

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**BASES FISIOLÓGICAS DEL DESARROLLO DE
LARVAS DE CATAN (*Atractosteus spatula*)
Y PERSPECTIVAS PARA SU CULTIVO**

T E S I S

QUE PRESENTA

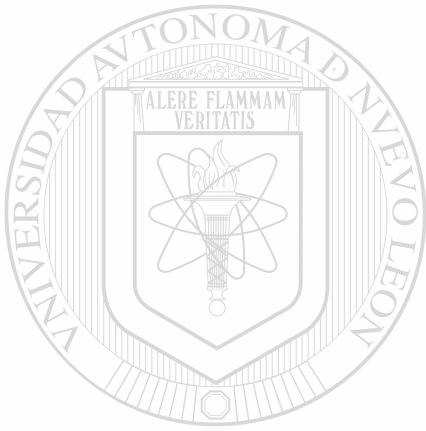
M.C. CARLOS JAVIER AGUILERA GONZALEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON
ESPECIALIDAD EN ACUACULTURA**

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1999

C.J.A.G.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

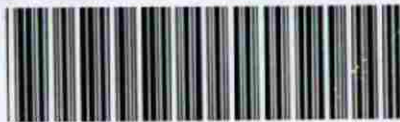
DE NUEVO LEÓN
BIBLIOTECAS

®

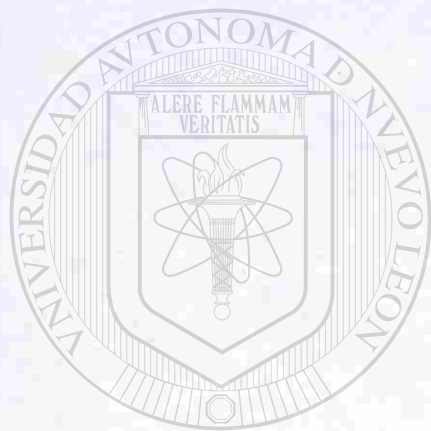
**BASES FISIOLÓGICAS DEL DESARROLLO DE
LARVAS DE CATAN (*Atractosteus spatula*)
Y PERSPECTIVAS PARA SU CULTIVO.**

TD
SH167
.C37
A38
1999
c.1

1999



1080124476



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

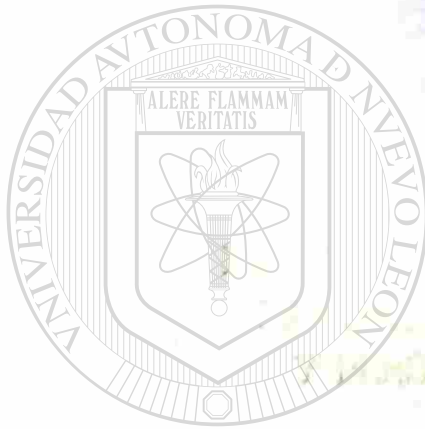
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO



U A N L

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

TESIS

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

QUE PRESENTA

M.C. CARLOS JAVIER AGUILERA GONZALEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA EL GRADO DE

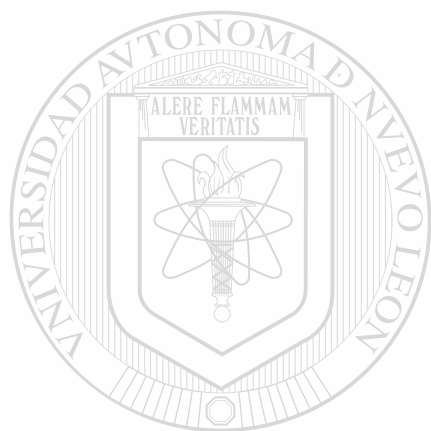
EL TÍTULO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INTITULADO EN



SH167
.C37
A38
1999



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

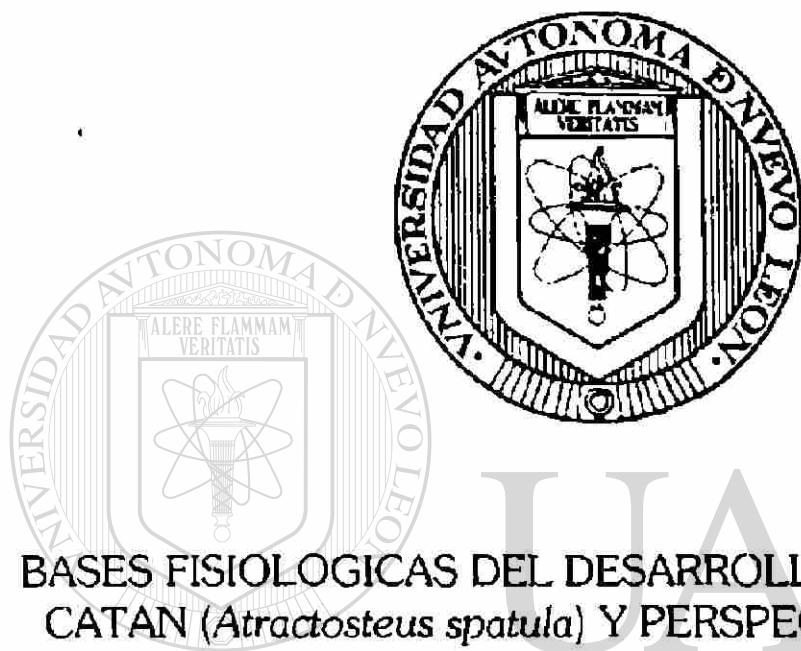
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**BASES FISIOLÓGICAS DEL DESARROLLO DE LARVAS DE
CATAN (*Atractosteus spatula*) Y PERSPECTIVAS PARA SU
CULTIVO**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
TESIS
QUE PRESENTA

M.C. CARLOS JAVIER AGUILERA GONZALEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ACUACULTURA**

MONTERREY, N.L.

NOVIEMBRE DE 1999

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**BASES FISIOLÓGICAS DEL DESARROLLO DE LARVAS DE CATAN
(*Atractosteus spatula*) Y PERSPECTIVAS PARA SU CULTIVO**

**TESIS
QUE PRESENTA**

M.C. CARLOS JAVIER AGUILERA GONZALEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ACUACULTURA**

COMITE DE TESIS DOCTORAL


**DR. ROBERTO E. MENDOZA ALFARO
DIRECTOR DE TESIS**

**DR. CARLOS HERNANDEZ LUNA
ASESOR**


**DRA. LETICIA A. HAUAD MARROQUIN
ASESOR**


**DRA. MA. JULIA VERDE STAR
ASESOR**


**DR. DENIS RICQUE MARIE
ASESOR**

DEDICATORIA

A MI HIJA ANDREA AGUILERA RAMIREZ

AL GRUPO ECOFISIOLOGIA



A LA MEMORIA DE RAUL GONZALEZ RINCON

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roberto Mendoza por el enorme respaldo y el entusiasmo con que apoyo la realización y dirección este trabajo.

A mis asesores: Dra. Leticia Hauad, Dr. Carlos Hernández, Dr. Denis Ricque por su comentarios y ayuda y muy especialmente a la Dra. Ma Julia Verde por el apoyo brindado para la celeridad de los tramites.

Al CONACyT por la beca otorgada para la realización de esta fase de mis estudios. Igualmente quisiera expresar mi gratitud a CONACyT por el financiamiento al proyecto 25633-B (*Ontogenesis enzimatica del catan (Atractosteus spatula) como base para su acondicionamiento al consumo de dietas artificiales*) y al Sistema de Investigación Alfonso Reyes, por el financiamiento al proyecto 6002 (*Elaboración de una dieta artificial para larvas de catán (Atractosteus spatula) con miras a su repoblación y posible cultivo*).

Al Dr. Porfirio Alvarez Torres, Director General de Investigación en Acuicultura del Instituto Nacional de la Pesca; al Dr. Refugio Castro, actualmente Subdelegado de Pesca en Tamaulipas; y al T.P. Eduardo González Jara Encargado de la Dirección del CRIP Tampico, por el interés y apoyo que siempre nos otorgaron.

Al Biol. Carlos Ramírez Martínez, Director General de Acuicultura de la SEMARNAP; al Lic. Noe Beltran Baena, Delegado de la SEMARNAP en Tamaulipas; al Biol. Hugo Montiel, Jefe del Acuicultura en Tamaulipas; al Biol. Eduardo Piña, Jefe del Centro Acuicola Tancol; así como a todo el personal de la Subdelegación de Pesca en Tamaulipas, por todas las facilidades y apoyos otorgados.

Al Biol. Martín Gonzalez Lazcari y al Ocean. Heberto Cavazos, de la Asociación de Acuicultores de Tamaulipas A.C., por el apoyo brindado a este proyecto.

Al Dr. Fernando García Carreño por su asesoría en las técnicas de electroforesis para la determinación de proteasas y al Dr. Hector Nolasco por su asesoría en las técnicas para determinación de amilasas y lipasas.

A la Dra. Joan Holt, al Dr. Juan Pablo Lazo y su esposa Sharon de la Universidad de Texas en Austin, por su asesoría y ayuda

Al M.C. Gabriel Márquez de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por su contribución con las larvas de pejelagarto.

Al M.C. David Montaña Aguilar, de la Compañía Purina S.A. de C.V., por las muestras de alimentos para la realización de los bioensayos.

Al M.C. Javier Alvarez por su ayuda en la elaboración e interpretación de los cortes histológicos.

Al M.C. David Lazcano Villarreal por habernos facilitado las instalaciones del Museo de Historia Natural para realizar parte de este trabajo.

A los alumnos que participaron en la realización de este trabajo: Victor Ruiz, Nerida Rivera, Rosa Ma Lopez y Ma Guadalupe Sarmiento. Así como a los demás compañeros del Grupo Ecofisiología: M.C. Jesus Montemayor, M.C. Gabino Rodriguez, Ing. Oscar Loaiza, Biol. Manuel Hernandez, Q.B.P. Susana Vela, Veronica Cortez, Ana Gabriela Castañeda, Elizabet Alfaro y Ulises Hernández.

Especialmente quiero expresar mi gratitud a mi esposa, Erendida Ramírez, por permanecer siempre a mi lado con toda su paciencia y el amor que brinda.

A toda mi Familia, por darme el apoyo moral y la confianza para enfrentar este reto.

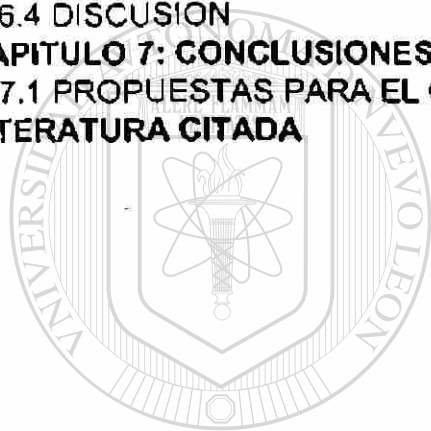
INDICE

CAPITULO 1: INTRODUCCION GENERAL	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.2 BIOLOGIA DE LOS LEPISOSTEIDOS	4
1.2.1 Características distintivas del catán	5
1.2.2 Especies similares	6
1.2.3 Biología	6
1.2.4 Distribución	8
1.2.5 Hábitat	8
1.2.6 Reproducción	9
1.2.7 Alimentación	13
1.2.8 Parásitos y enfermedades	17
1.2.9 Crecimiento	18
1.2.10 Relación con el hombre	19
1.2.11 Toxicidad de los huevos	20
1.2.12 Importancia	21
1.2.13 Situación actual de las poblaciones	22
CAPITULO 2: DESCRIPCIÓN MORFOLOGICA DE LARVAS DE CATAN (<i>Atractosteus spatula</i>) Y PEJELAGARTO (<i>A. tropicus</i>)	24
2.1 ANTECEDENTES	24
2.2 MATERIAL Y METODOS	26
2.2.1 Organismos experimentales	26
2.2.2 Condiciones experimentales	26
2.2.3 Diseño experimental	27
2.3 RESULTADOS	29
2.3.1 Características de <i>Atractosteus spatula</i>	29
Huevos	29
Morfología	29
Pigmentación	38
Velocidad de crecimiento	39
Efecto de la inanición	40
2.3.2 Características de <i>Atractosteus tropicus</i>	43
Morfología	43
Pigmentación	46
Velocidad de crecimiento	47
Efecto de la inanición	48
2.4 DISCUSION	50
2.4.1 Morfología	50
2.4.2 Pigmentación	52
2.4.3 Velocidad de crecimiento	52
2.4.4 Efecto de la inanición	54

CAPITULO 3: SEGUIMIENTO HISTOLOGICO DEL DESARROLLO DEL TRACTO DIGESTIVO EN LARVAS DE CATAN (<i>Atractosteus spatula</i>)	56
3.1 ANTECEDENTES	56
3.1.1 Características del tracto digestivo en peces	56
3.1.2 Ontogénesis del tracto digestivo	58
3.1.3 Cambios causados por la inanición	61
3.2 MATERIAL Y METODOS	64
3.2.1 Organismos experimentales	64
3.2.2 Condiciones experimentales	64
3.2.3 Observaciones histológicas	65
3.2.4 Condición nutricional	65
3.2.5 Diseño experimental	65
3.3 RESULTADOS	67
3.3.1 Descripción del desarrollo del tracto digestivo	67
Altura de los enterocitos	74
3.3.2 Efecto de la inanición	74
Altura de los enterocitos	77
3.4 DISCUSION	78
CAPITULO 4: ONTOGENESIS ENZIMATICA DEL CATAN (<i>Atractosteus spatula</i>)	81
4.1 ANTECEDENTES	81
4.2 MATERIAL Y METODOS	86
4.2.1 Organismos experimentales	86
4.2.2 Extractos enzimáticos	86
Determinación de proteína	87
4.2.3 Actividad Proteolítica total	87
Efecto del pH	87
Actividad proteolítica alcalina	87
Actividad proteolítica ácida	88
4.2.4 Identificación de la actividad proteolítica mediante electroforesis	88
Proteasas alcalinas	88
Proteasas ácidas	90
Efecto de inhibidores	90
4.2.5 Actividad proteolítica específica	91
4.2.6 Fosfatasas ácidas y alcalinas	92
4.2.7 Actividad amilásica	92
4.2.8 Actividad esterásica	93
4.3 RESULTADOS	94
4.3.1 Actividad proteolítica total	94
4.3.2 Identificación de la actividad proteolítica mediante electroforesis	96
Efecto de inhibidores	98
4.3.3 Actividad proteolítica específica	99
Actividad proteolítica específica en juvenil	101
4.3.4 Fosfatasas ácidas y alcalinas	101
4.3.5 Actividad amilásica	103

4.3.6 Actividad esterásica	103
4.4 DISCUSION	104
4.4.1 Actividad proteolítica total	104
4.4.2 Actividad proteolítica específica	106
4.4.3 Fosfatasas ácidas y alcalinas	107
4.4.4 Actividad amilásica	108
4.4.5 Actividad esterásica	109
CAPITULO 5: EFECTO DE LAS HORMONAS TIROIDIANAS Y CORTICOSTEROIDES SOBRE EL DESARROLLO LARVARIO DEL CATAN	110
5.1 ANTECEDENTES	110
5.1.1 Importancia y papel de las hormonas tiroidianas	110
Relación de hormonas tiroidianas con otras hormonas durante el crecimiento	112
5.1.2 Importancia y papel del cortisol	113
Relación del cortisol con otras hormonas	114
5.1.3 Efecto de las hormonas tiroidianas en peces	114
Metamorfosis	114
Metabolismo	115
Desarrollo y sobrevivencia	116
Crecimiento de cartilago, hueso y músculo	117
Cambios en los niveles hormonales	117
Diferenciación morfológica	119
5.2 METODOLOGIA	120
5.2.1 Organismos experimentales	120
5.2.2 Condiciones experimentales	120
Primer bioensayo	121
Segundo bioensayo	121
5.2.3 Evaluación de los bioensayos	122
Determinación de T ₃ en larvas	122
Determinación de cortisol en larvas	123
Características morfológicas	124
Características histológicas	124
Determinación de enzimas digestivas	125
Análisis estadístico	125
5.3 RESULTADOS	126
5.3.1 Primer bioensayo	126
Concentración de T ₃ en larvas	126
Concentración de cortisol en larvas	128
Características morfológicas	130
Características histológicas	133
Enzimas digestivas	133
5.3.2 Segundo bioensayo	135
Características morfológicas	135
Enzimas digestivas	137
5.4 DISCUSION	139

CAPITULO 6: ACONDICIONAMIENTO DE LARVAS DE CATAN AL CONSUMO DE DIETAS ARTIFICIALES	144
6.1 ANTECEDENTES	144
6.2 MATERIAL Y METODOS	147
6.2.1 Organismos experimentales	147
6.2.2 Condiciones experimentales	147
6.2.3 Diseño experimental	147
6.2.4 Evaluación del bioensayo	149
Características morfológicas	149
Determinación de enzimas digestivas	149
Análisis estadístico	149
6.3 RESULTADOS	152
6.3.1 Características morfológicas	152
6.3.2 Enzimas digestivas	155
6.4 DISCUSION	157
CAPITULO 7: CONCLUSIONES	162
7.1 PROPUESTAS PARA EL CULTIVO DEL CATAN	165
LITERATURA CITADA	170



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

El catán (*Atractosteus spatula*) es la especie dulceacuícola de mayor tamaño que habita en las aguas continentales de México. En los estados de Tamaulipas y Nuevo León cuentan con un mercado bien establecido, además estos peces también son objeto de pesca deportiva. Sin embargo, en la actualidad no existen normas que regulen su captura, lo cual ha provocado una explotación desmedida. A este respecto desde hace varios años se viene argumentando que de no protegerse permanentemente se corre el riesgo de desaparecer. Esta situación no es exclusiva de nuestro país, ya que en diversas regiones de Norte América se ha propuesto que esta especie sea considerada como amenazada o en peligro. Debido a lo anterior, se considera esencial dirigir los esfuerzos de investigación hacia la recuperación de las poblaciones, siendo la alternativa inmediata su cultivo. A nivel nacional únicamente se cuenta con 30 adultos mantenidos en cautiverio en el Centro Acuícola Tancol de la SEMARNAP, siendo la producción total de crías destinada a programas de repoblación para intentar mantener las necesidades de la pesca deportiva y comercial. Sin embargo, el principal problema que se presenta es la alimentación de las larvas, la cual esta basada en la disponibilidad de presas vivas, ocasionando un fuerte canibalismo, diferencias en tallas, crecimiento y la consecuente necesidad de liberar a las crías en un periodo muy corto, quedando así interrumpido el ciclo de cultivo y reduciendo la posibilidad de sobrevivencia.

La investigación multidisciplinaria realizada en el presente trabajo permitió resaltar las particularidades que presenta el desarrollo larvario del catán, así como visualizar posibles alternativas para llevar a cabo el cultivo de esta especie. En resumen, el estudio morfológico permitió distinguir las fases de desarrollo y de nutrición en las larvas, así como seleccionar indicadores externos de la inanición. Con el seguimiento histológico del tracto digestivo se determinó que este se encuentra completamente formado al iniciar la alimentación exógena, lo cual ocurre a los 5 día después de la eclosión (DDE). Igualmente fue posible observar el proceso de maduración, confirmar las fases de nutrición y establecer un índice de nutrición en base a la altura celular de los enterocitos. El estudio de las enzimas digestivas permitió comprobar que las estructuras del tracto digestivo son funcionales desde el 5 DDE y que las larvas de catán tienen la capacidad digestiva para utilizar dietas artificiales. Por otra parte fue posible establecer que las larvas desarrollan precozmente el eje tiroideo el cual regula su desarrollo y que la metamorfosis puede ser alterada con fines prácticos mediante la administración exógena de hormonas. Finalmente, un primer ensayo con dietas artificiales arrojó información sobre las características que estas deben tener para ser utilizadas en la alimentación de larvas de catán.

CAPITULO 1: INTRODUCCION GENERAL

El catán (*Atractosteus spatula*) es la especie dulceacuícola de mayor tamaño que habita en las aguas continentales de México. En nuestro país su localización se restringe a la vertiente del Golfo de México, y se le encuentra específicamente en el estado de Tamaulipas, en donde es apreciado por la calidad de su carne, por su tamaño y facilidad para filetear. En los estados de Tamaulipas y Nuevo León cuenta con un mercado bien establecido, además estos peces también son objeto de pesca deportiva ya que su tamaño (pueden alcanzar 2 metros de largo) los convierte en un atractivo trofeo. Sin embargo, en la actualidad no existen normas que regulen su captura, lo cual ha provocado una explotación desmedida. Esto aunado a las alteraciones de su hábitat han hecho que los volúmenes de su captura decrezcan. Esta disminución en los niveles poblacionales actualmente implica no sólo la privación de un recurso tradicional para los pescadores y comerciantes de la región Noreste, sino también el riesgo de que la especie se extinga. A este respecto desde hace varios años se viene argumentando que de no protegerse permanentemente se corre el riesgo de desaparecer de la zona (Morales, 1987). Así mismo se ha señalado la necesidad de establecer zonas reservadas para la conservación de la especie, dándole oportunidad para que se reproduzca. Esta situación no es exclusiva de nuestro país, ya que en diversas regiones de Norte América se ha propuesto que esta especie sea considerada como amenazada o en peligro (Símon & Wallus 1989).

Considerando el valor faunístico de estas especies, por ser endémicas y por la situación actual de sus poblaciones que tienden a desaparecer, su valor científico por tratarse de organismos pancrónicos y sus posibilidades de explotación comercial, se plantea un problema de índole científico, social y económico, cuya solución requiere de una base teórica que sirva como punto de partida en la elaboración de medidas eficaces para su conservación y aprovechamiento, como lo sugieren Leon *et al.* (1978). Esta solución radica en el desarrollo de técnicas dirigidas hacia el control de la

reproducción en cautiverio como una medida para incrementar las poblaciones de juveniles y de esta manera recuperar las poblaciones amenazadas.

Hasta el momento, este problema ha sido abordado esencialmente por la vía de la zootecnia restringiéndose a la definición de condiciones ambientales y no se ha ejercido ningún otro tipo de control sobre su reproducción y cultivo larvario. A nivel nacional únicamente se cuenta con 30 adultos mantenidos en cautiverio en el Centro Acuícola Tancol de la SEMARNAP, en las inmediaciones de Tampico, Tamaulipas. Estos organismos se reproducen y desovan de manera natural sólo durante una semana en el año, lo que limita enormemente la producción de crías necesarias para restaurar los niveles poblacionales de la especie.

Debido a lo anterior se considera esencial dirigir los esfuerzos de investigación hacia la recuperación de las poblaciones, siendo la alternativa inmediata su cultivo. En la actualidad la producción total de crías esta destinada a programas de repoblación para intentar mantener las necesidades de la pesca deportiva y comercial. Sin embargo, existe un problema crucial en lo que respecta a la alimentación de las crías, ya que esta se basa exclusivamente en presas vivas, lo que implica que debido al acelerado crecimiento de las larvas de catán se requieran grandes volúmenes de alimento, por lo que en caso de abastecimiento insuficiente, esto se traduce en un fuerte canibalismo, marcadas diferencias de tallas, crecimiento y como consecuencia final la necesidad de liberar las crías en un periodo muy corto (2 a 3 días de alimentación exógena), quedando así interrumpido el ciclo de cultivo. Estos factores repercuten de manera directa tanto en la cantidad como calidad de crías obtenidas en cada época de reproducción y al mismo tiempo propician que las posibilidades de sobrevivencia en el medio natural sean muy bajas.

Considerando esta situación, el presente trabajo esta orientado a describir aspectos básicos, del desarrollo larvario del catán bajo condiciones de alimentación adecuada, así como las posibles alteraciones que se llegan a producir al existir un

abasto insuficiente de alimento. Con esto se pretende igualmente contribuir a los conocimientos básicos de la anatomía y fisiología de estas especies con el fin de ganar un mayor entendimiento de sus requerimientos biológicos y plantear posibles estrategias para su mantenimiento en condiciones de cultivo.

1.1 OBJETIVOS

- 1) Describir los principales cambios morfológicos durante las primeras etapas de vida del catán (*Atractosteus spatula*).
- 2) Evaluar y describir el desarrollo del tracto digestivo de las larvas de catán durante su desarrollo.
- 3) Establecer las características morfológicas e histológicas que resultan afectadas por la inanición durante el periodo larvario.
- 4) Determinar la presencia y actividad de las principales enzimas digestivas durante el desarrollo larvario.
- 5) Evaluar el efecto de hormonas tiroideas y corticosteroides sobre el desarrollo de las larvas y su posible beneficio en el acondicionamiento para el consumo de dietas artificiales.
- 6) Describir las estrategias que pudieran ser utilizadas para acondicionar larvas de catán al consumo de dietas artificiales.

Las diferentes fases experimentales realizadas para cumplir estos objetivos se presentan en capítulos separados. Estos incluyen de manera individual los antecedentes correspondientes, métodos, resultados y discusión del tema. Lo anterior fue realizado con el propósito de dar mayor claridad a las diferentes etapas, considerando la diversidad de temas así como la cantidad y tipo de ensayos realizados. En un capítulo final se destacan los aspectos más importantes encontrados

durante esta investigación, así como algunas propuestas para continuar este trabajo y esclarecer aquellos aspectos que no pudieron ser abordados en su totalidad.

En el presente capítulo, a manera de introducción general, se presenta una revisión sobre algunos aspectos biológicos que hasta ahora se conocen para este tipo de peces. lo cual representa un punto de partida, ya que estos organismos solo han sido objeto de estudios aislados y esporádicos, a pesar de sus características biológicas tan particulares mismas que resultan de interés desde los puntos de vista económico, ecológico, evolutivo y cultural como se verá en la presente revisión.

1.2 BIOLOGÍA DE LOS LEPISOSTEIDOS

Los lepisosteidos constituyen un grupo de peces muy particular ya que la prevaencia de varias de sus características primitivas los separa del resto de los teleósteos. En relación con esto, Wiley (1976) establece que los lepisosteidos tienen al menos 27 caracteres únicos entre los actinopterigios y estos caracteres corroboran la hipótesis de su origen monofilético como grupo. Suttkus (1963) señala varios rasgos distintivos de los lepisosteidos que sin duda contribuyeron a su supervivencia durante millones de años. Entre otros, se encuentran su rígida cubierta protectora proporcionada por escamas rómbicas articuladas entre sí por sus bordes, este tipo de escamas, exclusivas de su género son únicas entre los peces (*Lepisosteus* = escama ósea). La vejiga natatoria está altamente vascularizada y se encuentra conectada con la faringe por el ducto neumático, lo cual los habilita con la capacidad de respirar aire atmosférico. El cono arterial del corazón tiene ocho hileras transversales con 4 a 8 válvulas cada una, lo cual los dota de una capacidad cardiaca particular. Poseen vértebras completamente osificadas y opistocélicas, i.e. la cara posterior es convexa y la anterior cóncava, una conformación única entre los peces vivientes, esto les permite realizar movimientos rápidos y precisos indispensables en el momento de atacar a sus presas. En el intestino posterior se presentan reminiscencias de válvula

espiral, lo cual aumenta su capacidad digestiva, convirtiéndolos en predadores eficaces.

1.2.1 CARACTERISTICAS DISTINTIVAS DEL CATAN

Dentro del grupo de los lepisosteidos, el catán se distingue por las siguientes características: es un pez de cuerpo cilíndrico con un hocico alargado, aunque relativamente corto (menos de 60% de la longitud de la cabeza), comparado con el resto de los lepisosteidos. Presenta orificios nasales en la punta del hocico y dos hileras de largos caninos en cada lado, así como colmillos dermopalatinos en los adultos. Los huesos craneales tienen pequeños tubérculos redondeados cubiertos de esmalte. Se presentan de 59 a 66 branquioespinas, anchas y se encuentran comprimidas lateralmente, con convoluciones a lo largo de los márgenes dorsales. Las aletas carecen de espinas. La dorsal y la anal son cortas y se sitúan muy atrás en el cuerpo, mientras que las pectorales y las pélvicas se sitúan ventralmente. La aleta caudal está redondeada y es ligeramente asimétrica. Se presentan de 7 a 10 radios en la dorsal, de 7 a 10 en la anal, de 12 a 14 en la caudal, de 8 a 16 en las pectorales y de 5 a 6 en las pélvicas. El cuerpo está totalmente cubierto de escamas ganoideas rómbicas no imbricadas. Las mejillas están cubiertas por numerosas placas. Se presenta una hilera diagonal de 22 a 32 escamas del frente de la aleta anal a la mitad del dorso. Tienen de 49 a 54 escamas predorsales y de 58 a 62 escamas en la línea lateral. El color del dorso va de café oscuro a bronceado, mientras que el vientre va de blanco a amarillento, aunque esta coloración no es común en las especies mantenidas en acuarios (Suttkus, 1963). Ocasionalmente se presentan manchas con pigmentación en el pedúnculo caudal y aletas, particularmente en las tallas más pequeñas.

Sinónimos de la especie: Al catán además de *Atractosteus spatula*, se le ha denominado *Lepisosteus ferox*, *Lepisosteus belandieri*, *Atractosteus lucius*, *Lepisosteus viridis*, *Litholepsi adamantinus*, *Lepisosteus tristoechus* (No de Bloch y Schneider), *Lepisosteus spatula*.

Nombre común: De la misma manera se le conoce con varios nombres en las diferentes regiones del país (Catán, Pejelagarto) así como en E.U. (Alligator gar, Garpique alligator) y Sudamérica (Gaspar baba).

1.2.2 ESPECIES SIMILARES

El resto de las especies de lepisosteidos se pueden distinguir del catán en base a las siguientes características: poseen un hocico menos ancho con una sola hilera de grandes caninos a cada lado y tienen de 14 a 33 branquioespinas en el primer arco branquial. *L. osseus* (longnose gar) tiene un hocico extremadamente delgado. *L. oculatus* (spotted gar) y *L. platyrhynchus* (Florida gar) tienen un hocico más estrecho que el del catán y presentan manchas en la cabeza. Los juveniles de catán se distinguen de los de *L. osseus*, *L. oculatus*, *L. platyrhynchus* y *L. platostomus* (shortnose gar) por una franja clara en el dorso (Suttkus, 1963). *Atractosteus tristoechus* (confinado al Norte de Cuba y la Isla de Pinos) tiene de 67 a 81 branquioespinas en el primer arco branquial y carece de tubérculos en los huesos del techo craneal. *Atractosteus tropicus*, al que eventualmente se le puede encontrar en aguas salobres, es más pequeño en tamaño y comúnmente tiene el dorso moteado. También presenta una serie de machas oscuras a lo largo de los costados y tiene de 42 a 48 escamas predorsales (Wiley, 1978).

1.2.3 BIOLOGÍA

Esta especie ha sido a menudo asignada a los *Lepisosteus*. Suttkus (1963) reconoció *Atractosteus* como un subgénero de *Lepisosteus*. Wiley (1976) mostró que los lepisosteidos vivientes están comprendidos en dos líneas filogenéticas que datan del Cretácico tardío (75 millones de años), basado en la presencia de un lepisosteido fósil (*Atractosteus strausi*) en las formaciones de Messel del Eoceno cerca de Darmstadt, Alemania (Kinkelin, 1903). Así, Wiley (1976) observó la separación de dos géneros que ocurrieron del inicio a la mitad del Cretácico antes de la separación de la Pangea. Debido a la antigüedad de esta divergencia concluyó que *Atractosteus* debía ser removido de la sinonimia de *Lepisosteus* en la cual había sido previamente situado.

Sin embargo, por razones de parsimonia nomenclatura, algunos autores mantuvieron la clasificación original. Se desconoce la existencia de fósiles Europeos que daten de antes del Cretácico. Sin embargo, como fue sugerido por Wiley (1976), los lepisosteidos fueron descubiertos en Sudamérica (Santos, 1984; Gayet *et al.*, 1989). Los últimos hallazgos aparentemente confirman el descubrimiento de *Lepisosteus alessandrii* Ameghino (1898) de Argentina, el cual fue puesto en duda por Pascaul (1970) y considerado como incierto por Wiley (1976). Se ha hipotetizado que ambos géneros (*Atractosteus* y *Lepisosteus*) datan de al menos 180 millones de años (Wiley, *op. cit.*).

En la actualidad se reconocen siete especies como los únicos representantes vivientes de estos dos géneros, las cuales se encuentran restringidas a ciertas zonas de Norte, Centro América y el Caribe.

En el género *Lepisosteus* se encuentran:

- ♦ *L. osseus*
- ♦ *L. platyrhincus*
- ♦ *L. platostomus*
- ♦ *L. oculatus*

El género *Atractosteus* se encuentra representado por

- ♦ *A. spatula*
- ♦ *A. tropicus*
- ♦ *A. tristoechus*

Según Suttkus (1963) dos de estas especies serían diferentes sólo a nivel sub-específico, considerando la existencia de ciertos indicios de hibridación.

Frecuentemente se ha situado a estos peces junto con los amidos, con los cuales comparten ciertas características tales como la naturaleza abreviada del esqueleto de la caudal heterocerca, la vejiga natatoria dividida en compartimientos, y la presencia de una válvula espiral. Sin embargo, difieren en varios aspectos como las escamas, el hocico, los huesos maxilares segmentados y la quijada inferior que se articula por delante los ojos (Suttkus, 1963).

1.2.4 DISTRIBUCION

Como se mencionó, los lepisosteidos se encuentran restringidos al hemisferio occidental (Wiley, 1976), aunque supuestamente existe una especie que se encuentra en China (*L. sinensis*).

El catán se localiza en nuestro país en los Estados de San Luis Potosí, Veracruz y Tamaulipas (Morales, 1987). Sin embargo, presenta una amplia distribución hacia el Norte a todo lo largo de la costa del Golfo de México hasta Florida, igualmente se le encuentra en el Valle del Mississippi y en las partes bajas de los ríos Ohio y Missouri. También se presenta en Nicaragua y en el Noroeste de Costa Rica (Wiley, 1976). El estatus de las poblaciones en ambos países se desconoce.

1.2.5 HABITAT

Se conoce muy poco acerca de la biología de *A. spatula*. A esta especie se le encuentra en las pozas de los grandes ríos y frecuentemente se le ha visto en aguas salobres o marinas a lo largo de la costa del Golfo de México (Goodyear, 1966; Wiley, 1978; Robison y Buchanan, 1988). De hecho, ha sido considerado por diferentes autores como el más tolerante a las salinidades entre los lepisosteidos (Suttkus, 1963). Es capaz de vivir por períodos indeterminados de tiempo en agua totalmente marina, como quedó demostrado por un espécimen que se mantuvo durante varios años en un acuario marino de exhibición (Gilbert, 1992). Goodyear (1967) reportó que al catán se le encontraba en aguas con salinidades de hasta 25 ppt, mientras que Gunter (1945) registró esta especie en las costas de Texas a salinidades de 31 ppt. A diferencia de *L. oculatus* que tiende a ser encontrado principalmente asociado con la vegetación, tanto *A. spatula* como *L. osseus* generalmente se encuentran en hábitats acuáticos más abiertos. Ambas especies parecen preferir los lugares más profundos dentro de los cuerpos de agua en donde se le localiza. En el caso de *L. platyrhincus*, la escasez de registros en agua marina o salobre indica la poca tolerancia de esta especie a las condiciones salinas (Suttkus, 1963). De manera similar, tampoco se tienen registros de

que *L. oculatus* (Suttkus, 1963), ni *A. tropicus* (Resendez y Salvadores, 1983) penetren en aguas salobres o lagunas costeras.

1.2.6 REPRODUCCION

A pesar de la existencia de algunas descripciones sobre la reproducción de los lepisosteidos, se conoce muy poco acerca de los aspectos básicos sobre los hábitos reproductivos de *A. spatula* (Breder & Rosen, 1966). Hasta el momento el cúmulo más importante de información acerca de los aspectos reproductivos de los catanes corresponde a las observaciones realizadas en el medio natural por diversos autores Norteamericanos sobre varias de las especies del orden y a los estudios realizados sobre el pejelagarto en Tabasco. Tomando esto como base se presenta a continuación una semblanza de la biología reproductiva de los lepisosteidos.

Proporción sexual: Los lepisosteidos presentan un comportamiento poco gregario, sin embargo durante la temporada de reproducción se les puede encontrar comúnmente formando grupos de decenas de individuos, habiéndose observado hasta más de 20 al mismo tiempo (Aleman, 1987; Dean, 1895; Holloway, 1954). Las hembras encabezan los grupos de reproductores, mientras que los machos avanzan detrás expulsando el esperma que fecundará los óvulos, los cuales son adherentes y se fijan a la vegetación sumergida (Contreras, 1987). De manera general, se observa siempre un mayor número de machos que de hembras. Suttkus (1963) menciona igualmente que cuando las hembras van a desovar se hacen acompañar de uno a cuatro machos. En el caso del pejelagarto *A. tropicus* se han reportado relaciones macho: hembra que van desde 0.82:1 (Chavez-Lomell, 1989), pasando por proporciones de 1:1.2 (Resendez, y Salvadores 1983), 3:1 (Bejerano et al., 1997), hasta proporciones de 5:1 (Gomez-Gomez, 1989; Perez-Sanchez, 1995). Holloway (1954) reporta proporciones de 1:2 y de 1:1 machos por hembra para *Lepisosteus platyrhincus* y señala proporciones que varían de 1:2 a 3:1 machos por hembra para *L. osseus*.

Comportamiento reproductivo: Dean (1895) describe el comportamiento reproductivo para *Lepisosteus* spp. en Black Lake, Carolina del Sur. Indica que primeramente se les percibe en las regiones profundas del lago y posteriormente se les ve cerca de la orilla. El hocico de los machos, de color más claro, probablemente una coloración relacionada con la época reproductiva, presiona la región abdominal de la hembra. En este momento nadan con las aletas extendidas, y particularmente las dorsales y anales se encuentran erectas, de tal manera que estas últimas junto con la caudal son perceptibles desde lejos. Posteriormente se presenta un periodo de quietud, el cual es seguido por movimientos hacia adelante, hacia atrás y en círculos, cerca de la orilla y minutos más tarde se presentan movimientos bruscos. Es en este momento que los huevos son expulsados y fertilizados, pudiéndose apreciar nubes de espermia en el agua. Este evento alterna con otro periodo de quietud de varios minutos el cual es seguido por movimientos circulares y una segunda ovoposición. El desove por lo general no ocurre durante las horas más calurosas del día (12:00 - 15:00), sino se presenta a intervalos entre las 7:30 y 20:30. Es probable que no todos los huevos sean depositados por la hembra durante un solo día. Los desoves en el caso del pejelagarto (Perez-Sanchez, 1995) y del catán (Morales, 1987) ocurren durante la noche, llegando a prolongarse hasta el día siguiente.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Temporada de reproducción: Los lepisosteidos desovan típicamente durante la primavera y principios del verano (Simon Y Wallus, 1989). Durante este tiempo el desove tiene lugar de manera intermitente, por lo que se considera que sólo son 6 o 7 días efectivos durante la temporada (Dean, 1895). La extensión de los periodos reproductivos parecería estar en relación con la latitud y por supuesto con la temperatura. En este sentido Suttkus (1963) menciona que el desove siempre se lleva a cabo en agua dulce durante un breve periodo de la mitad de mayo a la mitad de junio en la latitud de Nueva York. Por su parte, Breder y Rosen (1966) reportan que el periodo de máxima actividad sexual de *L. platostomus* se presenta en julio. De acuerdo a Dean (1895) la temperatura del agua es el factor más determinante sobre la temporada de desove. La temperatura de las aguas menos profundas donde el desove

tiene lugar en Carolina del Sur oscila entre los 66-70°F (19-21°C). Este mismo autor señala que la temperatura del aire en conjunto con fuertes vientos y lluvias no tiene un efecto inmediato sobre la temporada de reproducción. Sin embargo, existen argumentos que indican que la lluvia tiene efectivamente cierta repercusión sobre la temporada de desove. Así, se ha sugerido que es importante que crezca el nivel del agua en las zonas inundables con el fin de que la maleza sirva como sustrato para los huevos adheribles. Igualmente, se ha postulado una cierta sincronía en relación con la aparición de zooplancton con las lluvias, esta producción se favorecería por el efecto de la putrefacción de los pastos contribuyendo así a fertilizar el sistema. Esto sin duda aseguraría la viabilidad de las futuras larvas. A este respecto, Pérez-Sánchez (1995) menciona que la ocurrencia de los desoves depende de factores ambientales tales como la precipitación pluvial y la consecuente inundación de zonas aledañas a ríos y lagunas, lo que propicia el incremento de poblaciones planctónicas de cladoceros y copépodos. En relación con esto se ha señalado que en los peces tropicales intervienen otros factores, además del fotoperiodo y la temperatura, que definen la estacionalidad reproductiva asociada a la temporada de lluvias, la cual está relacionada a su vez con la abundancia de alimento (Norris y Jones, 1987, citado por Pérez-Sánchez, op cit).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Fecundidad: De manera general la fecundidad de los lepisosteidos es elevada, y el número de huevos aumenta con la talla de la hembra (Halloway, 1954). Para *A. tropicus* se reportan fecundidades absolutas de 378 a 22,530 huevos por hembra (de 35,000 a 1,130,000 por kg), con una fecundidad promedio de 12,958 para una talla de promedio 64.5 cm (Chavez-Lomeli et al., 1989). En contraste con estas observaciones, Mendoza et al. (1993) reportan fecundidades de 8, 787 ovocitos por kg de hembra para la misma especie. En el caso de *L. platyrhincus*, Holloway (1954) señala un promedio de 5,200 huevos por hembra. Para *L. osseus* se han reportado más de 36,000 huevos para una hembra de 100 cm (Breder & Rosen, 1966). La fecundidad para *L. osseus* se ha estimado en 30,000 a 77,156 huevos por hembra (Holloway, 1954). Para esta misma especie se han reportado de 4,000 a 59,000 huevos por hembra, con un

promedio de 27,000 por hembra, lo que resulta en 6,000 huevos por kg (Netch y Witt, 1962). Para el manjuari (*A. tristoechus*) la fecundidad absoluta se calculó en 4,000 y 6,711 huevos/kg en hembras con un índice gonadosomático entre 6 y 10. Mientras que en las hembras de *A. spatula* desovan en promedio 4,000 huevos por kg de peso (Morales, 1987).

Sustrato: Todos los lepisosteidos requieren de un sustrato para desovar (Bejarano *et al.*, 1997). Así en el medio natural *L. osseus* deposita sus huevos sobre rocas o cubiertas de algas. Mientras que *L. platostomus* deposita los huevos en pequeñas masas sobre pastos y algas. *L. ocelatus* desova sobre vegetación muerta y cubiertas de algas (Simon & Wallus, 1989). Se ha señalado que a pesar del carácter relativamente uniforme de la orilla de los lagos en donde se reproducen, existen ciertos lugares en los que prefieren desovar (Dean, 1895). Considerando estos aspectos, en el caso de la reproducción en cautiverio se recurre a la confección de "nidos", en donde los animales colocan sus huevos. En el caso del manjuari (*A. tristoechus*) se utilizan nidos de pino debido a que tienen menos posibilidad de encontrarse contaminadas con parásitos de los peces y resisten una gran cantidad de días bajo el agua sin descomponerse. (León *et al.*, 1978). Frecuentemente se construyen nidos con ramas insertadas en trozos de malla, ya que así pueden ser trasladados a otros estanques y por otra parte ofrecen la facilidad de poder retirar los huevos muertos y los óvulos no fecundados para evitar la extensión de la saprolegniosis. En el caso del catán (*A. spatula*), previamente se colocan ramas de *Casuarina* en los extremos y centro de los estanques que servirán como sustrato para los huevecillos de naturaleza adherente (Morales, 1987).

Dimorfismo sexual: Se presenta un crecimiento diferencial entre machos y hembras, este se vuelve menos marcado con la edad, aunque no termina con las madurez. Los machos no sólo maduran a una menor talla que las hembras, sino que crecen menos que estas. Esto se confirma en diferentes reportes concernientes al dimorfismo sexual de otros lepisosteidos (*L. platostomus*, *L. ocelatus* y *L. platyrinchus*)

(Suttkus, 1963). Se ha reportado la presencia de dimorfismo en ciertas estructuras e.g. en el tamaño del hocico en *L. oculatus* y *L. platyrinchus*, en ambos casos se ha observado que la hembras poseen un hocico más alargado que los machos (Suttkus, 1963; Hubbs y Lagler, 1942 citado por Leon *et al.*, 1978). De la misma manera, en el caso del manjuari (*A. tristoechus*) se encontraron diferencias significativas en la relación de algunas medidas anatómicas entre hembras y machos. Las hembras lucen un vientre muy inflamado debido al crecimiento de las gónadas e igualmente presentan una papila genital más inflamada y más coloreada que en el macho (Leon *et al.*, 1978). Este parece ser igualmente el caso del pejelagarto (*G. Marquez comunicación personal*). A este respecto Bejerano *et al.* (1997) señalan que las diferencias se acentúan cuando los organismos llegan a un estadio avanzado de maduración.

1.2.7 ALIMENTACION

De manera general los lepisosteidos se alimentan principalmente de peces y cangrejos o jaibas (Suttkus, 1963), aunque también se han encontrado restos de aves en sus contenidos estomacales (Raney, 1942) e inclusive basura (Goodyear, 1967). Aunque se han reportado las especies que estos peces consumen con mayor frecuencia, en los cuerpos de agua dulce en donde habitan (*Arius felis*, *Micropogon undulatus*, *Leiostomus xanthurus*, *Mugil cephalus*, *Menticirrhus* sp., *Brevoortia patronus*, *Lagodon rhomboides*, *Symphurus plagiusa*, *Balistes* sp., y de manera ocasional *Gallus domesticus*, y *Squilla empusa*), prácticamente se desconoce su dieta en ambientes salobres y marinos (Suttkus, 1963). En el caso del gallo, éste probablemente fue utilizado como carnada. Raney (1942) reportó que en el caso particular del catán, éste eventualmente comía patos y pavos acuáticos (*Anhinga anhinga*), en Cuartex, Resaca, Texas. Gunter (1945) encontró restos de lisas en los intestinos de 50% de los especímenes en Texas. Mientras que el hecho de poder capturarlos utilizando peces muertos como carnada, ha orillado a diferentes autores a considerar que son carroñeros (Gunter, 1945; Suttkus, 1963; Seidensticker, 1987).

Preferencias alimenticias.- Las preferencias alimenticias de los lepisosteidos parecen depender de varios factores, entre los que se cuentan la disponibilidad del alimento, la etapa de desarrollo y la especie. Así, *L. osseus*, *L. oculatus*, *L. platyrhincus* y *L. platostomus* en su etapa larvaria prefieren insectos, microcrustáceos y peces. A este respecto se ha reportado que los juveniles de *L. osseus* pueden ser mantenidos exclusivamente con larvas de mosquito (Pearson *et al.*, 1979). Sin embargo, dentro de las especies anteriores *L. osseus* muestra una mayor preferencia por los peces, con una marcada tendencia a incluir un mayor porcentaje de peces en su dieta a medida que crece (Echelle y Riggs, 1972; Holloway, 1954). Por otra parte se ha observado que en los adultos de *A. tropicus*, los restos de peces, materia orgánica, copépodos y restos de vegetales constituyen los principales componentes alimenticios (Resendez y Salvadores, 1983). Sin embargo, en los juveniles aunque el alimento principal sigue siendo los peces, los restos de insectos forman una parte importante de la dieta, difiriendo así de los hábitos de los adultos (Resendez y Salvadores, 1983). En menor proporción también se encontraron crustáceos decápodos (Chavez-Lomeli *et al.*, 1989). Esto indica que *A. tropicus* es un pez carnívoro en su etapa juvenil, sin embargo, poco a poco va aumentando la variedad de su dieta conforme crece, hasta incluir vegetales en ella cuando ya es adulto.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Los lepisosteidos comúnmente son considerados como un estorbo y como perjudiciales para las especies de peces que se capturan durante la pesca deportiva y dentro de los lepisosteidos *A. spatula* tiene la peor reputación, aunque este aspecto ha sido objeto de controversias. En efecto, Toole (1971) muestra evidencias de un estudio realizado durante 5 años cuyos datos indican que tanto *A. spatula* como *L. osseus* y *L. oculatus* son predadores de especies de forraje. Los tres lepisosteidos ingieren a las especies forrajeras en grandes porcentajes, sin embargo, esto se atribuye a hábitos alimenticios no selectivos que dependen sólo de la disponibilidad de alimento. Sobre este propósito, Lagler (1942, citado por Holloway, 1954) señala que las poblaciones de lepisosteidos son mayores en donde se localizan poblaciones importantes de especies forrajeras. A este respecto, también se ha mencionado que debido a la distribución o al

comportamiento de las especies forrajeras, éstas resultan más vulnerables que las especies de importancia deportiva (Echelle y Riggs, 1972). Por ejemplo algunas de estas especies tienden a asociarse durante la noche en aguas poco profundas cerca de las orillas formando cardúmenes importantes lo que las hace particularmente susceptibles a la predación por los lepisosteidos. Por el contrario, Netch (1964) indica que debido a los hábitos alimenticios de los lepisosteidos y la gran habilidad de las especies de peces de interés en la pesca deportiva para evitar la predación, existen pocas posibilidades de que las poblaciones de éstas se vean disminuidas. Aunado a esto, los estudios de diferentes autores indican que generalmente los contenidos estomacales de distintas especies de lepisosteidos (*L. oculatus*, *L. platyrhincus*, *L. osseus*) revelan que sólo se alimentan de especies de interés para la pesca deportiva en un mínimo porcentaje y que en su lugar prefieren especies forrajeras (Crompton, 1970; Dugas *et al.*, 1976), aún cuando algunas especies como la perca son abundante en el medio. Se ha señalado que el único daño para las especies deportivas sería el causado debido al consumo de las especies forrajeras lo que reduciría el suplemento de alimento para las especies deportivas (Dean, 1895). Por esta razón se considera que son oportunistas en su alimentación.

Los hábitos oportunistas de los lepisosteidos aparecen desde la etapa larval como lo demuestran las observaciones de Pearson *et al* (1979) quien menciona que las postlarvas de *L. osseus* pueden alimentarse indistintamente de microcrustáceos, larvas de insecto o larvas de peces, siendo la disponibilidad de cada una de las especies la que define su preferencia.

Esta falta de selectividad en su alimentación queda de manifiesto al observar los objetos inusuales encontrados en los contenidos digestivos de diferentes especies. A este respecto, Crompton (1970) menciona la ocurrencia de latas, anzuelos, huesos y plumas en el caso de *L. osseus*, y Goodyear (1967) señala la presencia no sólo de diferentes tipos de anzuelos, sino también de un pedazo de látigo, un carrete de acero inoxidable y el termostato de una maquina diesel.

Comportamiento predatorio.- La estrategia de predación de los lepisosteidos ha sido descrita en particular para *L. osseus* (Suttkus, 1963; Netch, 1964). Esta especie normalmente no realiza movimientos innecesarios, permanece de preferencia inmóvil hasta que su presa se encuentra a su alcance y en ese momento con un movimiento lateral muy rápido de la cabeza atrapa súbitamente de un mordisco a la víctima. Generalmente mantiene a su presa en el hocico durante varios minutos, hasta que su presa cesa de debatirse, posteriormente la voltea hasta que la cabeza apunta en dirección de su esófago y entonces procede a tragársela.

Vale la pena señalar que a pesar de los poderosos dientes con que se encuentran dotados los lepisosteidos, en los contenidos estomacales prácticamente no se encuentran individuos en pedazos o mordidos, lo que sugiere que los dientes son utilizados principalmente para evitar que las presas escapen.

Hábitos alimenticios.- Los escasos organismos bentónicos encontrados en los contenidos estomacales y la abundancia de pelágicos (e.g. *Gambusia*) sugiere que su alimentación se realiza principalmente en la superficie (Echelle y Riggs, 1972). Se ha sugerido que este tipo de alimentación tiene cierta relación con su capacidad para respirar aire atmosférico, un proceso que ocurre frecuentemente durante el verano en las aguas poco profundas de los lagos.

Por otra parte, Holloway (1954) menciona que la alimentación de *L. platyrhincus* se lleva a cabo principalmente a la caída del sol o durante las noches, o durante los días nublados. Esto coincide con lo observado por Resendez y Salvadores (1983), quienes en función del grado de digestión de los contenidos estomacales de *A. tropicus* y de la hora de captura dedujeron que estos animales eran de hábitos nocturnos. De manera similar, Goodyear (1967) menciona que *L. osseus* es un predador activo en aguas abiertas, alimentándose preferentemente en la noche.

Se ha señalado que cuando se encuentran en grupo y alguno empieza a comer, el resto le sigue (Holloway, 1954). Esto podría ser indicativo de cierta jerarquía.

Un aspecto interesante que se ha observado es que cuando diferentes especies cohabitan en un mismo cuerpo de agua ocupan nichos ecológicos muy diferentes. En relación con esto, Goodyear (1967) encontró que mientras el catán podía ser carroñero, otras especies (*L. osseus* y *L. oculatus*) eran exclusivamente predadores activos. Adicionalmente, tanto la talla de *A. spatula* como el mayor tamaño de las especies que normalmente consume, en comparación con las que ingieren otras especies de lepisosteidos, lo excluyen como competidor de *L. osseus* y *L. oculatus*. Seidensticker (1987) observó que los catanes aprecian particularmente a aquellas especies mayores de 20 cm (e.g. bagres) que se alimentan del bentos .

