



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO

---

---

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

# **Descripción del desarrollo embrionario temprano en *Millerichthys robustus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae)**

QUE PRESENTA EL ALUMNO

**Juárez Vaca Julio Víctor**

**Matrícula**

**2152026136**

**ASESOR:**

M. en C. Miguel Ángel Mosqueda Cabrera

Depto. El Hombre y su Ambiente

No. Ec. 22011

CDMX.

10/12/2019

**Resumen:** El desarrollo embrionario de los peces anuales se caracteriza por tres estadios en los que se suspende la actividad metabólica denominados diapausas. *Millerichthys robustus* es endémica de las cuencas de los ríos Coatzacoalcos y Papaloapan en México y es la única especie norteamericana con un ciclo de vida anual mediado por diapausas y actualmente se encuentra en peligro de extinción. El desarrollo embrionario fue descrito a partir de organismos del Laboratorio de Biología Experimental de la UAM-Xochimilco, desde la mórula hasta la formación de la quilla neural. Durante las primeras etapas, como la mórula, se estimó el número de blastómeros entre 12 y 28 células en las primeras divisiones; al comienzo de la epibolia se observaron aproximadamente 135 y cuando estuvo completa, alcanzaron un aproximado de entre 500 y 700 células. El desarrollo embrionario temprano de *Millerichthys robustus* es típico de los peces anuales y se completa en un período de tiempo que oscila entre los 7 y 9 días hasta la DII. La especie presenta tres características distintivas, *i* las células de la Capa de Células Envolventes (CCE) permanecen uninucleadas durante todo el desarrollo embrionario temprano, *ii* las células de la CCE no forman lobopodias para depositar células hijas dentro de la cavidad de segmentación, *iii* durante la DI los blastómeros no presentan protuberancias ni contacto de células somata para la comunicación intercelular; mantienen contacto aleatorio entre células independientes. Las características presentes en esta especie podrían contribuir al conocimiento que determine las relaciones filogenéticas de la familia rivulidae.

**Palabras clave:** *Millerichthys*, Diapausa, Desarrollo, Embrionario.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>REVISIÓN DE LA LITERATURA</b>	<b>4</b>
<i>Ciclo de vida de peces anuales</i>	4
<i>El desarrollo embrionario de los peces anuales (Wourms, 1972)</i>	4
<i>Mecanismos de dispersión de los blastómeros</i>	5
<b>OBJETIVOS</b>	<b>6</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>7</b>
<i>Reproducción y obtención de huevos de M. robustus</i>	7
<i>Obtención de huevos en DI</i>	7
<i>Tinción celular</i>	7
<i>Seguimiento del desarrollo embrionario</i>	7
<i>Observación de la dispersión y reagregación de los blastómeros</i>	8
<i>Almacenamiento de huevos en DII</i>	8
<b>RESULTADOS</b>	<b>9</b>
<i>Desarrollo embrionario temprano de M. robustus</i>	9
<i>Mecanismo de migración de los blastómeros</i>	12
<i>La capa de células envolvente</i>	13
<i>Diferencias entre M. robustus y otras especies</i>	14
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>15</b>
<i>Dispersión de los blastómeros y Diapausa I</i>	15
<i>La capa de células envolvente</i>	15
<i>Reagregación de los blastómeros y Diapausa II</i>	16
<i>Diferencias entre M. robustus y otras especies</i>	17
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>18</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>19</b>

## INTRODUCCIÓN

Los peces anuales habitan en cuerpos de agua temporales que se mantienen durante la época de lluvias y desaparecen durante la sequía. Sus poblaciones permanecen estables gracias a que los huevos resisten en el hábitat las condiciones adversas mediante un mecanismo biológico llamado diapausa; el cual consiste en un cese total del desarrollo embrionario durante un tiempo limitado. Estas especies de teleósteos experimentan tres diapausas en total desde la fertilización de los huevos en el apareamiento hasta la eclosión en la siguiente temporada de lluvias.

El desarrollo embrionario de estos peces fue ampliamente descrito por Wourms (1972a,b), retomado por Van Haarlem (1983) y posteriormente por Naumann y Englert (2018); sin embargo, estos trabajos se enfocan en especies africanas y sudamericanas.

En México *Millerychtis robustus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) es la única especie de pez anual de Norteamérica, es endémica del país y se encuentra en peligro de extinción (Domínguez et al., 2013). Esta especie, que fue considerada extinta y redescubierta, no ha sido estudiada a detalle ni en un carácter biológico ni ecológico de manera amplia. Es por esta razón que el presente trabajo pretende observar y describir las diferentes etapas del desarrollo embrionario temprano de *M. robustus* y comparar las diferencias y similitudes que presenta con respecto al modelo general descrito por Wourms (1972) y el de otras especies del género *Nothobranchius* (Naumann y Englert, 2018).

La información obtenida de la presente investigación contribuirá al conocimiento sobre las relaciones filogenéticas de peces anuales en América, además de aportar información sobre el desarrollo embrionario temprano de *M. robustus* especie endémica de México.

