

T
1167

 **XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACION**
ARCHIVO HISTORICO

124071



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

Historia de vida temprana de *Chirostoma humboldtianum* y *Chirostoma riojai* (Atheriniformes: Atherinopsidae) bajo la teoría de la ontogenia por saltos.

TESIS

Que para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Biológicas
PRESENTA:

María Cecilia Hernández Rubio

Directora: Dra. Thalia Castro Barrera
Asesora: Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa
Asesor: Dr. José Luis Arredondo Figueroa

Diciembre del 2009

El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados con la categoría de alto nivel del CONACYT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Alimento Vivo del Departamento El Hombre y su Ambiente, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

El proyecto de investigación (Tesis) forma parte del programa Bases Biológicas y Ecológicas para la producción de Aterinópsidos del Estado de México, que incluye los proyectos:

Análisis de la biología reproductiva de *Chirostoma riojai*, Solórzano y López, 1965. CGPI-IPN -2009365. Laboratorio de Hidrobiología Experimental Depto. De Zoología. ENCB-IPN.

Efecto de la temperatura y la salinidad durante la historia de vida temprana de *Chirostoma riojai*, Solórzano y López, 1965. CGPI-IPN-20090527. Laboratorio de Hidrobiología Experimental, Depto. De Zoología. ENCB-IPN.

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las Unidades Xochimilco e Iztapalapa aprobó la Tesis que presentó

MARIA CECILIA HERNÁNDEZ RUBIO

Jurado

Firma

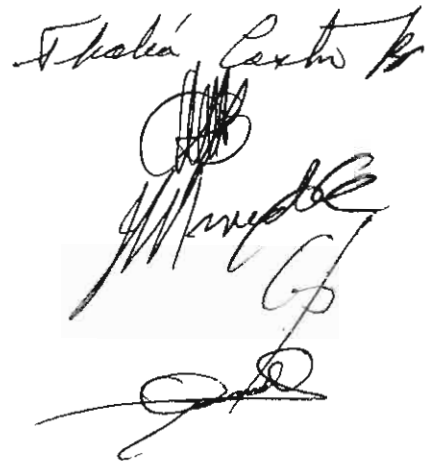
Directora: Dra. Thalía Castro Barrera

Asesora: Dra. Irene de los Angeles Barriga Sosa

Asesor: Dr. José Luis Arredondo Figueroa

Sinodal: Dr. Gerardo Figueroa Lucero

Sinodal: Dr. Joel Paulo Maya

The image shows three handwritten signatures in black ink. The top signature is clearly legible and reads 'Thalía Castro B'. The middle signature is more stylized and appears to be 'Irene de los Angeles Barriga Sosa'. The bottom signature is also stylized and appears to be 'José Luis Arredondo Figueroa'. There are also some faint, illegible marks below the middle signature.

AGRADECIMIENTOS

A las siguientes Instituciones por el respaldo financiero, de infraestructura y administrativo:

- ❖ Universidad Autónoma Metropolitana
- ❖ Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a través de la beca 61195.
- ❖ Instituto Politécnico Nacional, a través del permiso COTEPABE (2006-2009)

A la Dra. Thalía Castro Barrera, Directora de esta tesis, por sus atinadas observaciones en el desarrollo del trabajo, por su confianza y constante apoyo.

A mis asesores:

Dra. Irene de los Angeles Barriga Sosa, por sus valiosas observaciones en la elaboración de este trabajo.

Dr. José Luis Arredondo Figueroa por la excelente crítica a este trabajo y por las facilidades otorgadas para la realización del trabajo experimental.

Dr. Gerardo Figueroa Lucero, por su apoyo en el desarrollo del trabajo y por sus valiosas y oportunas observaciones para mejorarlo.

Dr. Joel Paulo Maya, por el apoyo para la realización del Doctorado y por sus atinados comentarios y sugerencias en la revisión del trabajo.

A mis queridas hijas

Estefanía y Cecilia

CONTENIDO

	Página
Resumen	7
Abstract	11
INTRODUCCION	14
ANTECEDENTES	17
MARCO TEÓRICO	
Historia de vida.	21
HIPÓTESIS	30
OBJETIVOS	
Objetivo general.	30
Objetivos particulares.	30
MATERIALES Y MÉTODOS	
Mantenimiento de reproductores.	32
Fecundación.	33
Periodo embrionario.	34
Efecto de la temperatura y de la salinidad sobre el periodo embrionario	36
Periodo larval.	38
Efecto de la temperatura y de la salinidad sobre el crecimiento durante el periodo larval.	42
Efecto de la temperatura sobre la tasa de desarrollo y la sobrevivencia durante el periodo larval.	44
RESULTADOS	
Óvulos.	45
Periodo embrionario.	46
Crecimiento absoluto y relativo de los eleuteroembriones.	60
Periodo larval.	63

Crecimiento absoluto y relativo de las larvas.	65
Efecto de la temperatura y la salinidad sobre el porcentaje de eclosión, el tiempo de incubación y la talla de eclosión.	70
Efecto de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento durante el periodo larval.	75
Efecto de la temperatura en la tasa de desarrollo embrionario.	88
Efecto de la temperatura en la tasa de desarrollo desde la eclosión hasta la metamorfosis a juvenil.	89
Efecto de la temperatura en el tiempo de desarrollo.	90
Efecto de la temperatura sobre la sobrevivencia desde la eclosión hasta la metamorfosis a juvenil.	92
DISCUSIÓN	
Desarrollo.	96
Crecimiento.	106
Efecto de la temperatura y salinidad en el periodo embrionario.	110
Efecto de la temperatura y la salinidad en el periodo larval.	117
Tasa de desarrollo y sobrevivencia.	118
CONCLUSIONES	121
LITERATURA CITADA	124
Relación de tablas y figuras	143

RESUMEN

C. humboldtianum y *C. riojai*, son dos especies endémicas que pertenecen a la familia Atherinopsidae y habitan en el Alto Lerma. Aunque la primera tiene una distribución más amplia, actualmente ha sido extirpada del Valle de México. Como resultado de la alteración del habitat y de la contaminación de los cuerpos lacustres en el Valle de Toluca, las actividades tradicionales de pesca, se han sustituido por actividades agrícolas e industriales han disminuido el recurso y limitado su distribución colocando a *C. riojai* en peligro de extinción.

En el presente trabajo, se analizan y se describen los procesos de desarrollo temprano de *Chirostoma humboldtianum* (grupo jordanii) y *Chirostoma riojai* (grupo arge) (Atherinopsidae) a través de la teoría del desarrollo por saltos, para explicar sus historias de vida.

Para ambas especies, los huevos se obtuvieron mediante fertilizaciones *in vitro* de reproductores de *C. humboldtianum*, (presa Las Tazas, Tiacaque) y de *C. riojai*, (presa I. Ramírez, Almoloya de Juárez), ambos en el Estado de México. Se definen los tiempos de duración y las características de los pasos y las fases de ambos períodos, así como los umbrales que los separan. Por otra parte, se determina el efecto de la temperatura (18, 20, 22 y 24 °C) y la salinidad (0, 4, 8, 12 g/L) sobre el porcentaje de eclosión, el tiempo de incubación, la tasa de desarrollo, el crecimiento absoluto y relativo y la sobrevivencia en el período embrionario y el efecto de la temperatura (18, 20 y 24° C), a las mismas salinidades, sobre el crecimiento, a través de un diseño difactorial, y el efecto de la temperatura sobre la sobrevivencia y la tasa de desarrollo, desde la eclosión hasta la transformación a juvenil.

De acuerdo a esta teoría, ambas especies son altriciales, que por su reproducción y tipo de huevo, pertenecen al grupo etológico de no guardadores y al grupo

ecológico de desovadores de sustrato abierto fitófilos. Además de los períodos de desarrollo, los pasos, las fases y los umbrales fueron evidentes en ambas especies, lo que confirma que el desarrollo es un proceso que se lleva a cabo por saltos y no de manera continua o gradual. El período embrionario de ambas especies consta de tres fases: división (tres pasos), embrión (cinco pasos) y eleuteroembrión (dos pasos). El período embrionario de *C. humboldtianum* se lleva al cabo en 17 días y el de *C. riojai* en un lapso de 12 días, a 20 °C. El período larval se caracteriza porque las larvas presentan una alimentación mixta (endógena y exógena) al inicio del período y posteriormente, la alimentación es completamente exógena, la cual perdura por el resto de su vida. Este período presenta dos fases: la primera es la apterolarva (larva sin aletas) y la segunda, la pterolarva (larva con aletas). Estas especies solo consumen alimento vivo. El primer alimento externo fue *Brachionus plicatilis* (Rotifera), posteriormente son capaces de alimentarse con nauplios de *Artemia* y a partir de la fase de pterolarva, pueden consumir neonatos y adultos de cladóceros (*Moina macrocopa*). Este período, a 20° C y en agua dulce, tuvo una duración de 35 días en ambas especies. El período juvenil lo alcanzan cuando se han formado todas las aletas y se presentan las escamas sobre la línea lateral. Los juveniles de *C. humboldtianum*, bajo esas condiciones, alcanzan una longitud patrón de 21.18 ± 0.35 mm y los juveniles de *C. riojai*, logran una longitud patrón de 13.8 ± 0.21 mm.

Tanto la temperatura como la salinidad, tienen efectos significativos sobre el desarrollo temprano de ambas especies. La temperatura es el principal factor que acelera el desarrollo. En ambos períodos, *C. humboldtianum* presenta mayor tolerancia a la temperatura alta que *C. riojai*, pero es más sensible al incremento de la salinidad. La mayor sobrevivencia, desde la eclosión hasta la transformación a juvenil, ocurrió a 20° C, en ambas especies; pero *C. humboldtianum* presentó una sobrevivencia mayor en la temperatura alta que *C. riojai*. La respuesta de *C. riojai* a la salinidad indica que, además de presentar rasgos morfológicos más primitivos que *C. humboldtianum*, también presenta características ecológicas más

cercanas al ancestro del género, el cual tiene un origen marino. Así mismo, aunque *C. riojai* es una especie más pequeña y menos longeva, presenta tasas de crecimiento y de desarrollo mayores que las de *C. humboldtianum*.

En general, los embriones y larvas de *C. humboldtianum* y *C. riojai*, mostraron tasas altas de crecimiento y una sobrevivencia alta, bajo las condiciones probadas. El intervalo de temperatura probado se encuentra dentro del régimen térmico de los sitios de procedencia de los respectivos reproductores, por lo que las tasas bajas de sobrevivencia y crecimiento de estas especies registradas en condiciones naturales, pueden atribuirse a otros factores diferentes a la temperatura, como puede ser la degradación del habitat y la disminución en la disponibilidad del alimento para los estados tempranos de desarrollo. En este contexto, los embriones y larvas de ambas especies, se pueden considerar como buenos indicadores de la calidad ambiental de los sistemas acuáticos donde habitan, en relación a la contaminación y a la alteración del habitat.

ABSTRACT

C. humboldtianum and *C. riojai* (Atherinopsidae) are endemic species and they inhabit Alto Lerma. Today, although the first one has a broader distribution, it has been extirpated from Valle de Mexico. At present, owing of habitat alteration and reduction and reservoirs pollution of Toluca Valley, traditional fishing has been supplanted by agricultural and industrial activities. They have reduced the resource and have limited their distribution and *C. riojai* is an endangered species.

Early development process of *Chirostoma humboldtianum* (jordani group) and *Chirostoma riojai* (arge group) (Atherinopsidae) are described and analyzed through of the theory of saltatory ontogeny, for explaining their life histories.

Eggs were obtained through in vitro fertilization of *C. humboldtianum* (Las Tazas dam, Tiacaque), and *C. riojai* (I. Ramirez dam, Almoloya de Juarez), both in Mexico State, Mexico. Embryonic and larval periods, at 20° C in both species, are described and analyzed. In both periods, timing and characteristics steps and phases are defined, thus like thresholds between them. By the other hand, temperature (18, 20, 22, and 24 °C) and salinity (0, 4, 8, 12 g/L) effects on percentage hatching, incubation time, size at hatching, development rate, absolute and relative growth in embryonic period and temperature (18, 20, 24° C) and salinity (0, 4, 8, 12 g/L) effects on absolute growth, through two factorial design, and temperature and development rate effects on survival from hatching to juvenile, were determinate.

Both species are artriciales, and owing their reproductive style and egg type they are nonguarding, egg-scattering obligatory plant spawners, regarding this theory. Steps, phases and thresholds were evident in both species, this confirms that development is a saltatory process and not as a gradual process.

Embryonic period has three phases: division, embryo and eleutheroembryo. Embryonic period of *C. humboldtianum* last 17 days and *C. riojai* embryonic period 12 days, at 20° C, in freshwater. Larval period is characterized by mixed feeding (endogenous and exogenous feeding) at beginning period and, it is fully exogenous feeding. It lasts until dead. This period presents two phases: first one is apterolarva (larvae without fins) and second one, pterolarva (larva with fins). These species fed live food only. First food was *Brachionus plicatilis* (Rotifera), later they can eat *Artemia* nauplii and pterolarvae can be fed on neonates and adults cladocerans (*Moina macrocopa*). This period lasts 35 days, in both species at 20° C and freshwater. Juvenile period begins when the fins are fully differentiated and scales are on lateral line. *C. humboldtianum* juveniles, under those conditions, get 21.18 ± 0.35 mm SL and *C. riojai* ones, 13.8 ± 0.21 mm SL. Temperature and salinity have significative effects on early development in both species. Temperature is the major factor controlling the development rate of fish. In both periods, *C. humboldtianum* presents better tolerance to high temperature than *C. riojai*, but it is more sensible to increased salinity.

C. riojai response to salinity, indicates that, besides to present more primitive morphological traits than *C. humboldtianum*, it presents ecological characteristics like their ancestor, which it has a marine origin. Although *C. riojai* is a smaller and less longevity species, it showed higher growth and development rates than *C. humboldtianum*.

In general, embryos and larva of *C. humboldtianum* and *C. riojai* presented high development and survival rates, under conditions probed. Temperature interval is into of thermal regimen of places where brood stocks proceed, for this reason, the low survival and growth rates of these species recorded under natural conditions, they can be attributed to other external factors different than temperature, as it could be habitat degradation, and lowered food availability for young stages. In this context, embryos and larvae of both species may therefore be considered as good

indicators of the environmental quality of aquatic systems where they inhabit, both with regard to pollution and habitat alterations.

INTRODUCCIÓN

El estudio de la ontogenia de los animales, el desarrollo de un individuo desde la activación hasta la muerte, ha dado lugar a diferentes teorías. Una de ellas y la más difundida es la teoría epigenética, propuesta por Aristóteles y Harvey y posteriormente retomada por diversos investigadores y aceptada a fines del siglo XIX con los trabajos de Pander, von Baer, Rathke y Darwin (Gilbert, 2000). Esta teoría se basa en el principio de que los órganos de cada individuo son creados en cada generación y describe los mecanismos a través de los cuales, los procesos del desarrollo se llevan a cabo de manera gradual, en todos los niveles de organización y son responsables de la transformación de una célula inicial, en un adulto pluricelular de gran complejidad.

En el estudio de la biología del desarrollo de los peces, además de la teoría epigenética, se ha propuesto la teoría de la ontogenia saltatoria (Balon, 1985), la cual no se contrapone a la primera en cuanto a los mecanismos que se llevan al cabo en los procesos del desarrollo, sino que explica, a través de su historia de vida, cómo estos procesos se suceden durante la ontogenia en relación con su ambiente. La teoría saltatoria se basa en que estos procesos no se llevan al cabo a través de la acumulación de pequeños cambios que dan origen a un desarrollo gradual, sino por pasos, que son intervalos estables naturales de la ontogenia, durante los cuales los cambios en forma y función no constituyen una alteración significativa en las relaciones ambientales de los organismos.

Las relaciones ambientales consisten, tanto de factores intrínsecos como extrínsecos. Los pasos están separados por umbrales, que son cambios cuantitativos que se suman en cambios cualitativos sincrónicos y que en conjunto, dan lugar a cambios funcionales abruptos en la ontogenia; éstos darán lugar a una nueva relación ambiental y posteriormente, a un nuevo paso en el desarrollo (Balon, 1985).

El estudio de las historias de vida, a través de las adaptaciones asociadas con el desarrollo, revelan los patrones ecológicos que reflejan las relaciones esenciales del pez en la naturaleza (McElman y Balon, 1985).

El modelo de la ontogenia saltatoria comprende los períodos embrionario, larvario, juvenil, adulto y senescente. El desarrollo temprano está enmarcado dentro de los períodos embrionario y larvario, en organismos que presentan un desarrollo indirecto; embrionario y alevín, los que tienen un desarrollo denominado transitorio y aquellos que presentan un desarrollo directo, sólo incluyen el período embrionario (Balon, 1985).

El presente trabajo se centra en el análisis de la historia de vida temprana, de las relaciones ecomorfológicas de *Chirostoma humboldtianum* y *C. riojai* (Atheriniformes: Atherinopsidae) durante la ontogenia temprana. Este trabajo también intenta demostrar las evidencias de la existencia de pasos o intervalos en

la misma, de acuerdo a la teoría saltatoria de la ontogenia. Pretende, además, que el conocimiento generado, coadyuve a profundizar en los estudios que conduzcan al establecimiento de biotecnologías, que sustenten su cultivo como una vía para recuperar estas especies como un recurso, para su aprovechamiento.

ANTECEDENTES

El género *Chirostoma* pertenece a la familia Atherinopsidae (Dyer y Chernoff, 1996), es un taxón endémico de la Mesa Central, en México, a excepción de *C. jordani* que también se distribuye en algunos sitios de Durango. Este género comprende 18 especies y seis subespecies, divididos en dos grupos sin valor taxonómico: Jordani, que presenta valores merísticos altos, las escamas de la línea lateral con canales y escamas con los bordes lacineados y el grupo Arge, con valores merísticos más bajos, las escamas de la línea lateral con poros redondos y escamas con los bordes lisos (Barbour, 1973b). El género *Chirostoma* ha dado lugar a grandes controversias en cuanto a su origen y diversificación de origen monofilético (Echelle y Echelle, 1984; Dyer y Chernoff, 1996) y ocho especies de la familia Atherinopsidae se encuentran catalogadas en riesgo de extinción (NOM-059-Ecol-2001). Filogenéticamente, Barbour (1973a) considera que las especies de mayor talla son descendientes de un ancestro semejante a *C. humboldtianum*, además de ser la primera especie íctica descrita de origen y distribución netamente mexicanos. (De Buen, 1945).

Chirostoma humboldtianum pertenece al grupo Jordani y se localiza en ambientes lénticos de la región central de México a lo largo de la cuenca del río Lerma. Es una especie endémica que, junto con otras especies del género, se le conoce con el nombre común de pez blanco. Habita la zona limnética de los lagos de esta

cuenca localizados entre los 2 170 y 2 552 msnm, bajo temperaturas que varían desde los 6 hasta los 25 °C (Moncayo, 1996; Medina, 1993). Consume zooplancton, cuya diversidad varía en relación a la edad y a la época del año (Gámez, 1984; Mendoza, *et al.*, 1995; Segura y Soto, 1995; Sánchez, 1995; Moncayo, 1996; Fuentes, 2000) los adultos también consumen insectos y peces (Mendoza, *et al.*, 1995; Moncayo, 1996). Es una especie iterópara asincrónica, que según la clasificación de Balón (1985), pertenece al "guild" reproductivo fitolitófila no guardadora. Se reproduce todo el año, con picos máximos que varían de acuerdo a la altitud. En el estado de México, en primavera y verano (Moncayo, *et al.*, 1983; Flores, 1985; Aguilar y Navarrete, 1994) y en invierno y verano (Villagómez, *et al.*, 1997). En el Estado de Michoacán, en otoño e invierno (Palacios y Chacón, 1998; Moreno, 1994; Mendoza, *et al.*, 1995). La longitud que alcanza en la edad de primera reproducción varía en relación al sexo y a la altitud: de 71 a 110 mm en los machos y de 84 a 130 mm en las hembras (Moncayo, *et al.*, 1983; Mendoza, *et al.*, 1995; Moreno, 1994; Aguilar y Navarrete, 1994), sin embargo, la fecundidad absoluta estimada por estos mismos autores, es variable entre hembras de longitudes semejantes; en general, el número de óvulos estimado varía de 2 000 a 19 500 por hembra. En condiciones controladas, se ha determinado una edad de primera reproducción de 9 meses y una fertilidad de 400 a 1 180 huevos por desove, por hembra y de cinco a siete desoves por período reproductivo (Figuerola *et al.*, 2003).

Chirostoma riojai pertenece al grupo Arge y es endémico en el Estado de México, en el Valle de Toluca (Solórzano y López, 1965). Actualmente, se localiza en la Laguna de Santiago Tilapa, de donde se describió el holotipo y en la presa Ignacio Ramírez (Chávez-Toledo, 1987). Se ha registrado en dos sitios nuevos, San Jacinto y Pastejé, en el mismo estado (Figuroa *et al.*, en preparación).

Chirostoma riojai, también junto con otras especies del género, se le conoce con el nombre común de charal. Es una especie que ha sido poco estudiada desde el punto de vista biológico. Se ha determinado para la población, que habita en la presa Ignacio Ramírez un intervalo de temperaturas de 11 a 22 °C; alcanza una longevidad de tres años, con una edad de primera reproducción, entre los cuatro y seis meses de edad. Presenta reproducción iterópara asincrónica, con dos períodos máximos: uno en primavera y otro en verano. Tiene fecundidad baja, pero fertilidad y viabilidad altas, en comparación con el tamaño de sus desoves (Figuroa *et al.*, 2003). Es una especie zooplanctófaga, aunque se han encontrado en el contenido estomacal, larvas y adultos de insectos y peces de su misma especie (Méndez, 1996; Ordóñez, 1999).

El conocimiento que se ha generado, acerca de estas dos especies, se refiere a los períodos de juvenil y adulto en su habitat naturales. Los estudios relacionados con el desarrollo temprano, son escasos. Se han hecho estudios morfológicos de huevos y larvas de *C. estor estor* (Segura, 1997), de *C. humboldtianum* (Hernández *et al.*, 2001) y de huevos de *C. riojai* (Figuroa *et al.*, 2002), aunque

no se han considerado sus relaciones ecológicas. Las únicas especies cuyo desarrollo temprano, embrionario y larvario, que han sido descritos a través de la teoría de la ontogenia saltatoria son *C. jordani* (Ramírez, 2004) y *C. humboldtianum* (Hernández-Rubio *et al.*, 2006).

Investigadores como Figueroa *et al.* (2000) han analizado el efecto de factores extrínsecos, como la tolerancia a la salinidad en larvas de *C. humboldtianum* y Comas (2001) en larvas de *C. estor estor*, otro factor estudiado como es la temperatura en la sobrevivencia de larvas de *C. estor estor*, ha sido evaluada por Martínez *et al.* (2001) y Ramírez (2004) con embriones de *Chirostoma jordani*. El efecto de la calidad del agua, en la sobrevivencia de huevos y larvas de *C. humboldtianum* ha sido determinado por Núñez (2004). En cuanto a factores intrínsecos está el alimento en relación al crecimiento, como el trabajo realizado por Figueroa *et al.*, (2004b) en larvas de *C. riojai* y de *C. humboldtianum* (Figueroa, *et al.*, 2004a); en cuanto a preferencias alimentarias en función de la densidad y el tamaño de la presa, en larvas de *C. riojai* por Morales, *et al.*, (2004) y en juveniles y adultos de *C. humboldtianum* por Rivera (2005).

MARCO TEÓRICO

Historia de vida

Desde el punto de vista ecológico, las historias de vida de los animales se basan en modelos teóricos que explican los patrones de la sobrevivencia, del crecimiento, de la migración, de la longevidad y sobre todo, de la reproducción. De ésta última, el mayor énfasis es sobre la edad de primera reproducción y la fecundidad.

Uno de los primeros modelos que se planteó fue el de MacArthur y Wilson (1967) para plantas y aves, respectivamente, cuyo fundamento son los estrategias r y K; las historias de vida se dirigen hacia una u otra de estas estrategias dependiendo del ambiente y de la densidad-dependencia. Si el ambiente es favorable, constante y predecible, llevará a una historia de vida de tipo de estrategia K y un ambiente con las características contrarias, llevará a una historia de vida de estrategia r. Posteriormente, Murphy (1967) discute esta teoría y argumenta que solo en un ambiente constante, los estrategias r alcanzan una mayor abundancia. Considera que la edad de primera reproducción, la fecundidad y la longevidad influyen básicamente en las historias de vida. Este autor afirma, que un período reproductivo largo se relaciona con una variación en el éxito reproductivo, entre más grande la variación, más largo el ciclo reproductivo. Así mismo, Roff (1981)

coincide en que la edad de primera reproducción es un factor fundamental que define las historias de vida, así como la sobrevivencia y la fecundidad específicos de la edad. Más tarde, Schaffer (*vide*: Wootton, 1990) incluye otro factor, que son los intercambios ecológicos. A partir del principio de la restricción en la distribución y abundancia de un recurso, se asume que un incremento en el esfuerzo reproductivo (E) produce un incremento en la fecundidad (m) pero un decremento en la sobrevivencia (p). Esto es un intercambio entre m y p . Se puede definir un grupo de combinaciones de p y m , para generar el mismo valor de la tasa intrínseca de crecimiento (r); pero un pez sólo puede elegir algunas de esas combinaciones. Estas restricciones dan lugar a las estrategias semélpara e iterópara. Los intercambios tienden a generar correlaciones negativas. Las correlaciones positivas entre dos procesos benéficos se esperan siempre que diferentes individuos (o diferentes poblaciones o diferentes especies) obtengan substancialmente diferentes cantidades de recursos (Wootton, 1990; Stearns, 1992).

Además de los parámetros poblacionales, las características de los tejidos somáticos también son de importancia en la historia de vida de un organismo, como son el tamaño y la tasa de crecimiento de los individuos. Todos los organismos incrementan su tamaño por crecimiento. Un tamaño determinado se alcanza por ser más grande, crecer más rápido, crecer por un tiempo prolongado o cualquier combinación de estas características.

Hay una variación considerable entre y dentro de las especies, en la cantidad de recursos utilizados por los padres para los cuidados parentales, después del nacimiento. Así mismo, la longevidad es importante cuando un incremento en ella, lleva a un incremento en el número de desoves y/o incrementa el período de los cuidados parentales. Por otra parte, la dispersión puede afectar la fecundidad y la sobrevivencia, por lo que el almacenamiento de energía y/o recursos será benéfico para aquellos organismos que pasan por períodos de un aporte de nutrientes deficiente. Esta puede ser utilizada más tarde para el metabolismo, crecimiento, defensa o reproducción y en general, para mejorar la futura sobrevivencia y fecundidad.

Los organismos utilizan la energía para nuevas estructuras o actividades que incrementan su tasa de captura o de protección contra sus enemigos. Esto también lleva a mejorar el crecimiento, la sobrevivencia y la fecundidad.

El tamaño de los descendientes es una alternativa para repartir la misma inversión reproductiva: a más hijos, menor tamaño; menos hijos, ligeramente mayor tamaño, etc. La alternativa más favorecida es aquella en la que, todos los hijos tienen el valor reproductivo más grande.

La producción de pocos hijos grandes, se produce en hábitats favorables a la especie y la producción de más hijos pequeños, en hábitats neutros o desfavorables (Begon, 1986).

La historia de vida no es una propiedad fija que un organismo exhiba, ya que es afectada por los factores ambientales. La historia de vida es el resultado de fuerzas evolutivas, pero también de fuerzas más inmediatas en relación al ambiente en que vive un organismo.

Muchas historias de vida varían debido a la disponibilidad y accesibilidad de los recursos en el hábitat de un organismo y no tanto por las diferencias entre hábitats. También los problemas fisiológicos a los que se enfrenta un organismo, generalmente, le afectan de manera indirecta a su historia de vida (p. ej. problemas de osmorregulación o la termorregulación, pueden afectar la actividad reproductiva).

La historia de vida está restringida por las posibilidades de desarrollo disponibles para un organismo y ésta está restringida por la posición filogenética que el organismo ocupa. Las historias de vida de los organismos pueden abarcar solo un número limitado de opciones, por lo que los organismos están confinados a un intervalo limitado de hábitats.

Los organismos tienen un tamaño determinado debido a su metabolismo y la edad de primera reproducción y también está fuertemente correlacionada con el tamaño. Como el tamaño de los organismos está confinado dentro de ciertos

límites, los otros componentes de la historia de vida también están confinados a él. La historia de vida está restringida por la posición filogenética del organismo.

Un último rasgo de las historias de vida, son las relaciones alométricas, que pueden ser ontogenéticas o filogenéticas y son de gran importancia en el estudio de las historias de vida. En la mayoría de los casos, las similitudes geométricas o fisiológicas cambian con el tamaño. Un componente de una historia de vida involucrado en una relación alométrica, afecta a otros componentes de la historia de vida, debido a los intercambios y porque los organismos funcionan como un todo. Las alometrías pueden llevar, en sí mismas, a variaciones en las historias de vida que afectan todos sus componentes en todos los niveles taxonómicos. Son una fuente particularmente potente de restricción filogenética.

Si organismos de diferente tamaño fueran isométricos, todas sus superficies se incrementarían como el cuadrado del tamaño lineal, mientras que los volúmenes y pesos se incrementarían al cubo. Un incremento en tamaño llevaría a un decremento en las relaciones longitud/área, longitud/volumen y, más importante, decrementos área/volumen. Sin embargo, casi todas las funciones del cuerpo dependen para su eficiencia, de una de esas relaciones (o una variable relacionada con ellas). Un cambio en tamaño en organismos isométricos, llevaría a un cambio en eficiencia.

Para aumentar la eficiencia, dentro de un organismo o entre un organismo y su ambiente, debe haber cambios en las relaciones area/volumen, dando lugar a cambios en tamaño y para mantener la eficiencia, hay que cambiar la forma (Begon, 1986).

Finalmente, otro rasgo relevante en las historias de vida, es el desarrollo u ontogenia de los individuos. El desarrollo es la secuencia de todos los eventos y procesos cuantitativos que dan lugar a cambios cualitativos en su vida. Los procesos del desarrollo se dividen en tres tipos:

Morfogénesis: en el nivel biótico, los procesos morfogenéticos son aquellos en que nuevas formas emergen de las viejas, por lo que la morfogénesis es el conjunto de todos los procesos morfogenéticos de un biosistema.

