



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Desarrollo embrionario, manejo de huevo y dimorfismo
sexual en pez blanco de Pátzcuaro *Chirostoma estor*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

EUGENIA MERCEDES ALARCÓN SILVA



DIRECTOR DE TESIS:
DR. CARLOS CRISTIAN MARTÍNEZ CHÁVEZ
CD. MX. 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Dedicatoria

Agradecimientos

Resumen	1
1. Introducción	2
1.1 Estatus de la Acuicultura en el mundo	2
1.2 Acuicultura en México	3
1.3 Aspectos básicos de reproducción en peces	5
1.4 Desarrollo embrionario	9
1.5 Orígenes y Biología de la especie	12
2. Antecedentes	14
3. Justificación	17
4. Objetivos	18
5. Materiales y Métodos	19
6. Resultados	26
7. Discusión	41
8. Conclusión	46
9. Bibliografía	47

Just to my lovely daughters, Andrea Isabella and Astrid Artemisa

you are the only reason that I wake up everyday and smile.

this is only for you.

Love you, together forever!

Agradecimientos

Primero que nada a mis padres **Ma. Eugenia Silva** y **Alfonso Alarcón L.** por ser los pilares de mi vida que me sostienen, por ser los faros en la oscuridad que siempre me guían a casa, por ser esos albatros que me enseñaron a volar, a saber que siempre podré regresar a descansar bajo sus alas, pero sobre todo gracias por su sabiduría y su paciencia. ¡Espero se sientan muy orgullosos!

A **Andrea Isabella** por ser el motor de mis días, por mostrarme la resiliencia en todo su esplendor y enseñarme a ganar todas esas batallas que te pone la vida, por siempre ser mi apoyo, por ser “my sun and stars” que siempre llena de luz cualquier lugar donde esté y porque quiero que te sientas orgullosa de mí. ¡Por fin lo logré Peque!

A **Astrid Artemisa** por ser esa lucecita que llegó en el momento más oscuro, por ser “the moon of my life”, por ser esa esperanza que me guía todos los días, por venirme a enseñar de empatía y perseverancia, pero sobre todo por ser el último empujón que necesite para terminar con esto. ¡Podremos con todo Pelucona!

A **Carlos Castañón** por ser quien es, mein Kizmet, por seguir ahí a pesar de todo, y siempre mirarme así sea del otro lado de la acera, por ser quien siempre sostiene todas mis piezas juntas. Love u always.

Al **Dr. Cristian Martínez** por compartir conmigo sus conocimientos, por mostrarme lo cautivantes y maravillosos que pueden ser los peces y sobre todo por nunca darse por vencido conmigo, sin su apoyo incondicional y su infinita paciencia, nunca lo habría logrado. ¡Gracias Cristian por siempre responder!

A **Alfonso Alarcón S.** por ser el mejor hermano que alguien puede pedir, por ayudarme y apoyarme en los momentos más difíciles y definitivos de mi vida y

enseñarme que nunca es tarde para tener un nuevo comienzo. ¡Por fin vemos el final de esta batalla Yaus!

A mi sobri hermoso **Sven Atlas** porque eres un torbellino de aire que revolucionó nuestro clan, y verte crecer es de las cosas mas bonitas que me han pasado, nunca creí que mi corazón tendría otro pedacito de el viviendo fuera. ¡Luv u güerejo!

A mis abuelos **Alfonso Alarcón A., Josefina Lerín, José Silva y María Almaraz** porque fueron los primeros maestros y guardianes que tuve y lamento profundamente que solo una de ustedes pueda ver terminado esto, pero que sepan que siempre los llevo en mi pensamiento y mi corazón. ¡Los quiero y extraño siempre!

A las pijidias, **Concepción Balderas, Norma López y Esther Mendez** por su gran apoyo en Morelia, no solo para con mis experimentos, sino para vivir ahí, porque vivir solo nunca es fácil, pero se hace muy agradable cuando tienes amigas que te acompañan, mil gracias por acompañarme cuando debía ir a revisar mis muestras a media noche, por ayudarme a contar larvas o sexar peces, de verdad que mi estancia ahí no hubiera sido igual sin ustedes y definitivamente esta investigación tampoco lo sería.

Al **IIAF-San Juanito Itzicuario** por permitirme realizar los experimentos en sus laboratorios y aulas destinadas a ello, pero sobre todo por prestarme las herramientas necesarias para que yo pudiera realizar este trabajo.

Al **Dr. Carlos Martínez** por autorizar que utilizara las instalaciones del instituto y sobre todo los ejemplares que tienen en el laboratorio, que sin ellos, esta investigación no hubiera sido posible.

A la **Facultad de Ciencias** por darme todas las armas para enfrentarme al mundo real, por tener los mejores maestros que pude pensar, pero sobre todo, por ser tan versátil en sus materias, que me enseñó que había muchos tipos de “Biólogos” y me hizo decidir que clase quería ser.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por ser mi alma mater, porque desde que era una pequeña niña de 5 años, siempre me dije que sería parte de ella, por ser la mejor universidad que un mexicano puede pedir, por todos los apoyos que nos das para poder realizar nuestros sueños, por dejarnos ser libres pensadores, por eso y mucho más, gracias.

¡¡México, Pumas, Universidad!!

Resumen

El desarrollo de la tecnología de cultivo del pez blanco de Pátzcuaro *Chirostoma estor* ha tenido grandes avances en los últimos años, sin embargo, aún existen aspectos de su biología por describir que pudieran aportar al manejo eficiente de la especie en cautiverio. En este trabajo se describió el desarrollo embrionario y se evaluaron diferentes tipos y tiempos de corte de filamentos adherentes de huevos de *C. estor* a lo largo de distintas etapas de desarrollo. Se determinó que ni el tipo ni el tiempo de corte afecta a la sobrevivencia a la eclosión, obteniendo altas supervivencias (70 a 88%) con excepción del tratamiento control en los que no se cortaron los filamentos adherentes.

Además, durante el desarrollo del trabajo, se identificó y describió por primera vez el dimorfismo sexual en ésta y otra especie de pez blanco, *C. promelas*. Dicho dimorfismo sexual presente en individuos adultos de ambas especies consiste en que el tamaño de la aleta anal en machos es mayor que en hembras llegando a cubrir el poro genital, siendo información útil para el sexado rápido de reproductores de estas especies.

La información generada en este trabajo tiene un impacto significativo en el manejo de organismos reproductores y huevos de pez blanco de Pátzcuaro en cautiverio.

1. Introducción

1.1 Estatus de la Acuicultura en el mundo

El sector acuícola y pesquero abarca el conjunto de actividades que tienen origen en el aprovechamiento de los recursos de la flora y fauna acuáticas, se especializa en la captura y el cultivo de esos recursos, su transformación y comercialización. Es parte del quehacer económico nacional y adquiere vital importancia en la generación de alimentos de alto valor nutritivo, empleo e ingresos económicos para la población, así mismo, es una fuente de insumos para la industria alimentaria y de divisas para el país (Álvarez *et al.*, 1999).

La producción acuícola se estimó en 178 millones de toneladas de animales acuáticos en 2020, lo que supone un ligero descenso en comparación con el récord histórico de 179 millones de toneladas registrado en 2018, ésta producción equivale a un suministro per cápita teórico de 20,2Kg (equivalente en peso vivo), de los cuales un 49% de esta cantidad correspondió a la acuicultura (Tabla 1), (FAO, 2022).

PRODUCCIÓN MUNDIAL DE LA PESCA Y LA ACUICULTURA						
	Decenio de 1990	Decenio de 2000	Decenio de 2010	2018	2019	2020
	Promedio anual					
	Millones de toneladas (equivalente en peso vivo)					
Producción						
Pesca de captura:						
Continental	7,1	9,3	11,3	12,0	12,1	11,5
Marina	81,9	81,6	79,8	84,5	80,1	78,8
Total de la pesca de captura	88,9	90,9	91,0	96,5	92,2	90,3
Acuicultura:						
Continental	12,6	25,6	44,7	51,6	53,3	54,4
Marina	9,2	17,9	26,8	30,9	31,9	33,1
Total de la acuicultura	21,8	43,4	71,5	82,5	85,2	87,5
Total mundial de la pesca y la acuicultura	110,7	134,3	162,6	178,9	177,4	177,8
Utilización²						
Para el consumo humano	81,6	109,3	143,2	156,8	158,1	157,4
No destinado al consumo humano	29,1	25,0	19,3	22,2	19,3	20,4
Población (miles de millones) ³	5,7	6,5	7,3	7,6	7,7	7,8
Consumo aparente per cápita (kg)	14,3	16,8	19,5	20,5	20,5	20,2

Tabla 1. Producción de la Pesca y la acuicultura

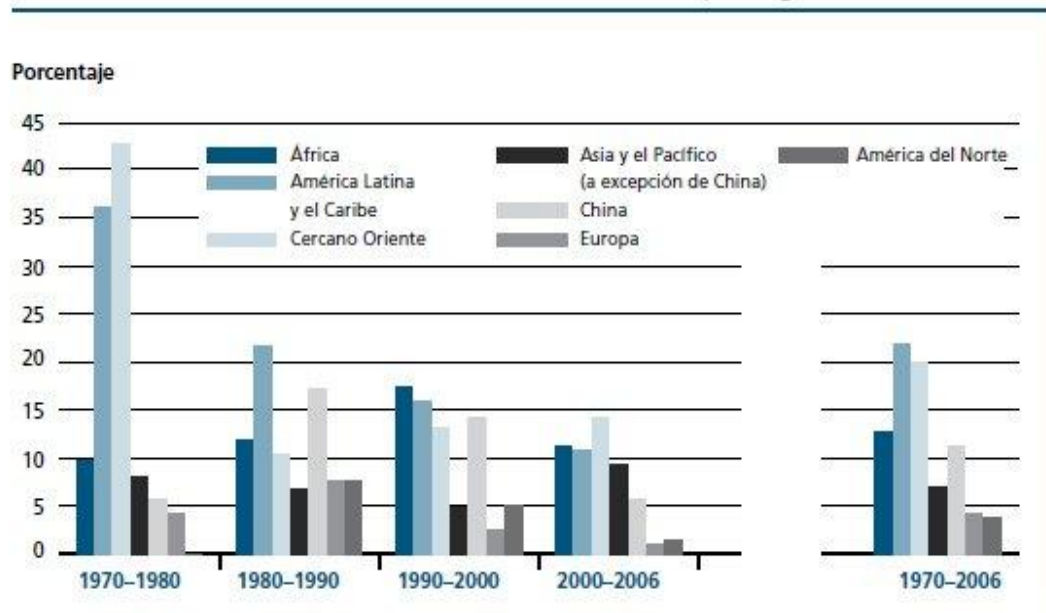
La acuicultura sigue creciendo más rápidamente que cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal y, a mayor ritmo que la población. El incremento del suministro per cápita de productos acuícolas pasó de 0.7Kg en 1970 hasta 7.8Kg en 2006, lo que representa una tasa de crecimiento media anual del 6.9%. Se espera que la acuicultura supere a la pesca de captura como fuente de pescado para la alimentación (FAO, 2010), además de tener menos impactos ambientales que la agricultura (Holmer *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2009).

Es en este escenario, que la acuicultura marina dependerá de la disponibilidad de agua sin contaminantes (Verdegem *et al.* 2005), pero también es cierto que no excederá los niveles disponibles como lo hace la agricultura (Duarte *et al.* 2009).

En 2006, el número estimado de acuicultores en el mundo era de casi 9 millones, más aún por cada persona empleada en el sector primario, se estima que podría haber cuatro personas empleadas en el sector secundario (que engloba la elaboración del pescado, su comercialización y las industrias de servicios), lo que indica que hay empleados unos 170 millones de personas en la industria. Teniendo en consideración a los individuos dependientes, unos 520 millones de personas podrían depender del sector, es decir, prácticamente el 8% de la población mundial (FAO, 2010).

Dicha información adquiere mayor relevancia ya que el 80% de las pesquerías sobre las que se dispone de información han sido registradas como plenamente explotadas o sobreexplotadas y por ello requieren de una gestión eficaz y precautoria (FAO, 2010).

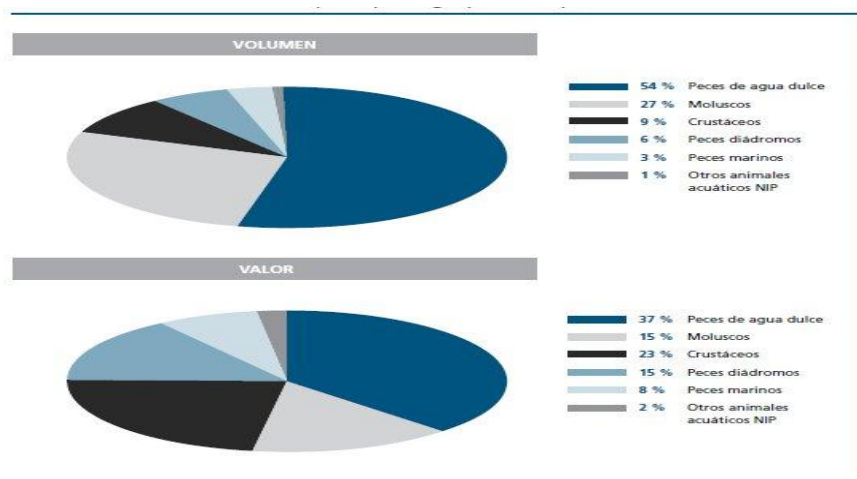
El análisis de la producción por regiones del período 1970-2006 muestra que el crecimiento no ha sido uniforme (Gráfica 1). América Latina y el Caribe presenta la mayor tasa de crecimiento medio anual (22,0 %), seguida por el Cercano Oriente (20,0 %) y África (12,7 %) (FAO, 2010).



Nota: No se contabilizan las plantas acuáticas.

Gráfica 1. Producción acuícola mundial: variación del crecimiento por región desde 1970, FAO2010

En 2006, más de la mitad de la producción acuícola mundial estaba compuesta por peces de agua dulce. La producción ascendió a 27.8 millones de toneladas. Ese mismo año, los moluscos constituyeron el segundo mayor grupo, con 14.1 millones de toneladas (27 % de la producción total). Los crustáceos, aunque en cantidad mucho menor alcanzaron un valor significativo de 4.5 millones de toneladas (Gráfica 2).



Gráfica 2. Producción acuícola mundial: Principales grupos de especies 2006. FAO 2010.

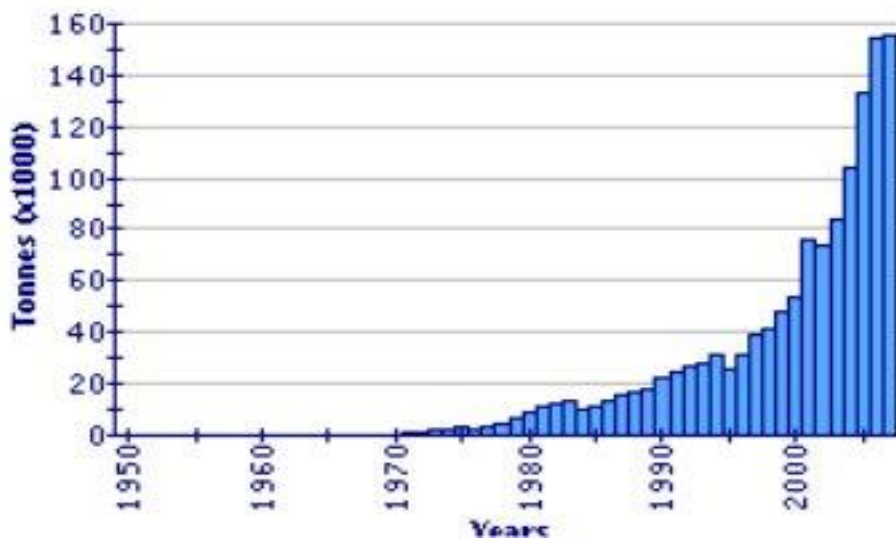
Uno de los mayores problemas que enfrenta la acuicultura es la producción de larvas totalmente viables que lleguen a edad adulta, ya que las mortalidades más grandes ocurren en el estado larvario (Watanabe y Kiron 1994; Martínez-Palacios *et al.* 2008).

1.2 Acuicultura en México

En México, la acuicultura nace como una actividad complementaria de apoyo social gubernamental a las comunidades rurales, con lo cual se pretendía incrementar el consumo de proteína animal y mejorar así los niveles nutricionales de la población (Juárez-Palacios, 1987).