## **REVISIÓN DE LA LITERATURA**

### **Ciclo de vida de peces anuales**

Los peces anuales son teleósteos de agua dulce que habitan cuerpos de agua temporales de Sudamérica y África, durante el apareamiento depositan los gametos en el sustrato donde ocurre la fertilización y el desarrollo de los embriones. Cuando el hábitat se seca los adultos mueren, pero los embriones resisten la estación seca por su capacidad de detener su desarrollo y por el espacio perivitelino que los protege cuando el corion se vitrifica en la diapausa II. Durante la estación seca todos los peces adultos son diezmados por falta de alimento y por el alza en la temperatura del agua y, finalmente, por la desecación del hábitat. Es por esta razón que la supervivencia de la especie se vuelve totalmente dependiente de los huevos fertilizados incrustados en el fango (Matías, 2009).

Los rasgos más destacados de sus hábitats son: la naturaleza errática que depende de los ciclos climáticos y de la intensidad de las lluvias, por lo que la existencia de agua en los mismos puede variar de un mes a otro; el examen del contenido estomacal de los peces capturados mostró su preferencia por las larvas de insectos. A causa de su pequeño tamaño, las personas que habitan en las regiones cercanas rara vez los utilizan para alimentarse; sin embargo, algunas aves encuentran una fuente de alimento en estos peces (Matías, 2009).

### **El desarrollo embrionario de los peces anuales (Wourms, 1972a)**

El desarrollo embrionario de los peces ha sido descrito exhaustivamente tomando como modelo al pez cebra *Danio rerio*; mientras que, para describir el desarrollo de los peces anuales, Wourms se basó en la especie sudamericana *Austrofundulus myersi* en la que describió 46 etapas del desarrollo.

La primera etapa se refiere a los huevos no fertilizados por los progenitores, la segunda a la activación del huevo o fertilización. Las etapas 3 a la 9, engloban desde la primera célula del huevo hasta su división en 64 células.

La etapa 10 es la formación de la blástula sólida, mientras que en la 11 esta se aplana, pero se sigue manteniendo sólida mientras aumenta el número de células. Durante las etapas 12 a la 14, la blástula aumenta de tamaño formando un disco.

En la etapa 15 comienza la epibolia y su avance a través de la yema se marca en las siguientes etapas: cuando alcanza una cuarta parte se establece la etapa 16, la etapa 17 es cuando el avance cubre la mitad, en la 18 el 75% fue cubierto y finalmente en la etapa 19 se considera que la epibolia está completa.

Las etapas 20 y 21, son conocidas también como fases dispersas y es cuando en los peces anuales ocurre la diapausa I (D I). Por otro lado, de la 22 a la 26, son las fases de reagregación de los blastómeros.

En la etapa número 27, se define el eje que posteriormente formará la quilla neural durante la etapa 28.

Es en la etapa 29 cuando el embrión temprano comienza la formación de somitos; en la etapa 30 ya cuenta con 10 somitos que aumentan en número durante las fases siguientes hasta que alcanza los 50 somitos en la fase 34. Durante estas etapas es cuando ocurre la diapausa II (D II), normalmente en la etapa 32, cuando se detiene el desarrollo embrionario prolongadamente.

A partir de la etapa 35, el embrión comienza a crecer alrededor del vitelo y alcanza los 4mm de longitud en la etapa 40. Durante este período se forman las estructuras primordiales órganos fundamentales del embrión; sin embargo, estructuras como la mandíbula aún no se forman, pero se aglomeran las células que la formarán en las subsiguientes etapas.

El desarrollo se completa en las etapas 41, 42 y 43; la mandíbula se termina de formar y se desarrollan los radios de las aletas, además de que los globos oculares terminan su formación. Al final de esta fase es cuando se produce la diapausa III (D III).

La eclosión se considera la etapa 44 del desarrollo y el embrión cuenta con una talla de aproximadamente 7 a 7.25 mm. Al eclosionar aún mantiene una reserva de yema alimentándolo y cuando esta es absorbida, se alcanza la etapa 45 del desarrollo. Aproximadamente una semana después de la eclosión y cuando hay una diferenciación en los pliegues de las aletas dorsal y anal, se considera que el desarrollo embrionario ha concluido y ahora se le denomina como larva; esta es la etapa final del desarrollo o etapa 46.

### **Mecanismos de dispersión de los blastómeros**

Los mecanismos de locomoción de los blastómeros conocidos han sido documentados en el género *Fundulus* y se han identificado tres: locomoción lobopodial, locomoción lamellipodial y movimiento filopodial (Trinkaus y Erickson, 1981).

Por otra parte, la comunicación de los blastómeros profundos tiene tres mecanismos igualmente, cada uno de ellos funciona de diferente manera dependiendo del contacto que mantengan entre ellos: el primer mecanismo consiste en el movimiento de blastómeros ameboides cuyo contacto se genera de manera aleatoria, este mecanismo fue descrito por Wourms (1972a) en la especie *Austrofundulus myersi*; en el segundo mecanismo, los blastómeros se mantienen en un contacto constante mediante protusiones que forman una red. El tercer mecanismo se caracteriza por la unión de los blastómeros mediante protusiones y células somata formando una red; estos dos últimos mecanismos ocurren de manera temporal y han sido descritos en distintas especies del género *Nothobranchius* (Van Haarlen, 1983).

## OBJETIVOS

### General

- Describir el desarrollo embrionario de *Millerichthys robustus* desde la fertilización hasta la formación de la quilla neural.