Diferenciación: un proceso de diferenciación se presenta cuando un número de tipos de subsistemas en un biosistema y por lo tanto, el número de funciones específicas en él, aumenta. La diferenciación se puede presentar en todos los niveles de organización de un organismo, ya sea unicelular o multicelular.

Crecimiento: un proceso de crecimiento en un biosistema, durante un intervalo de tiempo, se presenta sólo si las tasas de captación y síntesis de moléculas en un biosistema son mayores que las de degradación y salida de moléculas durante ese mismo período; esto es, si el anabolismo es mayor que el catabolismo.

Así, el proceso de crecimiento no solo implica el aumento de tamaño, sino también un cambio en la composición química de un organismo. Un biosistema experimenta un proceso de crecimiento asociado al desarrollo cuando además, se

combina con un proceso morfogenético (Balon, 1985; Manher y Bunge, 2000; Kovac, 2002).

Sin embargo, un estado dado del desarrollo puede estar representado por un intervalo de tamaños y un tamaño puede ser alcanzado por individuos en diferente estado de desarrollo. El desarrollo rápido puede ser benéfico porque puede llevar rápido a un inicio de la reproducción, a generaciones más cortas y tener tasas altas de incremento de la población. Por otra parte, un desarrollo lento (p. ej. dormancia o diapausa) también puede ser benéfico si el organismo pasa por periodos desfavorables en su ciclo de vida (Begon, 1986).

Actualmente, la teoría de las historias de vida, asume que los factores ambientales dirigen los cambios evolutivos en los patrones de las historias de vida, a través de sus efectos en las tasas de mortalidad y fecundidad específicas de la edad y que la respuesta evolutiva es la forma de los cambios en los esquemas de mortalidad, crecimiento y fecundidad específicos de la edad (Wootton, 1990; Stearns, 1992; Stearns y Hoekstra, 2000).

Las historias de vida son algo más que tasas de desarrollo variables. Las relaciones ecomorfofuncionales de los individuos, en cada etapa de su vida, son relevantes tanto en el desarrollo como en las relaciones de los organismos con su ambiente y en conjunto, modifican su historia de vida. Las estructuras, que juntas, forman un sistema, alinean sus tasas de desarrollo para llegar a ser simultáneamente funcionales e iniciar una nueva función vital en una tasa

acelerada o umbral, una transición rápida de una cualidad, de un órgano o una interacción organismo-ambiente, a otra.

El modelo de la ontogenia por saltos en los peces, es un sistema jerárquico de intervalos, que inicia con la activación y termina con la muerte del individuo. Así, de manera general, el período embrionario inicia con la activación que da lugar al desarrollo del huevo y termina con el inicio de la alimentación exógena. El período larval inicia con la alimentación exógena, aunque puede todavía tener una alimentación endógena y, por lo tanto, pasar por una alimentación mixta; la larva es una forma vegetativa transitoria, que incluso puede tener un nicho y una forma diferente a la de los juveniles y adultos. El alevín es un estado intermedio entre embrión y juvenil, que presenta alimentación mixta y algunos órganos temporales, como un vestigio de la forma larval. La transición de larva a juvenil se hace evidente con la osificación y el desarrollo completo de las aletas, además de que el juvenil presenta la forma de un adulto y está diferenciado sexualmente. Finalmente, el período de adulto inicia con la maduración sexual. El período senescente, si se presenta, se caracteriza por la suspensión definitiva de la reproducción y termina con la muerte (Balon, 1985).

En síntesis, los diferentes enfoques del análisis de las historias de vida, son un buen fundamento para abordar el estudio del desarrollo temprano de las dos especies en cuestión. Por lo que, en el presente trabajo, se propone a partir del modelo saltatorio de la ontogenia, establecer las semejanzas y diferencias en sus

relaciones ecomorfológicas y funcionales, mediante las cuales, estas especies responden a los cambios ambientales y discernir sobre las respuestas que determinan los diferentes patrones de sus historias de vida.

HIPÓTESIS

Si la ontogenia temprana ocurre de un modo saltatorio, éste se hará evidente a través de las adaptaciones ecomorfológicas asociadas con el desarrollo y reflejarán un patrón característico de la especie.

OBJETIVOS

Objetivo general.

Definir, bajo la perspectiva de la teoría de la ontogenia por saltos, las tácticas y estrategias durante el desarrollo temprano (embrionario y larvario) de *Chirostoma humboldtianum* y *C. riojai*, como representantes del grupo Jordani y del grupo Arge, respectivamente.

Objetivos particulares.

1. Para cada especie.

- Reconocer las adaptaciones ecomorfológicas y funcionales a través de los pasos y los umbrales, durante el desarrollo temprano.

- Determinar el patrón de crecimiento en longitud durante la fase de eleuteroembrión y en el período larval.
- Definir el tiempo de consumo del saco vitelino y de la gota de aceite.
- Analizar las relaciones alométricas de la longitud notocordal con respecto a la longitud cefálica y el tamaño de la boca, durante la fase de eleuteroembrión y el período larvario.
- Evaluar el efecto de la temperatura, como factor regulador y de la salinidad, como factor enmascarante, sobre el crecimiento y los pasos del desarrollo.
- Examinar el efecto de la temperatura sobre la tasa de desarrollo y la sobrevivencia desde la eclosión hasta la metamorfosis.

2. Contrastar el desarrollo temprano de *C. riojai* y *C. humboldtianum*, con base en el modelo de la ontogenia por saltos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mantenimiento de reproductores.

Reproductores de una generación F1 de *C. humboldtianum*, provenientes de reproductores silvestres de la presa Las Tazas, Tiacaque (19° 38' 29" N y 99° 42' 27" W) y de una F1 de *C. riojai*, provenientes de reproductores silvestres de la presa Ignacio Ramírez, Almoloya de Juárez (19° 26' N y 99° 51' W); ambos sitios en el Estado de México y cuyas generaciones filiales se encuentran en el Laboratorio de Hidrobiología Experimental de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, se emplearon para la obtención de huevos y larvas de cada especie.

Los reproductores de ambas especies, se mantuvieron por separado en estanques de 5 m de largo por un metro de profundidad, en agua dulce a 20 °C, bajo un fotoperíodo de 12 horas luz (hL) y 12 horas oscuridad (hO). Se alimentaron con adultos de *Artemia* sp, *Moina macrocopa* (Cladocera), *Limnodrilus hoffmesteri* (Tubificidae) y alimento balanceado para trucha, *ad libitum*, dos veces al día. Los reproductores de *C. humboldtianum* además, fueron alimentados con juveniles de *Heterandria* sp y *Poecilia reticulata* (Poeciliidae). Diariamente se retiró el material depositado en el fondo y las heces, así como también se hicieron recambios de agua dos veces por semana.

Los rotíferos y los nauplios fueron cultivados en el laboratorio y los cladóceros, tubificidos y pecílidos se compraron en establecimientos comerciales.

Fecundación.

Los huevos empleados en los diferentes ensayos se obtuvieron mediante fertilización *in vitro*, en una proporción de 2 machos: 1 hembra, para asegurar la fecundación.

La maduración gonádica de los reproductores de cada especie, se indujo a través de ciclos fototérmicos comprimidos, que simulan las condiciones naturales de los sitios de procedencia de los reproductores y que consiste en incrementos y posteriormente, en decrementos del fotoperíodo y la temperatura, con un mínimo de 9 hL/15 hO y 13 °C y un máximo de 14 hL/10 hO y 23 °C (Figuroa-Lucero *et al.*, 2003; Blancas –Arroyo *et al.*, 2004).

Los adultos cuyas gónadas estaban maduras después de la inducción térmica, se anestesiaron previamente con benzocaína a 8 mg/L, diluida en etanol, para evitar daños a los peces por el manejo. Los óvulos se obtuvieron aplicando una ligera presión abdominal y se recibieron en filamentos de plástico sumergidos en agua semi-dura reconstituida a 5 g/L de NaCl y a 20 °C. Posteriormente y con el mismo procedimiento, los espermatozoides se vertieron sobre los óvulos y se mezclaron

suavemente durante unos minutos. Una vez que el espacio perivitelino se formó, los huevos se retiraron de los filamentos de plástico, cortando sus filamentos, y se colocaron en agua reconstituida (160-180 mg/L CaCO_3) a 20 °C y 5 g/L de NaCl, para evitar la proliferación de hongos y bacterias.

Paralelamente, se fijaron 100 huevos de cada especie, en formol fosfato al 10%, para determinar el tamaño promedio de los huevos y el número de filamentos. Para su medición se empleó un estereomicroscopio (Wild, MR) y una reglilla micrométrica (Olympus, MR) con una precisión de 0.01 mm.

Período embrionario.

Descripción del período embrionario.

Se colocaron 100 huevos de cada especie, en un contenedor de 3 L, en las mismas condiciones usadas para la fertilización y se les suministró aireación suficiente.

Los huevos se observaron cada 10 minutos hasta la fase de mórula, posteriormente, cada 30 minutos hasta el inicio de la fase de embrión, cada 6 h hasta la eclosión y finalmente, cada 24 h hasta la alimentación mixta. Para ello, se utilizó un estereomicroscopio (Wild, MR) y se tomaron fotografías digitales.

Durante la fase de eleuteroembrión, se fijaron cinco individuos cada 12 h, en formol fosfato al 10%, para determinar el tamaño y el tiempo de consumo del saco vitelino y de la gota de aceite. Así mismo, se midió la longitud total (LT) desde la punta de la boca hasta el margen posterior del pliegue de la aleta; longitud notocordal (LN) desde la punta de la boca hasta el extremo posterior de la notocorda; longitud cefálica (LC) desde la punta de la boca hasta el borde del opérculo y el tamaño de la boca (B) por el método de Shirota (1970): $B = AB \sqrt{2}$, donde AB es la longitud de la maxila superior. Para la medición de las diferentes variables, se empleó una reglilla micrométrica (Olympus, MR) y un estereomicroscopio (Wild, MR).

Se determinó el crecimiento absoluto y relativo de la longitud cefálica y del tamaño de la boca con respecto a la longitud notocordal. Por otra parte, se definió el patrón de pigmentación en ambas especies.

La nomenclatura empleada para la descripción de los diferentes procesos del desarrollo embrionario, fue la propuesta por Balon (1985). Las fases, los pasos y los umbrales entre ellos, se determinaron de acuerdo con los cambios morfo-funcionales de los diferentes niveles de organización celular y se registró el tiempo de duración, así como las características de cada uno.

La designación abreviada para cada paso en el desarrollo, sigue el sistema propuesto por Balon (1985). Las letras mayúsculas D, E, EL denotan las fases de

División, Embrión, Embrión Libre, respectivamente. El subíndice numeral arábigo inmediatamente seguido de la letra mayúscula, denota el número del paso dentro de una fase particular y el numeral arábigo subsecuente denota el número del paso en la secuencia total de la ontogenia.

Efecto de la temperatura y de la salinidad sobre el porcentaje de eclosión, el tiempo de desarrollo y la longitud notocordal en la eclosión.

Los huevos de cada especie una vez que se formó el espacio perivitelino, se colocaron en unidades de 250 mL, con un volumen de 200 mL, ($n = 10$) y se incubaron a 18, 20, 22, y 24 °C, y a una salinidad de 0, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 g/L de NaCl; la combinación de los diferentes niveles probados, dio lugar a 28 tratamientos, que se realizaron con tres réplicas. Se hicieron recambios totales del agua diariamente y se les proporcionó aireación suficiente. Para mantener la temperatura a 18 °C, se empleó un enfriador de agua (Aquachiller, M.R.), para la temperatura de 24 °C, se utilizó un calentador con termostato (AZOO, M.R.), para el control de la temperatura de 20 °C, se utilizó el enfriador o el calentador, dependiendo de la temperatura ambiente.

El porcentaje de eclosión (p) obtenido en cada réplica, se transformó a valores del arcoseno de \sqrt{p} para normalizar los datos. En cada experimento, se aplicó la prueba de Bartlett para comprobar la homocedasticidad de los datos, Se utilizó el modelo I de ANOVA de dos vías ($\alpha = 0.05$) para evaluar el efecto de la

temperatura y la salinidad, sobre el porcentaje de eclosión (%), el tiempo de desarrollo y la longitud notocordal (LN) de los eleuteroembriones (EL) al nacer. Posteriormente, se realizaron comparaciones múltiples de los valores promedio obtenidos en cada tratamiento (método de comparaciones múltiples de Duncan, $\alpha = 0.05$). El porcentaje de eclosión con respecto a la temperatura y a la salinidad se ajustó mediante regresiones lineales por el método de mínimos cuadrados (Sokal y Rohlf, 1981).

La relación entre el tiempo de desarrollo hasta la eclosión y la temperatura constante dentro del intervalo óptimo de la especie, se ajustó a una relación exponencial de la forma $y = a e^{xb}$, donde y representa el tiempo en días hasta la eclosión, x representa la temperatura y a y b son constantes (Kamler, 1992). Figueroa *et al.* (2007) comprobaron que en el intervalo de 17 a 21 °C, se lleva a cabo la reproducción en ambas especies. Considerando que en los sitios de distribución de estas especies, la temperatura alcanza un máximo de 25 °C, el intervalo de temperatura viable se fijó de 18 a 24 °C.

La relación entre la LN en la eclosión y la temperatura y de la LN y la salinidad se ajustaron a regresiones por el método de mínimos cuadrados (Sokal y Rohlf, 1981).

Tabla 1. Diseño experimental de la temperatura y la salinidad, n = 10 con tres réplicas.

Temperatura (°C)	Salinidad (g/L NaCl)						
	0	4	8	12	16	20	24
18	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
20	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14
22	T15	T16	T17	T18	T19	T20	T21
24	T22	T23	T24	T25	T26	T27	T28

Período larval.

Descripción del período larval.

Para la descripción del período larval de cada especie, se incubaron 450 huevos en un contenedor de 40 L, en las mismas condiciones usadas para la fertilización y se les suministró aireación suficiente. Posteriormente, 300 eleuteroembriones recién eclosionados se colocaron en un contenedor de 40 L hasta la metamorfosis a juvenil, bajo las siguientes condiciones: 5 ± 0.5 mg/L oxígeno, 20 ± 0.5 °C, fotoperíodo 12 hL/12 hO. Los organismos se alimentaron *ad libitum* dos veces al día, siguiendo el método descrito por Figueroa *et al.* (2004 a). El rotífero

mixohalino *Brachionus plicatilis* se suministró como primer alimento, en una densidad de 20 rotíferos/mL, desde el inicio de la alimentación mixta hasta el día 7 después de la eclosión (dde). Posteriormente, las larvas se alimentaron con nauplios de *Artemia sp.* hasta el día 25 dde, en una densidad de 10 nauplios/mL y del día 20 dde, hasta la metamorfosis a juvenil, las larvas se alimentaron con neonatos y adultos de *Moina macrocopa* (Cladocera) a una densidad de 5 individuos/mL. El 30% del volumen del contenedor se reemplazó con agua limpia, en días alternados y bajo las mismas condiciones. La materia fecal y otros detritus se retiraron en cada recambio de agua.

Cinco organismos de cada especie, se preservaron con formol fosfato al 10%, diariamente, durante los primeros siete días y después, cada cinco días, hasta la transformación a juvenil, para medir las siguientes variables:

Longitud del cuerpo (LT), desde la punta de la boca hasta el borde del pliegue de la aleta.

Longitud patrón, desde la punta de la boca hasta el extremo posterior de la notocorda (LN), antes de la postflexión y hasta el margen posterior de los huesos hipurales, una vez que se formó la placa hipúrica (LP).

Longitud cefálica (LC), se midió desde el borde anterior de la boca hasta el margen posterior del opérculo, el tamaño de la boca se determinó a través del método de Shirota (1970):

Boca = $AB \cdot \sqrt{2}$, donde AB es la longitud de la maxila superior.

Las mediciones se hicieron con una exactitud de 0.1 mm, usando un estereomicroscopio (Stemi IV, Zeiss MR) y un programa de análisis de imagen (KS400, ver. 3.02).

Durante este período, se determinó el tiempo de duración de las fases, los pasos y los umbrales a 20 °C, así como el crecimiento absoluto en LN (o LP), LC y B, y las relaciones entre LN (o LP) vs. LC, LN (o LP) vs. B y LC vs. B, a través de modelos de regresión.

El tiempo (dde) de la primera alimentación exógena, de la apertura del ano, de la formación de cada una de las aletas, los cambios en la flexión de la notocorda, los cambios en el patrón de pigmentación y la aparición de las escamas se determinó por observaciones directas.

De acuerdo a los resultados anteriores, se definieron las características morfológicas y tiempo de desarrollo de las fases de Apterolarva (sin aletas) y de Pterolarva (con aletas) (Balon, 1985).

La designación abreviada para cada paso en el desarrollo, sigue el sistema propuesto por Balon (1985). Las letras mayúsculas L¹11 y L²12 denotan las fases de Apterolarva (larva sin aletas o "finfold" larva), y Pterolarva (larva con aletas

formadas o “finformed” larva), respectivamente. El subíndice numeral arábigo inmediatamente seguido de la letra mayúscula, denota el número del paso dentro de una fase particular y el numeral arábigo subsecuente denota el número del paso en la secuencia total de la ontogenia.

Tabla 3. Nomenclatura empleada

Nombre	Abreviatura
Filial 1	F1
Horas luz	hL
Horas oscuridad	hO
Longitud total	LT
Longitud patrón	LP
Longitud notocordal	LN
Longitud cefálica	LC
Boca	B
División	D
Embrión	E
Eleuteroembrión	EL
Larva	L
Días después de la eclosión	dde
Días después de la fecundación	ddf

Efécito de la temperatura y de la salinidad sobre el crecimiento.

Para evaluar el efécito de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento de cada especie, se utilizó un diseño bifactorial. Los niveles de la temperatura fueron 18, 20 y 24 °C y de la salinidad: 0, 4, 8, 12 y 16 g/L, de cuya combinación se obtuvieron 15 tratamientos. Cien embriones libres recién eclosionados se colocaron en recipientes de 5 L, en un volumen de 4 L de agua reconstituida y aireación suficiente, para cada tratamiento y se recambió el 50% del volumen del agua cada tercer día. Para mantener la temperatura de 18 °C, se empleó un enfriador de agua (Aquachiller, MR), para la temperatura de 24 °C, se utilizó un calentador con termostato (AZOO, MR), para el control de la temperatura de 20 °C, se utilizó el enfriador o el calentador, dependiendo de la temperatura ambiente. Las larvas se alimentaron con *Brachionus plicatilis* (Rotifera) desde el inicio de la alimentación exógena hasta el día siete después de la eclosión (dde); posteriormente, se les proporcionaron nauplios de *Artemia* sp (Anostraca) hasta el día 25 dde y del día 20 dde hasta la metamorfosis a juvenil, se les proporcionaron neonatos y adultos de *Moina macrocopa* (Cladocera), de acuerdo al esquema de alimentación propuesto por Figueroa *et al.* (2004 a).

En todos los ensayos, se conservaron cinco organismos, en formol fosfato al 4%, cada 7 días, hasta la transformación a juveniles. Los organismos se midieron en un estereomicroscopio (Stemi IV) con una precisión de 0.01 mm y el programa de análisis de imágenes KS400, ver. 3.02. La longitud patrón se midió desde el

hocico hasta el extremo de la notocorda, hasta su flexión (LN) y hasta los huesos hipurales después de ésta (LP); la longitud cefálica (LC) se midió desde la punta del hocico hasta el margen posterior del opérculo.

En cada tratamiento y en cada especie, se definió el tiempo de duración de cada una de las fases del período larval. Las diferencias en el crecimiento absoluto de LN se analizaron al final del período, por medio de un análisis de varianza de dos vías, modelo I y la comparación múltiple de las medias de la LN.

La tasa de crecimiento (G) en cada tratamiento, se calculó como:

$$G = (L_f - L_i) / (t_1 - t_0)$$

donde G es la tasa de crecimiento diario, L_f la LN final, L_i la LN inicial y t_1 y t_0 , el tiempo final e inicial (Al Hazza y Hussein, 2007).

Tabla 2. Diseño experimental de la temperatura y la salinidad en el período larval.

Temperatura (°C)	Salinidad (g/L NaCl)				
	0	4	8	12	16
18	T1	T2	T3	T4	T5
20	T6	T7	T8	T9	T10
24	T11	T12	T13	T14	T15

Efecto de la temperatura sobre la sobrevivencia durante el período larval.

Se colocaron 30 eleuteroembriones de 0 dde, en un volumen de un litro de agua reconstituida, a 5 mg/L de NaCl, en cada una de las siguientes temperaturas: 18, 20 y 24 °C, con tres réplicas, para analizar el efecto de este factor sobre el porcentaje de la sobrevivencia, desde la eclosión hasta la metamorfosis a juvenil, en cada especie. El control de la temperatura, de la calidad del agua y el esquema de alimentación, se realizaron de la misma manera que en el experimento anterior.

El porcentaje de sobrevivencia (p) final en cada temperatura, se transformó al arcoseno \sqrt{p} para normalizar los datos y posteriormente, se aplicó un análisis de varianza monofactorial (modelo I) y una comparación múltiple de medias (Método T, Sokal y Rohlf, 1981) para detectar diferencias.

Así mismo, se determinó el efecto de la temperatura sobre la tasa de desarrollo ($V = t^{-1}$), la temperatura umbral y la duración de los pasos del desarrollo desde la fecundación hasta la metamorfosis.

RESULTADOS

Óvulos.

Los óvulos de ambas especies son esféricos, transparentes y con el corion liso. *C. humboldtianum* presenta óvulos de color ámbar con 1 a 4 zarcillos o filamentos largos con una moda de 1 ($n = 511$) (Fig. 1); *C. riojai* produce óvulos transparentes, con un solo zarcillo largo ($n = 100$). En ambas especies, los filamentos se localizan en el polo vegetal y envuelven la superficie del óvulo.

Una vez que los óvulos son ovidepositados y fecundados, se hidratan y los zarcillos se extienden para sujetarse a las raíces de las macrofitas que se encuentran sumergidas en el cuerpo de agua, o bien al sustrato sobre el cual son vertidos. Posteriormente, el macho vierte el líquido seminal sobre los óvulos y se lleve a cabo la fertilización.

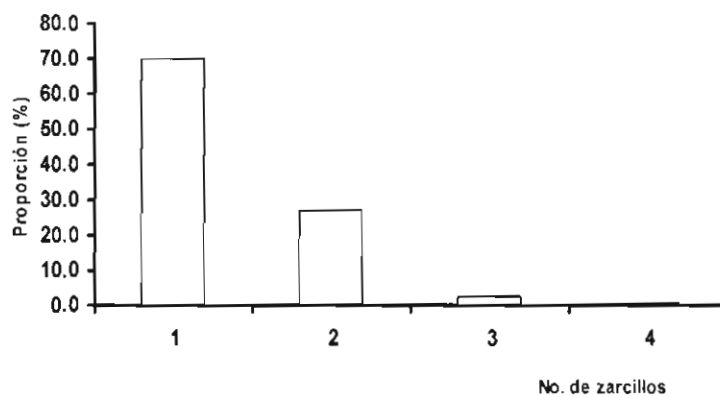


Figura 1. Frecuencia de ocurrencia del número de zarcillos en óvulos de *C. humboldtianum* (4 = 0.4%) ($n = 511$).

Período embrionario

Huevos

Ambas especies son ovíparas, sus huevos son pelágicos, telolécitos y con varios glóbulos de aceite. Los huevos recién fecundados de *C. humboldtianum*, tienen un diámetro de 1.36 ± 0.047 mm (1.28 -1.60 mm, n = 100) y los de *C. riojai* tienen un diámetro de 1.24 ± 0.05 mm, (1.13-1.35 mm, n = 100). El diámetro promedio entre ambas especies presenta diferencias estadísticas significativamente ($P < 0.001$, t de student).

El período embrionario inicia con la activación del óvulo por el espermatozoide en el momento del desove y termina con la alimentación mixta, en que el organismo se nutre tanto del vitelo (alimentación endógena) como de alimento externo (presa) a la edad de 360 hdf (horas después de la fecundación) en *C. humboldtianum* y 216 hdf en *C. riojai*, a 20 °C y 0 g/L de NaCl.

En los siguientes apartados, se mencionará en primer lugar, el tiempo de desarrollo para *C. humboldtianum* y entre paréntesis el de *C. riojai*.

Fase de División (D).

La fase de división inicia con la activación del óvulo por el espermatozoide y termina con la formación del escudo embrionario y el anillo germinal a la edad de 34:33 (30:00) hdf.

Paso D¹1 [00:00-01:30 (00:00-00:50) h]. Formación del espacio perivitelino y el blastodisco.

Este paso se caracteriza por la presencia de pequeñas y numerosas gotas de aceite que se van aglomerando hasta formar una sola. El espacio perivitelino es continuo y se hace evidente a los 15 (5) min, después de la activación. Posteriormente, a los 25 (20) min, se forma el blastodisco o disco germinal en el polo animal, que es contrario al polo vegetal donde se encuentran los zarcillos. Este paso termina con la primera división celular del disco germinal a las 01:30 (00:50) hdf, con lo que se define un umbral, ya que la organización celular cambia de una gran célula a un nivel de organización pluricelular, más complejo que el anterior.

Paso D²2 [01:30 (00:50)-24:30 (24:00) hdf]. Este paso inicia con la formación de los primeros dos blastómeros y termina con el inicio de la epibolia.

La primera división se observó a las 01:30 (00:50) hdf (dos células), la segunda a las 03:15 (01:50) hdf (4 células), la tercera a las 04:20 (03:00) hdf (8 células), la cuarta a las 05:00 (04:00) hdf (16 células.) y la quinta a las 05:10 (4:30) hdf (32 células). La primera, la tercera y la quinta divisiones fueron en el mismo plano y perpendiculares a las otras; la sexta, 06:00 (05:00) hdf (64 células) fue en un segundo plano, horizontal al primero. Las divisiones se siguieron en planos no distinguibles y los blastómeros fueron cada vez más pequeños hasta formar la mórula a las 09:35 (06:00) hdf. La blástula se formó a las 23:25 (24:00) hdf.

Paso D³3 [24:30 (24:00)-42:40 (36:00) hdf]. Gástrula y escudo embrionario.

El anillo germinal, 24:30 (24:00) hdf y el escudo embrionario, 31:13 (30:00) hdf, se forman posteriormente a la blástula. Los movimientos de epibolia se iniciaron con la gástrula a las 42:40 (36:00) hdf, seguidos del cierre del anillo germinal. Estos eventos constituyen un segundo umbral donde el huevo pasa de un nivel multicelular a la diferenciación en tejidos y órganos, con lo que se marca el final de este paso y de la fase de división.

Fase de Embrión (E).

Esta fase comprende desde la organogénesis hasta la eclosión.

Paso E¹4 (42:40 (36:00)-50:00 (48:00) hdf). Placa neural hasta la formación de la cabeza y el tronco.

Al cerrarse el anillo germinal, se forma el saco vitelino. Después de conformarse la placa neural, se forma la cabeza y el tronco. Las gotas de aceite se aglutinan hasta formar una sola gota que se dispone en la región anterior a la cabeza. A las 50:00 (48:00) hdf se forman los primordios de las cápsulas ópticas. A partir de este momento el crecimiento del embrión es conspicuo debido al incremento en el número de somites.

Paso E²5 (50:00 [(48:00)-66:35 (72:00) hdf]. Organogénesis. Formación de las cápsulas ópticas y óticas.

La formación de los órganos de la vista y el olfato marcan el inicio de este paso. Los ojos se encuentran sin pigmentar, pero con el iris formado y también se aprecian las cápsulas óticas con los otolitos. Se define el primordio del tubo cardiaco, como una arteria de posición media ventral.

Paso E³6 (66:35(72:00) -81:30 (96:00) hdf). Formación del corazón, inicio de la circulación perivitelina y formación de los melanóforos.

La arteria ventral se divide en tres ramas, las dos ramas laterales rodean al saco vitelino en forma sinusoidal hacia la parte posterior, dando lugar a la circulación

perivitelina, además, se observa el latido cardiaco. La sangre no está pigmentada. Se inicia la diferenciación del cerebro (romboencéfalo, mesencéfalo y telencefalo). Se forman dos hileras de melanóforos en la región dorsal de la cabeza y otra, en el saco vitelino.

Paso E⁴7 [81:30(96:00)-166:25 (136:00) hdf]. Síntesis de hemoglobina, incremento en el crecimiento y de la actividad cardiaca. Pigmentación de los ojos.

La sangre se torna colorida por la presencia de hemoglobina. Se observa el cristalino y se inicia la pigmentación del iris, que es de color gris. Se incrementa el latido cardiaco y el embrión presenta contracciones musculares. El espacio perivitelino ya no se distingue. Se definen los primordios de las aletas pectorales.

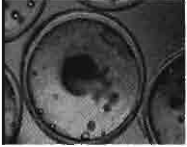


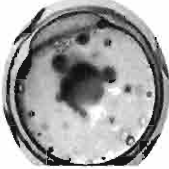


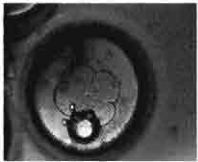

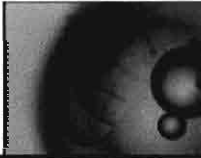


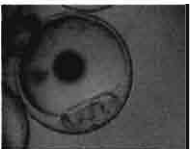
Paso E⁵8 [166:25 (136:00)-240:00(168:00) hdf]. Incremento del latido cardiaco y formación del corazón. Movimiento activo del embrión.

Se incrementa el latido cardiaco y la aurícula y el ventrículo, se diferencian. En el tronco del embrión, la circulación se dirige hacia la región caudal y de manera transversal a él. La boca y el primordio de la vejiga gaseosa se forman. El pliegue de la aleta se define y se incrementa el número de melanóforos tanto en la cabeza, como en la base del pliegue de la aleta y en la región ventral del saco vitelino. Los ojos son sensibles a la luz y se encuentran completamente pigmentados de color negro y el iris se torna refringente. Los movimientos del






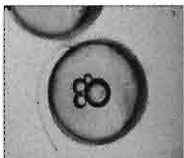



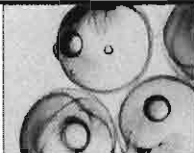



embrión son más frecuentes y vigorosos hasta que rompen el corion y eclosionan, marcando así el final de la fase de embrión.