1.2.8 PARASITOS Y ENFERMEDADES

A. spatula es parasitado naturalmente por el tremátodo bucefalido *Rhipidocotyle lepisostei* en la bahía de Barataria, Louisiana (Hopkins, 1954), en el Río Rojo en Oklahoma y Texas (Hopkins, 1967) y en Galveston, Texas (Wardle, 1990). Presumiblemente, adquieren el parásito en la etapa de metacercaria a través de la ingestión de las lisas (*Mugil curema* y *Mugil cephalus*). Comparativamente, en *A. tropicus* se han encontrado más parásitos. Chavez-Lomeli et al. (1989) encontraron algunos nemátodos adheridos al mesenterio de la cavidad abdominal. Por otra parte, Caballero y Caballero (1975 citado por Resendez y Salvadores, 1983) describen un nuevo género y especie de tremátodo, *Neotropicotrema bychowsky*, pequeño parásito intestinal. En tanto que Resendez (1981 citado por Resendez y Salvadores, 1983) encontró en *A. tropicus* un ectoparásito del género *Argulus* sp. (Crustáceo Brachiuro) en las axilas pélvicas. Resendez y Salvadores (1983) reportan la ocurrencia de un Céstodo, *Proteocephalus* sp. Igualmente, se encontró un nemátodo enquistado bajo las escamas perteneciente al género *Cystoopsis* sp. Otro nemátodo que apareció en forma de larva del tercer estadio en mesenterios, musculatura e intestino fue *Contracaecum* sp. (Resendez y Salvadores, 1983). Entre los ectoparásitos que viven

en la superficie del cuerpo de *A. tropicus* se registraron dos crustáceos: *Argulus* sp. y *Ergasilus* sp. El primero suele encontrarse en las axilas de las aletas pares, pero en los pejelagartos examinados se encontró en la superficie del cuerpo. El segundo se encontró a nivel de las branquias.

Leon *et al.* (1978) reportan la incidencia de una enfermedad de origen bacteriano denominada "emblanquecimiento de la piel" en *A. tristoechus*, esta surge en forma masiva durante la captura y el traslado de los animales, llegando a provocar mortalidades masivas. Igualmente, menciona mortalidades de *A. tristoechus* por causa de Oodiniasis causada por *Oodinium*. Por otra parte, menciona la ocurrencia de parásitos del género *Argulus*, los cuales llegan a perforar la piel y como consecuencia se desarrollan procesos inflamatorios con hemorragias. Otro parásito reportado en el manjuari es *Laëmea*, éste ataca preferentemente a los alevines debilitándolos a causa de las heridas inflingidas.

1.2.9 CRECIMIENTO

Los lepisosteidos se encuentran entre los peces con mayor velocidad de crecimiento (Netch y Witt, 1962) y se encuentran entre las especies más grandes en el mundo que habitan las aguas continentales. Dentro de los lepisosteidos, la especie que alcanza mayor tamaño es el calán *A. spatula*. Para esta especie se han reportado tallas de hasta 304.8 cm TL y casi 140 kg de peso (Suttkus, 1963; Carlander, 1969). Morales (1987) menciona que la tasa de crecimiento de *A. spatula* en cautiverio es 76 cm/año. *A. tristoechus* llega a alcanzar hasta dos metros de largo (Leon *et al.*, 1978). Dentro de este contexto, se considera que *A. tropicus* es una especie relativamente pequeña. En efecto, la talla del pejelagarto varía de 37.7 a 90.5 cm y de 1.9 a 5 kg de peso (Chavez-Lomeli *et al.*, 1989) y en ocasiones llegan a la edad adulta en dos años, alcanzando un metro de longitud (Resendez y Salvadores, 1983). En este caso su precocidad para madurar limita la tallas finales.

Netch y Witt (1962), en un experimento de crecimiento efectuado con *L. osseus*, señalan la extraordinaria tasa de crecimiento que exhibieron los individuos, llegando a crecer 6 veces más por día que otros peces. Este crecimiento, principalmente en longitud, lo atribuyen entre otros factores a la forma del cuerpo, argumentando que los peces más esbeltos tienden a alargarse más que los robustos, a la gran cantidad de alimento que pueden consumir (10% de su peso por día) manteniendo, sin embargo, una eficiente utilización del alimento con una tasa de conversión alimenticia de 2.34 y a su relativa inactividad, por lo que la energía estaría canalizada hacia el crecimiento. En efecto, como se mencionó anteriormente, la inactividad que los caracteriza y por ende su carácter relativamente sedentario indican que no van en busca de sus presas, sino que esperan a que se encuentren en las proximidades para atacarlas (Pearson et al., 1979).

2.10 RELACION CON EL HOMBRE

A pesar de que se han contado muchas anécdotas acerca de la ferocidad del catán, hasta el momento no existen hechos documentados de ataques directos al hombre. La respuesta habitual cuando un catán es perturbado, es nadar hacia aguas más profundas. De acuerdo a Dean (1895), en el Sur de los Estados Unidos se crearon muchas leyendas sobre su supuesta ferocidad, con el fin de evitar que los negros entraran en los ríos en donde habitaban los catanes y así pudieran escapar. Según Rafinesque (<http://cedar.evansville.edu/~ck6/bstud/hugegar.html>) son capaces de matar un cocodrilo.

En muchas áreas *L. osseus* esta considerado no sólo como un pez desagradable y predador, sino como destructivo, ya que a menudo las redes agalleras y de arrastre se encuentran dañadas en las aguas salobres de Louisiana. Debido a esto, muchos pescadores los mutilan antes de arrojarlos de nuevo al agua (Suttkus, 1963). Una frase de Forbes y Richardson (1920 citado por Netch y Witt, 1962) muestra la apreciación de estos peces "... son una molestia, resultan totalmente inútiles y

destructivos en su relación con el hombre. De hecho tienen todos los vicios y ninguna de las virtudes de los peces predadores".

No obstante que se ha exhortado continuamente la erradicación de los lepisosteidos de sus hábitats naturales, aún queda por demostrar de manera clara, en que medida su reducción resultaría en un aumento o disminución de las especies de interés comercial o deportivo (Holloway, 1954).

Una de las maneras de diezmar las poblaciones de lepisosteidos ha sido incentivar la pesca deportiva del catán ("Gar fishing rodeos"), la cual se ha vuelto popular en los últimos años en Louisiana, Arkansas y Mississippi (Suttkus, 1963). En los Estados Unidos existe una asociación que reúne a todos aquellos interesados en la pesca del catán *Gar Anglers' Sporting Society* (<http://www.megsinet.net/~garman/>). En esta se dan detalles de las técnicas y artes de pesca necesarios para capturar diferentes lepisosteidos. Actualmente es común ver propaganda relacionada con la pesca de catán como uno de los atractivos turísticos de Costa Rica (<http://fishcostarica.com/charters.html>). Desde hace varios años se han venido describiendo diferentes métodos para capturarlos o simplemente matarlos, por ejemplo Holloway (1954) menciona diferentes técnicas de pesca para capturar a los lepisosteidos y señala que se atrapan disparándoles cuando salen a la superficie, con electricidad, con senas, con redes agalleras, con anzuelos, etc. Destaca igualmente la facilidad para capturarlos o matarlos en grandes cantidades haciendo uso de rotenona.

1.2.11 TOXICIDAD DE LOS HUEVOS

Existen evidencias que señalan que los huevos de los lepisosteidos son venenosos. A este respecto, Netch y Witt (1962) reportan que la ingestión de los huevos de *A. spatula* fue suficiente para matar a 90 gallinas. Además mencionan que no se presenta ingestión voluntaria, por lo que es necesario forzar a los animales experimentales a comerlos. Ni perros, ni gatos, ni gallinas los ingieren voluntariamente. Los huevos resultan igualmente tóxicos para los ratones. Sin embargo, en todos los

casos registrados, la toxicidad no afecta a los predadores naturales de las diferentes especies de lepisosteidos, por lo que algunos peces pueden ingerirlos sin complicaciones, como es el caso de *Lepomis macrochirus* y una carpa de río (*Carpoides carpio*), por lo que éstos peces están considerados como predadores naturales de *L. osseus*.

Dentro de las diferentes especies de lepisosteidos, las huevas de *L. osseus*, *L. oculatus* y *A. spatula* son particularmente tóxicas (Burns *et al.*, 1981). La hueva de las diferentes especies resultó en una mortalidad distinta sobre los ejemplares de langostino en los que se probó en ensayos de inyección y alimentación experimental. Se observó 100% de mortalidad con la hueva de *A. spatula*, 77% con la de *L. osseus* y 38% con la de *L. oculatus*. Se sabe que la toxina actúa sobre el corazón produciendo bradicardia, un efecto inotrópico negativo relacionado con la interferencia de flujo de Ca^{+2} en el músculo cardiaco.

Se ha postulado que la existencia de esta toxina tiene cierta relación con la ecología reproductiva de las especies de lepisosteidos. *L. oculatus* tiene huevos muy pequeños con matices verde-grisáceos que son desovados en áreas de densa vegetación. Por lo que en función de éstas características es probable que no se requiera de un alto nivel de toxicidad. En cambio, las otras dos especies (*L. osseus* y *A. spatula*) desovan huevos cuya pigmentación es más aparente y esto se lleva a cabo en áreas más desprotegidas, lo que sugiere la necesidad de una mayor toxicidad. El hecho de que la hueva sea tóxica limita su utilización en la producción de caviar como en el caso del esturión (Suttkus, 1963).

1.2.12 IMPORTANCIA

En el caso particular de Centro, Sudamérica y el Caribe, los lepisosteidos se consideran de importancia comestible, ocupando un lugar importante en la dieta de varias poblaciones (Contreras, 1987; Leon *et al.*, 1978; Morales, 1987).

Igualmente han tenido cierta importancia cultural. Así, en Norte y Centroamérica los indios han venido utilizando tradicionalmente las escamas ganoideas y los huesos para confeccionar puntas de flecha, instrumentos rituales y ornamentos (Suttkus, 1963). Se cree que los indios utilizaban su piel como armadura y las escamas como ornamentos e instrumentos rituales y para fabricar cabezas de flechas (León *et al.*, 1978). También se menciona que utilizaban la piel para forrar las hojas de los arados.

1.2.13 SITUACION ACTUAL DE LAS POBLACIONES DE LEPISOSTEIDOS

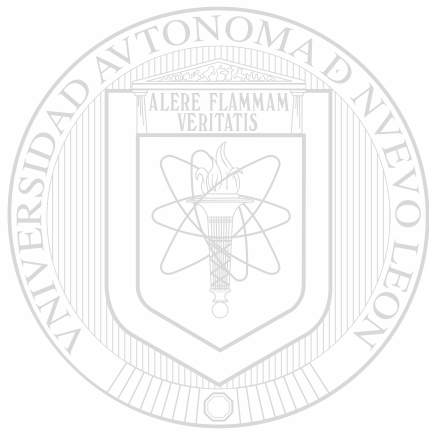
Debido a que los lepisosteidos se encuentran en el último eslabón de la cadena alimenticia, son potencialmente más susceptibles de sufrir de toxicidad aguda a través de la bioacumulación. Consecuentemente, resulta necesario muestrear tejidos de los ejemplares capturados, para confirmar la aparición de toxinas a niveles que puedan afectar adversamente la capacidad reproductiva o la sobrevivencia de los individuos.

La pérdida de las poblaciones de catán dejaría sin duda una triste huella dentro de la crisis actual por la que pasa la biodiversidad, ya que los catanes se encuentran entre los sobrevivientes de la ictiofauna que precedió el impacto del asteroide de Yucatán, el cual llevó a la extinción de los dinosaurios. Desafortunadamente, varios aspectos básicos de su biología con interés en la conservación se desconocen o apenas han sido explorados. Las preferencias de hábitats específicos, hábitos reproductivos, localización y prevalencia de sitios de desove y alevinaje, dietas en ambientes salobre o marinos, se desconocen. Estos y otros aspectos de la biología deben ser entendidos si se desea determinar con mayor precisión el estatus de la especie. Por el momento, es incierto el grado en el cual las poblaciones se encuentran amenazadas y el tipo de medidas específicas que se requieren para protegerlas.

Las áreas pantanosas en donde se les localiza han sido a menudo consideradas como indeseables, ya que contienen agua relativamente estancada y por que se consideran como un obstáculo para la navegación y la construcción de caminos. Hasta recientemente estas áreas se han venido rellenando para construir caminos y

desarrollar zonas habitacionales, lo que ha arruinado de manera crítica las zonas de desove. Consecuentemente, esta especie está potencialmente en un riesgo considerable de desaparecer en una gran parte del Golfo de México.

A partir de esta reflexión, se deriva la necesidad de realizar estudios prospectivos para determinar con precisión la abundancia de la especie en las aguas continentales aledañas al Golfo de México.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 2: DESCRIPCION MORFOLOGICA DE LARVAS DE CATAN (*Atractosteus spatula*) Y DE PEJELAGARTO (*A. tropicus*) EN CONDICIONES DE CULTIVO.

2.1 ANTECEDENTES

El cultivo de larvas de peces es un área de la acuicultura que se encuentra en crecimiento, de aquí que en la actualidad surja la necesidad de definir los requerimientos biológicos y físico-químicos de las especies con interés en cultivar. Sin embargo, en el caso de la mayoría de las larvas de peces se conoce poco acerca de su biología básica, incluyendo los factores ambientales que afectan su sobrevivencia y crecimiento (Holt, 1990). En los lepisosteidos, así como en los esturiones, el periodo que va de la eclosión hasta el inicio de la alimentación exógena puede ser tan largo como el desarrollo embrionario y es conocido como periodo pre-larval. Durante este periodo tanto la morfogénesis como la diferenciación son procesos muy intensos, lo que propicia que a menudo se desarrollen características con valor taxonómico. Al mismo tiempo, en este periodo es posible detectar defectos o malformaciones estructurales provocadas por diversas condiciones desfavorables durante el desarrollo. De lo anterior se deriva el considerable significado práctico de la descripción de los estados de desarrollo normal, ya que permite contar con una referencia al comparar distintos lotes de larvas mantenidos bajo condiciones diferentes, e igualmente hace posible estimar la calidad del lote y sus posibilidades de sobrevivencia. De aquí el interés de contar con una descripción lo más detallada posible, para de esta manera a través de los cambios morfológicos poder distinguir posibles alteraciones fisiológicas provocadas por cambios patológicos (Dettlaff *et al.*, 1993).

El desarrollo embrionario de los lepisosteidos, desde la fecundación hasta la eclosión, fue descrito por Dean (1895), quien además realizó una comparación con el desarrollo embrionario de los esturiones, destacando de su estudio que los lepisosteidos presentan un desarrollo embriológico con características intermedias entre los holosteos y teleósteos.

Otras descripciones de pre-larvas y larvas han sido realizadas para *Lepisosteus osseus*, *L. platostomus* y *L. oculatus* (Netsch y Witt, 1962; Pearson *et al.*, 1979; Yeager y Bryant, 1983; Simon y Wallus, 1989; Simon y Tyberghein, 1991). En el caso de *Atractosteus tropicus*, se han identificado 13 estadios de desarrollo embrionario y cuatro de pre-larvas, en base a la aparición de diferentes estructuras, sin embargo, las características morfométricas para los diferentes estadios no han sido detalladas (Marquez, 1998). Las larvas de *A. spatula* únicamente han sido caracterizadas por la presencia de una línea amarilla brillante a lo largo del dorso del hocico, en ejemplares menores de 15 mm, la cual se extiende hasta el origen de la aleta dorsal en ejemplares de 30 a 120 mm. Sin embargo, no han sido descritos los estadios de pre-larvas, y las descripciones morfométricas y de pigmentación de las larvas de esta especie se han basado solo con 11 larvas silvestres en total considerando todos los estudios realizados hasta el momento (Suttkus, 1963; May y Echelle, 1968; Echelle y Riggs, 1972; Moore *et al.*, 1973; Simon y Wallus, 1989).

En función de lo anterior se hace evidente la necesidad de contar con una descripción más detallada de los cambios morfológicos secuenciales de pre-larvas y larvas, particularmente considerando intervalos de longitud más estrechos ya que se requiere tomar en cuenta la transformación que experimentan para adquirir la forma del adulto, la cual se refleja principalmente en el hocico. Igualmente es importante tomar en cuenta la velocidad de crecimiento que tienen en los primeros estadios ya que son considerados entre los peces de agua dulce con mayor velocidad de crecimiento (Netsch y Witt, 1962). De esta forma, mediante las características morfológicas, sería posible evaluar la adecuación de las condiciones de cultivo en que son mantenidos diferentes lotes de larvas. A este respecto, ya ha sido probado que el análisis de características morfométricas puede determinar la condición nutricional de larvas de peces y que este método puede ser tan sensible como el examen de ciertas características histológicas (Theilacker, 1978).

2.2 MATERIAL Y METODO

2.2.1 ORGANISMOS EXPERIMENTALES

Larvas y huevos de *A. spatula* fueron obtenidos de un lote de 25 reproductores mantenidos en cautiverio en el Centro Acuícola Tancol de la SEMARNAP en Tampico, Tamaulipas. Los reproductores fueron colocados el 31 de Mayo de 1998 en 2 estanques rústicos de 30 X 20 m con una profundidad de 1 m, los cuales fueron previamente preparados con una cama de ramas de *Casuarina sp.* al rededor del estanque. Durante la siguiente noche se produjo el cortejo y puesta de huevos, los cuales quedaron adheridos a las ramas.

Con la finalidad de contar con otro punto de comparación se decidió estudiar también larvas de pejelagarto en esta fase. Para este efecto, fueron colectados huevos de *A. tropicus* el 5 de septiembre de 1998 en las zonas de inundación del Ejido Rio Playa, Comalcalco, Tabasco. Los huevos fueron trasladados al Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para ser incubados.

2.2.2 CONDICIONES EXPERIMENTALES

A partir de la eclosión las larvas fueron colocadas en 4 canaletas de fibra de vidrio de 230 cm de largo, 70 cm de ancho y 30 cm de altura, con un volumen de agua de 480 L. Se estableció una densidad inicial de 500 larvas por canaleta, aproximadamente una larva/litro. La temperatura del agua se mantuvo a 27 ± 1 °C y se proporciono aire mediante un compresor para mantener los niveles de oxígeno disuelto a 6 ± 1 ppm.

En el momento en que las larvas iniciaron la alimentación exógena, se suministraron nauplios de *Artemia salina* de la variedad *San Fransico Bay* recién eclosionados. Los nauplios se ofrecieron en dos raciones diarias, de tal forma que siempre existiera un exceso para que las larvas se alimentaran *ad libitum*. Una de las

canaletas fue mantenida sin alimentación, con el fin de evaluar el efecto de la inanición sobre el desarrollo larval.

2.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

A partir de la eclosión se tomó una muestra de 10 larvas/canaleta a intervalos de 12 h hasta el día 4, y después de este día cada 24 h hasta el día 15. Las larvas fueron pesadas individualmente en una balanza OHAUS con un grado de precisión de 0.1 mg y fijadas en líquido de Bouin. Las características morfométricas fueron tomadas utilizando un micrómetro ocular y un vernier con un grado de exactitud de 0.1 mm. Para la descripción se consideraron 20 características morfométricas y 5 merísticas determinadas para cada espécimen, siguiendo la metodología utilizada por Simon y Wallus (1989) y Simon y Tyberghein (1991) para larvas de lepisosteidos (Figura 2.1). La descripción de las características se llevo a cabo utilizando intervalos de longitud total separados en base a la aparición o presencia de una estructura determinada. Los intervalos de longitud fueron analizados mediante un análisis discriminante por el método Stepwise, utilizando el paquete computacional SPSS versión 5.0, para elucidar las características que identificaban mejor los estadios y el grado de separación entre estos.

Las larvas mantenidas en inanición fueron comparadas con larvas alimentadas de la misma edad, así como con larvas alimentadas correspondientes al mismo intervalo de longitud total, de acuerdo a la descripción anterior. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, para determinar las eventuales diferencias significativas que se pudieran presentar entre las variables morfométricas y mediante un análisis discriminante por el método Stepwise para determinar las características que pudieran ser utilizadas para evaluar la condición nutricional de las larvas.

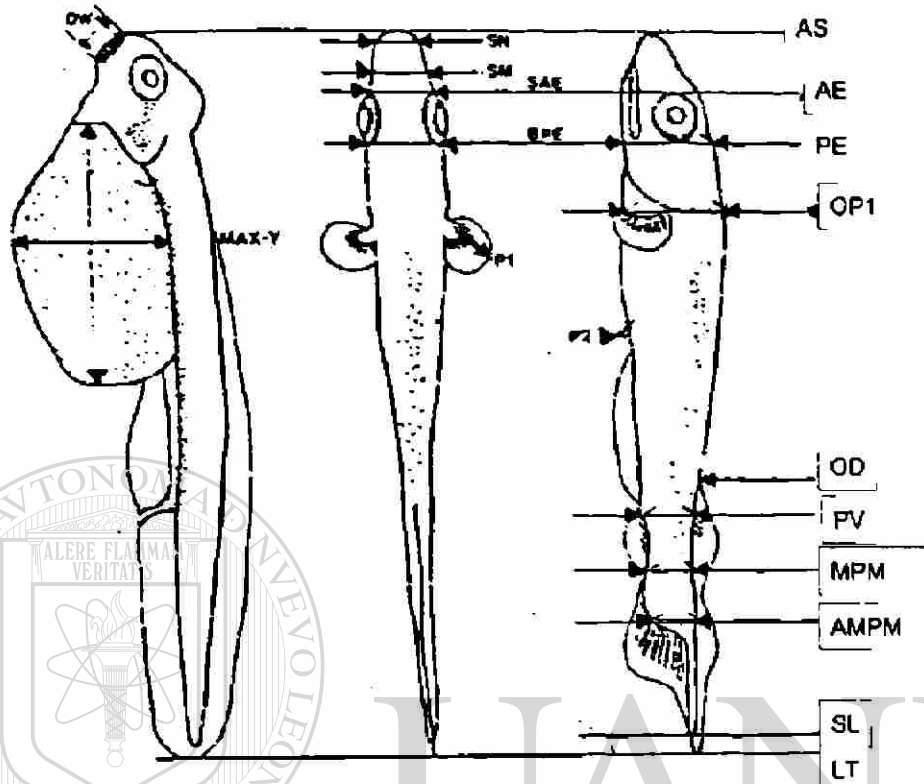


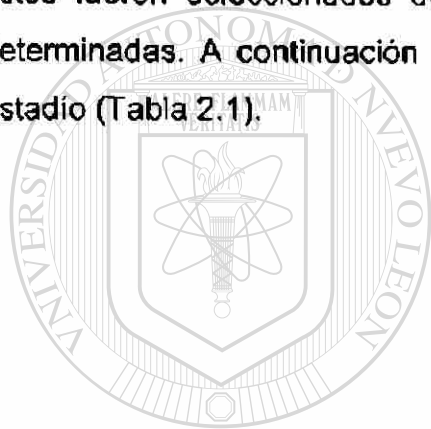
Figura 2.1 Características morfométricas utilizadas para larvas de lepisosteidos (Simon y Wallus, 1989). Longitud total (AS - LT); longitud del hocico (AS - AE); diámetro ocular (AE - PE); longitud cefálica (AS - OP1); longitud predorsal (AS - OD); longitud estándar (AS - SL); longitud del saco vitelino (MAX-Y); longitud aleta pectoral (P1); longitud aleta pélvica (P2); altura cefálica en los ojos (PE); altura pectoral (OP1); altura preanal (PV); altura postanal (MPM); altura del pedúnculo caudal (AMPM); altura del saco vitelino (MAX-Y); ancho al inicio del hocico (SN); ancho medio del hocico (SM); ancho anterior a los ojos (SAE); ancho cefálico (BPE); ancho del disco (DW).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 CARACTERÍSTICAS DE *Atractosteus spatula*

Huevos: Los huevos son esféricos, demersales, adhesivos y tienen un diámetro promedio de 4 mm. Son de color blanco inicialmente y posteriormente opaco, debido a las partículas de fango que se adhieren. La temperatura de incubación fue de $31\pm 1^{\circ}\text{C}$, lo que propició que la eclosión de las larvas iniciara a partir de las 48 horas.

Morfología: Los estadios y los intervalos de longitud total para cada uno de estos fueron seleccionados de acuerdo a la aparición o presencia de estructuras determinadas. A continuación se presentan las principales características para cada estadio (Tabla 2.1).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

	Intervalos de Longitud Total (LT) (mm)					
	6.6 - 8.8 (N = 10)	9.2 - 13.5 (N = 17)	14.2 - 19.2 (N = 13)	19.5 - 22.5 (N = 11)	23.0 - 32.0 (N = 8)	34.8 - 50.0 (N = 5)
Estadio	I	II	III	IV	V	VI
Característica	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD
Longitud, % de LT, como:						
Longitud del Hocico	5.8 ± 0.3	6.0 ± 0.5	7.4 ± 0.8	9.9 ± 0.6	14.2 ± 1.6	15.3 ± 0.4
Diámetro Ocular	4.9 ± 0.9	6.8 ± 0.5	6.1 ± 0.2	5.8 ± 0.2	5.6 ± 0.5	6.2 ± 0.6
Longitud Cefálica (HL)	17.3 ± 4.5	25.6 ± 3.2	26.0 ± 1.2	27.8 ± 1.5	29.5 ± 1.3	30.7 ± 0.7
Longitud Predorsal	41.5 ± 4.2	47.3 ± 8.1	60.4 ± 1.7	61.6 ± 2.1	64.4 ± 1.0	67.0 ± 1.5
Longitud Preanal	74.5 ± 2.4	66.4 ± 2.9	61.7 ± 1.0	62.7 ± 1.5	65.1 ± 1.2	67.5 ± 1.1
Longitud Estándar	98.8 ± 0.9	99.0 ± 0.3	96.6 ± 3.7	91.7 ± 1.3	95.5 ± 1.8	95.1 ± 0.8
L. Saco Vitelino	37.7 ± 1.7	31.0 ± 6.0				
Longitud de aletas, % de LT						
Pectoral	2.4 ± 0.2	3.5 ± 1.5	7.6 ± 1.0	7.9 ± 0.3	6.7 ± 0.5	6.0 ± 0.3
Pélvica			1.6 ± 0.6	3.6 ± 0.6	5.1 ± 0.9	5.8 ± 0.3
Altura Corporal, % de LT						
Altura Cefálica en los ojos	10.3 ± 3.2	12.0 ± 1.9	13.6 ± 1.2	11.2 ± 0.9	8.1 ± 1.5	8.8 ± 0.6
Altura Pectoral	38.8 ± 1.4	21.3 ± 4.6	13.8 ± 1.8	11.5 ± 0.8	11.3 ± 0.7	11.3 ± 0.5
Altura Preanal	9.6 ± 1.8	9.4 ± 0.8	7.4 ± 2.0	7.7 ± 0.6	8.5 ± 0.8	9.3 ± 0.4
Altura Postanal	7.3 ± 0.7	7.6 ± 0.6	5.5 ± 1.4	6.7 ± 1.2	6.8 ± 0.9	7.3 ± 0.4
Altura Pedúnculo Caudal	4.8 ± 0.9	6.8 ± 1.0	4.6 ± 1.4	6.3 ± 0.7	7.5 ± 0.7	7.5 ± 0.7
Altura del Saco Vitelino	28.9 ± 1.5	14.3 ± 6.7				
Ancho corporal, % de HL						
Inicial del Hocico	44.3 ± 9.9	22.3 ± 2.9	22.7 ± 5.1	18.6 ± 2.7	14.8 ± 0.4	16.9 ± 1.8
Medio del Hocico	36.9 ± 7.7	21.4 ± 2.9	26.1 ± 4.2	26.6 ± 1.6	22.8 ± 2.1	24.2 ± 1.7
Anterior a los Ojos	44.4 ± 9.9	25.4 ± 2.7	33.1 ± 3.3	31.3 ± 1.8	29.1 ± 2.9	30.3 ± 1.7
Ancho Cefálico	47.3 ± 7.5	30.7 ± 5.6	38.6 ± 4.8	36.2 ± 1.7	33.4 ± 2.4	33.2 ± 1.1
Ancho del Disco	44.3 ± 9.9	20.2 ± 4.2				
Conteo de Radios						
Pectoral	0	0	2 - 6	6	6	6
Pelvica	0	0	0	0	1 - 4	4 - 5
Dorsal	0	0	0	1 - 5	5 - 6	7 - 8
Anal	0	0	0	3 - 6	5 - 7	7 - 8
Caudal	0	0	3 - 8	8 - 10	10	10

Tabla 2.1.- Morfometría de larvas de Catán (*Atractosteus spatula*) agrupadas por intervalos seleccionados de longitud total (LT) (N = tamaño de la muestra). Las características son expresadas como porcentaje de longitud total (%LT) o longitud cefálica (%HL), con desviación estándar.

Estadio I: Las larvas recién eclosionadas presentaron una longitud de 6.6 a 8.8 mm y pesaron de 11.4 a 12.8 mg. En las larvas de este estadio el hueco de la boca o estomodeo esta presente, la boca esta abierta y una capa óptica no pigmentada cubre los ojos. La larva aún no presenta el hocico alargado característico del adulto y el primordio de hocico se encuentra modificado como un órgano papiloso adhesivo o disco suctorial, el cual les permite permanecer adheridas a la vegetación hasta que es absorbido el saco vitelino. La cabeza se encuentra ligeramente desviada sobre el saco vitelino, el cual es de gran tamaño y ligeramente ovalado. El pliegue de las aletas impares es continuo desde la parte dorsal, a la altura de las yemas de las aletas pectorales y desde la parte ventral, adelante del ano en la parte posterior del saco vitelino, hasta la parte caudal. Las yemas de las aletas pectorales se pueden observar en la parte dorsal del saco vitelino (Figura 2.2).

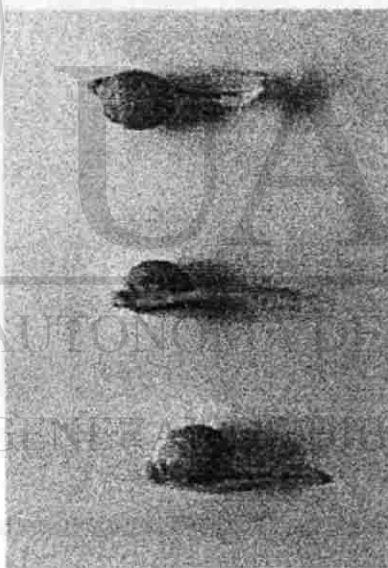
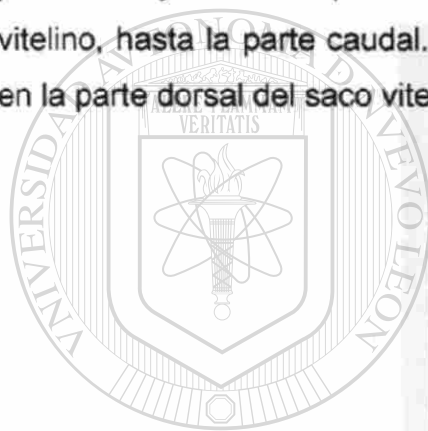
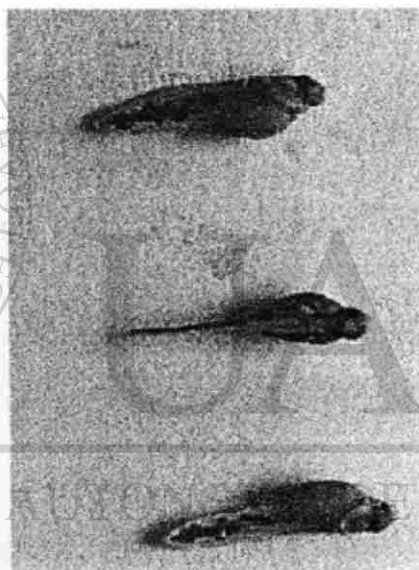
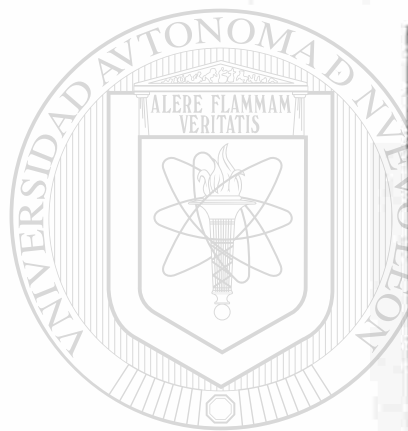


Figura 2.2.- Larvas de catán de 7.3 mm de longitud total (LT), recién eclosionadas.

Estadio II: A los 3 días después de la eclosión (DDE), cuando las larvas tienen de 9.2 a 13.5 mm el saco vitelino se ha reducido, principalmente en su altura, adoptando una forma ovalada con el extremo anterior redondeado y el extremo posterior angulado, en este momento se puede observar una red de venas a lo largo del saco vitelino. La cabeza adquiere una posición horizontal. La boca se ha formado y el disco suctorial se reduce. Los opérculos son grandes extendiéndose sobre los costados del saco vitelino. La base del pliegue de la aleta dorsal se va recorriendo progresivamente hacia la parte posterior (Figura 2.3).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

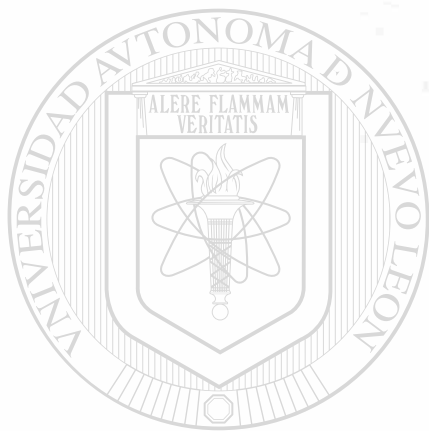
Figura 2.3.- Larva de catán de 11.6 mm LT (3 DDE).

Estadio III: A partir de los 14.2 mm el disco suctorial desaparece y el saco vitelino se reduce considerablemente, por lo cual la forma de la larva se vuelve alargada. En este momento la larva se ha desprendido de la vegetación para nadar libremente y comienza a ingerir alimento. A partir de esta talla también se puede apreciar el inicio de la formación de las yemas de las aletas pélvicas y los radios en las aletas pectorales y caudal. El opérculo cubre la base de las aletas pectorales y el hocico comienza a adquirir su forma alargada característica. La base de la aleta dorsal se encuentra a la altura del ano. Aún permanece un pequeño pliegue entre la aleta caudal y la dorsal y anal, mientras que el pliegue entre la aleta anal y las aletas pélvicas es más evidente (Figura 2.4).



Figura 2.4.- Larvas de catán de 17.7 mm LT (5 DDE).

Estadio IV: De 19.5 mm a 22.5 mm continúa alargándose la forma del hocico, inicia la formación de los radios en las aletas dorsal y anal, y se completa la formación de los radios en las aletas pectorales y caudal (Figura 2.5).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

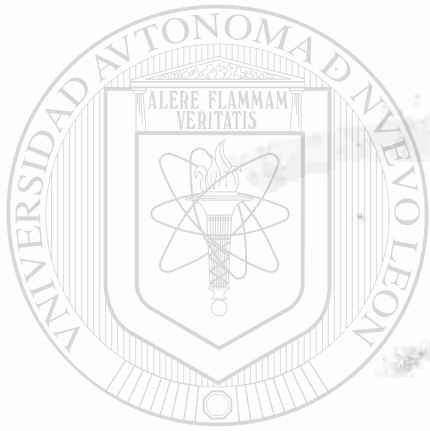
Figura 2.5.- Larvas de catán de 20.5 mm LT (8 DDE).



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Estadio V: Cuando la larva alcanza los 23 mm de longitud total inicia la formación de los radios en las aletas pélvicas (Figura 2.6).

...del cuerpo, el tallo de los organos han adquirido la forma ... de la especie (Figura 2.7).



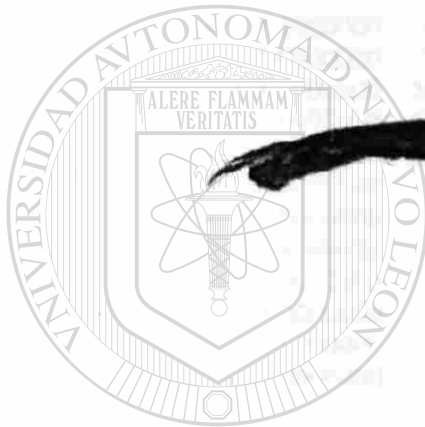
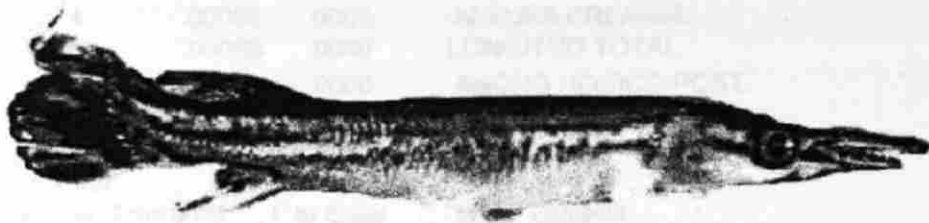
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Figura 2.6.- Larvas de catán de 30.0 mm LT (12 DDE).

Estadio VI: La formación de los radios en las aletas dorsal, anal y pélvicas se completa cuando la larva alcanza los 35 mm, en este momento también termina el alargamiento del hocico. A los 50 mm los organismos han adoptado la forma característica de la especie (Figura 2.7).



UANL

Figura 2.7.- Larvas de catán de 50 mm LT (15 DDE).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Como se mencionó anteriormente, el criterio para la separación entre los intervalos de longitud está basado en el inicio de la aparición de diferentes estructuras (e.g. radios en aletas), sin embargo, al ser estos criterios seleccionados en base a la apreciación del observador, no representan necesariamente estadios del desarrollo larval. No obstante, al ser sometidas las variables morfométricas a un Análisis Discriminante por el método Stepwise, se observa que los seis estadios utilizados pueden ser distinguidos mediante estas variables y que el 100 % de los casos fue agrupado correctamente en el estadio designado. Por otra parte, el análisis muestra que las características que pueden ser utilizadas para diferenciar los estadios en orden de importancia son: la longitud del hocico, la altura cefálica en las pectorales, la altura preanal, la longitud total y el ancho del hocico antes de los ojos (Tabla 2.2).

SPSS DISCRIMINANT ANALYSIS
Summary Table

Action Step	Vars Entered	Vars Removed	Wilks' Lambda	Sig.	Label
1	AE	1	.04644	.0000	LONG. HOCICO
2	POL	2	.00498	.0000	ALTURA CEFALICA EN PECTOPRAL
4	BPV	4	.00050	.0000	ALTURA PREANAL
5	TL	5	.00025	.0000	LONGITUD TOTAL
6	SAE	6	.00016	.0000	ANCHO HOCICO POST.

Variables not in the Analysis after Step 0

Variable	Minimum Tolerance	Tolerance	F to Enter	Wilks' Lambda
MPM	1.0000000	1.0000000	6.0329727	.6499169
OP1	1.0000000	1.0000000	24.4659928	.3140246
POL	1.0000000	1.0000000	150.9266005	.0690818
TL	1.0000000	1.0000000	153.2684908	.0680982
AE	1.0000000	1.0000000	229.9662666	.0464410
BPE	1.0000000	1.0000000	9.7164217	.5354644
BPV	1.0000000	1.0000000	5.2040343	.6827589
AMPM	1.0000000	1.0000000	13.2741402	.4576259
SN	1.0000000	1.0000000	43.9391421	.2031225
SM	1.0000000	1.0000000	20.5128115	.3531696
SAE	1.0000000	1.0000000	22.7746353	.3296577
BPE1	1.0000000	1.0000000	15.7039607	.4162956

Classification results -

Actual Group	No. Of Cases	Predicted Group Membership					
		1	2	3	4	5	6
Group 1	10	10	0	0	0	0	0
		100.0%	.0%	.0%	.0%	.0%	.0%
Group 2	17	0	17	0	0	0	0
		.0%	100.0%	.0%	.0%	.0%	.0%
Group 3	13	0	0	13	0	0	0
		.0%	.0%	100.0%	.0%	.0%	.0%
Group 4	11	0	0	0	11	0	0
		.0%	.0%	.0%	100.0%	.0%	.0%
Group 5	6	0	0	0	0	6	0
		.0%	.0%	.0%	.0%	100.0%	.0%
Group 6	5	0	0	0	0	0	5
		.0%	.0%	.0%	.0%	.0%	100.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 100.00%

Tabla 2.2.- Resultado del análisis discriminante para las características morfométricas entre los estadios seleccionados para larvas de catán.

Pigmentación: La pigmentación de la larva recién eclosionada (Estadio I) es muy escasa predominando el color blanco del saco vitelino. Se observa cierta pigmentación oscura en la parte dorsal de la cabeza. Lateralmente se extiende una línea media oscura desde el opérculo, la cual continua por la parte dorsal del saco vitelino, alrededor de las yemas de las aletas pectorales volviéndose difusa en toda esta sección. A partir de la parte posterior del vitelo la línea se vuelve más definida, presentando posteriormente dos proyecciones que simulan las aletas anal y caudal (Figura 2.2).

Quando la larva tiene de 9.2 mm a 13.5 mm (Estadio II) el vitelo presenta una coloración amarillo pálido. La cabeza es negra incluyendo los opérculos, excepto por una línea blanca en la parte media ventral que llega hasta el saco vitelino. En la parte dorsal del cuerpo se extiende una franja gris con márgenes blancos que va desde la cabeza hasta la parte posterior del saco vitelino. Las líneas negras en los costados son más marcadas y más anchas con otra proyección que simula también la aleta dorsal (Figura 2.3).

En el Estadio III la pigmentación esta constituida por áreas negras en la mayor parte de los costados, el vientre es igualmente gris y la región dorsal es gris con los márgenes blancos. La extensión y contraste de las áreas claras y oscuras pueden presentar cierta variación. El hocico presenta áreas claras en la parte dorsal y ventral con los márgenes oscuros, siendo más intenso el contraste en la parte dorsal. Las aletas pectorales, las pélvicas y los restos de pliegues entre las aletas son claros, mientras que las aletas dorsal, caudal y anal presentan los márgenes claros y el resto es de color negro, el cual se extiende desde los costados. En los costados, una franja clara se extiende desde los ojos hasta aproximadamente la altura de las aletas pélvicas, esta varía en grosor pudiendo unirse parcial o totalmente con los márgenes claros del dorso (Figura 2.4). Sin embargo, durante el Estadio IV esta franja puede extenderse hasta la aleta caudal mediante puntos aislados que varían en tamaño. Por otra parte, en este intervalo de longitud, el patrón de coloración permanece igual solo

que tiende a disminuir la intensidad de las áreas de color negro o gris, así como el contraste entre las áreas claras y oscuras (Figura 2.5).

Durante el Estadio V los márgenes claros de la parte dorsal tienden a desaparecer y la mayor parte del cuerpo toma una coloración gris con diferentes tonalidades. Las áreas que permanecen completamente claras son las aletas pectorales, las pélvicas, los márgenes de las aletas impares, una franja debajo de los ojos, otra franja en la parte ventral del hocico y la línea en la parte dorsal del hocico, la cual tiende a extenderse hasta la aleta dorsal (Figura 2.6). Esta línea dorsal es más claramente distinguible y brillante durante el Estadio VI. Por otra parte, aparecen áreas claras en las aletas impares, la parte ventral es clara y la dorsal gris (Figura 2.7). La línea clara brillante a lo largo del dorso, la cual ha sido utilizada para diferenciar larvas de *A. spatula*, desaparece en ejemplares mayores de 130 mm.

Velocidad de crecimiento: El crecimiento, en función del peso y longitud total, de las larvas de catán a partir de la eclosión se puede observar en la Figura 2.8.

Las larvas permanecieron adheridas hasta el cuarto día después de la eclosión y a partir del siguiente día nadaron libremente e iniciaron la ingestión de alimento (nauplios de *Artemia*). Sin embargo, no fue sino hasta el octavo día en que se observaron diferencias en el crecimiento con respecto a las larvas mantenidas sin alimento exógeno, por lo cual es probable que las reservas de vitelo se agoten hasta este momento.

Por otra parte, en las larvas que recibieron alimento, el crecimiento se mantuvo constante durante los primeros 10 días a una tasa de 1.55 mm/día y a partir de este momento la velocidad de crecimiento se aceleró alcanzando una tasa de 5.06 mm/día en los siguientes 6 días, así alcanzaron 50 mm de longitud total en 15 días a partir de la eclosión. En contraste con lo anterior, las larvas que no recibieron alimento

detuvieron su crecimiento desde el octavo día, produciéndose la mayor mortalidad entre los días 13 y 15 sin llegar a sobrevivir más allá de éste día.

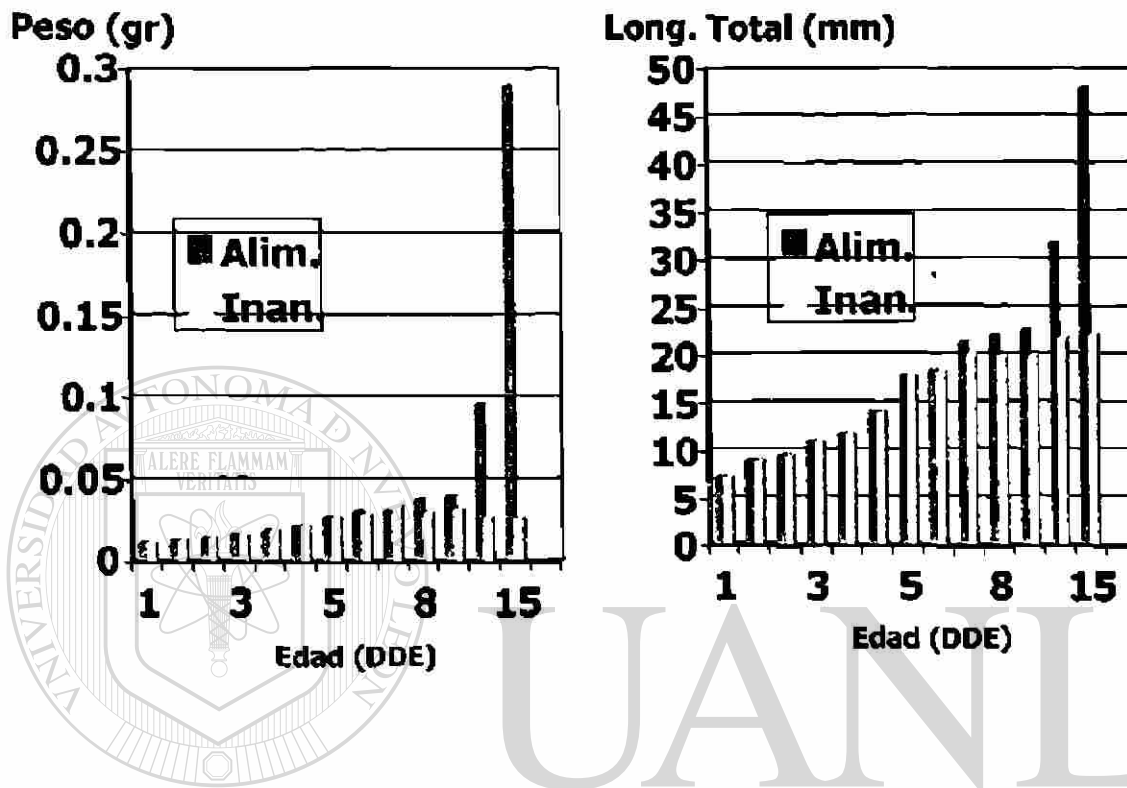


Figura 2.8. Crecimiento de larvas de *Atractosteus spatula* a partir de la eclosión, alimentadas y en inanición.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Efecto de la inanición sobre la morfología de larvas: Las larvas que fueron mantenidas sin alimento detuvieron su crecimiento entre los 19.0 mm y 21.5 mm de longitud total ($X = 19.95 \pm 0.75$; $n = 25$) (Figura 2.9). Considerando que gracias a las reservas de vitelo estas se pudieron mantener hasta el octavo día después de la eclosión (tercer día de alimentación exógena) se explica que la ausencia de alimento exógeno no haya producido alteraciones significativas en la morfología de las larvas durante este periodo. No obstante, después del décimo día, cuando la velocidad de crecimiento se incrementa considerablemente y no existen más reservas de vitelo, la falta de alimento exógeno se refleja rápidamente en la longitud total de las larvas, así

como en la mayoría de las variables morfométricas, al ser comparadas con organismos de la misma edad que recibieron alimento.

En el caso de contar con larvas cuya edad o historia nutricional se desconoce (e.g. larvas silvestres) la comparación necesariamente tendría que realizarse con larvas de igual longitud total de un patrón de referencia, siendo en este caso el presentado en la Tabla 2.1. De esta forma al realizar un análisis Discriminante por el método Stepwise, entre las larvas en inanición con las larvas del Estadio IV (19.5 - 22.5 mm TL), se encontró que la altura preanal es la variable con mayor peso al determinar la condición nutricional de larvas con igual longitud total (Tabla 2.3).

DISCRIMINANT ANALYSIS -----
Summary Table

Step Entered	Action	Vars Removed	Wilks' Lambda	Sig.	Label
1	BPV	1	.39243	.0000	Altura preanal
2	BPE	2	.14847	.0000	Altura corporal en ojos
3	BPE1	3	.11523	.0000	Ancho cabeza
4	SN	4	.08874	.0000	Ancho inicio hocico
5	SAE	5	.06610	.0000	Ancho en ojos

----- Variables not in the Analysis after Step 0 -----

Variable	Minimum Tolerance	Tolerance	F to Enter	Wilks' Lambda
SAE	1.0000000	1.0000000	3.8188383	.7896209
SM	1.0000000	1.0000000	7.1303649	.6677942
SN	1.0000000	1.0000000	12.0495459	.5432816
MPM	1.0000000	1.0000000	7.4367429	.6583961
OP1	1.0000000	1.0000000	13.0615596	.5232119
OP1	1.0000000	1.0000000	3.1433930	.8201383
AMPM	1.0000000	1.0000000	15.1214602	.4866214
BPE	1.0000000	1.0000000	9.9711012	.5897415
BPE1	1.0000000	1.0000000	9.0230312	.6136800
BPV	1.0000000	1.0000000	22.1914123	.3924280

Tabla 2.3.- Resultado del análisis discriminante para las características morfométricas entre larvas de catán alimentadas y en inanición.

Por otra parte, se observó que las larvas en inanición presentaban las áreas de pigmentación negras o grises más intensas y extendidas, pudiendo cubrir la mayor parte del cuerpo de la larva y al mismo tiempo se apreciaba un menor contraste con las restantes áreas claras, ya que estas perdieron la mayor parte del brillo. Por lo cual esta característica puede ser utilizada como un primer indicador de la condición nutricional de las larvas de catán (Figura 2.10).



Figura 2.10.- larva de 20 mm de longitud total (12 DDE) mantenida sin alimentación exógena.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

2.3.2 CARACTERÍSTICAS DE *Atractosteus tropicus*

Morfología: Las características morfométricas de las larvas de pejelagarto se presentan en la Tabla 2.4 y las características utilizadas para la separación de los estadios se presentan a continuación:

	Longitud Total (TL) intervalos (mm)					
	6.8 - 9.0 (N = 12)	9.6 - 12.1 (N = 14)	12.5 - 13.8 (N = 10)	14.5 - 21.8 (N = 18)	22.0 - 36.0 (N = 6)	38.3 - 60.3 (N = 10)
Estadio	I	II	III	IV	V	VI
Característica	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD
Longitud, % de LT, como:						
Longitud del Hocico	5.0 ± 1.6	6.8 ± 0.4	7.5 ± 0.4	10.6 ± 1.2	13.8 ± 2.2	18.4 ± 1.0
Diámetro Ocular	6.0 ± 0.7	6.8 ± 0.4	6.8 ± 0.2	5.9 ± 0.7	5.9 ± 0.5	5.8 ± 0.3
Longitud Cefálica (HL)	23.4 ± 2.9	29.4 ± 1.2	28.3 ± 1.2	27.6 ± 1.6	29.4 ± 1.9	32.2 ± 1.1
Longitud Predorsal	37.0 ± 4.0	51.6 ± 3.5	57.3 ± 1.0	62.9 ± 4.5	67.0 ± 3.2	70.4 ± 1.6
Longitud Preanal	66.4 ± 2.0	63.9 ± 1.7	61.8 ± 2.0	64.1 ± 3.6	67.0 ± 3.2	69.7 ± 1.4
Longitud Estándar	98.3 ± 0.8	98.1 ± 0.4	98.0 ± 0.6	95.6 ± 3.6	96.0 ± 1.6	95.6 ± 3.5
L. Saco Vitelino	38.3 ± 3.5	26.3 ± 2.4				
Longitud de aletas, % de LT						
Pectoral	1.4 ± 0.4	4.9 ± 1.9	7.6 ± 0.2	6.7 ± 0.9	6.0 ± 0.7	5.1 ± 0.4
Pélvica			0.7 ± 0.02	1.5 ± 0.9	4.3 ± 0.4	5.3 ± 1.0
Altura Corporal, % de LT						
Altura Cefálica en Ojos	8.6 ± 2.0	14.0 ± 3.1	14.9 ± 0.2	11.8 ± 0.9	9.9 ± 0.9	8.2 ± 0.9
Altura Pectoral	31.5 ± 2.8	21.4 ± 2.9	16.2 ± 0.6	12.3 ± 0.9	11.5 ± 0.8	9.5 ± 1.0
Altura Preanal	6.4 ± 1.2	7.6 ± 0.6	9.0 ± 0.7	10.0 ± 0.7	8.9 ± 0.5	8.4 ± 1.5
Altura Postanal	5.2 ± 1.2	7.0 ± 0.7	8.0 ± 0.5	8.8 ± 0.5	7.6 ± 0.8	6.4 ± 0.5
Altura Pedúnculo caudal	3.6 ± 1.3	5.8 ± 1.0	7.3 ± 0.8	8.5 ± 0.6	8.2 ± 0.7	7.2 ± 0.7
Altura del Saco Vitelino	25.0 ± 2.2	11.0 ± 3.3				
Ancho corporal, % de HL						
Inicial del Hocico	35.7 ± 9.7	24.8 ± 4.1	24.5 ± 1.9	18.8 ± 1.3	14.4 ± 1.6	11.2 ± 1.3
Medio del Hocico	35.7 ± 9.7	29.5 ± 4.3	28.8 ± 2.5	26.6 ± 2.3	20.2 ± 2.3	17.4 ± 1.9
Anterior a los Ojos	35.7 ± 9.7	30.4 ± 3.4	37.3 ± 4.6	34.2 ± 5.6	25.8 ± 3.1	22.8 ± 1.9
Ancho Cefálico	35.7 ± 9.7	43.8 ± 8.7	51.5 ± 3.9	44.2 ± 4.0	36.6 ± 4.1	26.9 ± 2.2
Ancho del Disco	23.9 ± 9.7	18.8 ± 5.1				
Conteo de radios						
Pectoral	0	0	2 - 3	3 - 5	5 - 5	5 - 5
Pelvica	0	0	0	0	1 - 4	5 - 6
Dorsal	0	0	0	1 - 5	3 - 6	6 - 7
Anal	0	0	0	1 - 5	5 - 7	6 - 7
Caudal	0	0 - 2	3 - 6	7 - 10	10	10

Tabla 2.4.- Morfometría de larvas de Pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) agrupadas por intervalos seleccionados de longitud total (LT), (N = tamaño de la muestra). Las características son expresadas como porcentaje de longitud total (%LT) o de longitud cefálica (%HL), con desviación estándar.

