15,8 días respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos.

Palabras clave: *Galaxias maculatus*, puye, eclosión, incubación, tolerancia salina, acuicultura.

**Effect of salinity on survival of embryos of jollytail
Galaxias maculatus (Jenyns, 1842)**

ABSTRACT. Eight different salinity effects on embryonic survival and embryonic and hatching phase time duration of jollytail (*Galaxias maculatus*) were assessed. Mean survival rates were higher at salinities values of 0, 4, 8, 12, 16 and 20 with 84.9, 84.0, 85.5, 86.1, 82.6 and 75.8% respectively with no significant differences between them; in contrast to salinity of 24 was obtained by 10.4%, significantly different from other treatments. Salinity of 28 caused 100% of mortality. According to results, the embryo is unable to resist ocean salinity and its tolerance limit is between 24 and 28. The highest larval survivals at 10 days after hatching occurred in those treatments in which embryos were performed to intermediate salinities of 8, 12 and 16 with 79.3, 80.3 and 74.6% respectively, with no significant differences between them. These results demonstrate high post-hatching viability. Embryonic time period (50%) were shorter at low salinities 0, 4, 8 and 12 with 28.7, 28.0, 29.7 and 29.7 days and the largest, in the treatments of salinities of 16 and 20 with 34.0 and 34.3 days. No significant differences were found between all of them. Regarding the average hatching time periods (50%) in the treatments of salinities of 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 were 5.0, 5.5, 7.5, 8.8, 13, 0, 14.3 and 15.8 days respectively, without significant differences between them.

Keywords: *Galaxias maculatus*, jollytail, hatching, incubation, salt tolerance, aquaculture.

INTRODUCCIÓN

Galaxias maculatus (Teleostei: Galaxiidae) conocido en Chile como puye, es un pez pequeño (8-12 g) con distribución circumpolar antártica, encontrándose en países de Oceanía y en el cono sur de Sudamérica (McDowall, 1971). En Chile, se distribuye de 32 a 52°S (Campos, 1970). En Nueva Zelanda, Australia y Chile, la postlarva (whitebait) constituye un recurso pesquero

de alto precio, con valores de US\$50 kg⁻¹ en Chile y hasta US\$100 kg⁻¹ en mercados de Oceanía que la convierten en una especie atractiva para la acuicultura. Además, en los últimos años la pesquería del recurso en los países antes mencionados ha declinado, principalmente por degradación del hábitat y sobreexplotación (Jowett, 2002). En el caso de Chile, el último registró de extracción se obtuvo en 2004 (SERNA-PESCA, 2004).

Se reporta la existencia de dos poblaciones naturales de *G. maculatus*, una que realiza todo su ciclo de vida en cuerpos de agua dulce y otra migratoria que vive como adulto en agua dulce y que en época reproductiva migra hacia los estuarios para desovar. Posteriormente, las larvas se dirigen al mar y después de aproximadamente seis meses retornan como larvas cristalinas a los cuerpos de aguas continentales donde completan su metamorfosis y alcanzan la adultez, migrando cada año hacia el estuario para comenzar un nuevo ciclo biológico (McDowall, 1971, 1972, 1988; Campos, 1973; Mitchell, 1991; Barriga *et al.*, 2007).

En el ambiente estuarino, la salinidad del agua junto a la temperatura representan los factores ambientales más importantes que afectan la supervivencia y el crecimiento de embriones y larvas de peces, influyendo en las tasas de eclosión, longitud al momento de la eclosión, volumen del vitelo, crecimiento y porcentaje de larvas deformes (Hart & Purser, 1995; Mihelakakis & Yoshimatsu, 1998; Atse *et al.*, 2002; Ekmekçi, 2002; Albert *et al.*, 2004; O'Neal & Weirich, 2004; Bhattacharya *et al.*, 2006; Hassell *et al.*, 2008). En el caso de la población migratoria de puye, se desconoce el rango de salinidad óptimo en el cual se desarrolla su proceso embrionario, la hipótesis es que el embrión, al igual que las etapas de postlarva, juvenil y adulto, es capaz de sobrevivir en ambientes de agua dulce y marino.