Los estudios realizados por el Instituto Nacional de la Pesca muestran que, del total de las pesquerías evaluadas, 27% se encuentra en deterioro, 53% en un máximo aprovechamiento y, solamente un 20% tiene posibilidades de aumento de la producción. Considerando lo anterior, la acuicultura representa una alternativa real para ampliar la oferta de alimentos en el país, contribuyendo a la seguridad alimentaria, la generación de divisas y creando fuentes permanentes de empleo, así como estimulando el desarrollo regional (FAO, 2010).

Las especies involucradas en actividades de acuicultura en México comprenden peces, moluscos y crustáceos (Gráfica 3). El número total de especies son 64, 26 especies de peces dulceacuícolas (9 nativas, 14 introducidas y 3 híbridos), 5 especies de peces marinos (nativos), 14 de moluscos marinos y salobres (12 nativas y 2 introducidas), 6 de crustáceos dulceacuícolas (4 nativas y 2 introducidas), 7 de crustáceos marinos (todos nativos) y 6 especies de anfibios (5 nativas y 1 introducida) (Carta Nacional Pesquera, 2004).



Gráfica 3. Producción de la Acuicultura reportada de México (a partir de 1950)
(Carta Nacional Pesquera)

En México las actividades del subsector primario se ubican en los litorales del país, aguas interiores y en extensas áreas de lagunas costeras. Las plantas industriales y de procesamiento del subsector secundario tienden a agruparse en las zonas de concentración de la producción primaria. (Carta nacional pesquera. 2004)

La diversidad de procesos productivos que incorpora el sector y su distribución geográfica, en particular los vinculados con la captura y el cultivo, se realizan de forma comunitaria y por medio de técnicas tradicionales, haciendo que el sector sea un importante generador de condiciones promotoras del desarrollo social (Álvarez *et al.*, 1999).

La necesidad de desarrollar tecnologías de cultivo para las especies nativas está motivada por la expectativa de diversificación de la actividad acuícola en nuestro país, de crear una industria propia que responda a las preferencias regionales de mercados ya existentes y que esté orientada hacia la sustentabilidad de los cultivos y de los recursos silvestres, ante el riesgo de disminución de la diversidad debido a la introducción de especies exóticas, tratando de prevenir los efectos nocivos de esto, así como los residuos generados por ésta actividad (Rojas y Mendoza, 2000; FAO, 2010).

Teniendo en cuenta esta necesidad, Ross y Beveridge (1995) identificaron tres criterios a considerar para el desarrollo de la acuicultura de especies nativas: economía, biotecnología y desarrollo ambiental. Debido a que al crear una producción semi-intensiva o intensiva, se requiere generar información biotecnológica con base en varios aspectos de la producción acuática (Ross *et al.* 2008). Debido a lo anterior, uno de los hitos por alcanzar para el desarrollo exitoso de la biotecnología de cultivo de cualquier especie es el control de la reproducción y la producción masiva de larvas.

1.3 Aspectos básicos de reproducción en peces

El control de la reproducción en peces en cautiverio consta desde la adecuada selección del inventario de reproductores, la generación de un adecuado alimento, el desarrollo de metodologías de manejo de reproductores y variables ambientales (temperatura, salinidad y fotoperiodo), control de calidad de huevo e incubación embrionaria con la finalidad de lograr cerrar el ciclo de vida en cautiverio (Bromage *et al.*, 1992).

En cuanto a la calidad de huevo e incubación embrionaria se refiere, es indispensable contar con un alimento adecuado, así como un control óptimo de las variables ambientales que puedan afectar ambos. Es decir, los requisitos primarios para tener un buen desarrollo embrionario son: temperatura, luz, fertilidad, tamaño y calidad del huevo, estado nutricional de reproductores, ausencia de estrés y patógenos, que pueden ser todos controlados bajo condiciones de cautiverio (Bromage and Roberts,1995 ; Schreck *et al.* 2001; Brooks *et al.* 1997; PankHurst and Van Der Kraak 2011; Bobe and Labbé 2010)

Temperatura.

Al ser organismos poiquiloterms, es indispensable que los peces se encuentren en los intervalos óptimos de temperatura para la especie para lograr la maduración de los gametos y desoves naturales. La temperatura entonces es

una variable ambiental permisible, para las actividades reproductivas de peces. (Bromage *et al.* 1992, Bromage and Roberts, 1995).

Fotoperiodo.

El fotoperiodo, en breve definido como las horas de luz y oscuridad es la variable ambiental más importante para la sincronización de los procesos fisiológicos en los seres vivos incluyendo la reproducción (Abdollahpour *et al.*, 2020). Por lo que el fotoperiodo utilizado como biotecnología permite simular la época reproductiva (verano o primavera constante por ejemplo) durante todo el año garantizando la actividad reproductiva constante especialmente en especies de desarrollo ovárico asincrónico (Cristian-Martínez Pers. Comm)

Fecundidad y tamaño del huevo.

Una gran diferencia entre peces y animales terrestres es su fecundidad ya que los primeros producen un gran número de huevos (Bromage and Roberts, 1995). Uno de los factores más importantes y que define el número y dimensión del huevo es el tamaño de los reproductores. En salmónidos, cuando un individuo incrementa su talla (Longitud Total) generalmente incrementa su fecundidad, así como el diámetro de los huevos producidos. Otro factor importante es el genotipo de los reproductores (Bromage *et al.* 1990). En contraste a esto, la edad del pez parece ser menos importante en cuanto a la fecundidad, siendo este, un factor más bien ligado al tamaño.

Alimentación.

La dieta diaria y estacional de los reproductores tiene un efecto directo en la fertilidad y el tamaño del huevo en salmónidos (Springate *et al.* 1985; Jones and Bromage, 1987; Bromage and Cumaranatunga 1988; Bromage *et al.* 1992). Alimentarlos diariamente con dietas restringidas, ya sea con la mitad o tres cuartos del alimento que se les daría en óptimas condiciones, da como resultado un 25% menos de producción de gametos y huevos (Jones and Bromage, 1987).

Calidad del huevo.

En la figura 1 se resumen muchos de los factores que pueden afectar la calidad de huevo de peces en cautiverio.

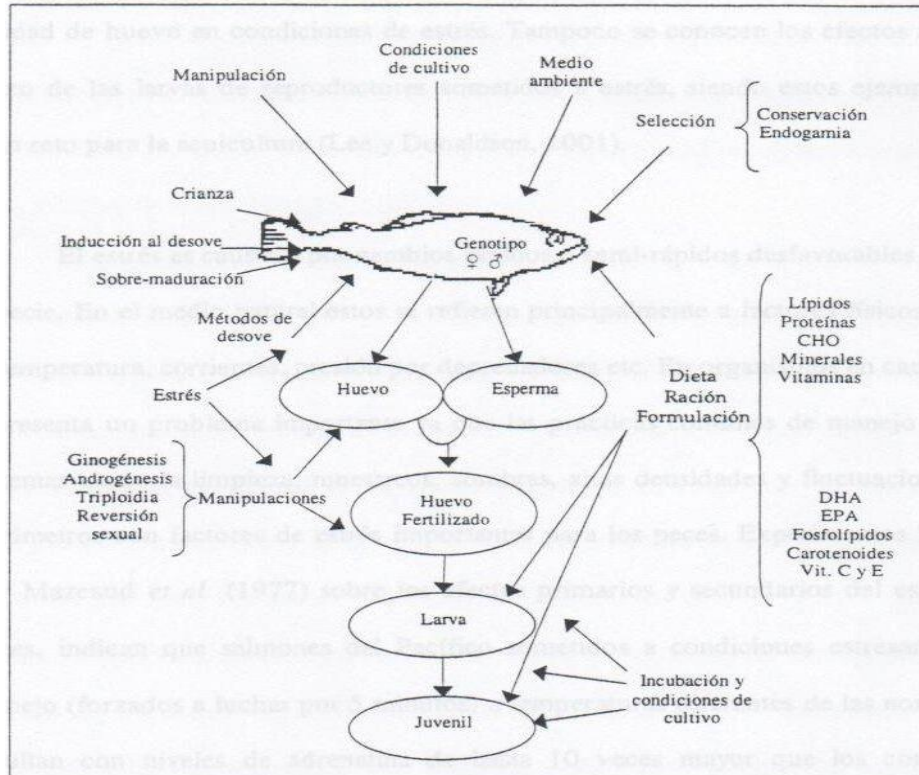


Figura 1. Factores que afectan la calidad del huevo. (Tomado de Bromage, 1992)

En general los huevos que tienen un porcentaje bajo de fertilización y que no es debido a la calidad espermática tienen un pobre desarrollo y se definen como de mala calidad (Springate *et al.* 1984; Bromage and Cumaranatunga, 1988; Bromage *et al.* 1992). Para algunos peces marinos, se han definido claros indicadores de calidad del huevo los cuales se basan en las características físicas de los mismos, siendo específicas para cada especie. Tal es el caso de la habilidad del huevo de flotar o hundirse en algunas especies marinas (McEvoy 1984; Carrillo *et al.* 1989). Sin embargo en algunas especies como *Dentex dentex* la proporción de huevos que flotaban y no flotaban no es útil para distinguir desoves de buena o mala calidad, ya que no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de eclosión entre ambos tipos de desove (Peña, R. 2015; Giménez *et al.*, 2006). Otros autores, han sugerido la

aparición “normal” del corion, que es una envoltura primaria externa y le confiere una identidad morfológica y bioquímica a cada especie (Bivrio *et al.*, 1991), la forma del huevo, su transparencia y la distribución de la gota de aceite dentro del vitelo, puede estar relacionada con la calidad dependiendo de la especie, por lo que no ha sido posible encontrar indicadores físicos que puedan ser aplicadas a todas las especies (Bromage *et al.* 1994).

Es esencial que los huevos de los peces en cultivo sean de la más alta calidad, definiendo calidad del huevo como las características que determinan su capacidad de desarrollo y supervivencia, siendo indicadores diferentes para cada especie, las cuales requieren de ser estandarizadas (Reading *et al.* 2018). Sin embargo, el perfil de ácidos grasos de los huevos, asociado a una alta tasa de fertilización y eclosión es considerado una adecuada guía de calidad de huevo, independientemente de las variables físicas indirectas (diámetro de huevo, número de gotas de aceite, flotabilidad, etc.) atribuibles a cada especie (Bobe, 2015; Hansen *et al.* 2022).

El estado nutricional de los reproductores (Watanabe *et al.* 1985), su exposición al estrés (Campbell *et al.* 1992), la colonización de los organismos patógenos (Barker *et al.* 1989, 1991; Hansen and Olafsen, 1989), la maduración del ovocito y la sobreexplotación de los reproductores en cautiverio (la estimulación continua de reproductores para producir huevos fuera de temporada) son factores que se ha probado, tienen influencia en el detrimento de la calidad del huevo (Sakai *et al.* 1975; Springate *et al.* 1984).

Como se ha mencionado antes la fisiología reproductiva de los peces está íntimamente ligada a su nutrición, ya que, hay evidencia de que esto puede afectar la calidad de los huevos y las larvas al reducir su viabilidad y sobrevivencia (Watanabe *et al.* 1985; Bromage *et al.* 1992). Por lo anterior, las dietas carentes o con pocos oligoelementos producen huevos de muy pobre calidad en comparación con los huevos obtenidos de reproductores que reciben dietas balanceadas (Bromage y Roberts, 1995).

1.4 Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario empieza después de la fecundación del óvulo con el espermatozoide, después de esto, el citoplasma con el núcleo se desplaza hacia el polo animal del huevo en donde se forma el casquete citoplasmático (Balinski y Fabian, 1983).

Ahora bien, el óvulo fecundado está constituido por el casquete citoplasmático, el núcleo, masa central de vitelo y una capa delgada de citoplasma que rodea al vitelo.

En el desarrollo embrionario existen dos etapas críticas principales: la segmentación y la gastrulación. La primera consiste en una serie de divisiones celulares transformando el óvulo fecundado, originalmente unicelular, en un complejo pluricelular en donde a las células se les llama blastómeros. En esta etapa no hay crecimiento, el cambio más evidente es la formación de una cavidad interna llamada blastocele y a la esfera formada por los blastómeros se le conoce como blástula. En los peces la segmentación es meroblástica, esto es, que todo el desarrollo se lleva a cabo en el blastodisco, que es la región del polo animal del óvulo fecundado (huevo), que se convierte en el embrión, este tipo de desarrollo meroblástico también se conoce como discoidal. Este blastodisco (Fig. 2) formará el blastodermo (Gilbert, 2010). Las partes más profundas del citoplasma adquieren núcleos en este proceso y aparece el periblasto que no se divide y permanece en forma de una capa sincitial vitelina. (Balinsky y Fabian, 1983)

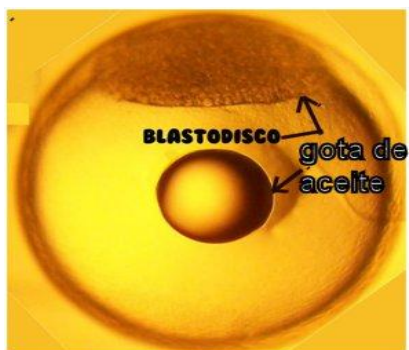


Figura 2. Huevo de *Chirostoma estor* mostrando la formación del Blastodisco en la etapa de la Segmentación

La gastrulación es definida como la reordenación de las células del embrión por medio de movimientos morfogenéticos en donde, las divisiones celulares disminuyen y el crecimiento es insignificante. El blastodermo es el único responsable de la formación del embrión. (Balinsky y Fabian, 1983)

Los primeros movimientos de la gastrulación es la epibolia de las células del blastodermo en el polo animal del huevo, las células internas del blastodermo se mueven al exterior para intercalarse con las células más superficiales (Warga y Kimmel, 1990; Gilbert, 2010). La epibolia es la extensión del disco embrionario a costa de un adelgazamiento de la capa celular sin que haya un aumento apreciable en su masa. (Balinsky y Fabian, 1983).

Cuando se adelgaza la capa celular, se le llama el anillo germinal, que está compuesto en la capa superficial por el epiblasto y en la capa interna por el hipoblasto. El hipoblasto en peces contiene el precursor del endodermo y mesodermo. Las células del epiblasto y el hipoblasto se intercalan para formar el futuro lado dorsal del embrión, que al adelgazarse forma el escudo embrionario, el anillo se cierra en el polo vegetal del huevo, completando la internalización de aquellas células que van a convertirse en el mesodermo y endodermo (Keller *et al.* 2008; Gilbert, 2010).

La extensión convergente en el hipoblasto forma el cordamesodermo, que es el precursor de la notocorda. Las células adyacentes al cordamesodermo (las células paraxiales del mesodermo) son las precursoras de las somitas. (Trinkaus, 1992; Gilbert, 2010).

Como resultado de la gastrulación aparece un saco, cuya cavidad es el arquéteron o intestino primitivo. El arquéteron se halla tapizado por las células endodérmicas y comunica al exterior por un orificio, el blastoporo (Alvarado, 1967). Durante la gastrulación también aparecen el cordamesodermo y demás derivados del mesodermo y endodermo, al final de ésta etapa el embrión contendrá tres capas germinales que interactúan para formar los órganos del embrión, por medio de la organogénesis, que son la serie de interacciones entre células y su reordenación para producir los tejidos y órganos. (Gilbert, 2010)

El desarrollo de las tres capas blastodérmicas: ectodermo, endodermo y mesodermo, que darán lugar a distintos órganos, aparatos y sistemas, es de especial relevancia tener en cuenta que el desarrollo de cada capa es coincidente en el tiempo con el desarrollo de las dos capas restantes. Durante el proceso morfogénico de cada una de ellas, existen importantes interacciones tisulares, celulares y moleculares entre los diferentes componentes de cada capa, y de los componentes de las tres capas entre sí, de tal modo que los procesos que ocurren en una determinada capa embrionaria repercuten en el desarrollo de las demás (Lopez-Sanchez *et al.*, 2005).

El ectodermo: Posee dos zonas bien definidas, una banda longitudinal, central, denominado el ectodermo neural que contiene las células que darán lugar a la formación del sistema nervioso, y el resto de la superficie ectodérmica, el ectodermo no-neural, que dará lugar fundamentalmente a la capa de células cutáneas más superficiales, la epidermis.