Estadio I: La morfología de las larvas recién eclosionadas es muy semejante a la descrita para el catán. Presentaron una longitud de los 6.8 a 9.0 mm. El pliegue de las aletas impares es continuo. Las yemas de las aletas pectorales se pueden observar en la parte dorsal del saco vitelino.

Estadio II: De los 9.6 a los 12.1 mm se reduce la altura del saco vitelino, el opérculo aumenta considerablemente de tamaño cubriendo las aletas pectorales, aparece el primer par de orificios en el hocico y la base del pliegue dorsal se corre hacia atrás.

Estadio III: De los 12.5 a los 13.8 mm la larva comienza a nadar libremente. Aparecen las yemas de las aletas pélvicas, inicia la formación de radios en las aletas pectorales y en la caudal. Aparece el segundo par de orificios en el hocico y las aletas pectorales sobresalen de los opérculos.

Estadio IV: De los 14.5 a los 21.8 mm inicia la formación de los radios de las aletas dorsal y anal y el hocico empieza a alargarse.

Estadio V: A los 22.0 mm inicia la formación de los radios en las aletas pélvicas y termina la formación de los radios en las aletas pectoral y caudal.

Estadio VI: A los 38.3 mm finaliza la formación de radios en las aletas dorsal, anal y en las pélvicas. Entre los 40 y los 60 mm finaliza la formación del hocico.

El Análisis Discriminante por el método Stepwise, mostró que los seis estadios utilizados pueden ser distinguidos mediante estas variables y que un 91.4 % de los casos fueron agrupados correctamente en el estadio designado. Por otra parte, las características que tienen mayor peso para diferenciar los estadios fueron iguales que en el caso del catán (Tabla 2.5).

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

Summary Table

Step	Action Entered	Vars Removed in	Wilks' Lambda	Sig.	Label
1	AE	1	.06822	.0000	LONG HOCICO
2	AMPM	2	.02053	.0000	ALTURA PEDUNCULO
3	BPE	3	.00818	.0000	ALTURA CEFALICA EN OJOS
4	SN	4	.00433	.0000	ANCHO HOCICO ANTERIOR
5	TL	5	.00245	.0000	LONG. TOTAL
6	SM	6	.00144	.0000	ANCHO HOCICO MEDIO
7	SAE	7	.00073	.0000	ANCHO HOCICO POSTERIOR
8	AMPM	6	.00088	.0000	ALTURA PEDUNCULO
9	BPE1	7	.00064	.0000	ANCHO CABEZA
10	BPV	8	.00047	.0000	ALTURA PREANAL
11	OPI	9	.00033	.0000	LONG CEFALICA

----- Variables not in the Analysis after Step 0 -----

Variable	Minimum Tolerance	Tolerance	F to Enter	Wilks' Lambda
AE	1.0000000	1.0000000	174.8314785	.0682188
AMPM	1.0000000	1.0000000	42.6893486	.2306749
BPE	1.0000000	1.0000000	27.9494983	.3141143
BPE1	1.0000000	1.0000000	18.5478275	.4083218
BPV	1.0000000	1.0000000	23.7796765	.3499211
OPI	1.0000000	1.0000000	28.2147210	.3120831
SAE	1.0000000	1.0000000	11.3625287	.5297459
SM	1.0000000	1.0000000	21.2267933	.3761741
SN	1.0000000	1.0000000	42.8298947	.2300921
TL	1.0000000	1.0000000	165.9617420	.0716037

Classification results -

Actual Group	No. Of Cases	Predicted Group Membership					
		1	2	3	4	5	6
Group 1	12	12	0	0	0	0	0
		100.0%	.0%	.0%	.0%	.0%	.0%
Group 2	14	3	11	0	0	0	0
		21.4%	78.6%	.0%	.0%	.0%	.0%
Group 3	10	0	1	9	0	0	0
		.0%	10.0%	90.0%	.0%	.0%	.0%
Group 4	18	0	0	0	17	1	0
		.0%	.0%	.0%	94.4%	5.6%	.0%
Group 5	6	0	0	0	1	5	0
		.0%	.0%	.0%	16.7%	83.3%	.0%
Group 6	10	0	0	0	0	0	10
		.0%	.0%	.0%	.0%	.0%	100.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 91.43%

Tabla 2.5.- Resultado del análisis discriminante para las características morfométricas entre los estadios seleccionados para larvas de pejelagarto.

Pigmentación: La pigmentación de las larvas de pejelagarto se puede observar en la Figura 2.11. Las larvas recién eclosionadas (Estadio I) son casi completamente blancas y transparentes. Sin embargo, rápidamente aparece la pigmentación negra de los costados la cual esta representada por una franja que inicia desde la cabeza, pasa por los opérculos, la parte dorsal del saco vitelino alrededor de las yemas de las aletas pectorales y se extiende hacia atrás presentando proyecciones que simulan las aletas impares. En la parte dorsal del cuerpo aparecen puntos grises que se van oscureciendo progresivamente.

Durante el Estadio II la pigmentación de la parte dorsal del cuerpo se oscurece y se une con las franjas negras de los costados a una distancia cercana de la proyección que simula la aleta dorsal, quedando entre estas áreas oscuras una línea de color amarillo brillante en la parte superior de los costados que inicia a partir de los ojos, pasando por el margen superior de los opérculos hasta aproximadamente la altura del ano. Durante el Estadio III esta línea brillante se extiende hasta la aleta caudal. Los opérculos, la región ventral del cuerpo y la parte dorsal del hocico son de color gris claro.

En el Estadio IV el patrón de coloración sigue igual, presentando variaciones en el grosor y contraste de la línea amarillo brillante de los costados. El color negro de los costados es más oscuro que la región dorsal del cuerpo. Las aletas pectorales, las pélvicas y los restos de los pliegues entre las aletas son blancos. El hocico es amarillo claro tanto en su parte dorsal como en la ventral con los márgenes variando de gris a negro. Durante el Estadio V la coloración negra de los costados se reduce y se aclara hasta quedar como una línea café que inicia desde el hocico, pasando por la mitad de los ojos y extendiéndose hasta la aleta caudal. Para el Estadio VI se distingue una coloración blanca en el vientre, café claro en el dorso, incluyendo el hocico debido a una serie de puntos difusos de este color, y en los costados del cuerpo quedan claramente diferenciadas una línea amarilla y otra café.



Figura 2.11.- Vista lateral de larvas de *A. tropicus* recién eclosionada (A); estadio II (B); estadio III (C); estadio IV (D); estadio VI (E).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Velocidad de crecimiento: El desarrollo de las larvas de pejelagarto fue similar al de las larvas de catán, con el inicio del nado libre y alimentación en el quinto día. El crecimiento de las larvas en inanición se detuvo en el octavo día y la mortalidad de estas se registró entre los días 13 y 15. Sin embargo, la velocidad del crecimiento fue marcadamente menor, alcanzando una tasa de 1.0 mm/día durante los primeros 15 días a partir de la eclosión. Por otra parte, el hocico se desarrolló principalmente durante los Estadios V y VI, finalizando cuando las larvas alcanzaron los 30 días de edad.

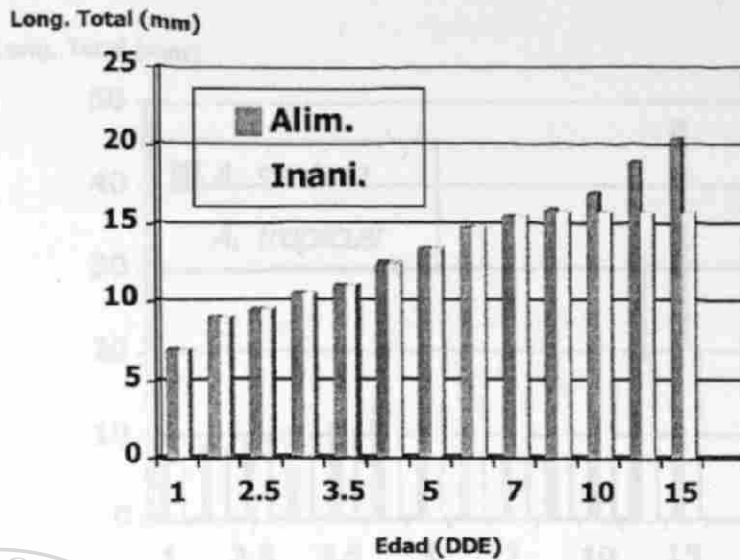


Figura 2.12.- Crecimiento de larvas de *Atractosteus tropicus* a partir de la eclosión, alimentadas y en inanición.

Efecto de la inanición en la morfología de larvas: Las larvas que fueron mantenidas sin alimento detuvieron su crecimiento entre los 15.5 mm y 16.5 mm ($X = 15.9 \pm 0.43$; $n = 15$) de longitud total (Figura 2.12). En este intervalo de talla aún no se desarrollaba el hocico y debido a que la velocidad de crecimiento resultó menor que en el catán, no se presentaron diferencias tan marcadas en cuanto a crecimiento al comparar larvas alimentadas y en inanición de la misma edad para el periodo de 15 días a partir de la eclosión (DDE). El análisis Discriminante mostró como en el caso del catán, que la altura preanal resultaba un buen indicador de la condición nutricional. Igualmente, se pudo observar un patrón de coloración similar al de las larvas de catán en inanición, resultando más oscuras aquellas larvas a las cuales no se les había suministrado alimento exógeno.

Long. Total (mm)

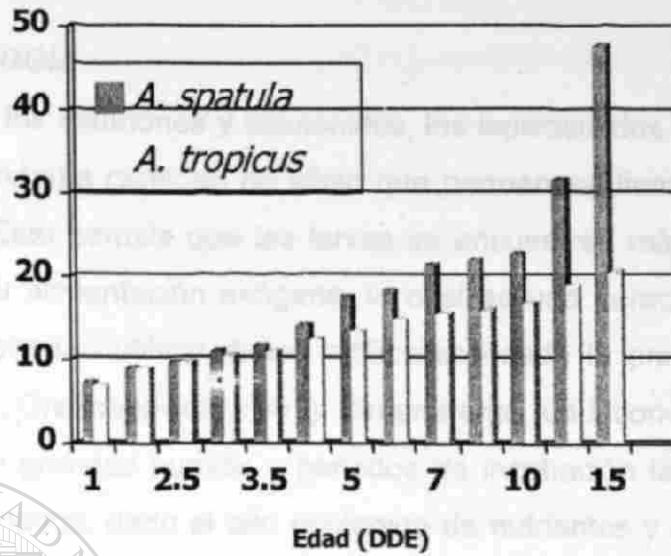


Figura 2.13.- Comparación del crecimiento entre larvas de catán (*A. Spatula*) y pejelagarto (*A.tropicus*).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

2.4 DISCUSION

2.4.1 MORFOLOGIA

Al igual que en los esturiones y salmónidos, los lepisosteidos presentan huevos grandes con una abundante cantidad de vitelo que permanece tiempo después de la eclosión de la larva. Esto permite que las larvas se encuentren más desarrolladas al momento de iniciar su alimentación exógena, lo cual es una característica favorable para que las larvas puedan utilizar dietas artificiales desde la primera alimentación (Baragi y Lovell, 1986; Greshanovich, 1991). Sin embargo, un inconveniente ecológico para las especies con grandes huevos y periodos de incubación largos, es la mayor posibilidad de ser predados, dado el alto contenido de nutrientes y el escaso cuidado paterno, lo cual significa una mayor presión para éstas especies durante esta fase. A este respecto, los lepisosteidos han desarrollado un mecanismo que limita la depredación mediante la incorporación de una sustancia cardiotoxica en el vitelo de los huevos, la cual permanece hasta que finaliza el periodo pre-larval, cuando las larvas nadan libremente y son menos vulnerables a depredadores (Netsch y Witt, 1962; Burns *et al.*, 1981). El tiempo de incubación encontrado para los huevos de catán es similar al reportado para esta misma especie por Morales (1987) y a pesar de que no fue posible determinar este parámetro para los huevos de pejelagarto utilizados, ha sido reportado un tiempo similar para esta especie (Marquez, 1998).

De manera general los estadíos de desarrollo seleccionados para ambas especies fueron similares. De esta forma y de acuerdo a Dettlaff *et al.* (1993), los Estadíos I y II descritos para el catán y el pejelagarto corresponden a la fase pre-larval, mientras que del Estadío III al VI corresponden al período larval. Por otra parte, existe una separación natural en los primeros dos estadíos, ya que estos comprenden la fase de nutrición lecitotrófica, que es cuando la larva se alimenta sólo de las reservas del saco vitelino. Durante los Estadíos III y IV las larvas mantenidas en inanición de ambas especies no presentan diferencias con aquellas larvas que recibieron alimento exógeno, lo cual indica que las reservas de vitelo son suficientes para continuar su

desarrollo, por lo que estos estadios corresponderían al estado de nutrición lecitoeoxotrófico, en el cual se abre la boca y pueden combinar el alimento exógeno con las reservas de vitelo. Finalmente, el estado de nutrición exotrófico iniciaría en el Estadio V, cuando se han agotado las reservas de vitelo y las larvas dependen sólo del alimento exógeno (Beccaria *et al.*, 1991). A partir de lo anterior, podemos considerar que es posible establecer una relación entre la aparición de estructuras morfológicas externas con cambios notables en la fisiología de la larva. Los cambios en el tipo de nutrición también pueden identificarse bajo otros criterios como en el trabajo realizado por Pearson *et al.* (1979) con larvas de *Lepisosteus osseus* en el cual al evaluar el porcentaje de llenado del tracto digestivo de larvas con diferente longitud, se encontró que aquellas larvas menores a 20 mm presentaban el tracto vacío, lo cual correspondería al límite de la nutrición lecitotrófica. Y a partir de esta talla, el porcentaje de llenado se incrementó progresivamente con la longitud alcanzando más del 75% en larvas mayores de 30 mm, indicando el cambio de nutrición lecitoeoxotrófica a exotrófica, que es cuando las larvas de *L. osseus* han completado su transformación (Simon y Wallus, 1989).

Una diferencia notable que se puede observar entre el desarrollo de larvas de catán y pejelagarto fue la formación del hocico. Esta diferencia se puede apreciar al expresar la longitud del hocico con respecto a la longitud total. De esta forma, como muestra la Tabla 2.1 las larvas de catán presentan el hocico casi completamente desarrollado en el Estadio V (23.0 - 32.0 mm TL), mientras que en las larvas de pejelagarto (Tabla 2.4) se produce el mayor desarrollo del hocico hasta el Estadio VI (38.3 - 60.3 mm TL). Lo anterior sugiere un cambio más precoz en los hábitos alimenticios de las larvas de catán al considerar que la forma alargada del hocico en los lepisosteidos representa una adaptación a los hábitos ictiofagos. A este respecto se ha observado que los hábitos alimenticios de larvas de *Lepisosteus osseus* son oportunísticos consumiendo principalmente Cladoceros y larvas de peces que se presentan en grupos en la superficie del agua. Sin embargo, es posible apreciar un

incremento en la frecuencia de larvas de peces consumidas al incrementarse la longitud de la larva (Pearson *et al.*, 1979).

2.4.2 PIGMENTACION

En general las características morfológicas y de pigmentación de *A. spatula* concuerdan con las descritas anteriormente al considerar la longitud de los ejemplares utilizados (Suttkus, 1963; May y Echelle, 1968; Echelle, 1972; Moore *et al.*, 1973; Simon y Wallus, 1989). La línea brillante a lo largo del dorso, la cual es distintiva de esta especie se observó claramente en los estadios examinados, sin embargo se ha observado que esta línea tiende a desaparecer en juveniles mayores de 130 mm, por lo cual podría considerarse como un indicador de la transformación completa a la forma juvenil, lo cual puede ocurrir en aproximadamente 30 días tomando en cuenta la velocidad de crecimiento estimada.

En el caso de *A. tropicus* la línea amarilla brillante que se puede apreciar entre el color negro de los costados y gris del dorso, representa la característica que más resalta en la pigmentación de larvas de esta especie.

La pigmentación oscura subdermal presente tanto en larvas de catán como de pejelagarto ha sido reportada también en larvas de *Lepisosteus oculatus* (Simon y Wallus, 1989; Simon y Tyberghein, 1991).

2.4.3 VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

La velocidad de crecimiento estimada para larvas de pejelagarto (1.0 mm/día), corrobora las observaciones de Marquez (1998), quien reporta una tasa de crecimiento de 0.86 mm/día para larvas de esta especie mantenidas a 30 °C, mientras que a 25 °C el crecimiento disminuyó a 0.45 mm/día. Este valor puede considerarse próximo al estimado durante los primeros diez días en larvas de catán (1.55 mm/día), así como a los estimados para larvas de *L. osseus* de 0.8 mm/día (Pearson *et al.*, 1979) y al de larvas de *L. oculatus* de 0.83 mm/día (Simon y Tyberghein, 1991). Un factor que influye

de manera definitiva en estas dos últimas especies es la temperatura promedio de las zonas templadas en la que se desarrollan, en comparación con las de zonas tropicales en las que se encuentran el pejelagarto y algunas poblaciones de catán. Por otra parte, es necesario considerar las diferencias en la velocidad de crecimiento debida a factores específicos, de aquí que se explique la mayor velocidad de crecimiento de las larvas de catán, considerando que es la especie cuyos adultos adquieren la mayor longitud (hasta tres metros) entre las especies de lepisosteidos.

El incremento en la velocidad de crecimiento observado en larvas de catán a partir del décimo día puede ser atribuido a que a partir de este momento, los organismos entran a la fase exponencial de crecimiento para la especie. Esta diferencia en la velocidad de crecimiento entre larvas y juveniles también es observada en el caso de *L. oculatus* y *L. osseus* al encontrar valores de 1.3 a 1.7 mm/día y de 2.33 a 4.5 mm/día, respectivamente, para juveniles de ambas especies (Echelle y Riggs, 1982; Netsch y Witt, 1962; Simon y Wallus 1989). Estos valores son evidentemente superiores a los mencionados anteriormente para larvas de estas mismas especies. Sin embargo, al comparar estos valores con los observados en el catán (5.06 mm/día), de nuevo resulta superior este último, lo cual puede estar relacionado con las diferencias específicas antes mencionadas. Por otra parte, estos datos confirman que los lepisosteidos y en particular el catán se encuentran entre los peces de agua dulce con mayor velocidad de crecimiento (Netsch y Witt, 1962). De esta forma, la mayor velocidad del catán, tanto en crecimiento como en desarrollo, reflejada esta última en la formación del hocico, permitió detectar este cambio en la velocidad de crecimiento durante el periodo experimental de 15 días. Paradójicamente esta ventaja en la velocidad de crecimiento del catán ha sido uno de los principales factores que han limitado su cultivo. Considerando las prácticas que se llevan actualmente, la cual consisten en proporcionar un cultivo de zooplancton durante un par de días una vez iniciada la alimentación exógena (6 días después de la eclosión) y su liberación en el medio natural debido a que las cantidades de zooplancton producidas no son suficientes para soportar este crecimiento, al prolongar por más

tiempo el cultivo se presentan fuertes diferencias en tallas y las consecuente mortalidades por canibalismo e inanición. Esta variación en tallas también se observó después del decimoquinto día, cuando además de la cantidad de nauplios de *Artemia* requeridos se presentó una disminución en su consumo, producido aparentemente por la gran diferencia en el tamaño de la boca con respecto al tamaño del hocico, además las larvas mantenidas en inanición no sobrevivieron más allá de este día, por lo cual el experimento de crecimiento se detuvo en este punto.

2.4.4 EFECTO DE LA INANICION

La mayoría de las larvas de los peces cuentan con escasas reservas de vitelo y debido a su tamaño y metabolismo requieren un suministro adecuado de alimento, el cual puede ser crítico en término de horas. Sin embargo, las larvas de los lepisosteidos pueden sobrevivir por varios días sin alimento exógeno, aún durante el periodo más crítico como lo es la transición hacia este tipo de alimentación, el cual corresponde de 8 a 10 DDE en las especies estudiadas. Durante este período no se detectan señales morfológicas aparentes ocasionadas por la falta de alimento exógeno, sin embargo estas se hacen evidentes entre los 10 y 15 DDE. Las larvas no soportan más allá de 15 DDE sin alimento ya que invariablemente mueren. Se ha estimado que este periodo de transición entre la alimentación endógena y exógena en larvas de *Lepisosteus osseus* se produce cuando las larvas alcanzan de 20 a 27 mm de longitud, lo que a una tasa de crecimiento de 0.8 mm/día equivale a 8.75 días (Pearson *et al.*, 1979).

Es evidente que aunque no se logren apreciar efectos morfológicos en el periodo de 5 a 8 DDE, las larvas en inanición se encuentran en franca desventaja con respecto a aquellas que obtuvieron alimento durante este tiempo. A este respecto, para elucidar estas diferencias a menudo es necesario recurrir a indicadores más sensibles a la condición nutricional de las larvas, tales como las características histológicas (O'Connell, 1976; Theilacker y Watanabe, 1989; Oozeki *et al.*, 1989; Theilacker y Porter, 1995), niveles de actividad de enzimas proteolíticas digestivas (Munilla y Stark,

1990; Ueberschar, 1985) o bien índices de condición basados en la relación de ácidos nucleicos (Segner *et al.*, 1991).

No obstante, considerando el tamaño y velocidad de crecimiento registrados, particularmente en las larvas de catán, una vez finalizada la fase de nutrición lecitoexotrófica, el efecto de la falta de alimento es fácilmente reconocible en base a las características morfológicas. Este tipo de observaciones ya han sido utilizadas para determinar la condición nutricional de larvas de macarela (*Trachurus symmetricus*) con un nivel de sensibilidad similar a los indicadores histológicos (Theilacker, 1978).

En el mismo sentido, los cambios observados en el patrón de coloración de las larvas en inanición, en ambas especies, pueden tener una gran utilidad práctica al realizar este tipo de observación directamente sobre lotes de larvas vivas, de tal manera que inclusive con poca experiencia práctica sobre esta característica se puede contar con un indicador rápido de la condición de las larvas.

Este tipo de experimentos en los que se controla el periodo en que las larvas reciben alimento, o en los que se evalúan la cantidad y calidad de alimento suministrado, arrojan información importante para determinar las condiciones más adecuadas para el cultivo de este tipo de peces, así como para la evaluación de ejemplares silvestres como han sugerido otros autores (Pearson *et al.*, 1979).

CAPITULO 3: SEGUIMIENTO HISTOLOGICO DEL DESARROLLO DEL TRACTO DIGESTIVO EN LARVAS DE CATAN (*Atractosteus spatula*).

3.1 ANTECEDENTES

3.1.1 CARACTERISTICAS DEL TRACTO DIGESTIVO EN PECES

El tracto digestivo de los peces presenta diversas modificaciones anatómicas las cuales se encuentran relacionadas con sus hábitos alimenticios, siendo la principal la ausencia de estómago y una mayor longitud del tracto en las especies herbívoras (Buddington y Doroshov, 1986; Kuperman y Kuzmina, 1994).

Esófago: El esófago es corto y generalmente presenta un epitelio con células columnares, y abundantes células de copa (Bucke, 1971), aunque en los esturiones este puede ser escamoso, cuboidal o columnar (Buddington y Christofferson, 1985). Entre el esófago y estómago no se presentan diferencias externas ni válvulas o esfínteres que los dividan.

Estómago: El estómago presenta dos regiones histológicamente distinguibles, una región anterior, *corpus* o cardiaca en donde se localizan las glándulas gástricas y una región posterior o pilórica, que sólo presenta glándulas gástricas en los esocidos (Reifel y Travill, 1978). El estómago puede representar de 40 a 50 % de la longitud del tracto. El estómago anterior se caracteriza por ser más largo y poseer paredes delgadas con capacidad para dilatarse, mientras que el estómago posterior se distingue por presentar capas musculares más desarrolladas las cuales pueden constituir una estructura semejante a una molleja en aquellas especies cuyo alimento es duro (Reifel y Travill, 1978; Buddington y Christofferson, 1985). El epitelio de revestimiento de la región anterior es columnar simple y presenta numerosos pozos hacia la mucosa. En el caso particular de los esturiones se presentan células ciliadas dispersas. En todas las especies estudiadas las glándulas gástricas presentan un sólo

tipo celular que secreta simultáneamente pepsina y ácido clorhídrico, estas células son cuboidales simples y presentan un sistema tubulovesicular bien desarrollado que se abre hacia los pozos del epitelio de revestimiento y se caracterizan por presentar gránulos eosinófilos triptófano-positivos. Este tipo de célula se conoce como célula oxintica ó oxinticopéptica y también se presenta en anfibios, pero no en mamíferos (Bucke, 1971; Reifel y Travill, 1978; Buddington y Christofferson, 1985; Buddington y Doroshov, 1986; Ostos *et al.*, 1993).

Intestino: En los peces teleósteos, generalmente, el intestino puede ser dividido histológicamente en dos regiones: un intestino proximal caracterizado por un epitelio columnar y células secretoras de mucus dispersas entre las células columnares, y un intestino distal con un mayor número de células secretoras de mucus (Reifel y Travill, 1979) . De manera excepcional el intestino de los juveniles de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) presenta tres regiones, una zona en las que a menudo se presentan numerosas gotas de grasa, otra zona caracterizada por la presencia de grandes vacuolas supranucleares PAS-positivas y vesículas pinocitóticas y una tercera zona sin gotas de grasa ni vacuolas supranucleares (Stroband, 1977). Además de estas regiones entre el estómago y el intestino anterior pueden encontrarse ciegos pilóricos, los cuales varían en forma y tamaño dependiendo de la especie. En las especies más primitivas, como los esturiones, el intestino posterior suele presentar una válvula espiral semejante a la presente en los peces cartilaginosos (Buddington y Christofferson, 1985).

Páncreas: El páncreas en los peces es generalmente difuso y se encuentra diseminado en la cavidad del cuerpo, aunque en ocasiones puede encontrarse de forma compacta, en ambos casos las secreciones son colectadas por un solo ducto el cual se une con el ducto biliar. Los acinos de células pancreáticas se agrupan en patrones de roseta alrededor de canales centrales y la presencia de gránulos eosinófilos triptófano-positivos indican la presencia de gránulos de zimógenos (Bucke, 1971; Buddington y Christofferson, 1984; Buddington y Doroshov, 1986).

3.1.2 ONTOGENESIS DEL TRACTO DIGESTIVO

La ontogénesis involucra la formación y desarrollo de diversos sistemas y funciones, por lo cual el desarrollo del tracto digestivo comprende una serie de cambios morfológicos, histológicos y funcionales que son paralelos a la diferenciación morfológica general. El desarrollo embrionario del tracto digestivo se produce a partir de la involución de células columnares del endodermo.

Las larvas de peces teleósteos se pueden dividir en dos grupos, basados en el grado de diferenciación que presenta el tracto digestivo al momento de la eclosión. Un grupo se caracteriza por presentar el tracto digestivo poco desarrollado y generalmente son larvas provenientes de huevos pelágicos, mientras que otro grupo presenta un grado variable de diferenciación (e.g. boca abierta, hígado y páncreas diferenciado) y lo constituyen larvas provenientes de huevos demersales (Tanaka, 1969a). Generalmente, después de la eclosión el canal alimenticio es un tubo recto histológicamente indiferenciado y este permanece sin cambios hasta que el saco vitelino y el glóbulo lipídico son absorbidos, es en este momento también cuando el intestino se puede separar en anterior, medio y posterior (Grizzle y Curd, 1978; Govoni *et al.*, 1986; Ferraris y de la Cruz, 1987; Verreth *et al.*, 1992; Sarasquete *et al.*, 1995). En el caso de los esturiones, cuando eclosionan el tracto digestivo está representado por un saco vitelino endodérmico intraembrionario, el cual participa directamente en la formación del tubo digestivo, lo cual es debido a un patrón de división holoblástica del huevo, diferente a la mayoría de los peces y similar al de los anfibios (Buddington y Christofferson, 1985; Buddington y Doroshov, 1986; Gisbert *et al.*, 1998).

En el momento en que se inicia la alimentación, las larvas de los peces pueden tener el tracto digestivo recto o presentar ciertas circunvoluciones. El epitelio intestinal se compone exclusivamente de células columnares absorptivas y se pueden apreciar gránulos de zimógenos en el tejido pancreático. A partir de este momento se presentan cambios muy rápidos en la morfología del tracto y existe una marcada semejanza entre el sistema digestivo de las larvas al iniciar la alimentación con el de aquellas especies

sin estómago, lo cual sugiere similitudes en su funcionamiento (Tanaka, 1969b; Vereth *et al.*, 1992; Segner *et al.*, 1994; Kaji *et al.*, 1996). Es común que el consumo de vitelo continúe durante cierto tiempo después de iniciada la alimentación exógena, para este momento el saco vitelino se encuentra completamente separado del intestino y rodeado por el periblasto sincitial (Stroband y Dabrowski, 1979), a excepción de los esturiones en los que el vitelo está contenido dentro del estómago y es consumido antes de iniciar la alimentación exógena (Buddington y Christofferson, 1985).

Una vez iniciada la alimentación exógena, se aprecian dos características distintivas en el epitelio intestinal. Primeramente, se observa la aparición de numerosas vacuolas en la parte antero-media del intestino, las cuales se forman como resultado de la absorción de lípidos provenientes del alimento consumido. En segundo lugar, es notable la aparición de gránulos acidófilos PAS-positivos en la parte posterior del intestino, los cuales se forman por la acumulación de productos protéicos incorporados por pinocitosis (Tanaka, 1971; Tanaka 1972b ; Sarasquete, 1995; Kaji *et al.*, 1996). Estas características que se presentan en el inicio de la alimentación exógena perduran hasta el momento en que se diferencian las glándulas gástricas (Watanabe, 1984; Walford y Lam, 1993). La acumulación de productos protéicos incorporados por pinocitosis (absorción macromolecular) y su digestión intracelular son característicos del estado larval (al inicio de la fase exotrófica) y la regresión de estos fenómenos corresponde a la maduración del tracto digestivo. Sin embargo, una región del intestino puede continuar la absorción macromolecular, para lo cual las proteínas incorporadas deben superar la barrera mucosa establecida en el adulto por secreciones gástricas y pancreáticas, mucus del epitelio y las microvellosidades de los enterocitos (Mendoza, 1996).

En contraste con lo anterior, en el caso de los salmónidos y esturiones al inicio de la alimentación exógena el tracto digestivo es similar al del adulto, presentando un alto grado de organización morfológica y funcional. En este caso el estómago está diferenciado con sus dos regiones, pilórica y cardíaca, además las glándulas gástricas

son funcionales y se distingue una válvula entre el estómago y el intestino. Por otra parte, se ha observado, en el caso específico de los esturiones, que la diferenciación del tracto digestivo se produce de la parte posterior, a partir de la válvula espiral, hacia la anterior, finalizando con el estómago funcional, al iniciar la alimentación exógena (Buddington y Christofferson, 1985; Dabrowski, 1986; Buddington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995; Gisbert *et al.*, 1998). Estas características han permitido mantener a estas especies con un régimen a base de dietas artificiales desde la primera alimentación, evitando así la utilización de presas vivas (Dabrowski *et al.*, 1985).

El desarrollo del estómago y de los ciegos pilóricos se produce a partir del intestino anterior y se realiza simultáneamente con la metamorfosis, constituyendo el mayor cambio morfológico del tracto digestivo (Govoni *et al.*, 1986). La formación de las glándulas gástricas inicia en la parte anterior del estómago, observándose células cuboides bien teñidas con hematoxilina. En el momento en que inicia la diferenciación del estómago se pueden observar en el epitelio intestinal células de mucus con material PAS-positivo. Estando estos eventos estrechamente relacionados con la transición de larva a juvenil (Tanaka, 1971; Ferraris y De la Cruz, 1987; Walford y Lam, 1993; Segner *et al.*, 1994; Kaji *et al.*, 1996).

La diferenciación de páncreas inicia con la aparición de un primordio durante la eclosión, posteriormente se diferencian las células exócrinas y aparecen los ductos excretores durante la fase pre-larval y finalmente se produce el crecimiento del órgano durante el periodo larval y juvenil. Se han descrito cuatro tipos de desarrollo del páncreas en larvas de peces: 1) Originándose a partir de un primordio dorsal y dos ventrales que se separan rápidamente del tracto digestivo. 2) Originándose de un primordio dorsal que se separa para unirse a un primordio ventral que a su vez se comunica con el tracto digestivo. 3) Formándose de un simple primordio dorsal el cual gira 180° y produce el ducto eferente en posición ventral. 4) Originándose a partir de un grupo de células que surgen del ducto hepático (Beccaria *et al.*, 1991; Kurokawa y Suzuki, 1996).

Las diferencias en el grado de desarrollo del tracto digestivo parecen estar relacionadas con la existencia de cuidado paterno en las especies, así como con el comportamiento de la larva después de eclosionar. Sin embargo, no existen diferencias marcadas en lo que respecta a la secuencia de formación de los órganos y el sistema digestivo siempre se encuentra completamente desarrollado al terminar el periodo larval (Tanaka 1969a).

3.1.3 CAMBIOS CAUSADOS POR LA INANICION

Uno de los factores que más influyen en la mortalidad de las larvas de peces, tanto en condiciones naturales como de cultivo, es la disponibilidad de alimento. La sensibilidad que tienen las larvas a una disminución en el consumo de alimento, especialmente después de la absorción del vitelo, puede influir significativamente en sus posibilidades de sobrevivencia. Por este motivo ha sido necesario identificar indicadores de la condición nutricional que permitan predecir las posibilidades de sobrevivencia de las poblaciones naturales de peces así como la evaluación de diferentes dietas para el cultivo larvario (Hunter, 1976; McFadzen *et al.*, 1994).

A este respecto, se ha podido observar que al iniciar la alimentación exógena las larvas bien alimentadas presentan una mayor cantidad de gránulos acidófilos en el epitelio del intestino posterior y que las vacuólas lipídicas del intestino antero-medio son generalmente más grandes y numerosas, en comparación a las larvas sometidas a inanición, en las cuales pueden inclusive estar ausentes estas características (Tanaka, 1972a y b; Theilacker, 1978; Oozeki *et al.*, 1989).

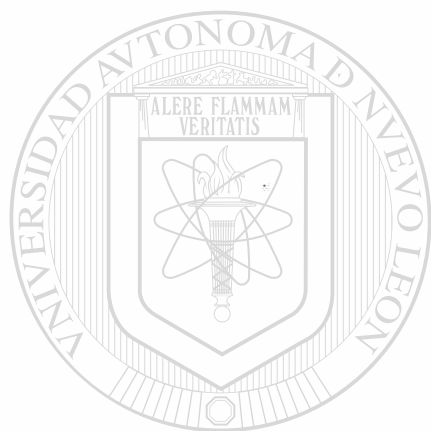
En relación con lo anterior, se ha observado que la condición del páncreas, la separación de las fibras musculares del tronco y el citoplasma del hígado son los tejidos que más rápidamente reflejan la falta de alimento en el caso de la anchoveta. Aunque también se pudo observar variaciones en el tamaño de los enterocitos del intestino anterior (O'Connell, 1976). De esta forma, queda de manifiesto que, en ocasiones es posible distinguir los efectos de la inanición mediante parámetros

corporales externos y dentro de los tejidos que primeros reflejan esta condición se encuentran los del tracto digestivo (Theilacker, 1978). Así mismo, se ha observado que en las larvas bien alimentadas el hígado presenta células con un núcleo de forma regular y un citoplasma bien disperso con espacios intracelulares (posibles áreas de almacenamiento de glicógeno y lípidos), igualmente se han observado células pancreáticas de forma piramidal con un núcleo basal y con un arreglo en serie en una estructura circular. Mientras que en las larvas mantenidas en inanición las células hepáticas presentan un núcleo de forma irregular con gránulos oscuros alrededor, el citoplasma se encuentra condensado, teñido de negro y sin espacios intracelulares, mientras que las células del páncreas pierden rápidamente tanto su forma piramidal como el arreglo de los acinos (O'Connell, 1976; Theilacker, 1978).

Sin embargo, debido al carácter meramente cualitativo de estas observaciones resulta necesario valorar diversos tejidos, lo cual implica un amplio conocimiento histológico y una gran inversión en tiempo. De aquí que se haya optado por establecer índices más sencillos, como el basado en la estimación de la altura de los enterocitos del intestino medio el cual permite apreciar la condición nutricional del organismo, así como estimar la mortalidad por inanición de larvas silvestres (Theilacker y Porter, 1995). A este respecto, se ha constatado que la altura de los enterocitos, además del diámetro del hígado y del páncreas disminuyen marcadamente por el efecto de la inanición (Theilacker y Watanabe, 1989; Oozeki *et al.*, 1989). Una de las ventajas que refuerzan la utilización de este índice es su ausencia de susceptibilidad ante el stress producido por el muestreo de las larvas, igualmente no se ve afectado por el encogimiento producido por el líquido fijador (Theilacker y Porter, 1995).

Otro índice histológico cuantitativo que se ha venido utilizando para evaluar el efecto de la inanición en larvas de peces, es la relación del área de los enterocitos con respecto al perímetro de su superficie, partiendo de un corte transversal del intestino, sin embargo su evaluación requiere de equipo para análisis de imágenes

computarizado a fin de realizar rápidamente esta operación con exactitud (McFadzen *et al.*, 1994).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.2 MATERIAL Y METODOS

3.2.1 ORGANISMOS EXPERIMENTALES

Las larvas de catán fueron obtenidas del Centro Acuícola Tancol. Se obtuvieron lotes de huevos fertilizados y crías recién eclosionadas de la reproducción de 25 adultos en Mayo de 1997.

3.2.2 CONDICIONES EXPERIMENTALES

Las larvas fueron mantenidas en 2 canaletas de fibra de vidrio de 230 cm de largo, 70 cm de ancho y 30 cm de altura, con un volumen de agua de 480 L. Colocadas con una densidad inicial de 500 larvas por canaleta, aproximadamente una larva/litro. La temperatura del agua fue de 27 °C y se suministró oxígeno constante mediante un compresor.

Diariamente se tomó una muestra de 10 larvas/canaleta desde el primer día de la eclosión hasta el día en que las larvas adquirieron la forma del adulto. Las larvas fueron pesadas individualmente en una balanza OHAUS (Modelo Explorer) con un grado de exactitud de 0.0001 g y se midió la longitud total de la larva con un vernier con una exactitud de 0.1 mm. Posteriormente las larvas fueron fijadas en líquido de Bouin.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A partir del momento en que las larvas iniciaron la alimentación exógena, se les suministró nauplios de *Artemia salina* de la variedad *San Fransico Bay* recién eclosionados en dos raciones diarias de 2 g para que las larvas se alimentaran *ad libitum*.

Un lote en condiciones similares fue mantenido sin alimentación para evaluar el efecto de la inanición.

3.2.3 OBSERVACIONES HISTOLOGICAS

Las larvas fijadas en liquido de Bouin fueron sometidas a un proceso de deshidratación en soluciones de alcohol etílico del 30 % al absoluto (100 %) con diferencia de dos grados y 3 h para cada solución. Posteriormente, se sometieron a un proceso de aclaración con xilol durante un lapso de 1 a 1^{1/2} h. Las piezas se infiltraron en parafinas I y II durante un periodo de 1^{1/2} h y posteriormente en parafina III para su inclusión en moldes de plástico, en los cuales se orientaron las piezas y se cubrieron con parafina con un punto de fusión de 56 - 58 °C. Se realizaron cortes seriados en un plano sagital y con un espesor de 7 mm utilizando un microtomo tipo Minot. Los cortes se colocaron en agua a una temperatura de 40 °C para ser extendidos y montados en un portaobjetos con albúmina de Meyer. Los cortes una vez montados fueron etiquetados con un lápiz con punta de diamante y secados en una estufa para continuar con los métodos de tinción.

Para el análisis de los cortes se empleó la técnica de tinción de Hematoxilina y Eosina de acuerdo al método de Luna (1968). Las observaciones para la descripción de los tejidos del tracto digestivo se llevaron a cabo con un microscopio óptico.

3.2.4 CONDICION NUTRICIONAL

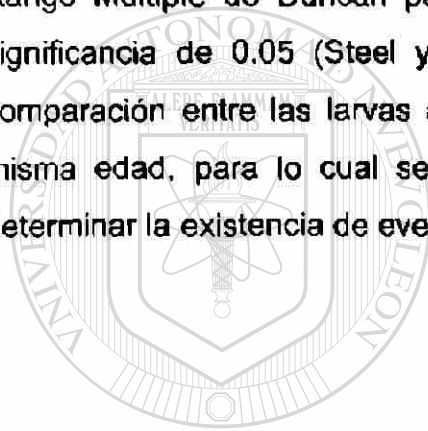
La condición de las larvas fue evaluada mediante la evaluación de la altura de las células epiteliales del intestino anterior, a partir del primer día de alimentación exógena. La medición se realizó utilizando un objetivo 400X con un micrómetro ocular calibrado. Para este propósito se utilizaron seis células contiguas claramente definidas con núcleo y membrana basal. Se consideró la altura desde la membrana basal hasta el extremo de las microvellocidades. Se registró el promedio de la altura de la célula para cada larva, tomando tres larvas por muestreo.

3.2.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

La primera parte del estudio fue meramente descriptiva y en esta se detallan las observaciones histológicas del tracto digestivo de las larvas de catán desde la eclosión

hasta el momento en que adquieren la forma del adulto. Esto se llevó a cabo para tratar de establecer las diferencias cualitativas entre las larvas alimentadas y en inanición.

En la segunda parte se realizó una comparación entre larvas alimentadas y en inanición considerando para su evaluación las variables de altura de los enterocitos y ancho de los enterocitos. Esta comparación se llevó a cabo primeramente tomando en cuenta la edad, en días, de las larvas para ambos tratamientos (alimentadas e inanición), para lo cual se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía ($P < 0.05$) y en el caso de existir diferencias significativas se realizó una prueba de Rango Múltiple de Duncan para separar los grupos homogéneos con un nivel de significancia de 0.05 (Steel y Torrie, 1980). Posteriormente, se llevó a cabo una comparación entre las larvas alimentadas y aquellas en inanición considerando una misma edad, para lo cual se realizó una prueba de "t" de Student con el fin de determinar la existencia de eventuales diferencias significativas.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.3 RESULTADOS

3.3.1 DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO DEL TRACTO DIGESTIVO

Para la descripción del desarrollo del tracto digestivo se consideró la separación de los estadios larvarios de acuerdo a los resultados del Capítulo 2:

Estadio I: Las larvas recién eclosionadas presentaron el cuerpo formado principalmente por el saco vitelino. Durante esta etapa el tracto digestivo esta representado por una doble capa de células indiferenciadas que separan el saco vitelino del cuerpo. Estas células aumentan de tamaño progresivamente y forman dos capas (Figura 3.1).



Figura 3.1.- Corte sagital de una larva recién eclosionada (3.2X), tinción con HyE: Se observa principalmente el saco vitelino (sv), mientras que el intestino esta representado por un epitelio que se observa arriba del sv.

Estadio II: En larvas de 9.2 a 9.8 mm de longitud total (LT), las dos capas de células se separan formando la luz del tracto digestivo y progresivamente aumentan de tamaño hasta adquirir una forma cilíndrica (Figura 3.2).

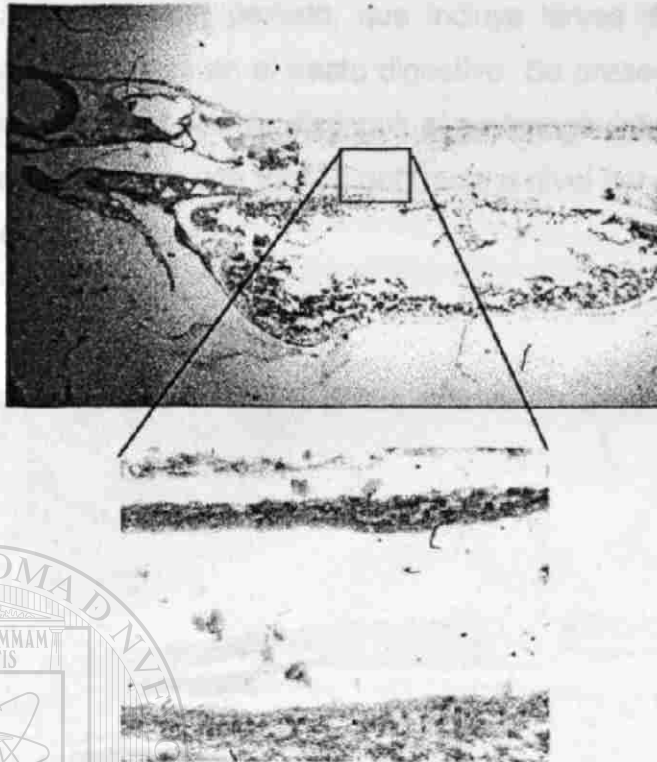


Figura 3.2.- Corte sagital de una larva de 60 h después de la eclosión (3.2X), tinción con HyE. En el recuadro se observa el epitelio indiferenciado que está formando el tubo digestivo (40X).

Hacia el final de este periodo, en larvas de 11.5 a 12.5 mm, comienzan a diferenciarse pliegues en la parte posterior del tracto, los cuales incrementan su tamaño para dar origen a la válvula espiral (Figura 3.3).

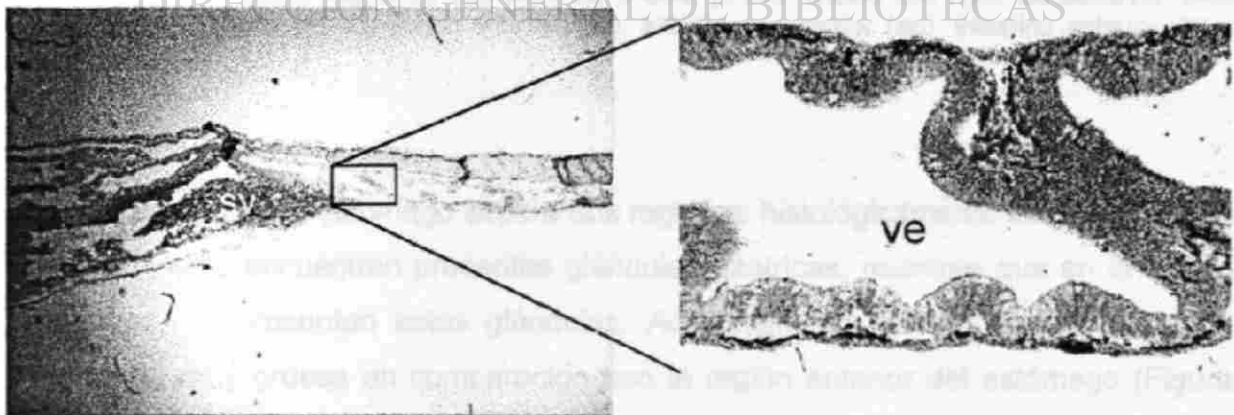


Figura 3.3.- Corte sagital de una larva de 4 DDE (3.2X), tinción con HyE. Donde se aprecia la válvula espiral (ve) formada con epitelio columnar que se aprecia en el recuadro (40X).

Estadio III: Durante este periodo, que incluye larvas de 14.2 a 19.2 mm se presentan los mayores cambios en el tracto digestivo. Se presenta la diferenciación de las regiones del tracto, siendo posible distinguir el estómago, intestino anterior y válvula espiral. Estos cambios incluyen una torsión del tracto a nivel del estómago y otra a nivel del intestino anterior (Figura 3.4).

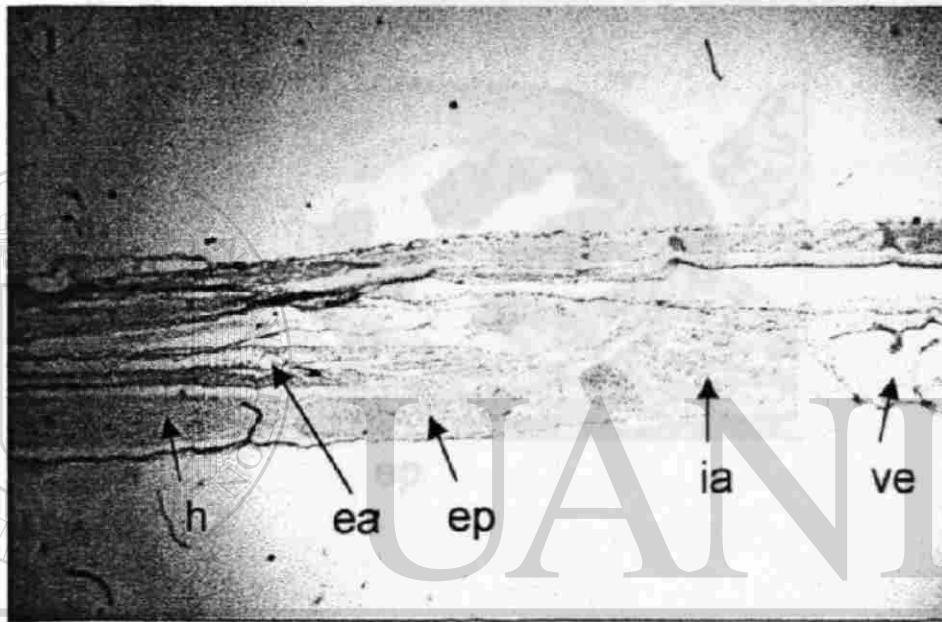
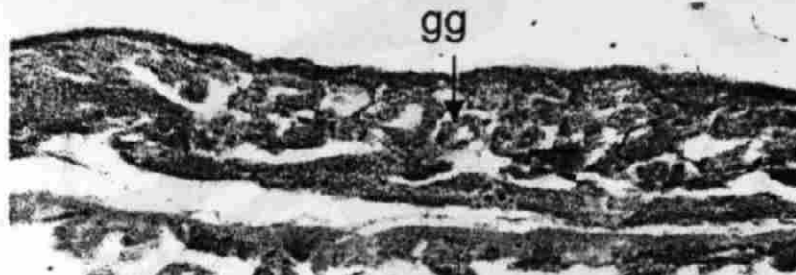


Figura 3.4. Corte sagital de una larva de 6 DDE (3.2X), tinción con HyE. Se observan bien diferenciados el hígado (**h**), estómago anterior (**ea**), estómago posterior (**ep**), intestino anterior (**ia**) y válvula espiral (**ve**).

La torsión en el estómago separa dos regiones histológicamente diferentes, en la parte anterior se encuentran presentes glándulas gástricas, mientras que en la región posterior no se presentan estas glándulas. Adicionalmente, en esta región la capa muscular es muy gruesa en comparación con la región anterior del estómago (Figura 3.5).



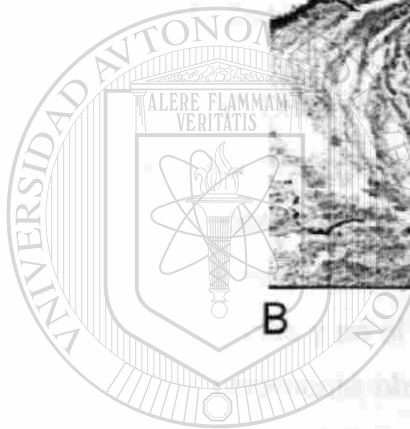
A

ea



B

ep



UATL

Figura 3.5.- Larva de 7 DDE (40X), tinción con HyE. A) estómago anterior (**ea**) donde se aprecian las glándulas gástricas (**gg**) y el epitelio columnar ciliado; B) corte transversal del estómago posterior (**ep**) con epitelio columnar y una gruesa capa muscular.

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En el intestino anterior se forman pliegues y prolongaciones cortas dando lugar a la formación de ciegos pilóricos. La válvula espiral está bien diferenciada y ocupa la mayor parte del intestino (Figura 3.6). Durante este periodo aún es posible observar reservas de vitelo en la cavidad corporal de la larva.