En el presente estudio, se evalúa el efecto de la salinidad en la supervivencia de embriones de puye sometidos a ocho salinidades diferentes, para contribuir al desarrollo de la producción comercial de esta especie en condiciones de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra biológica

Se obtuvo ovas de reproductores provenientes de una población migratoria de *G. maculatus* criada en cautiverio. Un total de 20 hembras maduras fueron desovadas manualmente mediante masaje abdominal. Posteriormente, las ovas fueron fertilizadas artificialmente con un *pool* de semen de 15 machos maduros. La madurez sexual de los especímenes se determinó mediante una escala macroscópica de madurez sexual (Barile *et al.*, 2003).

Condiciones de incubación de los embriones

En el laboratorio, las condiciones de mantención de los embriones previo al tratamiento fueron: agua dulce preparada con agua de pozo y sal de mar comercial, con recambio total diario y 10 de salinidad, fotoperiodo de

luz natural y temperatura constante de $10 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Estas condiciones se mantuvieron durante todo el bioensayo variando sólo las salinidades a las que fueron expuestos los embriones en cada tratamiento.

Diseño experimental

Se seleccionaron embriones con disco embrionario en desarrollo, al tercer día post-fertilización, mediante microscopio estereoscópico, e incubados en placas estériles a 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 y 28 de salinidad, previa aclimatación a una tasa de 2 h^{-1} . Cada tratamiento de salinidad se realizó con tres réplicas y 100 embriones por placa. De cada tratamiento los embriones muertos fueron retirados y contabilizados diariamente.

En cada tratamiento, se mantuvo 50 larvas recién eclosionadas en vasos de precipitado de 1000 mL, con agua de pozo preparada a 10 de salinidad, previa aclimatación de las larvas al cambio de salinidad a razón de 1 h^{-1} , fotoperiodo natural, aireación constante, temperatura entre 17° y 19°C y alimentación basada en el rotífero *Brachionus plicatilis* de $10 \text{ ind mL}^{-1} \text{ día}^{-1}$. Cada tratamiento se realizó con tres réplicas, determinando la supervivencia larval a los 10 días posteriores a la eclosión.

Para cuantificar el efecto de la salinidad en los embriones, se determinó por tratamiento: supervivencia embrionaria, que correspondió a la diferencia entre el número total de embriones al inicio del período experimental y el número total de embriones eclosionados al final de dicho período expresados en porcentaje/día; período embrionario definido como el intervalo de tiempo desde la fertilización del huevo hasta que el 50% de ellos eclosiona, expresado en días; período de eclosión definido como el intervalo de tiempo desde el día que eclosiona el primer embrión hasta que eclosiona el 50% de ellos, expresado en días; supervivencia larval expresada en porcentaje que correspondió a la diferencia entre el número total de larvas al inicio del experimento y el número total de larvas sobrevivientes al décimo día.

Análisis estadístico

Los datos de supervivencia embrionaria y larval, período embrionario y período de eclosión de los distintos tratamientos se presentan como media matemática y desviación estándar. Las diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos fueron testeadas a $\alpha = 0,05$ utilizando un ANOVA de una vía y un test de Tukey para determinar diferencias *a posteriori*. Los test de Shapiro-Wilk y Levene se emplearon para evaluar las suposiciones de normalidad y homocedasticidad respectivamente. Los datos porcentuales se transformaron mediante la transformación angular (Sokal & Rohlf, 1980). Para estimar el período

embrionario mediante la regresión probit se planteó el porcentaje de ovas eclosionadas contra el tiempo (T , días) y para linealizar la curva fueron convertidos a unidades probit (y) y ploteados contra el logaritmo del tiempo ($x = \log T$) usando la regresión lineal $T = a + bx$ (Kamler, 2002); similar procedimiento se utilizó para estimar el período de eclosión. Los análisis anteriormente señalados se realizaron empleando los programas computacionales SPSS 20 y Sigmaplot 12.0.

RESULTADOS

Supervivencia embrionaria y larval

La supervivencia de los embriones en los tratamientos a salinidades de 0, 4, 8, 12, 16 y 20 fueron mayores al 75%, sin diferencias significativas entre ellos ($P > 0,05$). En cambio en el de 24, la supervivencia fue de $10,4\% \pm 0,1$ siendo significativamente diferente al resto de los tratamientos ($P < 0,05$) y en el de 28, el 100% de los embriones murió antes de 30 días (Fig. 1). Los valores promedios de supervivencia de cada tratamiento fueron de $84,9 \pm 3,6$; $84,0 \pm 2,0$; $85,5 \pm 8,1$; $86,1 \pm 4,3$; $82,6 \pm 4,1$; $75,8 \pm 4,5$ y $10,4 \pm 0,1\%$ en los tratamientos a salinidades de 0, 4, 8, 12, 16, 20 y 24, respectivamente.