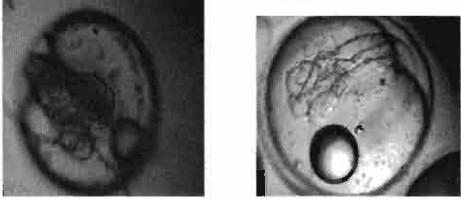
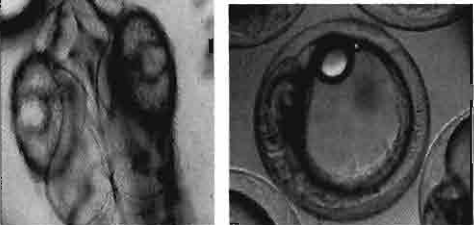
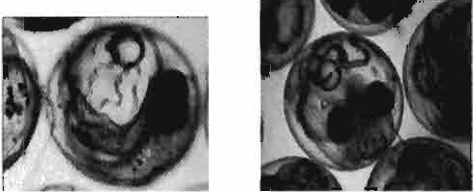
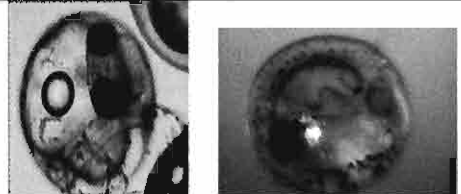

En la tabla 4 se resumen las características principales del período embrionario, hasta la eclosión, de ambas especies.

Tabla 4. Período embrionario hasta la eclosión de *C. humboldtianum* y *C. riojai*, a 20 °C, 0 g/L y un fotoperíodo de 12hL:12 hO. En cada evento, el primer tiempo es para *C. humboldtianum* y el segundo para *C. riojai*.

Paso	Tiempo posterior a la fertilización (horas)	Descripción		
			<i>C. humboldtianum</i>	<i>C. riojai</i>
Fertilización D ¹ 1	00:00 00:00 00:15 00:05	Se forma espacio perivitelino		
Disco germinal	00:25 00:05	Separación del polo animal		
División 2 células D ² 2	01:30 00:50	División meridional		
4 células	03:15 01:50	División perpendicular		
8 células	04:20 3.00	Paralelas al primer plano de división		
16 células	05:00 04:00	Perpendiculares al primer plano		

ANA
 XOCUMILLO SERVICIOS DE INFORMACION
 ARCHIVO HISTORICO

32 células	05:10 04:30	Segundo plano de división		
64 células	06:00 05:00	Sobre la primera capa de células		
Mórula	09:35 06:00			
Blástula	23:25 24:00			
Blástula tardía D³	24:30 30:00	Formación escudo embrionario y anillo germinal		
Gástrula Embrión E¹⁴	42:40 30-36	Tubo neural y cefalización		
Embrión E²⁵	50:00 48:00	Formación de capsulas ópticas y miotomos		

E ³⁶	66:35 72:00	Vesículas óticas Aorta con una rama	
E ⁴⁷	81:30 96:00	Aorta ventral con tres ramas y circulación perivitelina, presencia de hemoglobina, saco vitelino, inicia la pigmentación de los ojos, dos tipos de melanóforos, gota de aceite posición ventral	
	90:00 110:00	Corazón e irrigación muscular	
E ⁵⁸	166:25 136:00	Continúa pigmentación de los ojos, embrión con movimientos constantes	
Eclosión	240:00 168:00	Eleuteroembrión, alimentación endógena, tubo digestivo no funcional.	

Fase Eleuteroembrión o Embrión libre (EL).

Paso EL¹9 [240:00(168:00)-312:00 (192:00)hdf]. Alimentación endógena.

Diferenciación del pliegue de la aleta. Nado reducido.

La fase de eleuteroembrión inicia con la eclosión y termina con la alimentación mixta (endógena y exógena). En *C. riojai* tiene una duración de dos días y en *C. humboldtianum* de 5 días, a una temperatura de 20 °C y 0 ups.

La LT de *C. humboldtianum* al eclosionar, es de 5.06 ± 0.06 mm y de *C. riojai* es de 4.5 ± 0.04 mm. Los EL recién eclosionados permanecen en el fondo y son fototácticos positivos. Los ojos están completamente formados así como los otolitos. Los primordios de las aletas pectorales tienen los bordes redondeados y sin radios.

C. humboldtianum presenta cuatro grupos de melanóforos dendríticos y negros: uno en la región dorsal de la cabeza con varios melanóforos grandes; otro, de melanóforos de menor tamaño a lo largo del margen dorsal del tronco; un tercer grupo en la región ventral y dorsal del saco vitelino y el cuarto a lo largo de la base del pliegue de la aleta. Los EL son de color amarillo pálido con un ligero color verde en la región dorsal del tronco. Se observan 44 somites, en promedio. El saco vitelino es pequeño y redondo (1.17 ± 0.096 mm), presenta una gota de

aceite (0.3 ± 0.088 mm) en la región ventral del saco vitelino y de posición central. La boca está formada y abierta (0.24 ± 0.094 mm), el tubo digestivo se encuentra formado, pero el ano está cerrado. A las 24 h, la vejiga gaseosa se ha llenado y los EL nadan cerca de la superficie. Ellos logran la suspensión por medio de las aletas pectorales y la vejiga gaseosa. Desde esta edad y hasta el final del período larval, permanecen en cardúmen. Al tercer día después de la eclosión (3 dde) el diámetro del saco ha disminuido a 0.26 ± 0.02 mm y la gota de aceite a 0.12 mm, mientras que el tamaño de la boca se ha duplicado a 0.46 ± 0.05 mm. La circulación se define en la región ventral del saco y a lo largo de la región dorsal y ventral de la notocorda.

Los EL de *C. riojai* presentan 5 grupos de melanóforos negros de forma ameboide: en la región dorsal de la cabeza, en el margen dorsal y ventral del tronco, en la región ventral y dorsal del saco vitelino y a lo largo de la línea lateral. Los EL son transparentes, con 37 somites, en promedio. El saco vitelino es más pequeño (0.66 ± 0.05 mm) pero comparado con el tronco, es prominente; la gota de aceite tiene un diámetro de 0.15 ± 0.03 mm y se localiza en la región anterior del saco. La boca también está formada y abierta; el tubo digestivo está completo, pero cerrado. A las 24 h de la eclosión, la vejiga gaseosa también se ha llenado y los peces nadan cerca de la superficie, formando un cardúmen. El patrón de circulación es semejante al de *C. humboldtianum*.

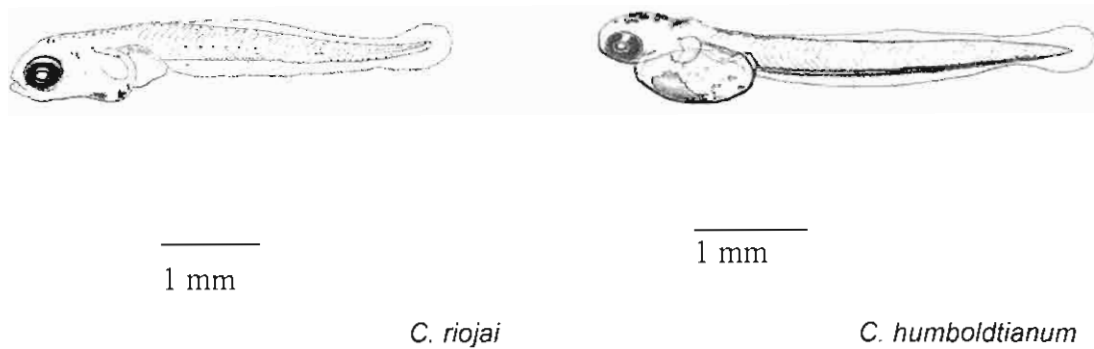


Figura 2. Eleutheroembryones de *C. riojai* y *C. humboldtianum*, 0 dde.

Paso EL²10 [312:00(192:00)-360:00 (216:00) h]. Depleción del saco vitelino. Alimentación mixta (endógena y exógena).

El desarrollo es semejante en ambas especies, pero difieren en la edad en que se presentan los cambios, así como en las magnitudes de las diferentes regiones del cuerpo que se analizaron.

En *C. humboldtianum*, la alimentación mixta se presenta en el día 4 dde (312 hdf). A esta edad, el diámetro del saco vitelino es de 0.21 ± 0.03 mm y el de la gota de aceite es de 0.095 mm. El saco vitelino disminuye con un ajuste exponencial ($R^2=0.99$), a una tasa de 0.23 mm/día; la gota de aceite, se agota en el día 4 dde, la tasa de consumo presentó un ajuste lineal ($R^2 = 0.88$) (Fig. 2).

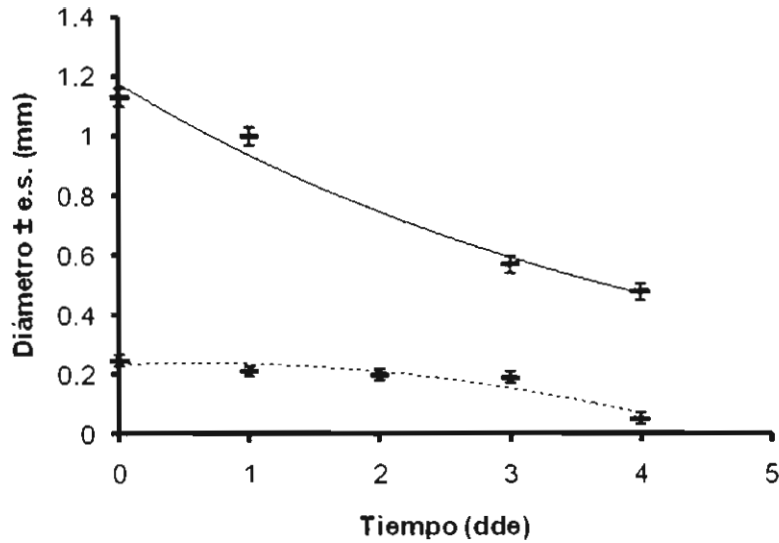


Figura 3. Diámetro (media \pm E.S.) del saco vitelino ($\text{---}\blacktriangle\text{---}$) ($y = 1.18e^{-0.23t}$, $R^2 = 0.99$) y de la gota de aceite (- - - - -) ($y = -0.02t^2 + 0.04t + 0.23$, $R^2 = 0.88$) en eleuteroembriones de *C. humboldtianum* en relación al tiempo (dde) hasta el final del periodo embrionario.

Al inicio de este paso, la LN y la LC fueron de 5.61 ± 0.17 mm y 0.98 ± 0.03 mm, respectivamente y el tamaño de la boca fue de 0.55 ± 0.024 mm. En el día 5 dde, una hilera de melanóforos aparece a lo largo de la línea lateral, también como otros tres grupos de melanóforos. Las aletas pectorales presentan los primordios de radios y el nado comienza a ser más activo, los EL siguen siendo fototácticos positivos durante este paso. El saco vitelino y la gota de aceite se consumen completamente. Sin embargo, el consumo de ambos no fue gradual sino en pasos, con largos intervalos en los cuales el diámetro no cambia, contra intervalos cortos con decrementos marcados en su diámetro, particularmente entre el día 4 y el 5 dde (cuando inicia la alimentación exógena). El tamaño de la boca no se incrementa, pero el ano se abre y termina la alimentación mixta.

C. riojai no presenta incrementos significativos en el crecimiento durante esta fase ($t, p > 0.05$). Tanto el tamaño del saco vitelino (0.66 ± 0.06 mm) como el de la gota de aceite (0.15 ± 0.04 mm) se mantienen constantes y en el día 2 dde, se consumen completamente.

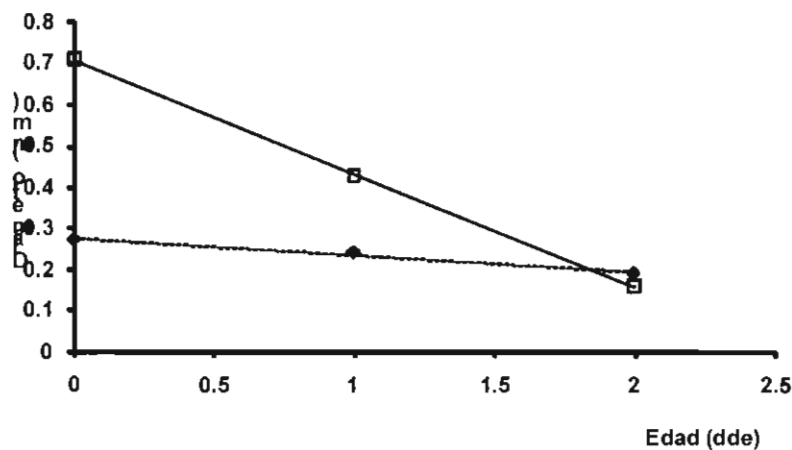


Figura 4. Diámetro del saco vitelino (—) ($y = -0.28x + 0.71$, $R^2 = 0.99$) y de la gota de aceite (- - - ♦ - -) ($y = -0.04x + 0.27$, $R^2 = 0.98$) en eleuteroembriones de *C. riojai* en relación al tiempo (dde) hasta el final del período embrionario.

La alimentación mixta (endógena y exógena) constituye un umbral en el desarrollo que marca el final del período embrionario y el inicio del larvario. Estas especies sólo aceptan alimento vivo, el primer alimento fueron rotíferos, que en este caso fue *Brachionus plicatilis*, debido a que tienen el tamaño adecuado para su boca. Esta edad es crucial en la futura sobrevivencia de las larvas, ya que si no inician la alimentación exógena a esa edad, se presenta un autoconsumo de proteína corporal y alcanzarán el punto fisiológico de no retorno, previo a la muerte. La alimentación posterior a esta etapa no compensa la energía autoconsumida ni el daño de los órganos, principalmente los del tubo digestivo.

Crecimiento de eleuteroembriones.

El crecimiento de los EL de *C. humboldtianum* con respecto a la LT, la LC y la B, se ajustó a una regresión exponencial. La LN tuvo un ajuste potencial lo que indica que el crecimiento en esta magnitud es más acelerado y se confirma porque la velocidad de crecimiento es mayor (Tabla 5).

Tabla 5. Crecimiento de *C. humboldtianum* durante la fase de EL, a 20 °C.

Variable	Regresión	R ²	L inicial- L final (mm)
LT	$y = 5.05e^{0.035x}$	0.99	5.05 – 5.85
LN	$y = 4.67x^{0.17}$	0.99	4.66 – 5.62
LC	$y = 0.93e^{0.015x}$	0.89	0.93 – 0.99
B	$y = 0.43e^{0.03x}$	0.79	0.43 – 0.49

C. riojai.

No presenta incrementos en ninguna de las variables analizadas ($t, p > 0.05$) y en todos los casos, éstas fueron menores a las de *C. humboldtianum*: LT = 4.5 ± 0.098 , LN= 4.26 ± 0.098 , LC= 0.81 ± 0.015 y B= 0.40 mm.

Crecimiento relativo

C. riojai

Debido a que esta fase tiene una duración de dos días y a que no hubo incrementos significativos en las variables analizadas, no fue posible ajustar el crecimiento a ningún modelo, por lo que se determinó la proporción de la LN, LC y el tamaño de la boca con respecto a la LT; por otra parte, se comparó la LC y el tamaño de la boca con relación a la LN y, finalmente, el tamaño de la boca con respecto a la LC.

La LC y el tamaño de la boca son pequeños con respecto a la LT y la LN, (menor al 20 y al 10%, respectivamente) sin embargo, el tamaño de la boca es grande con respecto a la LC (50%) (Tabla 6).

Tabla 6. Proporciones de la LN, LC y B, en eleuteroembriones de *C. riojai*.

LN/LT	LC/LT	LC/LN	B/LT	B/LN	B/LC
0.935	0.165	0.177	0.087	0.087	0.526
0.955	0.193	0.193	0.091	0.091	0.471

El coeficiente de variación (V) obtenido en las diferentes medidas fue mayor con el incremento en edad:

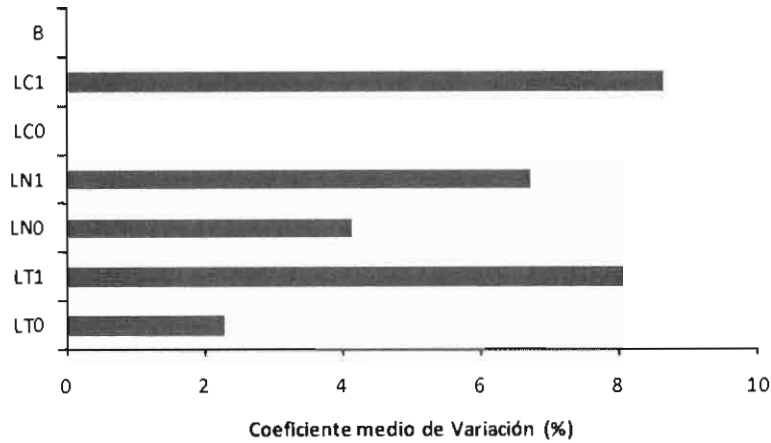


Figura 5. Coeficientes de variación en las variables medidas en EL de *C. riojai* a 0 y 1 dde. LC₀ y B tienen un valor de V = 0.

C. humboldtianum

El crecimiento relativo de la LN en relación a la LT tuvo un ajuste lineal con un crecimiento alométrico positivo. La LC vs LN, B vs LC y B vs LN, tuvieron un ajuste exponencial, donde la LC vs LN y B vs LN, presentaron un crecimiento alométrico negativo. El crecimiento de B vs LC fue alométrico positivo (Tabla 7).

Tabla 7. Crecimiento relativo de la LN, LC y B de *C. humboldtianum* durante la fase de eleuteroembrión.

Regresión	R ²	n
LN = 1.22 (LT) - 1.5	0.99	15
LC = 0.68 e ^{0.066LN}	0.93	15
B = 0.056e ^{-2.18LC}	0.98	15
B = 0.23e ^{-0.13LN}	0.84	15

Período larval.

Este período inicia con la alimentación mixta y termina con la transformación a juvenil. Presenta dos fases: apterolarva y pterolarva; la primera se caracteriza por el inicio de la alimentación exógena y por la presencia del pliegue de la aleta y la segunda, por el desarrollo de las aletas, de las branquias y la flexión de la notocorda. El inicio del período juvenil se caracteriza por el desarrollo completo de las aletas y la presencia de escamas.

C. humboldtianum.

L¹¹¹. Fase apterolarva. El período larval en esta especie, inicia en el día 4 dde (5.8 mm LT) con la alimentación mixta, a una temperatura de 20 °C. El ano se abrió en el mismo día, dando lugar a la alimentación exógena. La flexión de la notocorda se presenta en el día 14 dde, con una LT de 8.14 ± 0.3 mm y se inicia el desarrollo de la aleta caudal con 4 a 14 radios en la aleta caudal, lo que indica el fin de esta fase (Fig. 6).



Figura 6. Apterolarva de *C. humboldtianum* (4 dde)

L^{212} . Fase pterolarva. Se inicia en el día 14 dde (8.14 mm LT) con el desarrollo de la aleta caudal (Fig. 7). El día 19 dde, se presenta la postflexión de la notocorda, el inicio de la segunda aleta dorsal y de la anal. El día 26 dde, se inicia el crecimiento de la primera aleta dorsal y las aletas pélvicas. Finalmente, el día 40 dde, se presenta la transformación a juvenil, con una LT de 24.98 ± 0.88 mm (Fig. 8)



Figura 7. Pterolarva de *C. humboldtianum* (14 dde)

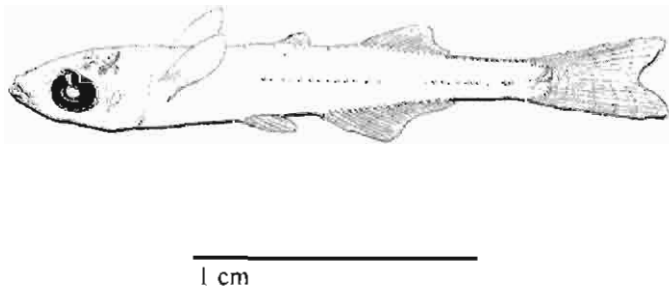


Figura 8. Juvenil de *C. humboldtianum* (40 dde)

Crecimiento absoluto. El crecimiento absoluto de la LT, la LN y la LC, tuvieron un crecimiento exponencial, con velocidades de incremento muy semejantes. Por el contrario, el tamaño de la boca se incrementó con un comportamiento lineal y a una velocidad menor (Tabla 8).

Tabla 8. Crecimiento absoluto de LT, LN, LC y B en larvas de *C. humboldtianum* (n = 40).

	Regresión	R ²
LT	$LT = 4.52e^{0.044t}$	0.99
LN	$LN = 4.43e^{0.04t}$	0.99
LC	$LC = 0.83e^{0.048t}$	0.98
B	$B = 0.027t + 0.38$	0.97

C. riojai.

Fase apterolarva. Esta fase inició en el día 2 dde (4.7 mm) (Fig. 9). El ano se abrió en ese mismo día y el saco vitelino y la gota de aceite se consumieron completamente, por lo que la alimentación a partir de esa edad, es exógena. La flexión de la notocorda se presenta a los 14 dde, y se observa el inicio de la aleta caudal con 3 a 9 radios.



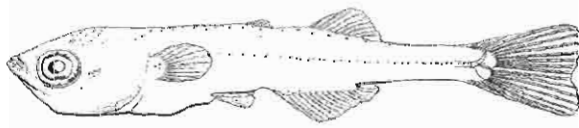
Figura 9. Apterolarva de *C. riojai* (2 dde)

Fase pterolarva. Inicia con el desarrollo de las aletas (14 dde, 7 mm LT) (Fig. 10). El crecimiento de la aleta anal y la segunda dorsal, se inicia el día 21 dde. También se presenta la postflexión de la notocorda. El día 25 dde, se observa el inicio de la primera aleta dorsal y el día 37 dde (11 mm LT), la transformación a juvenil (Fig. 11).



1 mm

Figura 10. Pterolarva de *C. riojai* (14 dde).



0.5 cm

Figura 11. Juvenil de *C. riojai* (37 dde).

Crecimiento absoluto. En esta especie el crecimiento en LT, LN, LC y B fue exponencial, también con incrementos semejantes en relación al tiempo (Tabla 9).

Tabla 9. Crecimiento absoluto de LT, LN, LC y B en *C. riojai*. (n = 35)

	Regresión	R ²
LT	LT = 4.58e ^{0.0271t}	0.98
LN	LN = 4.35e ^{0.0261t}	0.98
LC	LC = 0.80e ^{0.031t}	0.98
B	B = 0.47e ^{0.021t}	0.87

Prueba de pendientes. Para comparar la tasa de incremento en el crecimiento absoluto entre las dos especies, se compararon las pendientes de las curvas de crecimiento de cada variable analizada. Las pendientes de la LC fueron las únicas que presentaron diferencias significativas (ANOVA, p < 0.05), donde la LC de *C. humboldtianum* es mayor que la de *C. riojai*. La igualdad entre las pendientes de las demás variables indica que el patrón de crecimiento es semejante (Tabla 10).

Tabla 10. Comparación de pendientes de las curvas de crecimiento entre *C. humboldtianum* y *C. riojai*.

	b _r	b _h	F
LT	0.03	0.04	0.03
LN	0.03	0.05	0.02
LC	0.03	0.05	7.4*
B	0.02	0.03	0.04

$$F_{0.05(1,16)} = 4.49$$

Medias. Para determinar si hay diferencias significativas entre los valores iniciales y finales de las variables analizadas de las dos especies, se realizó una comparación múltiple de las medias de las mismas. Ambas especies difieren en la LT final, la LN inicial y final, la LC final y la B final; en todos estos casos, *C. humboldtianum* presenta longitudes mayores que *C. riojai* (ANOVA, HSD, $p < 0.05$, Tabla 10). Estos resultados confirman que *C. humboldtianum* presenta tallas mayores desde el desarrollo temprano y *C. riojai*, tallas menores, pero con el mismo patrón de crecimiento (Tabla 11).

Tabla 11. Comparación múltiple de las medias de LT, LN, LC y B entre *C. humboldtianum* y *C. riojai*.

mm	$ \mu_1 - \mu_2 $	HSDc	mm	$ \mu_1 - \mu_2 $	HSDc
LT _{r0} -LT _{h0}	1.2	1.24	LC _{r0} -LC _{h0}	0.17	0.45
LT _{rf} -LT _{hf}	9.72*	1.24	LC _{rf} -LC _{hf}	1.37*	0.45
LN _{r0} -LN _{h0}	1.25*	0.99	B _{r0} -B _{h0}	0.09	0.16
LN _{rf} -LN _{hf}	7.58*	0.99	B _{rf} -B _{hf}	0.29*	0.16

Crecimiento relativo.

C. humboldtianum. El patrón de crecimiento relativo en todas las variables comparadas fue potencial, lo que indica un crecimiento relativo uniformemente acelerado. El crecimiento relativo de la LC con respecto a la LN, tuvo una

alometría positiva y la B con respecto a la LN y LC, tuvo una alometría negativa (Tabla 12).

Tabla 12. Crecimiento relativo de la LC y la B con respecto a la LN y la B en relación a la LC en larvas de *C. humboldtianum* (n = 40).

	Regresión	R ²
LC/LN	$LC = 0.14LN^{1.18}$	0.99
B/LN	$B = 0.15LN^{0.77}$	0.95
B/LC	$B = 0.53LC^{0.65}$	0.96

C. riojai. El crecimiento relativo de la LC y la B en esta especie, tuvieron patrones diferentes que en *C. humboldtianum*. El crecimiento entre la LC y la LN fue exponencial con una alometría negativa, lo que indica que la LC crece más lento en relación a la LN. La B con respecto a la LN y la LC, presentó un patrón de crecimiento lineal con una alometría negativa, pero la tasa de incremento es menor que en *C. humboldtianum* (Tabla 13).

Estos resultados indican que *C. riojai* presenta un crecimiento absoluto y relativo de estas variables, más pequeño que *C. humboldtianum*., con un patrón de crecimiento absoluto semejante.

Tabla 13. Crecimiento relativo de LC y B con respecto a la LN, en *C. riojai* (n = 35)

	Regresión	R ²
LC/LN	$LC = 0.46e^{0.15LN}$	0.99
B/LN	$B = 0.07LN + 0.177$	0.86
B/LC	$B = 0.24LC + 0.31$	0.87

Efecto de la temperatura y la salinidad sobre el porcentaje de eclosión y tiempo de incubación.

Los huevos sujetos a más de 16 g/L NaCl, murieron 24 hdf (fase de división) y los huevos incubados a 16 g/L murieron antes de la eclosión, en todas las temperaturas y en ambas especies.

Los EL que eclosionaron en los tratamientos menores a 16 g/L NaCl, en todas las temperaturas, fueron afectados significativamente por la temperatura ($F_{3,32}$, $P < 0.001$, ANOVA dos vías, en ambas especies) que explicó el 68% (*C. humboldtianum*) y 55% (*C. riojai*) de la varianza en el porcentaje de eclosión, y por la salinidad ($F_{3,32}$, $P < 0.001$, ANOVA dos vías, en cada especie) que explicó el 18.3% (*C. humboldtianum*) y 22% (*C. riojai*) de la varianza en el % de eclosión. La interacción entre la temperatura y la salinidad también fue significativa ($F_{9,32}$, $P < 0.001$, en cada especie) y contó con 6.3 y 15% de la varianza, respectivamente.

Las pruebas de Duncan demostraron diferencias significativas entre los tratamientos. El porcentaje de eclosión se ajustó a una curva de respuesta de tipo óptimo respecto a la temperatura ($R^2 = 0.70$ y 0.90 , respectivamente) y fue inversamente proporcional a la salinidad en ambas especies (Figs. 4 y 5). El porcentaje de eclosión más alto se obtuvo a 22°C y 0 g/L NaCl , en ambas especies (87%).

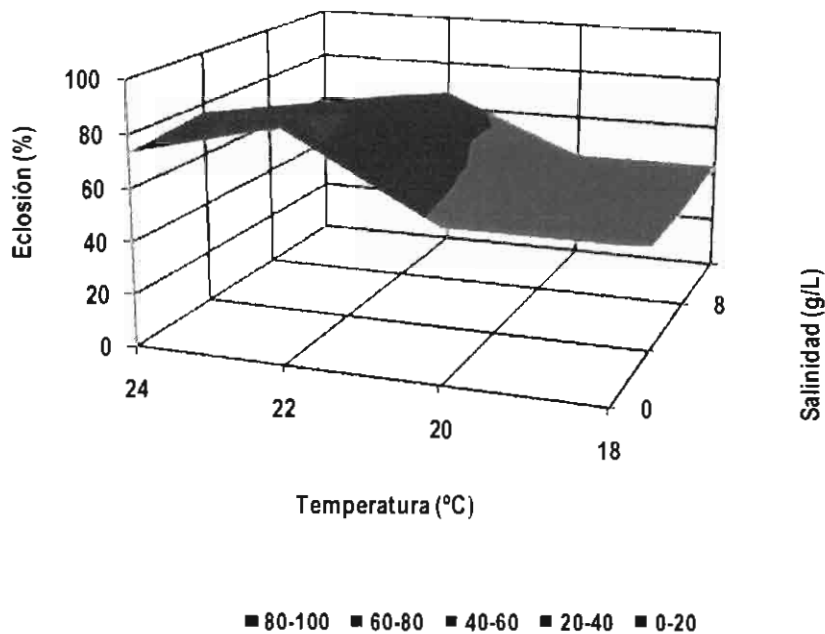


Figura 12. Porcentaje de eclosión de EL de *C. humboldtianum* con relación a la temperatura. ($y = 10.9x^3 + 77.2x^2 + 151.5x + 130$, $R^2 = 0.95$) y a la salinidad ($y = 75.3 e^{-0.1x}$, $R^2 = 0.97$) $n = 48$

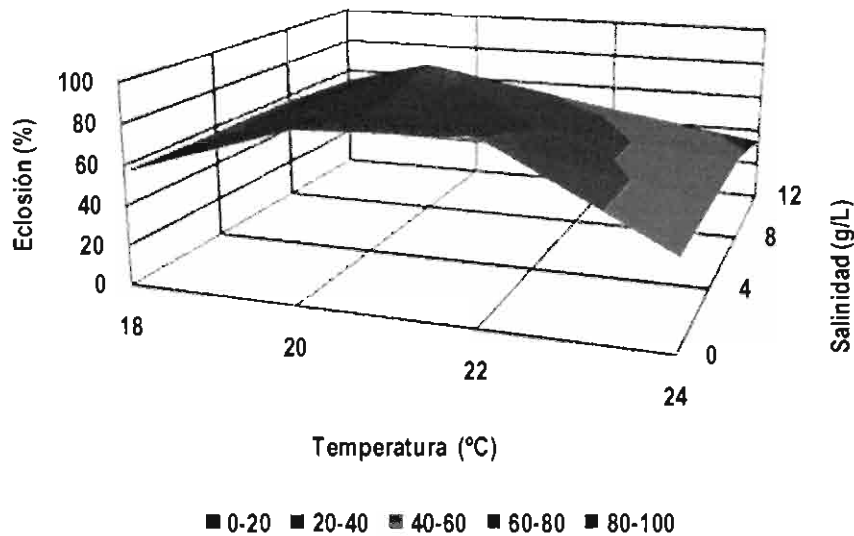


Figura 13. Porcentaje de eclosión de EL de *C. riojai* con relación a la temperatura ($y = -11.2x^2 + 51.2x + 15.5$, $R^2 = 0.90$) y a la salinidad ($y = 78 e^{-0.12x}$, $R^2 = 0.80$) $n = 48$.