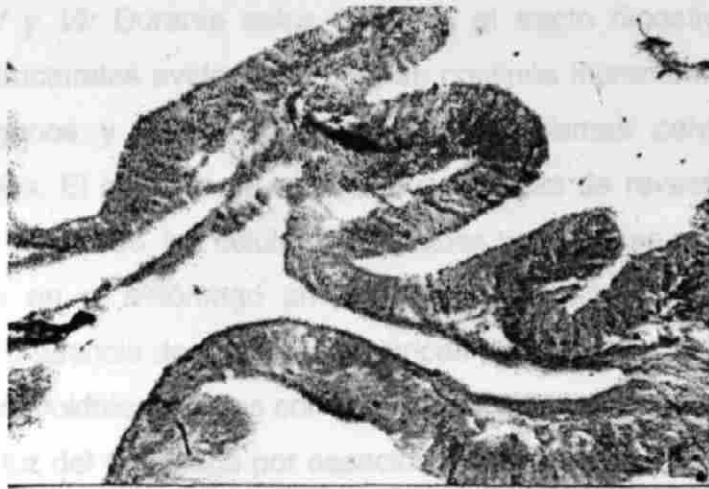


Figura 3.6.- Corte sagital de intestino anterior en una larva de 7 DDE (40X), tinción con HyE:

Estadio IV: Durante este periodo, el cual abarca larvas de 19.5 a 22.5 mm, se agotan las últimas reservas de vitelo, las cuales fueron observables únicamente hasta el octavo día después de la eclosión (DDE). El tracto digestivo no presenta transformaciones estructurales marcadas y solamente se produce un incremento en el volumen de los tejidos y en el tamaño de las células de las diferentes regiones. El tejido pancreático se incrementa observándose los acinos de células secretoras fuertemente basófilas (HyE) (Figura 3.7).

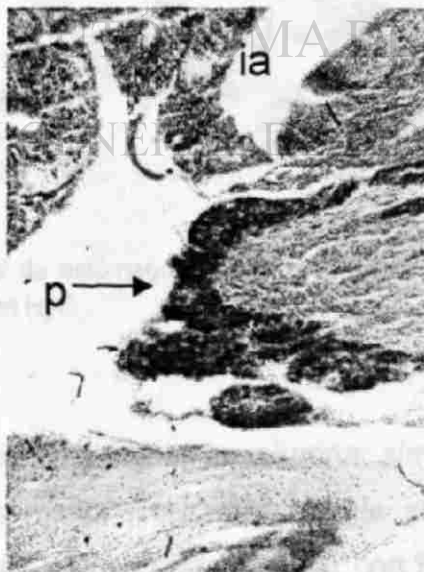


Figura 3.7.- Corte sagital de una larva de 11 DDE (40X), tinción con HyE. Se aprecia el tejido pancreático (p), intestino anterior (ia) y la capa muscular del estómago posterior (ep).

Estadios V y VI: Durante estos periodos el tracto digestivo ya no presenta modificaciones estructurales evidentes y sólo se continúa incrementando el tamaño de los diferentes órganos y tejidos, presentando las mismas características de los organismos juveniles. El esófago es corto con un epitelio de revestimiento simple con células secretoras de mucus, las células son ciliadas y presentan un núcleo basal. Este tejido se continua en el estómago anterior en donde se diferenciará del esófago únicamente por la presencia de glándulas gástricas debajo del epitelio. Estas glándulas presentan células cuboidales simples con gránulos eosinófilos las cuales forman túbulos que se abren a la luz del estómago por espacios entre el epitelio. La cantidad y tamaño de las glándulas gástricas se incrementa con la edad (Figura 3.8).

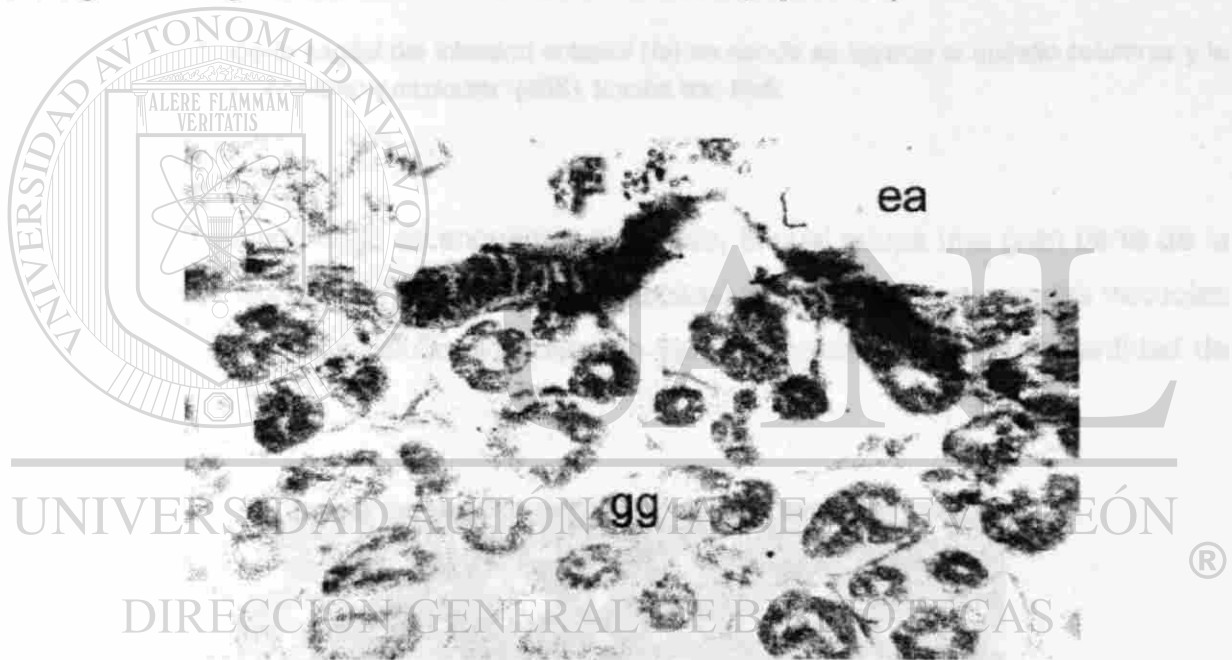


Figura 3.8.- Corte sagital de estómago anterior (*ea*) con las glándulas gástricas (*gg*), en una larva de 15 DDE (40X), tinción con HyE.

El intestino esta cubierto por epitelio columnar simple, las células presentan un núcleo basal y numerosas microvellosidades. En la submucosa se observa tejido conectivo, células sanguíneas y una capa muscular con fibras lisas poco desarrolladas (Figura 3.9). Este mismo patrón se observó en la válvula espiral.

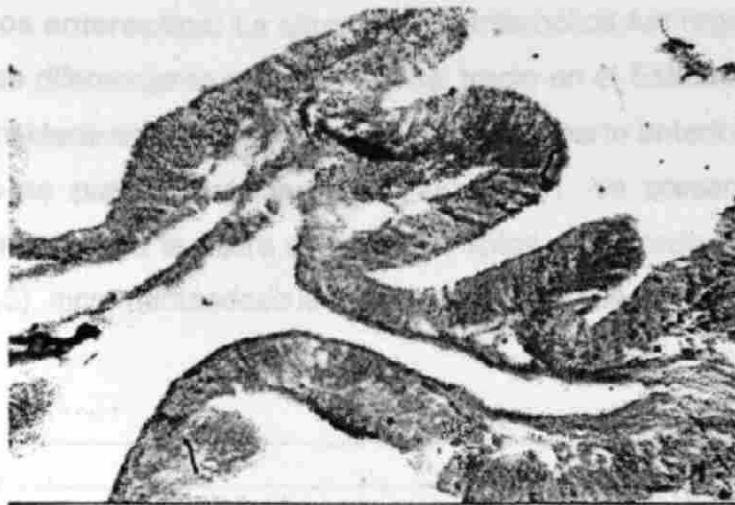


Figura 3.9.- Corte sagital del intestino anterior (fa) en donde se aprecia el epitelio columnar y la submucosa con tejido conectivo y muscular (40X), tinción con HyE.

Debajo del estómago se encuentra el hígado, el cual ocupa una gran parte de la cavidad corporal, las células del hígado (hepatocitos) son cúbicas con grandes vacuolas y en los huecos entre las células se observan vasos sanguíneos con gran cantidad de eritrocitos (Figura 3.10).

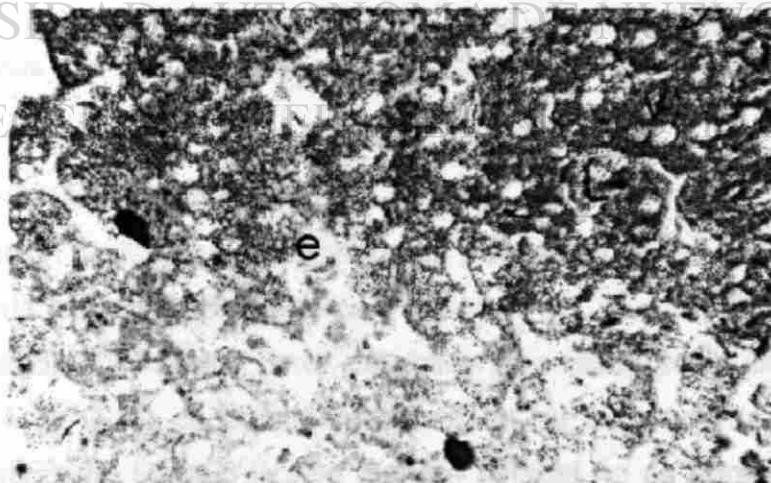


Figura 3.10.- Corte sagital de hígado en larva de 15 DDE, se aprecian las vacuolas (v) en los hepatocitos y vasos sanguíneos (eritrocitos; e) (40X), tinción con HyE.

Altura de los enterocitos: La altura de los enterocitos fue registrada a partir del momento en que se diferenciaron las regiones del tracto en el Estadio III (14.5 mm LT), para lo cual se consideraron únicamente las células de la parte anterior del intestino. De esta forma, como se puede apreciar en la Figura 3.11, se presentaron diferencias significativas con respecto a la altura de los enterocitos entre cada estadio ($F= 2280.;$ $P= 0.000;$ $gl= 140,3$), incrementándose la altura con la edad de las larvas.

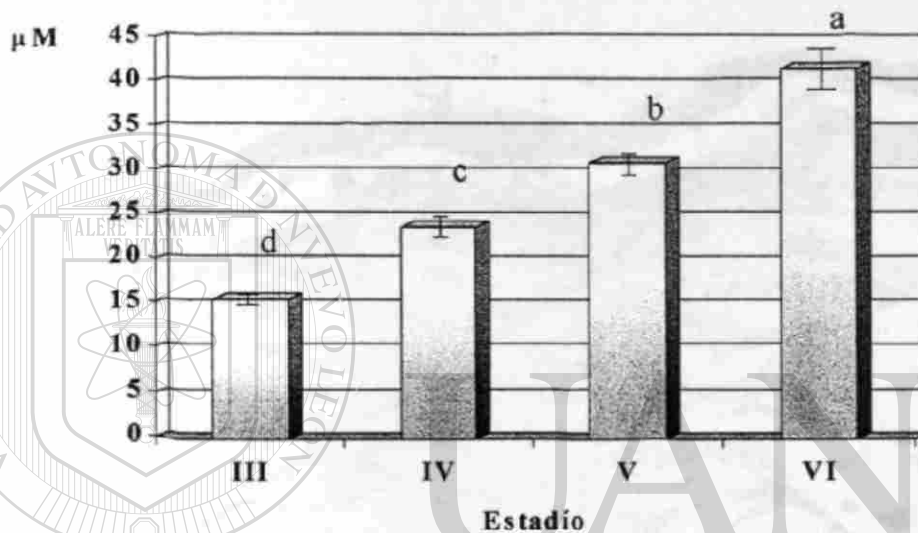


Figura 3.11. Altura de los enterocitos (μm) de la parte anterior del intestino en larvas de catán de diferentes estadios. Las distintas literales representan grupos significativamente diferentes ($P < 0.05$).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3.3.2 EFECTO DE LA INANICION

La separación de los grupos alimentados y en inanición se llevó a cabo a partir del 5 DDE cuando las larvas presentaron 19 mm de LT en promedio, es decir en la parte final del Estadio III. Por otra parte, se observaron reservas de vitelo en larvas de hasta 21 mm LT (8 DDE), independientemente de su condición nutricional, lo cual corresponde al inicio del Estadio IV. De manera notable no se apreciaron diferencias cualitativas en los tejidos del tracto digestivo de las larvas en inanición con respecto a aquellas que recibieron alimento durante este periodo.

Cuando las larvas tenían 10 DDE se observó que aquellas que no recibieron alimento exógeno presentaban el tejido muscular de la parte dorsal ligeramente reducido en volumen al ser comparadas con larvas de la misma edad que habían recibido alimento. Lo anterior también se observó en las paredes del tracto digestivo. Estas diferencias se acentuaron a los 12 DDE, en este momento se observaron algunas regiones del tracto con las paredes unidas y el tejido muscular del cuerpo presentó separaciones entre las fibras (Figura 3.12).

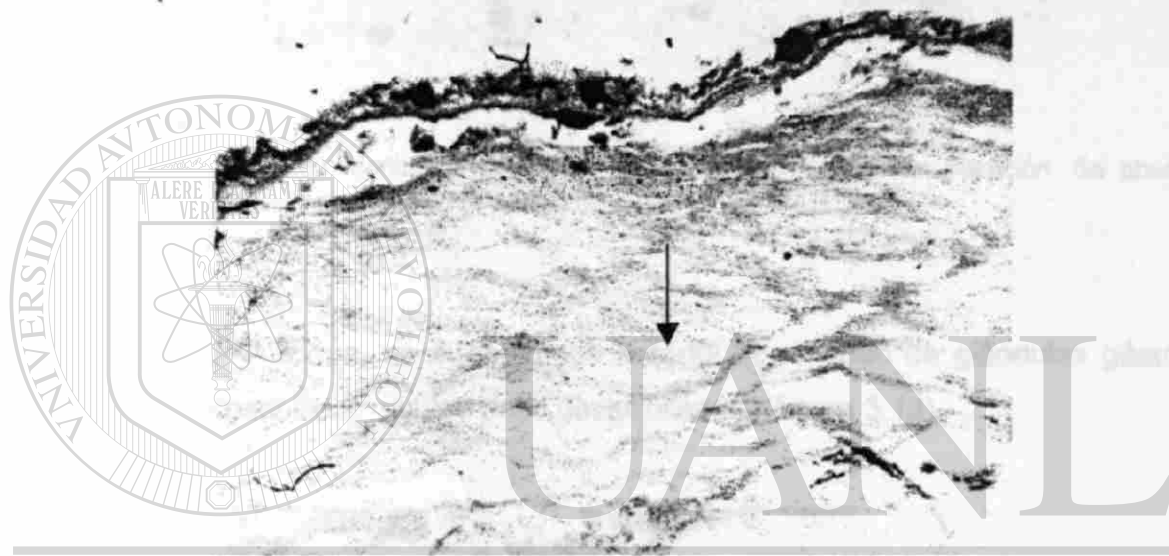


Figura 3.12.- Corte sagital de musculatura dorsal en una larva de 12 DDE mantenida en inanición. Se observa la separación entre las fibras (40X), tinción con HyE.

Cuando las larvas tenían 15 DDE, las diferencias anteriores se encontraron claramente marcadas con respecto a las larvas de la misma edad que recibieron alimento. Todos los tejidos se encontraron considerablemente reducidos en volumen y los espacios entre las fibras musculares del cuerpo fueron mayores. En los hepatocitos no se observaron las grandes vacuolas que están presentes en las larvas bien alimentadas (Figura 3.13).

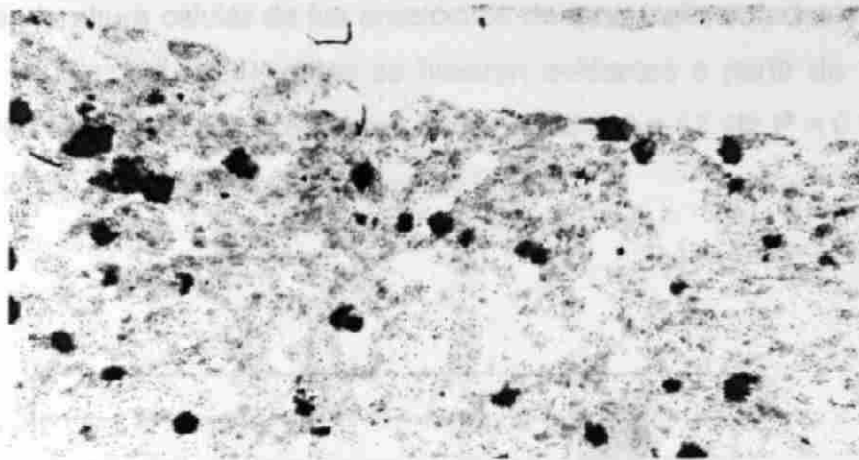


Figura 3.13.- Corte sagital de hígado en una larva de 15 DDE en inanición. Se observan hepatocitos pequeños sin vacuolas (40X), tinción con HyE.

De la misma forma, en el estómago anterior la cantidad de glándulas gástricas fue reducida y presentaron células poco desarrolladas (Figura 3.14).

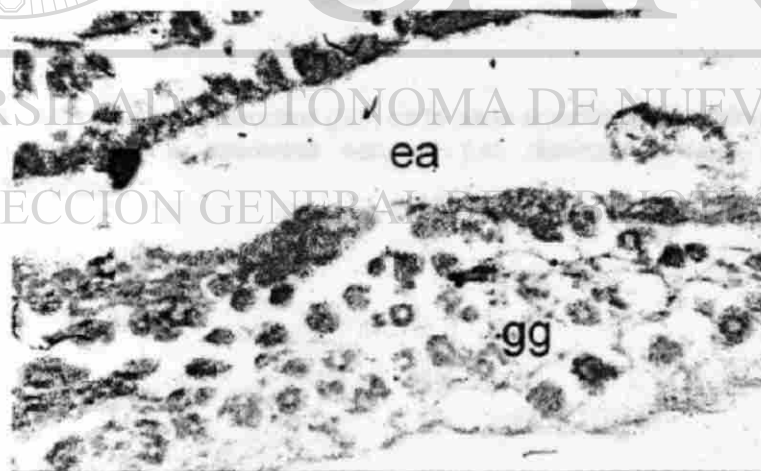


Figura 3.14.- Corte sagital de estómago anterior (ea) en larva de 15 DDE en inanición (40X), tinción con HyE.

Altura de los enterocitos: Aunque a los 8 DDE no se presentaron diferencias significativas en la altura celular de los enterocitos de larvas alimentadas y en inanición ($t = - 1.28$; $P = 0.211$; $gl = 34$), estas se hicieron evidentes a partir de 10 DDE ($t = 15.07$; $P = 0.000$; $gl = 34$), y se acentuaron a los 12 DDE ($t = 13.48$; $P = 0.000$; $gl = 34$) y 15 DDE ($t = 25.95$; $P = 0.000$; $gl = 34$) (Figura 3.15.).

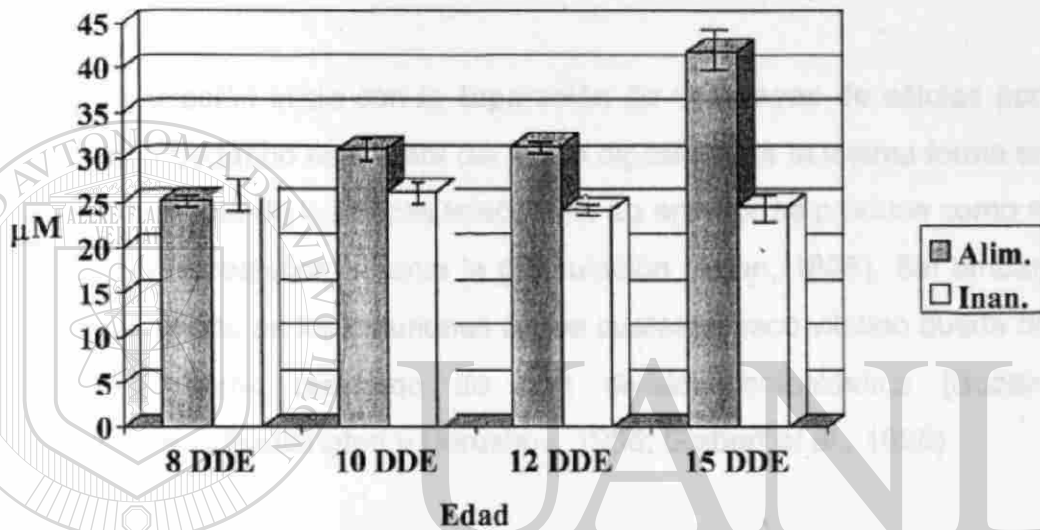


Figura 3.15.- Altura de los enterocitos (μm) de la parte anterior del intestino para larvas de catán alimentadas y en inanición a diferentes edades. Las distintas literales representan grupos significativamente diferentes.

3.4 DISCUSION

Al momento de la eclosión el tracto digestivo se encuentra representado únicamente por una línea de células indiferenciadas sobre el saco vitelino. Sin embargo, la diferenciación se produce rápidamente y en el momento que tiene lugar la alimentación exógena (5 DDE), ya es posible encontrar todas las estructuras características del tracto digestivo, lo cual también coincide con el final de la etapa pre-larval.

La diferenciación inicia con la separación de dos capas de células por encima del saco vitelino quedando este fuera del tracto digestivo, de la misma forma en que se presenta en la mayoría de los peces teleósteos. Lo anterior se produce como resultado de una división meroblástica durante la gastrulación (Dean, 1895). Sin embargo, esto difiere de lo observado en los esturiones en los cuales el saco vitelino queda dentro del tracto digestivo como resultado de una división holoblástica (Buddington y Christofferson, 1985; Buddington y Doroshov, 1986; Gisbert *et al.*, 1998).

Debido a que el proceso de diferenciación ocurre inicialmente en la parte posterior, la primera sección que se observa desarrollada es la válvula espiral. Este patrón de diferenciación que va de la región posterior a la anterior solo ha sido observado en los esturiones. Al mismo tiempo, el grado de desarrollo que presenta el tracto digestivo en las larvas de catán al momento de iniciar la alimentación exógena, los coloca dentro de un reducido grupo de especies como los esturiones y algunos salmónidos, los cuales presentan un estómago diferenciado con glándulas gástricas funcionales en este momento (Buddington y Christofferson, 1985; Dabrowski, 1986; Buddington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995; Gisbert *et al.*, 1998), contrariamente al resto de los teleósteos.

Posteriormente, al inicio de la alimentación exógena, durante los estadios IV, V y VI, se sigue observando un incremento en el tamaño de las células del tracto

digestivo (Figura 3.11), lo que permite suponer que, durante este periodo se produce un proceso de maduración del tracto digestivo, el cual se ve reflejado en el nivel de actividad de las enzimas digestivas, así como en la de absorción de nutrientes por los enterocitos. De esta forma, en el caso del catán la maduración del sistema digestivo estaría definida por un incremento en la función del estómago, así como por cambios estructurales tales como el desarrollo de pliegues intestinales y el alargamiento en altura de los enterocitos y su contenido de organelos (Dabrowski, 1986).

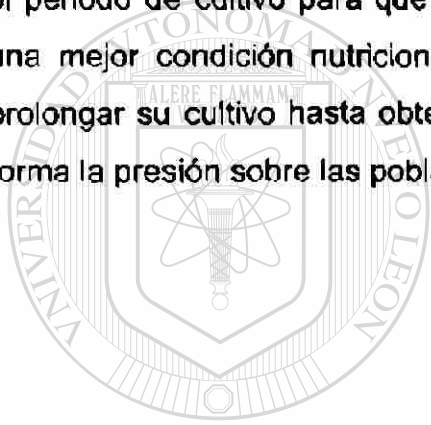
El seguimiento histológico permitió observar la existencia de reservas de vitelo en la cavidad corporal hasta el octavo día después de la eclosión. Esta observación viene a confirmar los periodos de duración propuestos para las diferentes fases de nutrición en las larvas de catán (Capítulo 2). Definiéndose de 1 a 4 DDE fase lecitotrófica; de 5 a 8 DDE fase lecitoxotrófica; de 9 DDE en adelante fase exotrófica.

La existencia de estas reservas de vitelo contribuyen a explicar la ausencia de diferencias cualitativas y cuantitativas (altura de los enterocitos) entre las larvas alimentadas y en inanición hasta la edad de 8 DDE. De hecho, una vez que estas reservas desaparecen, rápidamente (a 10 DDE) se pueden observar diferencias significativas en la altura de los enterocitos entre estos dos grupos, siendo fácilmente separados a los 12 y 15 DDE mediante la utilización de este índice de condición, lo que hace de esta característica un instrumento valioso para la evaluación de dietas artificiales en el cultivo de larvas de catán (Hunter, 1976; Lasker, 1981; Theilacker y Watanabe, 1989; Oozeki *et al.*, 1989; McFadzen *et al.*, 1994; Theilacker y Porter, 1995).

La separación de las fibras musculares del cuerpo observada en las larvas de catán en inanición concuerda con las observaciones de O'Connell (1976) para larvas de anchoveta en inanición. Así mismo, las células hepáticas de forma irregular con gránulos oscuros alrededor y el citoplasma condensado ha sido señalado también

como otra característica presente en larvas de peces en inanición (O'Connell, 1976; Theilacker, 1978).

Las características anteriores permiten situar a las larvas de catán dentro de un grupo de peces con un sistema digestivo más desarrollado del que presentan la mayoría de las larvas de otras especies. Sobre esta base es posible suponer que sería factible alimentar a las larvas de catán con dietas artificiales, desde el inicio de la alimentación exógena como sucede con algunos salmónidos y esturiones (Dabrowski *et al.*, 1985). Esto a su vez permitiría reducir la utilización de presas vivas y prolongar el periodo de cultivo para que las larvas presentaran un mayor grado de desarrollo y una mejor condición nutricional al momento de ser liberadas, o bien sería posible prolongar su cultivo hasta obtener tallas comerciales, con lo que se reduciría de esta forma la presión sobre las poblaciones naturales.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 4: ONTOGENESIS ENZIMATICA DEL CATAN (*Atractosteus spatula*).

4.1 ANTECEDENTES

El sistema digestivo de los peces presenta varias particularidades, de manera general, se considera que el sistema digestivo de las larvas de peces es más simple que el del adulto (Lauff y Hofer, 1984). Por otra parte, existen especies que en su fase adulta no desarrollan estómago y por lo tanto no producen pepsina, basando toda la actividad proteolítica en enzimas que actúan a un pH alcalino, este proceso digestivo es llevado a cabo en el intestino (Jany, 1976; Lauff y Hofer, 1984). Al mismo tiempo se ha estimado que la actividad proteolítica es menor en peces herbívoros que en peces omnívoros y carnívoros (Hofer y Schiemer, 1981).

Durante el desarrollo, típicamente, se presentan tres fases para llegar a la maduración del sistema digestivo. Primeramente, durante la etapa de alimentación endógena, se produce la diferenciación del tracto y se presenta una actividad enzimática incipiente. La segunda fase se inicia con la alimentación exógena, durante la cual el sistema digestivo no está completamente diferenciado y por ende la digestión es semejante a la de las especies sin estómago, caracterizadas por su baja capacidad digestiva lo cual compensan por medio de la macro-pinocitosis de proteínas y su digestión intracelular. Finalmente, existe una tercera fase que concuerda con la metamorfosis durante la cual el sistema digestivo se completa, en esta etapa se presenta una actividad enzimática similar a la de juveniles (Budington, 1985). Sin embargo, este patrón varía con las especies, así por ejemplo cuando los esturiones inician la alimentación exógena ya están formadas las glándulas gástricas y la capacidad proteolítica se asemeja al de los juveniles (Budington, 1985; Budington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.* 1995), esto les permite, al igual que a los salmónidos, ser mantenidos desde el primer alimento exclusivamente con dietas artificiales (Dabrowski *et al.*, 1985).

En otro orden de ideas, se ha planteado que los cambios en el desarrollo del sistema digestivo están íntimamente relacionados con la tasa de síntesis de proteínas y consecuentemente con la tasa de crecimiento corporal. Esto es el reflejo de la maduración del sistema digestivo la cual no sólo implica la formación del estómago sino un incremento en su función, el desarrollo de estructuras que permiten incrementar la absorción de nutrientes como la formación de pliegues intestinales y el alargamiento en altura de los enterocitos y su contenido de organelos (Dabrowski, 1986). Por lo cual, se considera que la diferenciación del sistema digestivo finaliza con la formación de glándulas gástricas funcionales en el estómago y este evento se encuentra estrechamente relacionado con la terminación del periodo larval (Person-Le Ruyet, 1989; Verret y Van Tongeren, 1989; Verret *et al.*, 1992; Walford y Lam, 1993; Moyano *et al.*, 1996).

Los cambios que se presentan durante el desarrollo del sistema digestivo implican igualmente cambios en el tipo de enzimas digestivas producidas, así como en el nivel de actividad de las mismas. El funcionamiento incompleto del sistema digestivo es una de las principales razones a las cuales se atribuye la dificultad que tienen las larvas de peces para utilizar dietas artificiales, ya que existe una correlación marcada entre el incremento de la actividad enzimática y el funcionamiento del estómago y por consecuencia con la habilidad de digerir los alimentos artificiales, por lo cual se considera que el tiempo más apropiado para reemplazar el alimento vivo por dietas artificiales debe concordar con la maduración del sistema digestivo (Alliot *et al.*, 1977; Lauff y , 1984; Buddington, 1985; Ueberschar, 1985; Person-Le Ruyet, 1989; Dabrowski y Culver, 1991; Moyano *et al.*, 1996).

A pesar de que las larvas de la mayoría de las especies no presentan estómago funcional al iniciar la alimentación exógena, en este periodo han sido detectadas casi todas las enzimas, con excepción de la pepsina (Alliot *et al.*, 1977; Baragi y Lovell, 1986; Gildberg, 1988; Zambonino y Cahu, 1994). Sin embargo, estas enzimas presentan una actividad muy baja, como ha sido observado en *Dicentrarchus labrax*

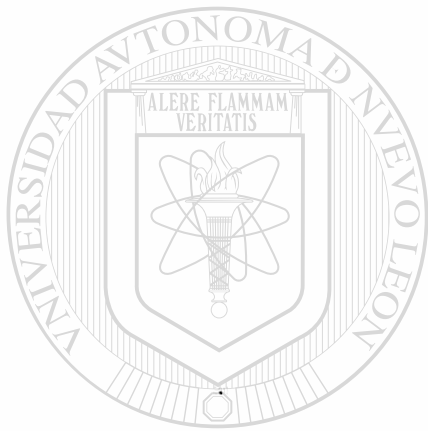
(Alliot *et al.*, 1977; Vu 1983; Zambonino y Cahu, 1994), *Scophthalmus maximus* (Ueberschar, 1985; Munilla y Stark, 1989), *Solea solea* (Clark *et al.*, 1986), *Morone saxatilis* (Baragi y Lovell, 1986), *Coreogonus lavaretus* (Segner *et al.*, 1989), *Clarias gariepinus* (Verreth *et al.*, 1992), *Lates calcarifer* (Walford y Lam, 1993) y *Sparus aurata* (Munilla y Saborido, 1996). La principal actividad enzimática detectada corresponde al tipo tripsina, quimotripsina, aminopeptidasa, amilasa y esterases no específicas. Estas actividades generalmente se incrementan con la edad, hasta el momento en que inicia la secreción de pepsina en el estómago, en este momento la actividad de las enzimas intestinales disminuye ligeramente y posteriormente se estabiliza a un nivel similar al encontrado en los juveniles y adultos (Zambonino y Cahu, 1994). El tiempo requerido para que se produzcan estos cambios de actividad varía dependiendo de la especie, y puede ir desde 2 días en *Clarias gariepinus* hasta 40 días en el turbot y *Sparus aurata* (Moyano *et al.*, 1996). Por otra parte, en algunos peces como los coreogónidos se presentan diferentes isoenzimas de tripsina para cada una de las etapas del desarrollo larvario (Dabrowski, 1996).

En el otro extremo existe un reducido número de especies cuyas larvas presentan un tracto digestivo desarrollado, con el estómago diferenciado y glándulas gástricas funcionales, al momento de iniciar la alimentación y con una capacidad proteolítica similar a la de los juveniles. Este solo es el caso de los salmónidos y esturiones (Buddington, 1985; Buddington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995). Los huevos de estas especies se caracterizan por presentar un alto contenido de lípidos, de los cuales cerca del 60 % son consumidos antes de que inicie la alimentación exógena (Gershanovich, 1991). En los esturiones han sido diferenciadas tres fases del desarrollo, el cual inicia con el estadio vitelino caracterizado por una baja actividad enzimática, seguido por el inicio de la alimentación, el cual coincide con la primera secreción gástrica y una elevada actividad amilásica y lipásica, y finalmente ocurre la metamorfosis a la forma juvenil la cual se caracteriza por una disminución en las actividades amilásica y lipásica (Buddington, 1985). Estas fases han sido relacionadas con cambios en el ciclo de vida, hábitos de alimentación natural y

posiblemente con los requerimientos nutricionales de los esturiones (Buddington y Doroshov, 1986). Considerando lo anterior, resulta importante señalar que el tracto digestivo del catán presenta una semejanza estrecha al de los esturiones, el cual presenta un epitelio ciliado en el estómago del adulto, así como una válvula espiral en la parte posterior del intestino, siendo este el sitio en donde ocurre la mayor parte de la digestión de proteínas durante el periodo larvario de los esturiones (Buddington, 1985). Por otra parte, se han observado diferencias cuantitativas y cualitativas en cuanto a la actividad enzimática entre las distintas regiones del tracto digestivo de los esturiones, lo cual es indicativo de un alto grado de especialización respecto a los procesos de digestión y absorción (Gawlicka *et al.*, 1995).

Se ha sugerido que la baja actividad en las enzimas digestivas al inicio de la alimentación puede ser compensada mediante otro tipo de procesos como la macro-pinocitosis de proteínas en el intestino posterior, proceso que involucra la actividad de enzimas proteolíticas a nivel intracelular (Tanaka, 1971 y 1972; Hofer y Schiemer, 1982; Walford y Lam, 1993). Otro mecanismo compensatorio señalado es el aporte de enzimas exógenas, las cuales podrían provenir del alimento vivo (Dabrowski, 1979; Lauff y Hofer, 1984; Dabrowski, 1986), igualmente, se ha propuesto que estas enzimas exógenas podrían actuar como activadores de los zimógenos presentes en las larvas (Munilla y Stark, 1989; Dabrowski *et al.*, 1992). Sin embargo, se ha podido detectar actividad de proteasas alcalinas aún antes de que se abra la boca y comience la alimentación exógena, contradiciendo de esta forma la teoría de activadores enzimáticos exógenos (Moyano *et al.*, 1996). Como otro argumento del papel potencial de las enzimas exógenas, se ha sugerido que la disminución de la actividad triptica al momento de iniciar la digestión ácida, podría deberse a una reducción en la contribución de las enzimas exógenas tipo tripsina provenientes del alimento vivo, como resultado de su desnaturalización en el estómago ya funcional (Walford y Lam, 1993). Es muy probable que las enzimas exógenas contribuyan en cierta forma en la digestión de las larvas, sin embargo, aun no se ha esclarecido la manera en que actúan. Hasta el momento, se señala a la tripsina como la enzima clave, debido a que

se le encuentra en la mayoría de los grupos zoológicos así como por su capacidad para activar zimógenos de otras proteasas (Munilla y Stark, 1989). De cualquier forma, la digestión luminal en las larvas de peces, ya sea por enzimas endógenas y/o exógenas representa la ruta principal de obtención de nutrientes (Dabrowski y Culver, 1991).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.2 MATERIAL Y METODO

4.2.1 ORGANISMOS EXPERIMENTALES

Se obtuvieron larvas recién eclosionadas del Centro Acuícola Tancol de la SEMARNAP en Tampico, el 1 de junio de 1999, estas fueron transportadas en bolsas de plástico, las cuales fueron llenadas con oxígeno, a las instalaciones del Grupo Ecofisiología en la Universidad Autónoma de Nuevo León. Se colocaron 2,500 larvas en una canaleta de fibra de vidrio de 230 cm de largo, 70 cm de ancho y 30 cm de altura, con un volumen de agua de 480 L. La temperatura del agua se mantuvo a 27 ± 1 °C y se proporcionó oxígeno constante mediante un compresor con el fin de mantener los niveles a 6 ppm. A partir del momento en que las larvas iniciaron la alimentación exógena, se les suministraron nauplios de *Artemia salina* de la variedad *San Francisco Bay* recién eclosionados, en dos raciones diarias de tal forma que siempre existiera un exceso de nauplios para que las larvas se alimentaran *ad libitum*.

Diariamente, a partir del tercer día después de la eclosión (3 DDE), se tomaron muestras de 100 larvas antes de proporcionar el alimento. El muestreo finalizó a los 15 DDE cuando las larvas adquirieron la forma del adulto. Las larvas fueron pesadas en grupo y posteriormente fueron disectadas una a una en una caja de petri, colocada sobre hielo, con el fin de extraer el tracto digestivo completo de cada larva el cual sería utilizado posteriormente para preparar los extractos enzimáticos.

Un catán juvenil, de cuatro meses de edad (450 mm de longitud total), obtenido de las crías producidas en el Centro Acuícola de Tancol en 1998, fue disectado en octubre de ese año para extraer el tracto digestivo y preparar extractos enzimáticos de referencia a partir del estómago, ciegos pilóricos, intestino anterior e intestino posterior.

4.2.2 EXTRACTOS ENZIMATICOS

El tracto digestivo de las larvas de cada muestra fue homogeneizado en agua destilada en una proporción 1:5 (p/v) a una temperatura de 4 °C, utilizando un

homogenizador de tejidos marca Polytron^{MR}. Posteriormente, el homogenizado fue centrifugado a 10,000 rpm durante 15 minutos a la misma temperatura. El sobrenadante fue filtrado y dividido en alícuotas de 0.1 mL las cuales se almacenaron en nitrógeno líquido y en su momento fueron utilizadas como extracto enzimático en las pruebas para la determinación de la actividad enzimática.

Determinación de proteína: Se determinó la concentración de proteína para cada extracto utilizando azul de comassie G250 de acuerdo al método de Bradford (1976). Como proteína de referencia se utilizó albúmina de suero bovino (BSA) en concentraciones de 10 a 100 mg para elaborar una curva estándar mediante la lectura de la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro marca Spectonic modelo Genesis 2.

4.2.3 ACTIVIDAD PROTEOLITICA TOTAL

Efecto del pH: Para determinar el efecto del pH sobre la actividad proteolítica total se utilizó BSA al 1% en agua destilada como sustrato. Las soluciones buffer utilizadas fueron Citrato-Fosfato en un rango de pH de 2.2 a 7 y Glicina-NaOH-NaCl en un rango de pH 8.5 a 12. La mezcla de reacción consistió en 0.5 mL del buffer al pH deseado, 0.5 mL de BSA y 0.1 mL de extracto enzimático, esta fue incubada durante 60 minutos a 25 °C. La reacción fue detenida por la adición de 0.5 mL de ácido tricloracético (TCA) frío al 10%. Posteriormente, se mantuvo durante 30 minutos a 4 °C, se centrifugo a 5,000 rpm durante 15 minutos a la misma temperatura y se registró la absorbancia del sobrenadante a 280 nm. Un blanco fue preparado de la misma forma salvo que se adicionó el TCA antes de la incubación. La actividad de cada muestra (para todas las pruebas analíticas) fue determinada por triplicado y expresada como el cambio en absorbancia de 0.001 por minuto por miligramo de proteína en el extracto.

Actividad proteolítica alcalina: En este caso se utilizó azocaseína como sustrato (Galgani y Nagayama, 1986). La mezcla utilizada consistió en 0.5 mL de azocaseína al 0.2 % con 0.5 mL de buffer Universal pH 8.4 y 0.1 mL de extracto

enzimático. Esta fue incubada a 25 °C durante 60 minutos y fue detenida con 0.5 mL de TCA frío al 10%. Posteriormente, se mantuvo durante 30 minutos a 4 °C, se centrifugó a 5,000 rpm durante 15 minutos a la misma temperatura y se registró la absorbancia del sobrenadante a 366 nm. La actividad fue expresada de la misma forma que en el caso anterior.

Actividad proteolítica ácida: Para la determinación de esta actividad se utilizó hemoglobina al 1 % como sustrato (Anson, 1938). La mezcla de reacción consistió en 0.5 mL de sustrato con 0.5 mL de buffer Universal pH 3.0 y 0.1 mL de extracto. Esta posteriormente se incubó durante 60 minutos a 25 °C y se detuvo la reacción con 0.5 mL de TCA frío al 10% , se mantuvo a 4° C durante 30 min. y a continuación se centrifugó a 5,000 rpm durante 5 minutos a 4° C y por último se registró la absorbancia a 280 nm.

4.2.4 IDENTIFICACION DE LA ACTIVIDAD PROTEOLITICA MEDIANTE ELECTROFORESIS

Proteasas alcalinas: Para identificar la actividad de las proteasas alcalinas en el tracto digestivo de larvas y juveniles de catán, se realizaron electroforesis en condiciones desnaturalizantes en presencia de lauril (dodecil) sulfato de sodio (SDS), utilizando un sistema de gel discontinuo (gel almacenador y gel separador), mediante la técnica descrita por Laemmli (1970), modificada por García-Carreño *et al.*, (1993) para visualizar actividad proteolítica alcalina, la cual consiste básicamente en la preparación de las muestras, eliminando el mercapto-etanol y en este caso las muestras no fueron calentadas.

Las electroforesis se realizaron en una cámara de electroforesis vertical, Dual Mini Gel Unit (Scientific Co.), con placas de 10 x 11.3 x 0.75 cm con capacidad para 10 muestras por gel. El gel concentrador fue preparado a una concentración de

poliacrilamida (PAA) de 4% y gel separador a 15% PAA. En el Anexo 1 se detalla el procedimiento para la elaboración de los geles.

Se corrieron dos geles al mismo tiempo, uno de los cuales fue procesado para visualizar las proteínas presentes en los extractos y el otro para observar las bandas con actividad proteolítica. Se utilizó Tris - Glicina 0.0192M, SDS 0.1%, pH 8.3, como buffer para cámara. Las muestras fueron preparadas mezclando los extractos enzimáticos con el buffer de muestra (Tris-HCl 0.5M, pH 6.8, SDS 2 %, glicerol 20 % y azul bromofenol 0.04 %), en proporción 1:1, procurando aplicar de 35-40 mg de proteína por pocillo con una micro-jeringa Hamilton. La cámara fue conectada a una fuente de poder Pharmacia^o EPS 600 a un voltaje de 100V y a una intensidad de 60 mA por gel, durante 90 minutos, utilizando un baño con recirculación para mantener la temperatura de los geles a 4 °C.

Inmediatamente después de finalizada la electroforesis, los geles utilizados para visualizar las proteínas de los extractos, fueron fijados con TCA al 10%. Mientras que los geles para detectar la actividad proteolítica, fueron sumergidos en una solución de caseína al 1% en un buffer Tris-HCl 50 mM pH 9.0, durante 30 minutos a 4° C. Posteriormente, fueron cambiados a otra solución similar a 25° C para ser incubados durante 90 minutos. En seguida fueron lavados en agua destilada, para remover el exceso de sustrato y posteriormente fueron fijados con TCA al 10%.

Los geles fueron teñidos de acuerdo a la metodología de Weber y Osborn (1969). En breve, estos fueron sumergidos, durante toda la noche a temperatura ambiente, en una solución compuesta de 0.1% de azul de comassie R-250 en metanol, ácido acético y agua destilada en una proporción 40:10:50 respectivamente. Para revelar los geles se utilizó una solución de metanol, ácido acético y agua destilada (40:10:50). Posteriormente, los geles fueron sumergidos en agua destilada para que se hidrataran. Finalmente, con el propósito de ser conservados, los geles fueron cubiertos con papel celofán y extendidos sobre una placa de cristal para ser deshidratados.

En los geles las proteínas se revelaron como bandas azules sobre un fondo transparente. Mientras que las enzimas con actividad proteolítica fueron reveladas como bandas de color blanco o transparente sobre un fondo azul, como si se tratara de un negativo.

El peso molecular de las proteasas alcalinas encontradas fue determinado utilizando un kit comercial (SIGMA^{MR} MW-SDS-70) que contenía albúmina bovina, albúmina de huevo, pepsina, tripsinógeno, b-lactoglobulina y lisozima.

Proteasas ácidas: Para la determinación de las proteasas ácidas se utilizó la metodología propuesta por Alarcón (1997). Estas electroforesis se desarrollaron bajo condiciones nativas, es decir en ausencia de SDS. El procedimiento para la preparación de los geles se resume en el Anexo 2. La preparación de los geles y condiciones en las que se llevaron a cabo las electroforesis fue igual a la descrita para proteasas alcalinas, únicamente variando en el buffer de muestra (Tris-Acido Fosfórico 0.1M, pH 5.5, con glicerol 20% y azul de bromofenol 0.02%) y el buffer de cámara (Tris-Glicina 0.62 M, pH 7.0).

Después de la electroforesis los geles se sumergieron en HCl 0.1M para disminuir el pH a 3.0 (el buffer de muestra presente en el frente cambia de azul a amarillo). Posteriormente, se colocaron en una solución de hemoglobina al 0.25% en un buffer Universal pH 2.0 a 4° C durante 30 minutos. En seguida se pasaron a una solución similar para ser incubados a 25 °C durante 90 minutos. A continuación, los geles fueron lavados con agua destilada para remover el exceso de sustrato y fijados en con TCA al 10% . Los proceso de coloración, revelado y conservación fueron los mismos que se utilizaron en el caso de las proteasas alcalinas.

Efecto de inhibidores: El tipo de actividad proteolítica fue parcialmente caracterizada mediante la utilización de inhibidores enzimáticos. Para este efecto se siguió la metodología propuesta por García-Carreño (1993), que consiste en mezclar

40 ml del extracto con 10 ml de la solución concentrada del inhibidor correspondiente para su posterior incubación durante una hora a 25 °C, antes de realizar la electroforesis bajo las condiciones descritas. Los inhibidores utilizados, su especificidad y concentración utilizada se presenta en la Tabla 4.1.

INHIBIDOR	ESPECIFICIDAD	SOLUCION CONCENTRADA	SOLVENTE
PMSF	serina proteasa	100mM	propanol
SBTI	serina proteasa	12mM	agua destilada
TLCK	tripsina	10mM	HCl 1mM
EDTA	metal-proteasa	0.5M	agua destilada
Pepstatina	pepsina		

Tabla 4.1.- Inhibidores utilizados para la caracterización de enzimas proteolíticas.

4.2.5 ACTIVIDAD PROTEOLITICA ESPECIFICA

El procedimiento general consistió en mezclar 0.5 mL de sustrato con 0.5 mL de buffer para adecuar el pH y poder adicionar 0.1 mL de extracto enzimático. La reacción se llevo a cabo en una celda de cuarzo, en un espectrofotómetro SPECTRONIC, modelo GENESIS 2, a una temperatura de 25° C. La actividad enzimática fue registrada mediante el cambio en absorbancia durante 10 minutos a partir de un valor establecido de longitud de onda para cada sustrato. La actividad fue expresada como unidades enzima (UE) por minuto por miligramo de proteína en el extracto, siendo equivalente 1 UE a un cambio de 0.001 en absorbancia. Los sustratos utilizados, así como el tipo de actividad que permiten detectar y el método de referencia se presentan en la Tabla 4.2.

ENZIMA	SUSTRATO	BUFFER	λ nm	METODO
Tripsina	Na-p-tosil-l-arginina metil ester (TAME) 0.001M	Tris 0.1M (pH 7.4) con CaCl_2 0.01M	247	Hummel (1959)
Tripsina	N-benzoil-arginita pNitroanilida (BAPNA) 2mM	Tris 50 mM (pH 8.4) con CaCl_2 20mM	405	Erlanger (1961)
Quimotripsina	N-benzoil-l-tirosina etil ester (BTTE) 0.001M	Tris 0.1M (pH 7.4) con CaCl_2 0.01M	254	Hummel (1959)
Quimotripsina	N-glutaril-fenilalanina pNitroanilida (GPNA) 2mM	Tris 50 mM (pH 8.4) con CaCl_2 20mM	405	Lauff y Hofer (1984)
Aminopeptidasa	L-leucinaamida 0.125 M	Tris 0.1M (pH 7.4) con CaCl_2 0.01M	238	Clark <i>et al.</i> (1986)
Aminopeptidasa	L-leucina pNitroanilida (LNA) 2mM	Tris 50 mM (pH 8.4) con CaCl_2 20 μ M	405	Lauff y Hofer (1984)

Tabla 4.2.- Sustratos, tipo de enzima que detectan, condiciones del ensayo y método de referencia utilizado.

4.2.6 FOSFATASAS ACIDA Y ALCALINA

Se utilizó p-nitrofenil fosfato como sustrato de acuerdo al método descrito por Moyano *et al.* (1996). El procedimiento para determinar este tipo de actividad consistió en incubar, durante 10 minutos a 25 °C, 0.1 mL del extracto con 0.1 mL de sustrato diluido en buffer acetato (pH 4.8) para la detección de fosfatasa ácida o en un buffer dietanolamina (pH 9.8) para el caso de las fosfatasa alcalinas. Posteriormente, se agregaron 10 mL de NaOH (0.05 N) para detener la reacción y se registró la absorbancia a 405 nm. La actividad fue expresada de la misma forma que para las proteasas específicas.

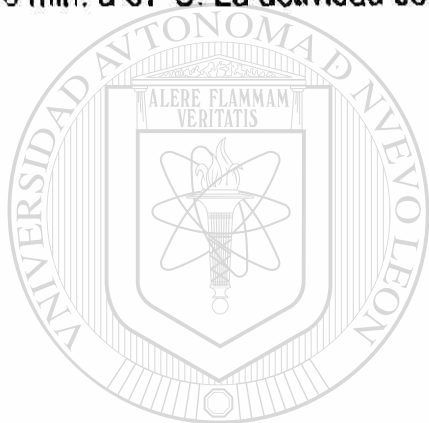
4.2.7 ACTIVIDAD AMILASICA

La actividad de tipo α -amilasa fue determinada utilizando almidón como sustrato (Brenfeld, 1951). El método consistió en mezclar una solución de almidón al 1%, en 0.4 mL de buffer de fosfatos (monosódico y disódico) al 0.02M conteniendo 0.006M de

cloruro de sodio a pH 6.9 y 0.1 mL de extracto enzimático. La mezcla fue incubada durante 60 minutos y posteriormente se agregó 1 mL de ácido dinitrosalicílico. Los tubos se colocaron en baño maría durante 5 minutos y a continuación se enfriaron a temperatura ambiente, para registrar la absorbancia a 540 nm.

ACTIVIDAD ESTERASICA

La actividad de tipo esterasa se determinó utilizando p-nitrofenil acetato como sustrato (Munilla y Starck, 1990). La mezcla consistió en 1 mL de sustrato (0.002M) en buffer Tris-HCl 50 mM (pH 7.1) con 0.1 mL. de extracto enzimático incubado durante 10 min. a 37°C. La actividad se registró por el incremento en la absorbancia a 405 nm.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.3 RESULTADOS

4.3.1 ACTIVIDAD PROTEOLITICA TOTAL

En la Figura 4.1 se muestra el efecto del pH sobre la actividad proteolítica total. Se puede observar que tanto en las larvas de 5 DDE como en las de 8 DDE se presentan dos picos de actividad cercanos a pH 2.2 y pH 8.4 y únicamente cambia el nivel de actividad incrementándose ésta con la edad.

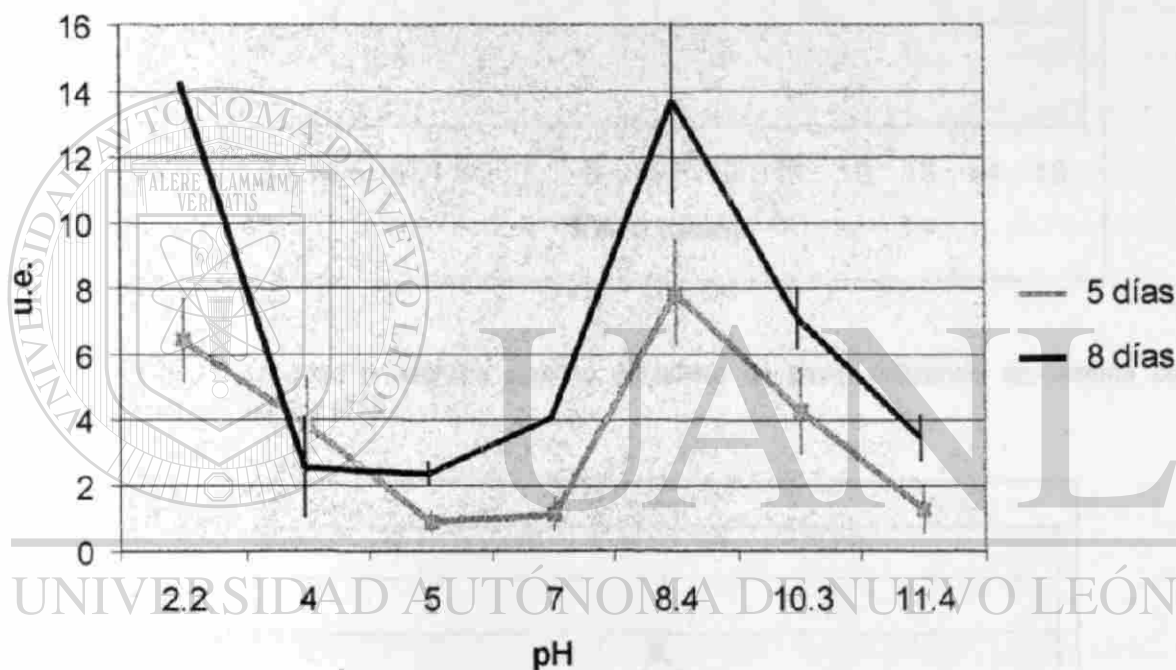


Figura 4.1.- Efecto del pH sobre la actividad proteolítica total en larvas de 5 y 8 DDE. La actividad fue determinada utilizando albúmina al 1% en buffer citrato-fosfato (pH 2.2 a 7) o glicina-NaOH (pH 8 a 12)

Por otra parte, como se puede observar en la Figura 4.2, la actividad proteolítica alcalina se incrementó hasta el 5 DDE y posteriormente se mantuvo a niveles constantes. Cabe señalar que la actividad proteolítica ácida se comportó de manera similar, solo que el nivel de actividad fue 10 veces mayor a la actividad alcalina (Figura 4.3).