Las mayores supervivencias de las larvas medidas en los 10 días posteriores a la eclosión se dieron en aquellos tratamientos en que los embriones fueron sometidos a las salinidades intermedias de 8; 12 y 16, con $79,3 \pm 1,6$; $80,3 \pm 1,6$ y $74,6 \pm 2,1\%$ respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas. Las menores supervivencias se registraron con salinidades de 0, 4, 20 y 24 con $51,3 \pm 3,3$; $64,6 \pm 2,1$; $57,0 \pm 2,6$ y $33,0 \pm 2,6\%$ respectivamente, siendo significativamente diferentes entre ellas ($P < 0,05$). Las mayores supervivencias embrionaria y larval se obtuvieron en los tratamientos a salinidades de 8 y 16 (Fig. 2).

Período embrionario

Los períodos embrionarios (50%) más breves fueron a salinidades bajas de 0, 4, 8, 12 con valores de $28,7 \pm 0,6$; $28,0 \pm 1,0$; $29,7 \pm 1,2$ y $29,7 \pm 0,6$ días respectivamente y los más extensos en los tratamientos de 16 y 20 con $34,0 \pm 3,0$ y $34,3 \pm 4,9$ días, sin diferencias significativas entre ellos ($P > 0,05$). En la Tabla 1 se entregan las ecuaciones obtenidas mediante regresión probit para la estimación de los días del período embrionario.

Período de eclosión

Los períodos de eclosión (50%) aumentaron paulatinamente con la salinidad. En los tratamientos a salinidades de 0, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 los promedios obteni-

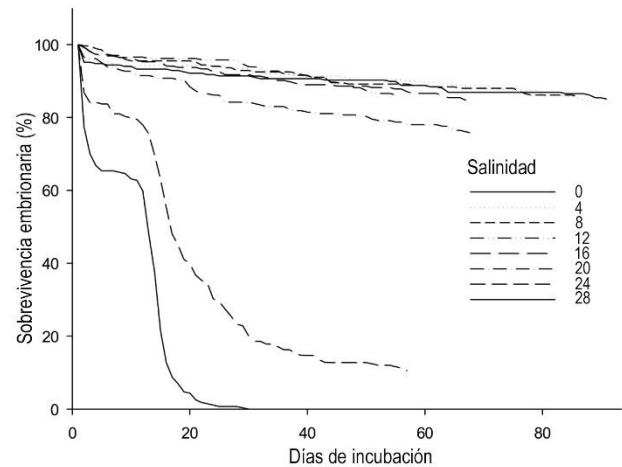


Figura 1. Supervivencia embrionaria (media, $n = 3$ réplicas) de *Galaxias maculatus* vs la duración de la incubación, respecto a ocho salinidades.

dos fueron de $5,0 \pm 0,6$; $5,5 \pm 1,0$; $7,5 \pm 1,5$; $8,8 \pm 0,6$; $13,0 \pm 3,0$; $14,3 \pm 4,9$ y $15,8 \pm 3,5$ días respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos ($P > 0,05$). En la Tabla 1 se entregan las ecuaciones obtenidas mediante regresión probit para la estimación de los días del período de eclosión.

DISCUSIÓN

La salinidad de 24 redujo significativamente la supervivencia embrionaria de *G. maculatus* y la salinidad de 28 causó 100% de mortalidad. Estos resultados permiten concluir que los embriones a diferencia de los juveniles y adultos de esta especie, no resisten la salinidad marina y su umbral de tolerancia se encuentra entre 24 y 28. Comparativamente, la mayoría de los embriones de peces de agua dulce son estenohalinos (Gbulubo & Eröndu, 1998; Ekmekçi, 2002; Fashina-Bombata & Busari, 2003; Albert *et al.*, 2004; Bhattacharya *et al.*, 2006), no superando generalmente el umbral de salinidad de 10 por breves períodos de exposición. En cambio los peces eurihalinos soportan amplios gradientes salinos (Mihelakakis & Kitajima, 1994; Hart & Purser, 1995; Smith *et al.*, 1999; Berlinsky *et al.*, 2004; Yang & Chen, 2006; Zhang *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2011) por períodos prolongados de exposición. Una diferencia observada en el embrión de *G. maculatus* respecto de otros embriones de peces eurihalinos fue su capacidad para completar la ontogenia embrionaria en agua dulce, sin que la ausencia de sal influyera en los porcentajes de supervivencia embrionaria (entre los tratamientos a salinidades de 0, 4, 8, 12, 16 y 20 no hubo diferencias significativas). En síntesis, el amplio espectro salino (0 a 20) de tolerancia de la especie para desarrollar su on-

