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 (Simon & 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 restringiendose 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 qùe 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 tiroidianas 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 capitulo 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 prevalecía 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 pneumático, 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 posterior 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 linea 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 adamantimus, 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. occulatus* (spottet gar) y *L. platyrhinchus* (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. occulatus, L. platyrhinchus* 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 BIOLOGIA

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 lineas filogéneticas 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 Mississipi 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 las 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 lipisosteidos.

Proporción sexual: Los lepisosteidos presentan un comportamiento poco gregario, sin embargo durante la temporada de reproducción se les puede encontrar comunmente 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-Lomeli, 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, pudiendose apreciar nubes de esperma 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 dia siguiente.

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 repercución 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 un 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 esta relacionada a su vez con la abundancia de alimento (Norris y Jones, 1987, citado por Perez-Sanchez, op cit).

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-Lomelí *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 manjuarí (*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. oculatus* 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 estadío 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-Lomelí *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.

Los lepisosteidos comúnmente son considerados como un estorbo y como detrimentales 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 (Crumpton, 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, Crumpton (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 trematodo 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-Lomelí *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 trematodo, *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 estadío 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 manjuarí es *Laemea*, 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 catán *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.htlm) 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 macroochirus* y una carpa de rio (*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-grisaceos 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 esta 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.

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 acuacultura 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 aqui 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 al 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 estadíos no han sido detalladas (Marquez, 1998). Las larvas de *A. spatula* únicamente han sido caracterizadas por la presencia de una linea 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 estadíos 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 un descripción mas 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 estadíos 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, seria 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 Río Playa, Comalcalco, Tabasco. Los huevos fueron trasladados al Laboratorio de Acuacultura 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 liquido 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 caracteristicas 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 estadíos 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 caracteristicas que pudieran ser utilizadas para evaluar la condición nutricional de las larvas.

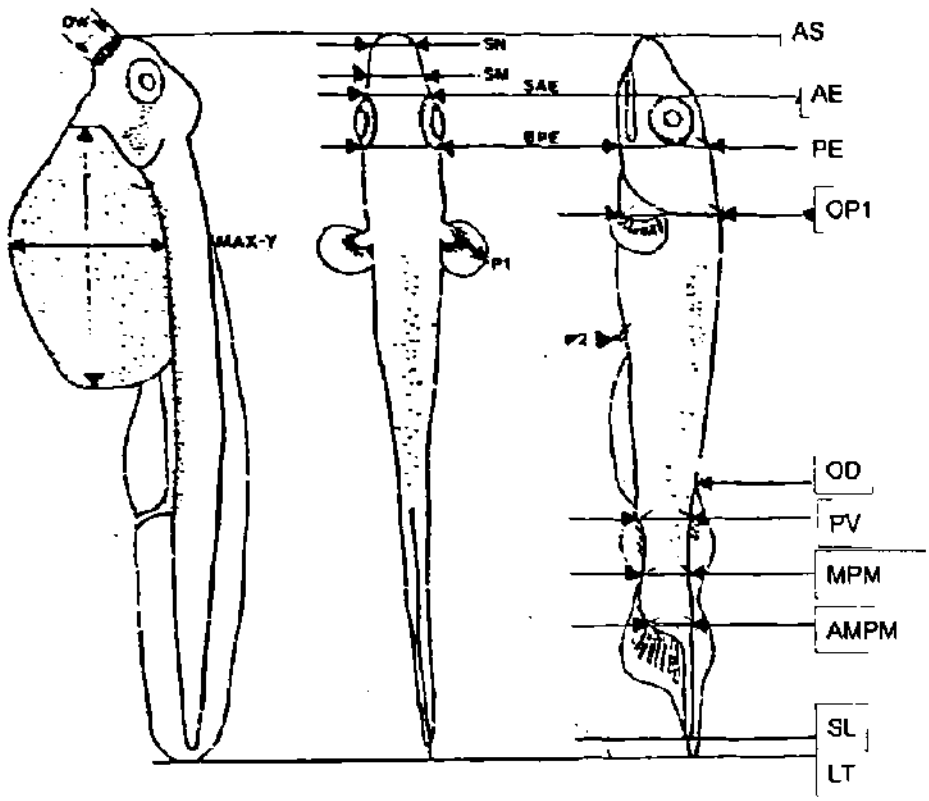

Figura 2.1 Características morfométricas utilizadas para larvas de lepisosteidos (Simon y Wallus, 1989). Longitud total (AS - LT); longitud del hocico (AS - AE); diametro ocular (AE - PE); longitud cefalica (AS - OP1); longitud predorsal (AS - OD); longitud estándar (AS - SL); longitud del saco vitelino (MAX-Y); longitud aleta pectoral (P1); longitud aleta pelvica (P2); altura cefalica 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 cefalico (BPE); ancho del disco (DW).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 CARACTERISTICAS 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±1°C, lo que propició que la eclosión de las larvas iniciara a partir de las 48 horas.