El tiempo promedio para la eclosión fue inversamente proporcional a la temperatura, en cada especie (Fig. 14). Este período varió de 15.6 ± 0.26 y 12.4 ± 0.31 días, a 18°C a 9.8 ± 0.11 y 7.8 ± 0.24 días a 24°C , respectivamente. En ambas especies, la temperatura ($F_{3,32}$, $P < 0.0001$, ANOVA dos vías) tuvo un efecto significativo en el tiempo promedio a la eclosión y explicó 93.6 y 76% de la varianza en el tiempo, respectivamente. La salinidad solo tuvo efecto en el tiempo de eclosión de *C. riojai* y contó con el 9.5% de la varianza. La interacción entre ambos factores fue significativa en el efecto sobre el tiempo de eclosión en *C. humboldtianum* pero explicó solamente el 2.4% de la varianza ($F_{3,32}$, $P = 0.03$).

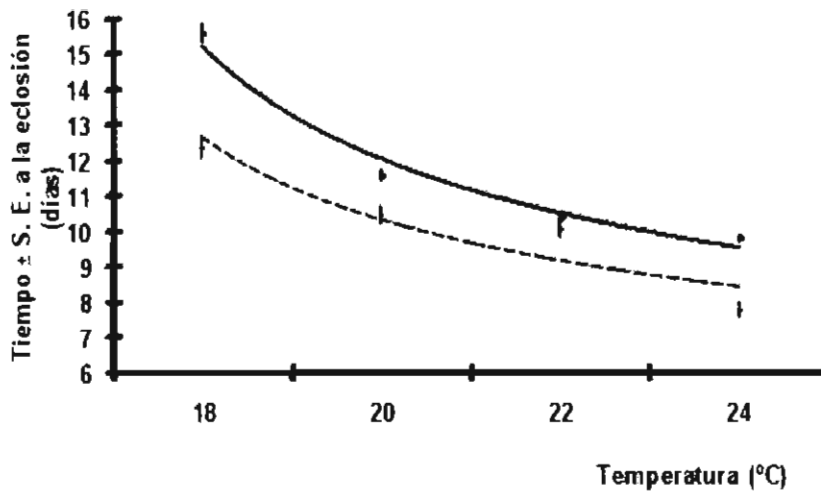


Figura 14. Tiempo promedio (media \pm s. e.) de eclosión de *C. humboldtianum* (—) ($y = 16.9e^{-0.14x}$, $R^2 = 0.88$, $n = 48$) y *C. riojai* (----) ($y = 14.4e^{-0.14x}$, $R^2 = 0.93$, $n = 48$) con respecto a la temperatura.

Efecto de la temperatura y la salinidad en la talla de eclosión.

La temperatura ($F_{3, 64}$, $P = 0.003$, y $F_{3, 64}$, $P < 0.0001$, respectivamente, ANOVA, dos vías) y la salinidad ($F_{3, 64}$, $P = 0.006$, y $F_{3, 64}$, $P < 0.0001$, respectivamente, ANOVA dos vías) tuvieron un efecto significativo en LN de eclosión y contribuyeron con el 13% (temperatura) y 11% (salinidad) de la varianza de LN para *C. humboldtianum* y 38 (temperatura) y 24% (salinidad) para *C. riojai*. La interacción entre ambos factores fue significativa ($F_{9,64}$, $P = 0.004$, ANOVA dos vías) con una varianza de 23% para *C. humboldtianum*, solamente. LN fue directamente proporcional a la temperatura e inversamente proporcional a la salinidad, en ambas especies (Figs. 15 y 16)

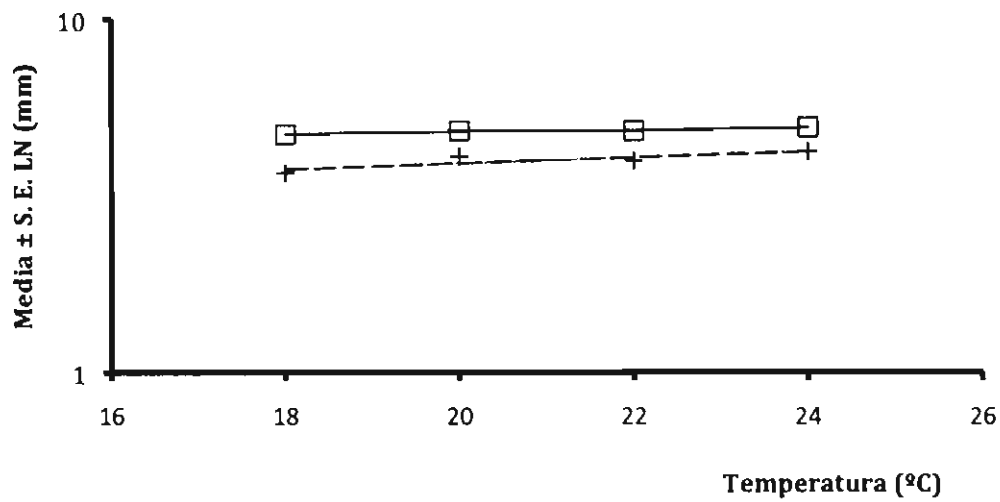


Figura 15. Talla de eclosión (LN) de *C. humboldtianum* (—) ($y = 4.65 + 0.06x$, $R^2 = 0.90$, $n = 80$) y *C. riojai* (----) ($y = -0.065x^2 + 0.48x + 3.27$, $R^2 = 0.90$, $n = 80$) con respecto a la temperatura. Note el eje y logarítmico.

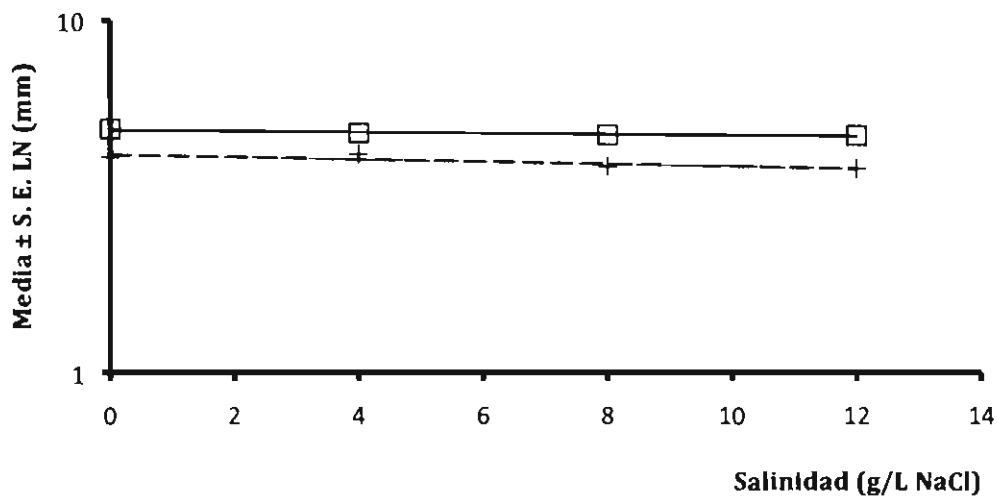


Figura 16. Talla de eclosión (LN) de *C. humboldtianum* (—) ($y = 4.88e-0.003x$, $R^2 = 0.89$, $n = 80$) y *C. riojai* (----) ($y = -0.002x^2 - 0.004x + 4$, $R^2 = 0.80$, $n = 80$) con relación a la salinidad. Note el eje y logarítmico.

Efecto de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento durante el período larval.

C. humboldtianum

El período larval se inició en todos los tratamientos, el día 4 dde. El crecimiento de esta especie, durante este período, en todos los tratamientos se ajustó a un modelo exponencial. La velocidad de crecimiento menor se presentó en los tratamientos a 18 °C y la mayor a 20 °C, en todas las salinidades (Figs. 17, 18 y 19).

El tratamiento de 18 °C-12 g/L NaCl, fue el que presentó la pendiente de crecimiento más baja de todas las condiciones probadas. La flexión se presentó los días 17 al 20 y la postflexión los días 32 al 35.

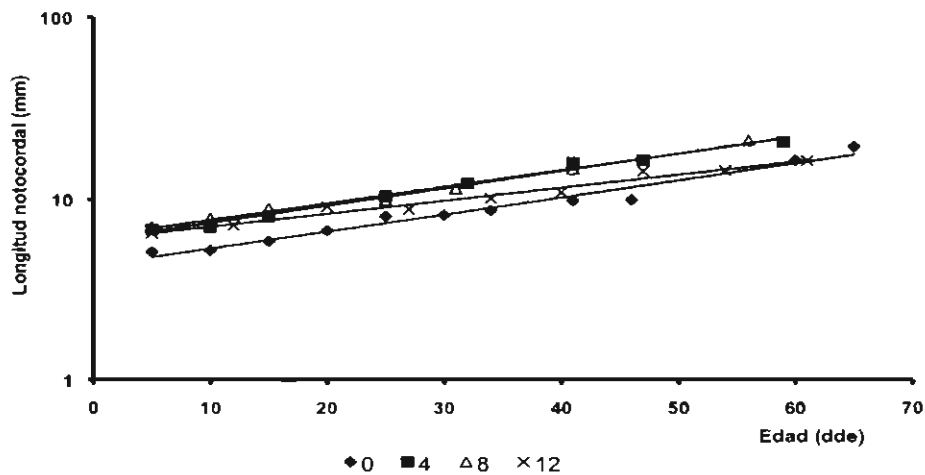


Figura 17. Crecimiento de *C. humboldtianum*, durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 18° C y 0, 4, 8 y 12 g/L de NaCl. $LN_0 = 4.3 e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.97$), $LN_4 = 6e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_8 = 6.3e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_{12} = 6e^{0.016t}$ ($R^2 = 0.97$). Eje y en \log_{10} .

En los tratamientos a 20 °C, la mayor velocidad de crecimiento se presentó a 0 g/L NaCl, además de ser la mayor de todos los tratamientos. La flexión se presentó los días 14 al 18 y la postflexión del 19 al 26. La condición que presentó el desarrollo más lento fue a 12 g/L.

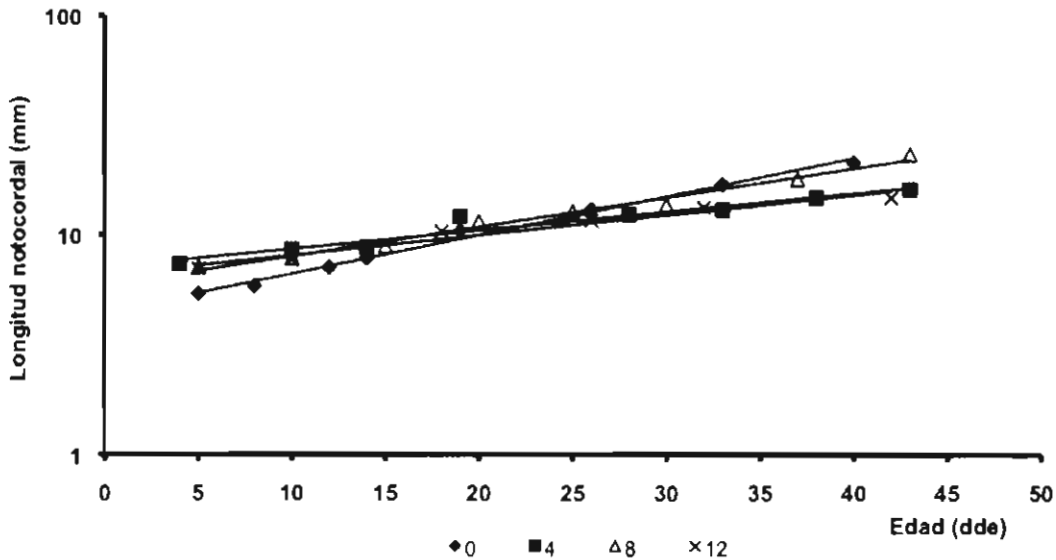


Figura 18. Crecimiento de *C. humboldtianum* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 20° C y 0, 4, 8 y 12 g/L de NaCl. $LN_0 = 4.5e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_4 = 7.1e^{0.021t}$ ($R^2 = 0.94$), $LN_8 = 5.9e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.98$), $LN_{12} = 6.6e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.96$). Eje y en \log_{10} .

A 24 °C, las pendientes mayores se presentaron en las salinidades de 0 y 4 g/L. En estos tratamientos, la condición de 12 g/L, también presentó el crecimiento más lento. La flexión se presentó los días 15 al 18 y la postflexión los días 22 al 25.

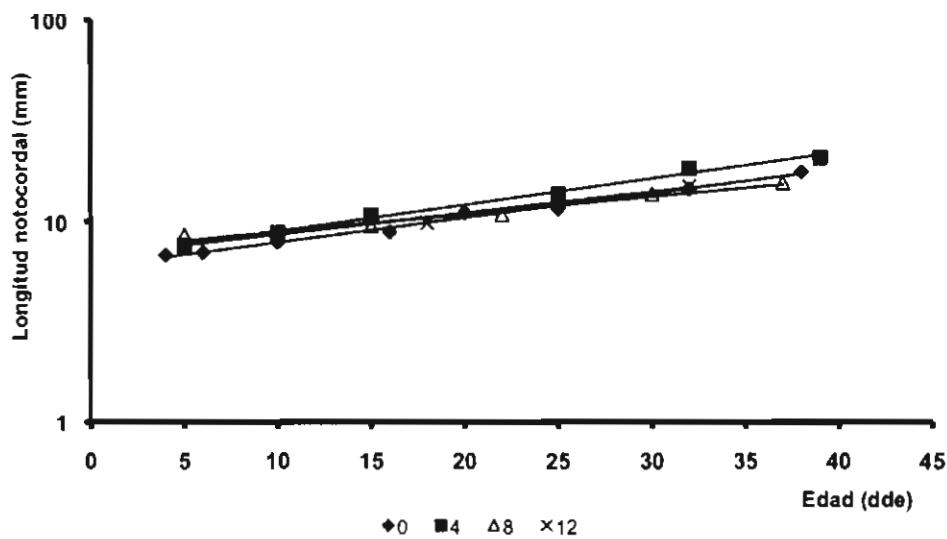


Figura 19. Crecimiento de *C. humboldtianum* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 24 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L de NaCl. $LN_0 = 5.9e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_4 = 6.6e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_8 = 7.3e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.97$), $LN_{12} = 6.7e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.98$). Eje y en \log_{10} .

Como puede observarse, las condiciones óptimas para el crecimiento de esta especie fueron a 20 °C y 0 a 8 g/L de salinidad. El crecimiento más bajo se presentó a 12 g/L de salinidad, en todas las temperaturas.

Tanto la temperatura como la salinidad, tuvieron efectos significativos en la LN inicial y final (ANOVA, $P < 0.05$) donde la temperatura aportó el 32.6% y 14.4 %, respectivamente, y la salinidad el 38.5% de la varianza en la LN inicial y 38% de la final, la interacción entre las variables aportó el 9% y 25.6%, respectivamente (ANOVA, $P < 0.05$)

La LN inicial fue mayor en los tratamientos de 20 y 24 °C (Fig. 20) (Método T, $P < 0.05$).

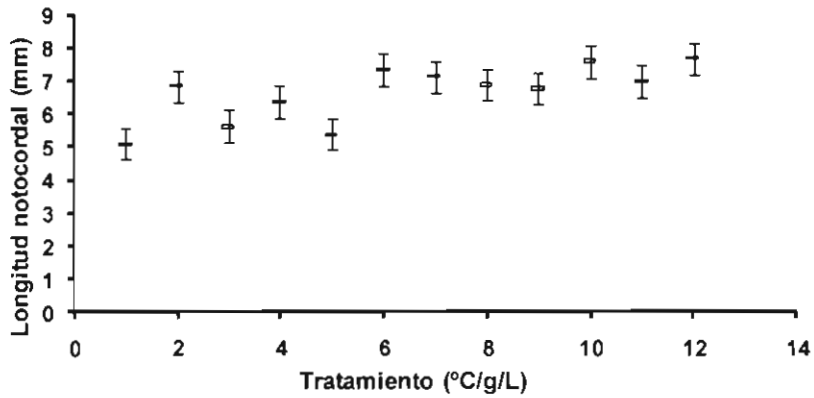


Figura 20. Longitud notocordal inicial (mm) de *C. humboldtianum*, en cada tratamiento (Temperatura °C-Salinidad g/L NaCl). 1: 18-0, 2: 18-4, 3: 18-8, 4: 18-12, 5: 20-0, 6: 20-4, 7: 20-8, 8: 20-12, 9: 24-0, 10: 24-4, 11: 24-8, 12: 24-12.

Por el contrario, las LN finales fueron mayores a 20 °C/0-8 g/L (Fig. 21) (Método T, $p \leq 0.05$). Las LN menores se presentaron a 24 °C y 12 g/L en todas las temperaturas (Fig. 21). En la figura 22 se puede observar el efecto conjunto de ambas variables.

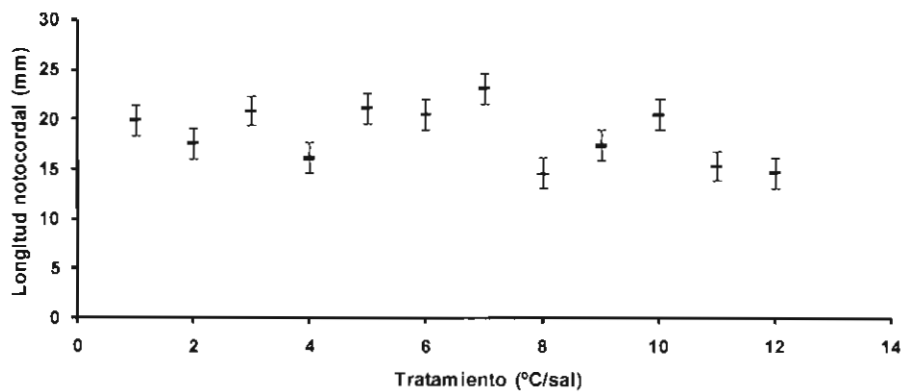


Figura 21. Longitud notocordal final (mm) de *C. humboldtianum*, en cada tratamiento (Temperatura °C-Salinidad g/L NaCl). 1: 18-0, 2: 18-4, 3: 18-8, 4: 18-12, 5: 20-0, 6: 20-4, 7: 20-8, 8: 20-12, 9: 24-0, 10: 24-4, 11: 24-8, 12: 24-12.

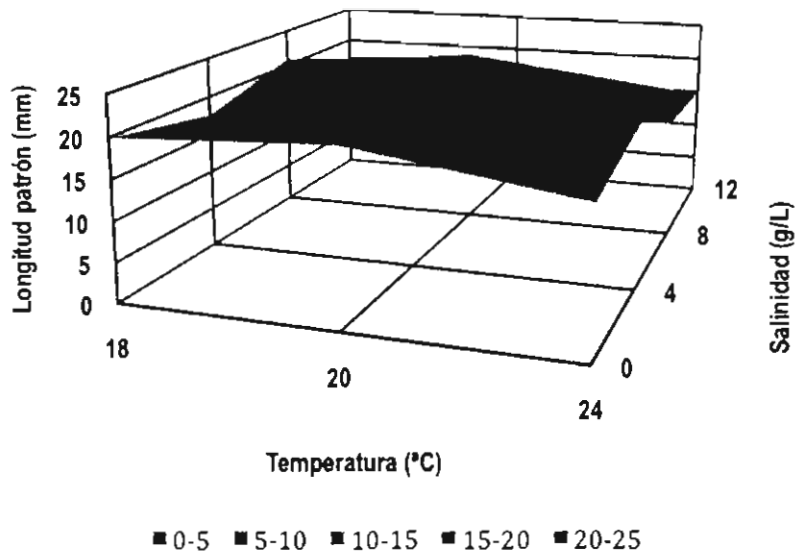


Figura 22. Efecto de la temperatura ($y = -0.08x^2 + 3x - 10.4$, $R^2 = 1$) y la salinidad ($y = -0.025x^3 + 0.4x^2 - 1.6x + 19.5$, $R^2 = 1$) $y = LN$, $x =$ temperatura, en la LN final de *C. humboldtianum* $n = 60$

La tasa de crecimiento (G) con respecto a la temperatura también fue mayor a 20 °C, pero el valor más bajo se obtuvo a 18 °C. Por el contrario, G con respecto a la salinidad, también mostró una tendencia disminuir con el incremento en salinidad, como la observada en la LN final. (Fig. 23). La temperatura aportó el 29.6%, la salinidad el 33% y la interacción entre ambos factores, el 20.5% de la varianza de G.

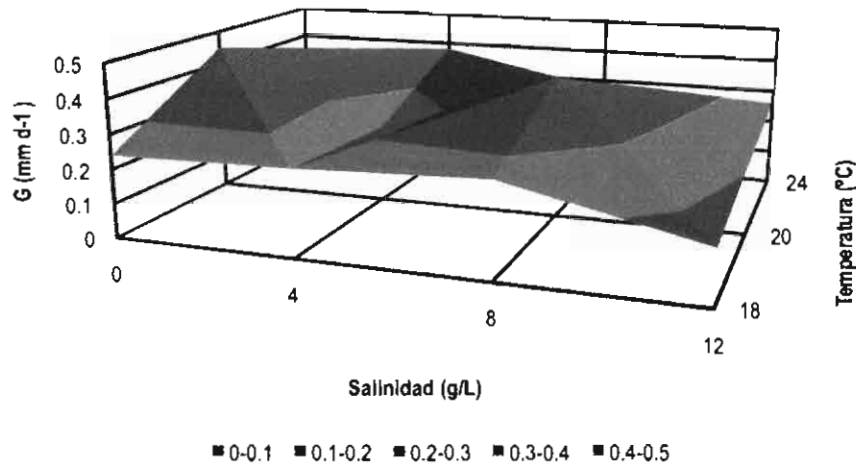


Figura 23. Tasa de crecimiento de *C. humboldtianum* con respecto a la temperatura ($y = -0.0006x^2 + 0.03x - 0.26$, $R^2 = 1$) y la salinidad ($y = 4E-05x^2 - 0.001x + 0.03$, $R^2 = 0.89$).

El tiempo de duración del período larval tuvo una relación inversa con respecto a la temperatura y a la salinidad (ANOVA, Método T, $P \leq 0.05$) (Fig. 24). La temperatura contó con el 95.7% de la varianza el tiempo de desarrollo durante este período, por el contrario, el efecto de la salinidad no fue significativo.

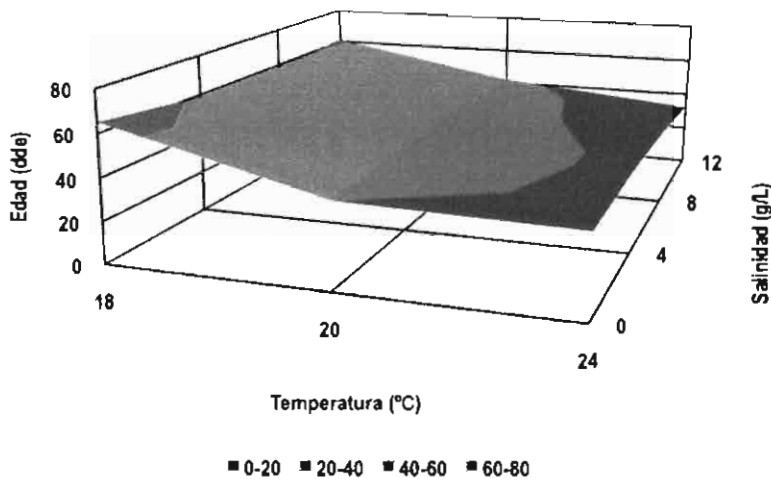


Figura 24. Tiempo de duración del período larval de *C. humboldtianum*, con respecto a la temperatura ($y = 61.4x^{-0.45}$, $R^2 = 0.98$) y la salinidad ($y = -0.85x + 48.6$, $R^2 = 0.96$), $n = 12$.

Los resultados obtenidos explican que el desarrollo se lleva a cabo en un tiempo menor a 24 °C, por lo que los organismos alcanzan el período de juvenil a una longitud menor que a temperaturas más bajas. A 18 °C el desarrollo es lento, pero como el tiempo en que alcanzan la metamorfosis es mayor, les permite tener LN finales mayores que a 24 °C.

C. riojai.

El período larval se inició en el día 2 dde, en todos los tratamientos. El crecimiento se ajustó a un modelo exponencial en todos los casos.

En los tratamientos a 18 °C, no hubo diferencias entre las velocidades de crecimiento y fueron menores en relación a las de las temperaturas de 20 y 24 °C (Fig. 25). Así mismo, el desarrollo presentó un retraso de una semana en los tratamientos de 4 a 12 g/L de salinidad, ya que la flexión se presentó en el día 21 y la postflexión se inició en el día 28. En los demás tratamientos estos eventos se presentaron el día 14 y 21, respectivamente.

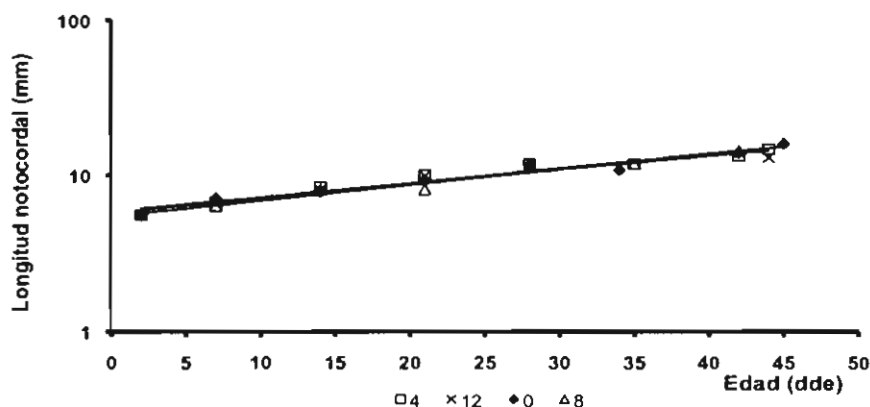


Figura 25. Crecimiento de *C. riojai* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 18 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L NaCl. $LN_0 = 5.7e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.96$), $LN_4 = 5.8e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.95$), $LN_8 = 5.4e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.97$), $LN_{12} = 5.9e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.93$). Eje y en \log_{10} .

En los tratamientos a 20 °C, las larvas que se mantuvieron a 0 g/L de salinidad, presentaron la tasa de crecimiento más baja pero mayor que a 18 °C (Fig. 26). Al igual que en los tratamientos a 18 °C, la flexión se inició el día 14 y la postflexión el día 21.

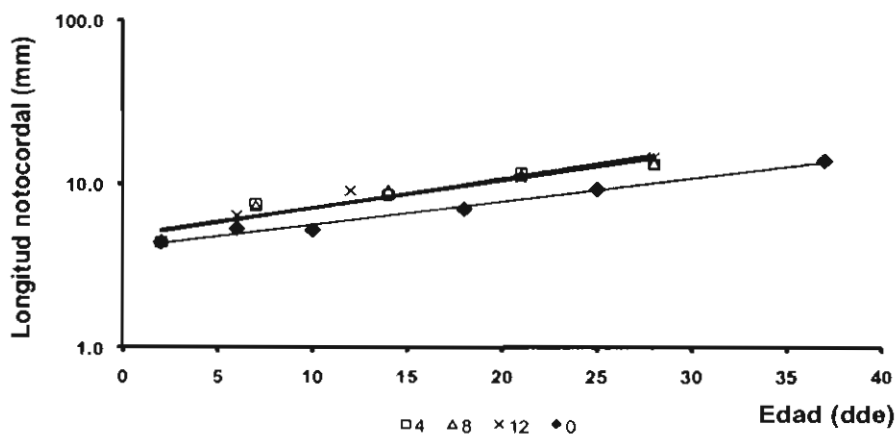


Figura 26. Crecimiento de *C. riojai* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 20 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L NaCl. $LN_0 = 4e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.98$), $LN_4 = 4.8e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.90$), $LN_8 = 4.8e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.91$), $LN_{12} = 4.6e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.94$). Eje y en \log_{10} .

Con respecto a los tratamientos a 24 °C, las tasas de crecimiento se incrementaron en relación a la salinidad, pero no de manera notable (Fig. 27). La flexión se inició el día 14 y la postflexión el día 21.