### Particulares

- Comparar las etapas del desarrollo embrionario de *M. robustus* con las descritas para otras especies de peces anuales.
- Identificar el tipo de migración de los blastómeros profundos durante el desarrollo embrionario de *M. robustus*.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en el Laboratorio de Biología Experimental de la Unidad Xochimilco de la Universidad Autónoma Metropolitana.

### **Reproducción y obtención de huevos de *M. robustus***

La obtención de huevos con poco tiempo post-fertilización fue de la siguiente manera: En peceras de 40 l con adultos reproductores, se colocaron nidos hechos con recipientes de plástico transparente de 1 l, en los cuales se colocó sustrato orgánico "Peat Moss" a un tercio de su capacidad para estimular el desove dentro de ellos; estos nidos se dejaron por períodos de 1 a 2 días. Después de lo cual, se extrajeron para retirar el exceso de agua y realizar la búsqueda de los huevos fertilizados depositados en el sustrato.

La búsqueda se realizó en el sustrato húmedo con ayuda de agujas de disección y una lámpara para mejorar la visibilidad; cuando los huevos fueron encontrados, se limpiaron con pinceles bajo el microscopio estereoscópico y una vez limpios se colocaron en cajas de Petri con solución de Yamamoto para evitar la proliferación de hongos.

### **Obtención de huevos en DI**

Para asegurar que los huevos observados se encontraran en DI (dispersión de los blastómeros alrededor de toda la yema, etapa 20 de Wourms (1972a), se realizó un modelo experimental que replicaba las condiciones de desecación del hábitat natural de *M. robustus* en una pecera de 10 l con peces adultos que permanecieron dentro durante 3 meses, después de este período, los peces fueron retirados, pero siguieron las las condiciones de humedad e hipoxia en el sustrato donde se encontraban los huevos.

### **Tinción celular**

Para mejorar el contraste de la imagen durante la observación de las etapas críticas del desarrollo, algunos huevos fueron teñidos con Lugol durante 5 min y enjuagados en agua destilada para retirar el excedente de Lugol y detener el proceso.

La tinción se realizó con el propósito de distinguir de una mejor manera los blastómeros en dispersión y la diferenciación entre los blastómeros profundos y los superiores que darían origen a la CCE; también ayudó a distinguir con mayor claridad los núcleos de las células fusionadas del sincitio, además de mostrar con la claridad necesaria la CCE y los núcleos de cada una de las células que la conforman.

### **Seguimiento del desarrollo embrionario**

El análisis de las etapas de desarrollo se realizó comparando las etapas descritas por Wourms (1972a) para *Austrofundulus myersi* y por Naumann y Englert (2018)

para distintas especies. Esto comprendió la división de las células de la mórula, la dispersión de los blastómeros durante la epibolia, la expansión de la Capa de Células Envoltentes (CCE), la reagregación celular y la formación de la quilla neural DII.

Para poder dar seguimiento al desarrollo embrionario, los huevos utilizados se examinaron de manera individual y se colocaron en un montaje semipermanente para ser observados en el microscopio compuesto durante varios días; este monitoreo se realizó diariamente hasta que los embriones desarrollaron la quilla neural.

### **Observación de la dispersión y reagregación de los blastómeros**

Por otra parte, durante la observación de los blastómeros, también se registró la forma de estos para conocer cuál de los tres mecanismos de comunicación conocidos está presente durante el desarrollo.

Se observó la forma de las células al dividirse en las etapas iniciales (mórula), la distinción de las células externas que forman la CCE y los blastómeros profundos. Se dio seguimiento a estas células y como cambiaban su forma durante la epibolia y la reagregación celular.

### **Almacenamiento de huevos en DII**

Una vez que los embriones se desarrollaron hasta la DII, se extrajeron de la cámara de observación y se colocaron en turba húmeda y empaquetados en oscuridad para que prosiguieran con su desarrollo.

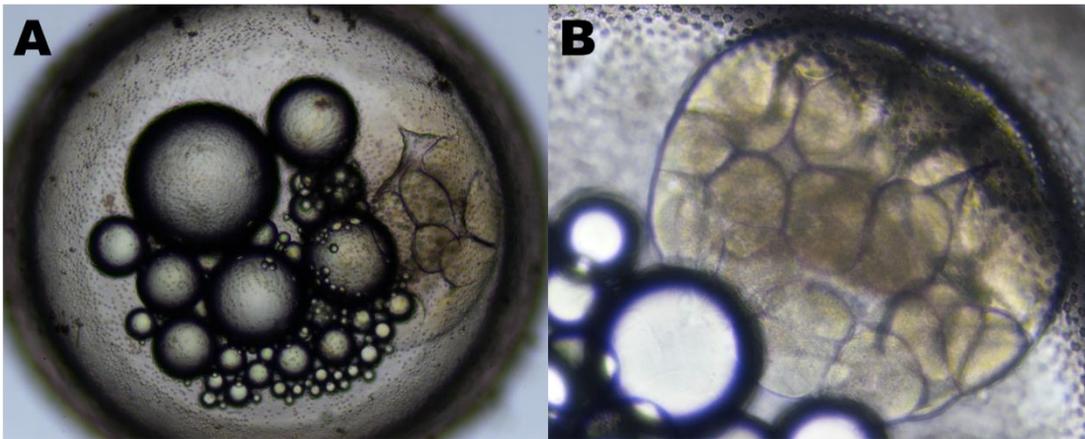
Los huevos almacenados en DII se mantendrán regulando la humedad relativa durante varios meses para simular las condiciones naturales. Esto se hace con la finalidad de mantener una población de organismos para el estudio de la especie en futuras investigaciones.