Morfología: Los estadíos 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 estadío (Tabla 2.1).

	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 = 6)	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 Cefalica (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 Cefalica 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 Cefalico	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.

Estadío I: Las larvas recién eclocionadas presentaron una longitud de 6.6 a 8.8 mm y pesaron de 11.4 a 12.8 mg. En las larvas de este estadío 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).

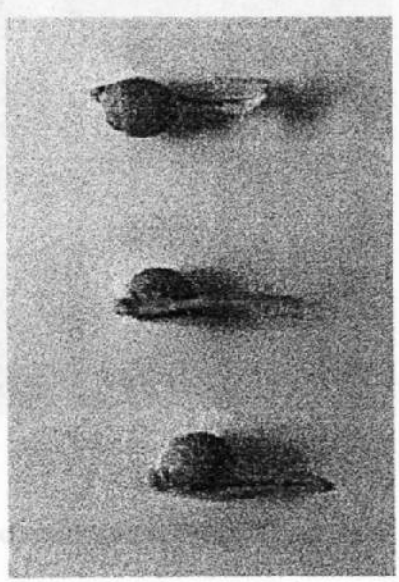

Figura 2.2.- Larvas de catán de 7.3 mm de longitud total (LT), recién eclosionadas.

Estadío 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).

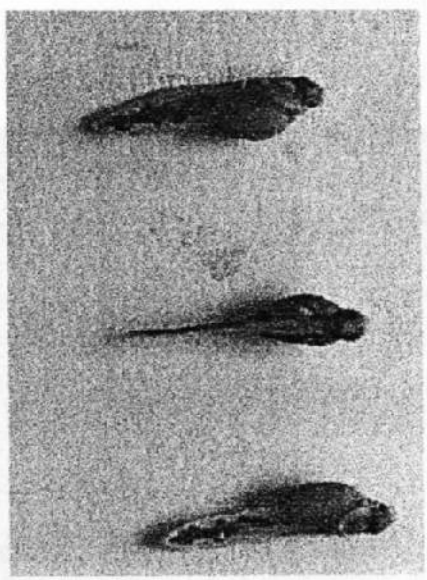

Figura 2.3.- Larva de catán de 11.6 mm LT (3 DDE).

Estadío 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).

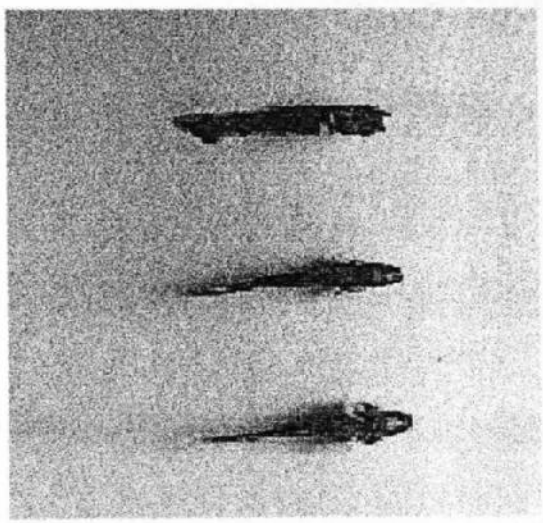

Figura 2.4.- Larvas de catán de 17.7 mm LT (5 DDE).

Estadío 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).

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

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

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

Estadío 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).

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

Como se mencionó anteriormente, el criterio para la separación entre los intervalos de longitud esta 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 estadíos del desarrollo larval. No obstante, al ser sometidas las variables morfométricas a un Análisis Discriminante por el método Stepwise, se observa que los seis estadíos utilizados pueden ser distinguidos mediante estas variables y que el 100 % de los casos fue agrupado correctamente en el estadío 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

Step	Action Entered	Vars Removed in	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	Tolerance	Minimum 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 estadíos seleccionados para larvas de catán.

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

Cuando la larva tiene de 9.2 mm a 13.5 mm (Estadío 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 lineas negras en los costados son más marcadas y más anchas con otra proyección que simula también la aleta dorsal (Figura 2.3).