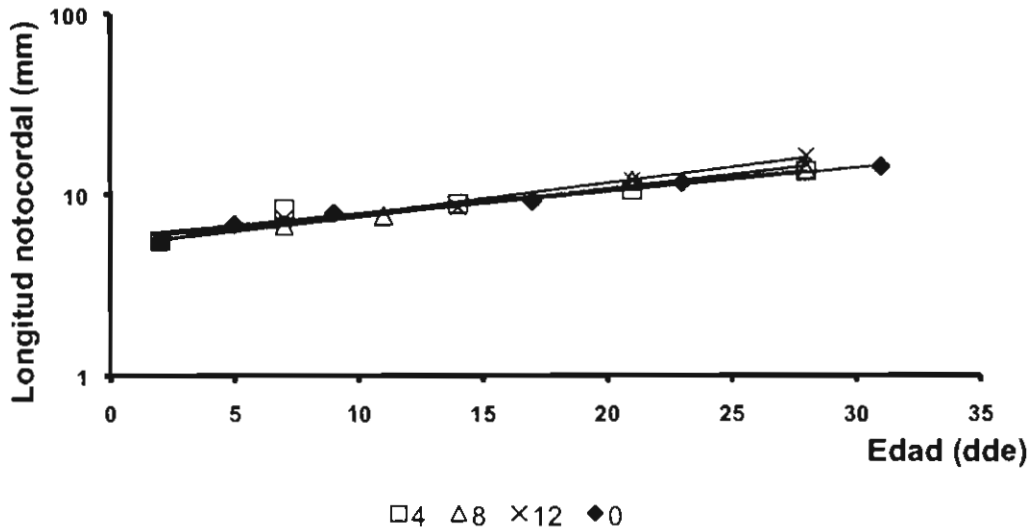


Figura 27. Crecimiento de larvas de *C. riojai* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 24 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L NaCl. $LN_0 = 5.6e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.98$), $LN_4 = 5.8e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.92$), $LN_8 = 5.2e^{0.036t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_{12} = 5.2e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.99$). Eje y en \log_{10} .

Estos resultados indican que *C. riojai* presenta una tolerancia mayor a la salinidad que *C. humboldtianum*, la tasa de crecimiento se incrementan con el aumento en la temperatura, así como también la transformación a juvenil se lleva a cabo en un tiempo menor.

La LN inicial menor se presentó en los tratamientos a 20 °C (Método T, $P < 0.05$). Sin embargo, estas diferencias pueden atribuirse a la variación genética ya que las

diferencias fueron cercanas a 1 mm y el tiempo de exposición fue de dos días, a diferencia de *C. humboldtianum* en que el tiempo de exposición fue de 5 días (Fig. 28).

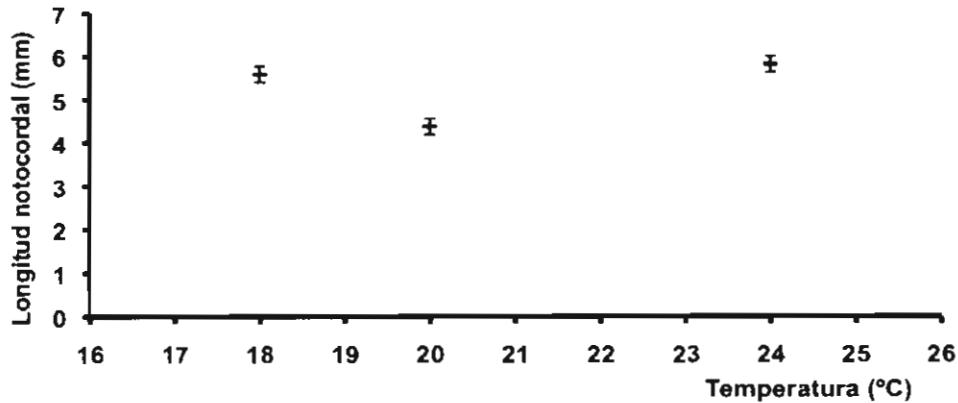


Figura 28. Longitud notocordal inicial (mm) de *C. riojai*, a 18 (0-12 g/L NaCl), 20 (0-12 g/L NaCl) y 24 (0-12 g/L NaCl) °C.

En esta especie, también la temperatura (9.5% de la varianza) y la salinidad (8% de la varianza) tuvieron un efecto significativo sobre la LN final (ANOVA, Método T, $P \leq 0.05$) pero principalmente la interacción entre ambas variables (42%) (Figs. 29, 30). La LN mayor se obtuvo en el tratamiento 12 (24°C/12 g/L NaCl). Sin embargo, las LN promedio entre los tratamientos a 18 y 24 °C, fueron semejantes y mayores que las LN en los tratamientos a 20 °C. Esto puede explicarse en el sentido de que las larvas mantenidas a 20 °C, eran más pequeñas desde el inicio del período larval y aunque presentaron tasas de crecimiento mayor, no alcanzaron la LN que las larvas mantenidas a 24 °C. A 18 °C, aunque el crecimiento es más lento, las larvas al inicio del período también eran más

grandes que las larvas mantenidas a 20 °C y el tiempo de desarrollo es mayor, por lo que las larvas alcanzan la metamorfosis a una longitud mayor que a 20 °C (Fig. 30).

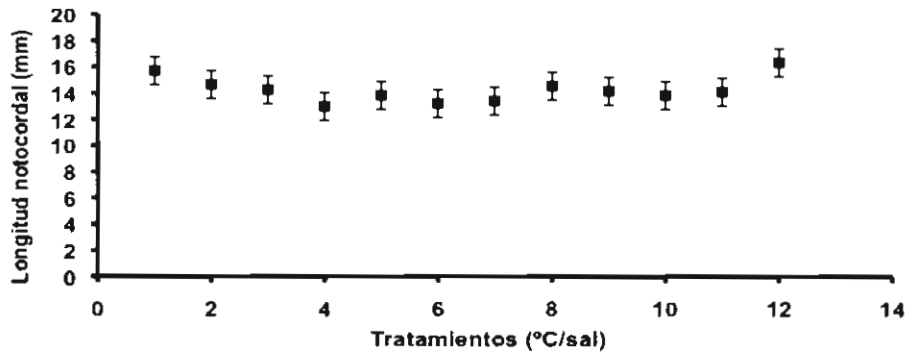


Figura 29. Longitud notocordal final (mm) de *C. riojai*, en cada tratamiento (Temperatura, ° C- Salinidad, g/L NaCl): 1: 18-0, 2: 18-4, 3: 18-8, 4: 18-12, 5: 20-0, 6: 20-4, 7: 20-8, 8: 20-12, 9: 24-0, 10: 24-4, 11: 24-8, 12: 24-12.

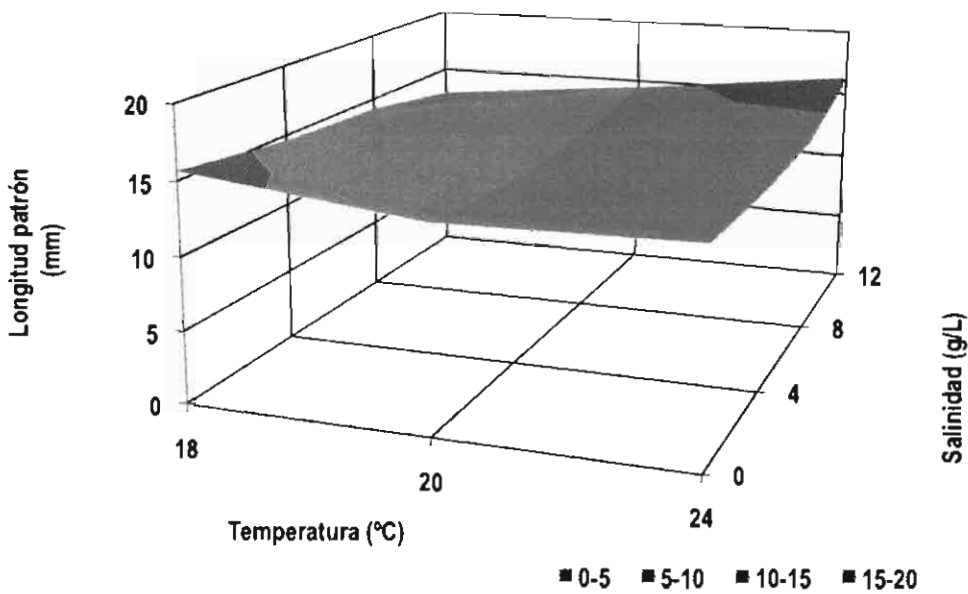


Figura 30. Efecto de la temperatura sobre la LN final de *C. riojai*; ($y = 0.8x^2 - 3.1x + 16.6$, $R^2 = 0.99$, $y = LN$ final, $x = temperatura$) y la salinidad ($y = 0.33x^2 - 1.63x + 15.8$, $R^2 = 0.99$, $y = LN$ final y $x = salinidad$) $n = 60$.

La tasa de crecimiento (G) con respecto a la temperatura también fue mayor a 20 °C, pero el valor más bajo se obtuvo a 18 °C. Por el contrario, G con respecto a la salinidad, mostró una tendencia a aumentar con el incremento en salinidad, como la observada en la LN final (Fig. 31).

La temperatura aportó la varianza mayor en G (75%), a diferencia de la salinidad (5.7%) y la interacción entre ambos factores (10%), siendo todos significativos (ANOVA, $P < 0.001$).

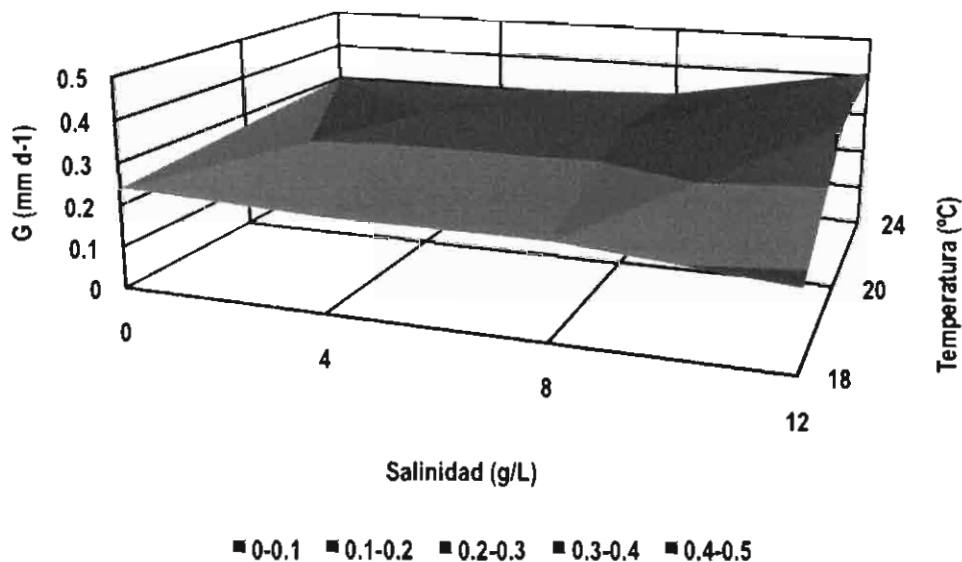


Figura 31. Tasas de crecimiento (G, mm d⁻¹) de *C. riojai* con respecto a la temperatura ($y = -0.002x^2 + 0.07x - 0.7$, $R^2 = 1$) y a la salinidad ($y = -2E-05x^2 + 0.0006x + 0.03$, $R^2 = 0.96$) $n = 60$.

Con respecto al tiempo en que se alcanza la metamorfosis, solo la temperatura tuvo un efecto significativo (ANOVA, Método T, $P \leq 0.05$) (Fig. 32). El tiempo tuvo una relación inversa con respecto a la salinidad y la temperatura, lo que confirma

que este factor regula de manera directa el desarrollo, ya que la metamorfosis se presenta en un tiempo considerablemente menor a temperaturas medias y altas.

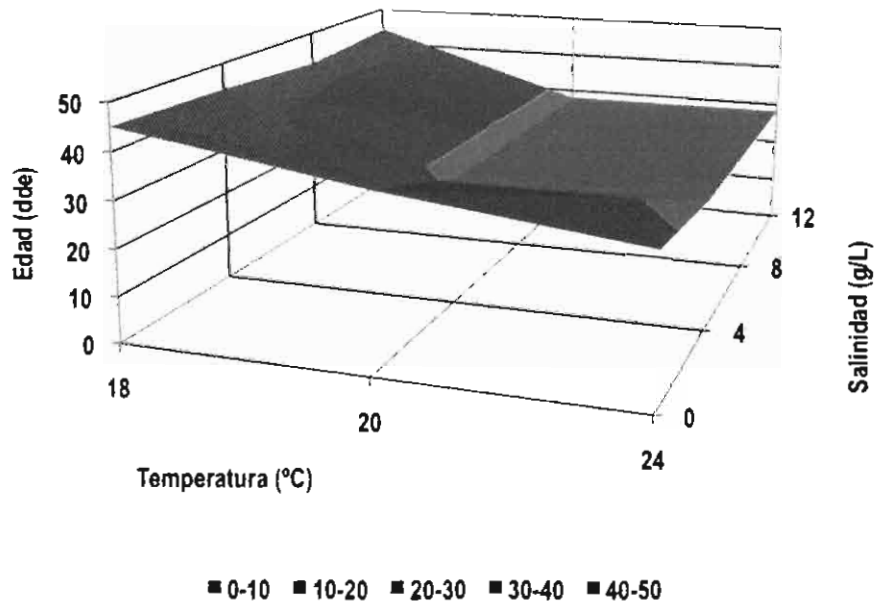


Figura 32. Tiempo de duración del período larval de *C. riojai*, en relación a la temperatura ($y = 6x^2 - 31.5x + 69.3$, $R^2 = 0.99$), y a la salinidad ($y = 1.25x^2 - 7.6x + 43.8$, $R^2 = 0.98$) $n = 12$.

Al comparar las LN finales de ambas especies, se determinó que, en general, *C. humboldtianum* alcanza la metamorfosis a juvenil a una LN mayor que *C. riojai* y que esta diferencia se manifiesta en todos los períodos del desarrollo (Fig. 33).

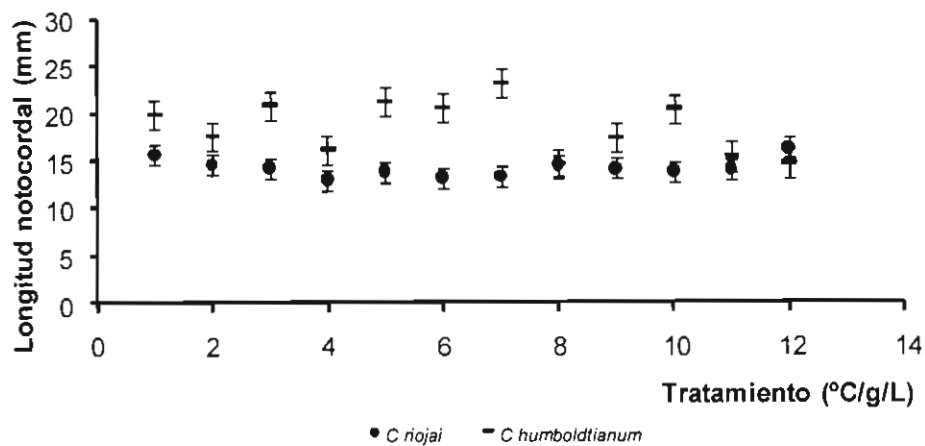


Figura 33. LN finales de *C. humboldtianum* (-) y *C. riojai* (•). Tratamientos (Temperatura, °C-Salinidad, g/L NaCl): 1: 18-0, 2: 18-4, 3: 18-8, 4: 18-12, 5: 20-0, 6: 20-4, 7: 20-8, 8: 20-12, 9: 24-0, 10: 24-4, 11: 24-8, 12: 24-12.

Efecto de la temperatura en la tasa de desarrollo embrionario.

La tasa de desarrollo embrionario (V), desde la fecundación hasta la eclosión, se incrementó con el incremento aumento en de la temperatura. *C. humboldtianum* presentó tasas menores a las de *C. riojai* para cada temperatura, ya que el tiempo de desarrollo para esta última especie es menor. En *C. humboldtianum*, las tasas de desarrollo a 24° y 22 °C, fueron muy semejantes (0.10 y 0.096) y en *C. riojai* se presentó el mismo comportamiento a 22° y 20 °C (0.099 y 0.095). Así mismo, en *C. humboldtianum*, la temperatura umbral ($t_0 = 7$ °C) (cero biológico, temperatura en que el desarrollo embrionario es teóricamente suspendido) fue menor que la t_0 (7.7 °C) de *C. riojai*. Los D_{ef}^o (días grado efectivos, temperatura requerida para que se lleve al cabo el desarrollo, arriba de la t_0) del desarrollo embrionario hasta la

eclosión para esta *C. humboldtianum* fueron mayores (161.29 D_{ef}°) que para *C. riojai* (133.3 D_{ef}°) (Fig. 34).

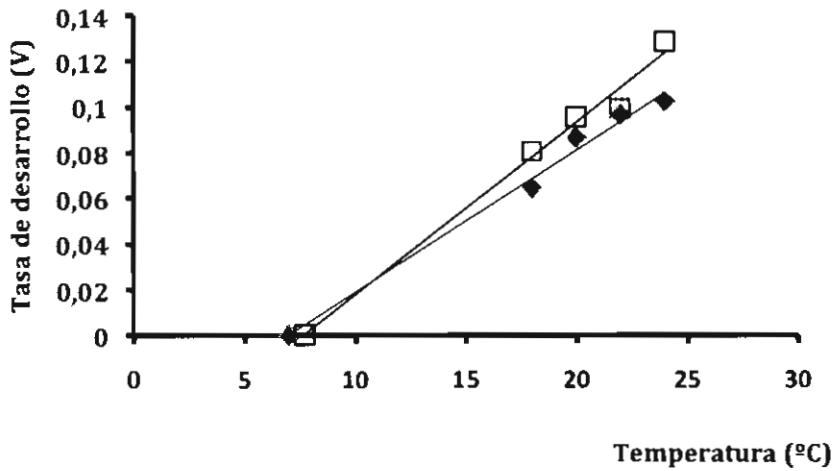


Figura 34. Tasa de desarrollo ($V = t^{-1}$) de los embriones desde la fecundación hasta la eclosión, a temperatura constante. *C. riojai* (□) $t_0 = 7.7$ °C, $y = 0.0075x - 0.058$, $R^2 = 0.99$, $D_{ef}^{\circ} = 133.3^{\circ}$; *C. humboldtianum* (◆) $t_0 = 7$ °C, $y = 0.0062x - 0.044$, $R^2 = 0.99$, $D_{ef}^{\circ} = 161.29$.

Efecto de la temperatura en la tasa de desarrollo (V) desde la eclosión hasta la metamorfosis a juvenil.

La V también se incrementó con la temperatura, pero fue menor que la V durante el período embrionario (Fig. 35). Desde la eclosión hasta la transformación a juvenil, *C. humboldtianum* mostró tasas menores que las de *C. riojai*. El avance ontogenético a 24 °C fue ligeramente mayor que a 20 °C, en ambas especies, (*C. humboldtianum*: 24 °C = 0.027, 20 °C = 0.024; *C. riojai*: 24 °C = 0.035, 20 °C = 0.033), esto sugiere que en esas temperaturas la tasa de desarrollo alcanza su límite superior. Sin embargo, en *C. humboldtianum* la t_0 fue mayor (11.3 °C) que durante el período intracoriónico y a la de *C. riojai* (5.9°C), cuya t_0 en este período

fue menor que la del período anterior y los D° efectivos, fueron mayores a los de *C. humboldtianum* (416.6° y 500°, respectivamente).

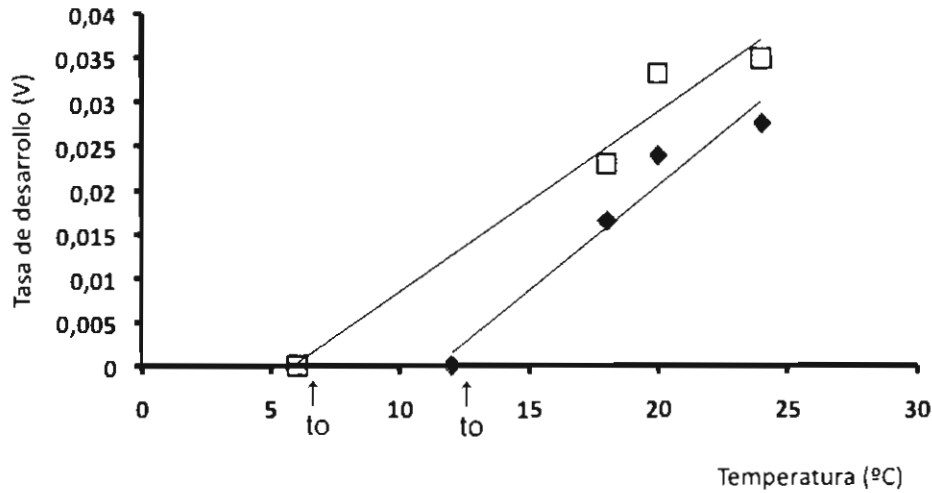


Figura 35. Tasa de desarrollo (V) desde la eclosión hasta la metamorfosis a juvenil, a temperatura constante. *C. humboldtianum* (◆), $t_0 = 11.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t_0 = 0.0024x - 0.027$, $R^2 = 0.99$, $D^{\circ}_{ef} = 416.6$. *C. riojai* (□), $t_0 = 5.9\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t_0 = 0.002x - 0.012$, $R^2 = 0.97$, $D^{\circ}_{ef} = 500$.

Efecto de la temperatura en el tiempo de desarrollo.

El tiempo en cada paso del desarrollo, disminuyó con el incremento en la temperatura y la disminución en la edad, en ambas especies. Sin embargo, cada especie presentó un comportamiento diferente.

En *C. humboldtianum*, el tiempo de desarrollo fue mayor en todas las temperaturas, que en *C. riojai*, lo que coincide con la mayor longevidad de esta especie. En *C. humboldtianum*, el tiempo en cada paso del desarrollo, desde la

fecundación hasta la eclosión, fue semejante a 22 y 24 °C, por lo que en el período larval se eliminó la temperatura de 22 °C (Fig. 36).

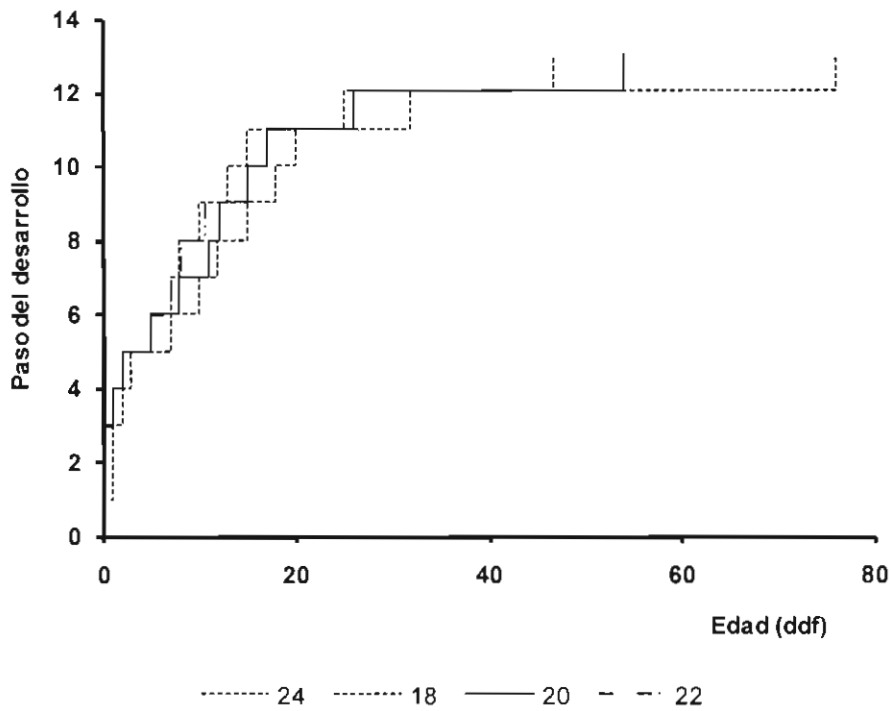


Figura 36. Pasos del desarrollo temprano de *C. humboldtianum*, en relación a la edad (ddf) y a temperatura constante (°C). Pasos: 1 al 10: período embrionario; período larval: 11: fase apterolarva, 12: fase pterolarva, 13: primer juvenil, de acuerdo a Balon (1985).

En *C. riojai*, el tiempo de duración de los pasos en el período embrionario, a 22 y 20 °C, fue semejante, por lo que para el período larval se eliminó la temperatura de 22 °C. En ambas especies, la fase de pterolarva fue la más prolongada (Fig. 37).

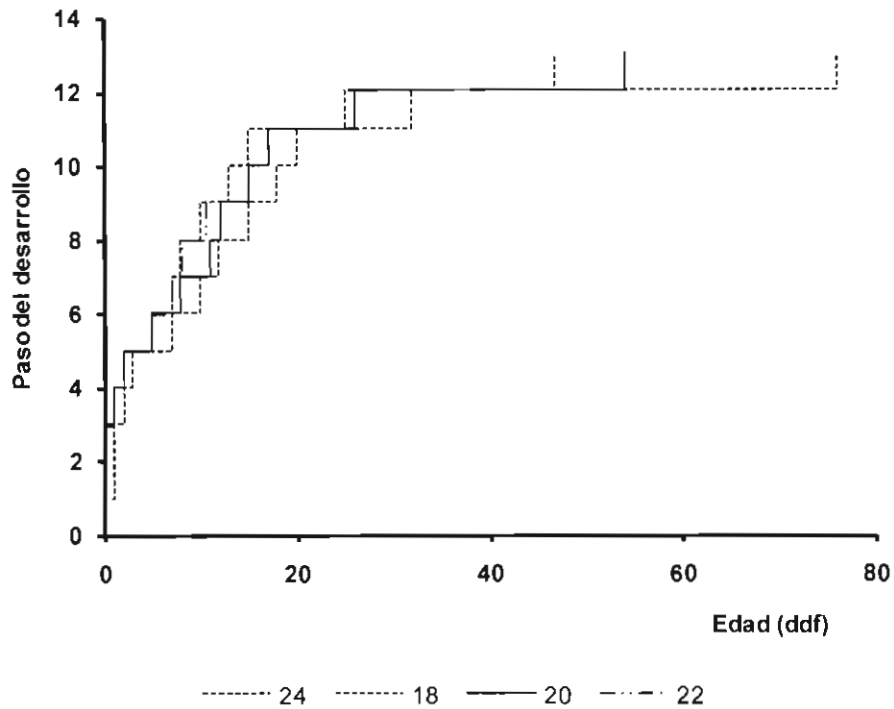


Figura 37. Pasos del desarrollo de *C. riojai*, en relación a la edad (ddf) y a la temperatura (°C). Pasos 1 al 10: período embrionario, 11: fase apterolarva, 12: fase pterolarva, 13: primer juvenil, de acuerdo a Balon (1985).

Efecto de la temperatura sobre la sobrevivencia desde la eclosión hasta la metamorfosis a juvenil.

Las curvas de respuesta al efecto de la temperatura, en ambas especies, desde la eclosión hasta la transformación a juveniles, fue de tipo óptimo con la máxima sobrevivencia a 20 °C, en ambas especies. Sin embargo, el efecto de la temperatura sobre la sobrevivencia sólo fue significativo en *C. riojai* (ANOVA, $P < 0.001$) donde la temperatura aportó el 91.2 % de la varianza en la sobrevivencia;

la máxima sobrevivencia se obtuvo a 20 °C (83.3%) y la mínima a 24 °C (42.2%). En *C. humboldtianum* no se presentaron diferencias significativas en la sobrevivencia por efecto de la temperatura (ANOVA, Método T, $P = 0.49$) donde la temperatura aportó el 20.8% de la varianza en la sobrevivencia; sin embargo, a 18 y 20 °C, presentó sobrevivencias menores que *C. riojai* y a 24 °C su proporción fue mayor que la de *C. riojai* (Fig. 38).

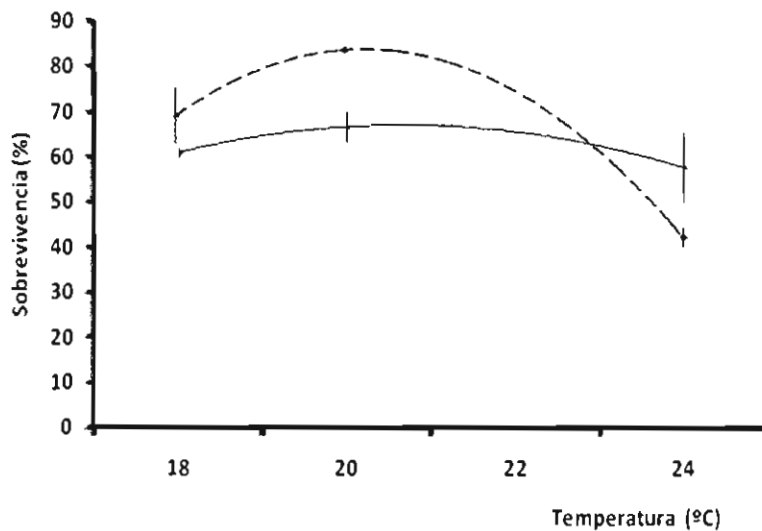


Figura 38. Porcentaje de sobrevivencia final de larvas de *C. humboldtianum*, (—) ($y = -3.35x^2 + 15.65x + 48.7$, $n = 270$) y *C. riojai* (----) ($y = -11.68x^2 + 49.6x + 30.9$, $n = 270$) a 18, 20 y 24 °C.

En ambas especies, la sobrevivencia fue menor a 24 °C. En *C. humboldtianum*, la mortalidad se mantuvo alrededor del 20% la mayor parte del tiempo y sólo hasta el final, se incrementó de manera notable (Fig. 39).