## RESULTADOS

### Desarrollo embrionario temprano de *M. robustus*

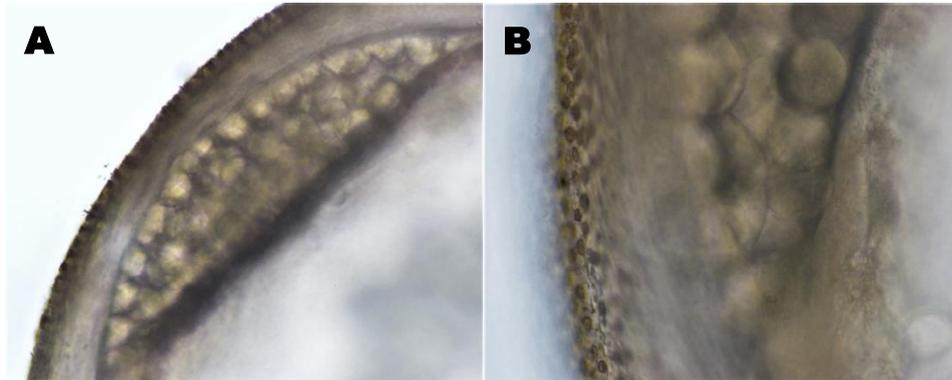
El desarrollo embrionario temprano de *M. robustus* es similar al descrito para peces anuales, y se completó en un período de 7 a 9 días.

La fertilización ocurre en el sustrato cuando el macho libera el espermatozoides sobre los huevos depositados por la hembra. Posteriormente, la primera división celular transcurre de manera meridional y meroblástica; posterior a la primera división, continúa una serie de divisiones sucesivas, las cuales forman la mórula (Figura 1).



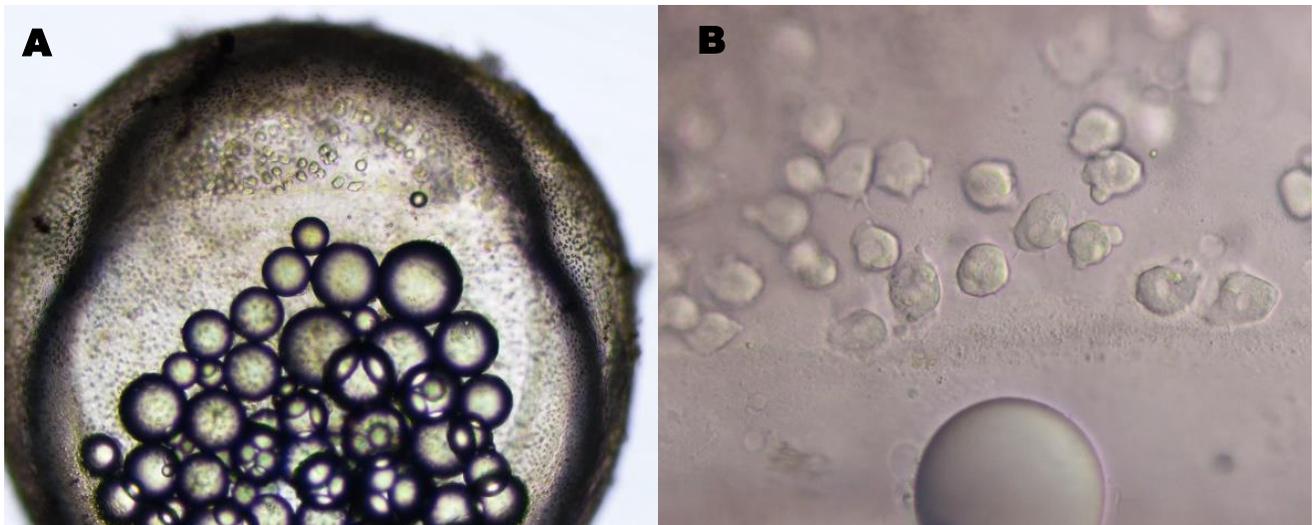
**Figura 1.** Mórula. (A) 12 células aproximadamente. (B) 28 células aproximadamente

Al inicio de la epibolia, los blastómeros se separan en tres poblaciones diferentes que formarán tanto la CCE, como la capa sincitial de la yema y los blastómeros profundos (Figura 2B). En esta etapa, se estimaron alrededor de 135 blastómeros.