En el Estadío 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 obscuros, 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 Estadío 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 Estadío 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 linea en la parte dorsal del hocico, la cual tiende a extenderse hasta la aleta dorsal (Figura 2.6). Esta linea dorsal es más claramente distinguible y brillante durante el Estadío VI. Por otra parte, aparecen áreas claras en las aletas impares, la parte ventral es clara y la dorsal gris (Figura 2.7). La linea 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, produciendose la mayor mortalidad entre los días 13 y 15 sin llegar a sobrevivir más allá de éste día.

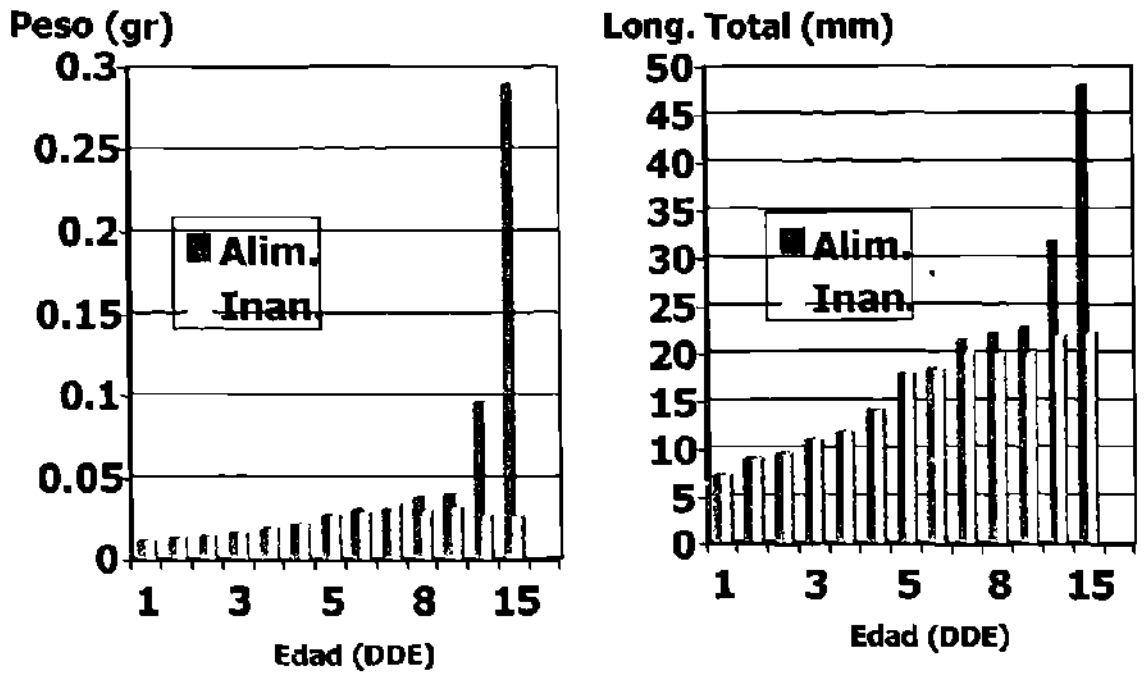

Figura 2.8. Crecimiento de larvas de *Atractosteus spatula* a partir de la eclosión, alimentadas y en inanición.

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 ($\bar{X}$ = 19.95 ± 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 Estadío 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	Action Entered	Vars Removed	in	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	Tolerance	Minimum 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
OPL	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.

2.3.2 CARACTERISTICAS 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)**
Estadío	I	II	III	IV	V	VI
Caracteristica	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 Viteiino	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 Cefalico	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.

Estadío 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.

Estadío 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.

Estadío 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.

Estadío 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.

Estadío 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.

Estadío 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 estadíos utilizados pueden ser distinguidos mediante estas variables y que un 91.4 % de los casos fueron agrupados correctamente en el estadío designado. Por otra parte, las características que tienen mayor peso para diferenciar los estadíos 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	OP1	9	.00033	.0000	LONG CEFALICA

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

Variable	Tolerance	Minimum 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
OP1	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 (Estadío 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 Estadío II la pigmentación de la parte dorsal del cuerpo se obscurece 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 Estadío 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 Estadío 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 Estadío V la coloración negra de los costados se reduce y se aclara hasta quedar como una linea café que inicia desde el hocico, pasando por la mitad de los ojos y extendiéndose hasta la aleta caudal. Para el Estadío 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 linea amarilla y otra café.