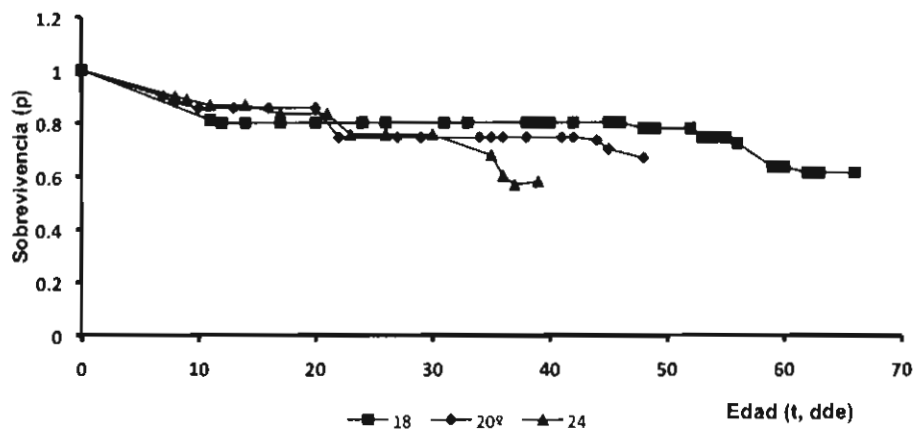


Figura 39 .Efecto de la temperatura en la sobrevivencia de *C. humboldtianum* desde la eclosión hasta la transformación a juvenil

En *C. riojai*, el efecto del incremento en la temperatura fue mayor, pues a 24 °C la sobrevivencia disminuyó drásticamente desde el día 7, llegando al final del período al 42%. En las otras temperaturas, la sobrevivencia disminuyó en los primeros días y se mantuvo relativamente constante hasta el final del período larval (Fig. 40).

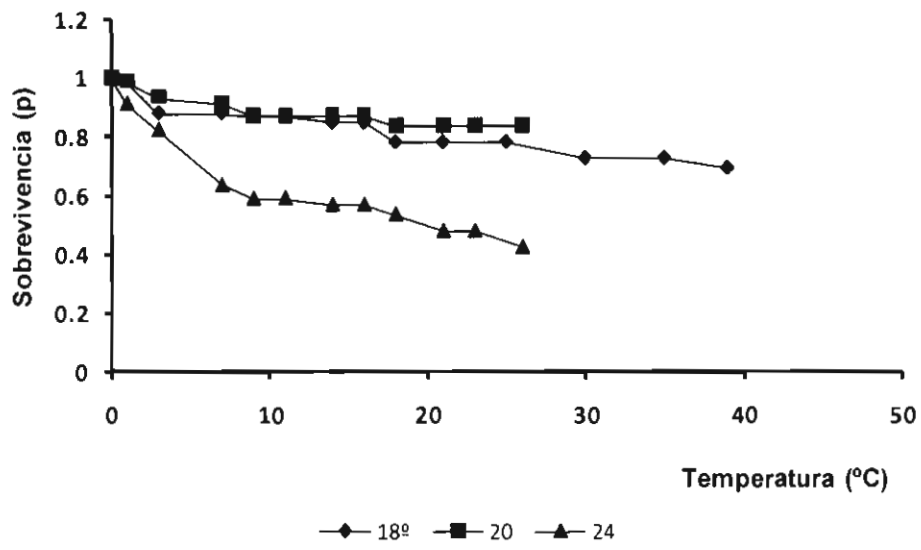


Figura 40. Efecto de la temperatura en la sobrevivencia de *C. riojai* desde la eclosión hasta la transformación a juvenil.

DISCUSION

Desarrollo

Chirostoma humboldtianum y *Chirostoma riojai*, por su comportamiento reproductivo y tipo de huevo, son especies no guardadoras, desovadoras de sustrato abierto y pertenecen al "guild" reproductivo de fitófilos obligados (Balon, 1985) por presentar filamentos coriónicos para sujetarse a partículas o plantas sumergidas. Los EL de las especies que pertenecen a este "guild" tienen una eclosión tardía, pueden tener glándulas cementantes, son fotofóbicos y tienen estructuras respiratorias moderadamente desarrolladas. Este carácter se presenta en todas las especies de *Chirostoma*, cuyo desarrollo embrionario se ha estudiado: *C. attenuatum* (De Buen, 1940 citado en Oseguera, 1990); *C. estor* (Rosas, 1970; Estrada, 1991), *C. patzcuaro* (Andrade, 1990); *C. grandocule* (Oseguera, 1990) y la mayoría de los géneros de la misma familia (White, 1984), entre ellos *Menidia*, *Membras* (Wang, 1974; Middaugh, et al, 1981; Flores-Coto, 1983; White, 1984) y *Odontesthes* (Sampaio y Phonlor, 1996; Nardez et al, 1997). Sin embargo, en pruebas de laboratorio, se ha demostrado que los embriones se desarrollan y eclosionan bien sin necesidad de un sustrato (Middaugh et al., 1981; Phonlor y Sampaio, 1992, 1995; Sampaio, 2000; Figueroa et al., 2003; Figueroa, 2006; Hernández-Rubio, et al., 2006). Incluso, los huevos pueden estar varias horas en condiciones de humedad (Armijo y Sasso, 1976).

En las últimas décadas, se ha presentado una necesidad de homogenizar la nomenclatura empleada para describir el desarrollo temprano en los peces (Kendall *et al.*, 1984; Balon, 1985; Pinder, 2001). Peñáz (2001) en una revisión de la ontogenia de los peces, identifica nueve pasos en el período embrionario, seis en el período larval y dos en el juvenil. Así mismo, afirma que no existen diferencias entre los tipos de desarrollo indirecto y transitorio, por lo que se debe eliminar el término alevín (período intermedio entre embrión y juvenil en el desarrollo transitorio, de acuerdo a Balon, 1985) y que por otra parte, los términos como larva y metamorfosis se deben establecer, así como también definir si los procesos metamórficos se manifiestan súbitamente en un intervalo relativamente corto del desarrollo o si ellos progresan gradualmente y durante varios pasos de desarrollo. En el presente trabajo, se siguió la clasificación de Balon (1985) cuya teoría de la ontogenia saltatoria se basa en identificar umbrales donde hay una convergencia de un número de características que llegan a ser funcionales o se pierden y que en consecuencia, mejoran las capacidades de los individuos.

C. humboldtianum y *C. riojai* tienen desarrollo indirecto, ya que después de la fase de embrión libre, se presenta la forma larval, la que después de una metamorfosis dará lugar a un juvenil. Una larva es una forma vegetativa transitoria, que a veces vive en un nicho completamente diferente de la forma definitiva. Principalmente las larvas de especies marinas, tienen órganos temporales y diferente forma del cuerpo, esenciales para la vida larval. La adquisición de la energía es de fuentes

externas. Este período puede ser extremadamente largo en algunas especies (Balon, 1985).

En consecuencia, debido a que el estado estructural y fisiológico es un determinante más real de la adaptación, que la edad cronológica o el tamaño del cuerpo (Fuiman, 1994) las propiedades y procesos observados se relacionaron con los avances ontogenéticos para *C. humboldtianum* y *C. riojai*. El curso del tiempo de los pasos del desarrollo morfológico, reveló una secuencia de estados largos estables (pasos) con transiciones rápidas (umbrales). Se identificaron 10 pasos en el período embrionario y dos en el período larval.

Durante la embriogénesis (de la activación al paso de embrión 8) el desarrollo de ambas especies, fue semejante al de otros atherinópsidos. Se identificaron ocho pasos previos a la eclosión, los cuales siguieron el mismo patrón de desarrollo observado en *C. estor* (Estrada, 1991), *C. patzcuaro* (Andrade, 1990), *C. grandocule* (Oseguera, 1990) y *C. jordani* (Ramírez, 2004) y el que presentan muchos ciprínidos (Pinder y Gozlan, 2004; Al Hazzaa y Hussein, 2007; Peñáz y Gajdusek, 1979). Después de la activación, la división celular fue meroblástica, como en todos los teleósteos y los blastómeros fueron semejantes en forma y tamaño. Este patrón de división permite que la división celular sea más rápida y evita la necesidad de sintetizar grandes cantidades de nuevas membranas celulares (Hall, 2008). El tiempo del ciclo celular durante las primeras divisiones fue altamente sincrónico. El segundo plano de división o estratificación en una

segunda capa ocurre en el paso de 32 células, y aunque este fenómeno se presenta en la mayoría de los peces, podría considerarse como característico del género ya que, en las especies de *Chirostoma* en las que se ha estudiado el desarrollo embrionario, siguen este patrón general. Sin embargo, existen excepciones donde la estratificación sucede antes o después de este paso (Hall, 2008). El siguiente paso en el desarrollo, es el proceso de gastrulación, que en los peces está asociado con un movimiento celular llamado epibolia, donde el blastodermo se esparce sobre el vitelo desde el polo animal; la epibolia inicia antes del inicio de la gastrulación y ésta constituye un umbral en el desarrollo, pues el huevo pasa de una organización celular a una de diferenciación en órganos y sistemas a partir de tres capas germinales (Hall, 2008). Por otra parte, Holliday (1969) señala que durante la gastrulación aumenta la probabilidad de muerte de los huevos. El primer órgano que define al embrión es la notocorda. El inicio de la segmentación se presentó después de completarse la epibolia, cuando se formaron las cápsulas ópticas (E5). La variación en el inicio de la somitogénesis es variable. En el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*), los somites se forman cuando ha sucedido el 45% de la epibolia. Por el contrario, en el pez zebra, la carpa común, medaka y los killifish, la formación de los somites se inicia mucho después de completarse la epibolia. La formación de las regiones del cuerpo y la segmentación en los pasos E4 y E5 son necesarios probablemente, para la iniciación y control de las contracciones musculares en los pasos sucesivos. También, como en la mayoría de los peces, el latido del corazón se inició antes que el desarrollo de la hemoglobina y de las branquias. Esto se debe a que la

circulación temprana es nutricional y para la distribución del vitelo, más que de intercambio gaseoso (Hall, 2008). Por otra parte, White (1984) señala que todos los ateriniformes tienen un sistema circulatorio vitelino simple, sin ramas y serpenteante; sin embargo, *C. humboldtianum* y *C. riojai* presentan dos ramificaciones de la aorta del corazón, lo mismo que *C. jordani* (Ramírez, 2004) y un plexo vitelino extenso, lo que puede reflejar que reciben un aporte bajo de oxígeno, ya que los adultos desovan en las raíces sumergidas de los árboles (*Salix* sp.) que se encuentran en la orilla de los lagos donde habitan, los cuales se encuentran en un estado eutrófico.

El tiempo de duración de los pasos subsecuentes a la fase de división se incrementó, principalmente los pasos E7 y E8, en ambas especies. Este fenómeno también se observó en el desarrollo embrionario de las especies de *Chirostoma* antes mencionadas. Este incremento en el tiempo puede deberse a la mayor complejidad en el desarrollo en estos pasos, ya que durante éstos, se desarrolla la mayoría de los órganos y el embrión se prepara para la vida fuera del huevo. La eclosión no fue sincrónica, ocurrió en un intervalo de 24 a 36 h, lo que coincide con lo observado en la mayoría de las especies de peces ovíparos (Balon, 1990; Peñáz, 2001). La eclosión no es un umbral, ya que la alimentación después de ésta sigue siendo endógena (Balon, 1985) y puede adelantarse en bajas concentraciones de oxígeno o por otros factores ambientales como la temperatura y la salinidad (Holliday, 1969).

Se ha observado que los EL grandes, eclosionan de huevos grandes y los huevos pequeños dan origen a EL pequeños (Begon *et al.*, 1985; Wootton, 1990; Pepin, 1991; Rideout *et al.*, 2005). Entre los aterinópsidos *C. humboldtianum* es una especie grande que produce huevos más grandes (1.36 mm) que los de *C. riojai* (1.24 mm), que es una especie pequeña, y sus EL al eclosionar, mantienen esa misma relación (4.86 y 4.18 mm LN, respectivamente). Sin embargo, en otras especies de la familia, existen variaciones a este respecto. *C. estor* es una especie grande, pero sus huevos son más pequeños (1.09 mm) que los de *C. riojai* y sus EL son más grandes (4.59 mm LN) (Estrada, 1991). Los huevos de *C. patzcuaro* miden 1.08 mm y sus EL 4.66 mm LN (Andrade, 1990). En especies muy cercanas a *Chirostoma*, como *Menidia menidia* y *M. beryllina*, los adultos tienen tamaños semejantes a los de *C. riojai*, pero sus huevos (1 y 0.8 mm) y larvas (4 mm de LT) son más pequeños (Wang, 1974).

La fase de embrión libre fue más prolongada en *C. humboldtianum* (5 días) que en *C. riojai* (2 días), lo que refleja la longevidad mayor del primero y una mayor eficiencia en el uso del vitelo, lo cual parece ser una característica de los peces blancos, ya que *C. riojai* inicia la alimentación exógena a los dos dde. *C. estor* tiene una longevidad semejante a la de *C. humboldtianum*, sin embargo, la duración de EL es de 3-5 dde (Estrada, 1991); en *C. patzcuaro*, cuya longevidad es semejante a la de *C. riojai*, la fase de EL tuvo una duración de 2-3 dde (Andrade, 1990) y en *C. grandocule* 9-12 dde (Oseguera, 1990); el tiempo

estimado para esta última especie necesitaría confirmarse, ya que los peces murieron a los 15 dde, probablemente por inanición.

En *C. riojai* el aporte nutricional del vitelo es limitado, por lo que la alimentación exógena inicia pronto en el desarrollo. Las larvas son pequeñas y se alimentan de presas pequeñas como los rotíferos. El saco vitelino de *C. humboldtianum* es más grande lo que le permite permanecer en la fase de EL más tiempo. En ambas especies, el cuerpo es alargado y las aletas pectorales dan lugar a un organismo capaz de nadar hacia la superficie. La abertura de la boca les permite nadar hacia la superficie y tragar aire para llenar la vejiga gaseosa, lo que da lugar a una capacidad de nado más estable. Si los EL fueran incapaces de mantener su posición en la columna de agua y se hundieran, un período prolongado en el sustrato lodoso sería peligroso. Los eventos de los pasos EL9 y EL 10 preparan al pez para la alimentación exógena y la respiración branquial. La condricación de la cabeza da lugar a las mandíbulas y soporta las branquias.

Una característica típica de las especies altriciales con un estado larval, es que carecen de un estómago funcional al principio. Otras especies altriciales como el pez cebra (*Danio rerio*) pasan por un período larval, pero nunca desarrollan un estómago (Rønnestad y Morais, 2008). El inicio del flujo de sangre al sistema digestivo permite la absorción y transporte de nutrientes del alimento exógeno. La circulación en las larvas presenta distintas transiciones de la función primaria del transporte de gases, desechos metabólicos, presión y calor en juveniles y adultos.

Las larvas pueden adquirir el oxígeno necesario y eliminar el CO₂ a través de la superficie del cuerpo, sin la ayuda de la circulación a través de las branquias o de la hemoglobina (Burggren y Bagatto, 2008).

La oxigenación de los músculos por difusión es suficiente en los EL ya que son pelágicos. La boca abierta es esencial para la alimentación y la respiración branquial activa y el incremento en el flujo de las arterias branquiales, puede incrementar la eficiencia de la toma de oxígeno en las larvas. La transición a la alimentación exógena es uno de los umbrales decisivos del valor de sobrevivencia último (Tucker, 1998; Hamlin *et al.*, 2000). A veces ocurre cuando todavía hay algo de vitelo, como en *C. humboldtianum* y *C. riojai*, por lo que la primera larva (desarrollo indirecto), el alevín (desarrollo transitorio) o juvenil (desarrollo directo) se caracterizan por la alimentación mixta, que tiene una duración variable (Balon, 1985). El consumo de alimento exógeno en este paso es crucial, porque si existe un retraso en la primera alimentación, las larvas no sobreviven, debido a que alcanzan un estado llamado punto de no retorno (v. gr. los peces que no han aprendido a comer antes de haber absorbido el saco vitelino) (Dou *et al.*, 2002).

El establecimiento del período larval es una consecuencia directa de la abertura de la boca y de que el intestino empiece a ser funcional (Adriaens *et al.*, 2001). El fin de la absorción del saco coincide con la abertura del ano y la funcionalidad del intestino, junto con un marcado incremento en el tamaño de la boca.

Las glándulas digestivas de los EL de *C. humboldtianum* y *C. riojai* no son eficientes a esa edad (Figuroa *et al.*, 2004b; Hernández-Rubio *et al.*, 2006). La digestión de proteínas durante el período larval, principalmente durante la fase de apterolarva (L1), se caracteriza por una producción limitada de enzimas digestivas por el páncreas y una digestión intracelular pinocítica única. Se requiere una fuente de nutrientes fácilmente digeribles, los cuales se encuentran en su dieta natural de zooplancton que contiene altas concentraciones de enzimas digestivas, aminoácidos libres (FAA) y proteínas solubles (Walford *et al.*, 1991; Kamler, 1992; Watanabe y Kiron, 1994). Además, el alimento vivo favorece el comportamiento depredador de las larvas, incrementando el consumo. Sin embargo, puesto que tienen una cabeza pequeña, a pesar del incremento en el tamaño de la boca, las larvas solo consumen presas pequeñas, tales como los rotíferos y que son esenciales como alimento inicial de las larva de *Chirostoma* (Martínez Palacios *et al.*, 2001; Figuroa-Lucero *et al.*, 2004 a,b; Morales-Ventura *et al.*, 2004; Hernández-Rubio *et al.*, 2006).

La transición de apterolarva (L1) a pterolarva (L2) en ambas especies, se definió por la alimentación puramente exógena y la flexión del urostilo. A esta edad, el desarrollo de la faringe les permite tragar presas completas más grandes por succión, que es la manera dominante de capturar presas en los peces (Gubrich, 2001; Figuroa-Lucero *et al.*, 2004a). Esta, junto con los procesos hiomandibular y opercular incrementa la eficiencia de la captura de alimento (Osse *et al.*, 1997; Hunt von Herbing, 2001). Esta acción fue corroborada por observación directa del

consumo de nauplios de *Artemia*. El crecimiento de la cabeza y de la boca, el incremento en la agudeza visual y el desarrollo de las aletas, son eventos que incrementan la habilidad de *C. humboldtianum* y *C. riojai* para capturar presas más grandes. Se requiere un cambio en la alimentación y esto se da en el tamaño y tipo de alimento. A esta edad consumen nauplios de *Artemia* y neonatos de cladóceros. Una tasa de crecimiento rápido disminuye la probabilidad de muerte por depredación, aunque esto requiere un gasto de energía mayor para la síntesis de componentes del cuerpo y su mantenimiento (Pederson, 1997). Sin embargo, cuando el tamaño de la boca no es una restricción, es energéticamente benéfico capturar pocas presas grandes que varias pequeñas (Juanes, 1994; Lima-Junior y Goitien, 2003; Reñones *et al.*, 2002).

Durante este paso, la capacidad del nado se incrementó por el desarrollo de las aletas y hubo un cambio en el uso del habitat, las larvas pasaron de un nado azaroso cerca de la superficie, a uno en cardúmen. Este comportamiento coincide con el observado en ciprínidos (Pinder y Gozlan, 2004), y en el esturión *Acipenser baeri* (Gisbert, 1999).

La formación de las aletas se completó antes de la presencia de las escamas, así como el órgano de la línea lateral. En esta fase sucede el cambio del habitat en la orilla, usado por los embriones y las larvas, al habitat de aguas abiertas usado por juveniles y adultos. Estos últimos eventos marcaron el fin del período larval y la

transformación o metamorfosis a juvenil, durante el cual, hay una estabilización en el crecimiento relativo y la adquisición del morfotipo adulto.

Crecimiento.

El análisis cuantitativo de los cambios en las proporciones del cuerpo de *C. humboldtianum* y *C. riojai*, demostró que el crecimiento no es continuo, sino que ocurre en intervalos o pasos. Sin embargo, para comparar el crecimiento entre ambas especies, los valores obtenidos se ajustaron a líneas de regresión.

Los períodos en la ontogenia definen la manera en que los organismos obtienen y usan la energía y explican los cambios morfológicos y fisiológicos (Balon, 1985). En particular, esto permite determinar el tamaño y tipo de alimento, en relación a la tasa de crecimiento de la boca. Fuiman (1994) demostró que el cambio en los coeficientes de crecimiento de la longitud del cuerpo, durante el crecimiento temprano, es característico en diferentes familias de peces y sugiere que, un crecimiento optimizado funcionalmente, incrementa la adaptación y sobrevivencia de las larvas.

El crecimiento absoluto de los EL, de ambas especies, fue menor que en el período larval, debido a que la prioridad en esta fase del desarrollo, es la formación de órganos y sistemas. Al inicio del período larval, no hubo diferencias en las magnitudes del cuerpo, entre ambas especies, pero *C. humboldtianum* tuvo

mayores incrementos al final del período. Sin embargo, la G presentó un comportamiento inverso. La aceleración en el crecimiento, se ha observado al inicio de cualquier paso en el desarrollo; después la tasa de crecimiento disminuye (Kamler, 1992). Esta respuesta se confirmó en *C. humboldtianum*, pues la tasa de crecimiento en la fase de EL fue mayor que en el período larval, a la misma temperatura (20 °C). En larvas de *Odontesthes* sp., mantenidas a 20 °C, la tasa de crecimiento en peso, disminuyó de 0.14 a 0.07 de la primera a la cuarta semana de edad, después de la eclosión, cuando alcanzaron la metamorfosis a juvenil (Phonlor y Sampaio, 1995). Así mismo, los EL de la merluza *Merluccius australis*, presentaron una velocidad de crecimiento mayor que sus larvas, bajo las mismas condiciones (Bustos y Landaeta, 2005). En una población silvestre de *Atherina presbyter* (Atherinidae) después del primer año de edad, la tasa de crecimiento disminuyó rápidamente, debido a que probablemente, la energía es dirigida a la reproducción (Pajuelo y Lorenzo, 2000). Las G más bajas se asocian con una transición de un paso a otro y con la intensificación de diferentes procesos. De manera general, se ha descrito la secuencia del crecimiento en la vida temprana de los peces: el crecimiento es lento antes de la eclosión y se acelera después de ésta; los EL alcanzan el tamaño máximo que le permite el vitelo y después la tasa de crecimiento disminuye con el inicio de la alimentación exógena. Durante la alimentación mixta las larvas crecen y a partir de la alimentación exógena, las larvas crecen más rápido (Kamler, 1992).

Crecimiento relativo.

Los EL de *C. humboldtianum* y las larvas de *C. riojai*, mostraron un crecimiento relativo más grande del tamaño de la boca con respecto a la LC que con la LN, principalmente los EL de *C. humboldtianum*, quienes presentaron un crecimiento alométrico positivo. Estos resultados son semejantes a los observados en otras especies de peces de agua dulce (Dabrowski y Bardega, 1984). Las larvas requieren un tamaño de boca adecuado, no sólo para tener mayor oportunidad de capturar presas, sino también presas más grandes; esto representa un gasto de energía menor, puesto que la habilidad del nado es pobre, principalmente durante la alimentación mixta, cuando su desplazamiento es limitado.

Por otra parte, en *C. humboldtianum*, el crecimiento relativo presentó cambios drásticos de los EL a las larvas. La LC y la B con respecto a la LN, se incrementó de manera notable, principalmente la relación LC/LN que pasó de ser alométrica negativa a positiva y la relación B/LC cambió de alométrica positiva a negativa. En *C. riojai*, el crecimiento relativo de las variables analizadas también cambió de los EL a las larvas, pero de forma menos marcada, pues de un no-incremento pasó a un crecimiento alométrico negativo. Esto indica que en esta especie el cambio en las proporciones del cuerpo, es bastante más lento que en la primera, pues en todos los casos, los valores de b en esta especie fueron menores que en *C. humboldtianum*. Estos cambios abruptos en las proporciones del cuerpo, principalmente entre embriones y larvas y entre larvas y juveniles, se han

observado en el desarrollo de otras especies de peces y se han relacionado para estimar la longitud en que se presenta un umbral o transición en el desarrollo y se pueden relacionar con el uso del microhabitat (Kováč *et al.*, 1999). Esta hipótesis coincide con los resultados obtenidos en este trabajo y con el uso del microhabitat de EL y larvas de *C. humboldtianum* y *C. riojai*, pues las larvas tienen un desplazamiento mayor que los EL, por la presencia de las aletas y son más activas debido a que su alimentación es exógena. La disminución en el crecimiento relativo de la boca en las larvas de *C. humboldtianum*, puede atribuirse a que durante la fase de EL alcanza el tamaño de boca adecuado para consumir sus presas, a diferencia de *C. riojai*, cuyo crecimiento relativo se incrementa en el período larval.

La metamorfosis es una remodelación de las estructuras larvales; las relaciones alométricas durante este período parecen ser suficientes para formar el juvenil. Las grandes diferencias en las dimensiones relativas del cuerpo, entre los EL y los juveniles post-metamórficos son consistentes con la necesidad de establecer prioridades durante el crecimiento temprano para crear, al menos, las condiciones primarias requeridas para la sobrevivencia. La metamorfosis de la larva no solo es necesaria por los cambios en las prioridades del crecimiento y el efecto de escalamiento con el incremento en tamaño, sino también por su relación con el ambiente acuático cambiante (Fuiman, 1994; Osse *et al.*, 1997; Stefanson *et al.*, 2003).

El desconocimiento del desarrollo temprano y del juvenil, a veces dificulta decidir cuándo un pez llega a ser juvenil, esto es, alcanzar el fenotipo definitivo. Un pez se desarrolla naturalmente de una manera saltatoria, su vida consiste de una secuencia de pasos estables, separados por umbrales menos estables. Los cambios se presentan en los umbrales. Las formas altriciales retienen un estilo de historia de vida con desarrollo indirecto y alta fecundidad, cuando la dispersión es ventajosa o esencial (Balon, 1985). *C. humboldtianum* y *C. riojai*, son especies altriciales, por presentar ambas características, aunque *C. riojai* se aleja un poco de este patrón, ya que su fecundidad es baja (Figueroa-Lucero, 2006) y el desarrollo temprano es más breve que el de *C. humboldtianum*.

Efecto de la temperatura y la salinidad en el período embrionario.

Porcentaje de eclosión

C. humboldtianum vive en temperaturas del agua entre 12-25 °C (Moncayo, 1996; Nicasio, 1999). *C. riojai* se encuentra en cuerpos de agua cuya temperatura varía entre 8-24 °C (Figueroa-Lucero, 2006). Bajo condiciones naturales, ambas especies desovan todo el año; la primera tiene un máximo reproductivo en enero-abril (14-20 °C) y junio-agosto (25-22 °C) (Figueroa-Lucero *et al.*, 2007). La segunda, se reproduce mayormente, de junio a septiembre (23-19 °C) (Figueroa-Lucero, 2006). Bajo condiciones de laboratorio, ambas especies desovaron entre 17 y 21 °C; la reproducción no fue exitosa a 15 °C. La temperatura aportó el 68%

de la varianza observada, el tamaño de los desoves fue mayor, significativamente, por el incremento en la temperatura (Figuroa-Lucero *et al.*, 2007). En el presente estudio, la temperatura de incubación aportó el 68% (*C. humboldtianum*) y el 55%, (*C. riojai*) de la varianza observada, en el porcentaje de eclosión. En ambas especies, la respuesta a la temperatura se ajustó a una curva de tipo óptimo. Estos resultados coinciden con la respuesta a este factor, en muchas especies de peces, a temperatura constante. La temperatura óptima puede variar dependiendo de la historia de vida y el óptimo para la incubación de los huevos, puede ser diferente de otros eventos durante el desarrollo (Kamler, 1992; Black, 1998). Así, la temperatura óptima para la reproducción (17-21 °C) para *C. humboldtianum* y *C. riojai*, es menor que para la incubación de los huevos, lo que es un reflejo del incremento en la temperatura en el tiempo, cuando estas especies se desarrollan en condiciones naturales. En relación a la sobrevivencia en la eclosión, se probó que el intervalo de 18-24 °C, es viable para el desarrollo embrionario de ambas especies y que 22 °C es el óptimo para la incubación de los huevos.

El efecto de la salinidad en el desarrollo temprano de los peces ha sido estudiado en varias especies marinas y estuarinas (Holliday, 1969; Middaugh *et al.*, 1986; Phonlor y Sampaio, 1992) pero el uso de agua salobre en el cultivo de especies de peces de agua dulce no es frecuente, a pesar de que los cíclidos toleran un intervalo amplio de salinidades (Watanabe *et al.*, 1984) o el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) que tolera más de 19 g/L (Otto, 1971).

La tolerancia a la salinidad también puede variar en el curso de la ontogenia. En la osmorregulación participan hormonas y estructuras que se incorporan progresivamente en la homeostasis del organismo, cuya función depende del ambiente donde vive y su tipo de desarrollo (Jobling, 1995; Howell *et al.*, 1998).

Las especies de *Chirostoma* son ovíparas, por lo que sus huevos son afectados directamente por los factores ambientales. El ion Na^+ en altas concentraciones, atraviesan el corion y afectan el balance osmótico del huevo. Los embriones de *C. humboldtianum* y *C. riojai* murieron en salinidades superiores a 12 g/L, por esta razón. Los embriones se encogen y el espacio perivitelino se llena con el vitelo, aumentando a expensas del embrión. Este fenómeno también se ha observado en embriones de salmón. La osmolalidad del fluido vitelino aumenta rápidamente y se estabiliza 3 h después. Esto indica que el corion es permeable a los iones y al agua y la ausencia de una habilidad osmorreguladora por parte del embrión. Esto demuestra que los embriones están expuestos al ambiente, a pesar de la presencia del corion (Kaneko y Hiroi, 2008). Holliday (1969) señala que hay mortalidades altas en eventos específicos del desarrollo, como la gastrulación y la eclosión, como respuesta a la salinidad, la cual parece ser un inhibidor de la producción de la corionasa. Además, hay efectos en la incidencia y concentración de iones particulares, la disponibilidad del oxígeno (entre mayor es la salinidad, menor es la concentración de oxígeno del agua) y la gravedad específica de diferentes salinidades puede ejercer un efecto a través de la flotabilidad diferente que tienen los organismos. En huevos de *Odontesthes bonariensis*, que es una

especie dulceacuícola, solamente 14% de los embriones eclosionaron en 5 g/L de salinidad (Nardez *et al.*, 1997). Los embriones del bagre dulceacuícola *Clarias gariepinus*, tuvieron un porcentaje de eclosión del 56 al 70%, en un intervalo de 0-5 g/L. En concentraciones superiores, los embriones murieron antes de eclosionar (Gbulubo y Erondú, 1998). En *Heterobranchus longifilis*, el porcentaje de eclosión disminuyó con el incremento en la salinidad, y no hubo eclosión en salinidades superiores a 7.5 g/L (Fashina-Bombata y Busari, 2003). En contraste, hay especies de agua dulce cuya sobrevivencia y eclosión son mejores en agua salobre que en agua dulce. *Abramis brama*, *Lucioperca lucioperca* y *Caspiolva volgenis* eclosionaron en salinidades de 10 a 20 g/L y su sobrevivencia y eclosión fueron mejores en 2.5 y 5 g/L que en agua dulce (Holliday, 1969). La sobrevivencia y eclosión de *Odontesthes humensis* fueron mejores en 2 a 10 g/L que en agua dulce (Sampaio y Phonlor, 1996). En este estudio, el porcentaje de eclosión de *C. humboldtianum* fue 80% a 22 °C y 4 g/L NaCl y en *C. riojai* fue 83% a 20 °C y 8 g/L NaCl.