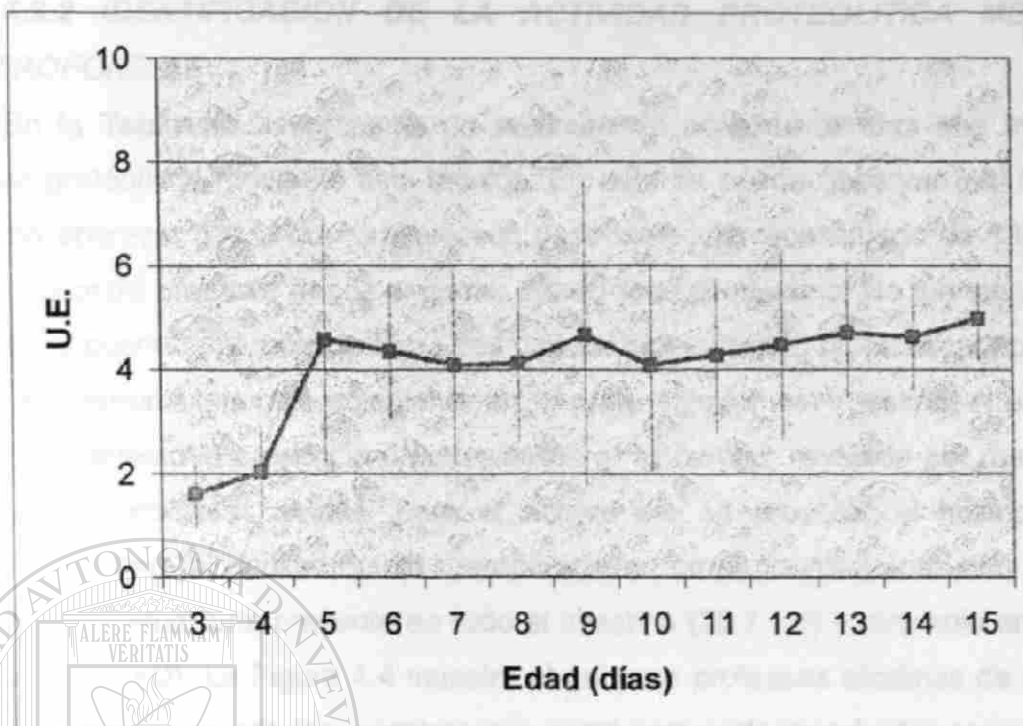


Figura 4.2.- Actividad proteolítica alcalina de larvas de catán utilizando azocaseína como sustrato en buffer universal a pH 8.4

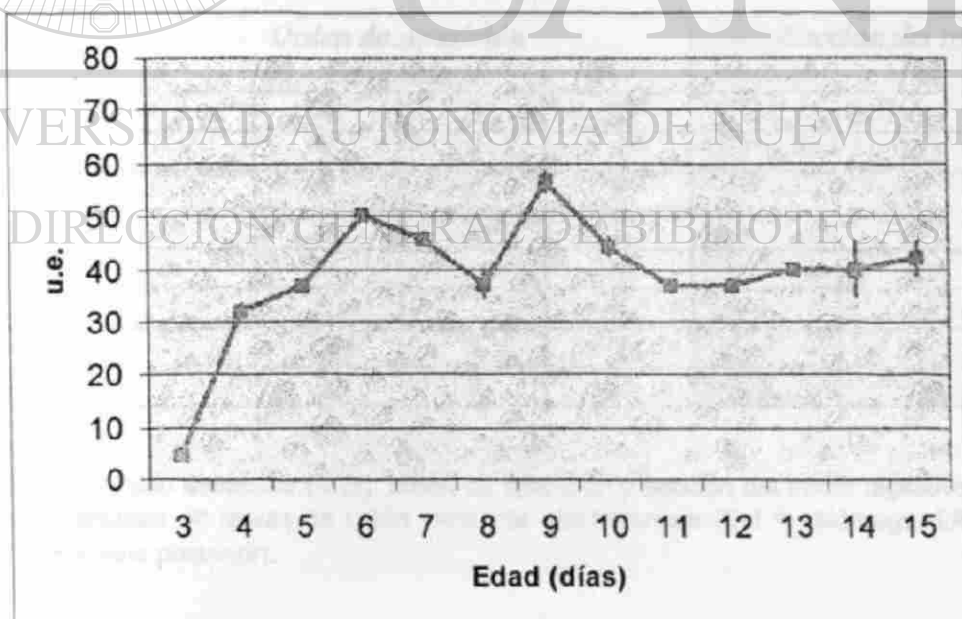


Figura 4.3.- Actividad proteolítica ácida en larvas de catán utilizando hemoglobina 0.25 % en buffer universal pH 3.0

4.3.2 IDENTIFICACION DE LA ACTIVIDAD PROTEOLITICA MEDIANTE ELECTROFORESIS

En la Tabla 4.3 se presenta un resumen de aquellas bandas que mostraron actividad proteolítica mediante esta técnica. En esta se puede observar que la primer banda en aparecer fue la que presentó un peso molecular aproximado de 18.8 kD, la cual se encontró presente desde el primer día en todo el intestino. No fue sino hasta el cuarto DDE cuando aparecieron otras tres bandas con actividad proteolítica alcalina, las cuales estuvieron presentes solamente en la parte anterior del intestino. A esta edad también se detectó la presencia de pepsina en el estómago, revelada por medio de la técnica para proteasas ácidas. Para el octavo día se presentó el mismo patrón, mientras que para el décimo quinto día aparecieron otras dos proteínas con actividad proteolítica alcalina, una presente en todo el intestino (33.7 kD) y otra solo en la parte posterior (36.4 kD). La Figura 4.4 muestra el gel para proteasas alcalinas de extractos de larvas a diferentes edades, mientras que el gel para proteasas ácidas se muestra en la Figura 4.5.

No.	MW (Kd)	Orden de Aparición Edad (días)				Sección del tracto		
		1	4	8	15	Est	I.A.	I.P.
1	18.8	X	X	X	X	X	X	
2	23.3		X	X	X	X		
3	26.8		X	X	X	X		
4	33.7				X	X	X	
5	36.4				X		X	
6	47.3		X	X	X	X		
7	Pepsina		X	X	X	X		

Tabla 4.3.- Peso Molecular (MW), orden de aparición y sección del tracto digestivo de enzimas proteolíticas detectadas en larvas de catán mediante electroforesis (Est = estómago; I.A. = intestino anterior; I.P. = intestino posterior).

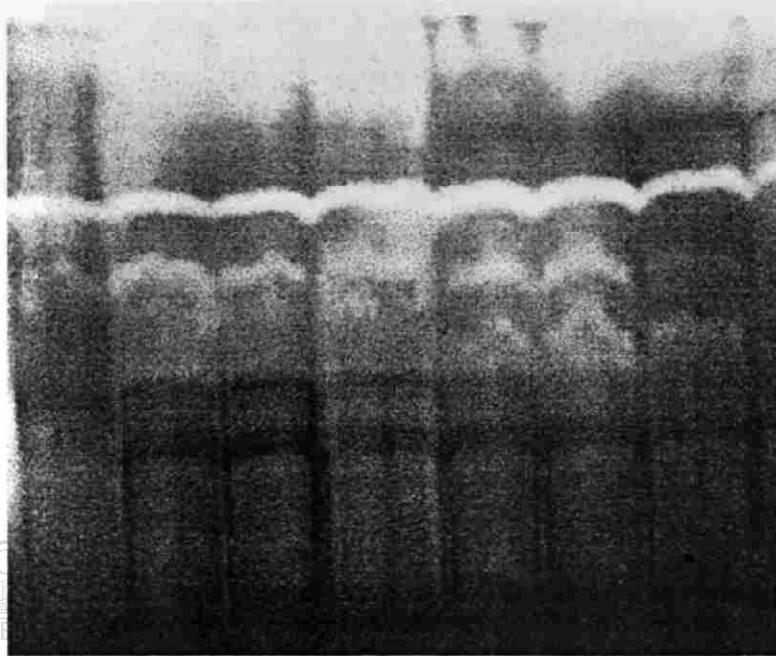


Figura 4.4.- Gel de electroforesis SDS-PAGE incubado en caseína al 1% a pH 9.0 mostrando las bandas con actividad proteolítica alcalina en el tracto digestivo de larvas de catán de 3 a 8 DDE de izquierda a derecha.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



Figura 4.5.- Gel de electroforesis en condiciones nativas. Incubado en hemoglobina a pH 3.0, mostrando la banda de actividad proteolítica ácida en el tracto digestivo de larvas de catán de 5 a 8 DDE de izquierda a derecha.

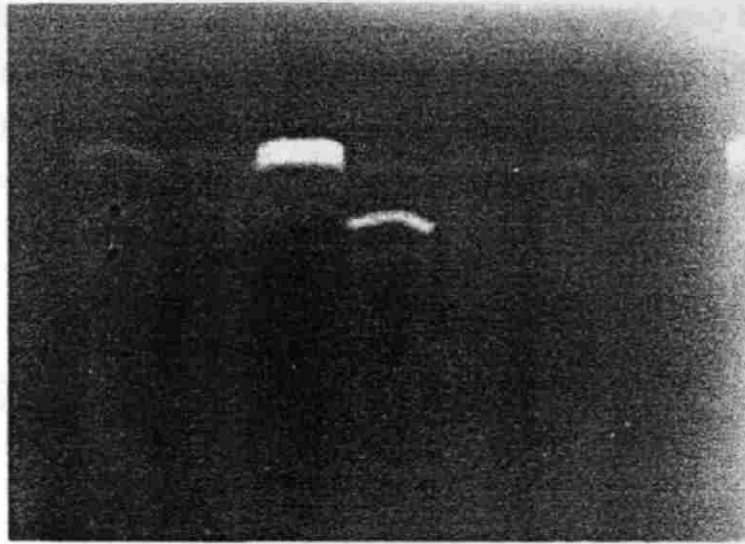


Figura 4.4.- Gel de electroforesis SDS-PAGE incubado con caseína al 1% a pH 9.0, mostrando el efecto de inhibidor PMSF (carriles de la derecha) sobre extractos de tracto digestivo de larvas de catán.

4.3.3 ACTIVIDAD PROTEOLITICA ESPECIFICA

Se detectó actividad de tipo tripsina a partir del tercer DDE. Esta se fue incrementando hasta un pico máximo en el octavo día, el cual disminuye en el 9 DDE y tiende a estabilizarse con un pequeño incremento diario (Figura 4.7).

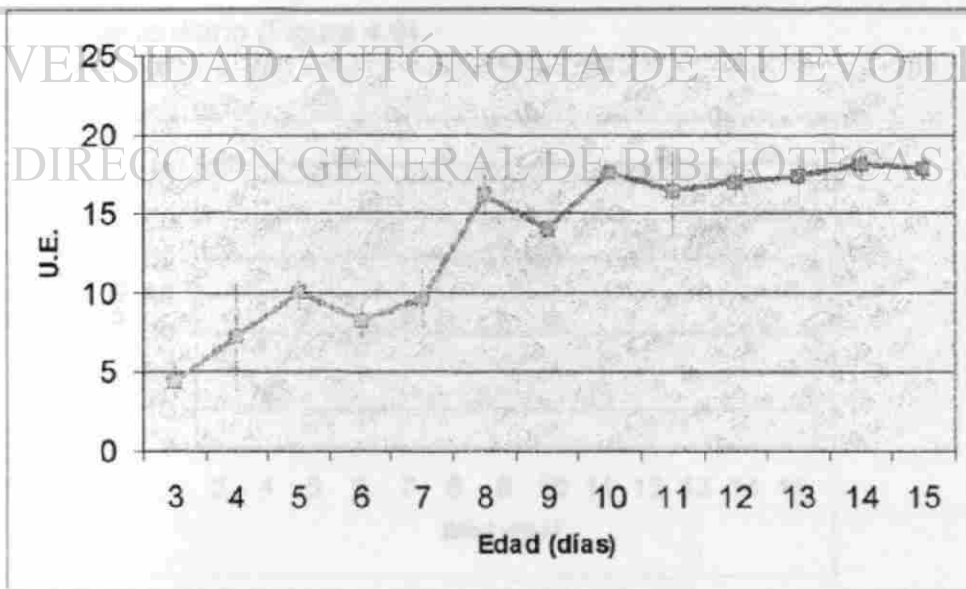


Figura 4.7.- Actividad de tipo tripsina detectada en larvas de catán mediante el uso de BAPNA en buffer Tris-HCl pH 8.4

La actividad de tipo quimotripsina detectada permaneció muy baja del 3 DDE al 5 DDE, posteriormente se incrementó con un máximo en el 8 DDE y tendiendo a estabilizarse en lo sucesivo con algunas variaciones (Figura 4.8).

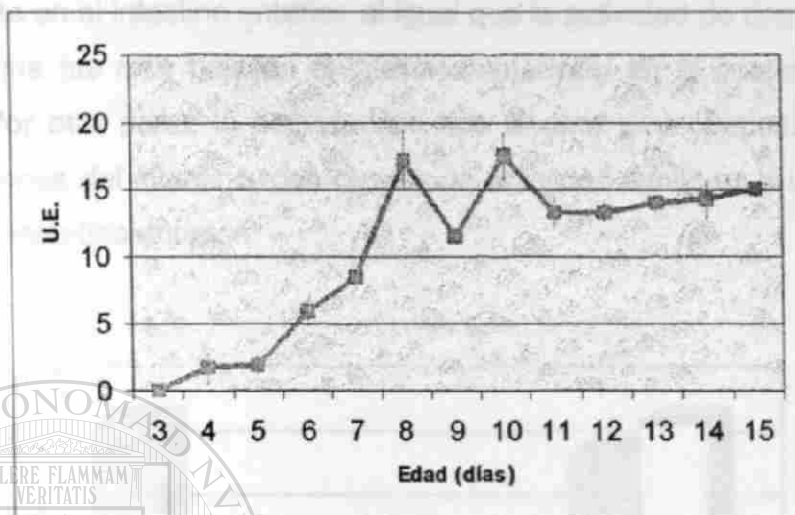


Figura 4.8.- Actividad de tipo quimotripsina en larvas de catán. Sustrato GPNA en buffer Tris-HCl pH 8.4.

La actividad de tipo leucina aminopeptidasa fue la que registro una mayor magnitud entre estos tres tipos de proteasas. Esta presentó un tendencia a incrementarse con un máximo en el 11 DDE y posteriormente tendió a estabilizarse con un ligero incremento diario (Figura 4.9).

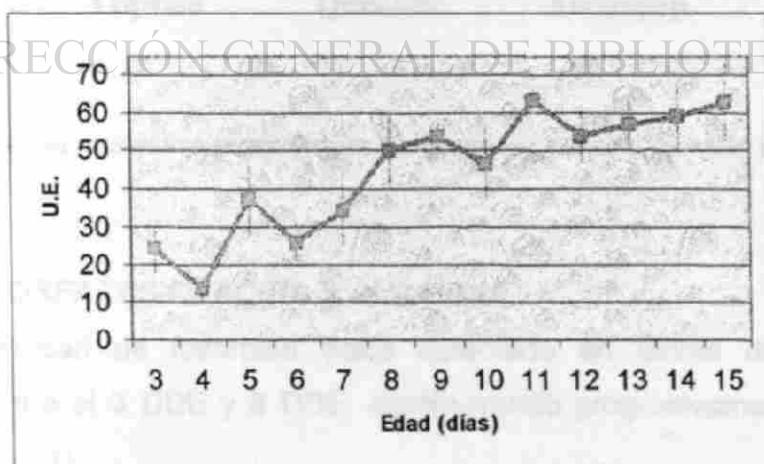
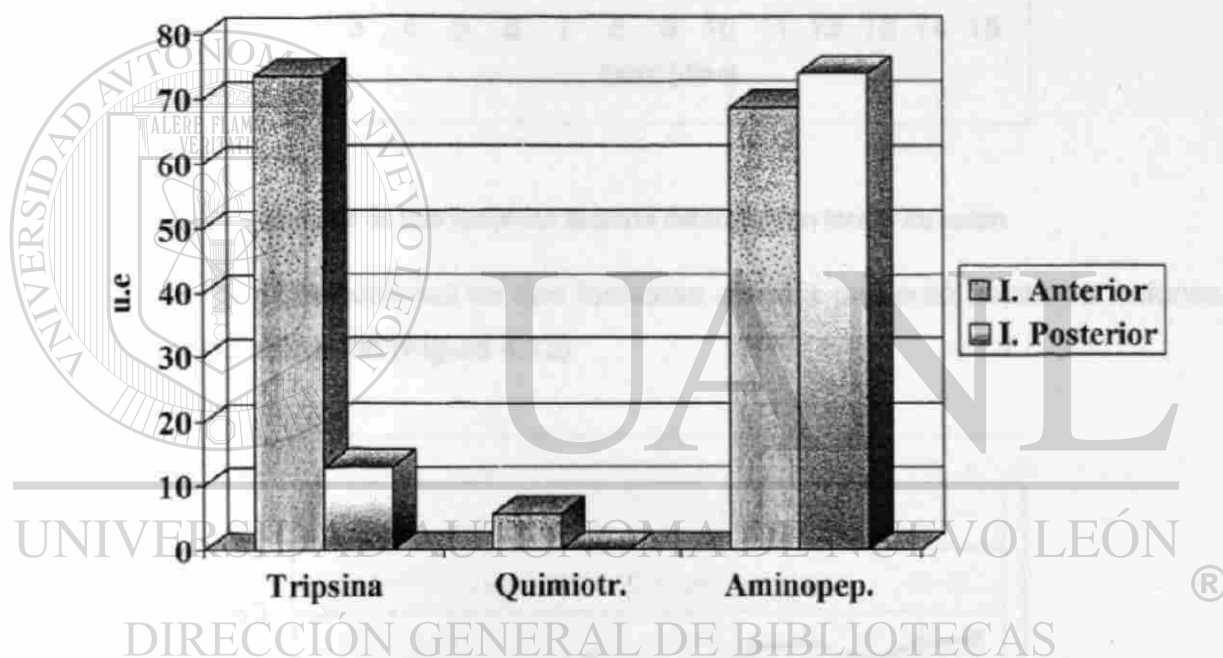


Figura 4.9.- Actividad de tipo leucina aminopeptidasa determinada en larvas de catán utilizando LNA en buffer Tris-HCl pH 8.4.

Actividad proteolítica específica en juvenil: Estas actividades fueron detectadas en extractos de intestino de un juvenil de catán de cuatro meses de edad. Como se puede observar en la Figura 4.10, la actividad de tipo tripsina fue detectada principalmente en el intestino anterior, al igual que la actividad de tipo quimiotripsina solo que esta última fue muy baja en el intestino anterior y en el posterior no fue posible detectarla. Por otra parte, la actividad de tipo leucina aminopeptidasa se detectó en ambas secciones del intestino, con niveles de actividad similares a la actividad de tipo tripsina en el intestino anterior.



10.- Actividad proteolítica específica en secciones del intestino de catán juvenil.

4.3.4 FOSFATASAS ACIDA Y ALCALINA

La actividad de fosfatasa acida detectada en larvas de catán presentó variaciones entre el 3 DDE y 8 DDE, disminuyendo progresivamente a partir de esta edad (Figura 4.11).

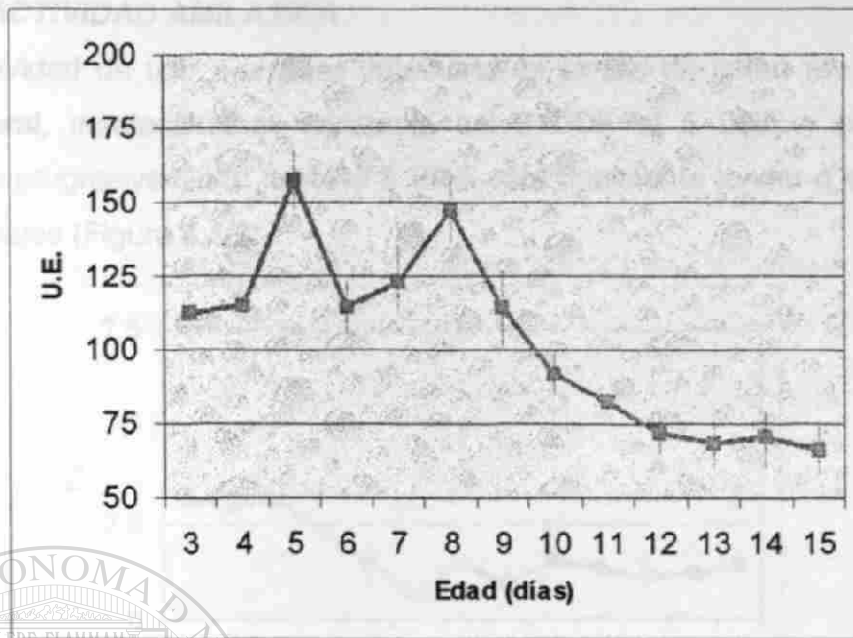


Figura 4.11.- Actividad de tipo fosfatasa alcalina detectada en larvas de catán

Por otra parte, la actividad de tipo fosfatasa alcalina presentó pocas variaciones durante el periodo analizado (Figura 4.12).

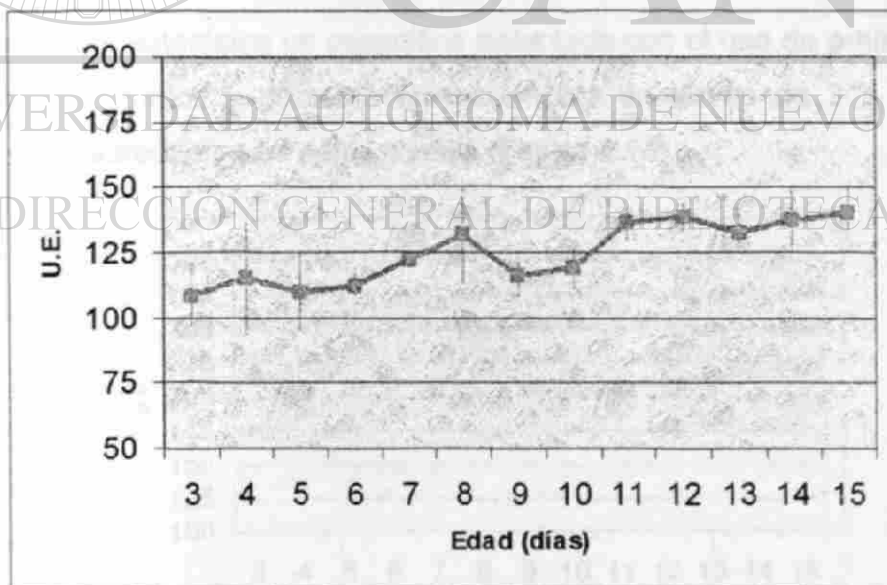


Figura 4.12.- Actividad de tipo fosfatasa alcalina de larvas de catán.

4.3.5 ACTIVIDAD AMILASICA

La actividad de tipo α -amilasa detectada en larvas de catán fue muy baja de manera general, manteniéndose constante del 3 DDE al 5 DDE y posteriormente disminuyendo progresivamente hasta el 8 DDE para finalmente tender a estabilizarse a niveles muy bajos (Figura 4.13).

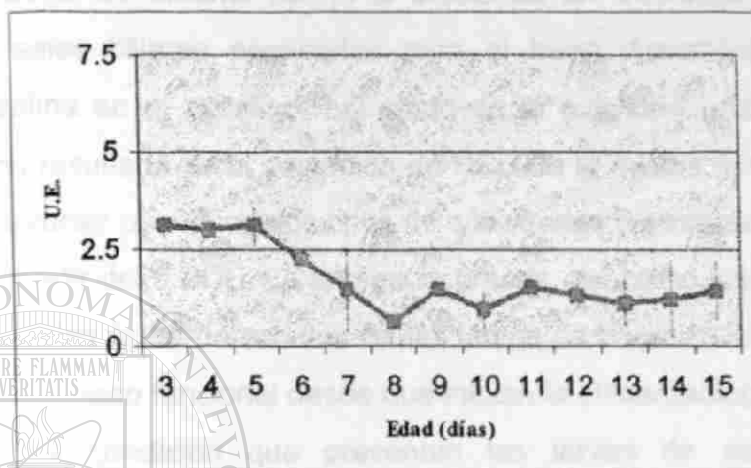


Figura 4.13.- Actividad α -amilásica detectada en larvas de catán utilizando almidón al 1% como sustrato en buffer de fosfatos de sodio pH 6.9.

4.3.6 ACTIVIDAD ESTERASICA

La actividad esterásica no específica detectada con el uso de p-nitrofenil acetato, mostró niveles elevados y presentó un incremento en larvas de 3 a 8 DDE, para posteriormente estabilizarse en estos niveles (Figura 4.14).

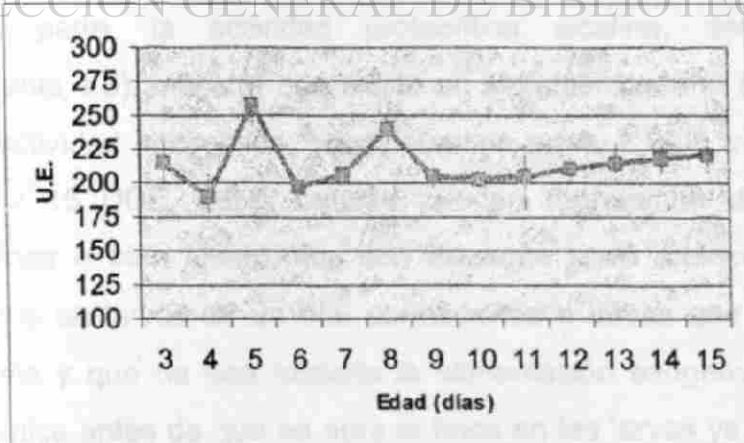


Figura 4.14.- Actividad esterásica no específicas detectada en el tracto digestivo de larvas de catán.

4.4 DISCUSION

4.4.1 ACTIVIDAD PROTEOLITICA TOTAL

El efecto del pH sobre la actividad proteolítica total mostró la misma tendencia tanto en larvas de 5 DDE como en las de 8 DDE, con dos picos de actividad a pH 2.2 y 8.4 bien marcados. Lo anterior refleja el efecto de las secreciones pancreáticas de carbonatos y sales biliares necesarias para el buen desempeño de la actividad proteolítica alcalina en el intestino, así como de la actividad proteolítica ácida en el estómago como resultado de la secreción de HCl. De la misma forma en las Figuras 2 y 3 se puede apreciar que estos dos tipos de actividades digestivas se encuentran bien establecidas a partir del 5 DDE. La presencia precoz, así como los elevados niveles de actividad proteolítica ácida detectados en las larvas de catán revelan que estos peces presentan un estómago funcional desde que inician la alimentación exógena, lo cual es equiparable a la condición que presentan las larvas de esturiones y algunos salmónidos (Budington, 1985; Budington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995). En contraste, en aquellas especies cuyas larvas no presentan secreción de pepsina desde el inicio de la alimentación exógena, sólo se observa un pico de actividad a pH alcalino en larvas jóvenes y no es sino hasta que el estómago esta formado cuando aparece el pico de actividad a pH ácido (Clark *et al.*, 1986; Munilla y Stark, 1989; Moyano *et al.*, 1996; Lazo, 1999).

Por otra parte, la actividad proteolítica alcalina, detectada mediante electroforesis (Tabla 4.3), muestra que existe un incremento en el número de bandas que presentan actividad enzimática, principalmente entre 1 DDE y 4 DDE, así como entre 10 DDE y 15 DDE. Estas bandas pueden representar diferentes tipos de proteasas alcalinas o bien isoenzimas con diferente peso molecular. La banda de actividad presente en larvas de un día, corresponde a larvas que aún dependen de reservas de vitelo y que no han iniciado la alimentación exógena. La detección de actividad enzimática antes de que se abra la boca en las larvas ya ha sido observada en varias especies de peces siendo resaltada esta característica por Moyano *et al.*

(1996). Por otra parte, la mayoría de las bandas están presentes para el 5 DDE, cuando inicia la alimentación exógena, permaneciendo este patrón de bandas estable durante varios días y no es sino hasta el 15 DDE cuando aparecen dos bandas adicionales con actividad. Sin embargo, estas dos últimas bandas no necesariamente representan otras enzimas, pudiendo representar isoenzimas que aparecen en este estadio (Dabrowski, 1996) o bien un efecto de la alta concentración de enzimas en el extracto, ya que cuando una enzima es aplicada en concentraciones elevadas en el gel de electroforesis esta puede revelarse en varias bandas (Moyano *et al.*, 1996). Por lo anterior, es probable que las diferentes proteasas alcalinas estén presentes desde el inicio de la alimentación exógena, de la misma forma en que se ha observado en otras larvas de peces (Alliot *et al.*, 1977; Lauff y Hofer, 1984; Buddington, 1985; Ueberschar, 1985; Person-Le Ruyet, 1989; Dabrowski y Culver, 1991; Moyano *et al.*, 1996).

Otro aspecto remarcable que se puede observar en la Tabla 4.5, es que la mayoría de las proteasas alcalinas se encuentran en la parte anterior, lo cual puede ser explicado debido al hecho de que en esta sección además de las enzimas producidas por el epitelio intestinal se encuentran las enzimas producidas por el páncreas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Todas aquellas bandas con actividad proteolítica alcalina lograron ser inhibidas por el SBTI, el cual es un inhibidor de serina proteasas. El PMSF, también un inhibidor de serina proteasas, produjo inhibición total en dos bandas (26.8 y 33.7 kD) e inhibición parcial en otra (18.8 kD). El patrón de inhibición anterior se presentó también al utilizar el TLCK, el cual es un inhibidor más específico de serina proteasas actuando particularmente sobre la actividad de tipo tripsina. En base a lo anterior, es posible considerar que la actividad proteolítica alcalina en larvas de catán esta dada principalmente por enzimas de tipo serina proteasas. A este propósito, a pesar de que comúnmente se reportan actividades de tipo tripsina y quimotripsina en larvas de peces (Moyano *et al.*, 1996), estas presentaron niveles de actividad relativamente bajos, tanto en larvas como juveniles de catán con respecto a la actividad de tipo

leucina aminopeptidasa registrada (Figuras 4.9 y 4.10). La inhibición por el EDTA sobre una de las bandas es indicativa de actividades de tipo aminopeptidasa y carboxipeptidasa como se ha venido reportando en diferentes especies.

Igualmente, mediante la técnica de SDS-PAGE fue posible comprobar la presencia de actividad proteolítica ácida desde los primeros días de alimentación exógena. Esta actividad fue inhibida por la pepstatina, sustancia que actúa como inhibidor de proteasas aspárticas, lo que confirma la existencia de actividad de pepsina desde el inicio de la alimentación exógena.

Esta tipo de técnicas proporcionan un indicio del tipo de enzimas presentes en los extractos, sin embargo una caracterización mas clara del tipo de actividad requiere su purificación, lo cual se encuentra en proceso actualmente mediante la técnica de cromatografía en gel y de intercambio ionico.

4.3.3 ACTIVIDAD PROTEOLITICA ESPECIFICA

Las actividades de tipo tripsina, quimotripsina y leucina aminopeptidasa, detectadas mediante la utilización de sustratos específicos sintéticos, presentaron un incremento progresivo hasta aproximadamente 8 DDE y posteriormente tendieron a estabilizarse. Este patrón de incremento de actividad con la edad ha sido frecuentemente reportado para la mayoría de las larvas de peces estudiadas. Sin embargo, en aquellas especies que no tienen el estómago desarrollado al momento de iniciar la alimentación exógena, estas actividades intestinales presentan una ligera disminución al momento en que aparece la actividad proteolítica ácida. Por lo cual ha sido sugerido que esta disminución es producida por efecto de un relevo en el nivel de importancia entre estos tipos de digestión (Budington, 1985; Zambonino y Cahu, 1994). Como se puede observar esto no ocurre en las larvas de catán, ya que la actividad proteolítica ácida y alcalina están presentes desde que inicia la alimentación exógena.

En la Figura 4.10 se puede apreciar la importancia relativa de estos tres tipos de actividad con respecto a la sección del tracto digestivo. En primer término se aprecia que la tripsina y la quimotripsina en menor medida, actúan principalmente en la sección anterior. Mientras que en la parte posterior del intestino predomina la actividad de tipo leucina aminopeptidasa lo cual viene a confirmar que la banda de 33.7 kD representa en realidad este tipo de actividad, ya que este tipo de enzimas se producen en el epitelio intestinal y actúan a nivel de las microvellosidades complementando la digestión proteica. Esta gran actividad proteolítica a nivel del intestino posterior del catán, puede explicarse ya que en esta región se presenta una válvula espiral, la cual incrementa considerablemente la superficie del intestino. Sin embargo, es necesario tomar en cuenta que estas determinaciones fueron realizadas con un juvenil de catán, por lo cual la extrapolación al funcionamiento digestivo de las larvas debe hacerse con reservas, ya que por ejemplo en larvas de esturiones la actividad enzimática se centra en la región posterior mientras que en los juveniles se registra mayor actividad en el intestino anterior (Budington, 1985; Buddington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995).

4.3.4 FOSFATASAS ACIDAS Y ALCALINAS

Las fosfatasas ácidas y alcalinas son enzimas típicamente intestinales. La fosfatasa ácida esta relacionada principalmente con la digestión intracelular en los enterocitos, mientras que la fosfatasa alcalina actúa a nivel de membrana y esta relacionada con los procesos de absorción y transporte de nutrientes. En la presente investigación se puede observar que los niveles de fosfatasas ácidas observados en larvas de catán en general se mantuvieron altos hasta el octavo día y posteriormente tendieron a disminuir y estabilizarse. En ciertas larvas de peces han sido detectados altos niveles de esta enzima antes de que aparezca la actividad ácida en el estómago, lo que sugiere que esta actividad, en conjunto con la de las catepsinas y aminopeptidasas, representa un mecanismo compensatorio ante la ausencia de digestión extracelular (Moyano *et al.*, 1996). Sin embargo, ya que en el catán la actividad ácida se presenta desde la primera ingestión de alimento, la variación

observada podría más bien estar relacionada con el proceso de asimilación de las reservas de vitelo, puesto que la disminución de la actividad ocurre justo en el momento en que se agota el vitelo (8 DDE).

Por otra parte, los niveles de fosfatasas alcalinas encontrados en las larvas de catán presentaron pocas variaciones, aunque puede observarse una ligera tendencia a incrementarse con el tiempo. Esto puede ser indicativo de una capacidad de absorción de nutrientes necesaria en el momento en que inicia la ingestión de alimento. Mientras que el incremento gradual puede estar relacionado con el proceso de maduración de los enterocitos. El nivel en el que actúan las fosfatasas ácida y alcalina ha sido sugerido como un indicador de la madurez del intestino, así como de la condición nutricional (Kumar y Chase, 1971; Pathak et al., 1982; Zambonino y Cahu, 1993; Moyano et al., 1996; Cahu y Zambonino, 1997).

4.3.5 ACTIVIDAD AMILASICA

En general la actividad amilásica detectada en larvas de catán fue muy baja. Esto puede deberse a los hábitos carnívoros del catán. En relación con esto se ha observado que los peces con hábitos herbívoros y omnívoros requieren de niveles mas elevados de actividad amilásica con respecto a los peces carnívoros (Vonk y Western, 1984; Munilla y Saborido, 1996). Igualmente, se ha observado que los niveles de actividad amilásica pueden ser influenciados por la dieta, incrementandose, hasta cierto limite, al aumentar los niveles de carbohidratos en el alimento (Peres et al., 1996), de aquí que al no haber existido este tipo estímulo considerando los niveles de carbohidratos presentes en el alimento suministrado (nauplios de *Artemia*), se hayan presentado niveles apenas perceptibles. Un patrón muy similar en el nivel de actividad de las amilasas ha sido reportado para larvas de *Dicentrarchus labrax* (Zambonino y Cahu, 1994).

4.3.6 ACTIVIDAD ESTERASICA

Por otra parte, la actividad esterásica encontrada en larvas de catán tiende a permanecer estable durante el periodo estudiado, presentando únicamente dos picos superiores al 5 DDE y 8 DDE, al igual que la fosfatasa ácida. Lo cual sugiere también una posible participación con la absorción del vitelo. De la misma forma que las amilasas estas enzimas tienen poca participación en la digestión de las larvas de peces ya que ha sido estimado que las enzimas lipolíticas solo representan el 6.5 % de las enzimas digestivas durante el desarrollo larvario (Ozkizilcik *et al.*, 1996).

Finalmente, en función de estos resultados es posible estimar que la capacidad digestiva de las larvas del catán es muy completa desde el momento en que inicia la alimentación exógena, presentándose un incremento sostenido en la actividad con el tiempo. Por lo cual es altamente probable que su capacidad digestiva no represente una limitante para que las larvas puedan utilizar dietas artificiales. Al mismo tiempo, considerando que la actividad proteolítica ácida del estómago se encuentra desde que inician la ingestión de alimento, es probable que las larvas de catán puedan ser acondicionadas al consumo de dietas artificiales desde la primera alimentación de la misma forma que se ha venido realizando en los salmónidos y esturiones (Dabrowski *et al.*, 1985).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 5: EFECTO DE LAS HORMONAS TIROIDIANAS Y CORTICOSTEROIDES SOBRE EL DESARROLLO LARVARIO DEL CATAN

5.1 ANTECEDENTES

5.1.1 IMPORTANCIA Y PAPEL DE LAS HORMONAS TIROIDIANAS

La glándula tiroides es un órgano que ha sido implicado en la regulación de procesos fisiológicos en distintos vertebrados, debido en gran parte a la estimulación y liberación de dos principales hormonas: la L-tiroxina (T₄) y la 3,5,3'-triiodo-L-tironina (T₃). (Figura 5.1).

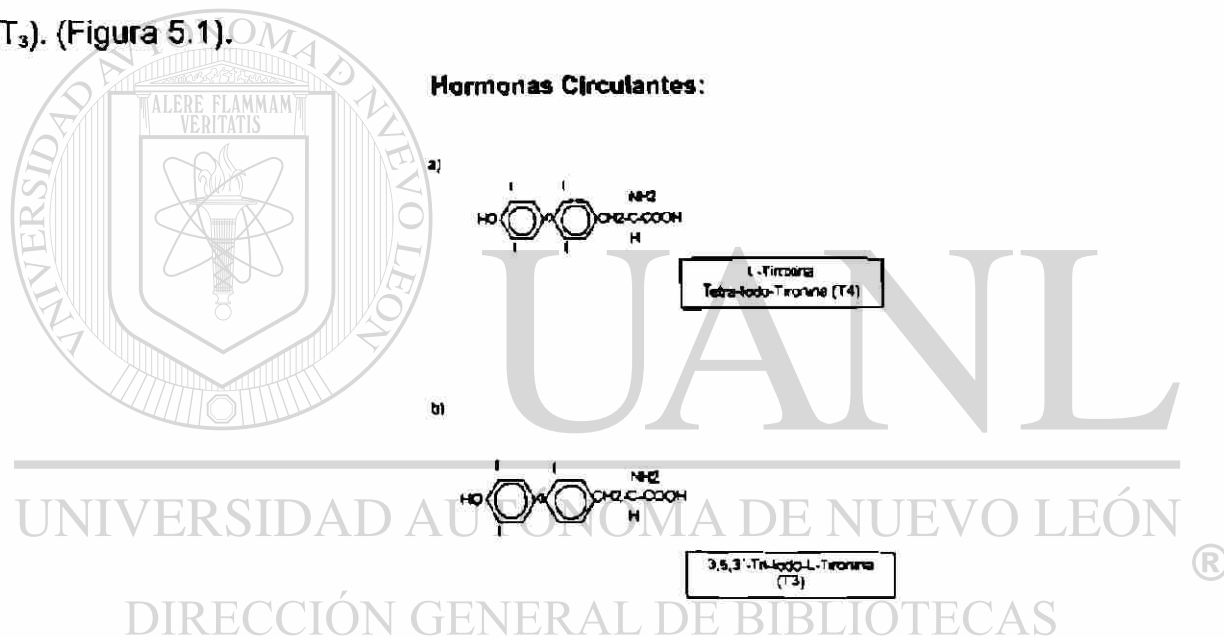


Figura 5.1.- Estructura de las hormonas tiroidianas. a) L-Tiroxina (T₄), b) 3,5,3'-Triiodo-L-Tironina (T₃).

Este sistema existe en todos los vertebrados, pero a diferencia de los mamíferos, la glándula tiroides en los peces y en particular en los salmónidos no está encapsulada y consiste en pequeños sáculos compuestos de tejido coloidal dispersos en todo el organismo. En efecto, estos folículos se pueden encontrar a lo largo de la aorta ventral, en los arcos branquiales y a veces en el riñón mismo, el corazón y el ojo (Boeuf, 1987).

Se ha reportado que fisiológicamente la liberación puntual de la T_4 está propiciada por la hormona estimulante de la tiroides (TSH), pero esta última no estimula la liberación de la T_3 desde la tiroides, desconociéndose su origen dentro del estado tiroidiano. Sin embargo, se ha comprobado que existe una conversión extratiroidal de T_4 a T_3 , que depende de la actividad de la enzima 5' monodesiodinasa. Esta enzima se encuentra presente en los microsomas de varios tejidos, y su actividad varía de acuerdo a la especie. La conversión de T_4 en T_3 representa una activación y un regulador potencial del estado tiroidiano periférico, que puede ser aumentado por la testosterona y la hormona de crecimiento, mientras que se reduce bajo la influencia del estradiol.

Se ha reportado que la posible regulación del estado tiroidiano, se debe a una alteración en la abundancia o en la afinidad de los receptores nucleares de la T_3 durante la metamorfosis, en el hígado de peces teleosteos, anfibios y reptiles. Sin embargo, el estado tiroidiano periférico no reposa exclusivamente sobre la regulación del receptor. En efecto, el control de este estado es ejercido igualmente por la modificación del transporte de hormonas tiroideas del plasma a los tejidos y por la actividad de la enzima 5' monodesiodinasa (Figura 5.2).

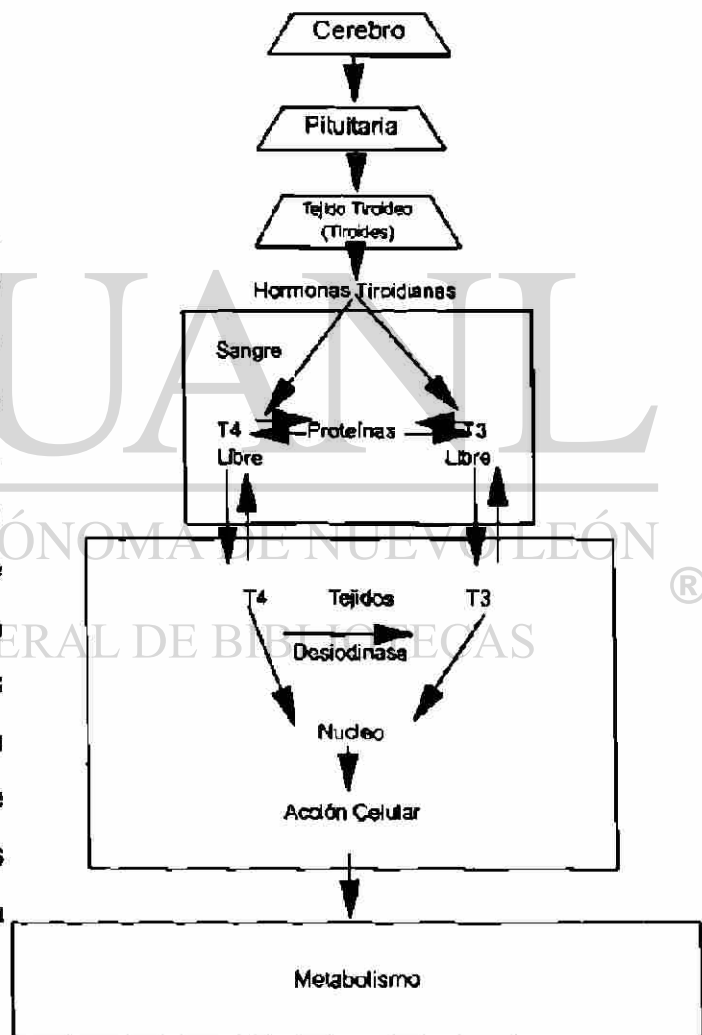


Figura 5.2.- Esquema de la regulación fisiológica para el estado tiroidiano.

El papel de las hormonas tiroideas es determinante en la regulación del metabolismo, ya que bajo su influencia aumenta la capacidad energética aerobia, así como la estimulación de la velocidad estándar metabólica. Durante el crecimiento, las hormonas tiroideas y en particular la T_3 , incrementan la estimulación del apetito y la tasa de conversión alimenticia. Por otra parte, durante la maduración gonadal, estas hormonas aumentan los efectos de la gonadotropina sobre la función temprana del ovario y en la maduración tardía del mismo. Por último, tienen una marcada influencia durante la metamorfosis de los peces comprendida dentro del proceso de smoltificación, la translocación de los ojos, y la inducción de otros cambios bioquímicos y morfológicos (Eales , 1990). Igualmente, ha sido observado que el tratamiento con hormonas tiroideas en dosis apropiadas puede inducir el desove prematuro, la estimulación de la absorción del vitelo y la diferenciación morfológica, particularmente de piel, esqueleto, escamas y aletas. En contraste, el tratamiento con agentes antitiroideos da como resultado la inducción de estasis metamórfica en peces obteniéndose así larvas pelágicas gigantes (Sullivan, 1987).

Relación de Hormonas Tiroideas con otras hormonas durante el crecimiento: De manera complementaria, la existencia de otras hormonas tales como el cortisol, estradiol y testosterona, en conjunto con las hormonas tiroideas, pueden influir sobre diversos procesos fisiológicos tales como: la reabsorción del saco vitelino, la eclosión de los huevecillos y la reabsorción de la aleta dorsal en la platija. Además, el cortisol contribuye a potencializar la acción estimuladora de estas hormonas tiroideas. (De Jesús *et al.*, 1991, 1993).

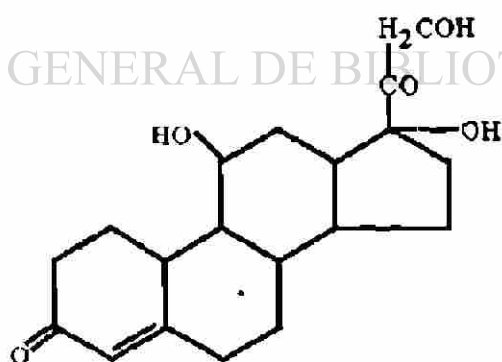
Otros autores han puesto de manifiesto el papel regulador de hormonas tiroideas por neuropéptidos tales como la TSH. En relación con esto Inui *et al* (1989), experimentaron con hormonas heterólogas para elucidar su influencia sobre la concentración de las hormonas tiroideas nativas. Así demostraron que era posible provocar un aumento en las concentraciones de T_4 por medio de la bTSH, permitiendo además el mantenimiento basal de los niveles de T_3 durante todo el periodo de la

metamorfosis. Adicionalmente, se constató que, la bTSH era capaz de acelerar el clímax metamórfico, así como la activación del tejido interrenal, (De Jesús *et al.*, 1991).

MacLatchy *et al.* (1990) encontraron que en la trucha rayada (*Salmo gairdneri*) se producía una estimulación y aumento de la velocidad máxima enzimática (V_{max}) de la 5' monodesiodinasa por medio de la hormona de crecimiento humano (hGH), lo que a su vez provocaba un aumento en la conversión de T_4 a T_3 y un incremento en los niveles de T_3 en el plasma. Otros factores que repercuten sobre la actividad de la enzima 5' monodesiodinasa para la conversión de T_4 a T_3 son la temperatura, la salinidad, los niveles de cortisol y la ingesta calórica (Eales, 1990).

5.1.2 IMPORTANCIA Y PAPEL DEL CORTISOL

Los corticosteroides son producidos principalmente por la corteza adrenal o sus homólogos, que en peces esta representada por la glándula interrenal. Estos compuestos, dentro de los cuales destaca el cortisol (Figura 5.3), tienen una variedad de funciones relacionadas con el mantenimiento de los procesos normales del organismo, tales como la regulación del metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, sin llegar a tener efectos anabólicos significativos.



CORTISOL

Figura 5.3.- Estructura del Cortisol.

Relación del Cortisol con otras Hormonas: Existe información que sugiere la importancia de las hormonas tiroidianas y/o los glucocorticoides en la secreción de la hormona del crecimiento (GH). De esta manera, la regulación de la hormona de crecimiento en vertebrados menores podría ser equivalente a evaluar la interacción entre las hormonas tiroidianas y/o glucocorticoides y el factor de la liberación de la hormona de crecimiento (GHRH) en la secreción de la hormona de crecimiento (Luo *et al.*, 1991).

En estudios previos se demostró que el cortisol, la principal hormona de este tipo en teleosteos, eleva la acción estimuladora de las hormonas tiroidianas la que a su vez tiene un efecto directo en la reabsorción de los radios de la aleta en la platija (*Paralichthys olivaceus*) (De Jesús *et al.*, 1991). Igualmente, se ha observado cierto sinergismo entre el cortisol y las hormonas tiroidianas, que induce cambios tempranos en el desarrollo y la metamorfosis de la platija (De Jesús *et al.*, 1993).

5.1.3 EFECTO DE LAS HORMONAS TIROIDIANAS EN PECES

Los diferentes patrones de desarrollo que presentan los peces teleosteos están definidos por diversos factores, entre los cuales se encuentran: el nivel evolutivo del grupo, el tamaño, la cantidad de huevos producidos, los hábitos alimenticios, las reservas de vitelo en el huevo y las adaptaciones que presenta la especie al medio y al alimento. De estos aspectos dependerá la presencia y acción de las hormonas tiroidianas.

Metamorfosis: Los efectos de las hormonas tiroidianas sobre la metamorfosis de los anfibios dirigió la atención de los endocrinólogos comparativos para explicar su posible participación en la metamorfosis de los peces (Miwa *et al.*, 1987). De esta manera, se comprobó que mediante la administración exógena de las hormonas tiroidianas se inducía la metamorfosis prematura de las larvas, mientras que un tratamiento con goitrógenos contrarrestaba este proceso.

A título de ejemplo se puede señalar que mediante la adición de la Tiroxina (T_4) era posible acelerar la metamorfosis de larvas de platija (*Paralichthys olivaceus*), las cuales alcanzaban precozmente el tamaño característico de los juveniles en un lapso reducido de tiempo (Inui *et al.*, 1985). Así mismo, se logró comprobar que la Tiourea inducía estasis metamórfica, dando como resultado larvas pelágicas gigantes.

Dentro de los efectos más marcados, relacionados con los cambios morfológicos durante la metamorfosis, se encuentran la translocación de los ojos y reabsorción de los radios de la aleta dorsal durante el desarrollo de la platija (*P. olivaceus*), bajo la influencia de la Tiroxina (T_4) y Triiodotironina (T_3) (Miwa *et al.*, 1987 y 1988). La reabsorción de los radios de la aleta se produce durante el clímax metamórfico al aumentar los niveles naturales de las hormonas tiroidianas, esto dio lugar a la utilización de ambas hormonas, T_3 y T_4 , en otros peces con el fin de estimular el acortamiento de los radios (De Jesús *et al.*, 1993).

Metabolismo: Las hormonas tiroidianas también influyen en diversas actividades metabólicas así, Degani *et al.* (1989) reportaron que la T_3 añadida en la dieta de la Anguila europea (*Anguilla anguilla*) incrementaba su capacidad de consumo de oxígeno. Mientras que a diferentes concentraciones de esta hormona en la dieta, disminuía el contenido proteico del cuerpo de la anguila e incrementaba su contenido de grasa corporal, pero sin afectar la composición de los ácidos grasos. También determinaron el efecto de la T_3 sobre el incremento en la actividad enzimática de la aldolasa, una enzima involucrada en la catálisis de la reacción de ruptura de la Fructosa 1,6-bifosfato a Dihidroxiacetona-fosfato y Gliceraldehido-3-fosfato.