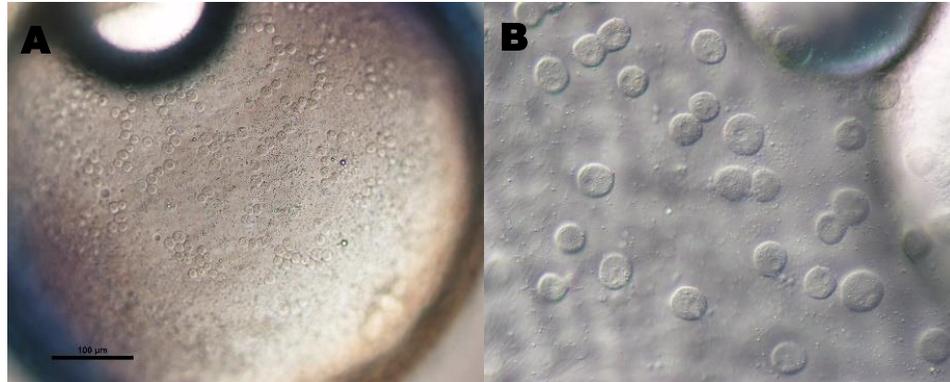
**Figura 2.** (A) Toma panorámica del comienzo de la migración y la cavidad de segmentación. (B) Acercamiento, se distinguen: las células que formarán la CCE, los blastómeros profundos y el sincitio.

En el transcurso de la migración de los blastómeros profundos, se observó que estos presentan distintas formas ameboides, variando entre células trapezoidales, triangulares o romboidales (Figura 3). Al final de la epibolia y al alcanzar la DI, todas las células cambian y mantienen una forma esférica (Figura 4B).



**Figura 3.** (A) Toma panorámica del comienzo de la epibolia. (B) Acercamiento a los blastómeros con forma ameboides durante la dispersión.

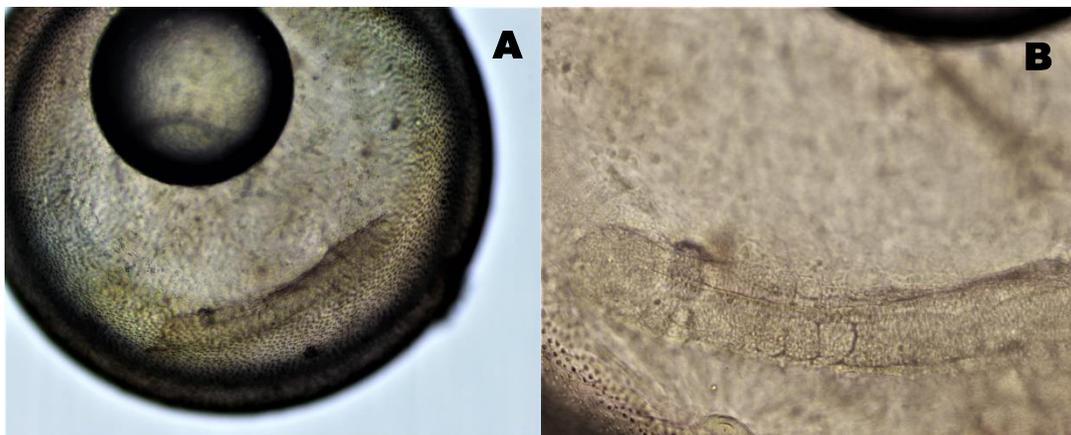
Cuando la epibolia está completa, tanto los blastómeros profundos y la CCE cubren toda la yema y comienza la DI (Figura 4A). En este punto, hay aproximadamente entre 500 y 700 blastómeros en el huevo.



**Figura 4.** (A) Epibolia completa con blastómeros esféricos (Diapausa I). (B) Blastómeros esféricos durante la DI manteniendo un arreglo aleatorio.

Durante el desarrollo directo inducido por las condiciones del laboratorio, la reagregación ocurre inmediatamente después de la dispersión total de los blastómeros sin entrar en estado de diapausa. Durante la reagregación, el número de blastómeros no tiene alteraciones.

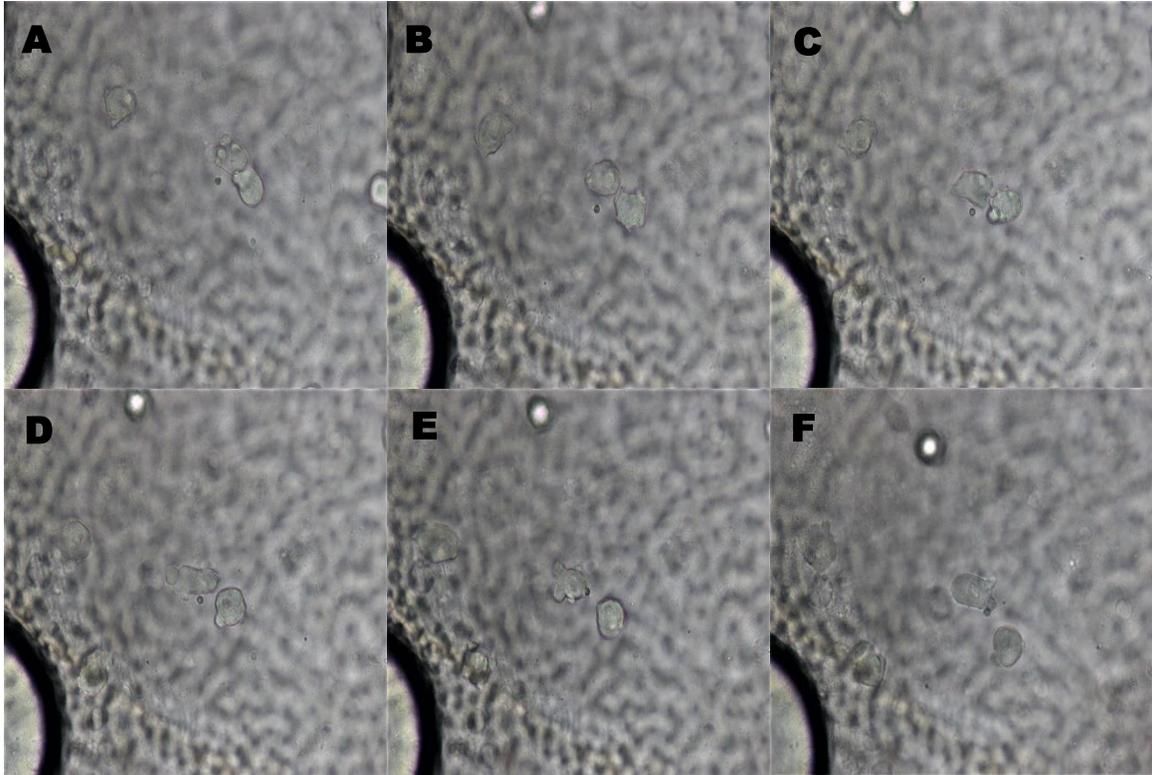
El proceso de reagregación se completó en un período aproximado de 4 a 5 días de observación. Esta fase culminó con la formación de la quilla neural que marca el inicio de la DII (Figura 5).