El mesodermo: Muestra cambios morfogénicos, dando lugar a un gran número de órganos y aparatos. El primer componente de esta capa es la notocorda, la cual tendrá un papel fundamental en los procesos de inducción neural, sobre la capa ectodérmica suprayacente. De este modo, el ectodermo neural es la región ectodérmica longitudinal que está en íntima relación con la posición longitudinal de la notocorda. El segundo componente está localizado a ambos lados de la notocorda y se divide en tres sectores: el mesodermo paraxial, en relación con la notocorda, el mesodermo intermedio y el mesodermo lateral.

El mesodermo paraxial dará lugar a las somitas, cuanto mayor es el número de pares de somitas, más avanzado es el estadio de desarrollo embrionario, considerándose este dato como uno de los principales criterios para determinar la edad del embrión. Las somitas están sometidas a la diferenciación de sus células, determinando la presencia de tres líneas de diferenciación celular: dermatomo, esclerotomo y miotomo. El dermatomo es el componente de las somitas que se relaciona íntimamente con el ectodermo (formador de la epidermis) y se diferenciará para dar lugar a la dermis de la piel. El esclerotomo

dará lugar a la formación de estructuras cartilaginosas y óseas, fundamentalmente las costillas y las vértebras del raquis. El miotomo es el componente celular destinado a la formación de las estructuras musculares (López-Sánchez *et al.*, 2013).

El segundo componente, el mesodermo intermedio también se denomina, globalmente, nefrotomo, la especificación de la estructura renal comienza ahí (Swanhart *et al.*, 2010)

El tercer componente, el mesodermo lateral, se caracteriza por la formación de láminas celulares que rápidamente se dividen en dos capas, una superficial, en relación con el ectodermo, la somatopleura y la esplacnopleura. Cada capa de mesodermo lateral se fusionará con la del lado opuesto a nivel de la línea media del embrión, ya que éste se va plegando en sentido látero-medial formando el cuerpo embrionario. De este modo se constituye la cavidad celómica, que en el organismo adulto determinará la formación de las serosas (pericárdica, pleural y peritoneal).

El endodermo: es la capa embrionaria más profunda, en íntima relación con el saco vitelino. Es la que muestra una actitud aparentemente pasiva durante el desarrollo inicial, ya que se limita a seguir el proceso de incurvación embrionaria, dando lugar a la constitución del tubo endodérmico, que recorre el embrión longitudinalmente desde la boca primitiva (estomodeo) hasta el ano (membrana cloacal). Las células del endodermo constituirán las estructuras del tubo digestivo (López-Sánchez *et al.*, 2013).

1.5 Orígenes y Biología de la especie

La mayor parte de los peces continentales de México tienen origen oceánico. Babour (1973) ha propuesto que los ancestros de los peces del género *Chirostoma* eran similares a la especie actual *Chirostoma beryllina* y que penetraron a territorio mexicano a través de los sistemas marinos que ocupan zonas que en la actualidad han emergido. Por lo que Miller y Smith (1986) han

argumentado que su evolución se dio a través de procesos de fragmentación y vicarianza. Se ha asumido que los ancestros de este grupo invadieron el sistema fluvial Lerma-Santiago-Chapala a partir del período Terciario y, desde entonces, han contribuido en un alto grado (66%) al endemismo de la ictiofauna de la región (Espinosa-Perez *et al.*, 1993).

Se ha definido, basado en análisis de parámetros morfométricos y merísticos de las especies del género, la existencia de dos grupos: el grupo “jordani” y el “arge” y se considera que la mayor parte de los caracteres del grupo “jordani” son primitivos, particularmente por su talla y por sus adaptaciones morfológicas para el aprovechamiento de los recursos tróficos (Rodríguez-Ruiz y Granado Lorenzo, 1987).

La especie analizada en este trabajo, *Chirostoma estor*, pertenece a un subgrupo de especies “humboldtianum” del grupo “jordani” (Babour, 1973; Echelle y Echelle, 1984), al grupo Jordani pertenecen los llamados peces blancos con tallas grandes. El pez blanco de Pátzcuaro (como se le conoce a *C. estor*) es un pez neártico, de agua dulce perteneciente a la familia Atherinidae, la cual tiene entre 150 y 160 especies representantes, en su mayoría marinos y estuarinos, aunque algunos también habitan en agua dulce (Martínez-Palacios *et al.*, 2002a). Estos últimos, se encuentran en aguas limnéticas con temperaturas que oscilan entre los 18 y los 24°C, con concentraciones de oxígeno disuelto de 5 a 8mg/mL, concentraciones de amoníaco menores de 0.129mg/L, concentraciones de materia orgánica (demanda bioquímica de oxígeno) menores de 5.0mg/L, con fondos arenosos o con grava, y orillas con algas filamentosas o con poca vegetación sumergida (Rosas, 1970; Chacón y Rosas-Monge, 1995).

Los peces blancos del género *Chirostoma sp.* del altiplano Mexicano son especies importantes por su endemismo y su valiosa contribución a la economía de la región de los lagos de Michoacán, a través de su pesquería y su acuicultura (Arredondo Figueroa, 1983; Boujard, 1987; Jiménez-Badillo y García-Gasca, 1995) y también por su valor económico, nutricional, ecológico y cultural; en el aspecto nutricional, poseen una alta proporción de ω 3 ácidos grasos (Navarrete-Ramírez *et al.*, 2011; Fonseca-Madrigal *et al.*, 2012; Martínez-

Palacios *et al.*, 2020). Cabe hacer notar que en las últimas décadas las poblaciones de *Chirostoma sp.* además de verse disminuidas como recurso por las diversas actividades antropogénicas (sobrepesca, contaminación, tala de bosques en sus cuencas y alteración ambiental), presenta dificultades al interior del género para su determinación específica, a la que se suma la presencia de híbridos, lo que aumenta la complejidad del grupo (Paulo-Maya *et al.*, 2000), así como el problema de que es difícil distinguir a los “charales” (del grupo Arge; *Chirostoma sphyraena*) de los juveniles de *Chirostoma estor estor* (Martínez-Palacios *et al.* 2006).

2. Antecedentes

El pez blanco *C. estor* es una especie ovípara, que desova todo el año a una profundidad de 25 a 130cm, sobre algas filamentosas que proporcionan un sustrato ideal para la fijación de los huevecillos, además de proporcionar buena oxigenación por el continuo movimiento del agua (Rosas, 1970). El período con mayor desove de esta especie en el ambiente natural se presenta entre marzo y junio (Rosas-Moreno, 1976). Los huevos son esféricos y transparentes, sin presentar ornamentaciones en el corion. Su diámetro varía de 0.8 a 1.2mm. y al ser desovados se fijan por filamentos adherentes (Martínez-Palacios *et al.*, 2002) que son largos y se sujetan a rocas, algas u otros materiales. Además de la activación de los filamentos adherentes con el agua, también es observable una gota de aceite que se sitúa en la región anterior del embrión junto al sitio de formación de la aorta ventral (Yamagani, 1988). Dicha gota servirá como reserva energética durante el desarrollo larvario y hasta tres o cuatro días después de la eclosión (Martínez-Palacios *et al.*, 2002).

El tiempo de eclosión a 25°C es de entre 7 y 8 días, estando presente el saco vitelino hasta el tercer día post eclosión (Campos, 2000; Barriga-Tovar, 2000). El mejor desempeño (supervivencia y crecimiento) de juveniles y adultos, se obtiene en un intervalo de entre 25 a un máximo de 28°C (Martínez-Palacios *et al.*, 2002b) aunque esto no se ha probado para estadios larvarios.

El desove manual del pez blanco es mediante la manipulación de la hembra presionando con gentileza sus costados para obtener los óvulos maduros, los cuales se fertilizan con el esperma obtenido de machos utilizando también la presión abdominal. Todo esto se lleva a cabo en un recipiente que contiene agua limpia del estanque donde habitan los peces, y ambos gametos se mezclan, posteriormente se incuban hasta la eclosión. Sin cuidados apropiados, la mortalidad alcanza valores de 50-70% en el momento de la eclosión debido principalmente a infecciones por hongos y asfixia de los huevos causados por la aglomeración de éstos debido a los filamentos (Martínez-Palacios *et al.*, 2002).

Para reducir la mortalidad en cautiverio por hongos, se utiliza salinidad de 10‰ (Martínez-Palacios *et al.* 2004).

El pescado blanco es un organismo zooplanctofago, sin embargo como adulto también puede tener una estrategia oportunista, comiendo pequeños peces y crustáceos (Ross *et al.* 2006).

En la acuicultura, uno de los aspectos limitantes del manejo de *C. estor* es su gran susceptibilidad al estrés, lo cual genera una alta mortalidad si se manipulan (con redes por ejemplo) como a otras especies (Martínez-Palacios *et al.* 2002b). Por lo anterior, el transporte se hace utilizando benzocaína y bajas temperaturas para sedarlos pudiendo transportarlos sin presentar mortalidades (Ross *et al.* 2007).

La investigación para desarrollar la tecnología del cultivo del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, *C. estor*, siempre ha presentado un reto. Sin embargo, solo en los últimos 10 años se ha logrado cerrar el ciclo de vida en cautiverio. De hecho, en el laboratorio de acuicultura del IIAF-UMSNH se considera ésta, la alternativa más viable de preservar a esta especie, ya que la hace independiente del medio natural y sus implicaciones negativas. Debido a esto, el cultivar el pez blanco es una opción tanto para recuperar las poblaciones, como para crear fuentes de ingresos económicos para los pescadores de la zona.

A pesar de esto, los trabajos que hasta el momento se han realizado sobre el desarrollo temprano de su cultivo son pocos y las supervivencias aún

pueden ser mejoradas significativamente. (Martínez-Palacios *et al.*, 2002; Martínez-Chávez comunicación personal).



Figura 3. Masa de huevos de *C. estor* recién colectados de los estanques

En la figura 3, se observa una masa de huevos colectada de varios estanques de reproductores. Sin embargo esta masa genera la primera causa de mortalidad debido a que los embriones en desarrollo al centro de la masa, mueren por asfixia. Distintos esfuerzos se han realizado para degradar con enzimas los filamentos adherentes sin éxito (Martínez-Chávez comunicación personal), por lo que actualmente se cortan los filamentos con tijeras comunes y un prototipo de tijeras mecánicas (Fig.4) dependiendo de la cantidad de huevos. Aún no se ha evaluado el efecto que este manejo pueda tener en la supervivencia del huevo.



Figura 4. Prototipo de tijeras mecánicas utilizadas en el laboratorio

3. Justificación

Las técnicas principales de cultivo de pez blanco de Pátzcuaro, *Chirostoma estor*, han permitido reproducir en cautiverio a esta especie nativa en peligro (Martínez-Palacios *et al.*, 2002, 2008). Sin embargo, aún se requieren esfuerzos de investigación y desarrollo de biotecnologías para consolidar la producción masiva de larvas y juveniles de la especie. En este trabajo se evalúa el proceso de corte de filamentos adhesivos de huevos para determinar su efecto en los porcentajes de eclosión y supervivencia larvaria. Para lo cuál fue necesario describir por primera vez el desarrollo embrionario de esta especie con la finalidad de identificar las etapas críticas de desarrollo a evaluar.

Los resultados de este trabajo, tiene la finalidad de conocer el efecto de las prácticas empíricas de cultivo y generar el conocimiento para lograr hacerlas más eficientes.

Además durante el desarrollo de la investigación, se identificó la existencia de dimorfismo sexual nunca antes reportado en atherinópsidos del nuevo mundo, siendo esta información práctica y relevante para el manejo de esta especie sensible al manejo.

La información generada en este trabajo tendrá un impacto significativo en el manejo de reproductores y huevos de pez blanco de Pátzcuaro en cautiverio.

4. Objetivo general

Determinar el efecto de diferentes métodos de corte de filamentos adherentes de huevos en la sobrevivencia de embriones y larvas de pescado blanco de Pátzcuaro *C. estor*, así como determinar la presencia de dimorfismo sexual en reproductores de la especie.

Objetivos específicos

1. Describir el desarrollo embrionario de *C. estor* a 25°C.
2. Evaluar el efecto del tipo de corte (tijera común y tijera eléctrica) de filamentos adherentes de huevo en el porcentaje de eclosión de huevo recién fertilizado.
3. Evaluar el efecto de seis tiempos (5min., 2 hrs, 6hrs, 24hrs, 43hrs y 80hrs post-fertilización) de corte de filamentos adherentes en la sobrevivencia a oculación.
4. Evaluar características morfométricas de reproductores de pez blanco que indiquen la presencia de dimorfismo sexual en *C. estor*.

5. Materiales y Métodos

Todos los experimentos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Acuicultura y Nutrición del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) San Juanito Itzícuaru perteneciente a la UMSNH. La obtención de gametos (para la posterior fertilización artificial de los mismos) de *C. estor* para los experimentos I, II y III, provinieron del stock de reproductores de la planta experimental de pez blanco de Pátzcuaro que se encuentran en estanques de 3 metros de diámetro. Estos reproductores fueron alimentados con una dieta de alimento balanceado producida *in situ* y ex-profeso para esta especie (con 43% de proteína y 5% de lípidos). Dichos reproductores se mantuvieron en fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad una temperatura que osciló entre los 18°C y los 23°C a lo largo del día y una salinidad de 0‰.

I.- Descripción del desarrollo embrionario de *C. estor* a 25°C

De un lote manualmente fertilizado de huevo se tomó una muestra de 300 cigotos de los cuales se tomaron submuestras de entre 50 y 70 cigotos, para evaluar y describir las distintas etapas del desarrollo embrionario. Lo anterior se realizó tomando como referencia los diversos trabajos que describen el desarrollo embrionario del pez zebra (*Danio rerio*), como son: la formación del casquete polar, primeras divisiones celulares, mórula, blástula, epibolia, gástrula, formación de las vesículas oculares, aparición de las somitas, formación de la córnea, presencia de latidos del corazón, presencia de movimiento muscular, la pigmentación en los ojos, la aparición de la vesícula biliar y la eclosión. (Keller *et al.*, 2008) Se cortaron los filamentos adherentes manualmente con tijeras y los embriones se colocaron las muestras en charolas para hacer hielo casero (Fig.4) a 25°C con agua a una salinidad de 10‰, y con un fotoperíodo de 12L:12O. Y se revisaron tomando el total de la muestra en el microscopio y cuando el 90% de los cigotos presentaba la misma etapa del desarrollo embrionario, se anotó la hora post-fertilización de esa etapa.



Figura 4. Charolas para hacer hielo casero.

Esta descripción fue fundamental para el posterior desarrollo de los demás experimentos, ya que, después de determinar el tiempo post-fertilización en el que aparecían las diversas etapas del desarrollo embrionario, con base en ellas se determinaron los tiempos para cortar los filamentos adherentes.

II.- Determinar si existe algún efecto del tipo de corte (tijera común y tijera eléctrica) de filamentos adherentes en el porcentaje de eclosión de huevo recién fertilizado.

Con el fin de determinar la necesidad de eliminar los filamentos adherentes para mejorar la sobrevivencia a la eclosión, así como la mejor técnica de corte (con unas tijeras comunes y con unas tijeras eléctricas ideadas en el laboratorio). Se realizaron dos experimentos similares con tamaños de muestra diferentes (experimental vs piloto) para evaluar la aplicabilidad de ambos tratamientos a escala laboratorio ya que en este último suelen colectarse masas con miles de cigotos semanalmente.

Proceso a escala experimental (condiciones controladas).

Se obtuvieron 1684 ovocitos (fertilizados manualmente) de tres hembras. Esto se hizo en base al protocolo rutinario del laboratorio del IIAF, estimulando manualmente con presión abdominal a las hembras para desovar en una caja de Petri. Una vez colectados y mezclados los ovocitos de las tres hembras seleccionadas, se procedió a añadir el esperma de un macho directamente sobre los ovocitos, el esperma se obtuvo manualmente, estimulando al macho mediante presión abdominal, añadiendo inmediatamente agua del tanque y

mezclando suavemente con un dedo de la mano debidamente sanitizado para lograr una fertilización eficaz. (Fig. 5) Posteriormente se dejaron reposar los huevos por dos minutos para lograr que la mayor parte de ovocitos se fertilizen y después se procedió a lavar los mismos con agua para quitar el exceso del esperma.