Por otra parte, Hilton *et al.* (1987) observaron que la administración de la T_3 por vía oral en la trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) incrementaba el crecimiento y la eficiencia de alimentación, lo que se reflejó en un incremento en la tasa de eficiencia proteica (PER) y de la utilización de energía en este pez. Sin embargo, la T_3

administrada no aumentó significativamente la utilización de la glucosa de la dieta como fuente de energía ni los niveles de insulina en el plasma.

Los excesos de las principales fuentes de energía pueden afectar el nivel hormonal en peces. Hirnick *et al* (1994) demostraron en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) cambios agudos en los niveles plasmáticos de T_3 , T_4 y glucosa por la alteración de la concentración de carbohidratos, proteínas y lípidos de la dieta. Estos autores demostraron también que una dieta a base de carbohidratos solo aumentaba los niveles de T_4 , mientras que los niveles de T_3 no se veían afectados.

Desarrollo y Supervivencia: Se ha reportado que los tratamientos con T_3 y T_4 resultan eficaces para estimular el crecimiento y la supervivencia en larvas de peces. La aplicación de estos tratamientos han tenido como base los cambios que se producen de manera natural en las concentraciones de cortisol y hormonas tiroideas durante el desarrollo temprano de peces. (Tabla 5.1)

Organismo	Hormona(s)	Efecto	Autor
Robalo rayado (<i>Morone saxatilis</i>)	T_3	El inflamamiento de la vejiga natatoria fue mayor en larvas tratadas con la hormona. Incremento de supervivencia en larvas.	Brown <i>et al.</i> (1988)
Tilapia (<i>Sarotherodon mossambicus</i>)	T_3	Aceleramiento en el desarrollo y aumento en la supervivencia.	Lam <i>et al.</i> (1980)
Tilapia (<i>Oreochromis mossambicus</i>)	T_3 y T_4 Feniltiocarbamida (PTC)	Incubación de huevos fertilizados en un medio conteniendo diferentes dosis de T_3 y T_4 , indicaron que estas hormonas retrasaron la eclosión, mientras que la sustancia antitiroidea PTC aceleró este proceso	Reddy and Lam, (1991)
Rabbitfish (<i>Siganus guttatus</i>)	T_3 y T_4	Efectos benéficos en el crecimiento y desarrollo de larvas.	Ayson and Lam, (1993)
Robalo rayado (<i>Morone saxatilis</i>)	T_3 y T_4	Las altas concentraciones de T_3 en el plasma aceleraron la absorción del vitelo	Brown <i>et al.</i> (1987)

Tabla 5.1.- Efectos de las hormonas tiroideas sobre el desarrollo y supervivencia de larvas.

Crecimiento de Cartilago, Hueso y Musculo: Las hormonas tiroidianas juegan un papel importante en el proceso de crecimiento de los peces. En el caso de los salmónidos y otros peces, la administración de hormonas tiroidianas implica un incremento más pronunciado en longitud que en peso, presuntamente debido a la estimulación del crecimiento esquelético. (Tabla 5.2).

Organismo(s)	Hormona(s)	Efecto(s)	Autor(es)
Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	T ₃	Estimulación del crecimiento esquelético. La T ₃ es la responsable del aumento en la estimulación para el crecimiento de cartilago y hueso.	Takagi <i>et al</i> (1994)
Salmónidos (<i>Salmo gairdneri</i> , <i>Oncorhynchus kisutch</i> , <i>Salmo salar</i> y <i>O. tshawytscha</i>)	T ₃ y T ₄	Se ve incrementada el ancho o la altura del esqueleto debido a la hiperplasia de los elementos del tejido conectivo de la región interorbital. Además tienen influencia en la formación de hueso y cartilago, siendo más potente la T ₃ que la T ₄ .	Higgs <i>et al</i> (1982)
Platija (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	T ₄	Influencia sobre la composición del músculo estriado en particular de la troponina T, componente involucrado en su contracción.	Yamano <i>et al</i> (1991)

Tabla 5.2.- Efecto de las hormonas tiroidianas en el crecimiento de cartilago, hueso y musculo.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Cambios en los Niveles Hormonales: La manipulación experimental de los niveles de hormonas tiroidianas, influye directamente sobre el crecimiento y desarrollo de numerosas especies de peces durante el desarrollo larvario (Kobuke *et al* 1987). Los niveles de administración se han determinado en base a la medición de los cambios en las concentraciones de hormonas tiroidianas durante el desarrollo temprano de los peces, tanto en huevos como en tejidos larvarios.

Se ha reportado que los bajos niveles de hormonas tiroidianas en embriones de salmón (*Oncorhynchus kisutch*), están relacionados con una probable disfunción en la

toma de la hormona de la sangre materna durante el período del crecimiento del ovocito (Leatherland *et al* 1989). Además, se ha determinado que los cambios en los niveles hormonales y en la incorporación de iodo, son producto de la T_4 y T_3 de origen materno. Sin embargo, después de la eclosión de la larva, esta es capaz de producir sus propias hormonas (Greenblatt *et al*, 1989).

En relación con esto, se conoce que no existe intervención de las hormonas tiroideas durante los primeros 4 días después de la fertilización en huevos. Esto ha sido demostrado por Tagawa *et al* (1991) en estudios con el medaka (*Oryzias latipes*), quienes señalaron que debido a las bajas concentraciones de T_4 y T_3 (de 1 a 4 ng/g) durante este período de tiempo era probable que estas no fueran metabolizadas. (Figura 5.4)

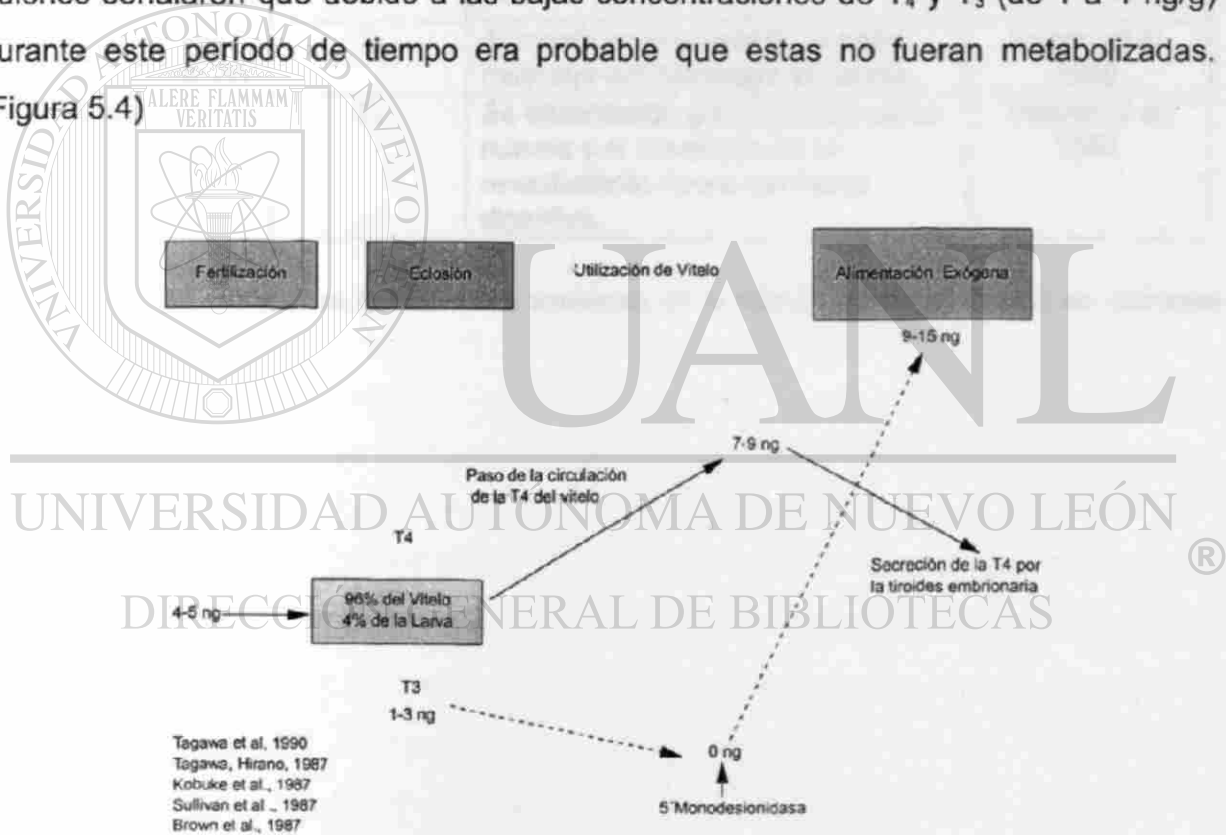


Figura 5.4.- Cambios en los niveles hormonales durante el desarrollo larval en peces.

Diferenciación Morfológica: El tratamiento con hormonas tiroidianas en dosis apropiadas en diferentes vertebrados en desarrollo puede inducir la diferenciación morfológica, particularmente a nivel del sistema digestivo. (Tabla 5.3).

Organismo(s)	Hormona(s)	Efecto(s)	Autor(es)
Ratón	T ₄	Diferenciación morfológica precoz de la mucosa del estómago.	Kumegawa <i>et al</i> 1978
Salmónidos (<i>Oncorhynchus keta</i> , <i>O. kisutch</i> , <i>O. tshawytscha</i> , <i>Salmo salar</i>)	T ₄ y T ₃	Diferenciación precoz de la pared abdominal del cuerpo.	Sullivan <i>et al</i> 1987
Robalo rayado (<i>Morone saxatilis</i>)	T ₃	Aumento en el grosor de la capa muscular del estómago de larvas.	Huang <i>et al</i> , 1988.
Anfibios	T ₄	Se encontraron glándulas tubulares nuevas y el desarrollo de un revestimiento nuevo del tracto digestivo.	Pouyet <i>et al</i> , 1983.

Tabla 5.3.- Efecto de las hormonas tiroidianas en la diferenciación morfológica de diferentes vertebrados.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5.2 METODOLOGIA

5.2.1 ORGANISMOS EXPERIMENTALES

Se obtuvieron huevos de catán, el 11 de junio de 1998, a partir de un lote de siete reproductores en el Centro Acuícola Vicente Guerrero, ubicado en Abasolo Tamps., perteneciente al Gobierno del Estado de Tamaulipas. De manera paralela se obtuvieron larvas de catán recién eclosionadas en el Centro Acuícola Tanco el 1 de Junio de 1999. Los huevos y larvas fueron transportados en bolsas de plástico con oxígeno a las instalaciones del Grupo Ecofisiología en la Fac. De Ciencias Biológicas U.A.N.L. Las larvas y huevos fueron colocados en canaletas de fibra de vidrio de 230 cm de largo, 70 cm de ancho y 30 cm de altura con un volumen de 480 L para ser incubados y/o aclimatadas en el laboratorio antes de ser distribuidas en los acuarios.

5.2.2 CONDICIONES EXPERIMENTALES

Considerando el efecto de las hormonas tiroidianas, sobre la maduración del sistema digestivo se realizó una fase experimental consistente en determinar el efecto de estas hormonas (Tiroxina y Triiodotironina), como control negativo se utilizó un agente anti-tiroidiano (Tiourea) y un tratamiento testigo en el que no se incluyeron hormonas. Adicionalmente, se probó el efecto de la Hidrocortisona.

Las hormonas puras L-Tiroxina (T_4), Triiodo-L-Tironina (T_3), Hidrocortisona (HC) y la Tiourea (TU) fueron obtenidas en SIGMA, para ser utilizadas en los bioensayos. Para la realización de los bioensayos se utilizaron acuarios de vidrio con capacidad de 45 litros de agua. En cada acuario se colocaron 30 larvas al iniciar los experimentos. La temperatura del agua fue mantenida en 27 ± 1 °C y se proporcionó aireación constante mediante un compresor para mantener los niveles de oxígeno alrededor de 6.0 ppm. Una vez que las larvas tuvieron la capacidad de ingerir alimento se les proporcionó nauplios de *Artemia* en dos raciones diarias 0.5 g para que se alimentaran *ad libitum*. La edad de las larvas al iniciar el experimento fue de 3 días después de la eclosión (DDE), por lo cual se trataba de larvas con vitelo que aún no nadaban

libremente ni ingerían alimento, lo cual ocurrió al quinto DDE. Los experimentos fueron detenidos cuando las larvas tenían 13 DDE.

Se realizaron dos bioensayos que se diferenciaron por la cantidad total de hormonas administradas. Cada tratamiento se llevó a cabo por cuadruplicado en cada uno de los bioensayos.

Primer bioensayo: Ante el desconocimiento de los niveles normales de este tipo de hormonas en los lepisosteidos se utilizaron las dosis reportadas con mayor frecuencia en otras especies de peces. Los tratamientos y las concentraciones totales de las hormonas utilizadas se presentan en la Tabla 5.4. Las hormonas fueron previamente disueltas en agua y aplicadas diariamente repitiendo la dosis inicial mediante un recambio de agua del 30 % del volumen total.

<i>Tratamiento hormonal</i>	<i>Concentración diaria</i>	<i>Concentración total</i>
3,3',5-triiodo-L-tironina (T ₃)	0.1 ppm de T ₃	0.323 ppm de T ₃
L-tiroxina (T ₄)	0.1 ppm de T ₄	0.323 ppm de T ₄
Tiourea (TU)	30 ppm de TU	97.17 ppm de TU
Hidrocortisona (HC)	0.1 ppm de HC	0.323 ppm de HC
Testigo sin hormona (T)	Testigo sin hormona	Testigo sin hormona

Tabla 5.4.- Distribución de los tratamientos y concentraciones diarias y totales aplicadas durante el primer bioensayo.

Segundo bioensayo: Debido a las elevadas mortalidades que se presentaron en el tratamiento con T₃ del primer bioensayo se decidió repetir esta etapa experimental, reduciendo la dosis total de las hormonas, sin embargo, debido a la falta de T₄ este tratamiento no fue incluido. Las hormonas fueron aplicadas en una sola dosis al iniciar el experimento y no se realizaron recambios de agua. Las hormonas fueron previamente disueltas en agua posteriores y las concentraciones totales utilizadas se presentan en la Tabla 5.5.

<i>Tratamiento hormonal</i>	<i>Concentración total</i>
3,3',5-triiodo-L-tironina (T ₃)	0.1 ppm de T ₃
Tiourea (TU)	30 ppm de TU
Hidrocortisona (HC)	0.1 ppm de HC
Testigo sin hormona (T)	Testigo sin hormona

Tabla 5.5.- Distribución de los tratamientos concentraciones totales aplicadas en el segundo bioensayo.

5.2.3 EVALUACION DE LOS BIOENSAYOS

Determinación de T₃ en larvas: La preparación de las muestras para la determinación de las concentraciones de T₃ fue realizada siguiendo la metodología descrita por Kobuke *et al.* (1987) (Figura 5.5). Inicialmente, las larvas fueron homogenizadas individualmente en 2 mL de etanol frío al 95% conteniendo 6-N-Propyl-2-Thiouracil al 1 mM, utilizando un Potter Elveham. Este último compuesto fue adicionado con la finalidad de bloquear la conversión enzimática de T₄ a T₃. El Potter fue lavado con 2 mL de etanol los cuales fueron agregados al homogenizado inicial. Posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 1,700 g durante 10 minutos a 4 °C. El precipitado fue nuevamente extraído con 1 ml de etanol siendo nuevamente centrifugado bajo las mismas condiciones. Los sobrenadantes fueron combinados y secados al vacío a 37 °C durante toda la noche. Finalmente, las muestras fueron reconstituidas en 0.1 mL de etanol y 0.9 mL de buffer barbital 0.11 M pH 8.6 (SIGMA B6632) y fueron enviadas al Laboratorio del Servicio de Endocrinología de Hospital Universitario Dr. Jose Eleuterio Gonzalez, en donde se determinaron las concentraciones de T₃ mediante un radioinmunoensayo (RIA).

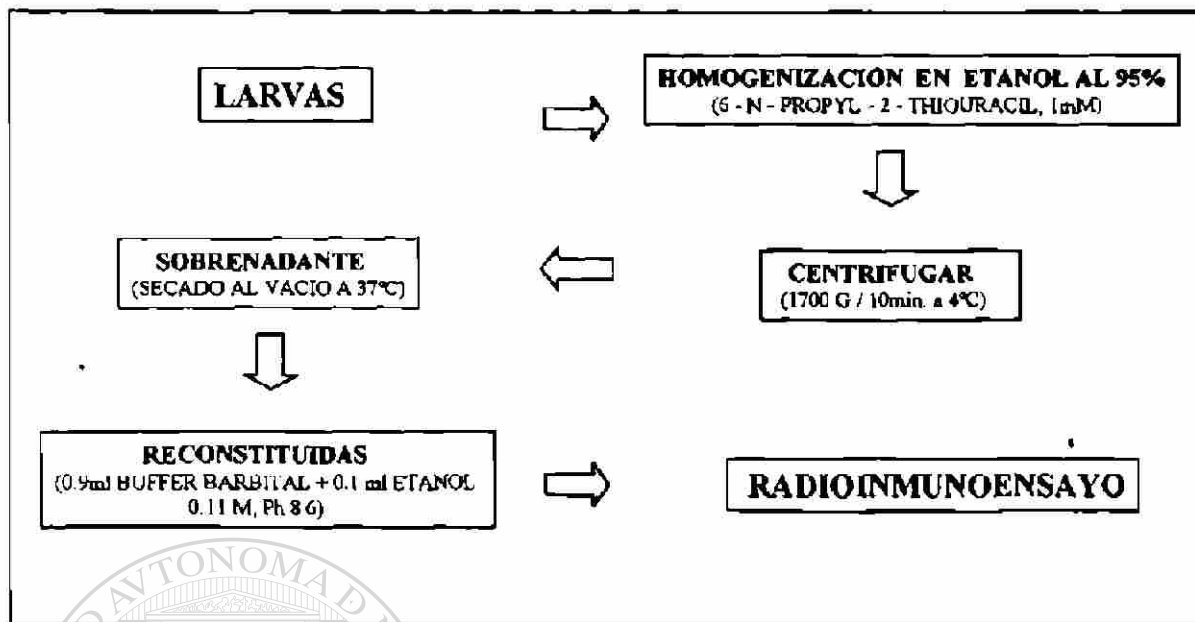


Figura 5.5 Diagrama de flujo de preparación de las muestras para determinación de T_3 de acuerdo a Kobuke *et al.* (1987).

Determinación de cortisol en larvas: El método utilizado para la determinación de las concentraciones de cortisol fue el descrito por De Jesús *et al.* (1991) (Figura 5.6). Se homogenizó un lote de 5 larvas por tratamiento en una proporción de 1:5 (peso/volumen) en buffer de fosfatos (sódico monobásico y sódico dibásico) 10 mM, salino (NaCl 140 mM) a un pH de 7.3. Una alícuota de 0.25 ml del homogenizado fue mezclada con 3 mL de dietil-éter mediante agitación vigorosa durante 1 minuto y posteriormente se separó el extracto de éter mediante congelación de la muestra a -80° C. La extracción fue repetida sobre la fase acuosa y se mezclaron los extractos de éter para posteriormente ser secado en un baño de agua a 45° C en una atmósfera de nitrógeno. Los extractos fueron reconstituidos con 0.25 ml de PBS conteniendo gelatina al 0.1% y fueron enviados al Laboratorio del Servicio de Endocrinología de Hospital Universitario, en donde se determinaron las concentraciones de Hidrocortisona mediante un radioinmunoensayo (RIA).

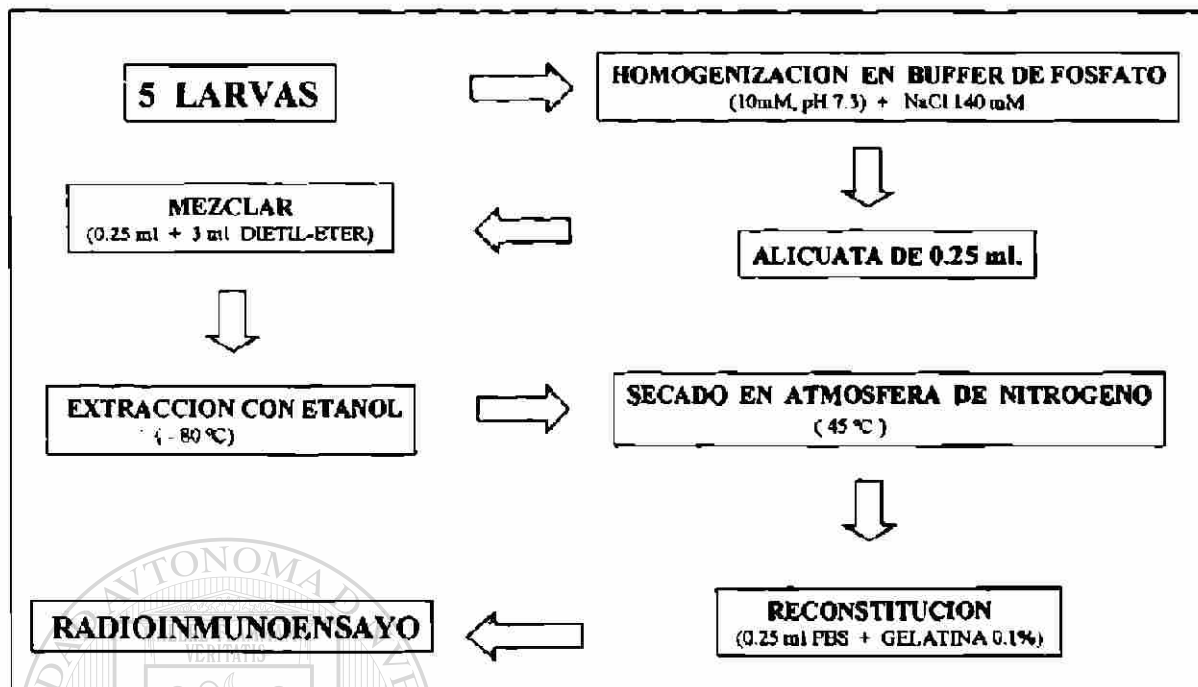


Figura 5.6 Diagrama de flujo de preparación de las muestras para determinación de cortisol de acuerdo a De Jesús *et al.* (1991).

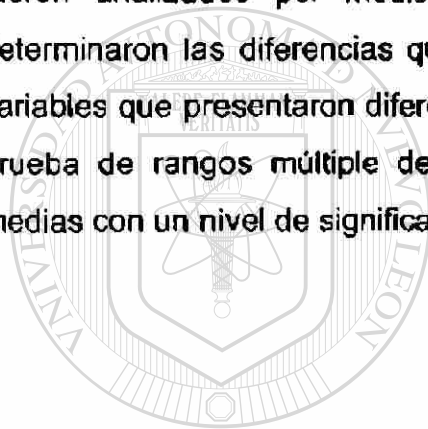
Características Morfológicas: Al finalizar los bioensayos se contaron las larvas por acuario para determinar el porcentaje de sobrevivencia. Las larvas fueron pesadas individualmente en una balanza OHAUS con un grado de precisión de 0.1 mg y fijadas en líquido de Bouin. Se determinó la longitud total utilizando un vernier con un grado de exactitud de 0.1 mm. Adicionalmente se determinó la longitud del hocico como un indicador del grado de transformación de la larva y la altura corporal al nivel del ano (altura preanal) como indicador de la condición nutricional de las larvas. Estas dos características morfométricas fueron reportadas en porcentaje de la longitud total de acuerdo a lo descrito en el Capítulo 2.

Características Histológicas: Se realizaron cortes histológicos de tres larvas por tratamiento y se determinó la altura celular de los enterocitos del intestino anterior.

La metodología para la realización de los cortes, técnica de tinción y medición de las células corresponde a lo descrito en el Capítulo 3.

Determinación de Enzimas Digestivas: La actividad proteolítica total ácida y alcalina fue determinada en extractos de intestino de las larvas de cada tratamiento. La metodología utilizada para estas determinaciones fue realizada de la forma en que se describe el Capítulo 4.

Análisis Estadístico: Las variables consideradas y los resultados obtenidos fueron analizados por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA) donde se determinaron las diferencias que pudieran existir entre los tratamientos. En aquellas variables que presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de rangos múltiple de Duncan para separar grupos homogéneos entre la medias con un nivel de significancia del 0.05% (Steel y Torrie, 1980).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5.3 RESULTADOS

5.3.1 PRIMER BIOENSAYO

5.3.1.1 CONCENTRACION DE HORMONAS

Concentración de T_3 en larvas: Los niveles basales de T_3 en huevos y larvas mantenidas sin administración de hormonas se presenta en la Figura 5.7. En esta se puede apreciar que los niveles de T_3 en huevos recién puestos y antes de eclosionar son muy bajos (0.0117 y 0.00995 ng/huevo, respectivamente, determinados a partir de un lote de 10 huevos cada uno) y permanecen constantes durante el desarrollo embrionario. Sin embargo, después de la eclosión comienzan a incrementarse los niveles de T_3 , y a los 10 DDE esta se eleva de manera dramática para posteriormente disminuir al 13 DDE.

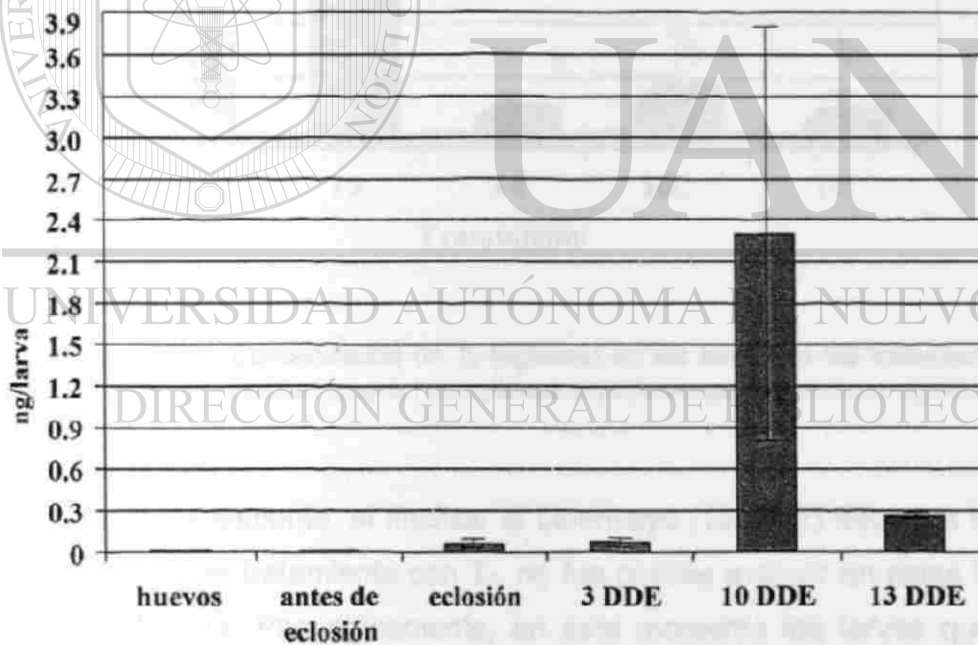


Figura 5.7 Concentraciones normales de triiodotironina (T_3) durante el desarrollo de huevos y larvas de catán.

Un muestra de 3 larvas por cada tratamiento hormonal mostró que a los 10 DDE aquellas larvas sometidas a la T_3 presentaban niveles muy elevados de esta hormona (7.8 ng/larva), presentandose diferencias significativas con los otros tratamientos ($F=32.39$; $P=0.000$; $gl= 10,4$) mientras que las larvas a las que no se les administró ninguna hormona presentaban niveles de T_3 de 2.22 ng/larva y las larvas sometidas a T_4 , hidrocortisona y tiourea presentaron niveles menores a 1 ng/larva (Figura 5.8).

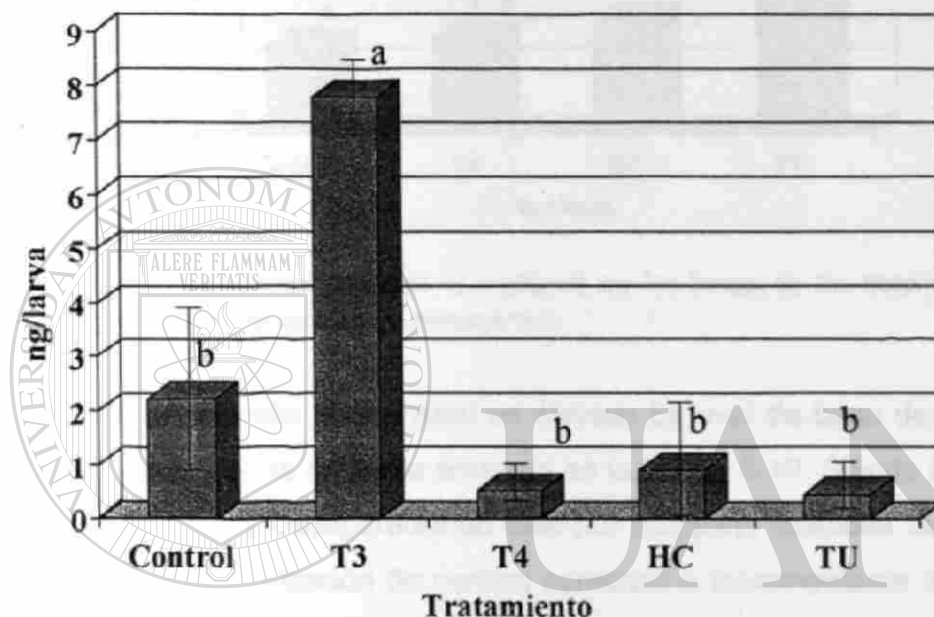


Figura 5.8.- Concentración de T_3 (ng/larva) en las larvas de los tratamientos a 10 DDE. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Lamentablemente, al finalizar el bioensayo (13 DDE) debido a la mortalidad que se presentó en el tratamiento con T_3 , no fue posible evaluar en estas larvas los niveles de esta hormona. Paradójicamente, en este momento las larvas que presentaron el mayor nivel de T_3 fueron aquellas sometidas a la tiourea (0.7 ng/larva), mientras que las larvas control, las sometidas a HC y T_4 presentaron valores cercanos a 0.3 ng/larva sin presentarse diferencias significativas en los niveles de T_3 ($F=1.04$; $P=0.424$; $gl= 8,3$) (Figura 5.9).

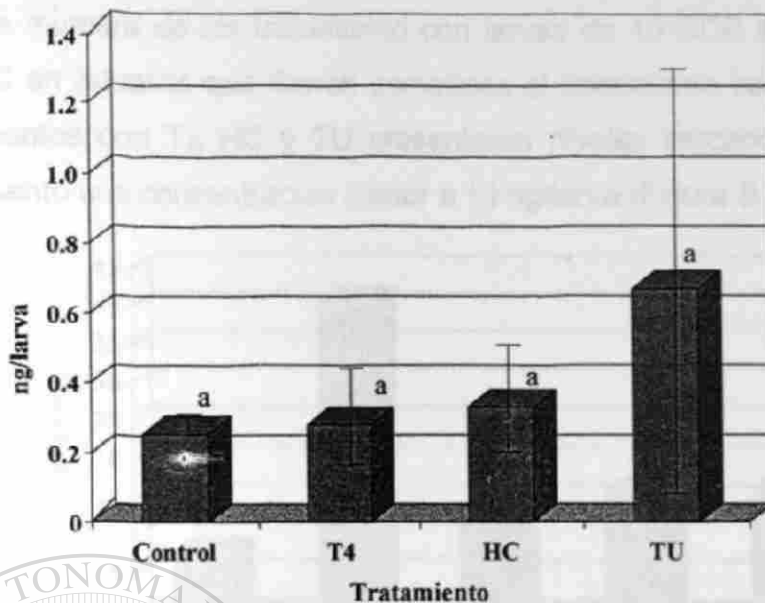


Figura 5.9 Concentración de T_3 (ng/larva) en las larvas de los tratamientos a 13 DDE. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

Concentración de cortisol en larvas: El nivel de base de cortisol encontrado en huevos y larvas de catán se presenta en la Figura 5.10. Siendo muy bajo en huevos (0.121 ng/huevo) y desapareciendo casi por completo después de la eclosión (0.004 ng/larva). La concentración de cortisol comenzó a incrementarse ligeramente hasta el 10 DDE (8.05 ng/larva), para posteriormente incrementarse de manera importante a los 13 DDE (66.6 ng/larva).

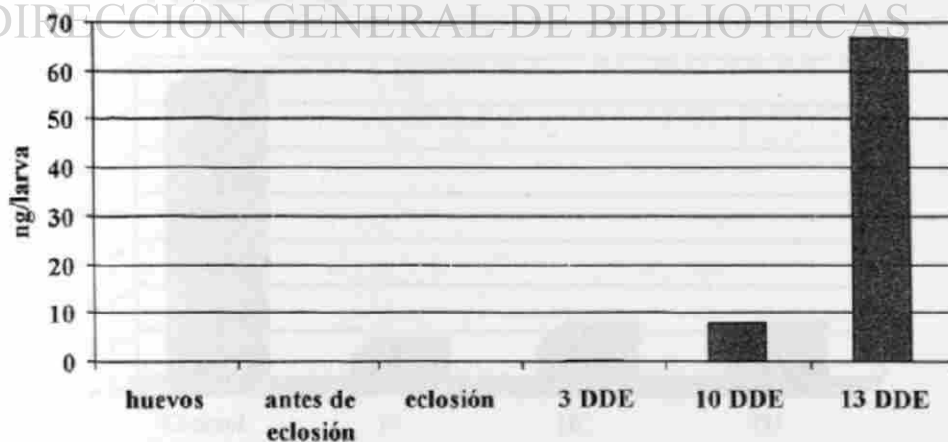


Figura 5.10 Concentraciones normales de cortisol durante el desarrollo de huevos y larvas de catán.

En la muestra de los tratamiento con larvas de 10 DDE se encontró un mayor nivel de HC en aquellas que fueron sometidas al tratamiento con T₃ (40.77 ng/larva). Los tratamientos con T₄, HC y TU presentaron niveles cercanos a 15 ng/larva y el control presentó una concentración menor a 10 ng/larva (Figura 5.11).

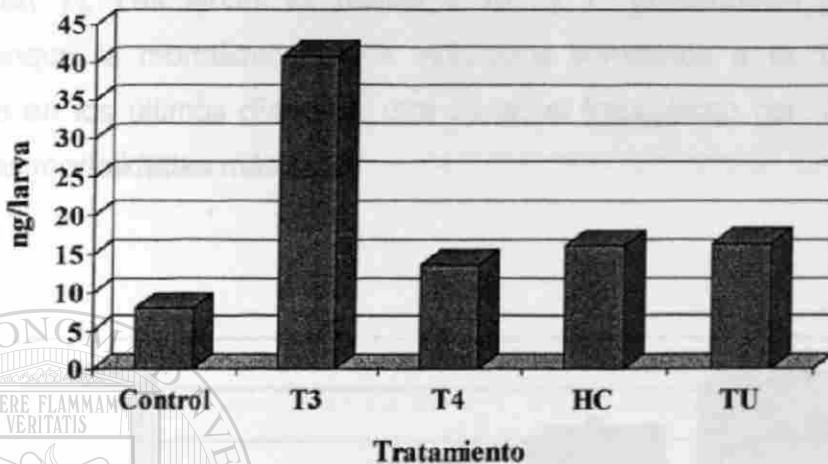


Figura 5.11 Concentración de Cortisol (ng/larva) en larvas de catán de 10 DDE sometidas a diferentes tratamientos hormonales.

Cuando las larvas alcanzaron 13 DDE el tratamiento control presentó un marcado incremento, siendo seis veces superior a los niveles encontrados en el resto de los tratamientos (T₄, HC y TU) los cuales no variaron significativamente su nivel. Por otra parte, el tratamiento con T₃ no fue analizado en este momento debido a la mortalidad mencionada (Figura 5.12).

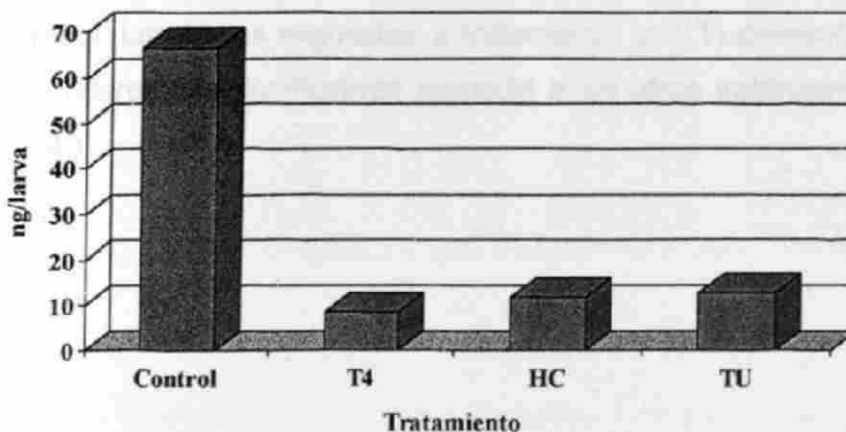


Figura 5.12 Concentración de cortisol (ng/larva) en larvas de catán de 13 DDE.

5.3.1.2 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Sobrevivencia: La sobrevivencia de los individuos de los diferentes tratamientos se puede observar en la Figura 5.13. La mayor mortalidad se presentó en el tratamiento con T₃. Las larvas expuestas a HC y T₄ presentaron una mortalidad semejante aunque la mortalidad de los individuos sometidos a la T₄ se presentó principalmente en los últimos días. Por otra parte, el tratamiento con TU y el control presentaron las mortalidades más bajas.

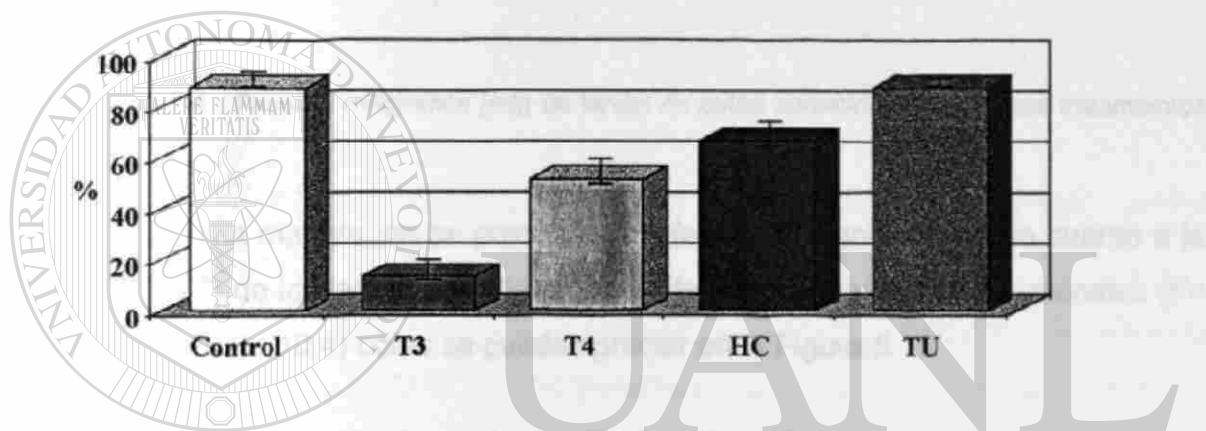


Figura 5.13.- Sobrevivencia en larvas de catán sometidas a diferentes tratamientos hormonales.

En la Figura 5.14 se presenta el peso de las larvas sometidas a hormonas tiroidianas y cortisol. Las larvas expuestas a tratamiento con T₃ presentaron el menor peso aunque sin diferencias significativas respecto a los otros tratamientos ($F= 1.59$; $P= 0.25$; $gl= 10,4$).

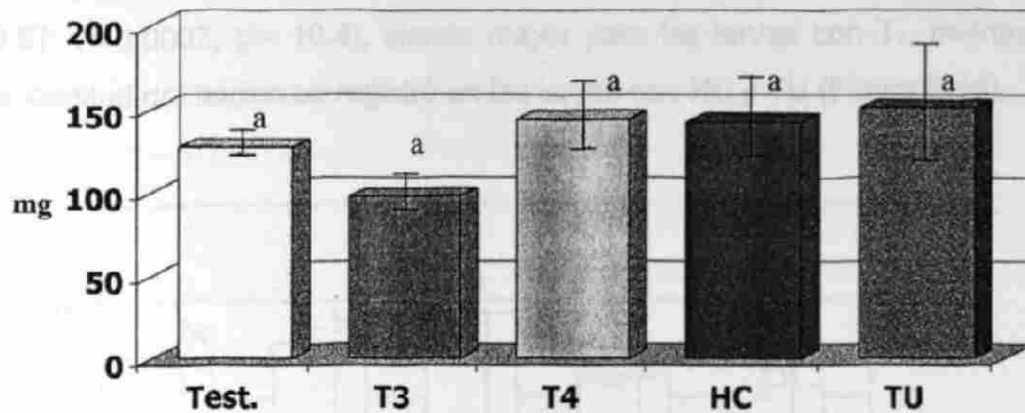


Figura 5.14.- Peso en miligramos (mg) de larvas de catán sometidas a diferentes tratamientos con hormonas.

De la misma manera, no se presentaron diferencias significativas en cuanto a la longitud total (LT) de las larvas sometidas a los diferentes tratamientos hormonales ($F=2.113$; $P=0.1537$, $gl=10,4$) como se puede apreciar en la Figura 5.15.

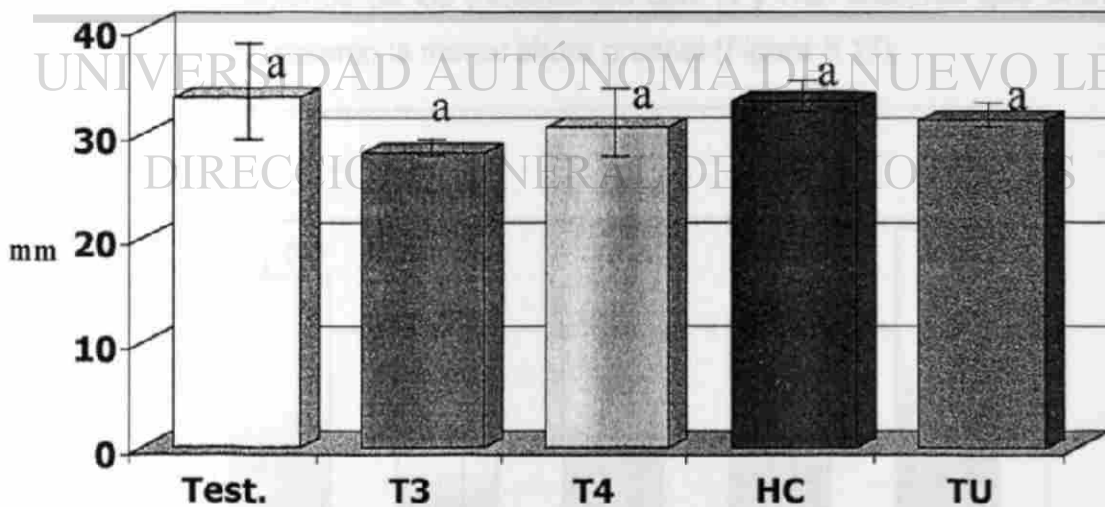


Figura 5.15.- Longitud total (mm) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

Se presentaron diferencias significativas con respecto a la longitud del hocico ($F=16.67$; $P=0.0002$; $gl= 10,4$), siendo mayor para las larvas con T_4 , mientras que la menor longitud del hocico se registró en las larvas con HC y TU (Figura 5.16).

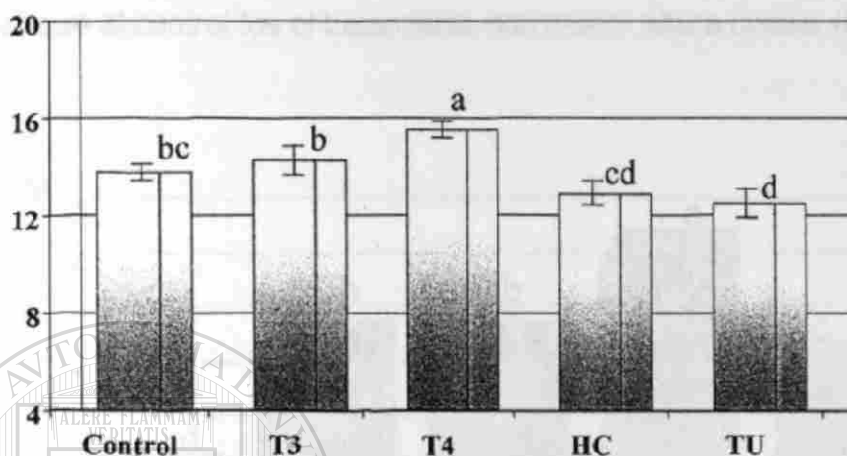


Figura 5.16 - Longitud del hocico, en porcentaje de la longitud total (% LT), de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

En el caso de la altura preanal también se presentaron diferencias significativas ($F=15.51$; $P= 0.0003$; $gl= 10,4$). Los tratamientos control y TU presentaron la mayor altura preanal, seguidos de los tratamientos con T_4 y HC. Mientras que el tratamiento con T_3 fue el que presentó la menor altura preanal (Figura 5.17).

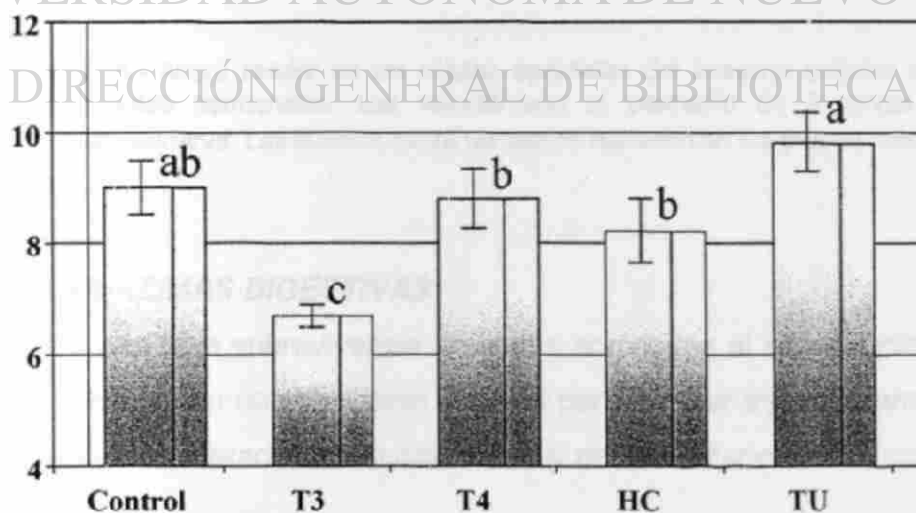


Figura 5.17 Altura preanal, en porcentaje de la longitud total (% LT) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

5.3.1.3 CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS:

La altura celular de los enterocitos presentó diferencias significativas entre los tratamientos con hormonas ($F=223.94$; $P=0.000$; $gl= 55,4$). Los enterocitos de las larvas con HC presentaron la mayor altura celular, seguidos de los tratamientos con T_3 y T_4 . Mientras que el control fue el tratamiento con menor altura celular (Figura 5.18).

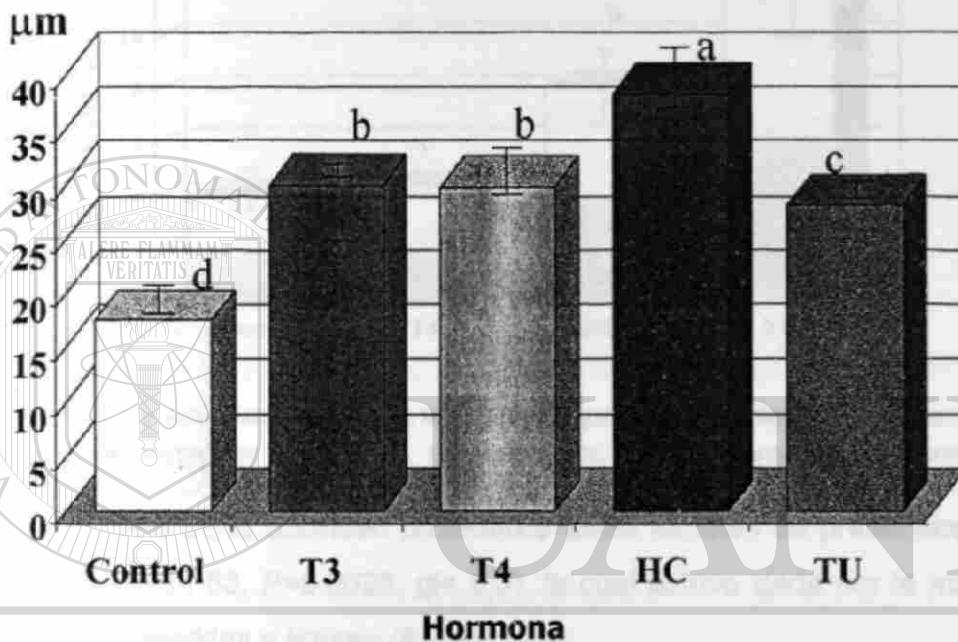


Figura 5.18.- Altura celular de las células epiteliales del intestino anterior de larvas con los diferentes tratamientos hormonales. Los valores son el promedio de 3 larvas por tratamiento considerando 6 células/larva. Las literales sobre las barras representan los grupos homogéneos.

5.3.1.4 ENZIMAS DIGESTIVAS:

Debido a la baja sobrevivencia de larvas sometidas al tratamiento hormonal con T_3 no fue posible contar con suficiente material para realizar estas determinación, por lo cual no fueron considerados en estos análisis de laboratorio ni los correspondientes estadísticos.

La actividad proteolítica alcalina entre los diferentes tratamientos hormonales presentó diferencias significativas ($F=33.98$; $P=0.0001$; $gl= 8,3$), siendo mayor la actividad en las larvas con TU, mientras que en el tratamiento control y con T₄ fueron más bajas y sin diferencias significativas entre estas (Figura 5.19).

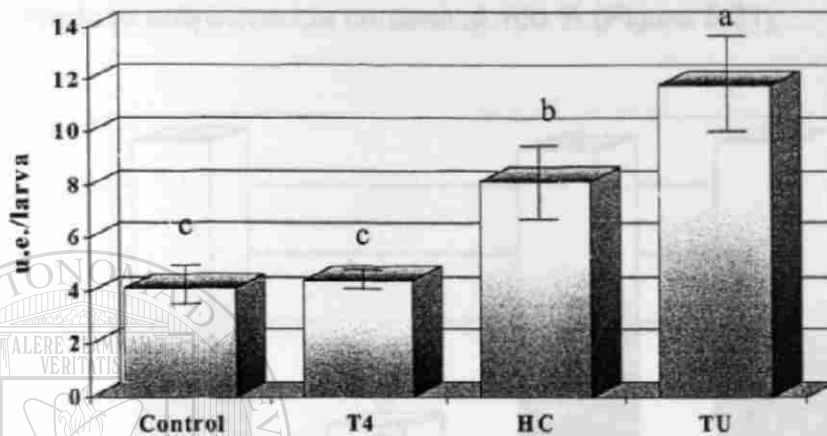


Figura 5.19 Actividad proteolítica alcalina ensayada con azocaseína 0.2 % en buffer universal (pH 8.4) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

En el caso de la actividad proteolítica ácida también se presentaron diferencias significativas ($F=11.53$; $P=0.0028$; $gl= 8,3$), la cual estuvo dada por la mayor actividad en las larvas sometidas a tiourea (Figura 5.20).

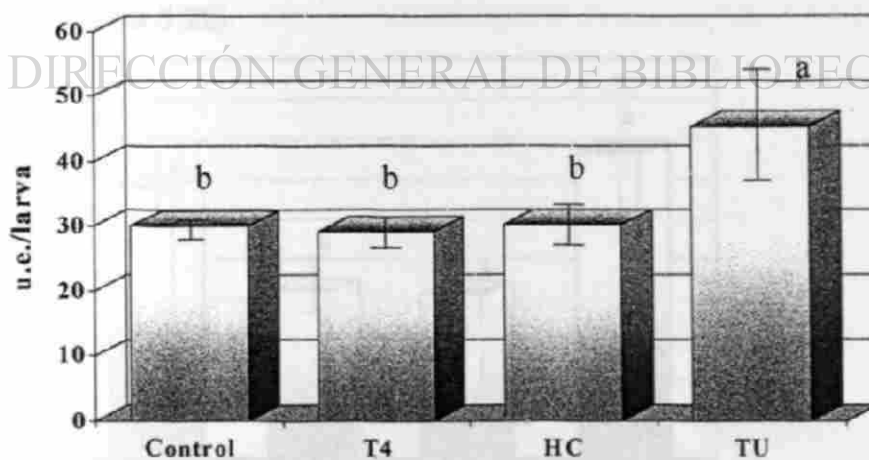


Figura 5.20 Actividad proteolítica ácida ensayada con hemoglobina 1 % en buffer universal (pH 8.4) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

5.3.2 SEGUNDO BIOENSAYO

5.3.2.1 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Sobrevivencia: La sobrevivencia fue nuevamente muy baja en las larvas sometidas a T₃, mientras que en los otros tratamientos se presentó muy poca mortalidad siendo la sobrevivencia cercana al 100 % (Figura 5.21).