**Figura 5.** (A) Toma panorámica de un huevo con la quilla neural formada. (B) Acercamiento a la quilla neural DII.

## Mecanismo de migración de los blastómeros

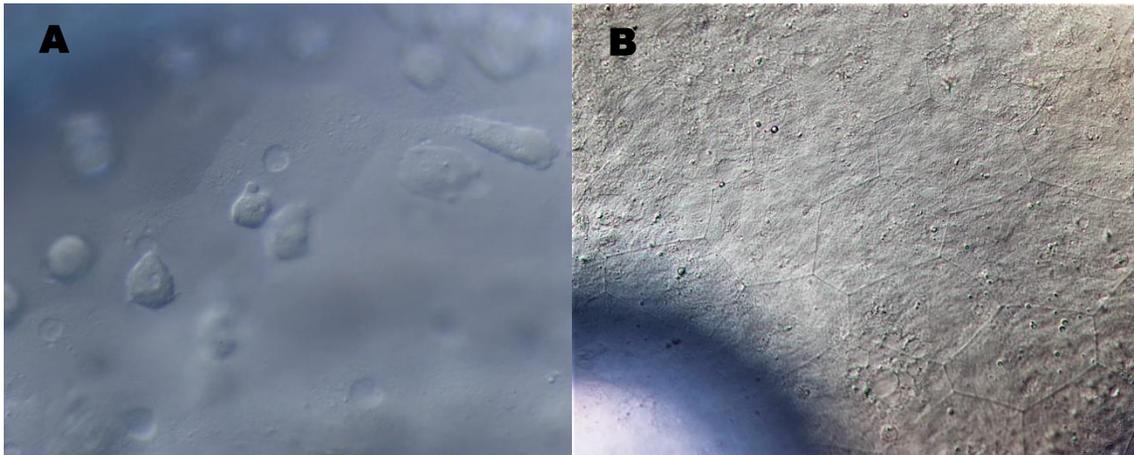
En el transcurso de la epibolia y la reagregación de los blastómeros, estos se mueven alrededor de la yema utilizando movimiento lopodial, la forma ameboide de las células es debido a este mecanismo locomotor (Figura 6).