Figura 5. Cigotos (de color rosa) de Chirostoma estor en la caja de petri y agua del tanque

Los 1684 cigotos, se dividieron al azar en 9 muestras, y de cada una se tomaron 20 cigotos (desechados posteriormente) para evaluar el porcentaje de fertilización; 20 minutos después de haber sido fertilizados fueron divididos y a 3 grupos se les cortaron los filamentos adherentes con tijeras comunes (marca Barrilito) a las que en lo consecutivo denominamos “tijeras manuales”, a otras 3 se les cortaron los filamentos adherentes con tijeras eléctricas (diseñadas en el laboratorio) y se dejaron las últimas 3 muestras como control.

Proceso a escala laboratorio piloto.

Se obtuvo un lote de 1833 cigotos del tanque donde desovan naturalmente los reproductores. Lo anterior se hizo con base en el protocolo rutinario, el cual consiste en cepillar los estanques con un cepillo de alberca común (Fig. 6) para

que los cigotos se peguen en la escoba por medio de sus filamentos adherentes y posteriormente separarlos de la escoba con la mano y llevarlos al proceso de corte de los filamentos adherentes. Este proceso rutinario implica que dichos lotes colectados incluyan huevos fertilizados a distintos tiempos y de diferentes hembras y machos. Sin embargo al igual que los huevos desovados y fertilizados manualmente, estos se dividieron al azar en 9 muestras, aplicando el mismo procedimiento descrito anteriormente.



Figura 6. Recolección del huevo fertilizado en los estanques de reproductores

Las 18 muestras de ambos experimentos se incubaron en una canaleta, con una salinidad de 10‰ y al tercer día posterior a la fertilización bajó a 5‰ (que es el protocolo a seguir rutinariamente para evitar la infección por hongos), una temperatura de 25°C y un fotoperíodo de 12L:12O. Los huevos se colocaron en dispositivos circulares que tenían un diámetro de 19.3cm y una malla de 300 μ , quedando acomodados en la canaleta de forma azarosa.

Para ambos experimentos se registró el porcentaje de eclosión en cada tratamiento.

III.- Determinación del tiempo de corte post-fertilización en la sobrevivencia a oculación.

Con la finalidad de evaluar si existe alguna etapa de desarrollo embrionario sensible al corte, se realizó este experimento en donde se hizo el corte con tijera manual debido a que para el tamaño de la muestra nos funcionaba mejor que la tijera eléctrica y para la realización de éste, tuvimos que basarnos en el experimento 1, que fue la descripción del desarrollo embrionario, ya que de no contar con esta información previa, no sabríamos cuando suceden las etapas más importantes del desarrollo y por eso se eligieron los tiempos 5 minutos (aparición del casquete citoplasmático), 2hrs (formación de 2-4 blastómeros), 6hrs. (estadio mórula), 24hrs. (presencia de las córneas), 43hrs. (latidos del corazón observables) y 80hrs. (pigmentación total de los ojos).

Para ello, se realizaron dos fertilizaciones artificiales (lote) cada una provenientes de tres hembras y un macho (con una diferencia de cinco minutos entre fertilización y fertilización). Una vez que los huevos recién fertilizados estuvieron limpios (sin exceso de semen) se procedió a dividir cada lote de huevos en tres grupos, colocándolos en dispositivos circulares con un diámetro de 19.3cm y una malla de 300 μ , con salinidad de 5‰ para evitar la infección por hongos, temperatura de 25° C, y un fotoperiodo de 12L:12O.

Consecutivamente se procedió a cortarles los filamentos adherentes con tijeras manuales y a tiempos diferentes post-fertilización. Al primer grupo de 207 embriones se le cortaron los filamentos adherentes a los 5 minutos, al segundo de 97 embriones a las 2 horas y al tercer con 125 embriones 6 horas después.

Se evaluó el porcentaje de fertilización de cada grupo tomando una pequeña muestra de diez huevos por grupo, desechándolos del experimento posteriormente. También se evaluó el porcentaje de sobrevivencia a oculación (117 horas) contando todos los huevos vivos y muertos hasta ése momento.

De igual manera, se tomó el segundo lote de huevos fertilizados y se procedió a dividirlo en otros tres grupos, colocándose en los mismos dispositivos de incubación descritos anteriormente. En esta ocasión, al primer grupo de 76 embriones se le cortaron los filamentos adherentes a las 24 horas, al segundo

de 179 embriones a las 43 horas y al tercero de 150 embriones a las 80 horas. De igual manera se evaluó el porcentaje de fertilización de cada grupo, así como el porcentaje de sobrevivencia a oculación (117 horas) contando todos los huevos vivos y muertos hasta ése momento.

Con fines de claridad los resultados de estas fertilizaciones son presentadas en una sola gráfica en la sección de resultados.

IV.- Dimorfismo sexual de peces blancos de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*) y Chapala (*Chirostoma promelas*).

Se realizó un censo de 411 peces de la especie *C. estor* (228 machos y 183 hembras) los cuales formaban el “stock” de reproductores de peces blancos de Pátzcuaro del Laboratorio de acuicultura del IIAF. A todos estos organismos se les tomaron las siguientes morfometrías: Longitud Total [LT], Longitud Estándar [LS], Longitud del principio de las aletas pélvicas al poro genital [PPP], Longitud de la punta de las aletas pélvicas al poro genital [FPP] con lo cual se sacó la longitud de las aletas pélvicas ($LAA=PPP-FPP$) y Peso [PS] (Fig. 7)

Posteriormente y con la finalidad de eliminar las variables de talla y peso de los distintos animales muestreados, se obtuvo la Razón entre PPP/LAA para evidenciar dimorfismo sexual relacionado a la longitud de las aletas pélvicas (LAA).

Además se hicieron diversas correlaciones entre las distintas variables y sus razones para determinar si existía una relación de alguna otra variable con el dimorfismo sexual, sin embargo no se encontraron.

Para corroborar los datos obtenidos, y ver si las proporciones se mantenían entre distintas especies de la misma familia, se tomaron las mismas morfometrías que con *C. estor*, pero esta vez de *C. promelas* que es otra especie del mismo género. En total fueron 95 peces (62 machos y 33 hembras), que forman parte del “stock” de reproductores de peces blancos de Chapala. Es preciso aclarar que en todos los análisis se excluyeron animales con claras y evidentes malformaciones de cualquier tipo (escoliosis, lordosis, enanismo, etc.) que pudieran sesgar el presente estudio.

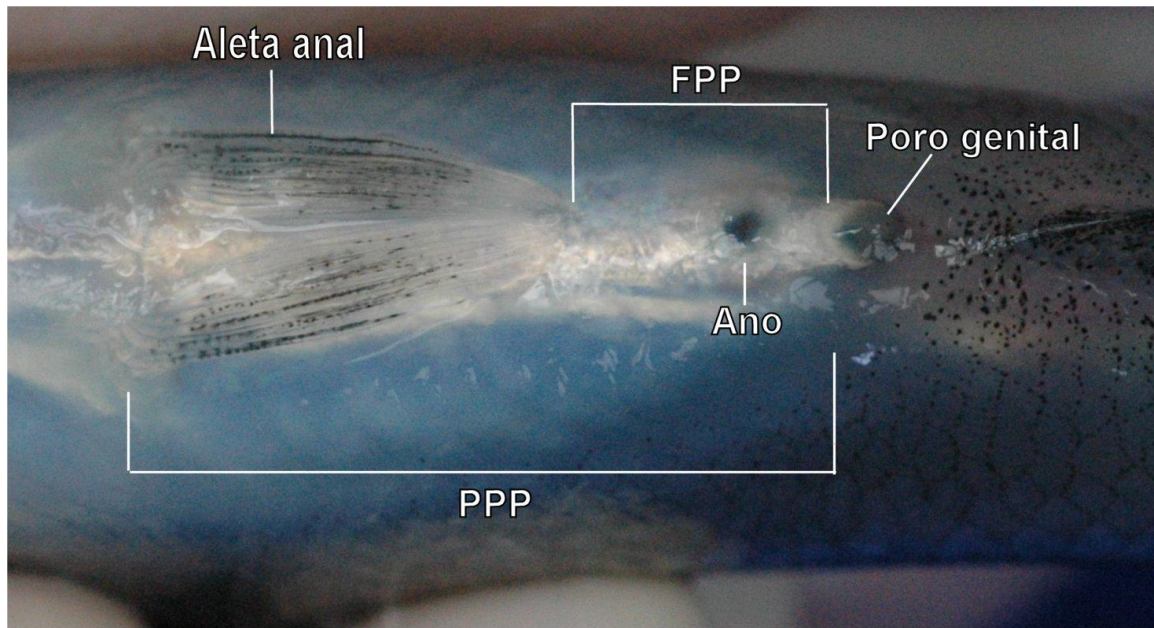


Figura 7. Vista ventral de *C. estor* y la representación gráfica de cómo fueron tomadas las medidas.

Análisis estadísticos

Todos los datos fueron previamente analizados para verificar que cumplieran las pruebas de normalidad y homocedasticidad. Posteriormente se realizó una ANOVA paramétrico de una vía y en los casos donde hubo diferencias significativas se procedió a hacer una prueba de múltiple comparación (Tukey). Los datos referentes a porcentajes fueron transformados mediante la función arcoseno. En todos los casos el poder de las pruebas estadísticas fue $P < 0.8$. En los casos donde no se cumplió con la homocedasticidad se realizó una ANOVA no paramétrico (Kruskal-Wallis). Los superíndices en las figuras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$). Todos los datos se analizaron con el programa Sigmaplot (Ver. 11).

6. Resultados

I.- Descripción del desarrollo embrionario de *C. estor* a 25°C.

Durante la descripción del desarrollo embrionario que se realizó para esta especie se obtuvieron las siguientes fases críticas:

Formación del casquete citoplasmático que indicó la presencia de un huevo debidamente fertilizado.

Segmentación:

- a) Divisiones celulares (aparición de blastómeros) (Fig. 8 a 11)
- b) Mórula (masa de células) (Fig. 12)
- c) Blástula (Fig. 13)
- d) La epibolia (extensión del disco embrionario) (Fig. 14)

Gastrulación:

- a) Formación de las vesículas oculares (Fig. 15)
- b) Aparición de las somitas (estructuras segmentadas al lado del tubo neural (Fig. 16)
- c) Formación de la córnea (Fig. 17)
- d) Presencia de latidos del corazón a razón de 21 latidos por minuto (Fig. 18)
- e) Movimiento muscular, 92 latidos por minuto (Fig. 19)
- f) Pigmentación en ojos, 125 latidos por minuto (Fig. 20)
- g) Aparición de la vesícula biliar (Fig. 21)

Eclosión.

Estas fases, se observaron en al menos el 80% de los huevos de cada muestra, y en el caso de los latidos del corazón, se sacó un promedio de 10 individuos de cada muestra.

Se tomaron estas etapas con base a la descripción general del desarrollo embrionario (Balinsky y Fabian, 1983) y de la descripción parcial de Rosas (1970) y Morelos (1994), la primer etapa consistente en la segmentación (divisiones celulares mitóticas), es importante porque es el inicio del desarrollo y

aunque hubo huevos que empezaron a dividirse no llegaron al estado de mórula, que es la consecuencia de la segmentación de la célula inicial o de blástula que es el proceso final de la segmentación, quizá por malformaciones genéticas o huevo de mala calidad, entonces se consideró una etapa importante porque dependiendo de ocurran las correctas divisiones la siguiente etapa, la gastrulación aparecerá (Tabla 2), las etapas que se pudieron observar claramente, el tiempo post-fertilización en el que aparecieron y su importancia se registraron en la tabla 3.

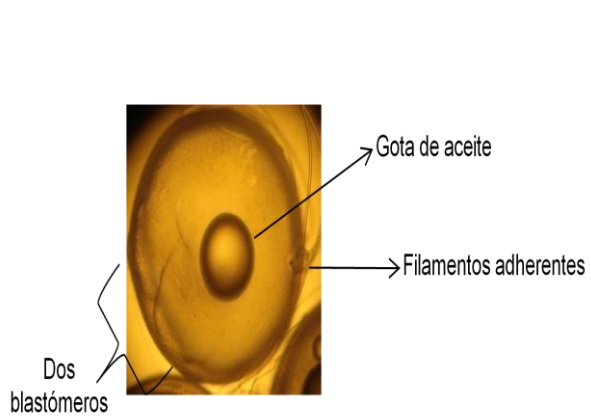


Figura 8. Dos blastómeros a 1 hora 29 minutos post-fertilización

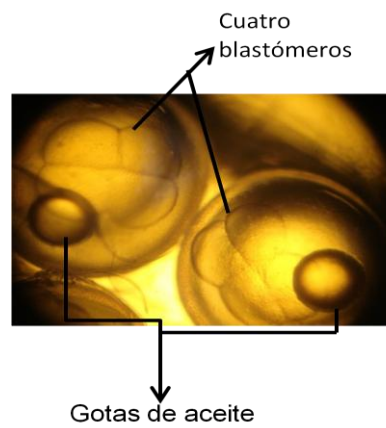


Figura 9. Cuatro blastómeros a 2 horas 20 minutos post-fertilización

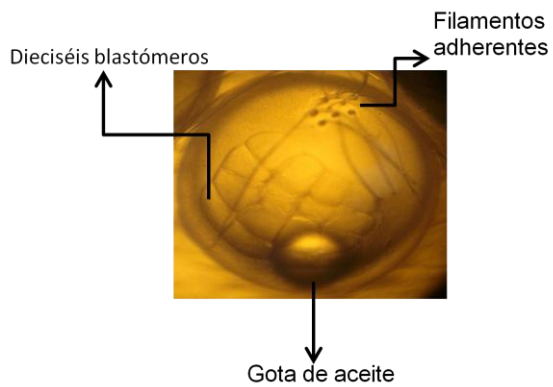


Figura 10. Dieciséis blastómeros a 3 horas 23 minutos post-fertilización

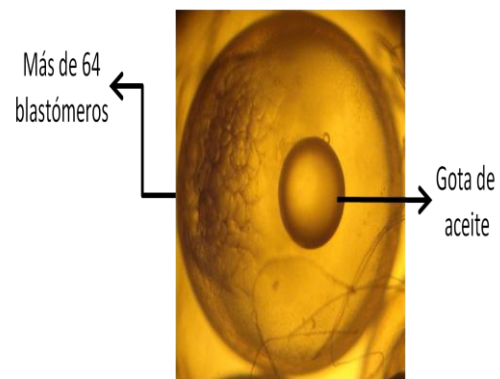


Figura 11. Más de 64 blastómeros a 4 horas 24 minutos post-fertilización

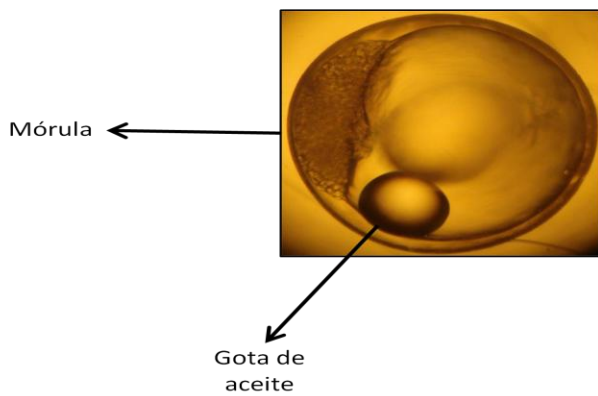


Figura 12. Presencia de la mórula a las 5 horas post-fertilización

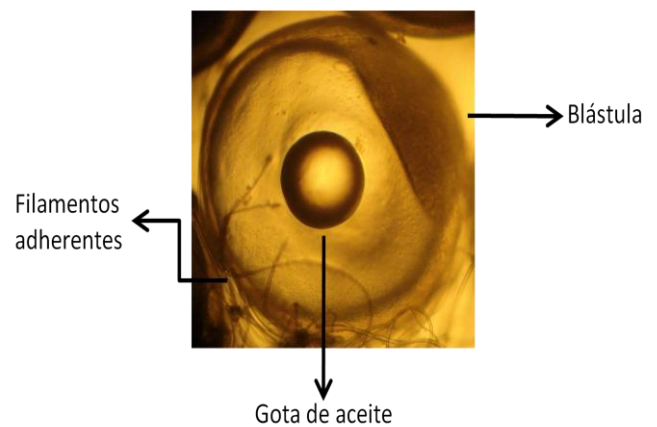


Figura 13. Ligeramente alargamiento para formar la blástula las 7 horas 43 minutos post-fertilización