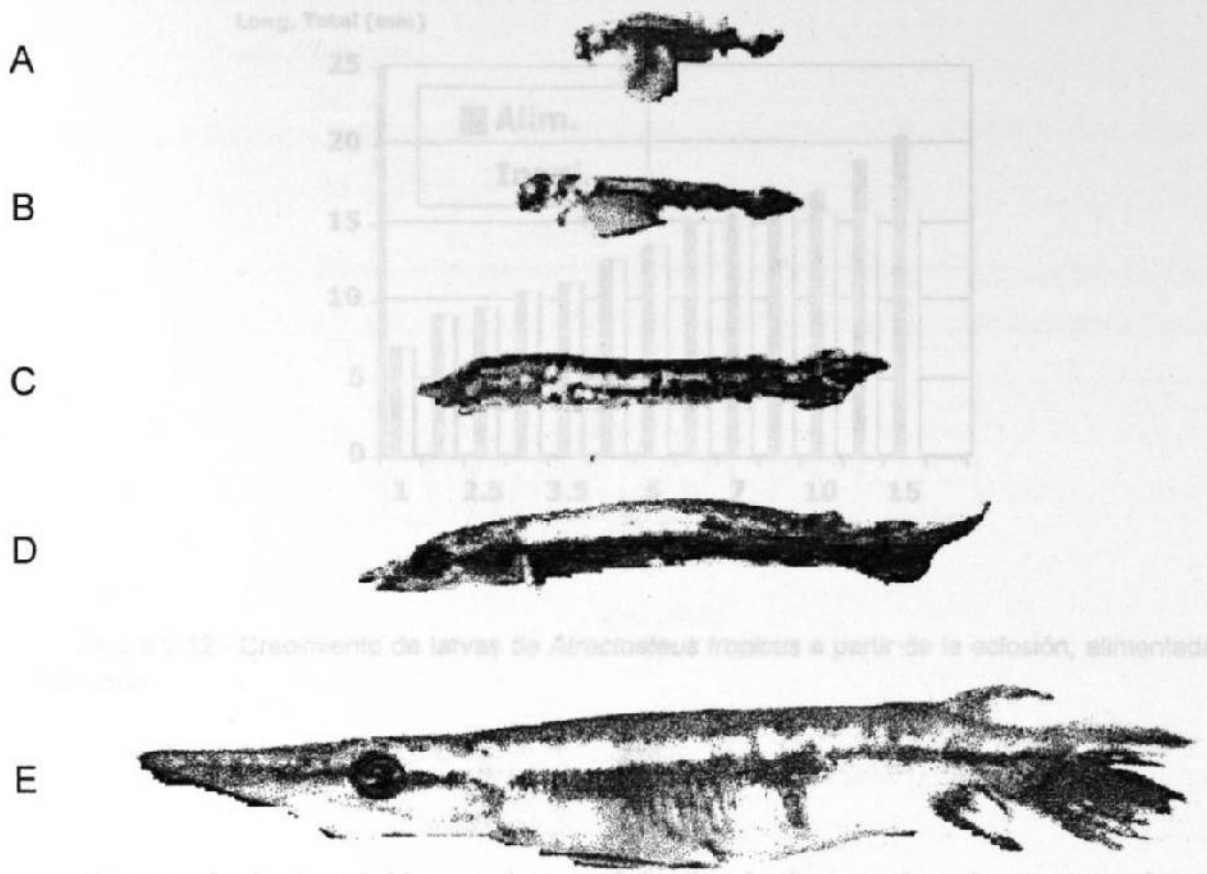

Figura 2.11.- Vista lateral de larvas de *A. tropicus* recién eclosionada (A); estadío II (B); estadío III (C); estadío IV (D); estadio VI (E).

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 Estadíos V y VI, finalizando cuando las larvas alcanzaron los 30 días de edad.