**Figura 6.** Secuencia de migración de dos blastómeros durante la epibolia (A-F)

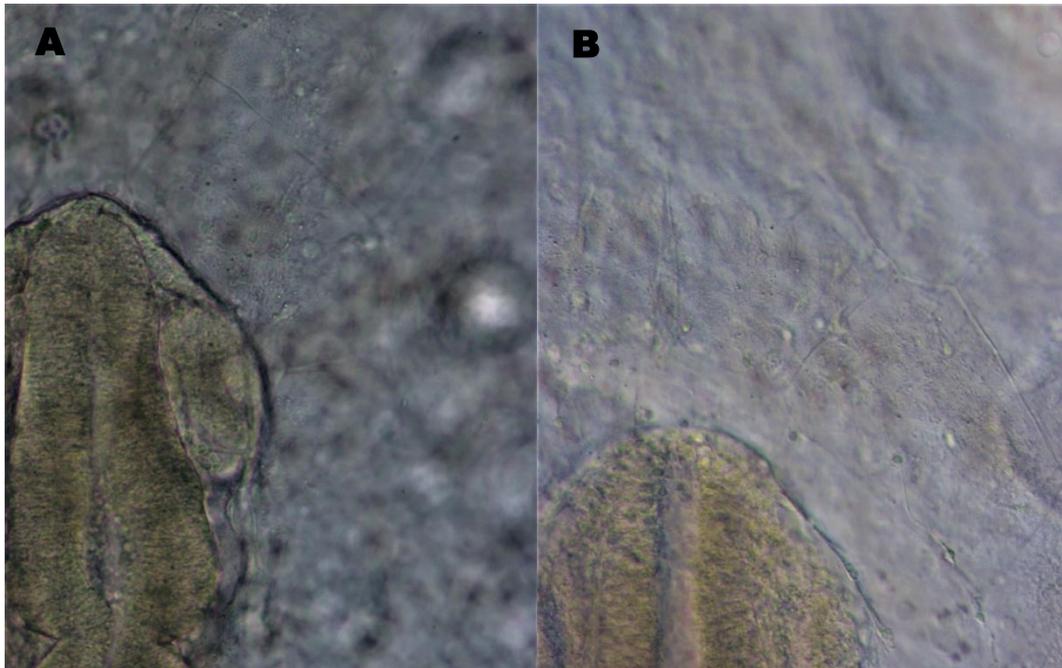
## La capa de células envolvente

Durante el comienzo de la epibolia en *M. robustus* los blastómeros superficiales cercanos al corion comienzan a aplanarse y extenderse sobre los blastómeros profundos, al mismo tiempo que se compactan entre sí tomando una forma poligonal para formar la CCE (Figura 7A). Al inicio de la migración, estas células tienen una condición uninucleada, la cual mantienen durante la DI (Figura 7B). No se observó que las células de la CCE se reproduzcan para generar células hijas que aporten a la población de blastómeros profundos.



**Figura 7.** (A) Capa de células envolventes durante la epibolia. (B) Capa de células envolventes durante la DI.

A diferencia de las células del sincitio, las células de la CCE no experimentan un proceso de fusión celular y mantienen una condición uninucleada durante todo el proceso de desarrollo incluyendo la DII (Figura 8). Sin embargo, no se encontró evidencia de que la CCE aportara nuevas células a la población de blastómeros profundos.



**Figura 8.** Capa de células envolventes durante la diapausa II. (A) Acercamiento del embrión junto a la CCE. (B) Acercamiento a la zona frontal del embrión, enfoque a la CCE.

### **Diferencias entre *M. robustus* y otras especies**

Durante el seguimiento de la presente investigación se observó que *M. robustus* presenta tres características específicas en las células de la CCE y los blastómeros profundos que lo diferencian de otras especies de peces anuales.

## **DISCUSIÓN**

### **Dispersión de los blastómeros y Diapausa I**

Al inicio de la epibolia ocurre la diferenciación de tres poblaciones de células: las superiores formarán la CCE, mientras que los marginales formarán la capa sincitial de la yema y, por otra parte, la población intermedia dará lugar a los blastómeros profundos que formarán al futuro embrión. Cuando la epibolia está completa se produce la DI en respuesta a las señales de recrudescimiento del ambiente (Wourms, 1972b; Nauman y Englert, 2018).

Durante el monitoreo del desarrollo embrionario de *M. robustus*, se cotejaron las distintas fases de la epibolia con respecto a las descritas por Wourms (1972a); la especie desarrolló las tres poblaciones de células y alcanzó la totalidad del proceso en un período de 3 a 4 días. Estos resultados concuerdan con lo documentado por Nauman y Englert (2018) para otras especies de peces anuales.

La forma de los blastómeros profundos durante la epibolia es variada, se presentaron células con formas romboides, trapezoides o triangulares al igual que lo reportado por Carter y Wourms (1991); sin embargo, cuando la epibolia se completa y se alcanza la DI, los blastómeros se tornan esféricos y mantienen esta forma durante todo este estadio y forman una masa holgada en la que las células no mantienen ningún contacto entre ellas, de manera similar al mecanismo A descrito por Nauman y Englert (2018) para el contacto intercelular.

La DI se aseguró en laboratorio al mantener los nidos en condiciones de hipoxia y humedad al permanecer dentro de los nidos sumergidos en las peceras. Durante esta etapa, los blastómeros mantuvieron formas y espacio intercelular muy similares a las documentadas por Naumann y Englert (2018), lo que es congruente con otras especies de peces anuales.

### **La capa de células envolvente**

La CCE, ha sido descrita como una barrera de permeabilidad que cumple la función de proteger al embrión contra la desecación parcial y el estrés osmótico (Wourms, 1972b). Esta capa se forma a partir de los blastómeros superficiales de la blástula que toman una forma aplanada y se separan de los blastómeros profundos y de los blastómeros del sincitio dando lugar a la cavidad de segmentación (Nauman y Englert, 2018).

Se ha documentado que las células de la CCE pasan por un proceso de fusión durante la epibolia que las convierte en células binucleadas y, posteriormente, multinucleadas, las células que permanecen uninucleadas forman lobopoidias mediante las cuales reproducen células hijas que depositan dentro de la cavidad de segmentación para aumentar el número de blastómeros profundos durante las primeras etapas de la epibolia. Al llegar a un punto muy avanzado de la epibolia, todas las células de la CCE han terminado la fusión celular y se han convertido en células multinucleadas que no tienen la capacidad de reproducirse (Nauman y Englert, 2018).

En *M. robustus*, durante el comienzo de la epibolia, los blastómeros superficiales cercanos al corion comienzan a aplanarse y extenderse sobre los blastómeros profundos, al mismo tiempo que se compactan entre sí tomando una forma poligonal para formar la CCE. Estas células tienen una condición uninucleada desde el inicio de la epibolia, la cual mantienen durante la DI, la reagregación de los blastómeros y la hasta la DII.