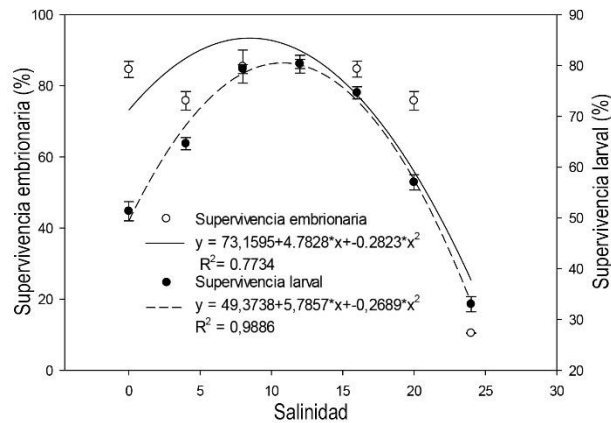


Figura 2. Supervivencia embrionaria y larval de *Galaxias maculatus* a 10 días post-eclosión (media \pm DE, n = 3 réplicas), sometidos a diferentes salinidades.

Tabla 1. Valores de intercepto y pendiente de la regresión probit ($y = a + bx$) para estimar el período embrionario y el período de eclosión expresado en días (n = 3 réplicas) de embriones de *Galaxias maculatus* incubados a ocho salinidades diferentes.

Salinidad	Período embrionario		Período de eclosión	
	a	b	a	b
0	-1,2894	0,0439	-0,3214	0,0439
4	-0,9731	0,0413	-0,0630	0,0413
8	-1,9605	0,0673	-0,4795	0,0673
12	-2,7220	0,0855	-0,9575	0,0999
16	-2,6511	0,0795	-0,9013	0,0795
20	-3,0806	0,0882	-1,1391	0,0882
24	-3,8823	0,0957	-1,7759	0,0957

togenia lo caracterizan como un embrión eurihalino, concordando con lo señalado por McDowall (1972, 1988) y Mitchell (1991) quienes mencionan a la especie como marginalmente catádruma.

Los valores de supervivencia larval de los distintos tratamientos al décimo día de eclosionados refuerzan que el rango salino para el desarrollo del embrión está entre 0 y 20 y que valores de 24 afectan significativamente tanto su supervivencia embrionaria como larval ($P < 0,05$). Considerando conjuntamente la supervivencia embrionaria y larval, se puede señalar que el rango salino óptimo para la fase embrionaria del puye se encuentra entre 8 y 16.

Independientemente de la salinidad, los embriones de *G. maculatus* comienzan a eclosionar 28 días después de la fertilización, con una ontogenia embrionaria extensa, similar a la de especies salmonídeas. Al respecto Nikolsky (1963) y Hempel (1984) señalan que el período de incubación es muy variable en los peces, desde pocas horas especialmente en peces marinos hasta 100 y más días en especies salmonídeas y otros

peces de altas latitudes. El período embrionario (50%) entre los distintos tratamientos no presentó diferencias significativas ($P < 0,05$), concordando con lo expresado por Kamler (2002) quien concluye sobre la base del análisis de diferentes trabajos, que la salinidad en la mayoría de los peces estudiados no afecta el período de desarrollo ontogénico y difiere de lo expresado por Yang & Chen (2006) con relación a la especie eurihalina *Takifugu obscurus*, donde a mayor salinidad aumenta el período embrionario.