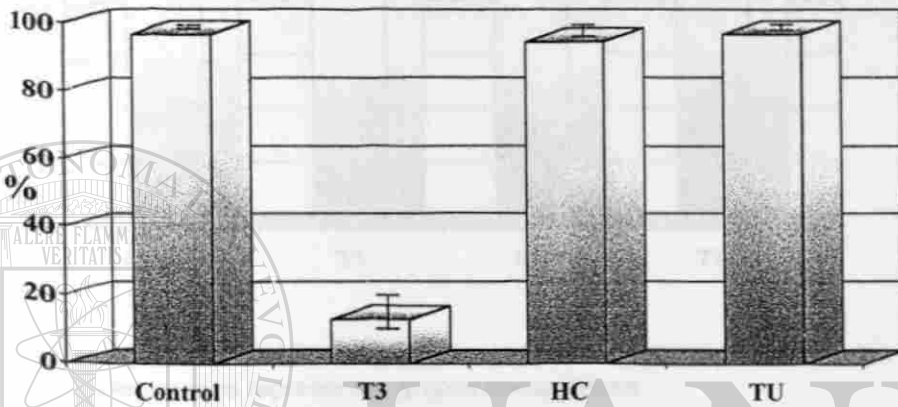


Figura 5.21.- Sobrevivencia de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo.

Se presentaron diferencias significativas en el peso de las larvas entre los tratamientos ($F=9.27$; $P=0.0012$; $gl=14,3$) siendo mayor para los tratamientos control y con tiourea (Figura 5.22).

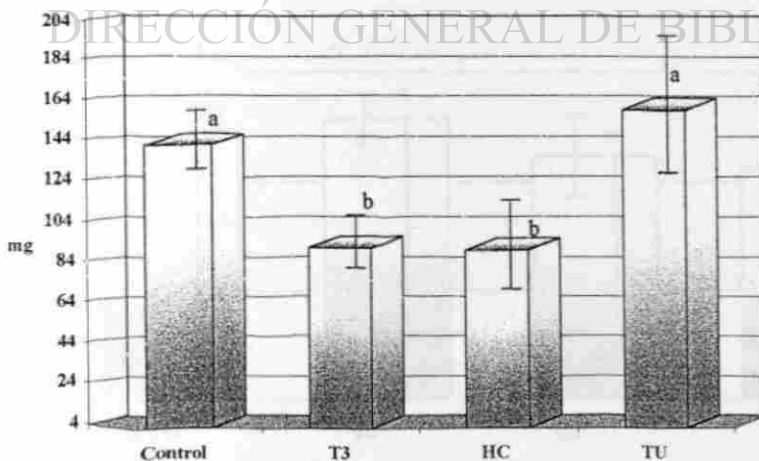


Figura 5.22.- Peso (mg) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

También se presentaron diferencias significativas para la longitud total de las larvas entre los tratamientos ($F=17.53$; $P=0.0001$; $gl= 14,3$), presentándose un comportamiento similar al peso (Figura 5.23).

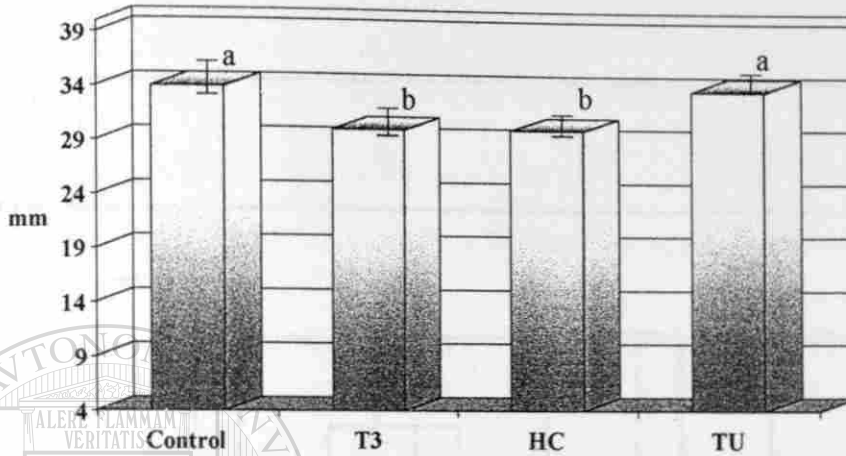


Figura 5.23.- Longitud Total (mm) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

Con respecto a la longitud del hocico también se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 5.42$; $P = 0.011$; $gl = 14,3$). Sin embargo en este caso la proporción del hocico fue mayor en el tratamiento con T_3 y el tratamiento control (Figura 5.24).

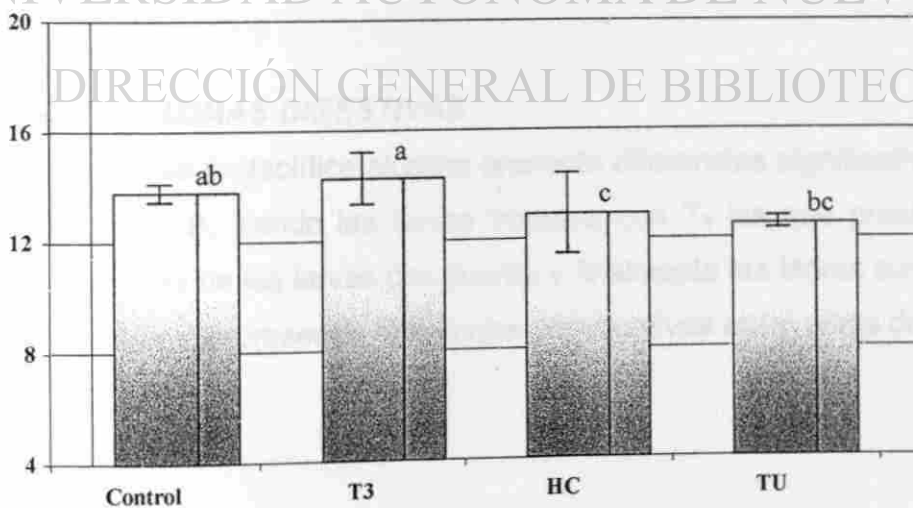


Figura 5.24.- Longitud del hocico (% LT) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

Por otra parte la altura preanal de las larvas sometidas a diferentes tratamientos presentó diferencias significativas ($F = 11.83$; $P = 0.0004$; $gl = 14,3$). El tratamiento con T_3 mostró la menor altura, mientras que los tratamientos con hidrocortisona y tiourea presentaron un valor ligeramente menor al tratamiento control (Figura 5.25).

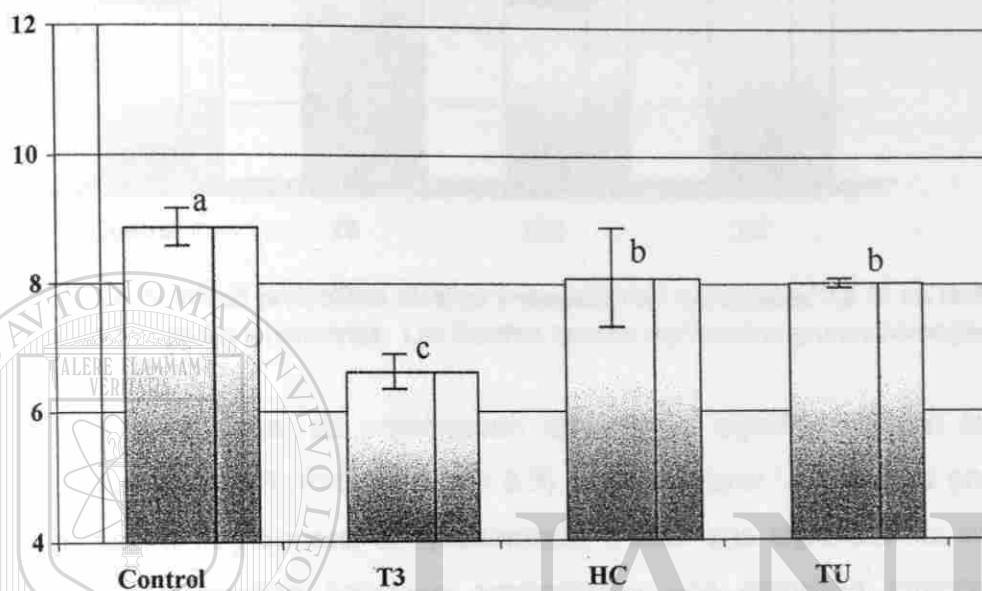


Figura 5.25.- Altura preanal (% LT) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5.3.2.2 ENZIMAS DIGESTIVAS

La actividad proteolítica alcalina presentó diferencias significativas ($F = 77.69$; $P = 0.0000$; $gl = 8,3$), siendo las larvas tratadas con T_3 las que presentaron la mayor actividad seguidas de las larvas con tiourea y finalmente las larvas con hidrocortisona y las larvas control, sin presentar diferencias significativas entre estas dos últimas (Figura 5.26).

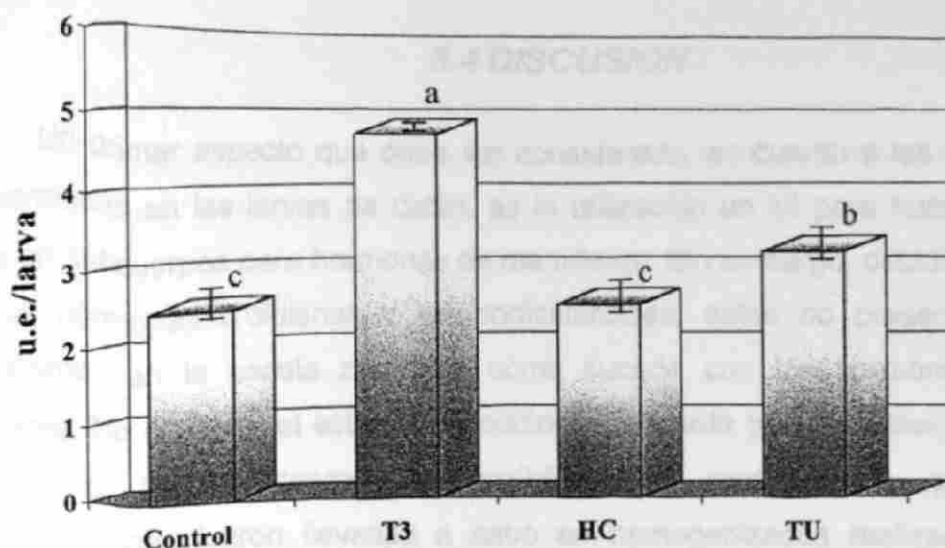


Figura 5.26 Actividad proteolítica alcalina ensayada con azocaseína 0.2 % en buffer universal (pH 8.4) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

De la misma forma, se presentaron diferencias significativas en la actividad proteolítica ácida ($F=37.16$; $P=0.0000$; $gl= 8,3$), siendo mayor la actividad en las larvas a las que se aplicó T_3 y tiourea, sin presentarse diferencias significativas entre estas. Las larvas sin tratamiento hormonal presentaron una actividad intermedia y se determinó la más baja actividad ácida en las larvas tratadas con hidrocortisona (Figura 5.27).

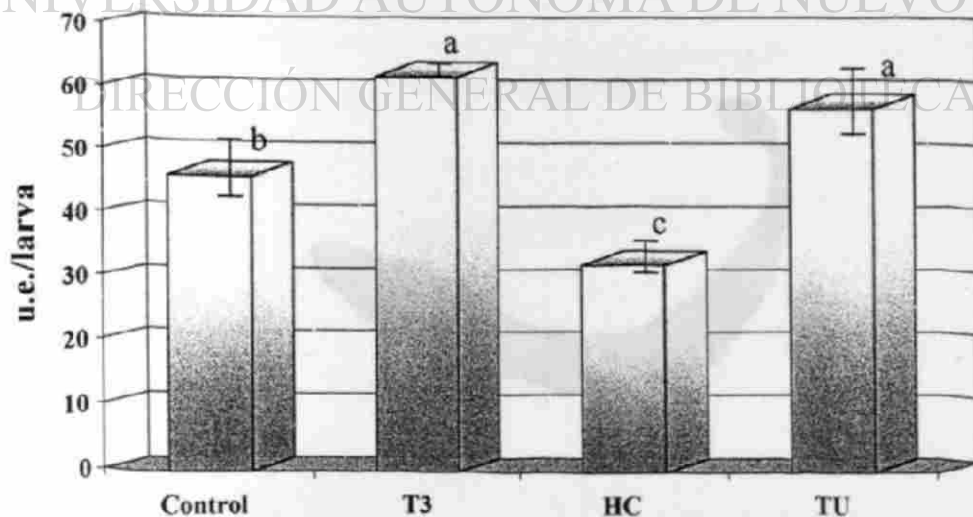


Figura 5.27.- Actividad proteolítica ácida ensayada con hemoglobina 1 % en buffer universal (pH 3.0) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

5.4 DISCUSION

Un primer aspecto que debe ser considerado, en cuanto a las determinaciones de hormonas en las larvas de catán, es la utilización un kit para humanos el cual se basa en anticuerpos para hormonas de mamíferos. Sin embargo, debido a la naturaleza de las hormonas tiroidianas y los corticosteroides, estas no presentan variaciones importantes en la escala zoológica como sucede con las hormonas peptídicas y proteicas. No obstante al estar la metodología diseñada para su determinación a partir de sangre. No se descarta la posibilidad de cierto sesgo, puesto que las determinaciones fueron llevadas a cabo en homogenizados realizados a partir de organismos completos (Hollander y Shenkman, 1974).

La alta mortalidad que se presentó en los tratamientos con T_3 , para ambos bioensayos, probablemente este relacionada con una sobredosis en la administración de esta hormona ya que los niveles de T_3 y HC detectados en las larvas del primer bioensayo fue cuatro veces superior al nivel de las larvas control (Figura 5.7 y 5.10). Lo anterior también se sustenta en los cambios evidentes que se produjeron en morfología de las larvas (longitud del hocico y altura preanal) sometidas al tratamiento con T_3 , llegando inclusive a producirse deformaciones en las larvas del primer bioensayo (Figura 5.28).



Figura 5.28.- Larva de catán sometida a tratamiento con T_3 durante el primer bioensayo.

Dentro de esta vertiente, se puede considerar también la posibilidad de que el menor crecimiento en peso encontrado para las larvas sometidas a T_3 , en ambos bioensayos, estuviera relacionado con los niveles de T_3 y sus efectos en la metamorfosis a la forma del adulto, con lo cual las larvas adquieren una forma más alargada lo cual se ve reflejado por una mayor proporción del hocico (Figuras 5 y 19) y una menor proporción de la altura preanal (Figuras 6 y 20), con respecto a la longitud total de la larva. Este menor crecimiento también se vió reflejado en la longitud total obtenida por las larvas con T_3 , aunque en menor proporción. Evidentemente la metamorfosis implica la utilización de recursos energéticos que no quedan disponibles para el crecimiento corporal. Otra evidencia del efecto de la T_3 sobre la metamorfosis es la coloración que adquirieron las larvas sometidas a esta hormona, siendo diferente a la descrita para cualquier estadio larval. Estas larvas presentaron una coloración gris en la parte dorsal y en los costados, mientras que la parte ventral fue clara y las aletas impares presentaron una coloración negra, esta coloración es típica de organismos adultos (Figura 5.29).

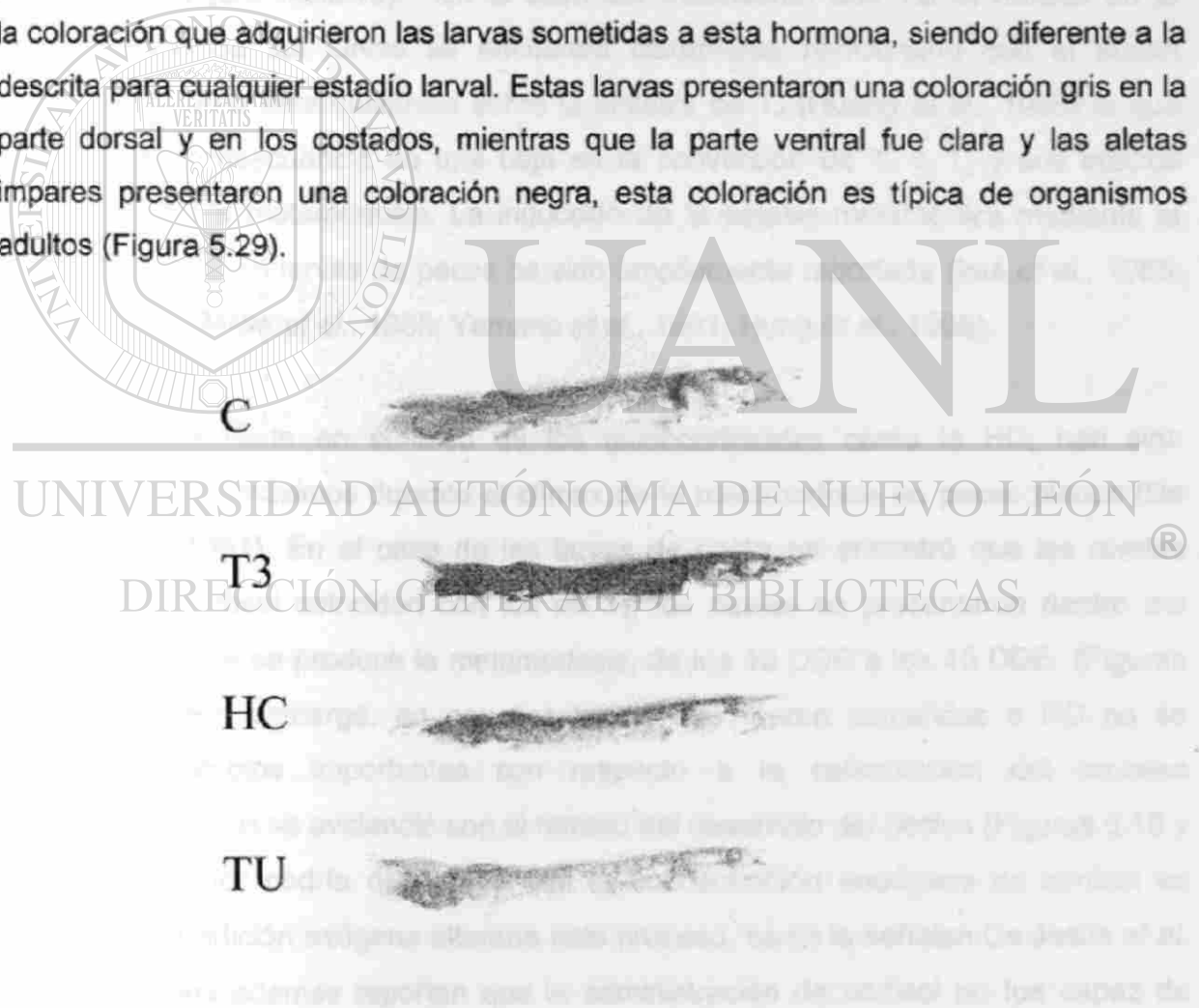


Figura 5.29.- Larvas de catán sometida a hormonas durante segundo bioensayo. Control (C); Tri-iodotironina (T_3); Hidrocortisona (HC) y Tiourea (TU).

En base a la proporción del hocico, en las Figuras 5 y 19, se puede apreciar que las larvas control estaban finalizando el proceso de metamorfosis al final del bioensayo, lo cual se ve apoyado por los niveles detectados de T_3 que muestran la mayor concentración a los 10 DDE que es el momento en el cual se produce la mayor transformación de la larva. Por otra parte, también se hace evidente que las larvas sometidas a TU y HC presentan un retraso relativo en el proceso metamórfico al finalizar los bioensayos, lo cual se ve apoyado por los bajos niveles de T_3 detectados en estos tratamientos, siendo de 0.67 y 0.33 ng/larva respectivamente, los cuales son significativamente menores al encontrado en las larvas control en proceso de transformación (2.2 ng/larva). En el caso del tratamiento con TU el retraso en la transformación de las larvas se encuentra claramente relacionado con el efecto inhibitor que tiene esta sustancia sobre la síntesis de T_4 (Huang *et al.*, 1998) lo que repercute en consecuencia en una baja en la conversión de T_4 a T_3 y sus efectos promotores de la metamorfosis. La inducción de la estasis metamórfica mediante la aplicación de TU en larvas de peces ha sido ampliamente reportada (Inui *et al.*, 1985; Sullivan, 1987; Miwa *et al.*, 1988; Yamano *et al.*, 1991; Hung *et al.*, 1998).

Por otra parte en el caso de los glucocorticoides como la HC, han sido reportados picos máximos durante el climax de la metamorfosis en peces planos (De Jesús *et al.*, 1991). En el caso de las larvas de catán se encontró que los niveles máximos de cortisol coinciden con los de T_3 , los cuales se presentaron dentro del periodo en el que se produce la metamorfosis, de los 10 DDE a los 15 DDE (Figuras 5.7 y 5.10). Sin embargo, en aquellas larvas que fueron sometidas a HC no se apreciaron cambios importantes con respecto a la estimulación del proceso metamórfico, como se evidenció con el retraso del desarrollo del hocico (Figuras 5.16 y 5.24). Lo anterior podría deberse a que la concentración endógena de cortisol es suficiente y la adición exógena alteraría este proceso, como lo señalan De Jesús *et al.* (1993), quienes además reportan que la administración de cortisol no fue capaz de inducir cambios metamórficos en larvas de peces planos, pero al ser administrado en conjunto con T_3 o T_4 produjo cambios metamórficos más marcados que la sola

administración de hormonas tiroidianas. Estos autores argumentan un posible efecto sinérgico similar al que ocurre en anfibios, ya que aparentemente se presenta un efecto promotor de los corticosteroides sobre los receptores nucleares de la T_3 , aunque esto aun no ha sido claramente dilucidado. Sin embargo, no debe dejar de señalarse el papel de los corticosteroides sobre el desarrollo del tracto como pudo ser observado a través de la mayor altura celular y la actividad proteolítica encontrada en las larvas de catán sometidas a HC (Figuras 5.18 y 5.19).

La altura preanal es una variable que puede ser utilizada para evaluar la condición nutricional o robustez de las larvas de catán (Capítulo 2), por lo cual podemos considerar que la mayor altura preanal encontrada en las larvas con TU en el primer bioensayo (Figura 5.17) es un indicio de que, a pesar de que en estas larvas fue inhibida la metamorfosis, el crecimiento no se vio afectado. Mientras que en el caso de los hormonas tiroidianas la menor altura preanal indican que los elevados niveles de estas hormonas, particularmente la T_3 , afectan el crecimiento. Con lo anterior, se pone de manifiesto la importancia puntual de estas hormonas sobre la metamorfosis de las larvas, sin embargo deja lugar para suponer que se reduce la importancia de estas hormonas sobre el metabolismo para permitir la actuación de las hormonas implicadas directamente sobre el incremento del volumen corporal (e.g. hormona de crecimiento) lo que da inicio a la fase exponencial del crecimiento del catán.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Diferentes autores han argumentado que los procesos metamórficos y metabólicos se llevan a cabo sólo gracias a la influencia de las hormonas tiroidianas de origen materno, las cuales adquieren las larvas a través del vitelo (Tagawa y Hiro, 1987; Kobuke *et al.*, 1987; Sullivan *et al.*, 1987; Brown *et al.*, 1987; Tagawa *et al.*, 1990). Sin embargo, los resultados observados en esta serie experimental apuntan hacia el establecimiento precoz del eje tiroidiano en las larvas de catán, el cual sería funcional en el momento de iniciar la alimentación exógena (5 DDE). Esto explicaría los sorprendentes resultados encontrados al someter a las larvas al efecto de la TU, la

cual produjo una mejor condición de las larvas, mayor actividad enzimática y sobrevivencia, a causa de una retroalimentación negativa.

Los cambios en los niveles de T_3 encontrados durante el desarrollo larvario concuerdan con los cambios morfológicos, así como con el incremento en el nivel de HC en la fase final de la metamorfosis de las larvas de catán descrito en el Capítulo 2. En este sentido podemos considerar que una de las etapas más críticas en el desarrollo larvario del catán coincide con el climax metamórfico hacia la forma adulta, el cual se produce alrededor del décimo día después de la eclosión. Este periodo está enmarcado por el agotamiento de las reservas de vitelo en el octavo DDE y el inicio del crecimiento exponencial después del onceavo DDE. Por lo cual el acondicionamiento a la alimentación exógena del 5 a 8 DDE, debe estar bien establecido en este momento para que la larva pueda contar con reservas energéticas suficientes para llevar a cabo la metamorfosis sin menoscabo de la condición nutricional.

Estos resultados abren dos nuevas vertientes en una siguiente etapa de investigación: a) la posibilidad de propiciar el consumo de dietas complejas (e.g. dietas artificiales) desde las primeras etapas larvales al utilizar hormonas tiroidianas y b) la posibilidad de controlar el canibalismo al exponer las larvas a agentes anti-tiroidianos, ya que de esta manera se podrían obtener larvas más grandes pero con el hocico menos desarrollado, lo que impediría el consumo de organismos de su misma talla, pero no así de presas vivas más pequeñas.

CAPITULO 6: ACONDICIONAMIENTO DE LARVAS DE CATAN AL CONSUMO DE DIETAS ARTIFICIALES

6.1 ANTECEDENTES

El entendimiento de la fisiología digestiva en las larvas es el cimiento para el desarrollo de dietas mas eficientes y eje fundamental para el establecimiento de nuevos esquemas de alimentación (Buddington, 1985). De aquí que los cambios que se presentan durante la ontogénesis digestiva sugieren también cambios en los requerimientos de nutrientes involucrados en la formación y desarrollo de diferentes órganos, sistemas y sus funciones (Dabrowski, 1986). En el caso particular de las larvas de peces estas se caracterizan por una organogénesis incompleta, lo que resulta en un funcionamiento digestivo diferente al de los juveniles y los adultos y como consecuencia se requieren dietas especiales para larvas (Verreth *et al.*, 1992). Estas particularidades han venido generando un enorme interés el cual se ha visto reflejado en las numerosas investigaciones enfocadas a desarrollar dietas artificiales para larvas de peces (Moyano *et al.*, 1996).

Son varias las ventajas que confiere la utilización de dietas preparadas. Primeramente permiten modificar de manera flexible la composición química (Bromley, 1978). Por otra parte, constituyen una alternativa primordial ante el uso prolongado del alimento natural ya que este resulta impráctico y costoso (Duray y Bagariano, 1984). Esto ha provocado, en algunas especies reproducidas en cautiverio que más del 90% de las larvas generadas sean liberadas inmediatamente después de la eclosión debido a la dificultad para suministrar alimento vivo en las cantidades requeridas para continuar el cultivo (Rosch y Appelbaum, 1985). Este problema se presenta en la mayoría de los cultivos de larvas de todas las especies pero se torna aún más agudo en el caso de aquellas especies que presentan una tasa de crecimiento muy acelerada, como en el caso del catán.

Para preparar una dieta adecuada se deben considerar las variaciones en cuanto a requerimientos nutricionales entre las especies, así como otras características de la dieta (tamaño, densidad, atracción y estabilidad en el agua de las partículas), por lo cual es necesario realizar diferentes experimentos para determinar las características de la dieta y de ser posible se debe determinar la digestibilidad de los ingredientes preferentemente utilizando las enzimas endógenas (Glass *et al.*, 1989).

Se ha demostrado que es posible mantener larvas de peces marinos y de agua dulce empleando dietas artificiales (Duray y Bagariano, 1984). En general han sido utilizadas principalmente tres estrategias diferentes para acondicionar larvas al consumo de dietas compuestas con la finalidad de eliminar o reducir la utilización de alimento vivo. Estas son el acondicionamiento denominado directo el cual consiste en suministrar dietas compuestas desde el inicio de la alimentación, el acondicionamiento indirecto en el que se proporcionan dietas artificiales después de un periodo con alimento vivo y el acondicionamiento progresivo en el cual se incorporan cantidades graduadas de alimento vivo y artificial (Person-Le Rauyet, 1989).

El acondicionamiento directo generalmente se realiza en el caso de larvas de gran talla y ha sido utilizado en carpas (Dabrowski *et al.*, 1978), en larvas de salmonidos y esturiones (Dabrowski *et al.*, 1985) y en larvas de soleidos (*Solea solea*), aunque el crecimiento ha resultado menor que con alimento vivo (Appelbaum, 1985). En larvas de coreogonidos (*Coreogonus clupeiformis*) el acondicionamiento directo produjo problemas de scoliosis, lordosis y comportamiento de nado errático (Zitzow y Millard, 1988). En larvas de sparidos (*Sparus aurata*), este método provocó una reducción del crecimiento e igualmente respecto a la sobrevivencia (Tandler y Kolkovski, 1991). Los problemas encontrados al utilizar esta estrategia de acondicionamiento han sido atribuidos a una baja calidad de huevos y larvas (Dabrowski *et al.*, 1985), a deficiencias nutricionales de la dieta (Zitzow y Millard, 1988), una baja afinidad de las enzimas proteolíticas hacia los sustratos artificiales ofrecidos en las dietas formuladas (Dabrowski y Culver, 1991; Tandler y Kolkovski, 1991;

Kolkovski *et al.*, 1993) y a una baja tasa de ingestión de las partículas (Kolkovski *et al.*, 1993)

El acondicionamiento indirecto después de un periodo de alimento natural ha sido utilizado en larvas de turbot (*Scophthalmus maximus*), encontrándose que el uso de alimento vivo en cantidades limitadas es importante durante el acondicionamiento de larvas pequeñas, pero no resulta igualmente importante en larvas grandes (Bromley, 1978). En *Chanos chanos* se intentó acondicionar a las larvas con un cambio abrupto de alimento natural a alimento artificial, con resultados mediocres obteniéndose mejores resultados cuando el acondicionamiento fue gradual (Duray y Bagariano, 1984). Por otra parte, se ha observado en *Solea solea* que un periodo prolongado con alimento vivo pospone y dificulta el acondicionamiento, mientras que un periodo corto disminuye el crecimiento (Appelbaum, 1985).

En contraste con lo anterior, se ha observado que el acondicionamiento de larvas pequeñas es difícil si se realiza directamente con dietas artificiales, sin embargo, se pueden obtener buenos resultados si se combina con alimento vivo (Person-Le Ruyet, 1989). Con esta estrategia se ha logrado definir una secuencia gradual de alimento vivo y artificial en *Lates calcarifer*, permitiendo reducir o eliminar el canibalismo que se presenta en el momento en que las presas vivas son reemplazadas por alimento artificial (Fuchs y Nedelec, 1989). Igualmente una estrategia de acondicionamiento gradual ha sido utilizada para larvas de *Dicentrarchus labrax* (Devresse *et al.*, 1991).

6.2 MATERIAL Y METODOS

6.2.1 ORGANISMOS EXPERIMENTALES

Se obtuvieron larvas de catán recién eclosionadas en el Centro Acuícola Tanco el 1 de Junio de 1999. Las larvas fueron transportados en bolsas de plástico con oxígeno a las instalaciones del Grupo Ecofisiología en la Fac. de Ciencias Biológicas U.A.N.L., en donde fueron colocadas en canaletas de fibra de vidrio para ser aclimatadas en el laboratorio antes de que iniciaran la alimentación exógena.

6.2.2 CONDICIONES EXPERIMENTALES

Las larvas fueron distribuidas en 3 canaletas de fibra de vidrio de 230 cm de largo, 70 cm de ancho y 30 cm de altura, con un volumen de agua de 480 L. Se utilizaron larvas de 3 días después de la eclosión (DDE) con una densidad inicial de 500 larvas por canaleta, aproximadamente una larva/litro. La temperatura del agua fue de 27 °C y se suministró oxígeno constante mediante un compresor. A partir del quinto DDE se suministró el alimento correspondiente a cada tratamiento.

6.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron tres tratamientos con diferente tipo de alimentación. Para este propósito se utilizó una canaleta en cada tratamiento. Las dietas utilizadas fueron nauplios de *Artemia salina* (AS), de la variedad *San Francisco Bay*, recién eclosionados y alimento artificial Trucha Iniciador Aqualine^{MR} (TI), de Purina S.A. de C.V. (Tabla 6.1).

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO	
HUMEDAD	12 % MÁXIMO
PROTEÍNA	50% MÍNIMO
GRASA	15 % MÍNIMO
FIBRA CRUDA	4% MÁXIMO
CENIZAS	12% MÁXIMO
CALCIO	2% MÍNIMO
FOSFORO	1.2% MÍNIMO
EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO	7% POR DIFERENCIA
INGREDIENTES	
Proteínas animales de origen marino, harinas de origen animal, combinación de pastas de oleaginosas, cereales molidos, subproductos alimenticios agrícolas e industriales, subproductos vegetales, subproductos de cereales, aceite de pescado, aceite vegetal de primera, fosfolípidos, atractantes naturales, mezcla de vitaminas, mezcla de minerales, antioxidante, fungicida, lisina-HCl y metionina.	

Tabla 6.1.- Análisis bromatológico e ingredientes utilizados en la elaboración del alimento artificial Trucha Iniciador Aqualine^{MR}, proporcionados por PURINA S.A de C.V.

Se suministró un total de 2 g de alimento diariamente, dividido en dos raciones para que las larvas se alimentaran *ad libitum*. La alimentación inició en el cuarto día después de la eclosión (DDE) y el experimento finalizó al 15 DDE. El régimen alimenticio proporcionado a cada tratamiento se presenta en la Tabla 6.2.

Tratamiento	Alimento	Edad (DDE ³)	Cantidad (g/día)
Control	AS ¹	4 a 15	2
Combinado	AS	4 a 7	2
	AS	8 a 10	1
	TI ²	8 a 10	1
	TI	11 a 15	2
Artificial	TI	4 a 15	2

Tabla 6.2.- Régimen alimenticio para los tratamientos realizados ¹ Artemia salina; ² Trucha iniciador; ³ días después de la eclosión.

6.2.4 EVALUACION DEL BIOENSAYO

Características morfológicas: Al finalizar los bioensayos se estimó el número de larvas por tratamiento para determinar el porcentaje de sobrevivencia. Las larvas fueron pesadas individualmente en una balanza OHAUS con un grado de precisión de 0.1 mg y fijadas en líquido de Bouin. Se determinó la longitud total utilizando un vernier con un grado de exactitud de 0.1 mm. Adicionalmente, se determinó la longitud del hocico como un indicador del grado de transformación de la larva y la altura corporal al nivel del ano (altura preanal) como indicador de la condición nutricional de las larvas. Estas dos características morfométricas fueron reportadas en porcentaje de la longitud total de acuerdo a lo descrito en el Capítulo 2.

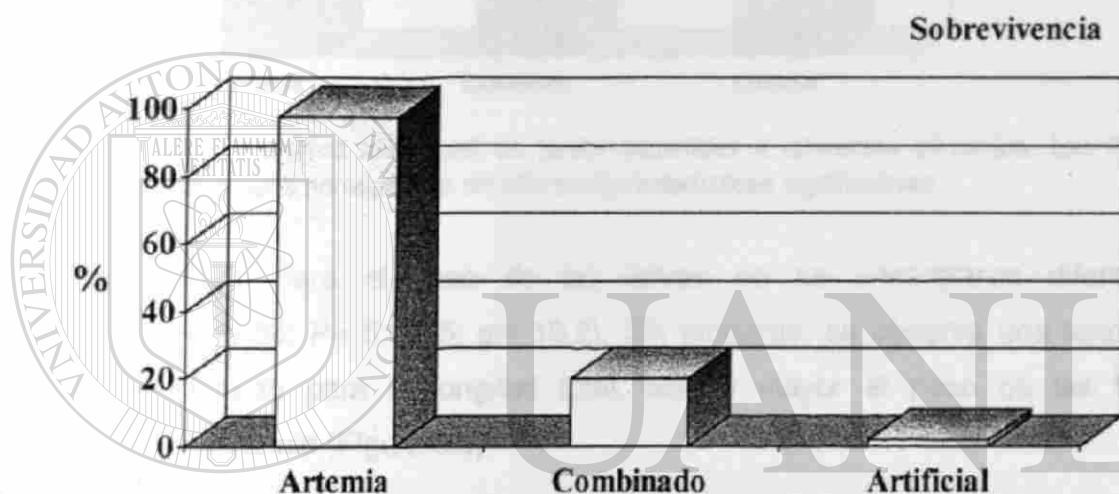
Determinación de enzimas digestivas: La actividad proteolítica total ácida y alcalina fue determinada en extractos de intestino de las larvas de cada tratamiento. La metodología utilizada para estas determinaciones fue realizada de la forma en que se describe el Capítulo 4.

Análisis estadístico: Las variables consideradas y los resultados obtenidos fueron analizados por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA) con el fin de determinar las diferencias que pudieran existir entre los tratamientos. Para aquellas variables que presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de rangos múltiple de Duncan con el fin de separar grupos homogéneos entre la medias con un nivel de significancia del 0.05% (Steel y Torrie, 1980).

6.3 RESULTADOS

6.3.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Sobrevivencia: La sobrevivencia fue marcadamente superior en el tratamiento al que se le suministró *Artemia* como alimento. Mientras que al utilizar únicamente alimento artificial la sobrevivencia fue solo del 2 %. Con la combinación de estos alimentos se obtuvo una sobrevivencia del 20% (Figura 6.1).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Figura 6.1.- Sobrevivencia en porcentaje de larvas sometidas a diferentes alimentos.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Longitud total: Se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a la longitud total de las larvas ($F= 6.71$; $P= 0.0142$; $gl= 10,2$). Resultando superior la longitud de las larvas alimentadas con *Artemia* en comparación con los tratamientos de alimento artificial y combinado (Figura 6.2).

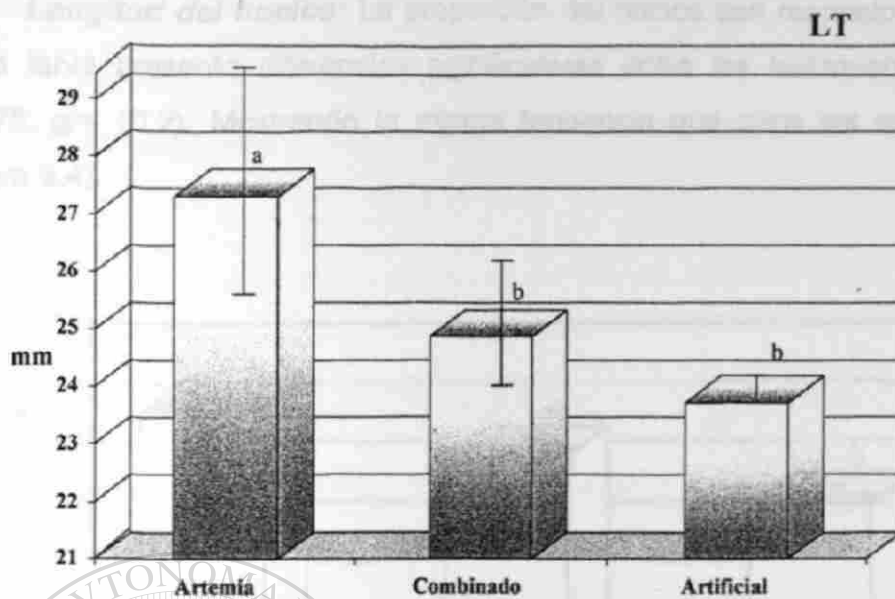


Figura 6.2.- Longitud total (mm) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Peso final: Para el peso de las larvas no se encontraron diferencias significativas ($F= 3.38$; $P= 0.0755$; $g= 10,2$). Sin embargo, se observa una tendencia similar al encontrado para la longitud total, siendo mayor el peso de las larvas alimentadas con Artemia (Figura 6.3).

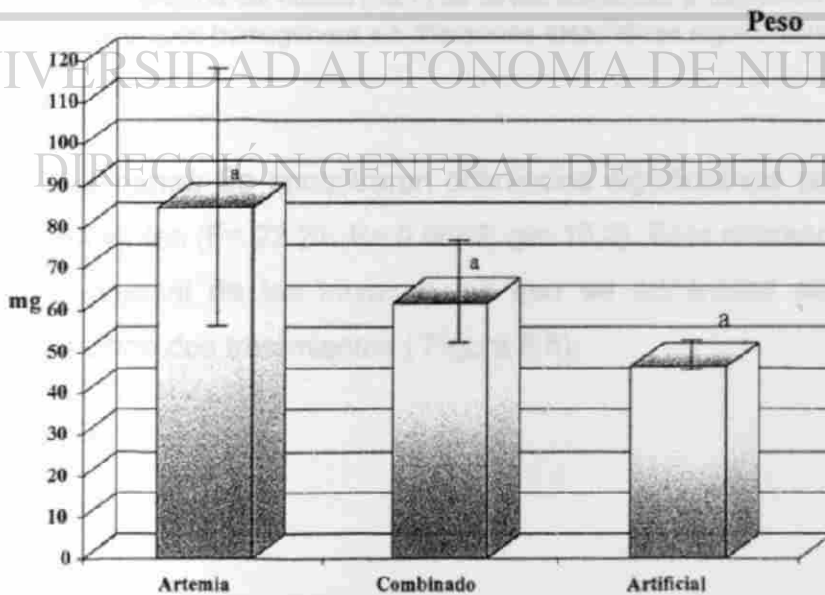


Figura 6.3.- Peso final (mg) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Longitud del hocico: La proporción del hocico con respecto a la longitud total de la larva presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($F= 6.22$; $P= 0.0175$; $gl= 10,2$). Mostrando la misma tendencia que para las anteriores variables (Figura 6.4).

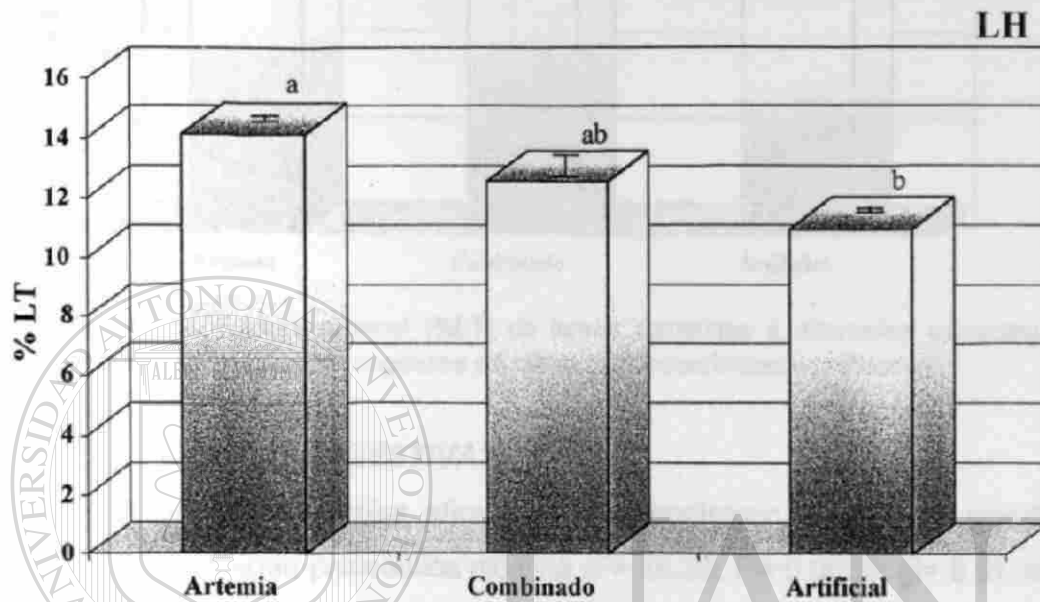


Figura 6.4.- Longitud del hocico (%LT) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Altura preanal: Se encontraron diferencias significativas para la altura preanal entre los tratamientos ($F= 22.21$; $P= 0.0002$; $gl= 10,2$). Esta diferencia fue dada por una menor altura preanal de las larvas a las que se administró alimento artificial con respecto a los otros dos tratamientos (Figura 6.5).

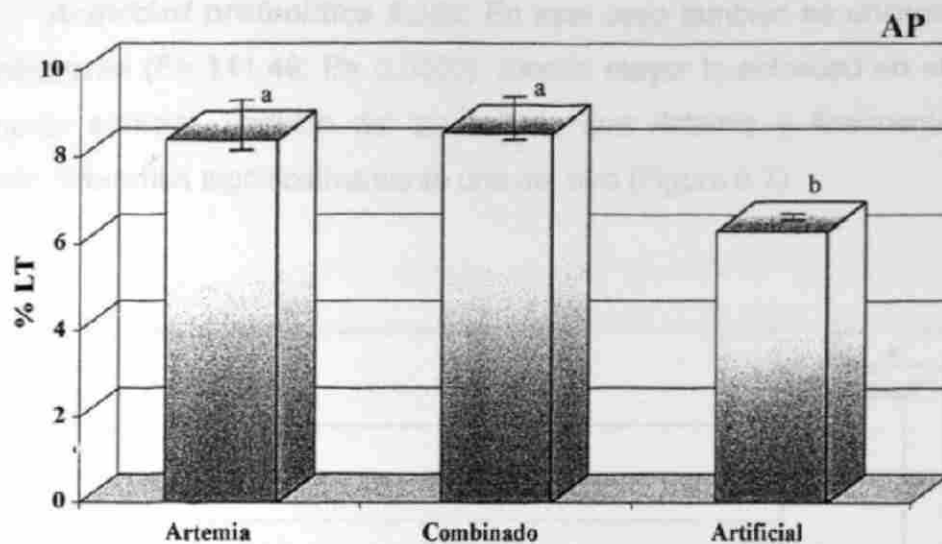


Figura 6.5.- Aitara preanal (%LT) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

6.3.2 ENZIMAS DIGESTIVAS

Actividad proteolítica alcalina: Se encontraron diferencias significativas con respecto a la actividad proteolítica alcalina ($F= 28.28$; $P= 0.0009$; $gl= 6,2$), siendo mayor la actividad para el tratamiento con alimento artificial (Figura 6.6).

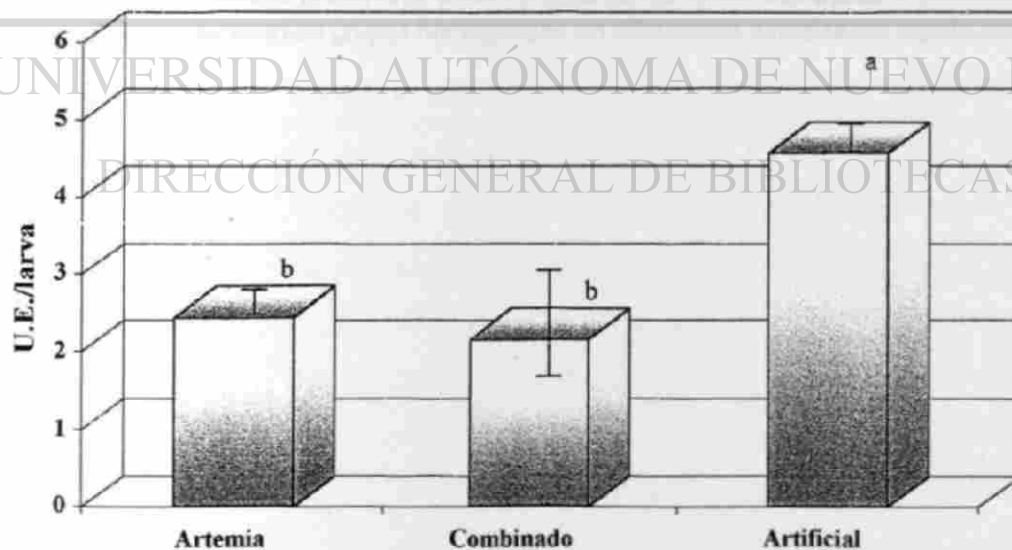


Figura 6.6.- Actividad proteolítica alcalina (U.E./larva) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Actividad proteolítica ácida: En este caso también se encontraron diferencias significativas ($F= 111.48$; $P= 0.0000$). Siendo mayor la actividad en el tratamiento con alimento artificial, seguido del tratamiento con *Artemia* y finalmente el combinado, siendo diferentes significativamente uno del otro (Figura 6.7).

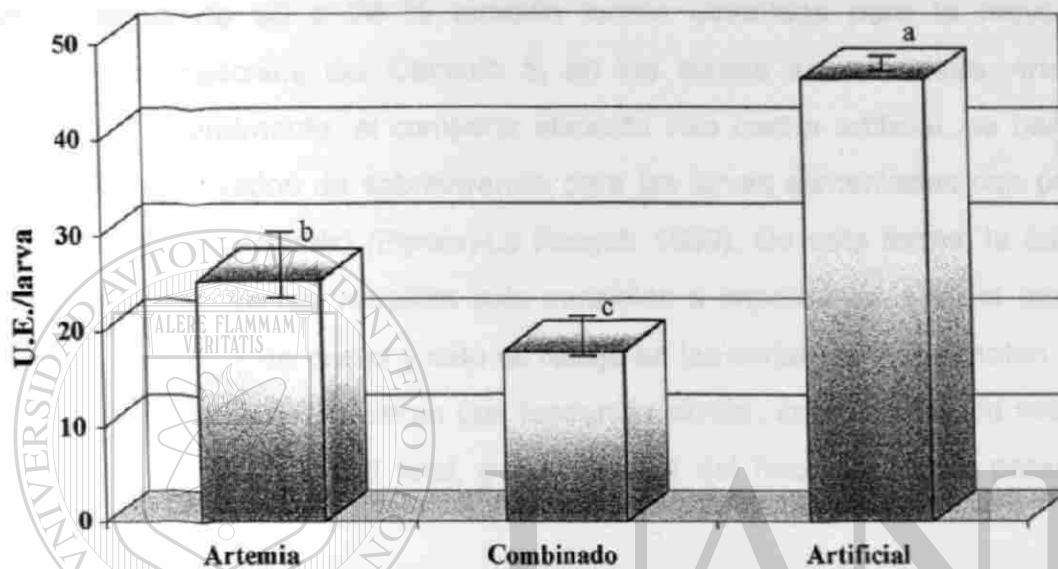


Figura 6.7.- Actividad proteolítica ácida (U.E./larva) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

6.4 DISCUSION

La mortalidad fue la variable que presentó diferencias más marcadas entre los tratamientos, siendo las larvas alimentadas con *Artemia* las que presentaron la mayor sobrevivencia (98 %). Lo anterior reveló que el alimento es uno de los principales factores que afectan el desarrollo de las larvas de catán, ya que niveles de sobrevivencia de 90 a 96 % también fueron obtenidos para la mayoría de los tratamientos descritos del Capítulo 5, en los cuales se suministró *Artemia* como alimento. Generalmente, al comparar alimento vivo contra artificial, se han reportado niveles más elevados de sobrevivencia para las larvas alimentadas con presas vivas (particularmente *Artemia*) (Person-Le Rauyet, 1989). De esta forma, la sobrevivencia resulta ser una de las variables más sensibles e importantes para la evaluación de dietas para larvas de peces y esto se refleja en las variables que denotan crecimiento ya que generalmente muestran una tendencia similar, como quedó de manifiesto con los resultados de longitud total, peso, longitud del hocico y altura preanal en este bioensayo.

Tomando en cuenta lo anterior, podríamos considerar que la dieta artificial y los métodos de acondicionamiento utilizados (directo e indirecto), no fueron los más apropiados para el mantenimiento de las larvas de catán. Esta inconsistencia metodológica puede ser analizada desde diferentes vertientes para explicar estos resultados. En primera instancia, se ha postulado que el bajo aprovechamiento de las dietas artificiales se debe al desarrollo incompleto del tracto digestivo y por lo tanto a su funcionamiento parcial en relación con la producción de enzimas digestivas (Dabrowski y Culver, 1991; Tandler y Kolkovski, 1991; Kolkovski *et al.*, 1993). Sin embargo, este no parece ser el caso en el presente experimento ya que los resultados observados en los Capítulos 2, 3 y 4, muestran que las larvas de catán tienen un desarrollo acelerado incluso antes de iniciar la alimentación exógena, presentando un tracto digestivo morfológica y fisiológicamente más desarrollado que la mayoría de las larvas de otras especies de peces que han podido ser acondicionadas al consumo de

dietas artificiales. Por otra parte, podemos descartar una importante contribución de enzimas exógenas provenientes de la *Artemia*, ya que las larvas de catán presentan una digestión ácida desde el inicio de la alimentación lo cual produce la desnaturalización de las enzimas exógenas en el estómago, ya funcional (Walford y Lam, 1993). Lo anterior también limita la posibilidad de que la mayor digestión del alimento vivo ocurra por auto-hidrólisis, así como la posible activación de los zimógenos en la larva por efecto de las enzimas exógenas (Dabrowski, 1979; Lauff y Hofer, 1984; Dabrowski, 1986; Munilla y Stark, 1989; Dabrowski *et al.*, 1992). Al mismo tiempo, los mayores niveles de actividad enzimática encontrados en el tratamiento con alimento artificial, revelan que la producción endógena de enzimas es suficiente para digerir el alimento. Una respuesta similar en la actividad enzimática han sido reportada por Zambonino y Cahu (1994) al alimentar larvas de *Dicentrarchus labrax* con dietas compuestas y la mayor actividad puede ser atribuida a una menor digestibilidad del alimento artificial en comparación con el alimento vivo (Mendoza, 1993). Considerando todo lo anterior, podríamos descartar a la capacidad digestiva de las larvas como una de las principales razones de mortalidad y bajo crecimiento para los tratamientos a los cuales se les suministró dietas artificiales, lo anterior también ha sido sugerido por Cahu y Zambonino (1997).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Otros resultados similares han sido atribuidos a una baja calidad de los huevos y larvas utilizados en los bioensayos (Dabrowski *et al.*, 1985). No obstante, al considerar que las larvas utilizadas provenían de un lote de 25 reproductores con varios años de producción de crías en cautiverio y 6 reproductores silvestres incorporados en esta ocasión, en conjunto con un proceso aleatorio de selección de las larvas y su distribución en los tratamientos, sería difícil atribuir una influencia de esta variable hacia alguno de los tratamientos en particular.