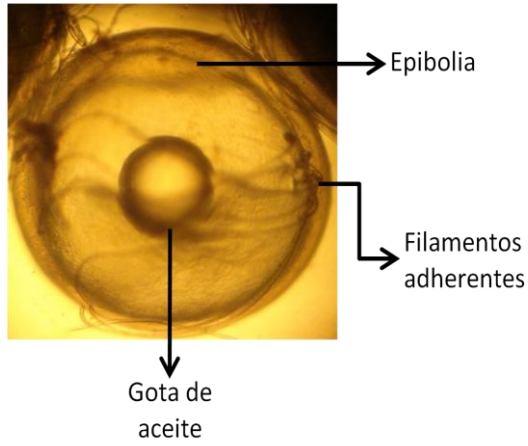


Figura 14. Epibolia a las 9 horas 49 minutos post-fertilización

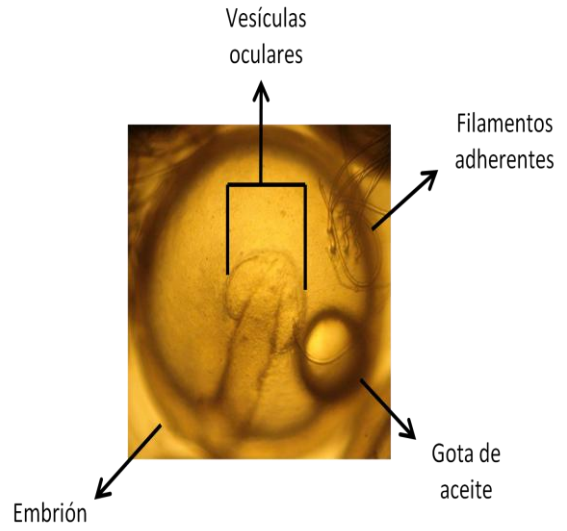


Figura 15. Formación de vesículas oculares a las 11 horas 59 minutos post-fertilización

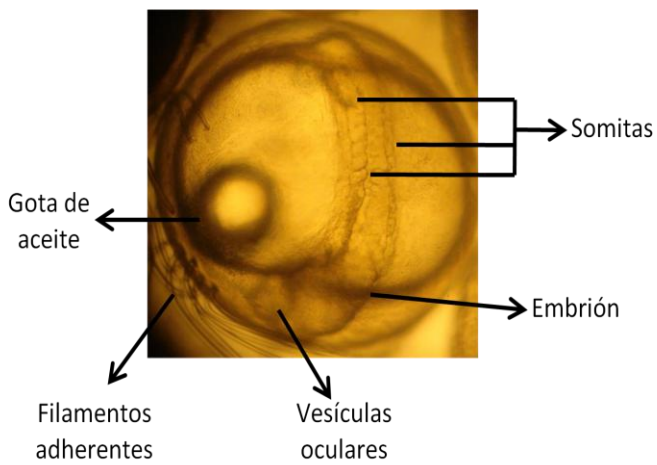


Figura 16. Formación de somitas a las 17 horas 40 minutos post-fertilización

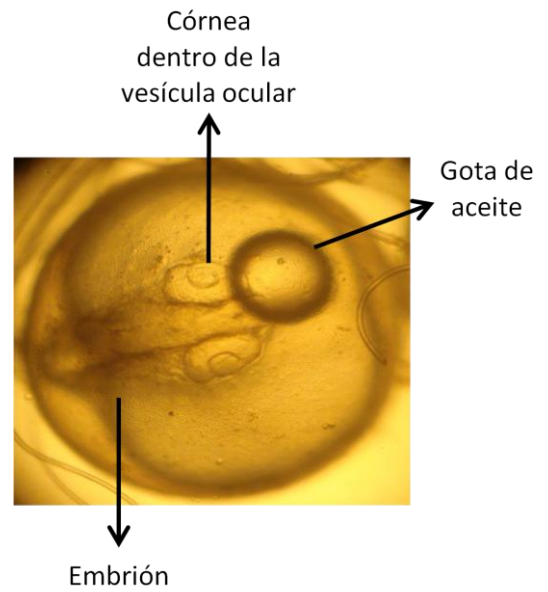


Figura 17. Formación de la córnea a las 23 horas 31 minutos post-fertilización

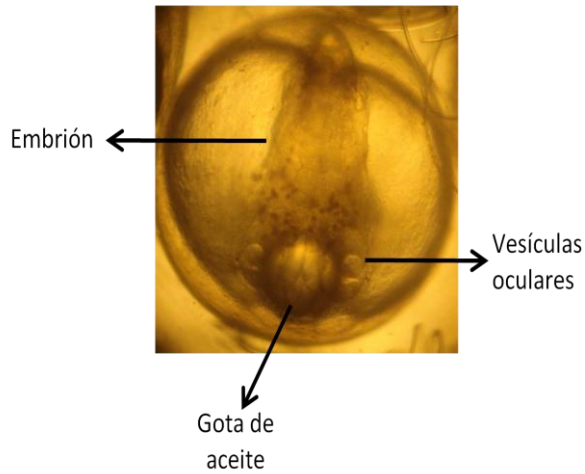


Figura 18. Presencia de latidos del corazón a las 5 horas 50 minutos post-fertilización

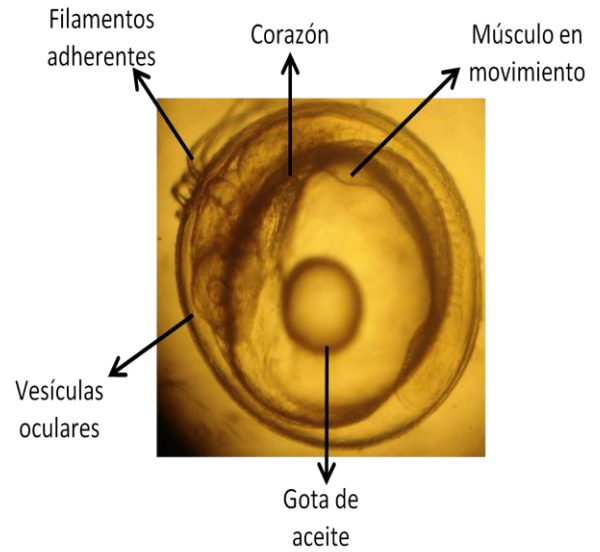


Figura 19. Aparición de movimiento muscular a las 48 horas 10 minutos post-fertilización

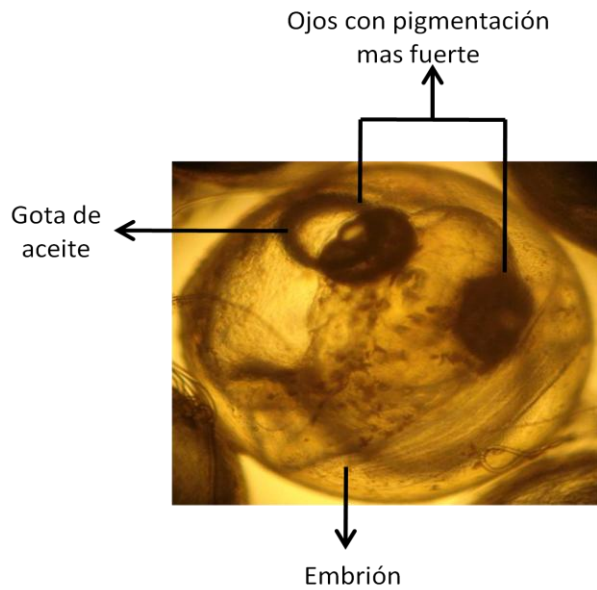


Figura 20. Pigmentación mas fuerte en ojos a las 84 horas 46 minutos post-fertilización.

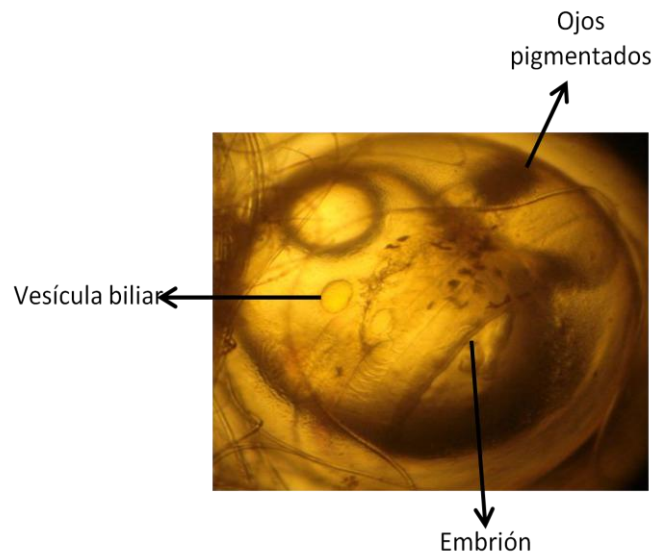


Figura 21. Aparición de la vesícula biliar a las 109 horas 5 minutos post-fertilización.

Tabla 2.

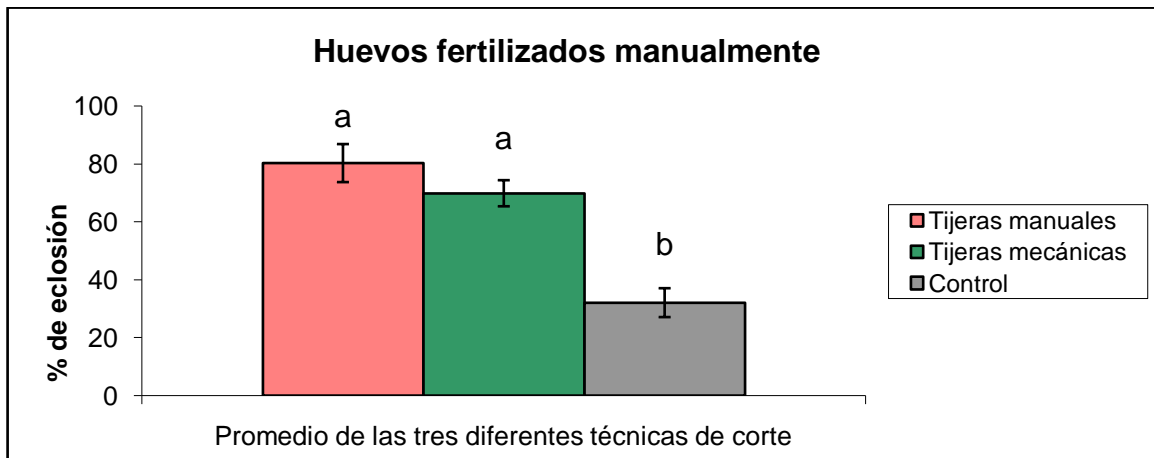
Etapa	Duración	Comprende
Segmentación	0 horas hasta las 7 horas 43 minutos	<p><u>Divisiones celulares</u>: División de los blastómeros por medio de la mitosis, comprende de 2 hasta 16 blastómeros.</p> <p><u>Mórula</u>: Masa esférica en forma de mora, contiene de 16 a 32 blastómeros.</p> <p><u>Blástula</u>: Esfera formada por los blastómeros, se va alargando para formar el blastodisco, que es la región libre de citoplasma en el polo animal del óvulo fecundado y se convertirá en el embrión.</p>
Gastrulación	7 horas 44 minutos hasta la eclosión del embrión.	<p><u>Epibolia</u>: Extensión del disco embrionario a costa de un adelgazamiento de la capa celular.</p> <p><u>Arquenterón</u>: Intestino primitivo, junto con el blastoporo.</p> <p><u>Cordamesodermo</u>: Precursor del notocordio, somitas (células adyacentes del notocordio) y precursor de las capas ectodérmicas, mesodérmicas y endodérmicas.</p> <p><u>Ectodermo</u>: genera la capa externa del embrión, produce la epidermis en la piel y también forma el cerebro y el sistema nervioso.</p> <p><u>Mesodermo</u>: es la capa intermedia entre el ectodermo y endodermo, generará la sangre, el corazón, los riñones, las gónadas, los huesos, los músculos y los tejidos conectivos</p> <p><u>Endodermo</u>: se convierte en la capa interna del embrión, produce el epitelio del tubo digestivo y los órganos asociados (incluidos los pulmones).</p>

Tabla 3

Etapas del desarrollo observadas en <i>C. estor</i> a 25°C		
Presencia de	Tiempo post-fertilización	Importancia
División de blastómeros por mitosis (segmentación)	De la hora 0 hasta las 7 horas 43 minutos, siendo la hora 0 cuando se realizó la fertilización.	Si no hay correcta división mitótica, no seguirá el desarrollo del embrión
Vesículas oculares	11 horas 51 minutos	La presencia o ausencia de las vesículas oculares puede representar una ventaja al alimentarse.
Somitas	17 horas 40 minutos	Dado que son las estructuras segmentadas al lado del tubo neural, una malformación aquí comprometería el desarrollo del sistema nervioso.
Latidos del corazón	35 horas 50 minutos	Si no hay latidos, no hay embrión vivo, si presenta arritmias o malformaciones del corazón, puede llegar a tener problemas al eclosionar.
Movimiento muscular continuo	48 horas 10 minutos	Si no hay movimiento muscular, no se puede realizar los movimientos básicos de nado.
Aparición de la vesícula biliar	109 horas 5 minutos	Es importante para la correcta degradación del alimento.

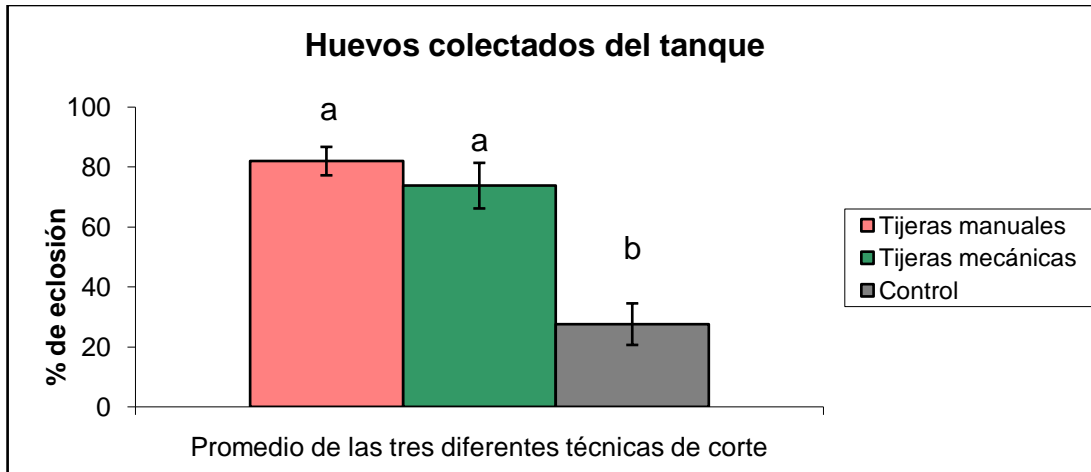
II.- Efecto del tipo de corte (tijera manual y eléctrica) de filamentos adherentes de huevo en el porcentaje de eclosión de huevo recién fertilizado.

De los huevos obtenidos directamente de la hembra de *C. estor*, se obtuvo un promedio del porcentaje de eclosión de las muestras, dando como resultado con tijeras manuales de 80.32%, con las tijeras mecánicas de 69.91%, y en el caso del control de 32.15% (Gráfica 4)



Gráfica 4. Comparación de los porcentajes de eclosión de *C. estor* con las tres diferentes técnicas de corte a los 20 minutos post-fertilización.