Por otra parte, el efecto de la salinidad en ciertas bacterias y hongos de agua dulce, puede significar que un ligero aumento de este factor, sea favorable para el desarrollo de los huevos (Holliday, 1969; Sampaio y Phonlor, 1996; Fashina-Bombata y Busari, 2003).

La salinidad y la temperatura tienen efectos interactivos en el desarrollo y se deben considerar juntos (Howell *et al.*, 1998). La interacción de estos factores,

produjo el porcentaje más bajo de eclosión a 24 °C y 12 g/L NaCl y el más alto a 22 °C y agua dulce, en ambas especies. Esta respuesta se ha observado en otras especies. *Parophrysretulus* tuvo la tasa de desarrollo más rápida para eclosionar a 6-12 °C y 25 g/L de salinidad (Holliday, 1969). *Odontesthes bonariensis* tuvo un porcentaje de eclosión de 46% a 18 °C y 5 g/L de salinidad, pero los resultados fueron mejores (88%) al reducir el O₂ disuelto, 1 ml O₂. L⁻¹ (Nardez *et al.*, 1997).

Tiempo de incubación.

Igualmente, el tiempo de incubación fue inversamente proporcional al incremento de la temperatura, para ambas especies. Este patrón se ha observado en la mayoría de las especies de peces, tanto en condiciones controladas como bajo condiciones naturales (Ware, 1975; Kamler, 1992). La relación entre ambos factores está dada por una función exponencial, dentro del intervalo de temperaturas favorables y constantes. El tiempo de desarrollo es más prolongado a bajas temperaturas y disminuye con el incremento de este factor. La temperatura es el factor regulador principal de la tasa de desarrollo (Kamler, 1992 y 1998). Así, individuos de la misma especie, bajo diferentes temperaturas, alcanzan un mismo estado de desarrollo en diferentes tiempos (Margalef, 1980).

Talla de eclosión.

Se ha determinado que la temperatura tiene un efecto directo en la eficiencia de la utilización del vitelo y que ésta es mayor a bajas temperaturas, dentro del intervalo de tolerancia de la especie, y consecuentemente, produce individuos más grandes al eclosionar (Ojanguren y Braña, 2003). Sin embargo, se han obtenido resultados variables, en diversas especies (Kamler, 1992). La LN de *C. humboldtianum* y *C. riojai* en la eclosión, fue menor con el decremento en la temperatura. Resultados similares se han obtenido en otras especies de peces (Kamler, 1992; Pepin, 1997). Se ha demostrado que la divergencia en la LN al eclosionar, se debe al efecto de la temperatura de incubación (Kamler, 1992; Fuiman *et al.*, 1998; Pepin *et al.*, 1997; Martell *et al.*, 2005). Kamler (1992) explica que un Q_{10} de desarrollo más alto que un Q_{10} metabólico, causará que la cantidad de energía acumulada gastada en procesos metabólicos, disminuya con el incremento en temperatura y la energía restante se invertirá en el crecimiento de los tejidos. Por otra parte, en ambas especies, la sobrevivencia y la LN al eclosionar, difirieron en el grado de dependencia de la temperatura; la temperatura óptima para la sobrevivencia fue menor que la temperatura en los que los EL alcanzaron la talla más grande de eclosión.

La influencia diferencial de la salinidad, se manifestó en el decremento de la LN de los embriones de ambas especies, al eclosionar, con el incremento en la salinidad. Esta respuesta se puede atribuir al no-desarrollo de un mecanismo homeostático

(para el ajuste de salinidad) a esta edad (Holliday, 1969). En especies de peces marinos se han reportado diferencias en el tamaño de los EL al eclosionar, relacionados con el efecto de la salinidad. *Clupea arengus* y *Pleuronectes platessa* eclosionaron en salinidades de 5-25 g/L y presentaron una longitud 23% mayor que aquellos que se incubaron en salinidades de 35-55 g/L (Holliday, 1969). Individuos de *Morone saxatilis* avivaron con una longitud mayor en salinidades de 5 que en 1 o 10 g/L (Peterson *et al.*, 1996). Una salinidad alta produce individuos más cortos. Esta respuesta no es, solamente, un efecto osmótico. Hay varios ejemplos de peces eurihalinos que son más largos en salinidades bajas, debido a un contenido de agua mayor (Margalef, 1980).

Se presentó un efecto interactivo entre la temperatura y la salinidad en la LN de los EL de *C. humboldtianum*, solamente. Sin embargo, en ambas especies, los EL al eclosionar, presentaron una tendencia a incrementar la LN, con el aumento de la temperatura y la disminución de la salinidad.

Durante el período de alimentación endógena, la única fuente de energía es el vitelo, por lo tanto, la sobrevivencia y la eficiencia en el uso del vitelo, definen el intervalo de temperatura óptimo (Kamler, 1998). En base a lo anterior, se comprobó que los intervalos de 22-24 °C y 0-8 g/L NaCl, son viables para el desarrollo embrionario, hasta la eclosión, de *C. humboldtianum* y para *C. riojai* de 20-22 °C, a las mismas salinidades.

Efecto de la temperatura y la salinidad en el período larval.

Temperatura.

La temperatura es uno de los principales factores extrínsecos que regulan el desarrollo. Se ha determinado que el incremento en ésta, acelera las reacciones químicas y los procesos fisiológicos en general, lo que se refleja en el crecimiento y los pasos en el desarrollo dentro del intervalo óptimo (Margalef, 1980; Kamler, 1992). *C. humboldtianum* y *C. riojai* mostraron una aceleración en el crecimiento con el incremento en la temperatura, pero la tasa específica de crecimiento (G), en ambas especies, fue mayor a 20 °C, dando lugar a una curva de respuesta de tipo óptimo, lo cual también es la respuesta más frecuente a la temperatura cuando ésta se mantiene constante (Kamler, 1992).

Sin embargo, en virtud de que la temperatura alta acelera el desarrollo, no es que los individuos mantenidos a 24 °C crecieran más lento, sino que llegaron al período juvenil en menor tiempo. Se ha determinado que los individuos de una misma especie, bajo temperaturas diferentes, alcanzan la misma etapa de desarrollo en tiempos distintos. A temperatura alta (con respecto a la baja) el tamaño de los individuos es menor, porque alcanzan el mismo estado de desarrollo en menor tiempo. En los poikilotermos, una temperatura alta acorta la vida y si la temperatura se aumenta en un momento dado de la vida, el

acortamiento de ésta guarda una relación esperada con la posición de aquel momento (Margalef, 1980).

Pero bajo condiciones naturales, no se presentan temperaturas constantes. Lo común, es que la temperatura varíe a lo largo del día y del año. Una temperatura fluctuante acelera más cualquier proceso biológico que la temperatura constante, igual a la temperatura media de la fluctuante. El metabolismo es más alto a temperatura fluctuante que a una constante (Margalef, 1980; Kamler, 1992). *C. jordani*, bajo condiciones naturales, alcanza longitudes máximas diferentes, dependiendo de la altitud, lo que condiciona diferentes regímenes térmicos; en Chapala, Jal., logra una LT máxima de 9.1 cm y en Trinidad Fabela, Edo. de México, una LT de 12.7 cm, donde la variación térmica es mayor (Cházaro-Olvera *et al.*, 1989).

Salinidad.

Con respecto a la salinidad, *C. humboldtianum* presentó una tendencia a disminuir en la LN y la G con el incremento en la salinidad. *C. riojai* mostró una tendencia contraria. Son frecuentes los casos en que una salinidad elevada produce individuos pequeños, lo mismo que una temperatura alta (Margalef, 1980). La mayor tolerancia de *C. riojai* a la salinidad puede deberse a un reflejo de sus caracteres morfológicos más primitivos que los de *C. humboldtianum* y que todavía conserve una mayor información genética de su pasado marino. Se ha

argumentado que los ambientes estuarinos y lagunares son muy variables y que han actuado para seleccionar genotipos generalistas capaces de ajustar su morfología, fisiología y comportamiento a un intervalo amplio de condiciones. Esta plasticidad ha permitido que los atherinopsidos hayan invadido y especiado en aguas dulces (Bamber y Henderson, 2006). Probablemente, *C. estor estor* presente la misma condición, ya que presentó mayores tasas de crecimiento a 10 y 15 g/L de salinidad, a 25 °C, que en agua dulce y 5 g/L de salinidad, a la misma temperatura (Martínez-Palacios *et al.*, 2004). *Odontesthes argentinensis*, es eurihalino y presenta altas tasas de crecimiento y sobrevivencia, en salinidades de 5 a 35 g/L (Phonlor y Sampaio, 1992). *Fundulus grandis* también presenta una independencia de la salinidad en el crecimiento, pues crece y sobrevive en salinidades de 5-40 g/L (Perschbacher *et al.*, 1990). Por el contrario, muchas larvas de peces muestran preferencias en la variación de la salinidad. Hay peces de agua dulce que solo toleran concentraciones bajas de salinidad, como las larvas de *Clarias gariepinus*, que sobrevivieron a 4 g/L, pero murieron en 77 h, en 12 g/L de salinidad (Gbulubo y Erondú, 1998). La salinidad baja incrementa el crecimiento y la sobrevivencia de *Dicentrarchus labrax* (Johnson y Katavic, 1986) y de *Brevoortia tyrannus* (Hettler, 1976). *Trinectes maculatus* crece mejor en agua dulce (Peters y Boyd, 1972). Igualmente, otros atherinópsidos muestran diferentes preferencias: *Menidia beryllina* tiene un crecimiento y una sobrevivencia óptimos a 15 g/L, mientras que *M. peninsulae* presentó la sobrevivencia más alta en 30 g/L (Middaugh *et al.*, 1986)

Tasa de desarrollo y sobrevivencia.

Los principales factores que contribuyen a la variabilidad de la tasa de desarrollo, durante el período larval, son la temperatura y el alimento. Los estudios del efecto de la temperatura en el desarrollo larval tienen un avance menor que aquellos en la embriogénesis, debido a la dificultad de diferenciar el efecto de la temperatura de la influencia del alimento, el cual es consumido más intensamente en temperaturas altas (Kamler, 1992).

En ambas especies, la tasa de desarrollo (V) se incrementó con la temperatura, como sucede en todas las especies (Kamler, 1998). *C. humboldtianum* presentó tasas menores que *C. riojai* y una temperatura umbral mayor (t_0), lo que es consecuencia del tiempo de desarrollo mayor del primero y un reflejo de la adaptación a las temperaturas mínimas registradas en sus respectivos sitios de procedencia. Probablemente, la temperatura mínima para el desarrollo larval de *C. humboldtianum* sea cercana a los 12 °C y para *C. riojai*, de 6 °C; mientras que una temperatura constante de 24 °C, sea el límite superior, para ambas especies, ya que la sobrevivencia fue menor que en las otras temperaturas.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

- El análisis del desarrollo temprano de *C. humboldtianum* y *C. riojai*, bajo la perspectiva de la teoría de la ontogenia saltatoria, permite la determinación, no solo de la secuencia de cambios morfológicos y funcionales que ocurren sucesivamente hasta su transformación a juvenil, sino también de los períodos en los cuales estas especies cambian sus preferencias ecológicas.
- *C. humboldtianum* y *C. riojai* son altriciales, que por su comportamiento reproductivo y tipo de huevo, son especies no guardadoras, desovadoras de sustrato abierto y pertenecen al grupo reproductivo de fitófilos obligados. Estos atributos los hacen sensibles a los cambios antrópicos en su ambiente natural.
- Los pasos y los umbrales se hicieron evidentes a lo largo del desarrollo. En ambas especies, el período embrionario comprende 10 pasos y el larval, dos.
- La temperatura es el factor principal que regula el desarrollo. El incremento en la temperatura, disminuye el tiempo de desarrollo y la sobrevivencia y

acelera la velocidad de crecimiento y así mismo, el incremento en la salinidad, disminuye el porcentaje y la talla de eclosión, en ambas especies.

- El desarrollo temprano de *C. humboldtianum* tiene una duración de 46 a 76 días y en *C. riojai*, tiene un intervalo de 37 a 56 días, dependiendo de la temperatura y es un carácter relacionado con la longevidad específica.
- *C. humboldtianum* tolera temperaturas más altas y salinidades más bajas que *C. riojai*, lo que refleja el carácter más primitivo de esta última especie y aunque presenta tolerancia mayor a la salinidad, también lo hace respecto a la temperatura baja, probablemente como respuesta a la alta altitud de sus sitios actuales de distribución.
- Los procesos de la historia de vida temprana son decisivos para el éxito en el reclutamiento poblacional. Los embriones y larvas de *C. humboldtianum* y *C. riojai* tienen atributos que indican un alto potencial reproductivo y ayudan a explicar el éxito en el pasado de estas especies. Presentan tasas altas de sobrevivencia y de crecimiento. El bajo éxito reproductivo y la baja sobrevivencia en la actualidad, pueden atribuirse a otros factores, diferentes de la temperatura, como son la contaminación, la disminución en la disponibilidad del alimento y la alteración y reducción del hábitat.
- El conocimiento generado en el presente trabajo, puede ser aplicado en larvicultura para obtener juveniles de mejor calidad, ya sea para fines de cultivo o de repoblación.

Recomendaciones

Si bien es cierto que la información bibliográfica en México no registra aplicaciones científicas de la teoría saltatoria para describir la biología y ecología de las especies de peces, los resultados obtenidos bajo esta perspectiva permiten analizar la historia de vida bajo una sólida teoría que genera uniformidad en la nomenclatura y describe acuciosamente las preferencias ecológicas y los puntos críticos durante el desarrollo, por lo que su aplicación es recomendable al resto de las especies del género.

Debido a la digestión extracelular durante la alimentación mixta, es necesario profundizar en el conocimiento de elementos que fortalezcan el aparato enzimático y mejoren la absorción de los alimentos, como son los probióticos específicos en el desarrollo temprano y en la generación de alimentos balanceados de alto valor nutricional para el género *Chirostoma*.

Es recomendable que para la recuperación del potencial acuícola de tan importante recurso, como lo es el género *Chirostoma*, se seleccionen los fenotipos y genotipos con mayor variabilidad genética dentro de las poblaciones aún existentes, a través de técnicas de biología molecular y así contribuir a la conservación de estas especies endémicas.

LITERATURA CITADA

- Adriaens, D., Aerts, P., Verraes, W., 2001. Ontogenetic shift in mouth opening mechanisms in a catfish (Clariidae, Siluriformes): A response to increasing functional demands. *J. of Morphology*, 247: 197-216.
- Aguilar, P. J. F., Navarrete, N. A., 1994. Reproducción del charal *Chirostoma humboldtianum* del embalse San Felipe Tiacaque, Estado de México. Memorias. IV Congreso Nal. de Ictiología. Michoacán, México.
- Al Hazza, R., Hussein, A., 2007. Larval development of Himri, *Barbus luteus* (Cyprinidae: Cyprinoformes) reared in the laboratory. *Turk J. Zool.*, 31: 27-33.
- Altinok, I., Grizzle, J. M., 2001. Effects of brackish water on growth, feed conversion and energy absorption efficiency by juvenile euryhaline and freshwater stenohaline fishes. *J. of Fish Biol.* 59: 1142-1152.
- Altamirano-Lozano, M., Toledo-Herrera, D., Rodríguez-Canto, A., Figueroa-Lucero, G., 2005. *Chirostoma humboldtianum* como modelo *in vitro* para el estudio de embriotoxicidad de metales pesados. *Rev. Int. Contam. Ambiental* 21 (Supl. 1): 71-77.
- Andrade-Tinoco, E., 1990. Desarrollo embrionario y larval de *Chirostoma patzcuaro* Meek 1902 y de los híbridos obtenidos por fecundación artificial con *Chirostoma grandocule* Steindachner 1894 (Pisces: Atherinidae) del

lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Tesis Licenciatura. UMSNH. México.

Armijo-Ortiz, A., Sasso-Yada, L., 1976. Observaciones preliminares en acuarios sobre incubación y alevinaje de aterínidos (*Chirostoma* spp) del lago de Pátzcuaro, Mich. FIDEFA, Serie técnica 3, pp. 13.

Balon, E. K., 1985. Early life histories of fishes. New developmental, ecological and evolutionary perspectives. E. Balon (Ed.). *Dr. W. Junk Pub.* The Netherlands.

Balon, E. K. 1999. Alternative ways to become a juvenile or a definitive phenotype (and on some persisting linguistic offenses). *Environ. Biol. of Fish.*, 1-2 (56): 17-38.

Bamber, R. N., Henderson, P. A. 2006. Pre-adaptive plasticity in atherinids and the estuarine seat of teleost evolution. *J. of Fish Biol.* (33): 17-23.

Barbour, C. D., 1973 a. A biogeographical history of *Chirostoma* (Pisces: Atherinidae): a species flock from the mexican plateau. *Copeia* 1973(3): 533-556.

Barbour, C. D., 1973. The systematics and evolution of the genus *Chirostoma* Swainson (Pisces: Atherinidae). *Tulane Studies in Zool. and Bot.* 18(3): 97-141.

Begon, M., Harper, J. L., Townsend, C. R., 1986. Ecology, Individuals, Populations and Communities. Blackwell, Oxford, 876 pp.

- Black, K. D., 1998. The environmental interactions associated with fish culture. En: Black, K. D., Pickering, A. D. (Eds.), *Biology of farmed fish*. Sheffield Acad. Press. England. pp: 284-326.
- Blancas-Arroyo, G. A., Figueroa-Lucero, G., Barriga-Sosa, I. de los A., Arredondo-Figueroa, J. L., 2004. Effects of an artificial photothermal cycle on the reproduction of the shortfin silverside, *Chirostoma humboldtianum*, Valenciennes, 1835 (Pisces: Atherinopsidae). *Aquaculture* 241, 575-585.
- Blancas-Arroyo, G. A., Barriga-Sosa, IDLA, Morato-Cartagena, T., Romero-Ramírez, C. M., Arredondo-Figueroa, J. L., 2008. Desarrollo ovárico y su relación con las concentraciones séricas de 17β -estradiol y 17α -hidroxi-4-pregnen-3-ona en hembras de primera maduración de pez blanco, *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniformes: Atherinopsidae). *Veterinaria México*, 39 (1): 67-80.
- Burggren, W. W., Bagatto, B., 2008. Part 2: Respiration and Homeostasis. Cardiovascular anatomy and physiology. En: *Fish Larval Physiology*. Finn, R. N., Kapoor, B. G., (eds.). *Sci. Pub.*, pp: 119-162.
- Bustos, C. A., Landaeta, M. F., 2005. Desarrollo de huevos y larvas tempranas de la merluza del sur, *Merluccius australis*, cultivada bajo condiciones de laboratorio. *Gayana* 69: 402-408.
- Chávez, T. C., 1987. Ictiofauna del Alto Lerma; aspectos sistemáticos, zoogeográficos y ecológicos. Tesis Licenciatura. Esc. Nal. Cienc. Biol., IPN. México.

- Cházaro-Olvera, S., Navarrete-Salgado, N., Sánchez-Merino, R., 1989. Reproducción y crecimiento del charal *Chirostoma jordani* (Woolman) del embalse Trinidad Fabela, Estado de México. *Rev. de Zool.*, ENEPI, UNAM 1: 10-18.
- Comas, M. J., 2001. Tolerance of *Chirostoma estor estor* (Family Atherinidae) larvae to saline environments. MSc Thesis. Inst. of Aquaculture. Univ. Stirling. UK.
- Dabrowski, D. K., Bardega, R., 1984. Mouth size and predicted food size preferences of larvae of three cyprinid fish species. *Aquaculture*, 40: 41-46.
- De Buen, F., 1945. Investigaciones sobre ictiología mexicana. I. Atherinidae de aguas continentales de México. *An. Inst. Biol.*, México. 16 (2): 475-532.
- Dou, S., Masuda, R., Tanaka, M., Tsukamoto, K., 2002. Feeding resumption, morphological changes and mortality during starvation in Japanese flounder larvae. *J. Fish Biol.* 60: 1363-1380.
- Dyer, B. S., Chernoff, B., 1996. Phylogenetic relationship among atheriniform fishes (Teleostei: Atherinomorpha). *Zool. J. of the Linnean Soc.* 117: 1-69.
- Echelle, A., Echelle, A. F., 1984. Evolutionary genetics of a "species flock" atherinid fishes on The Mesa Central of Mexico. En: Echelle, A. A., Kornfield, I., eds. Evolution of the fish species flocks. Univ. of Maine at Orono Press. USA, pp: 93-109.
- Elofsson, H., Mcallister, B. G., Kime, D. E., Mayer, I., Borg, B., 2003. Long lasting stickleback sperm; is ovarian fluid a key to success in fresh water? *J. Fish Biol.* 63: 240-253.

- Estrada-Rodríguez, M. C., 1991. Verificación a nivel experimental de la existencia de híbridos entre las especies *Chirostoma estor estor* y *Chirostoma grandocule* (Pisces: Atherinidae) del lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Tesis Licenciatura. UMSNH. México.
- Estudillo, C. B., Duray, M. N., Marasigan, E. T., Emata, A., 2000. Salinity tolerance of larvae of the mangrove red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) during ontogeny. *Aquaculture* 190: 155-167.
- Fashina-Bombata, H. A., Busari, A. N., 2003. Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Aquaculture* 224 (1-4): 213-222.
- Figuroa-Lucero, G., 2006. Historia de vida reproductiva del charal del Alto Lerma *Chirostoma riojai* Solórzano y López, 1965 (Atherinoformes: Atherinopsidae). Tesis Doctorado. UAM. Mexico.
- Figuroa, L. G., Hernández, R. M. C., Rios, B. J. G., Sevilla, H. M. L., 1999. Bioensayos de alimentación en alevines de *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Pisces: Atherinidae) bajo condiciones de laboratorio. *An. Esc. Nat. Cienc. Biol.* 45: 17-23. México.
- Figuroa, L. G., Hernández, R. M. C., Flores, M. A., 2000. Tolerancia a la salinidad de larvas de *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Pisces: Atherinopsidae) bajo condiciones de laboratorio. VII Congreso Nacional de Ictiología. México. pp, 9-10.

- Figuroa, L. G., Hernández, R. M. C., Rodríguez, C. A. y Arredondo, F. J. L., 2002. Desarrollo embrionario del charal del Alto Lerma *Chirostoma riojai* Solórzano y López, 1965. VIII Congreso Nacional de Ictiología. México.
- Figuroa, L. G., Paulo, M. J., Hernández, R. M. C., 2003. Retrospectiva y avances en el conocimiento de la biología y ecología de los charales y peces blancos del género *Chirostoma* (Atheriniformes: Atherinopsidae) en la ENCB-IPN. En: Historia y avances del cultivo de pescado blanco. Rojas, C. P. M., Fuentes, C. D. (Eds.). Inst. Nal. Pesca, México. pp: 29-48.
- Figuroa-Lucero, G., Meza-González, O., Hernández-Rubio, M. C., Barriga-Sosa, IDLA., Rodríguez-Canto, A., Arredondo-Figuroa, J. L., 2004 a. Growth, survival and mandible development in the larvae of the shortfin silverside *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Atheriniformes:Atherinopsidae) under laboratory conditions. *Aquaculture* 242: 689-696.
- Figuroa-Lucero, G., Hernández, Rubio Ma. Cecilia, Meza González O. R., Arredondo Figuroa J. L., Castro Barrera T., Barriga Sosa I. de los Angeles, Rodríguez Canto A., 2004b. Effect of food type on growth and survival of *Chirostoma riojai* Solórzano Y López, 1965 (Atheriniformes: Atherinopsidae) during early development. *J. of Biol. Res.* Vol. 2. pp: 93-99.
- Figuroa-Lucero, G., Hernández-Rubio, M. C., Ontiveros López, G., 2007. Reproducción en charales y peces blancos. En: Olivera, L. J. I., Jaramillo, J. M. T., Molina, H. M., Téllez, A. N. P. (Eds.), Reproducción y manejo de fauna silvestre 3. UAM, México, pp: 323-336.

- Flores-Coto, C., 1983. Descripción del huevo y el desarrollo larvario de *Membras vagrans* (Goode y Bean) con notas sobre su época de desove en la laguna de Tamiahua, Veracruz (Pisces: Atherinidae). *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol.*, UNAM. México, 10 (1): 237-248.
- Flores, R. D., 1985. Contribución al conocimiento de la biología de las hembras del charal *C. humboldtianum* (Valenciennes) Pisces: Atherinidae, del embalse Huapango, Edo. De México. Tesis Licenciatura. ENCB, IPN. México. 50 pp.
- Fuentes, L. L., 2000. Espectro trófico durante un ciclo anual de *Chirostoma humboldtianum* (Pisces: Atherinidae) en la presa Las Tazas, Municipio de Jocotitlán, Edo. de Méx. Tesis Licenciatura. Fac. Ciencias, UAEMéx. México.
- Ford, T. E., Ika, R., Shine, J., Davalos Lind, L., Lind, O., 2000. Trace metal concentrations in *Chirostoma* sp. From Lake Chapala, Mexico: elevated concentrations of mercury and public health implications. *J. Environ. Sci. and Health, Part A.* 33 (3): 313-325.
- Fuiman, L. A., 1994. The interplay of ontogeny and scaling in the interactions of fish larvae and their predators. *J. Fish Biol.* 45 (Suppl. A): 55-79.
- Fuiman, I. A., Poling, K. R., Higgs, D. M., 1998. Quantifying developmental progress for comparative studies of larval fishes. *Copeia* 1998: 602-611.
- Gámez, C. G., 1984. Análisis del contenido gastrointestinal del charal *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) de la zona norte del embalse Huapango, Estado de México. Tesis Licenciatura. ENCB, IPN. México.

- Gbulubo, A. J., Erondu, E. S. 1998. Salinity influence on the early stages of African catfish. *Aquaculture International* 6: 369-379.
- Gilbert, S. F., 2000. Developmental biology. Sin. Assoc., Inc., Pub., USA. pp: 3-24.
- Gisbert, E., 1999. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. *J. Fish Biol.* 54: 852-862.
- Hall, T. E. 2008. Part I: Ontogeny. Pattern Formation. En: Fish Larval Physiology. Finn, R. N., Kapoor, B. G., (eds.). Sci. Pub., pp: 3-26.
- Hamlin, H. J., Hunt von Herbing, I., Kiling, L. J., 2000. Histological and morphological evaluations of the digestive tract and associated organs of haddock throughout post-hatching ontogeny. *J. Fish Biol.* 57: 716-732.
- Haswell, M. S., Thorpe, G. J., 1982. Millimolar quantities of sodium salts used as prophylaxis during fish hauling. *Progressive fish-culture* 44(4): 179-183.
- Hernández, R. M. C., Figueroa, L. G., Rodríguez, C. A., Arredondo, F. J. L., 2001. Descripción del desarrollo embrionario y larvario del pez blanco *Chirostoma humboldtianum* (Pisces: Atherinopsidae), en condiciones de laboratorio. Memorias. XIV Reunión Nacional de Morfología. Veracruz, México.
- Hernández-Rubio, M. C., Figueroa-Lucero, G., Barriga-Sosa, IDLA., Arredondo-Figueroa, J. L., Castro-Barrera, T., 2006. Early development of the shortfin silverside *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes, 1835) (Atheriniformes:Atherinopsidae). *Aquaculture* 261: 1440-1446.
- Hettler, W. F., 1976. Influence of temperature and salinity on routine metabolic rate and growth of young Atlantic menhaden. *J. Fish Biol.*, 8: 55-65.

- Holliday, F. G. T., 1969. The effects of salinity on the eggs and larvae of teleosts. In: Hoar, W. S., Randall, D. J. (Eds.), *Fish physiology*. Academic Press, pp: 293-309.
- Howell, B. R., Day, O. J., Ellis, T., Baynes, S. M., 1998. Early life stages of farmed fish. In: Black, K. D., Pickering, A. D. (Eds.), *Biology of farmed fish*. Sheffield Academic Press, England, pp: 27-66.
- Hunt von Herbing, I., 2001. Development of feeding structures in larval fish with different life histories: Winter flounder and Atlantic cod. *J. Fish Biol.* 59: 767-782.
- Jobling, M., 1995. *Environmental biology of fishes*. London. Chapman and Hall.
- Johnson, D. W., Katavic, I., 1986. Survival and growth of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae as influenced by temperature, salinity, and delayed initial feeding. *Aquaculture*, 52: 11-19.
- Juanes, F., 1994. What determines prey size selectivity in piscivorous fishes? In: Stouder, D. J., Fresh, K. L., Feller, R. J. (eds.), *Theory and application in fish feeding ecology*, vol. 18. The Belle W. Baruch Library in Marine Science, University of South Carolina Press, pp: 79-100.
- Kamler, E., 1992. *Early life history of fish: an energetics approach*. Chapman and Hall, London, 267 pp.
- Kamler, E., Keckeis, H., Bauer-Nemeschkal, E., 1998. Temperature-induced changes of survival, development and yolk partitioning in *Chondrostoma nasus*. *J. Fish Biol.* 53: 658-682.