Los resultados podrían ser producto de posibles deficiencias nutricionales de la dieta (Zitzow y Millard, 1988), aun que si bien, se desconocen los requerimientos nutricionales de las larvas de catán, la dieta utilizada presenta una composición

promedio en términos generales para la mayoría de las larvas de peces para las cuales tampoco han sido definidos sus requerimientos con exactitud (Person-Le Ruyet, 1989). Por esta razón sería difícil que esta dieta presentara un desbalance nutricional capaz de producir los resultados encontrados, sobre todo en cuanto a sobrevivencia.

Dentro de este abanico de posibilidades, una baja tasa de ingestión de las dietas artificiales podría ser considerada como la causa más probable (Kolkovski *et al.*, 1993). En efecto, este problema ha sido a menudo observado principalmente en aquellas especies con fuertes hábitos carnívoros (Lovshin y Rushing, 1989). Por lo cual, al tomar en cuenta los hábitos alimenticios de los lepisosteidos (Suttkus, 1963), esto podría ser una primera explicación a los resultados obtenidos con la dieta artificial. En este mismo sentido, la marcada preferencia por organismos pelágicos (e.g. *Gambusia*) encontrados en el contenido estomacal de larvas y juveniles de lepisosteidos sugiere que su alimentación se realiza principalmente en la superficie (Echelle y Riggs, 1972; Pearson *et al.*, 1979), lo que sugiere que la baja flotabilidad que presentó la dieta utilizada muy probablemente contribuyó a su poca disponibilidad en la columna de agua durante el tiempo apropiado para ser consumida (Backhurst y Harker, 1988). Una solución a este problema ha sido la utilización de tanques cónicos y cilindro-cónicos con air-lifts incorporados al fondo, lo cual genera corrientes de agua que mantienen las partículas de alimento por más tiempo en suspensión (Bromley, 1978). Sin embargo, no se utilizó este sistema de cultivo ya que las larvas de catán tienden a permanecer en la superficie del agua y no son nadadoras activas, por lo cual, en el caso de incorporar los air-lifts en los tanques de cultivo, las larvas de catán tenderían a aglomerarse en la superficie de las regiones con menor turbulencia. Este comportamiento está relacionado con el hábitat en donde se realiza la reproducción de los lepisosteidos ya que generalmente los huevos son depositados en zonas que son inundadas durante la temporada de lluvias (Perez-Sanchez, 1995).

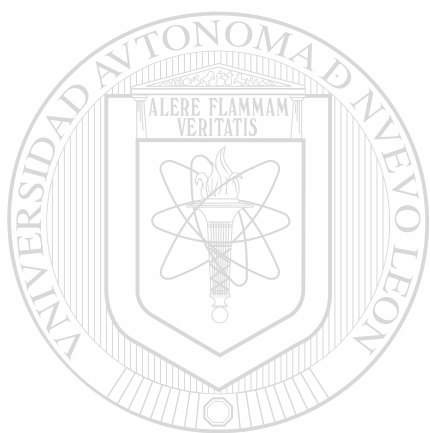
Sin embargo, las preferencias alimenticias parecen depender de varios factores, entre los que se cuentan la disponibilidad del alimento, por lo cual se considera que los

lepisosteidos presentan hábitos oportunistas (Echelle y Riggs, 1972; Holloway, 1954; Resendez y Salvadores, 1983; Chavez-Lomeli *et al.*, 1989). Estos hábitos aparecen desde la etapa larval como lo demuestran las observaciones de Pearson *et al* (1979). Este hecho hace suponer que el comportamiento predatorio puede ser superado incrementando la disponibilidad de las partículas alimenticias en la columna de agua. Lo anterior puede ser resuelto mediante la utilización de dietas extruidas, de la forma como lo mostraron Garcia *et al.* (1997), quienes al evaluar un acondicionamiento progresivo en larvas de *Atractosteus tropicus* encontraron mejor resultado al utilizar una dieta extruida en comparación con dietas peletizados, hígado de res o pescado fresco.

El comportamiento predatorio de los lepisosteidos, que consiste en permanecer en la superficie y de preferencia inmóvil hasta que su presa se encuentra a su alcance y con un movimiento lateral de la cabeza atraparla súbitamente (Suttkus, 1963; Natch, 1964), apoya la ventaja de utilizar dietas extruidas. Por otra parte, la aceptación de las dietas puede ser incrementado utilizando atractantes alimenticios los cuales favorecen la detección, identificación y consumo de las partículas. La detección visual y atracción de la partícula puede ser incrementada mediante la adición de color o características de movimiento como en las dietas para alimentación de rana (D. Montaña, *comunicación personal*). La percepción se favorece adicionando activadores alimenticios, dentro de los cuales han sido utilizados los L-aminoácidos, glicina, betaina e inosina con mayor eficiencia. Mientras que la fase final en la ingestión puede ser limitada por las características físicas de la dieta como el tamaño y textura (Pearson-Le Ruyet, 1989).

Es claro que el presente bioensayo es un primer intento de acondicionar las larvas de catán al consumo de dietas artificiales, por lo cual es necesario realizar un mayor número de pruebas para lograr definir progresivamente una forma más adecuada de sustituir el alimento natural por dietas artificiales. Esto garantizará, una vez que haya sido asegurado el consumo de las partículas, la evaluación de las

enzimas digestivas en su aprovechamiento (e.g. digestibilidad de las dietas) así como el inicio de pruebas encaminadas a definir los requerimientos nutricionales de la especie.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 7: CONCLUSIONES

La investigación multidisciplinaria realizada en el presente trabajo permitió resaltar las particularidades que presenta el desarrollo larvario del catán, así como visualizar posibles alternativas para llevar a cabo el cultivo de esta especie. En resumen, el estudio morfológico permitió distinguir las fases de desarrollo y de nutrición en las larvas, así como seleccionar indicadores externos de la inanición. Con el seguimiento histológico del tracto digestivo se determinó que este se encuentra completamente formado al iniciar la alimentación exógena (5 DDE), observar el proceso de maduración, confirmar las fases de nutrición y establecer un índice de nutrición a base de la altura celular de los enterocitos. El estudio de las enzimas digestivas comprobó que las estructuras del tracto son funcionales a los 5 DDE y que las larvas de catán tienen la capacidad digestiva para utilizar dietas artificiales. Por otra parte fue posible establecer que las larvas desarrollan precozmente el eje tiroideo el cual regula su desarrollo y que la metamorfosis puede ser alterada con fines prácticos mediante la administración exógena de hormonas. Finalmente, un primer ensayo con dietas artificiales arrojó información sobre las características que estas deben tener para ser utilizadas en la alimentación de larvas de catán.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Inicialmente, se puede señalar que los huevos de catán presentan un alto contenido de vitelo, lo que permite que la mayor parte del desarrollo larvario se realice con estas reservas. De hecho, las larvas presentan un periodo pre-larval bien marcado (1 a 4 DDE) en el cual el desarrollo de diferentes características morfológicas externas (aletas y forma del cuerpo) las preparan para la captura de zooplancton y otras larvas de peces como primer alimento exógeno. Esta serie de transformaciones implica igualmente una morfogénesis del tracto digestivo muy acelerada, de tal forma que al momento de iniciar la alimentación exógena (5 DDE), las larvas de catán ya presentan el tracto digestivo con todas sus estructuras desarrolladas, incluyendo un estómago completamente funcional, con secreción de pepsina y producción de HCL. Esto viene a ser complementado con secreciones pancreáticas de enzimas y carbonatos así como

por enzimas intestinales (aminopeptidasas, fosfatasas alcalinas) que actúan a nivel de la bordura de cepillo, la cual es incrementada por la presencia de una válvula espiral en la parte posterior del intestino. Lo cual refleja una capacidad digestiva muy similar a la de los organismos adultos. De esta forma, las larvas de catán presentan un funcionamiento digestivo con un mayor grado de desarrollo que la mayoría de las larvas de peces al momento de iniciar la alimentación exógena y por lo tanto presentan mayores posibilidades de utilizar dietas artificiales.

Un periodo de nutrición lecitoxotrofica (5 a 8 DDE) permite que las larvas tengan una fase de adaptación al alimento exógeno en el cual no se perciben señales aparentes de inanición. Sin embargo, una vez que la larva depende por completo del alimento exógeno, la cantidad y calidad del alimento utilizado es determinante para su desarrollo y sobrevivencia, de esta manera el aprovechamiento del alimento y por ende la condición de las larvas puede ser evaluado por diversos indicadores los cuales van desde patrones de coloración, características morfométricas (e.g. longitud del hocico y altura preanal), características histológicas (e.g. altura de los enterocitos) o actividad de las enzimas digestivas.

Uno de los aspectos más remarcables es la velocidad de crecimiento encontrada para las larvas de catán la cual fue de 1.55 mm/día hasta los 10 DDE, incrementándose posteriormente a 5.06 mm/día, lo cual les permite alcanzar tallas de 70 cm durante el primer año, colocado al catán entre los peces de agua dulce con mayor velocidad de crecimiento en el mundo. Lo anterior, sin duda se encuentra relacionado con la capacidad digestiva de la especie.

Por otra parte, destaca la influencia del eje tiroidiano en la regulación del desarrollo larvario y la metamorfosis en el catán ya que este sistema al encontrarse bien establecido en las larvas, estimula la producción endógena de corticosteroides los cuales a su vez estimulan la maduración del aparato digestivo. De esta forma, se pudo observar que el periodo metamórfico se produce entre los 10 y 15 DDE, momento en

que las larvas completan su transformación. Este proceso podría ser regulado por medio de la administración exógena de hormonas, lo cual resulta de gran utilidad práctica, ya que dependiendo de los objetivos, esta puede ser acelerada para obtener crías con características de juveniles lo que las hace más aptas si la finalidad es la repoblación o bien, la transformación se puede retrasar con lo que el desarrollo del hocico es más lento permitiendo así mantener organismos en cultivo disminuyendo los problemas de canibalismo.

Así mismo, fue posible determinar que el aparato digestivo de las larvas tiene la capacidad para asimilar las dietas artificiales. De esta forma, el problema inmediato para desarrollar el cultivo larvario del catán se centra en promover la ingestión de las partículas de las dietas compuestas, lo cual puede ser resuelto considerando el comportamiento alimenticio de la especie, así como las diversas técnicas que existen para la producción alimentos artificiales. De aquí se deriva la necesidad de probar alimentos con diferentes características físicas en combinación con atractantes visuales y químicos que estimulen la ingestión de las partículas.

Una vez que haya sido superado este obstáculo, sería conveniente iniciar una fase de investigación encaminada a la determinación de los requerimientos nutricionales, así como la valoración de diferentes ingredientes susceptibles de ser utilizados en la elaboración de dietas para catán.

Actualmente uno de los problemas fundamentales en la producción de crías de catán se refiere al escaso número de reproductores que existen en cautiverio, así como a las restricciones sobre el control de su reproducción, con lo que se limita la zootecnia bajo condiciones ambientales naturales, lo que ha venido provocando que los desoves sólo se produzcan durante una semana en el año. Ante esta situación el Grupo Ecofisiología (FCB/UANL) ha venido abordando este problema mediante la investigación de una alternativa práctica basada en el aislamiento y purificación de la Vitelogenina plasmática y de la Lipovitelina ovárica, así como en la implementación de

un inmunoensayo para cuantificar los niveles de estas moléculas. Esta aproximación significa no sólo contar con un índice bioquímico confiable, rápido y poco invasivo (no hay necesidad de recurrir al sacrificio de los ejemplares) para estimar el grado de madurez sexual indispensable para la evaluación de las inducciones hormonales, sino también con un método de sexado preciso que resultaría particularmente útil para la preparación de un lote de reproductores.

7.1 PROPUESTAS PARA EL CULTIVO DEL CATAN

Manejo de reproductores: Tomando en cuenta que son muy escasos los ejemplares adultos de catán existentes, resulta imperativo constituir un lote de reproductores a partir de la captura eventual de juveniles silvestres. El manejo y zootecnia de este lote girará en torno a la manipulación de distintos parámetros fisicoquímicos y biológicos con miras a incrementar su capacidad reproductiva y al mismo tiempo permitiría disponer de organismos en cantidad suficiente para realizar diversos ensayos de inducción hormonal.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Considerando que la maduración gonadal esta regida por el sistema endócrino, la manipulación hormonal representa la vía más directa para el desarrollo de una reserva de crías. De esta forma, un protocolo de inducción hormonal adecuado, permitiría extender la temporada de reproducción del catán con el consecuente aumento en el número de crías. En la búsqueda de una estrategia simple rápida y eficaz para inducir y controlar la reproducción de los catanes en cautiverio, se ha considerado la inducción a la maduración sexual por medio de la aplicación de: extractos de pituitaria de catán y pejelagarto, extracto comercial de pituitaria de esturión considerando la escasa distancia filogenética de estas especies, Gonadotropina Coriónica Humana, en base a las posibilidades de éxito obtenidas en diferentes lepisosteidos, Factor Liberador de Gonadotropinas (GnRH) nativo y

Análogos Superactivos (LH-RH). La evaluación de los diferentes estímulos hormonales se llevará a cabo mediante el inmunoensayo establecido.

Fertilización artificial: La posibilidad de llevar a cabo la fertilización artificial no es de ninguna manera remota, ya que desde 1895 Dean describió la utilización del método seco para llevar a cabo la fertilización artificial de huevos de lepisosteidos y reporta haber realizado diversos ensayos de fertilización artificial, todos con éxito. De manera similar, Leon *et al.* (1978) realizaron la fertilización artificial del manjuarí (*A. trisioechus*) mediante el método seco.

Incubación de los huevos: Se ha reportado que los huevos de lepisosteidos aún secos y fuera del agua pueden ser eclosionados en laboratorio (Breder, y Rosen 1966). Por otra parte, Leon *et al.* (1978) realizaron la incubación de huevos de manjuarí en una canaleta de incubación para huevos de carpa.

Otra alternativa para la incubación de los huevos de catán, una vez realizada la fertilización artificial eliminando la sustancia adhesiva (con hialuronidasa), serían las charolas del tipo utilizado para la incubación de huevos de salmónidos. Estos dispositivos tienen la ventaja de formar estructuras verticales en las cuales están colocadas las charolas que presentan un flujo de agua ascendente y permite la distribución homogénea de los huevos, los cuales pueden ser revisados fácilmente para eliminar aquellos que no presenten un desarrollo normal. Al mismo tiempo en estos dispositivos se podría realizar el mantenimiento de las pre-larvas, regulando el flujo de agua para evitar fuertes turbulencias. Por otra parte, se puede adicionar una malla en la superficie para que las larvas se adhieran mediante el disco suctorial.

Inicio de la alimentación: Una vez que las larvas nadan libremente (5 DDE), estas podrán ser transferidas a canaletas anchas que permitan su adecuada distribución en la superficie. Esas canaletas deben tener una entrada de agua

constituida por una ligera cascada, mientras que la salida se puede realizar mediante un sifón en el fondo de la canaleta.

La alimentación inicial (5 al 8 DDE) puede consistir en nauplios de *Artemia* o una combinación de estos con alimento artificial, el cual deberá estar formado por partículas flotantes con 0.75 mm de diámetro en promedio, considerando el tamaño del hocico de las larvas en esta etapa. De los 8 a los 10 DDE preferentemente se debe realizar la sustitución completa de *Artemia* por alimento artificial con las mismas características que el anterior. Mientras que de 11 a 15 DDE las larvas deben estar bien acondicionadas a la dieta artificial que en este momento deberá tener un diámetro entre 1.0 y 1.5 mm.

Durante este periodo el crecimiento es muy acelerado, sobre todo después de 10 DDE, por lo cual constantemente se deberá reducir la densidad de larvas por área de superficie. Al mismo tiempo el suministro de alimento deberá ser constante y en raciones suficientes para aumentar el contacto entre la larva y el alimento, disminuyendo así las posibilidades de que se presente canibalismo. En efecto, en los diferentes experimentos se logró observar que cuando el alimento (e.g. nauplios de *Artemia*) se encuentra siempre presente en alta densidad, no se presentan problemas de canibalismo y la sobrevivencia puede ser mayor del 90 % hasta el 15 DDE. En esta edad los catanes pueden ser liberados o transferidos a estanques pequeños reduciendo nuevamente la densidad. A partir de este momento se debe realizar un seguimiento del crecimiento para adecuar el tamaño de las partículas suministradas, así como para evitar diferencias en las tallas, ya que entre 50 y 130 mm se presentan las mayores probabilidades de canibalismo, lo cual reduce drásticamente la población debido los organismos consumidos, así como por mortalidad de los catanes que no pueden tragar completamente la presa debido al tamaño. Una vez superada la talla de 130 mm, disminuye el canibalismo de manera natural y puede continuar el cultivo mediante el suministro de alimento artificial.

En el caso de no contar con una dieta artificial para sustituir los nauplios de *Artemia*, la opción más viable sería transferir las larvas de 10 DDE a estanques pequeños los cuales deben haber sido previamente sembrados con altas densidades de peces forrajeros vivíparos, cuyas hembras liberan sus crías por efecto del manejo para constituirse en la primera opción de alimento de las larvas de catán. De esta forma al 15 DDE los catanes pueden alcanzar una talla de 50 mm, pudiendo también consumir los adultos de los peces forrajeros. A partir de este momento, se puede realizar la liberación de las crías de catán en los ríos y embalses en donde se realiza su captura comercial o deportiva.

En el caso de contar con suficiente abasto de peces forrajeros, los catanes pueden alcanzar una talla de 130 mm a los 30 DDE. A partir de esta talla se ha observado que disminuyen las posibilidades de canibalismo entre ejemplares de la misma talla y las presas vivas pueden empezar a ser reemplazadas por alimentos frescos o preparados.

Considerando la elevada velocidad de crecimiento y la consecuente necesidad de un suministro continuo de alimento, así como la adecuación frecuente del tamaño de las partículas y la transferencia constante a diferentes unidades de cultivo. Se requiere de un intenso manejo principalmente del 5 al 30 DDE en el cultivo de crías de catán. De aquí que el éxito dependa de la forma en que se realizan las actividades durante este periodo.

Características de las dietas artificiales: Las dietas con mayor probabilidad de ser aceptadas por las larvas de catán necesariamente deben ser flotantes, siendo las dietas extruidas las más recomendables en este sentido. Por otra parte, estas deben atraer visualmente a las larvas, lo cual puede ser mediante la adición de color o movimiento. Igualmente resulta necesaria la adición de atrayentes puesto que una vez que la larva se encuentra cerca del alimento, esta puede permanecer cierto tiempo junto al alimento e inclusive tener contacto con el hocico sin que lo ingiera. Asimismo

resulta necesario considerar la consistencia y forma de las partículas ya que las larvas atrapan el alimento con el hocico y lo ingieren completo. Dentro de este contexto son preferibles aquellas dietas de consistencia blanda y de forma ovalada o alargada, ya que se ha observado particularmente cuando la presa es otro pez que este es invariablemente orientado para ser ingerido por la cabeza.

De esta forma, si la partícula no presenta las características necesarias el proceso de alimentación puede ser interrumpido en cualquiera de los puntos señalados (acercamiento, captura e ingestión). Estas características son particularmente importantes en las dietas para los primeros estadios, mientras que en el juvenil es más probable que acepten dietas con menor flotabilidad ya que tienden a dejar la superficie del agua y ocultarse entre la vegetación a media agua o en el fondo, pudiendo ingerir organismos muertos, por lo cual en este caso sería recomendable la utilización de dietas semi-húmedas con atrayentes químicos y considerar la inclusión de diferentes sub-productos agrícolas y animales.

Esta serie de trabajos encaminados a recuperar las poblaciones naturales del catán así como para evaluar sus posibilidades de cultivo se están llevando a cabo gracias al esfuerzo conjunto y participación de diversas instituciones (Dirección de Investigaciones Acuaculturales del Instituto Nacional de Pesca, Dirección General de Acuicultura, Centro Acuícola Tancol, Delegación de la SEMARNAP del estado de Tamaulipas, CRIP-Tampico, Asociación de Acuicultores de Tamaulipas, Universidad Juarez Autónoma de Tabasco, Universidad de Texas en Austin y Universidad de Victoria en Canadá).

LITERATURA CITADA

- Alarcon, F.J., 1997, *Procesos Digestivos en Peces Marinos: Caracterización y Aplicaciones Prácticas*. Tesis Doctoral, Universidad De Almeria, Departamento de Biología Aplicada, 293 pp.
- Alliot, E., A. Pastoureaud & J. Trelu, 1977, Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar (*Dicentrarchus labrax*) variations des proteinogrammes et des zymogrammes. Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4:85-91.
- Ameghino, F. (1898) Sinopsis geológico-paleontológica. Segundo censo de la República Argentina. Cap. I. Territorio, Tercera Parte, vol. 1. Buenos Aires.
- Anson, M.L., 1938, The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.*, 22:79-89.
- Appelbaum, S., 1985, Rearing of the dover sole, *Solea solea* (L), through its larval stages using artificial diets. *Aquaculture*, 49:209-221.
- Ayson, F. G. and Lam, T. J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma eggs and yolk-sac larvae and its effects on larval growth and survival. *Aquaculture*. 190: 83-93.
- Backhurst, J.R. and J.H. Harker, 1988, The settling rates of larval feeds. *Aquaculture Engineering*, 7:363-366.
- Baragi, V. & R.T. Lovell, 1986, Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larva development. *Transactions of the American Fisheries Soc.* 115:478-484.
- Beccaria, C., J.P. Diaz, R. Connes & B. Chatain, 1991, Organogenesis of the exocrine pancreas in the sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reared extensively and intensively. *Aquaculture*, 99:339-354.
- Bemfeld, P., 1955, Amylases (alpha) and (beta), in: *Methods in enzymology I*, Colowick, S., and Kaplan N., Eds. Academic Press, NY, 149.

- Boeuf, G., P. Prunet. 1985. Measurements of gill (Na⁺-K⁺) ATPase activity and plasma thyroid hormones during smoltification in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. 45:11-119.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Bromley, P.J., 1978, The weaning of hatchery reared turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) on a dry diet, *Aquaculture*, 13:339-345.
- Brown, C.L., C.V. Sullivan, H.A. Bern & W.W. Dickhoff, 1987, Occurrence of thyroid hormones in early developmental stages of teleost fish. *American Fisheries Society Symposium*, 2:144-150.
- Brown, C. L., Doroshov, S. I., Nuñez, J. M., Harley, C., Vaheenennaam, J., Nishioka, R. S. and Bern, H. A. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass *Morone saxatilis*. *The Journal of Experimental Zoology*. 248:168-176.
- Bucke, D., 1971, The anatomy and histology of the alimentary tract of the carnivorous fish the pike *Esox lucius* L., *Journal of Fish Biology*, 3:421-431.
- Buddington, R.K. & S.I. Doroshov, 1986, Development of digestive secretions in white sturgeon juveniles (*Acipenser trasmontanus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 83A(2):233-238.
- Buddington, R.K., 1985, Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development. *J. Fish Biol.*, 26:715-723.
- Buddington, R.K. And P. Chrstofferson, 1985, Digestive and feeding characteristics of the chondrosteans. In: *North american sturgeons: biology and aquaculture potential*, F.P. Binkowski and S.I. Doroshov, DR W. Junk Publishers, 31-41.
- Burns, T.A, D.T. Stalling & W. Goodger, 1981, Gar ichthyotoxin (*Lepisosteus* sp.): its effect on crayfish, with notes on bluegill sunfish. *Southwestern Naturalist*, 25(4): 513-515.
- Cahu, C.L. And J.L. Zambonino, 1997. Is the digestive capacity of marine fish larvae sufficient for compound diet feeding?. *Aquaculture International*, 5:151-160.

- Carlander, K. D. 1969 Handbook of freshwater fishery biology. Vol. 1. Iowa State University Press, Ames. 752 pp.
- Chavez-Lomeli, M.O., 1989, Biología de los peces del río San Pedro en vista de determinar su potencial para piscicultura. Instituto de Investigaciones sobre Recursos Bioticos y la Fundación Universitaria para la cooperación, Jalapa, Ver. 19-27.
- Clark J., K.R. Murray & J.R. Stark, 1986, Protease development in dover sole [*Solea solea* (L.)]. *Aquaculture*, 53:253-262.
- Crumpton, J. 1970. Food habits of longnose gar (*Lepisosteus osseus*) and Florida gar (*Lepisosteus platyrhincus*) collected from five Central Florida Lakes. *Florida Game and Freshwater Fish*. 419-424.
- Dabrowski K. and D. Culver, 1981, The fisiology of larval fish. *Aquaculture magazine*, pp. 49-61.
- Dabrowski, K. and Culver, D., 1991, The physiology of larval fish, digestive tract and formulation of starter diets. *Aquaculture Magazine* march/april: 49-61.
- Dabrowski, K., S.J. Kaushik & B. & B. Fauconneau, 1985, Rearing of sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) larvae I. Feeding Trial. *Aquaculture*, 47:185-192.
- Dabrowski, K.R., 1986, Ontogenical aspects of nutritional requerimientos in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 85A(4):639-655.
- Dabrowski, K., G. Krumschnabel, M. Pauku & J. Labanowski, 1992, Cyclic growth and activity of pancreatic enzymes in alevins of arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Jurnal of Fish Biology*, 40:511-521.
- Dabrowski, K., H. Dabrowska & C. Grudniewski, 1978, A study of the feeding of common carp larvae with artificial food. *Aquaculture*, 13:257-264.
- De Jesus, E.G., T. Hirano & Y. Inui, 1991, Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *General and Comparative Endocrinology*, 82:369-376.
- De Jesus, E. G. Hirano, T. and Inui, Y. 1993. Flounder metamorphosis: its regulation by various hormones. *Fish Physiology and Biochemistry*. 11 (1-6): 323-328.

- Dean, B., 1895, The early development of gar-pike and sturgeon. *J. Morphology*, 11(1):1-55.
- Degani, G. 1989. The effect of 3,3',5-Triiodo-L-Thyronine on oxygen consumption, body protein, lipid content, fatty acid composition, and aldolase activity of the european eel *Anguilla anguilla*. *Aquaculture-A Biotechnology in Progress*. N. de Pauw, E. Jaspers, H.Ackefors, N. Wilkins (Eds). European Aquaculture Society, Bredence, Belgium.
- Dettlaff, T.A., A.S. Ginsburg and O.I. Schmalhausen, 1993, Development of prelarvae. In: *Sturgeon fishes, developmental biology and aquaculture*, Springer-Verlag Ed., 155-221.
- Devresse, B., P. Candreva Ph. Leger and P. Sorgeloos, 1991, A new artificial diet for the early weaning of seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. In: *Larvi 91 - Fish and crustacean larviculture symposium*, European Aquaculture Society, Special Publication, 15:178-182.
- Dugas, C.N., M. Konikoff & M.F. Trahan, 1976, Stomach Contents of Bowfin (*Amia Calva*) and Spotted Gar (*Lepisosteus Oculatus*) Taken in Henderson Lake, Louisiana. *Louisiana Academy of Sciences*, 39:28-34.
- Duray, M. & T. Bagarinao, 1984, Weaning of hatchery-bred milkfish larvae from live food to artificial diets. *Aquaculture*, 325-332.
- Eales, J. G. 1990. Thyroid function in poikilotherms. *Progress in Comparative Endocrinology*. 415-420.
- Echelle, A.A. & C.D. Riggs, 1972, Aspects of the early life history of gars (*Lepisosteus*) in Lake Taxoma. *Trans. Amer. Fish Soc.* 101:106-112.
- Erlanger, F.E., N. Kokowsky and W. Cohen, 1961, The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of biochemistry and Biohysics*, 95:271-278.
- Ferraris, R.P., J.D. Tan & M.C De La Cruz, 1987, Development of digestive tract of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): histology and histochemistry. *Aquaculture*, 61:241-257.

- Fuchs & G. Nedelec, 1989, Larvae rearing and weaning of seabass, *Lates calcarifer* (Block), on experimental compounded diets. *Advances in Tropical Aquaculture, Actes de Colloque* 9 pp. 677-697.
- Galgani, F. And F. Nagayama, 1986, Characteristic of digestive proteolysis of crabs *Portunus trberculatus*, *Portunus sanguinolentus* and *Charybdis japonica*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52(12): 2183-2188.
- Garcia-Carreño, F.L., L.E. Dimes & N.F. Haard, 1993, Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. *Analytical Biochemistry*, 214:65-69.
- Garcia-Carreño, F.L., 1993, Protease inhibition in theory and practice. *Biotechnology Education*, 24:150-153.
- Garcia, J., G. Marquez y S. Paramo, 1997, Utilización de alimento fresco y artificial en la sustitución de alimento vivo para la cría de larvas y postlarvas del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. In: *Memorias de la semana de divulgación y video científico 1997, Secretaría de servicios académicos Universidad Juarez Autonoma de Tabasco*, pp. 61-64.
- Gawlicka, A., S.J. The, S.S. Hung, D.E. Hinton and J.de la Noüe, 1995, Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. *Fish Physiology and Biochemistry* 14 (5): 357-371.
- Gayet, M. and P. M. Brito, 1989, Ichthyofaune nouvelle du Crétacé supérieur du groupe Bauru (États de Sao Paulo et Minas Gerais, Brésil). *Géobios – Paléontol., Stratigr., Paléoécol.* 22:841-847.
- Gershanovich A.D., 1991, Lipid mobilization during early development of sturgeons. *Ed. Acipenser, Cemagref Publ.* pp. 41-51.
- Gilbert, C. R., 1992, Alligator Gar, *Atractosteus spatula*. Pp. 129-133 in: *Rare and endangered biota of Florida. Vol. 2. Fishes*, C. R. Gilbert, (ed.), University Presses of Florida, Gainesville, 247 pp.
- Gildberg, A., 1988, Aspartic proteinases in fishes and aquatic invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 91B(3):425-435.

- Gisbert, E., A. Rodriguez, F. Costelló-Orvay and P. Williot, 1998, A histological study of the development of the digestive tract of siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early ontogeny. *Aquaculture*, 167: 195-209.
- Glass, H.J., N.L MacDonal, R.M. Moran & J.R. Stark, 1989, Digestion of protein in different marine species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 94B(3):607-611.
- Goodyear, C. P., 1966, Distribution of Gars on the Mississippi Coast. *Mississippi Academy of Sciences* 12: 188-192.
- Goodyear, C.P., 1967, Feeding habits of three species of gars *Lepisosteus* along the Mississippi Gulf Coast. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 96:296-300.
- Govoni, J.J., W. George & Y. Watanabe, 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes*, 16, 1-3:59-77.
- Greenblatt, M., Brown, C. L., Lee, M., Dauder, S., and Bem, H. A. 1989. Changes in thyroid hormone levels in eggs and larvae and in iodide uptake by eggs of coho and chinook salmon, *Oncorhynchus kisutch* and *O. tshawytscha*. *Fish Physiology and Biochemistry*: 6(5): 261-278.
- Greshanovich, A.D., 1991, Lipid mobilization during early development of sturgeons. In: *Acipenser*, P. Williot Ed., Cemagrez Pub., 41-51.
- Grizzle, J.M. And M.R. Curd, 1978, Posthatching histological development of the digestive system and swim bladder of logperch, *Percina caprodes*. *Copeia*, 3: 448-455.
- Gunter, G., 1945, Studies on marine fishes of Texas. *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Tex.* 1(1):1-190.
- Higgs, D. A, Fagerlund, U. H. M., Eales, J. G and J. R. McBride. 1982. Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B:143-176.
- Hilton, J. W., E. M. Plisestkaya and J. F. Leatherland. 1987. Does oral 3,5,3'-Triiodo-L-Thyronine affect dietary glucose utilization and plasma insulin levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 4: 3: 113-120.
- Himick, B. A., Higgs, D. A. and Eales, J. G. 1991. The acute effects of alteration in the dietary concentrations of carbohydrate, protein and lipid on plasma T4, T3 and

- glucose levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*. 82:451-458.
- Hofer, R. & F. Schiemer, 1981, Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. *Oecologia*, 48:342-345.
- Hofer, R., 1982. Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid. *Comp. Biochem, Physiol.*, 72A(1):55-63.
- Hofer, R. and F. Schimer, 1981, Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. *Oecologia*, 48:342-345.
- Hollander, C.S. And L. Shenkman, 1974, Thyroxine and triiodothyronine. In *Methods of hormone radioimmunoassay*, Jaffe and Behrman Ed., Academic Press, pp. 215-230.
- Holloway, A.D., 1954, Notes on the Life History and Management of the Shortnose and Longnose Gars in Florida Waters. *Journal of Wildlife Management*, 18, 4:438-449.
- Holloway, A. D. 1954. Notes on the life history and management of the short nose and longnose gars in Florida waters. *J. Wildlife Management*. 18 (4): 438-449.
- Holt, G.J., 1990, Growth and development of red drum eggs and larvae. In: *Red drum aquaculture*. pp. 46-50. Texas A&M Sea Grant College Program No. TAMU-SG-90-603.
- Hopkins, S. H., 1954, The American species of trematode confused with *Bucephalus* (*Bucephalopsis*) *haimeanus*. *Parasitology* 44:353-370.
- Huang, L., S. Miwa, D. A. Bengtson and J. L. Specker. 1988. Effect of Triiodothyronine on stomach formation and pigmentation in larval striped bass (*Morone saxatilis*). *J. Exp. Zool.* 280: 231-237.
- Hummel, B. C. W. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 1393-1399.
- Inui, Y. & S. Miwa, 1985, Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology*. 60:450-454.
- Inui, Y., M. Tagawa, S. Miwa & T. Hirano, 1989, Effects of bovine TSH on the tissue thyroxine level and metamorphosis in prometamorphic flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology*, 74:406-410.

- Inui, Y., M. Tagawa, S. Miwa and T. Hirano, 1989, Effects of bovine TSH on the tissue thyroxine level and metamorphosis in prometamorphic flounder larvae. *General and Compaarative Endocrinology*, 74:406-410.
- Inui, Y. and Miwa, S. 1985. Thyroid hormone induce metamorphosis of flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology*: 60:450-454.
- Jany, K.D., 1976. Studies on the digestive enzymes of the stomachless bonefish *Carassius auratus gibelio* (Bloch): endopeptidases. *Comp.Biochem. Physiol.*, 53B: 31-38.
- Kaji, T., M. Tanaka, Y. Takahashi, M. Oka & N. Ishibashi, 1996, Preliminary observations on development of pacific bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Scombridae) larvae reared in the laboratory, with special reference to the digestive system. *Mar Freshwater Res.*, 4:261-269.
- Kikuyama, S., K. Niki, M. Mayumi, R. Shibayama, R. Nishikawa and N. Shintake, 1983. Studies on corticoid action on the toad tadpole tail in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* 52:395-399.
- Kinkelin, G. F. (1903) Die Originale der paläontologischen Sammlung im Senckenbergischen Museum und die auf dieselben bezungliche Literatur. *Ber Senckenberg. Naturforsch. Ges.*, 3-88.
- Kobuke, L. Specker, J. and Berni, H. A. 1987. Thyroxine content of eggs and larvae of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *The Journal of Experimental Zoology.* 248:168-176.
- Kolkovski, S., A. Tandler, G. W. Kissil & A. Gertler, 1993, The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 12(3):203-209.
- Kumar, V. y Chase, H.P. 1971. Undernutrition and intestinal dipeptide hydrolase activity in rat. *J. Nutr.*, 101: 1509-1514.
- Kumegawa, M., Takuma, T., Hosoda, S., Kunii, S. and Kanda, Y. 1978. Precocious induction of pepsinogen in the stomach of suckling mice by hormones. *Biochemica et Biophysica*: 543:243-250.

- Kuperman, B.I. & V.V. Kuz'mina, 1994, The ultrastructure of the intestinal epithelium in fishes with different types of feeding. *Journal of Fish Biolgy*, 44:181-193.
- Kurokawa, T. And T. Suzuki, 1996, Formation of the diffuse pancreas and the development of digestive enzyme synthesis in larvae of the japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 141:267-276.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680–685.
- Lam, T.J., 1980, Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus* Ruppell. *Aquaculture*, 21:287-291.
- Lam, T.J. 1980. Tyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus* Ruppell. *Acuaculture*: 21:287-291.
- Lauff M. & R. Hofer, 1984, Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*, 37: 335-346.
- Lazo, J.P., 1999, Development of the digestive system in red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. Ph.D. Dissertation, The University of Texas at Austin, 212 pp.
- Leatherland, J. F., Lin, L., Down, N. E. and Donalson, E. M. 1989. Thyroid hormone content of eggs and early developmental stages of three stocks of goitred coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) from the Great lakes of North America and a comparison with a stock from British Columbia. *Can. J. Aquat. Fish. Sci.* 46:2146-2152.
- Leon, L., R. Aguiar & Hernandez, 1978, Estudio sobre la biología y el cultivo artificial del manjuari (*Atractosteus tristoechus*) Bloch y Scneider. Ministerio de la Industria Pesquera, Dirección Ramal de Acuicultura, Investigación No. 85, Cuba.
- Lovshin, L.L. & J.H. Rushing, 1989, Acceptance by largemouth bass fingerlings of pelleted feeds with a gustatory additive. *The Progressive Fish-Culturist*, 51:73-78.
- Luna, L.G., 1968, *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. Ed. Mac Graw-Hill.
- Luo, D. and Mckeown, B. A. 1990. The effect of thyroid hormone and glucocorticoids on carp growth hormone-releasing factor (GRF)-induced growth hormone (GH) release in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* 99A (4): 621-626.

- Maclatchy, D. L. and Eales, J. G. 1990. Growth hormone stimulates hepatic thyroxine 5'-monodesiodinase activity and 3,5,3'-triiodothyroxine levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *General and Comparative Endocrinology*. 78:164-172.
- Marquez, H., 1998, Efectos de la temperatura en el desarrollo de embriones y el crecimiento de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* bajo condiciones de cultivo. Tesis de Licenciatura Inedita, Universidad Juarez Autonoma de Tabasco, División Academica de Ciencias Biologicas. pp. 43.
- May, E.B. & A. Echelle, 1968, Young-of-year alligator gar in Lake Texoma, Oklahoma. *Copeia*, 3:629-630.
- McFadzen, I.R., D.M. Lowe and S.H. Coombs, 1994, Histological changes in starved turbot larvae (*schopthalmus maximus*) quantified by digital image analysis. *Journal of Fish Biology*, 44:255-262.
- Mendoza, R., 1993, Metodos para evaluar la digestibilidad proteica de los alimentos destinados a los organismos acuaticos. In: *Memorias del primer simposium internacional de nutricion y tecnología de alimentos para acuacultura*, L.E. Cruz, D. Ricque y R. Mendoza Edit., Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Mexico. pp. 155-202.
- Mendoza, R., 1996, Utilización de métodos inmunologicos en el estudio de la nutrición de los organismos acuáticos. In: *Memorias del segundo simposium internacional de nutrición acuicola*, R. Mendoza, L.E. Cruz y D. Ricque Edit., Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Mexico. pp. 129-156.
- Miwa, S., M. Tagawa, Y. Inui & T. Hirano, 1988, Thyroxine surge in Metamorphosing flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology*, 70:158-163.
- Miwa, S. and Inui, Y. 1987. Effects of various doses of tyroxine and triiodothyronine on the metamorphosis of flounder (*Paralichthys olivaceus*). *General and Compartive Endocrinology*. 67: 356-363.
- Moore, G., M. Trautman and M. Curd, 1973, Description of postlarval gar (*Lepisosteus spatula* Lacepede, Lepisosteidae), with a list of associated species from the Red River, Choctaw County, Oklahoma. *The Southwest Naturalist*, 18(3):343-344.

- Morales, G., 1987, Reproducción y desarrollo embriológico del catán (*Lepisosteus spatula* Lacepede): Primeros resultados. SEPES. Dir. Gral. Acuicultura.
- Moyano, F.J., M. Diaz, F.J. Alarcon & M.C. sarasquete, 1996, Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, vol. 15, no.2, pp.121-130.
- Munilla Moran, R., F. Saborido Rey, Digestive enzymes in marine species I. Proteinase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 113B(2): 395-402.
- Munilla, R. & R. Stark. 1989. Protein digestion in early turbot larvae *Scophthalmus maximus* (L.) *Aquaculture*, 81. 315-327.
- Netch, N.F. & A. Witt, 1962, Contributions to life history of the longnose (*Lepisosteus osseus*) in Missouri. Missouri Wildlife Research Unit:U.S. Fish and Service, 251-262.
- Netsch, N.F., 1964, Food and feeding habits of longnose gar in central Missouri. In: The 18th Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners, Florida, pp. 506-511.
- O'Connell, C.P., 1976, Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard. *Jo. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 25: 285-312.
-
- Oozeki, Y., T. Ishii and R. Hirano, 1989, Histological study of the effects of starvation on reared and wild-caught larval stone flounder, *Kareius bicoloratus*. *Marine Biology*, 100:269-275.
- Ostos, M.V., M.I. Niñez and M.A. Abaurrea, 1993, Histological, histochemical and ultrastructural analysis of the gastric mucosa in *Onchorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 115:121-132.
- Ozkizilcik, S., F.E. Chu and A.R. Place, 1996, Ontogenetic changes of lipolytic enzymes in striped bass (*Morone saxatilis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 113B(3):631-637.
- Pascaul, R., 1970, Evolution de comunicades, cambios faunísticos y intergraciones biocinólicas de Argentina. *Actas IV Congreso Latinoamericano de Zoología*, Vol. II. Caracas 10-16 de Noviembre de 1968. 991-1088.

- Pearson, W.D., G.A. Thomas & A.L. Clark, 1979, Early piscivory and timing of the critical period in postlarval longnose Gar at Mile 571 of the Ohio River. *Trans. Kentucky Academy of Science*, 40, 3-4:122-128.
- Peres A., C.L. Cahu, J.L. Zambonino, M.M. LE Gall & P. Quazuguel, 1996, Amylase and trypsin responses to intake of dietary carbohydrate and protein depend on developmental stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* vol. 15, no. 3, pp. 237-242.
- Perez-Sanchez, E., 1995, Efecto de la gonadotropina corionica humana (GCH) en la maduración gonádica del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) Gill 1823 en condiciones de laboratorio. Tesis de licenciatura Inedita, Universidad Juarez Autonoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas, 28 pp.
- Person-Le Ruyet J., 1989, Early weaning of marine fish larvae onto microdiets. constraints and perspectives. *Advances in tropical Aquaculture Aquacop. IFREMER Actes colloque 9*, pp. 625-642.
- Pouyet, J. C., J. Hourdry and J. Mesnard. 1983. A histological and dynamic study of the gastric region of *Discoglossus pictus* larvae, cultured with or without thyroxine. *J. Exp. Zool.* 225: 423-431.
- Raney, E. C., 1942, Alligator gar feeds upon birds in Texas. *Copeia* (1):50.
- Reddy, P.K. & T.J. Lam, 1991, Effect of thyroid hormones on hatching in the Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology*, 81:484-491.
- Reifel C.W. & A.A. Travill, 1979, Structure and carbohydrate histochemistry of the intestine of ten teleostean species. *Morphology*, 162:343-360.
- Reséndez, A. Y M.L. Salvadores, 1983, Contribución al conocimiento de la biología del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* (Gill) y la tenguayaca *Petenia splendida* Günther, del Estado de Tabasco. *Biotica*, 8(4): 413-426.
- Robins, C. R., R. M. Bailey, C. E. Bond, J. R. Brooker, E. A. Lachner, R. N. Lea, and W. B. Scott, 1991, Common and scientific names of fishes from the United States and Canada. 5th ed. Am. Fish. Soc. Spec. Publ. 20. 183 pp.
- Robison, H. W., and T. M. Buchanan, 1988, *Fishes of Arkansas*. University of Arkansas Press, Fayetteville. 536 pp.

- Rodriguez De La Cruz, M.C., Palacios-Fest, M.R., Cruz-Santabalbina, R. Y dias, 1994, Atlas pesquero de México, SEPES. INP.
- Rosas, M., 1976, Peces dulceacuicolas que se explotan en México y datos sobre su biología. INP/Subsecretaria de Pesca.
- Rosch, R. & S. Appelbaum, 1985, Experiments on the suitability of dry food for larvae of *Coregonus lavaretus* L. *Aquaculture*, 48:291-302.
- Santos, R. d. S. (1984) *Lepisosteus cominatoi* n. sp., da formação Bauru, Estado de São Paulo, Brasil. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 56:197-202.
- Sarasquete, M.C., A. Polo & M. Yufera, 1995, Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 130:79-92.
- Segner, H., R. Rosch, J. Verreth & U Witt, 1991, Analysis of the nutritional condition of fish larvae: studies with *Clarias gariepinus*, *Coreogonus lavaretus* and *Scophthalmus maximus*. European Aquaculture Society, Special Publication, 15:11-12.
- Segner, H., V. Stroh, M. Reinecke, W. Kloas & W. Hanke, 1994, The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. *Marine Biology*, 119:471-486.
- Segner, H., R. Rosch, H. Schmidt & K.J. Poeppinghausen, 1989, Digestive enzymes in larval *Coreogonus lavaretus* L. *J. Fish Biol.*, 35:249-263.
- Seidennsticker, E.P., 1987. Food Selection of Alligator Gar and Longnose Gar in a Texas Reservoir. *Proc. Annu. Conf. SEAFWA*, pp. 101-104.
- Simon, T. & R. Wallus, 1989, Contributions to the early life histories of gar (Actynopterygii: Lepisosteidae) in the Ohio and Tennessee river basins with emphasis on larval development. *Trans. Ky. Acad.Sci.*50(1-2):59-74.
- Simon, T.P. & E.J. Tyberghein, 1991, Contributions to the early life history of the spotted gar, *Lepisosteus oculatus* Winchell, from the Hatchet Creek, Alabama. *Trans. Kentucky Academy of Science*, 52, 3-4:124-131.
- Steel, R. & Torrie, 1980, Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. McGraw-Hill, New York, 633 pp.
- Stroband, H.W.J., 1977, Growth and diet dependant structural adaptations of the digestive tract in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*, Val.). *J. Fish Biol.* 11:167-174.
- Stroband, H.W. And K.R. Dabrowski, 1979, Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in fres-water fish larvae. In: *Nutrition des Poissons*, M. Fontaine Ed., Paris, 335-374.

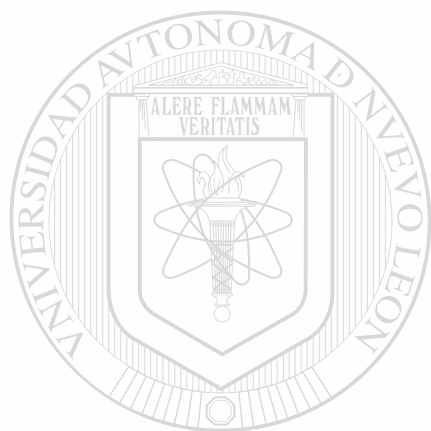
- Sullivan, C. V., Iwamoto, R. N. and Dickhoff, W. W. 1987. Thyroid hormones in blood plasma of developing salmon embryos. *General and Comparative Endocrinology*. 65: 337-345.
- Sullivan, C. V., Bernard, M. G., Hara, A. and Dickhoff, W. W. 1989. Thyroid hormones in trout reproduction: Enhancement of gonadotropin- releasing hormone analogue and partially purified salmon gonadotropin induced ovarian maturation *In vivo* and *In vitro*. *The Journal of Experimental Zoology*. 250:188-195.
- Suttkus, R.D., 1963, Order Lepisosteii, in: *Fishes of the Western North Atlantic*. Mem. Sears Found. Mar. Res., 1(3):61-68.
- Tagawa, M., Tanaka, M., Matsumoto, S. and Hirano, T. 1990. Thyroid hormones in eggs of various freshwater, marine and diadromus teleosts and their changes during egg development. *Fish Physiology and Biochemistry*. 8(6): 515-520.
- Tagawa, M. and Hirano, T. 1991. Effects of thyroid deficiency in eggs on early development of the medaka, *Oryzias latipes*. *The Journal of Experimental Zoology*. 257:36-366.
- Takagi, Y., Hirano, J. Tanabe, H and Yamada, J. 1994. Stimulation of skeletal growth by thyroid hormone administrations in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *The Journal of Experimental Zoology*. 268: 229-238.
- Tanaka, M., 1969a, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae I. Development of the digestive system during prelarval stage. *Japanese Journal of Ichthyology*, 16, 1:1-8.
- Tanaka, M., 1969b, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae II. Characteristic of the digestive system in larvae at the stage of first. *Japanese Journal of Ichthyology*, 16, 2:41-49.
- Tanaka, M., 1971, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae III. Development of the digestive system during postlarval stage. *Japanese Journal of Ichthyology*, 18, 4:164-173.
- Tanaka, M., 1972a, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae IV. Changes in the epithelium related to fat absorption in the

- anteromedian part of the intestine after feeding. *Japanese Journal of Ichthyology*, 19, 1:15-25.
- Tanaka, M., 1972b, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae V. Epithelial changes in the posterior gut and protein ingestion. *Japanese Journal of Ichthyology*, 19, 3:172-180.
- Tandler, A. & S. Kolkovski, 1991, Rates of ingestion and digestibility as limiting factors in the successful use of microdiets in *Sparus aurata* larval rearing. *European Aquaculture Society, Special Publication*, 15:169-171.
- Theilacker, G.H., 1978, Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. *Fishery Bulletin*, 76(2):403-414.
- Theilacker, G.H., 1986, Starvation-induced mortality of young sea-caught jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, determined with histological and morphological methods. *Fishery Bulletin*, 84(1):1-17.
- Theilacker, G.H. & S.M. Porter, 1994, Condition of larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the western Gulf of Alaska assessed with histological and shirkage indices. *Fishery Bulletin*, 93(2):333-344.
- Theilacker, G.H. & Y. Watanabe, 1989, Midguth cell hegith defines nutritional status of laboratory raised larval northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fishery Bulletin*, 87(3):457-469.
- Theilacker, G.H., 1987, Feeding ecology and growth energetics of larval northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fishery Bulletin*, 85, 2:213-228.
- Toole, J.E., 1971, Food Study of the Bowfin and Gars in Eastern Texas. *Texas Parks and Wildlife Department, Technical Series*, 6:1-15.
- Ueberschar, B.F., 1985, Experiments on the development of proteolytic enzyme activity in turbot larvae (*Scophthalmus maximus*). *International Council for the Exploration of the Sea*.
- Verreth, J., and T. Van Tongeren, 1989, Weaning time in *Clarias gariepinus* (Burchell) larvae. *Aquaculture*, 83: 81-88.

- Verreth, J.A., E. Torreele, E. Spazier and V. Sluiszen, 1992, The development of a functional system in the african catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). Journal of the World Aquaculture Society, 23(4): 286-298.
- Vonk H.J. & J.R. Western, 1984. Comparative Biochemistry and Physiology of enzymatic digestion. Academic Press, Cap. 5 y 11, London .
- Vu., T.T., 1983, Etude histoenzymologique des activites proteasiques dans le tube digestif des larves et des adultes de bar, *Dicentrarchus labrax* (L). Aquaculture, 32:57-69.
- Walford, J. & T.J. Lam, 1993, Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. Aquaculture, 109:187-205.
- Wardle, W. J. (1990) Experimental Verification of the Metacercarial Stage of *Rhipidocotyle lepisostei* (Trematoda: Bucephalidae) with Notes on the Natural Occurrence of Its Adult Stage in Gars in Texas and Virginia. J. Parasitol. 76(2):293-295.
- Watanabe, Y., 1984, Morphological and functional changes in rectal epithelium cells of pond smelt during postembryonic development. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 50(5): 805-814.
- Weber, K. y Osborn, M. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem., 244: 4406-4412.
- Wiley, E. O., 1976, The phylogeny and biogeography of fossil and recent gars (Actinopterygii: Lepisosteidae). Misc. Publ. Univ. Kans. Mus. Nat. Hist. 64:1-111.
- Wiley, E. O., 1978, *Atractosteus spatula* (Lacepede, 1803). In: W. Fischer (ed.), FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Central Atlantic (fishery area 31). Vol III. Rome, Italy.
- Yamano, K., S. Miwa, T. Obinata & Y. Inui, 1991, Thyroid hormone regulates developmental changes in muscle during flounder metamorphosis. General and Comparative Endocrinology, 81:464-472.
- Yeager, B.L. & R.T. Bryant, 1983, Larvae of the Longnose Gar, *Lepisosteus Osseus*, From The Little River in Tennessee. Journal of The Tennessee Academic Of Science, 58, 1-2:20-22

Zambonino Infante, J.L. & C. Cahu, 1994, Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochem.*, 12(5):399-408.

Zitzow, R.E. & J.L. Millard, 1988, Survival and growth of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) larvae fed only formulated diets. *Aquaculture*, 69:105-113.

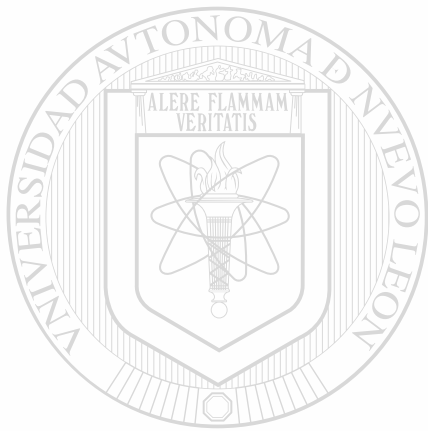


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