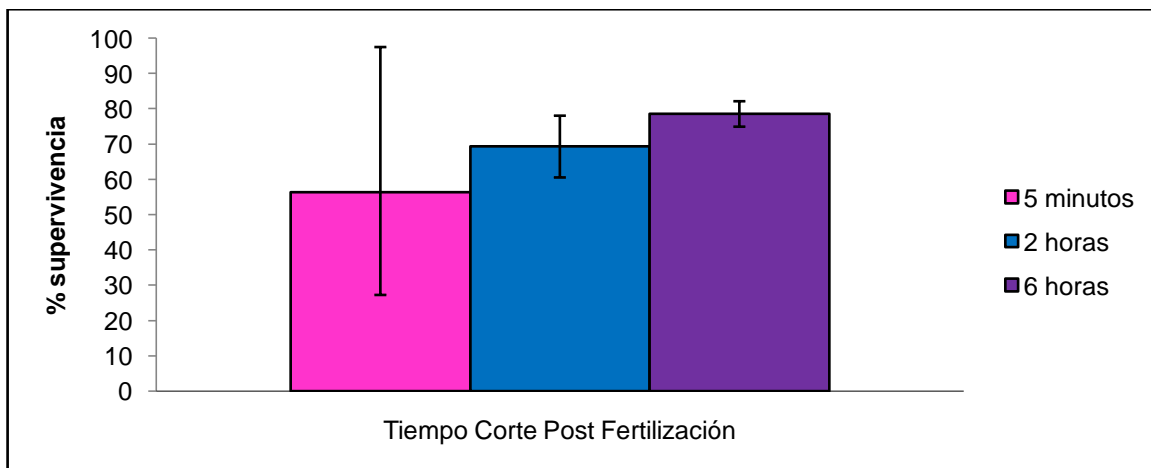
A los cigotos obtenidos directamente del estanque donde se mantienen los reproductores de *C. estor* y se les aplicaron las diferentes técnicas de corte, se obtuvo un promedio del porcentaje de eclosión de las muestras, dando como resultado con tijeras manuales de 81.95%, con las tijeras mecánicas de 73.77%, y el control de 27.58% (Gráfica 5)



Gráfica 5. Comparación del promedio del porcentaje de eclosión de *C. estor* con los diferentes tipos de corte 20 minutos después de recolectados

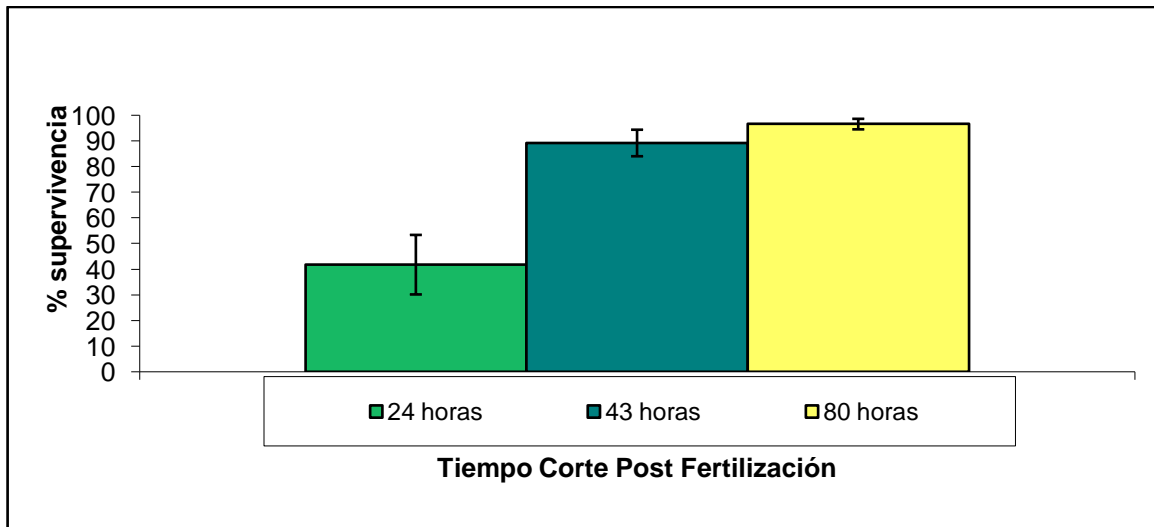
III.- Efecto de corte en seis tiempos (5min., 2 hrs., 6hrs., 24hrs., 43hrs. y 80hrs. post-fertilización) en la supervivencia a oculación.

A los huevos obtenidos directamente de dos hembras de *C. estor* y fertilizados manualmente, se les realizaron los cortes de los filamentos adherentes a diferentes horas post-fertilización y se obtuvo un promedio de supervivencia a oculación, teniendo a los 5 minutos el 56.39%, a las 2 horas de 69.36% y a las 6 horas de 78.61% (Gráfica 6), no existiendo una diferencia significativa.



Gráfica 6. Comparación de la supervivencia a diferentes tiempos post-fertilización de corte de los filamentos adherentes en la etapa de oculación.

Se realizó una segunda fertilización de huevos de *C. estor*, dando como resultado a las 24 horas de 41.89% a las 43 horas de 89.27% y a las 80 horas de 96.63% (Gráfica 7), existiendo solo una diferencia significativa con respecto del grupo control.



Gráfica 7. Comparación de la supervivencia a la etapa de oculación de corte de los filamentos adherentes en la ventana de 6 a 117 horas post-fertilización.

IV.- Determinar la presencia de dimorfismo sexual en reproductores de *C. estor*.

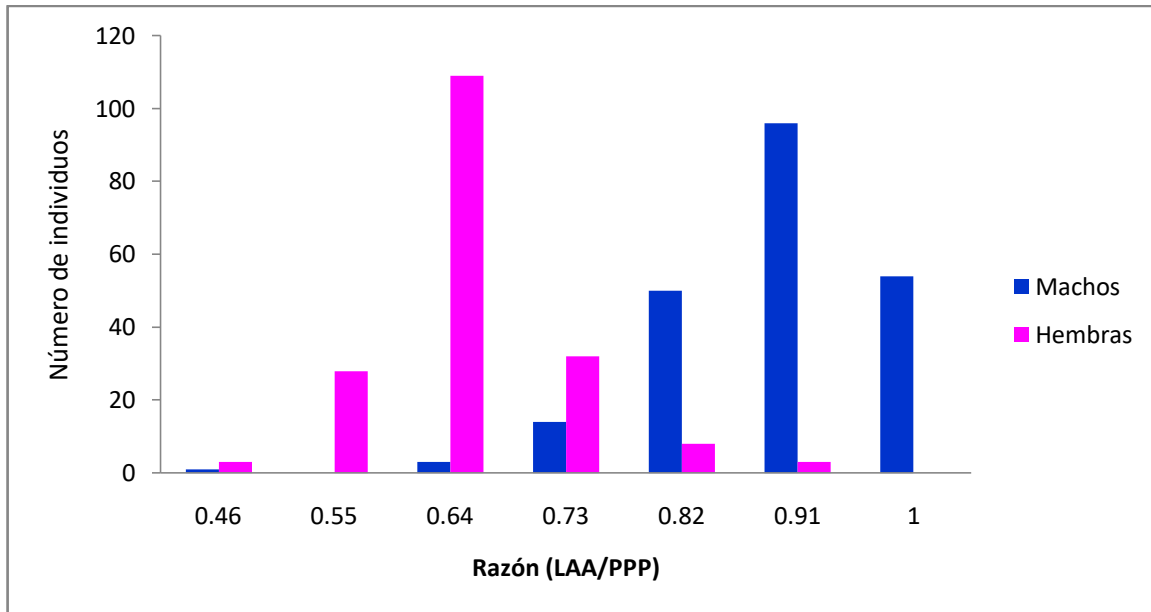
A través del censo poblacional realizado en reproductores de *C. estor* y *C. promelas* se obtuvieron diversas morfometrías con las cuales se hicieron una serie de correlaciones y análisis estadísticos con el fin de detectar dimorfismo sexual.

En la Tabla 2 se muestran los promedios de las morfometrías obtenidas de los reproductores de *C. estor*., la razón LAA/PPP, la cual elimina de la ecuación el tamaño, peso y edad de los organismos, presenta diferencias significativas entre sexos siendo 0.851 ± 0.12 para los machos y 0.610 ± 0.073 para las hembras. Esto es aún mas claro al graficarse ya que pueden observarse claramente dos

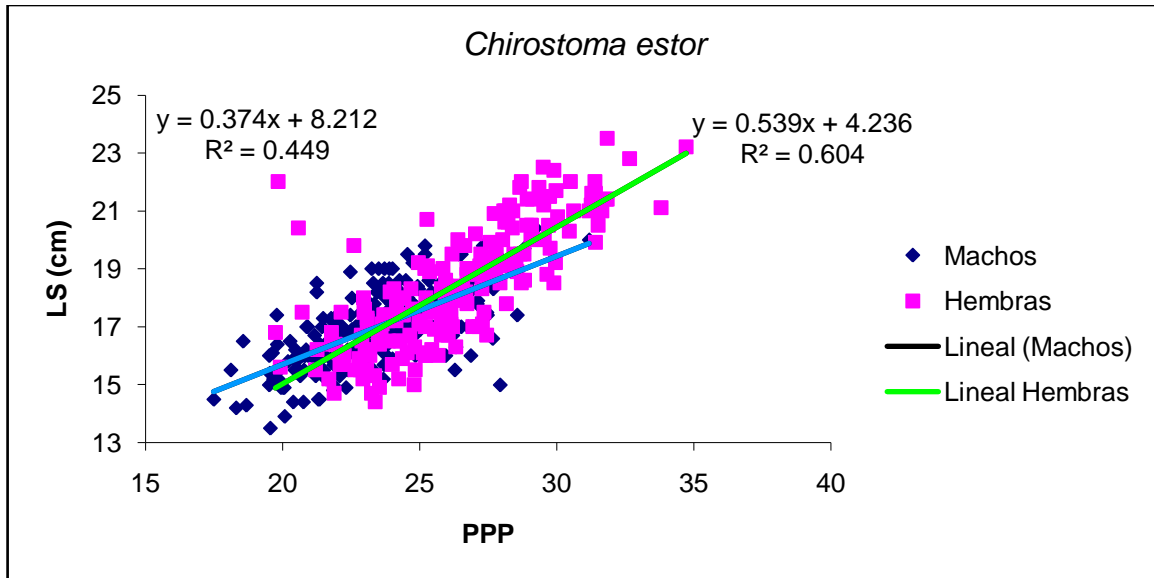
poblaciones distintas de organismos (machos y hembras; Gráficas 8 y 9) las cuales además presentan diferencias significativas en sus pendientes.

Tabla 2.- Datos de las morfometrías tomadas de los Machos ♂ y Hembras ♀ de *Chirostoma estor*.

	Peso (gr)	LS (cm)	PPP (mm)	FPP (mm)	Razón (LAA/PPP)
Promedio ♂	52.21±13.58	16.97±1.32	23.34±2.67	3.40±2.18	0.851 ±0.12
Min-max ♂	21.55-96.4	13.5-20.4	4.48-31.19	0 - 13.09	0.087 - 1
Promedio ♀	61.76±20.86	18.40±2.10	26.23±3.02	10.25±2.28	0.610±0.073
Min-max ♀	28.97-139	23.5-14.4	19.75-34.73	2.8-15.7	0.394- 0.90



Gráfica 8. Distribución de individuos de *C. estor* con respecto a la Razón (longitud de la aleta anal / longitud del principio de la aleta anal al poro genital)

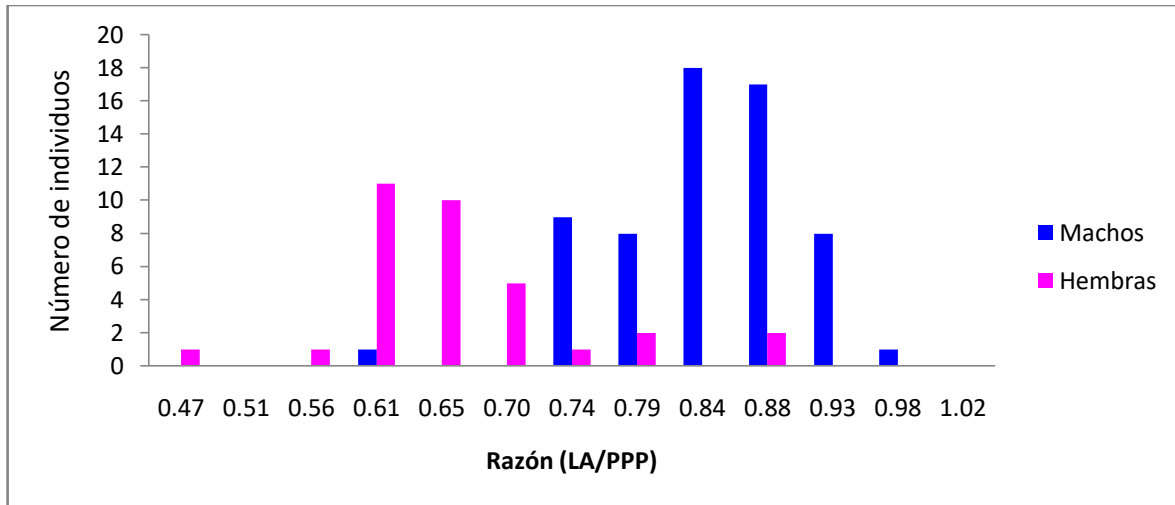


Gráfica 9. Distribución de Machos y Hembras con respecto a su Longitud estándar y la longitud del principio de la aleta anal al poro genital

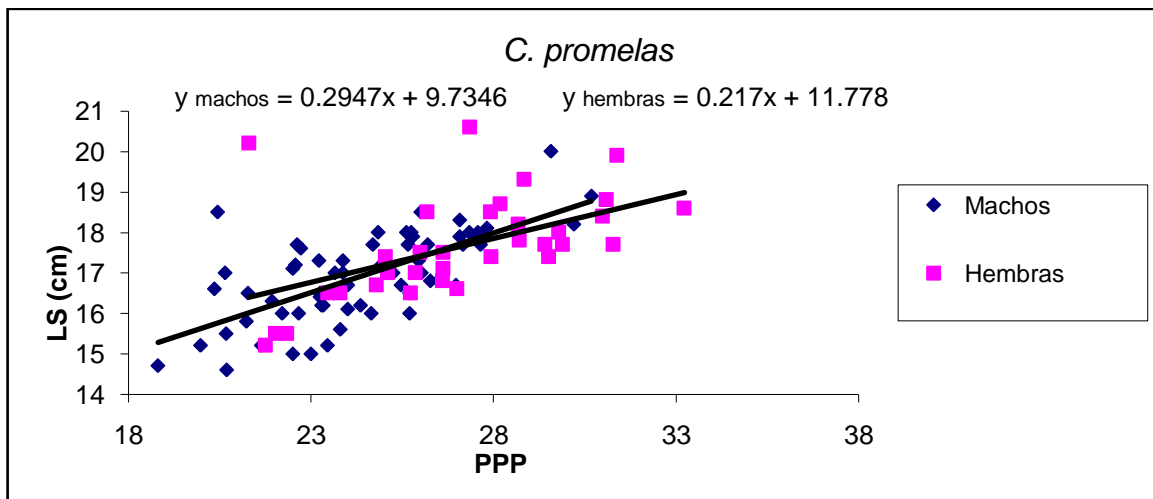
Al igual que con *Chirostoma estor* en *C. promelas* se tomaron las mismas morfometrías las cuales pueden observarse en la Tabla 3 (Gráficas 10 y 11).

Tabla 3.- Datos de las morfometrías tomadas de Machos♂ y Hembras♀ de *C. promelas*

	Peso (gr)	LS (cm)	PPP (mm)	FPP(mm)	Razón (LAA/PPP)
Promedio♂	47.72± 8.01	16.92±1.11	24.40±2.57	4.46±1.77	0.819±0.064
min- max♂	28.43-64.32	14.6 - 20	18.8- 30.67	1.45-10.5	0.592-0.930
Promedio♀	53.90±11.78	17.65±1.27	27.09±3.04	9.84±2.70	0.638±0.084
min-max♀	31.5-76.3	15.2 - 20.6	21.3- 33.22	3.67- 15.44	0.467-0.883



Gráfica 10. Número de individuos de la población *C. promelas* con respecto a la Razón (Longitud de la aleta anal / Longitud del principio de la aleta anal al poro genital)



Gráfica 11. Distribución de Machos y Hembras con respecto a su Longitud estándar y la longitud del principio de la aleta anal al poro genital

Comparando las gráficas 8 y 10, notamos una diferencia con respecto a los valores de la Razón (Longitud de la aleta anal / Longitud del principio de la aleta anal al poro genital), esto debido a que los valores se acercan más a 1 en los machos, observándose las aletas de éstos más largas (Fig. 22) que las de las hembras, cuyo valor se aleja de 1 y se acerca más a 0.5 (Fig. 23).