No se observó que las células de la CCE se reproduzcan para generar células hijas que aporten a la población de blastómeros profundos a pesar de que mantienen su condición uninucleada durante todo el desarrollo embrionario.a

## **Reagregación de los blastómeros y Diapausa II**

Cuando las condiciones del ambiente cambian, estas señales producen el comienzo de la siguiente fase de desarrollo: la reagregación celular. Esta representa el inicio de la embriogénesis y culmina con la formación de la quilla neural dando paso a la DII (Wourms, 1972b).

El período que tardaron los blastómeros en reagregarse fue aproximadamente entre 4 a 5 días; cabe mencionar que en la literatura no se hace mención de esta etapa en cuanto al tiempo en el que se completa, normalmente se menciona el tiempo total de dispersión-reagregación o solo acotan el tiempo de dispersión.

De igual manera que en la migración hacia DI, los blastómeros al reagregarse mostraron formas ameboides, triangulares, romboides y trapezoides; asimismo, el número de blastómeros se mantuvo y no hubo aumento en el número de estos durante la reagregación.

## Diferencias entre *M. robustus* y otras especies

El desarrollo de la CCE en los peces anuales comienza con células uninucleadas con la capacidad de reproducirse para aportar nuevas células hijas a los blastómeros profundos; pero, conforme avanza el desarrollo, estas células se fusionan formando células binucleadas y posteriormente multinucleadas, cuando se alcanza esta fase pierden su capacidad reproductiva y únicamente mantiene su función protectora (Naumann y Englert, 2018).

En cambio, *M. robustus*, se diferencia en el desarrollo de la CCE, debido a que sus células se mantienen uninucleadas durante todo el proceso y no experimentan la fusión celular que sí está presente en otras especies de peces anuales documentadas por Naumann y Englert (2018).

Por otra parte, la lobopodia es una formación transicional de las células de la CCE del que sirve para depositar células hijas producto de la reproducción celular; esto ayuda a que los blastómeros ingresen directamente a la cavidad de segmentación y formen parte de los blastómeros profundos. Cuando la epibolia está en etapas avanzadas, las células de la CCE se fusionan convirtiéndose en células multinucleadas y perdiendo su capacidad reproductiva (Naumann y Englert, 2018).

Al observar la cavidad de segmentación no se encontró evidencia de lobopodia en las células superiores de la CCE, por lo que estas no aportan nuevas células a la población de blastómeros profundos; debido a esto, la evidencia sugiere que se reproducen por bipartición durante las primeras fases de la epibolia.

Estas características marcan una diferencia entre *M. robustus* con respecto a las demás especies de peces anuales descritas hasta el momento (Naumann y Englert, 2018), lo que podría colocar a la especie en un clado importante para la especie dentro de los peces anuales con respecto a estas diferencias.

## CONCLUSIONES

- El desarrollo embrionario temprano de *M. robustus* es típico de los peces anuales.
- Los blastómeros migran a través de la yema utilizando el movimiento lobopodial.
- Los blastómeros se comunican mediante el contacto aleatorio de células independientes durante la DI y no presentan protusiones ni contacto entre células.
- Durante el desarrollo embrionario tres características son distintivas a *M. robustus*: Las células que conforman la Capa de Células Envoltentes se mantienen uninucleadas durante todo el desarrollo, la población de blastómeros profundos no aumenta por el aporte de las células de la CCE y los blastómeros profundos no presentan ningún tipo de protusión que mantenga contacto con otros blastómeros.

## REFERENCIAS

- Carter C.A. y J.P. Wuorms. 1991. Cell Behavior During Early Development in the South American Annual Fishes of the Genus *Cynolebias*. *Journal of Morphology*, 210: 247-266.
- Domínguez-Castanedo, O., Mosqueda-Cabrera, M. Á., y Valdesalici, S. 2013. First observations of annualism in *Millerichthys robustus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 24, 15-20.
- Matias, J. R. 2009. Annual fishbiology and survival strategy in nature. A working hypothesis. Pseidon Sciences Group.
- Naumann, B. y C. Englert. 2018. Dispersion/reaggregation in early development of annual killifishes: Phylogenetic distribution and evolutionary significance of a unique feature. Institute of Zoology and Evolutionary Research, Jena, Germany. Leibniz Institute on Aging – Fritz Lipmann Institute, Jena, Germany. Institute of Biochemistry and Biophysics, Jena, Germany.
- Trinkaus, J.P. y C. A., Erickson 1981. Locomotion of *Fundulus* Deep Cells during Gastrulation. *American Zoologist*, 21(2): 401-411.
- Van Haarlem, R. 1983. Early Ontogeny of the Annual Fish Genus *Nothobranchius*: Cleavage Plane Orientation and Epiboly. Department of Zoology, Catholzc University, Toernoorueld, 6525 ED Nzmegen, The Netherlands.
- Wourms, J.P. 1972a. The developmental biology of annual fishes I. Stages in the normal development of *Austrofundulus myersi* Dahl. *Journal of Experimental Zoology*, 182: 143–168.
- Wourms, JP. 1972b. The developmental biology of annual fishes II. Naturally occurring dispersion and reaggregation of blastomeres during the development of annual fish eggs. Dahl. *Journal of Experimental Zoology*, 182: 143–200.