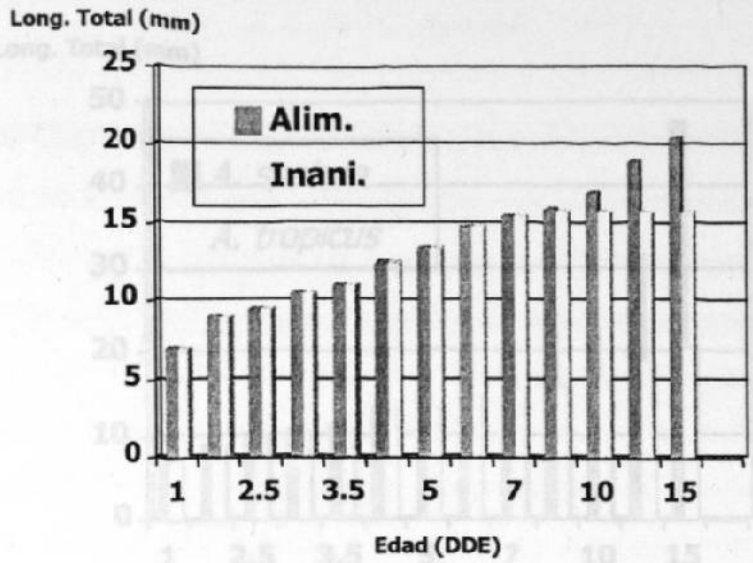

Figura 2.12.- Crecimiento de larvas de *Atractosteus tropicus* a partir de la eclosión, alimentadas y en inanición.

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 ($\bar{X}$ = 15.9 ± 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.

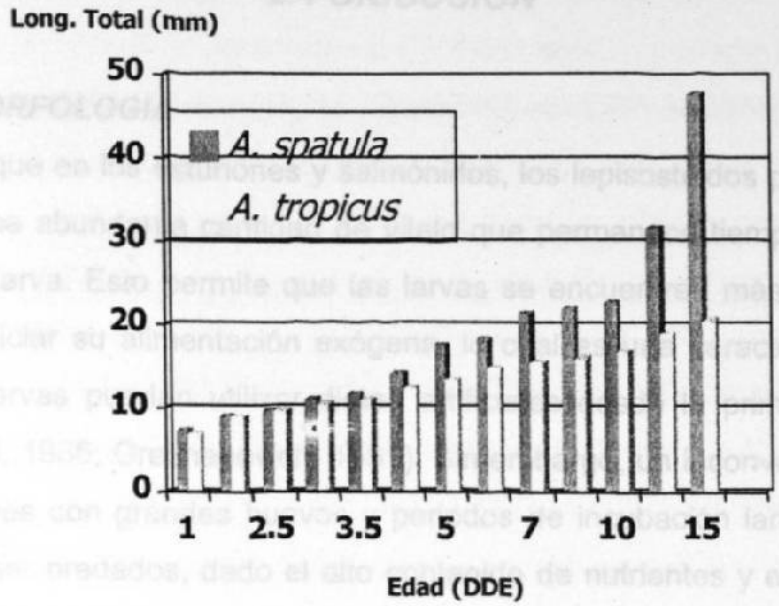

Figura 2.13.- Comparación del crecimiento entre larvas de catán (*A. Spatula*) y pejelagarto (*A.tropicus*).

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 cardiotóxica 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 lecitoexotrófico, 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 lecitoexotrófica a exotrófica, que es cuando las larvas de *L. osseous* han completado su transformación (Simon y Wallus, 1989).

Una diferencia notable que se puedo 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 linea 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 linea 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 linea 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/dia), 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/dia (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 período 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 nucléicos (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 mamiferos (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 absortivas 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; Verreth *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 esta 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 esta diferenciado con sus dos regiones, pilórica y cardiaca, 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 especifico 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 un 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 mas 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'conel, 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 liquido 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).

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 eclocionadas 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.

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.

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 Capitulo 2:

Estadío 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).

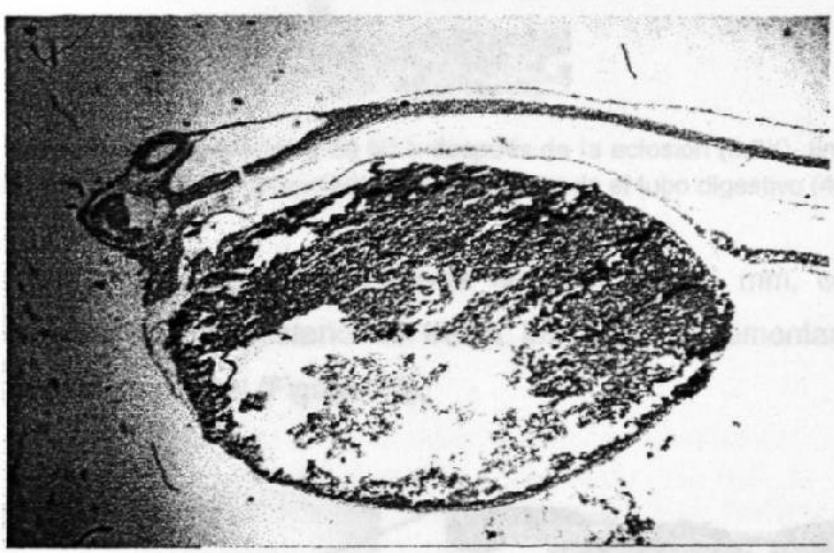

Figura 3.1.- Corte sagital de una larva recién eclosionada (3.2X), tinción con HyE: Se observa principalmente el saco vitelino (***sv***), mientras que el intestino esta representado por un epitelio que se observa arriba del ***sv***.