Los valores del período de eclosión (50%) de *G. maculatus* fluctuaron entre 5,0 y 15,8 días entre los distintos tratamientos con una leve tendencia a incrementar con el aumento de la salinidad. Estos resultados sugieren que hay mejor sincronía de eclosión a salinidades bajas, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

REFERENCIAS

- 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.
- Atse, C., C. Audet & J. De La Noüe. 2002. Effects of temperature and salinity on the reproductive success of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): egg composition, milt characteristics and fry survival. *Aquat. Res.*, 33(4): 299-309.
- Barile, J., A. Bórquez, P. Dantagnan, A. Mardones, J. Quevedo, I. Valdebenito & R. Vega. 2003. Antecedentes para el cultivo del puye. Universidad Católica de Temuco, Temuco, 144 pp.
- Barriga, J., M. Battini & V. 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.
- Berlinsky, D., J. Taylor, R. Howell, T. Bradley & T. Smith. 2004. The effects of temperature and salinity on early life stages of black sea bass *Centropristis striata*. *J. World Aquacult. Soc.*, 35(3): 335-344.
- Bhattacharya, H., S. Zhang, Y. Wang & Y. Xu. 2006. Effects of salinity on embryogenesis and hatching of the rosy barb *Puntius conchonius* Hamilton, 1822 (Cyprinidae). *Trop. Zool.*, 19(1): 111-118.
- Brown, C., C. Gothreaux & C. Green. 2011. Effects of temperature and salinity during incubation on hatching and yolk utilization of Gulf killifish *Fundulus grandis* embryos. *Aquaculture*, 315(3-4): 335-339.
- Campos, H. 1970. *Galaxias maculatus* (Jenyns) en Chile, con especial referencia a su reproducción. *Bol. Mus. Nac. Hist. Nat.*, Santiago, 31: 5-20.

- Campos, H. 1973. Migration of *Galaxias maculatus* (Jenyns) (Galaxiidae, Pisces) in Valdivia Estuary, Chile. *Hydrobiologia*, 43(3-4): 301-312.
- 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.
- Fashina-Bombata, H. & A. Busari. 2003. Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Aquaculture*, 224(1-4): 213-222.
- Gbulubo, A. & E. Erondy. 1998. Salinity influence on the early stages of the African catfish. *Aquacult. Int.*, 6(5): 369-377.
- 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.
- Hempel, G. 1984. Early life history of marine fish. The egg stage. University of Washington Press, Seattle, 70 pp.
- Jowett, I.G. 2002. In-stream habitat suitability criteria for feeding inanga (*Galaxias maculatus*). *New Zeal. J. Mar. Fresh.*, 36(2): 399-407.
- Kamler, E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Rev. Fish. Biol. Fisher.*, 12(1): 79-103.
- McDowall, R.M. 1971. The galaxiid fishes of South America. *Zool. J. Linn. Soc. Lond.*, 50(1): 33-73.
- McDowall, R.M. 1972. The species problem in freshwater fishes and de taxonomy of diadromous and lacustrine populations of *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842). *J. Roy. Soc. New Zeal.*, 2(3): 325-387.
- McDowall, R.M. 1988. Diadromy in fishes. Migrations between freshwater and marine environments. Timber Press, Portland, 308 pp.
- Mihelakakis, A. & C. Kitajima. 1994. Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate, and morphogenesis of the silver sea bream, *Sparus sarba* (Forskål, 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: 171-177.
- Mitchell, C.P. 1991. Deposition of *Galaxias fasciatus* eggs with *Galaxias maculatus* eggs at a tidal site. *New Zeal. J. Mar. Fresh.*, 25(2): 201-205.
- Nikolsky, G.V. 1963. The ecology of fish. Academic Press, London, 352 pp.
- 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.
- Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA). 2004. Anuario estadístico de pesca. Ministerio de Economía y Fomento y Reconstrucción, Chile.
- Smith, T., M. Denson, L. Heyward, W. Jenkins & L. Carter. 1999. Salinity effects on early life stages of southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *J. World Aquacult. Soc.*, 30(2): 236-244.
- Sokal, R. & J. Rohlf. 1980. Introducción a la bioestadística. Editorial Reverté, Barcelona, 362 pp.
- Yang, Z. & Y. Chen. 2006. Salinity tolerance of embryos of obscure puffer *Takifugu obscurus*. *Aquaculture*, 253(1-4): 393-397.
- Zhang, G., Y. Shi, Y. Zhu, J. Liu & W. Zang. 2010. Effects of salinity on embryos and larvae of tawny puffer *Takifugu flavidus*. *Aquaculture*, 302(1-2): 71-75.

Received: 10 March 2014; Accepted 15 October 2014