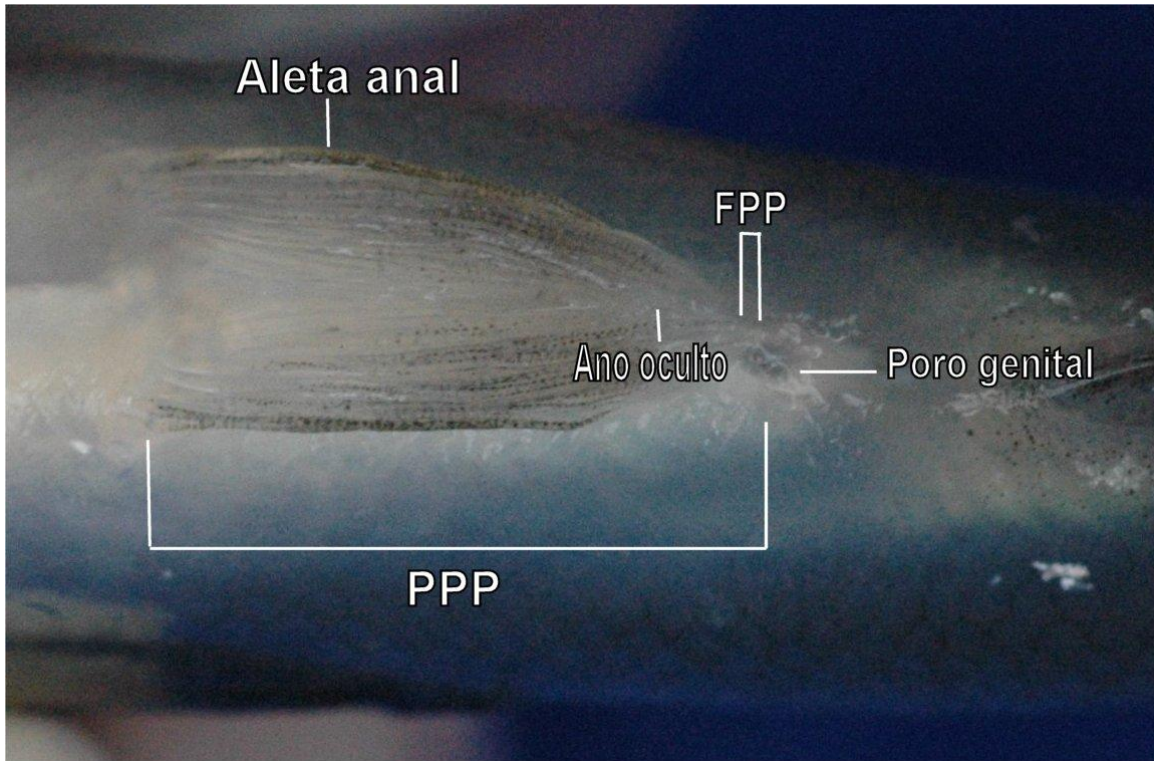


Figura 22. Macho típico de *C. estor*

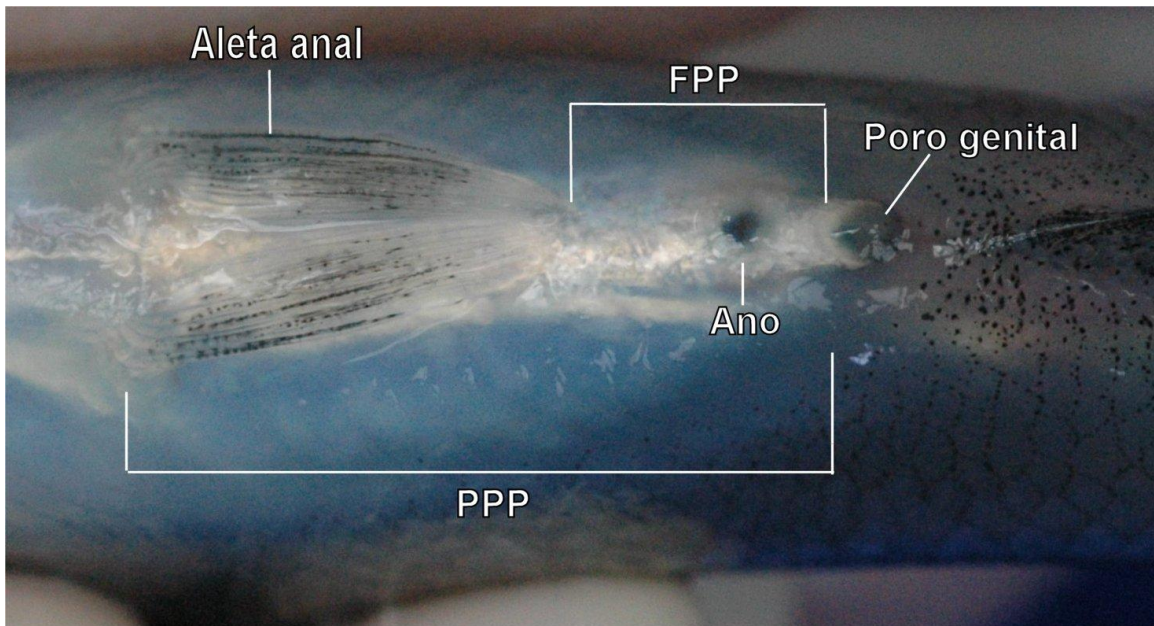


Figura 23. Hembra típica de *C. estor*

7. Discusión

El manejo eficiente de cualquier nueva especie acuícola involucra una curva de investigación y conocimiento durante un periodo de tiempo considerable. El caso del pez blanco no es la excepción y aunque actualmente se cuenta con un paquete tecnológico básico de cultivo, siempre hay áreas y puntos críticos que deben ser mejorados. La primera evidencia de técnica de corte de filamentos adherentes en atherinópsidos es mencionada en Ringuelet (1943), aunque no precisa si se hicieron pruebas de tiempos o tipos de corte. En este estudio el objetivo fue evaluar a mayor detalle los tiempos y tipos de corte de los filamentos adherentes que mejoren la sobrevivencia de los huevos y embriones. Para ello primeramente se describió a detalle el desarrollo embrionario de *C. estor*, el cual solo había sido parcialmente hecho (Rosas 1970; Morelos *et al.*, 1994). Con base en la descripción del desarrollo embrionario (Balinsky y Fabian, 1983; Gilbert, 2010; López-Sánchez, 2013) y de la descripción parcial de Rosas (1970) y Morelos (1994), se lograron identificar varias etapas de desarrollo y sus tiempos de aparición post-fertilización a 25°C. Se describieron huevos con divisiones celulares por medio de mitosis (aparición de blastómeros), porque hubo huevos, que presentaban el casquete citoplasmático, que indica que están fertilizados, pero algunos de éstos no comenzaron con las divisiones mitóticas, quedándose en 4-16 blastómeros, sin avanzar mas en el desarrollo. Lo anterior, quizá por una mala calidad de huevo o errores genéticos. Otra etapa más avanzada en donde se observaron problemas similares de desarrollo fue en la etapa de aparición de las vesículas oculares, en donde se observaron algunos embriones sin ojos o con un solo ojo, teniendo esto implicaciones para la alimentación y supervivencia larval de llegar a la eclosión.

En la etapa de formación de somitas, no se observaron deformaciones evidentes en el microscopio, sin embargo se consideró que una deformación en esta etapa, implicaría que el pez tenga malformaciones vertebrales o en el sistema nervioso, lo que resultaría en un pez que quizá sobreviva pero tenga alguna

deficiencia para su locomoción, como ha sido reportado previamente en otras especies (Lijalad and Powell, 2009; García Concha, 2016).

La siguiente etapa que se consideró en la tabla 3, fue la presencia de latidos del corazón, dado que si un pez presenta arritmias o malformaciones, esto comprometería su situación al eclosionar por no poder tener la fuerza suficiente para llevar toda la sangre y oxígeno que necesite el organismo para salir del saco vitelino y eclosionar. En este trabajo, los latidos fueron evidentes a las 35 horas 50 minutos, aunque en el estudio de Rosas (1970) esta misma etapa se reportó a las 56 horas a 22°C. Lo anterior, demuestra lo importante que es la temperatura en el metabolismo y desarrollo embrionario de organismos de sangre fría.

Otra etapa descrita fue la presencia del movimiento muscular continuo, es decir, que el embrión se moviera de manera constante dentro del huevo, lo cual sugiere la presencia de un embrión debidamente formado y que al eclosionar podrá nadar sin problemas. En *Salmo salar* (Lajalad y Powell, 2009) reportaron las consecuencias en la velocidad de nado, dando como resultado la muerte casi inminente de los organismos, cuando la velocidad de nado al eclosionar no es la óptima.

La última etapa considerada en la tabla 3 antes de la eclosión, fue la aparición de la vesícula biliar, ya que su malformación o inexistencia, desataría un grave problema al procesar los alimentos, por lo que podría desencadenar su muerte. Es importante destacar que estas etapas fueron medidas a la temperatura ideal de crecimiento, determinada en estudios previos y es 25°C (Barriga-Tovar, 2000; Campos, 2000; Martínez-Palacios, 2002, Navarrete-Ramírez, 2011). Sin embargo, si ésta es alterada, las horas en las que se presentan las etapas pueden variar, por ejemplo, la eclosión a 25°C ocurre alrededor de las 121 horas 24 minutos, en cambio a 22°C ocurre a las 168 horas como reportó Rosas (1970) en su estudio.

Con la información anterior fue posible identificar los tiempos de estadíos de desarrollo a evaluar en el segundo experimento que consistió en saber si existe algún efecto del tipo de corte (tijera común y tijera eléctrica) de filamentos

adherentes de huevo en el porcentaje de eclosión de huevo recién fertilizado. Lo anterior ocurre en diversas especies de peces como cíclidos (Cichlidae), gobios (Gobiidae), blénidos (Blenniidae) y pirañas (Serrasalminae). (Riehl y Patzner, 1998). En la planta del IIAF el cigoto es cotidianamente limpiado (se le cortan los filamentos adherentes) con tijeras mecánicas y manuales, pero hasta este estudio no existían datos que indiquen cual de estos métodos es más eficiente y adecuado para favorecer la supervivencia del huevo. Únicamente se sabía que los filamentos adherentes debían ser cortados, debido a la facilidad para incubarlos pero sobre todo para evitar la contaminación por hongos (Martínez-Palacios, 2000). En el segundo experimento, se comprobó que el índice de supervivencia para ambos métodos era significativamente mayor cuando se cortaban los filamentos adherentes que cuando se dejaban sin cortar independientemente del método (Gráfica 4 y 5). Este resultado confirma la necesidad de utilizar cualquiera de estos dos mecanismos de corte para mejorar la supervivencia larval en la planta experimental.

Partiendo de esta afirmación, era necesario ver si el tiempo de corte influía en la supervivencia ya que posiblemente existían algunas etapas de desarrollo más sensibles a la manipulación mecánica de los huevos. En el experimento 3(A) se encontró evidencia de que posiblemente pudiera haber algún periodo alrededor de las 24hrs post-fertilización en donde los huevos fueren sensibles al corte (Gráfica 6), aunque en dicho lote de huevo utilizado se observó mucha variación en la supervivencia. Por lo tanto se repitió el experimento (3B) tratando de corroborar dicha sensibilidad, sin embargo no se observaron diferencias significativas en todas las horas a las que se realizó el corte (Gráfica 7) lo cual indica que posiblemente lo observado en el primer experimento fue un artefacto debido a la calidad de huevo y/o a su manejo, ya que en este último experimento la supervivencia fue muy alta (> 90%). Con esto podemos concluir que el tiempo y etapas en las que se realizan los cortes no afectan significativamente la supervivencia a la oculación.

Cuando existe el dimorfismo sexual en peces puede ser tan variado e interespecífico, por lo que no se puede hablar de generalidades, sin embargo es

común en especies altamente sociables como los goodeidos y ciclidos. Algunos otros ejemplos son el salmón del Pacífico (*Oncorhynchus*) y en el salmón de Coho (*O. kisutch*) donde es sencillo diferenciar machos y hembras, la aleta adiposa varía de tamaño, al igual que la mandíbula superior (Beacham y Murray, 1986).

En el transcurso de este estudio se observaron diferencias claras en cuanto a la longitud de las aletas anales en esta especie para la cual no existía ningún reporte de dimorfismo sexual anteriormente y que podría ser muy útil para el manejo cotidiano de reproductores de ésta y otras especies de atherinópsidos.

En el presente estudio se constató que la aleta anal variaba consistentemente de tamaño entre ambos sexos, siendo significativamente más largas en los machos que en las hembras. De hecho, en este trabajo se encontró que la razón entre la longitud del principio de la aleta anal (PPP) y la longitud de la aleta anal (LAA) tiende a ser cercano a 1 en machos ya que dicha LAA tiende a llegar al poro genital mientras que en hembras tiende a ser más cercana a 0.5, corta y significativamente lejana al poro genital (Ver Figs. 31 y 32). Este descubrimiento permitirá manipular más rápido y sin presión abdominal (lo cual genera un estrés considerable) en especies altamente sensibles al manejo como lo son *C. estor* y *C. promelas*.

Cabe destacar que los individuos de *C. estor* y *C. promelas* utilizados, ya habían alcanzado su madurez reproductiva (>7 meses), por lo que se ignora si esta característica fenotípica se asocia a algún factor genético (cromosómico, por ejemplo) o se exprese sólo hasta la etapa de madurez sexual como es el caso de salmónidos (*Oncorhynchus sp.*) en donde el dimorfismo sexual sólo se presenta en peces maduros (Beachman y Murray, 1986). Esto deberá ser determinado en subsecuentes estudios en estas dos especies.

La razón evolutiva de este dimorfismo sexual (si es que existe) es actualmente desconocido, sin embargo, se propone como hipótesis que puede ser debido a la necesidad que tienen los machos de poner rápidamente en suspensión su esperma el cual se ha observado que en ambas especies es significativamente

más espeso y producido en menor cantidad que en otras especies de peces de tamaño similar. Sin embargo, deberá ser comprobado en futuros estudios.

Por otro lado, en este trabajo también se observaron algunas excepciones, es decir, individuos masculinos con aletas muy cortas y viceversa, para lo cual se proponen las siguientes tres hipótesis: a) que algunos de estos individuos tuvieran malformaciones no claramente visibles o identificables desde el exterior (como acortamiento lumbar) y que por lo tanto hayan sesgado los promedios, b) la existencia de organismos híbridos (ya que varias especies de peces blancos de Chapala fueron introducidos al lago de Pátzcuaro antes de que se tomaran los especímenes originales para domesticación) y que por lo tanto haya alguna mezcla de factores genéticos, lo cual es posible ya que en el laboratorio han determinado la viabilidad de dichos híbridos y c) la posible existencia de machos y/o hembras reversadas por temperatura ya que un estudio reciente (Corona-Herrera *et al.* 2013; 2018), encontró que por encima de 20°C la razón sexual favorece a machos y que a altas temperaturas (29°C o más) la razón llega cerca del 90% de machos. Esta última hipótesis (sin descartar que además sea una mezcla de las anteriores) puede ser la principal razón de estos organismos atípicos ya que es posible que se hayan masculinizado o feminizado sin necesariamente haber cambiado su fenotipo sexual. Sin embargo, todas estas hipótesis deberán ser confirmadas en estudios posteriores.

8. Conclusión

La descripción del desarrollo embrionario, se realizó con éxito ya que se identificaron y describieron la mayoría de las etapas del mismo, que en el caso de *C. estor*, no se había realizado antes.

Habiendo evaluado los potenciales estadios de desarrollo susceptibles al corte, se concluye que ni el tiempo ni el tipo de corte influye significativamente en la supervivencia de los huevos.

Existe un claro dimorfismo sexual en individuos maduros de *C. estor* y *C. promelas* el cual consiste en que el tamaño de la aleta anal en machos es mayor que en hembras.