Estadío 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).

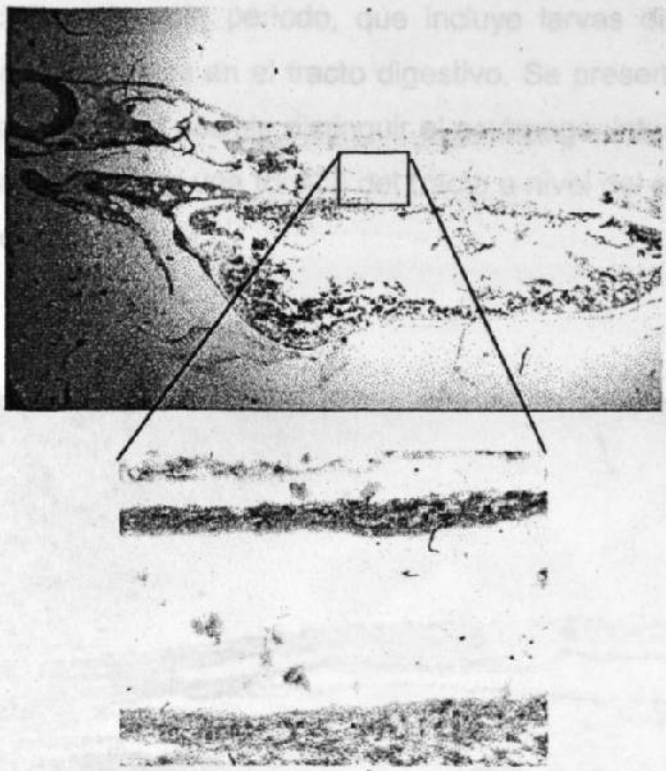

Figura 3.2.- Corte sagital de una larva de 60 h después de la eclosión (3.2X), tinción con HyE. En el recuadro se observa el epitelio indiferenciado que esta formando el tubo digestivo (40X).

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).

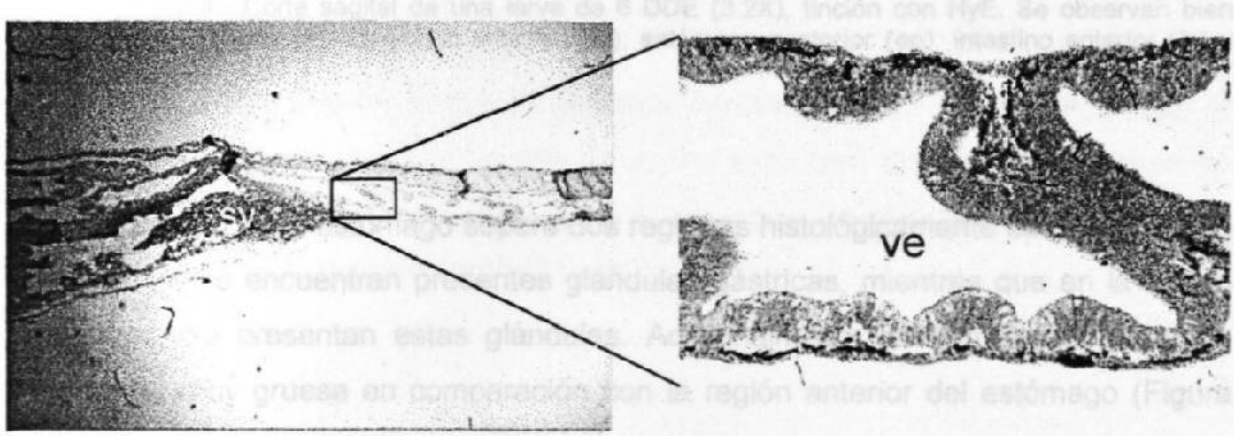

Figura 3.3.- Corte sagital de una larva de 4 DDE (3.2X), tinción con HyE. Donde se aprecia la válvula espiral (***ve***) formada con epitelio columnar que se aprecia en el recuadro (40X).

Estadío 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).

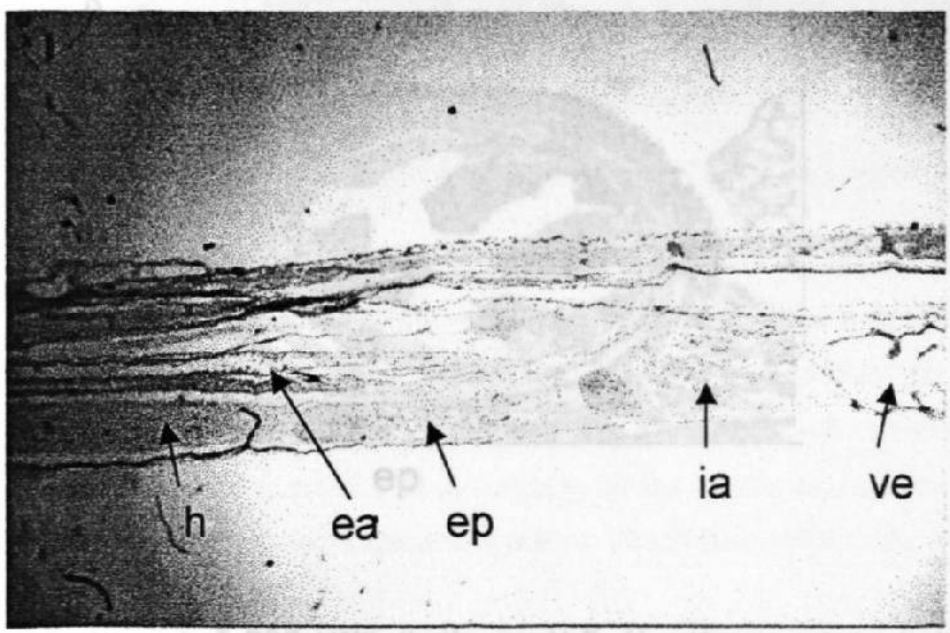

Figura 3.4.- Corte sagital de una larva de 6 DDE (3.2X), tinción con HyE. Se observan bien diferenciados el hígado (***h***), estómago anterior (***ea***), estómago posterior (***ep***), intestino anterior (***ia***) y válvula espiral (***ve***).

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).

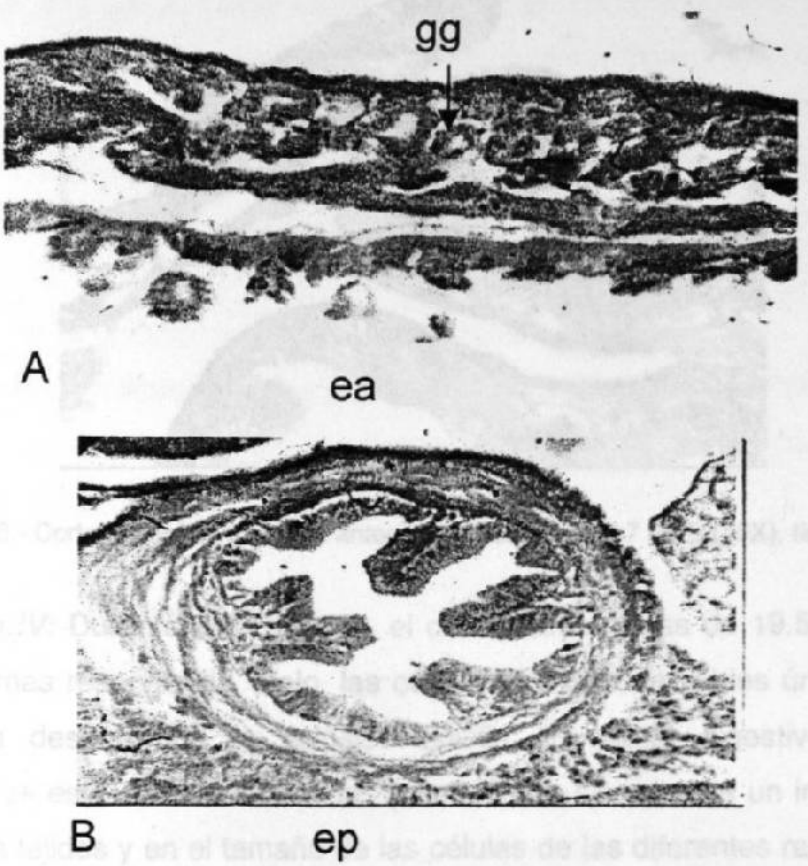

Figura 3.5.- Larva de 7 DDE (40X), tinción con HyE. A) estómago anterior (***ea***) donde se aprecian las glándulas gástricas (***gg***) y el epitelio columnar ciliado; B) corte transversal del estómago posterior (***ep***) con epitelio columnar y una gruesa capa muscular.