9. Bibliografía

- Abdollahpour, H., Falahatkar, B. and C. Lawrence. 2020. The effect of photoperiod on growth and spawning performance of zebrafish, *Danio rerio*. Aquaculture Reports Volume 17.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100295>
- Alvarado S. 1967. *Biología general*. Madrid, España.
- Álvarez Torres, P., Ramírez Martínez, C. y A. Orbe Mendoza. 1999. Desarrollo de la Acuicultura en México y perspectivas de la acuicultura rural. Red de Acuicultura Rural en pequeña escala, Taller ARPE, FAO-UTC. pp 1-38.
- Andrade, T.E. 1990. Desarrollo embrionario y larval de *Chirostoma patzcuaro* Meek, 1902 y de los híbridos obtenidos por fecundación artificial con *Chirostoma grandocule* Steidachner 1894 (Pisces: Atherinidae) del lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Tesis Profesional, Escuela de Biología, UMSNH. 88p.
- Barriga-Tovar, E. 2000. Efectos de la temperatura del agua en la sobrevivencia y el crecimiento de larvas de pez blanco del lago de Pátzcuaro *Chirostoma estor estor* (Pises: Atherinidae). Tesis profesional. U.M.S.N.H. Morelia, Michoacán. 75p.
- Balinsky, B.I. y B.C., Fabian. 1983. Introducción a la Embriología. Ediciones Omega, Barcelona, España pp 146-218
- Barbour, Clyde D., 1973. A Biogeographical History of *Chirostoma* (Pisces: Atherinidae): A Species Flock from the Mexican Plateau. *Copeia*

Vol. 1973 No. 3. American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH) 533-546pp.

- Barker, G.A., Smith, S.N. and Bromage, N. 1991. Commensal bacteria and their possible relationship to the mortality of incubating salmonid eggs. *Journal of Fish Diseases*. 14, 199-210pp.
- Barker, G.A., Smith, S.N. and Bromage, N. 1989. The bacterial flora of rainbow trout, *Salmo gairdneri* and brown trout, *Salmo trutta*, eggs and its relationship to developmental success. *Journal of Fish Diseases*. 12, 281-293 pp.
- Bivrio MF, R. Bassi y F. Cotelli. 1991. Identification and characterization of the major components of the *Oncorhynchus mykiss* egg chorion. *Mol Reprod Develop* 28, 85-93.
- Bobe Julien. 2015. Egg quality in fish: Present and future challenges. *Animal Frontiers* Jan. 2015, Vol. 5, No.1. 66-72pp.
- Bobe Julien and Labbé Catherine. 2010. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology* Vol. 165, 535-548pp.
- Bromage N.R. and R.J. Roberts. 1995. *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. eds. Wiley-Blackwell 1st edition, UK, pp 432.
- Bromage N.R., Bruce M., Basavaraja N. and K. Rana. 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *J World Aquaculture Soc* 25:13-21

- Bromage, N., Jones J., Randall C., Thrush M. and B. Davies. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 100: 141-166
- Bromage, N., Hardiman P., Jones J., Springate J. and V. Bye. 1990. Fecundity, egg size and total egg volume differences in 12 stocks of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquacult Res.* 21: 269-284.
- Bromage N. and Cumaranatunga, R. 1988. Egg production in the rainbow trout. In *Recent Advances in Aquaculture, Vol. IV* (eds. J.F. Muir and R.J. Roberts). Croom Helm/Timber Press, London and Sydney/Portland, Oregon. pp. 63-138.
- Bromage, N. and Duston, J. 1986. The Control of spawning in the rainbow trout using photoperiod techniques. *Report of the Institute of Freshwater Research Drottningholm*, 63, 26-35.
- Bromage, N., Elliot, J.A., J. and Whitehead, C. 1984. The effects of constant photoperiods on the timing of spawning in the rainbow trout. *Aquaculture*, 43, 213-223.
- Brooks S., Tyler Charles R. and Sumpter John P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* Vol. 7, 387-416pp.
- Campbell, P.M., Pottinger, T.G. and Sumpter, J.P. 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of Reproduction*. pp 47, 1140-1150.

- Campos, A. 2000. Comparación del crecimiento de tres especies del género *Chirostoma estor* (Pises: Atherinidae), en cultivo experimental dentro de sistemas parciales de recirculación de agua. Tesis de Maestría. U.M.S.N.H. Morelia, Michoacán. 70p.
- Carrillo, M., Bromage, N., Zanuy, S., Serrano, R. and Prat, F., 1989. The effects of modifications photoperiod on spawning tie, ovarían development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, pp. 81, 351-365.
- Carta Nacional Pesquera 2004. http://www.sagarpa.gob.mx/conapesca/ordenamiento/carta_nacional_pesquera/260404/CNP%20Parte%201.pdf
- Chacón, A. and Rosas-Monge. 1995. A restoration plan for pez blanco in lake Pátzcuaro, Mexico. *American Fisheries Society Symposium*, 15: 122-126.
- Corona-Herrera, G.A., Arranz, S.E., Martínez-Palacios, C.A., Navarrete-Ramírez, P., Toledo-Cuevas, E.M., Valdez-Alarcón, J.J. y C.C. Martínez-Chávez. 2018. Experimental evidence of masculinization by continuous illumination in a temperature sex determination teleost (Atherinopsidae) model: is oxidative stress involved?. *Journal of Fish Biology*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfb.13651>
- Corona-Herrera, G.A., Tello-Ballinas, J.A., Hattori, R.S., Martínez-Palacios, C.A., Strüssman, C.A., Cárdenas Reygadas, R. y Martínez-

- Chávez, C.C. 2013. Temperature-dependent sex determination in *Chirostoma estor*, a freshwater Atherinopsid. Article in progress.
- Duarte, C.M., M. Holmer, Y. Olsen, D. Soto, N. Marbà, J. Guiu, K. Black and I. Karakassis. 2009. Will the Oceans Help Feed Humanity?. *BioScience* 59: 967–976.
 - FAO Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. 2022. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul. Roma, FAO. 31-35pp. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
 - FAO Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. 2010. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma. 3-95pp.
 - Fonseca-Madrigal, J., Pineda-Delgado, D., Martínez-Palacios, C., Rodríguez, C. & Tocher, D. R. 2012. Effect of salinity on the biosynthesis of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in silverside *Chirostoma estor*. *Fish Physiology & Biochemistry* 38, 1047-1057pp.
 - García Concha Omar. 2016. Descripción del desarrollo esquelético de *Totoaba macdonaldi*, caracterización de sus malformaciones y su efecto en el desempeño biológico. Tesis de Maestro en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
 - Gilbert, S. E. 2010 *Developmental Biology*. Ninth Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts, 275-282pp.

- Gillet, C. 1991. Egg production in an Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) broodstock; effects of temperature on the timing of spawning and the quality of the eggs. *Aquatic Living Resources*. 4, 109-116pp.
- Giménez, G., Estévez, A., Lahnsteiner, F., Zecevic, B., Bell, J.G., Hernderson, R.J., Piñera, J.A., Sanchez-Prado, J.A. 2006. Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 260, 232-243.
- Hansen Bjørn Henrik, Kjørsvik E., Malzahn A.M., Sarno A., Martin Kulid O., Farkas J., Nordtug T., Rye R., Kvæstad B., Lein I. y A. Hagemann. 2022. Ovalipid profiling and egg quality in wild and captive lumpfish, *Cyclopterus lumpus* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture Volumen* 560. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738556>
- Hansen, G.M. and J.A. Olafsen,. 1989. Bacterial colonization of cod *Gadus morhua* and halibut(*Hipoblossus hipoglossus*) eggs in marine aquaculture. *Applied and Environmental Microbiology*. 55, 1435-1446pp.
- Holmer, M., K. Black, C.M. Duarte, N. Marbá, I. Karakassis,. 2008. *Aquaculture in the Ecosystem*. Springer Netherlands. 326p.
- Horvát, L., G. Tamás & I. Tölg. 1984. Special methods in pond fish husbandry. Halver, J. (Ed.) *Akadémiai Kiadó*. Halver Coprporation, Seattle. Budapest. 148p.
- Jones, J. and N. Bromage, 1987. The influence of ration size on the reproductive performance of female rainbow trout. In *Reproductive Phisiology of Fish 1987*, (eds D. Idler, L. Crim and J. Walsh). *Marine Science Laboratory, St Johns, Newfoundland*. 202p.

- Juárez–Palacios, R. 1987. La acuicultura en México, importancia social y económica. In: Desarrollo Pesquero Mexicano 1986–1987. Secretaría de Pesca. México. 219–232 pp.
- Keller, P.J., Schmidt A.D., Wittbrodt J. and E.H. Stelzer. 2008. Reconstruction of zebrafish early embryonic development by scanned light sheet microscopy. *Science* Nov 14;322(5904):1065-9 doi: 10.1126/science.1162493.
- Lijalad, M. and Powell M. D. 2009. Effects of lower jaw deformity on swimming performance and recovery from exhaustive exercise in triploid and diploid Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture* 290 (1-2), 145–154.
- López-Sánchez, C., García-López, V., Mijares, J., Domínguez, J.A., Sánchez-Margallo, F.M., Álvarez-Miguel, I.S. y Virginio García-Martínez. 2013. Gastrulación: Proceso clave en la formación de un nuevo organismo. *Revista ASEBIR* Junio 2013 vol. 18: 29-41.
- Lopez-Sanchez, C., Puelles, L., Garcia-Martinez, V., Rodriguez-Gallardo, L. 2005. Morphological and molecular analysis of early developing chick require an expanded series of primitive-streak stages. *J. Morphol.*, 264: 105-116.
- Martínez-Palacios, C.A., Concha-Santos, S., Toledo-Cuevas, E.M., Ríos-Durán, M.G., Martínez-Chávez, C.C., Navarrete-Ramírez, P., Raggi, L., Strussmann, C., Hualde, J.P., Demicheli, M.A. y J. Fonseca-Madrigal. 2020. High levels of docosahexaenoic acid are present in eight New World

silversides (Pisces: Atherinopsidae). Neotrop. Ichthyol. 18(2).
<https://doi.org/10.1590/1982-0224-2019-0089>

- Martínez-Palacios, C.A., Ríos Durán, M.G., Fonseca-Madrigal, J., Toledo-Cuevas, M., Sotelo López, A., and L.G. Ross. 2008. Developments in the nutrition of *Menidia estor* Jordan 1880. Aquaculture Research Volume 39: 738-747.
- Martínez-Palacios, C.A., Comas Morte, J., Tello-Ballinas, J.A., Toledo-Cuevas, M. and L.G. Ross. 2004. The effects of saline environments on survival and growth of eggs and larvae of *Chirostoma estor* Jordan 1880 (Pisces: Atherinidae). Aquaculture Research Vol. 238, 509-522pp.
- Martínez-Palacios, C.A., Ríos Durán, M.G., Toledo Cuevas, M., Aguilar Valdéz, M.C., and L.G. Ross. 2002. Progreso en el cultivo del Pescado Blanco de Patzcuaro, *Chirostoma estor estor*. Ciencias Nicolaíta 32: 73-90.
- McEvoy, L.A. 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximum*. L. Journal of Fish Biology. 24, 437-448pp.
- Morelos, M. G., Segura, V. y A. Chacón. 1994. Desarrollo embrionario del pez blanco de Pátzcuaro *Chirostoma estor* Jordan 1873 (Pisces: Atherinidae). Zoología Informa 27(8): 22-46.
- Navarrete-Ramírez, P., Orozco, A., Valverde-R., C., Olvera, A., Toledo-Cuevas, E.M., Ross, L.G. y C.A. Martínez-Palacios. 2011. Effects of

- thyroxine administration on the growth and survival of pike silverside (*Chirostoma estor*) juveniles. *Aquaculture Research* 42: 808-814.
- Pankhurst N.W. and G. Van Der Kraak. 2011. Effects of stress on reproduction and growth of fish. *Fish Stress and Health in Aquaculture Series: Seminar series (Society for Experimental Biology (Great Britain))*. ISBN 978-0-521-28170
 - Paulo-Maya, J.; M. Soria-Barreto y E. Díaz Pardo. 2000. Base de datos bibliográfica de *Chirostoma*. IPN Red Regional de Recursos Bióticos. ISBN 968-878-082-0
 - Peña, R. 2015. Criterios de calidad de huevos y sus Implicaciones en el cultivo de Peces Marinos. Editores: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villarreal Cavazos, Julián Gamboa Delgado y Martha Elisa Rivas Vega. *Nutrición Acuícola: Investigación y Desarrollo*, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. ISBN:En trámite.
 - Reading, Benjamin J., Linnea K. Andersen, Yong-Woon Ryu, Yuji Mushiobira, Takashi Todo and Naoshi Hiramatsu. 2018. Oogenesis and Egg Quality in Finfish: Yolk Formation and Other Factors Influencing Female Fertility. *Fishes* 3, no.4:45. <https://doi.org/10.3390/fishes3040045>
 - Riehl, R. and R.A. Patzner. 1998. The modes of egg attachment in teleost fishes. *Italian Journal of Zoology* 65, suppl. 415-420pp.

- Ringuelet, R. 1943. Piscicultura del pejerrey o aterinicultura. Colección Agro Vol. 6. Editorial Suelo Argentino.
- Rojas, C.P. y R. Mendoza. 2000. El Cultivo de Especies Nativas en México. Instituto Nacional de Pesca –SEMARNAP. Dirección General de Investigaciones en Acuicultura. Estado de Salud en la Acuicultura. 1-42pp.
- Rosas, M., 1970. Pescado blanco (*Chirostoma estor*), su fomento y cultivo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras, Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México. 79 p.
- Rosas-Moreno, M. 1976. Datos biológicos de la ictiofauna del lago de Pátzcuaro, con especial énfasis en la alimentación de las especies. Memorias del Simposio sobre Pesquerías de Aguas Continentales, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, 3-5 de noviembre, 1976. 299-365pp.
- Ross, L.G., Martínez-Palacios, C.A., y E.J., Morales. 2008. Developing native fish species for aquaculture: the interacting demands of biodiversity, sustainable aquaculture and livelihoods. Aquaculture research volume 39, Issue 7. 675-683pp.
- Ross, L.G. and Beveridge, M.C.M. 1995. Is a better strategy necessary for development of native species for aquaculture? A Mexican case study. Aquaculture and Fisheries Management. 26: 539-547.
- Sakai, K., Nomura, M., Takashima, F. and H. Oto, 1975. The over-ripening phenomenon of rainbow trout, II. Changes in the percentages of eyed eggs, hatching rate and incidence of abnormal alevins during the process

- of over-ripening. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 41, 855-860pp.
- Sargent, J.R., Bell, M.V., Henderson, D.R. and D.R. Tocher. 1990. Polyunsaturated fatty acids in marine and terrestrial food webs. In Comparative Physiology, Vol. 5 (eds R. Kinne *et al.*). 11-23pp.
 - Schreck Carl B., Wilfrido Contreras-Sanchez and Martin S. Fitzpatrick. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture. Vol. 197 3-24pp.
 - Springate, J., Bromage, N., Elliot, J.A.K. and D.L. Hudson. 1984. The timing of ovulation and stripping and the effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Aquaculture. Vol. 43, 313-322pp.
 - Springate, J., Bromage, N. and R. Cumaranatunga. 1985. The effects of different rations on fecundity and egg quality in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In Nutrition and Feeding in Fish, (eds C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.A. Bell). Academic Press, London. 371-391pp.
 - Sumpter, J.P., Carragher J., Pottinger T.G. and A.D. Pickerin. 1987. The interaction of stress and reproduction in trout. In: Reproductive physiology of fish. Eds: D.R. Idler, L.W. Crim and J.M. Walsh, Memorial Univ. Press, St. John's, Newfoundland, Canada.
 - Swanhart, L.M., Takahashi, N., Jackson, R.L., Gibson, G.A., Watkins, S.C., Dawid, I.B., & N.A. Hukriede. 2010. Characterization of an *lhx1a*

transgenic reporter in zebrafish. *International Journal of Developmental Biology*. <https://doi.org/10.1387/ijdb.092969ls>

- Trinkaus, J.P. 1992. The midblastula transition, the YSL transition and the onset of gastrulation in *Fundulus*. *Development (Suppl)*: 75-80.
- Verdegem, M.C.J., Azim M.E., Beveridge M.C.M. and A.A. Van Dam. 2005. Periphyton and aquatic production: an introduction. Chapter: Periphyton: Ecology, exploitation and management. Wallingford, UK. pp 1-13.
- Warga R.M. and C.B. Kimmel. 1990. Cell movements during epiboly and gastrulation in zebrafish. *Development* Apr; 108(4): 569-80.
- Watanabe, T., and V. Kiron. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124, 223-251.
- Watanabe, T. 1985. Importance of the study broodstock nutrition for further development of aquaculture. In *Nutrition and Feeding of Fish*, (eds C. Cowey, A. Mackie and J. Bell, Academic Press, London. pp 395-414.
- Yamagani, K. 1988. Mechanisms of hatching in fish. In: "Fish Physiology" W.S. Hoar, D.J. Randall, and J.R. Brett eds. Academic Press, N.Y., Vol. XIA, pp. 447-499.