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.

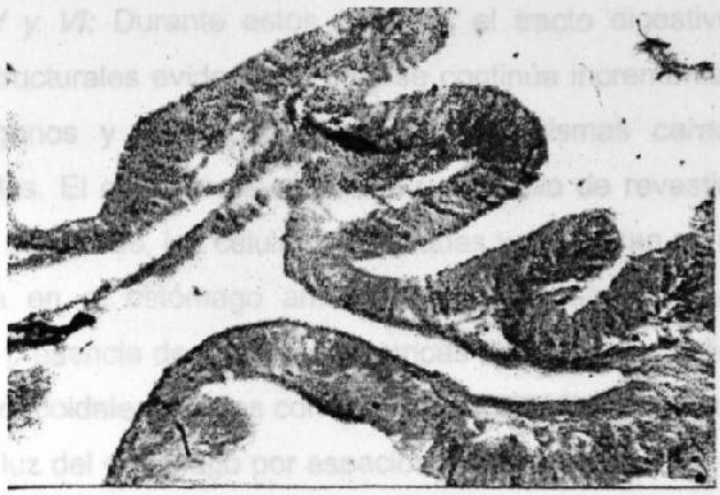

Figura 3.6.- Corte sagital de intestino anterior en una larva de 7 DDE (40X), tinción con HyE:

Estadío 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).

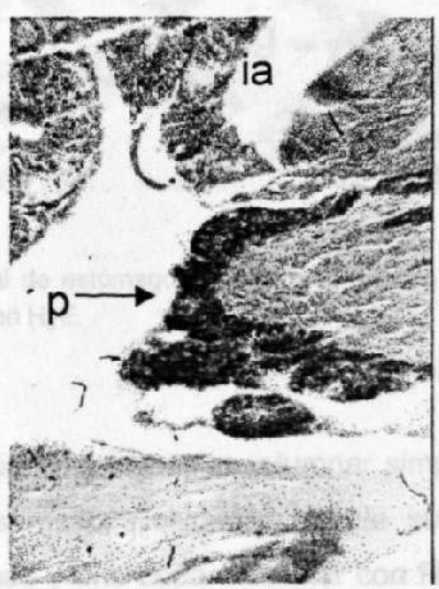

Figura 3.7.- Corte sagital de una larva de 11 DDE (40X), tinción con HyE. Se aprecia el tejido pancreático (***p***), intestino anterior (***ia***) y la capa muscular del estómago posterior (***ep***).

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).

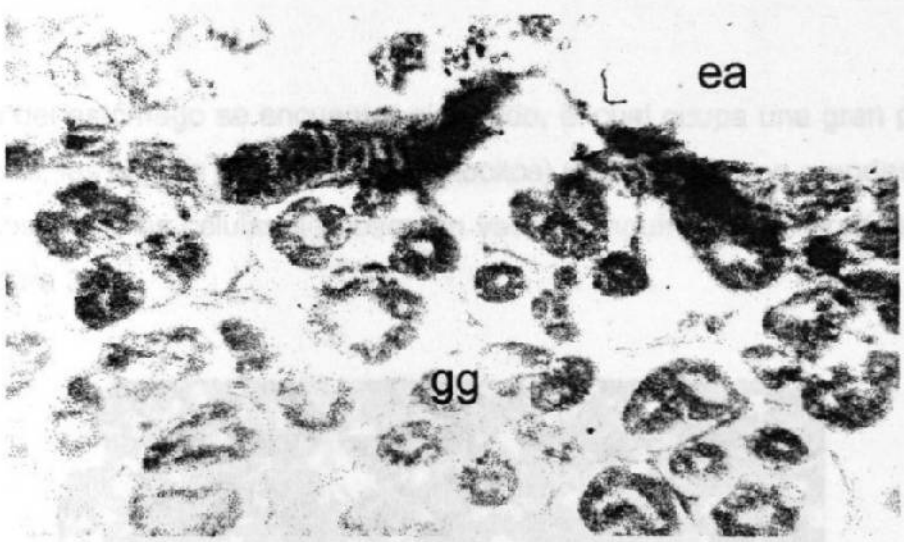

Figura 3.8.- Corte sagital de estómago anterior (***ea***) con las glándulas gástricas (***gg***), en una larva de 15 DDE (40X), tinción con HyE.

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.