- Kaneko, T., Hiroi, J., 2008. Part 2: Osmo- and ionoregulation. En: Fish Larval Physiology. Finn, R. N., Kapoor, B. G., (eds.). Sci. Pub., pp:163-184.
- Kendall Jr., A. W., Ahlstrom, E. H., Moser, H. G., 1984. Early life history stages of fishes and their characters. En: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, Jr., A. W., Richardson, S. L.). Copeia. Special Pub. 1. USA. pp: 355-361.
- Kováč, V., Gordon, H. C., Malcom, F. P., 1999. Morphometry of the stone loach, *Barbatula barbatula*: do mensural characters reflect the species' life history thresholds?. *Environ. Biol. of Fishes* 56: 105-115.
- Lima-Junior, S. E., Goitein, R., 2003. Ontogenetic diet shifts of a Neotropical cat fish, *Pimelodus maculatus* (Siluriformes, Pimelodidae): an ecomorphological approach. *Environ. Biol. Fishes* 68: 73-79.
- MacArthur, R. H., Wilson, E. O., 1967. The Theory of Island Biogeography. Prin. Univ. Press. Princeton, NJ.
- Margalef, R., 1980. Ecología. Omega, Barcelona, 951 pp.
- Martell, D. J., Kieffer, J. D., Trippel, E. A., 2005. Effects of temperature during early life history on embryonic and larval development and growth in haddock. *J. Fish Biol.* 66: 1558-1575.
- Martínez, P. C. A., Barriga, T. E., Taylor, J. F., Rios, D. G., Ross, L. G., 2001. Effect of temperature on growth and survival of *Chirostoma estor estor* Jordan, 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass larval and juvenile fishes. *Aquaculture* 209: 369-377.

- Martínez, P. C. A., Comas, M. J., Tello B. J. A., Toledo C. M., Ross L. G., 2004. The effects of saline environments on survival and growth of eggs and larvae of *Chirostoma estor estor* Jordan 1880 (Pisces: Atherinidae). *Aquaculture* 238: 509-522.
- McElman, J. F., Balon, E. K., 1985. Early ontogeny of walley, *Stizostedion vitreum*, with steps of saltatory development. En: Early life histories of fishes. New developmental, ecological and evolutionary perspectives. Balon, E. K. (Ed.). Dr W. Junk Pub. pp: 92-131.
- Medina, N. M., 1993. Ictiofauna de la Subcuenca del Río Angulo Cuenca Lerma-Chapala, Michoacán. Tesis Licenciatura. Escuela de Biología, UMSNH. México.
- Méndez, S. J. F., 1996. Contribución al conocimiento biológico de *Chirostoma riojai* Solórzano y López, 1965, (Charal del Alto Lerma) en el embalse Ignacio Ramírez, Almoloya de Juárez, México. Tesis Licenciatura. UAMex. México.
- Méndez-Sánchez, J. F., Garduño-Paz, M. V., Ruíz-Gómez, M. L., Hernández-Gallegos, O., Adams, C. E., 2007. Threatened fishes of the world: *Menidia riojai* Solórzano y López 1965 (Atheriniformes: Atherinopsidae). *Environ. Biol. Fish.*
- Mendoza, S. L., Maldonado, V. R., Medina, N. M., 1995. Aspectos reproductivos y alimentarios de *Chirostoma humboldtianum* de la Laguna de Zacapu, Michoacán. Memorias del XIII Congreso Nacional de Zoología. Morelia, Mich. México.

- Middaugh, D. P., 1981. Reproductive ecology and spawning periodicity of the Atlantic silverside, *Menidia menidia* (Pisces: Atherinidae). *Copeia* 1981: 766-776.
- Middaugh, D. P., Hemmer, M. J., Lamadrid-Rose, Y., 1986. Laboratory spawning cues in *Menidia beryllina* and *M. peninsulae* (Pisces: Atherinidae) with notes on survival and growth of larvae at different salinities. *Env. Biol. Fish.*, 15: 107-117.
- Miller, P. J., 1984. The tokology of Gobioid fishes. En: Fish reproduction: Strategies and Tactics. Acad. Press. pp: 119-154.
- Miller, R. R., Minckley, W. L., Norris, S. M., 2005. Freshwater fishes of México. The University of Chicago Press. Chicago and London, 490 pp.
- Moncayo, M. E., Flores, R. L., Téllez, P. A., 1983. Contribución al conocimiento de la biología del charal *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) del embalse Huapango, Edo. de México 1981-1982. Memorias del VII Congreso Nacional de Zoología. Veracruz, México.
- Moncayo, E. R., 1996. Estructura y función de la comunidad de peces de la laguna de Zacapu, Michoacán, México. Tesis Maestría. CICIMAR, IPN. México.
- Montgomery, D. C., 1991. Design and analysis of experiments. John Wiley and Sons, NY. 649 pp.
- Morales, V. J., Nandini, S., Sarma, S. S. S., 2004. Functional responses during the early larval stages of the charal fish *Chirostoma riojai* (Pisces: Atherinidae) fed rotifers and cladocerans. *J. Appl. Ichtyol* 20: 417-421.

- Moreno, L. M. A., 1994. Determinación de la edad, crecimiento y ciclo reproductivo de *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Pisces: Atherinidae) en el embalse "Cointzio", Mich., Méx. Memorias. IV Congreso Nacional de Ictiología. Morelia, Mich. México.
- Muphy, G. I., 1967. Vital statistics of the Pacific sardine (*Sardinops cerulea*) and the populations consequences. *Ecology* 48: 731-736.
- Nardez, S. R., Phonlor, G., Sampaio, L. A., 1997. Shyncronization of the hatching time of the silverside *Odontesthes bonariensis* (Teleostei: Atherinopsidae) through temperature, salinity, and oxygen stimuli. *Arq. Biol. Tecnol.* 40(3): 688-692.
- Nicasio, R. S., 1999. Análisis limnológico de la presa San Felipe, Tiacaque, Mpio. de Jocotitlán, Estado de México, durante el período mayo-noviembre de 1998. Tesis Licenciatura. UAEMex. Fac. de Ciencias, México.
- Nikolsky, G. V., 1963. The ecology of fishes. Academic Press, London and NY. 352 pp.
- Norma Oficial Mexican NOM-059-Ecol-2001. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana. Mayo. 61 pp.
- Núñez-García, L. G., 2004. Análisis experimental del efecto de la calidad del agua del lago Metztitlan, Hidalgo, sobre la sobrevivencia de huevos y eleuteroembriones y el crecimiento de juveniles de *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes). Tesis Maestría. UAM-I. México
- Ojanguren, A. F., Braña, F., 2003. Thermal dependence of embryonic growth and development in Brown trout. *J. Fish Biol.* 62: 580-590.

- Ordóñez, M. E., 1999. Morfometría del aparato mandibular de *Chirostoma riojai* Solórzano y López (Pisces: Atherinidae) y la relación con sus hábitos alimentarios. Tesis Licenciatura. UAMex. México.
- Oseguera, F. L. 1990. Caracterización morfológica de los estados embrionarios y juveniles de *Chirostoma grandocule*. Tesis Profesional. UMSNH. México.
- Osse, J. W. M., van den Boogaart, van Snik, G. M. J., van der Sluys, L., 1997. Priorities during early growth of fish larvae. *Aquaculture* 155: 249-258.
- Otto, R. G., 1971. Effects of salinity on the survival and growth of pre-smolt coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Board of Canada* 28: 343-349.
- Pajuelo, J. G., Lorenzo, J. M., 2000. Biology of the sand smelt, *Atherina presbyter* (Teleostei: Atherinidae), off the Canary Islands (central-east Atlantic). *Environ. Biol. Fishes* 59: 91-97.
- Palacios, S. M. C., Chacón, T. A., 1998. Embriología del pez blanco de Zacapu *Chirostoma humboldtianum*. Memorias del IX Encuentro Regional de Investigaciones de Flora y Fauna de la Región Centro-Sur. Morelos. México.
- Pavlov, D. A., Moksness, E., 1997. Development of the axial skeleton in wolfish *Anarhichas lupus* (Pisces, Anarhichadidae), at different temperatures. *Environ. Biol. Fish* 49: 401-416.
- Pedersen, B. H., 1997. The cost of growth in young fish larvae, a review of new hypotheses. *Aquaculture* 155: 259-269.
- Peñáz, M., 2001. A general framework of fish ontogeny: a review of the ongoing debate. *Folia Zoologica*, 50: 241-256.

- Peñáz, M., Gajdusek, J., 1979. Early development of bream, *Abramis brama*, from the water reservoir mostiste Czechoslovakia. *Folia Zoologica* 30: 165-176.
- Pepin, P., 1991. The effect of temperature and size on development and mortality rates of the pelagic early life history stages of marine fish. *Can. J. of Fish. and Aquatic Sci.* 48: 503-518.
- Pepin, P., Orr, D. C., Anderson, J. T., 1997. Time to hatch and larval size in relation to temperature and egg size in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. of Fish. and Aquatic Sci.* 54 (Suppl. 1), 2-10.
- Peterson, R. H., Martin-Robichaud, D. J., Berge, A., 1996. Influence of temperature and salinity on length and yolk utilization of striped sea bass larvae. *Aquaculture Int.* 4, 89-103.
- Phonlor, G., Sampaio, L. A., 1992. Effect of salinity on growth and survival of *Odontesthes argentinensis* larvae. *Arq. Biol. Technol.* 35 (1): 153-155.
- Phonlor, G., Sampaio, L. A., 1995. Growth of the estuarine silverside *Odontesthes* sp (Pisces: Atherinidae) larvae. *Publicação esp. Inst. Oceanogr., S Paulo* 11: 211-216.
- Pinder, A. C., 2001. Keys to larval and juvenile stages of coarse fishes from fresh waters in the British Isles. *Sci. Pub.* 60. Ambleside: Fresh. Biol. Assoc.
- Pinder, A. C., Gozlan, R. E., 2004. Early ontogeny of sunbleak. *J. of Fish Biol.* 64: 762-775.
- Ramírez-Barbán, E., 2004. Desarrollo embrionario de *Chirostoma jordani* Wolman, 1894 bajo condiciones experimentales. Tesis Licenciatura. ENCB-IPN. México. 43 pp.

- Perschbacher, P. T., Aldrich, D. V., Straw, K., 1990. Survival and growth of the early stages of gulf killifish in various salinities. *Prog. Fish-Cult.*, 52: 109-111.
- Peters, D. S., Boyd, M. T., 1972. The effect of temperature, salinity, and availability of food on the feeding and growth of the hogchoker, *Trinectes maculatus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 7: 201-207.
- Reñones, O., Polunin, N. V. C., Goni, R., 2002. Size related dietary shifts of *Epinephelus marginatus* in a western Mediterranean littoral ecosystem: an isotope and stomach content analysis. *J. Fish Biol.* 61: 122-137.
- Rideout, R. M., Trippel, E. A., Litvak, M. K., 2005. Effects of egg size, food supply and spawning time on early life history success of haddock *Melanogrammus aeglefinus*. *Marine Ecol. Progr. Ser.* 285: 169-180.
- Rivera, M. G., 2005. Preferencia alimentaria en juveniles y adultos de *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) bajo condiciones de laboratorio. Tesis Licenciatura. Esc. Nal. de Cien. Biol., IPN. México.
- Roff, D. A., Reproductive uncertainty and the evolution of iteroparity: why don't flatfish put all their eggs in one basket? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 968-977.
- Rønnestad, I., Morais, S., 2008. Part 3: Nutrition and energy. Digestion. Fish Larval Physiology. Finn, R. N., Kapoor, B. G., (eds.). Sci. Pub., pp: 201-262.
- Rosas, M. M. 1967. Investigaciones relacionadas con el cultivo del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor* Jordan, 1879) Perciformes: Atherinidae. Tesis Licenciatura. Fac. de Ciencias, UNAM, México.

- Sampaio, L. A., Phonlor, G., 1996. Efectos de la salinidad en huevos y larvas vitelinas de *Odontesthes humensis* (Teleostei: Atherinidae). In: Silva, A., Merino, G. (Eds.). *Acuicultura en Latinoamérica. IX Congreso Latinoamericano. 2º Simposio Avances y perspectivas de la acuicultura en Chile*. Univ. Católica del Norte. Asociación Latinoamericana de Acuicultura. Coquimbo, Chile, pp: 346-349.
- Samapio, L. A., 2000. Reprodução e larvicultura do peixe-rei marinho. *Panorama da Aquicultura*: 15-18.
- Sánchez, M. R., 1995. Selección del plancton por peces del género *Chirostoma*. Tesis de Maestría. Fac. Ciencias. UNAM. México.
- Segura, G. V., Soto, G. E., 1995. Selectividad por el zooplancton de *Chirostoma humboldtianum* en el embalse Tepuxtepec, Mich. *Memorias del XIII Congreso Nacional de Zoología*. Michoacán. México.
- Sfakianakis, D. G., Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 2004. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Pagellus enythrinus* (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. *Aquaculture* 232: 407-424.
- Shirota, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.* 36 (4): 353-368.
- Sokal, R. R., Rohlf, F. J., 1981. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman and Co., San Francisco, CA, 859 pp.

- Solórzano, A., López, Y., 1965. Nueva especie de *Chirostoma* capturada en la Laguna de Victoria o de Santiago Tilapa, Estado de México (Pis., Atherin.). *Ciencia* 24: 145-150.
- Soto-Galera, E., Díaz-Pardo, E., López-López, E., Lyons, J., 1998. Fish as indicator of environmental quality in the Rio Lerma Basin, México. *J. Aquat Ecosyst Health Manage* 1: 267-276.
- Stearns, S. C., 1992. The evolution of life histories. Oxford Univ. Press., USA.
- Stearns, S. C., Hoekstra, R. F., 2000. Evolution: an introduction. Oxford, pp. 152-176. USA.
- Stefanson, S. O., Björnsson, B. T., Sundell, K., Nyhammer, G., McCormick, S. D., 2003. Physiological characteristics of wild Atlantic salmon post-smolts during estuarine and coastal migration. *J. of Fish Biology* 63: 942-955.
- Tucker, J. W., Jr., 1998. Marine fish culture. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Villagómez, G. C. M., Islas, S. H., Valencia, H. H., 1997. Estudio poblacional de *Chirostoma humboldtianum* en la presa Villa Victoria, Edo. de México (Abril 1994-enero 1995). Memorias. V Congreso Nacional de ictiología. Sinaloa, México.
- Walford, J., Lim, T. M., Lam, T. J., 1991. Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of seabass (*Lates calcarifer*) larvae: do the larvae ingest protein-membrane microcapsules? *Aquaculture* 109: 187-203.
- Wang, J. C. S., 1974. Atherinidae-silversides. En: A. J. Lippson and L. Moran (Eds.), Manual for identification of early development stages of fishes of the

Potamac River Estuary. Environmental Technology Center. Baltimore, Maryland, pp. 143-151.

Ware, D. M., 1975. Relation between egg size, growth, and natural mortality of larval fish. *J. Fis. Res.* 32: 2503-2512.

Watanabe, W. O., Kuo, C. M., Huang, M. C., 1984. Experimental rearing of Nile tilapia fry (*Oreochromus niloticus*) for freshwater culture. *ICLARM Tech. Rep.* 14: 28 pp.

Watanabe, T., Kiron, V., 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124: 223-251.

White, B. N., Lavenberg, R. J., McGrowen, E. M., 1984. Atheriniformes: Development and Relationships. En: *Ontogeny and Systematics of fishes* (Eds.: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, Jr., A. W., Richardson, S. L.). *Copeia. Special Pub.* 1. USA. pp: 355-361.

Wootton, R. J., 1990. Ecology of teleost fishes. Chapman and Hall, London, pp: 186-190.

RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas.

Tabla 1. Diseño experimental de la temperatura y la salinidad

Tabla 2. Diseño experimental de la temperatura y la salinidad

Tabla 3. Nomenclatura empleada

Tabla 4. Periodo embrionario hasta la eclosión de *C. humboldtianum* y *C. riojai*, a 20 °C, 0 g/L y un fotoperiodo de 12hL:12 hO

Tabla 5. Crecimiento de *C. humboldtianum* durante la fase de EL, a 20 °C.

Tabla 6. Relaciones alométricas de la LN, LC y el tamaño de la boca en eleuteroembriones de *C. riojai*

Tabla 7. Crecimiento relativo de la LN, LC y B de *C. humboldtianum* durante la fase de eleuteroembrión

Tabla 8. Crecimiento absoluto de LT, LN, LC y B en larvas de *C. humboldtianum*

Tabla 9. Crecimiento absoluto de LT, LN, LC y B en *C. riojai*.

Tabla 10. Comparación de pendientes de las curvas de crecimiento entre *C. humboldtianum* y *C. riojai*.

Tabla 11. Comparación múltiple de las medias de LT, LN, LC y B entre *C. humboldtianum* y *C. riojai*.

Tabla 12. Crecimiento relativo de la LC y la B con respecto a la LN y la B en relación a la LC en larvas de *C. humboldtianum*

Tabla 13. Crecimiento relativo de LC y B con respecto a la LN, en *C. riojai*

Figuras.

Figura 1. Frecuencia de ocurrencia del número de zarcillos en óvulos de *C. humboldtianum*

Figura 2. Eleuteroembriones de *C. riojai* y *C. humboldtianum*, 0 dde.

Figura 3. Diámetro (media \pm E.S.) del saco vitelino ($\text{---}\blacklozenge\text{---}$) ($y = 1.18e^{-0.23t}$, $R^2 = 0.99$) y de la gota de aceite ($\text{---}\text{---}\text{---}$) ($y = -0.02t^2 + 0.04t + 0.23$, $R^2 = 0.88$) en eleuteroembriones de *C. humboldtianum* en relación al tiempo (dde) hasta el final del periodo embrionario.

Figura 4. Diámetro del saco vitelino ($\text{---}\text{---}$) ($y = -0.28x + 0.71$, $R^2 = 0.99$) y de la gota de aceite ($\text{---}\text{---}\blacklozenge\text{---}$) ($y = -0.04x + 0.27$, $R^2 = 0.98$) en eleuteroembriones de *C. riojai* en relación al tiempo (dde) hasta el final del periodo embrionario

Figura 5. Coeficientes de variación en las variables medidas en EL de *C. riojai* a 0 y 1 dde. LC₀ y B tienen un valor de V = 0.

Figura 6. Pterolarva de *C. humboldtianum* (14 dde)

Figura 7. Apterolarva de *C. humboldtianum* (4 dde)

Figura 8. Juvenil de *C. humboldtianum* (40 dde)

Figura 9. Apterolarva de *C. riojai* (2 dde)

Figura 10. Pterolarva de *C. riojai*

Figura 11. Juvenil de *C. riojai*

Figura 12. Porcentaje de eclosión de EL de *C. humboldtianum* con relación a la temperatura ($y = 10.9x^3 + 77.2x^2 + 151.5x + 130$, $R^2 = 0.95$) y a la salinidad ($y = 75.3 e^{-0.1x}$, $R^2 = 0.97$) n = 48

Figura 13. Porcentaje de eclosión de EL de *C. riojai* con relación a la temperatura ($y = -11.2x^2 + 51.2x + 15.5$, $R^2 = 0.90$) y a la salinidad ($y = 78 e^{-0.12x}$, $R^2 = 0.80$) n = 48.

Figura 14. Tiempo promedio (media ± s. e.) de eclosión de *C. humboldtianum* (—) ($y = 16.9e^{-0.14x}$, $R^2 = 0.88$, n = 48) y *C. riojai* (----) ($y = 14.4e^{-0.14x}$, $R^2 = 0.93$, n = 48) con respecto a la temperatura.

Figura 15. Talla de eclosión (LN) de *C. humboldtianum* (—) ($y = 4.65 + 0.06x$, $R^2 = 0.90$, n = 80) y *C. riojai* (----) ($y = -0.065x^2 + 0.48x + 3.27$, $R^2 = 0.90$, n = 80) con respecto a la temperatura. Note el eje y logarítmico

Figura 16. Talla de eclosión (LN) de *C. humboldtianum* (—) ($y = 4.88e^{-0.003x}$, $R^2 = 0.89$, n = 80) y *C. riojai* (----) ($y = -0.002x^2 - 0.004x + 4$, $R^2 = 0.80$, n = 80) con relación a la salinidad. Note el eje y logarítmico.

Figura 17. Crecimiento de *C. humboldtianum*, durante el periodo larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 18° C y 0, 4, 8 y 12 g/L de NaCl. $LN_0 = 4.3 e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.97$), $LN_4 = 6e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_8 = 6.3e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_{12} = 6e^{0.016t}$ ($R^2 = 0.97$). Eje y en \log_{10} .

Figura 18. Crecimiento de *C. humboldtianum* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 20° C y 0, 4, 8 y 12 g/L de NaCl. $LN_0 = 4.5e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_4 = 7.1e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.94$), $LN_8 = 5.9e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.98$), $LN_{12} = 6.6e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.96$). Eje y en \log_{10}

Figura 19. Crecimiento de *C. humboldtianum* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 24 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L de NaCl. $LN_0 = 5.9e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_4 = 6.6e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_8 = 7.3e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.97$), $LN_{12} = 6.7e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.98$). Eje y en \log_{10} .

Figura 20. Longitud notocordal inicial (mm) de *C. humboldtianum*, en cada tratamiento

Figura 21. Longitud notocordal final (mm) de *C. humboldtianum*, en cada tratamiento (Temperatura °C-Salinidad g/L NaCl). 1: 18-0, 2: 18-4, 3: 18-8, 4: 18-12, 5: 20-0, 6: 20-4, 7: 20-8, 8: 20-12, 9: 24-0, 10: 24-4, 11: 24-8, 12: 24-12

Figura 22. Efecto de la temperatura ($y = -0.08x^2 + 3x - 10.4$, $R^2 = 1$) y la salinidad ($y = -0.025x^3 + 0.4x^2 - 1.6x + 19.5$, $R^2 = 1$) y = LN, x = temperatura, en la LN final de *C. humboldtianum* n = 60

Figura 23. Tasa de crecimiento de *C. humboldtianum* con respecto a la temperatura ($y = -0.0006x^2 + 0.03x - 0.26$, $R^2 = 1$) y la salinidad ($y = 4E-05x^2 - 0.001x + 0.03$, $R^2 = 0.89$).

Figura 24. Tiempo de duración del período larval de *C. humboldtianum*, con respecto a la temperatura ($y = 61.4x^{-0.45}$, $R^2 = 0.98$) y la salinidad ($y = -0.85x + 48.6$, $R^2 = 0.96$), $n = 12$.

Figura 25. Crecimiento de *C. riojai* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 18 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L NaCl. $LN_0 = 5.7e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.96$), $LN_4 = 5.8e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.95$), $LN_8 = 5.4e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.97$), $LN_{12} = 5.9e^{0.02t}$ ($R^2 = 0.93$). Eje y en \log_{10}

Figura 26. Crecimiento de *C. riojai* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 20 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L NaCl. $LN_0 = 4e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.98$), $LN_4 = 4.8e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.90$), $LN_8 = 4.8e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.91$), $LN_{12} = 4.6e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.94$). Eje y en \log_{10} .

Figura 27. Crecimiento de larvas de *C. riojai* durante el período larval hasta la metamorfosis a juvenil, a 24 °C y 0, 4, 8 y 12 g/L NaCl. $LN_0 = 5.6e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.98$), $LN_4 = 5.8e^{0.03t}$ ($R^2 = 0.92$), $LN_8 = 5.2e^{0.036t}$ ($R^2 = 0.99$), $LN_{12} = 5.2e^{0.04t}$ ($R^2 = 0.99$). Eje y en \log_{10} .

Figura 28. Longitud notocordal inicial (mm) de *C. riojai*, a 18 (0-12 g/L NaCl), 20 (0-12 g/L NaCl) y 24 (0-12 g/L NaCl) °C

Figura 29. Longitud notocordal final (mm) de *C. riojai*, en cada tratamiento (Temperatura, °C-Salinidad, g/L NaCl): 1: 18-0, 2: 18-4, 3: 18-8, 4: 18-12, 5: 20-0, 6: 20-4, 7: 20-8, 8: 20-12, 9: 24-0, 10: 24-4, 11: 24-8, 12: 24-12.

Figura 30. Efecto de la temperatura sobre la LN final de *C. riojai*, ($y = 0.8x^2 - 3.1x + 16.6$, $R^2 = 0.99$, $y = LN$ final, $x =$ temperatura) y la salinidad ($y = 0.33x^2 - 1.63x + 15.8$, $R^2 = 0.99$, $y = LN$ final y $x =$ salinidad) $n = 60$.

Figura 31. Tasas de crecimiento (G , $mm d^{-1}$) de *C. riojai* con respecto a la temperatura ($y = -0.002x^2 + 0.07x - 0.7$, $R^2 = 1$) y a la salinidad ($y = -2E-05x^2 + 0.0006x + 0.03$, $R^2 = 0.96$) $n = 60$.

Figura 32. Tiempo de duración del período larval de *C. riojai*, en relación a la temperatura ($y = 6x^2 - 31.5x + 69.3$, $R^2 = 0.99$), y a la salinidad ($y = 1.25x^2 - 7.6x + 43.8$, $R^2 = 0.98$) $n = 12$.

Figura 33. LN finales de *C. humboldtianum* (-) y *C. riojai* (•). Tratamientos (Temperatura, °C-Salinidad, g/L NaCl): 1: 18-0, 2: 18-4, 3: 18-8, 4: 18-12, 5: 20-0, 6: 20-4, 7: 20-8, 8: 20-12, 9: 24-0, 10: 24-4, 11: 24-8, 12: 24-12.

Figura 34. Tasa de desarrollo ($V = t^{-1}$) de los embriones desde la fecundación hasta la eclosión, a temperatura constante. *C. riojai* (□) $t_0 = 7.7$ °C, $y = 0.0075x - 0.058$, $R^2 = 0.99$, $D_{er}^{\circ} = 133.3^{\circ}$; *C. humboldtianum* (♦) $t_0 = 7$ °C, $y = 0.0062x - 0.044$, $R^2 = 0.99$, $D_{er}^{\circ} = 161.29$.

Figura 35. Tasa de desarrollo (V) desde la eclosión hasta la metamorfosis a juvenil, a temperatura constante. *C. humboldtianum* (♦), $t_0 = 11.3$ °C, $t_0 = 0.0024x - 0.027$, $R^2 = 0.99$, $D_{er}^{\circ} = 416.6$. *C. riojai* (□), $t_0 = 5.9$ °C, $t_0 = 0.002x - 0.012$, $R^2 = 0.97$, $D_{er}^{\circ} = 500$.

Figura 36. Pasos del desarrollo temprano de *C. humboldtianum*, en relación a la edad (ddf) y a temperatura constante (°C). Pasos: 1 al 10: período embrionario; período larval: 11: fase apterolarva, 12: fase pterolarva, 13: primer juvenil, de acuerdo a Balon (1985).

Figura 37. Pasos del desarrollo de *C. riojai*, en relación a la edad (ddf) y a la temperatura (°C). Pasos 1 al 10: período embrionario, 11: fase apterolarva, 12: fase pterolarva, 13: primer juvenil, de acuerdo a Balon (1985).

Figura 38. Porcentaje de sobrevivencia final de larvas de *C. humboldtianum*, (—) ($y = -3.35x^2 + 15.65x + 48.7$, $n = 270$) y *C. riojai* (----) ($y = -11.68x^2 + 49.6x + 30.9$, $n = 270$) a 18, 20 y 24 °C.

Figura 39. Efecto de la temperatura en la sobrevivencia de *C. humboldtianum* desde la eclosión hasta la transformación a juvenil

Figura 40. Efecto de la temperatura en la sobrevivencia de *C. riojai* desde la eclosión hasta la transformación a juvenil



Research paper

Early development of the shortfin silverside *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes, 1835) (Atheriniformes: Atherinopsidae)

Ma. Cecilia Hernández-Rubio^{a,*}, Gerardo Figueroa-Lucero^a,
Irene de los A. Barriga-Sosa^b, José Luis Arredondo-Figueroa^b, Thalía Castro-Barrera^c

^a Laboratorio de Hidrobiología Experimental, Departamento de Zoología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas,

Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala, Santo Tomás, México, D. F., C. P. 11340, México

^b Planta Experimental de Producción Acuicola, Departamento de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, México, D. F., C. P. 09340, México

^c Estrategias Biológicas para el aprovechamiento de los Recursos Naturales Acuáticos, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco,
Calz. Del Hueso 1000, Colonia Villa Quietud, México, D. F., C. P. 04960, México

Received 23 May 2006; received in revised form 30 August 2006; accepted 30 August 2006

Abstract

The shortfin silverside *Chirostoma humboldtianum* has been considered for culture in Mexico, but success has been limited by a poor knowledge of its early development. First synthesis of the early development of the shortfin silverside is presented to determine conditions suitable for rearing. Brooder maturation was induced through photothermal cycles. *C. humboldtianum* ova were fertilized *in vitro*. The eggs were incubated in reconstituted water (160–180 mg/L CaCO₃) at 18 °C and 5 gm of NaCl per litre. During the hatching day, 300 shortfin silversides were stocked and followed up until metamorphosis in order to establish the timing of exogenous feeding, changes in food type, growth and development during critical periods for survival, according to the theory of saltatory ontogeny. Free embryos hatched 12 days after fertilization at 18 °C. First critical point for survival is the beginning of exogenous feeding. Free embryos started mixed feeding on day four of post-hatching (dph), point of no-return was presented towards the end of mixed feeding on 6 dph, larval period began at six (dph) when the anus is opened, and metamorphosis to juvenile was presented at 65 dph with a SL of 19.34 ± 2.28 mm, when scales and fins were well developed. Differences in growth between periods were detected: free embryos growth slower than larvae but mouth size depicted a larger growth rate in the former. Cephalic length and mouth size were negatively related to standard length in embryos and larvae. Mouth size was positively related to cephalic length in free embryos but negative in larvae. Results suggest that during the free embryo phase, growth priorities are directed to the development of apparatuses and systems; whereas, during the larval period, energy is directed to growth in length, mouth size and development of fins, which allows them to increase their swimming velocity, grants them a greater capacity to obtain exogenous food and, in consequence, increases fitness for survival.

© 2006 Published by Elsevier B.V.

Keywords: *Chirostoma humboldtianum*; Early development; Growth; Embryo; Larva; Feeding

* Corresponding author. Tel.: +52 5729 6300 (62424); fax: +52 5396 3503.

E-mail address: mhemaru@encb.ipn.mx (M.C. Hernández-Rubio).

1. Introduction

Chirostoma is an endemic taxon of the Mexico' Central Plateau and eight species are classified as endangered (Official Mexican Standard NOM-059-Ecol-2001). The shortfin silverside *Chirostoma humboldtianum*, together with other species of the genus, is found in lentic environments of this region, along the Lerma River Basin (Barbour, 1973; Barriga-Sosa et al., 2004). It is known in Mexico by the common name of "pez blanco" ("white fish"). It inhabits the limnetic zone of the lakes of this basin, at 2170 to 3552 m above sea level, and temperatures varying from 6 to 25 °C. This species is zooplanktivorous and has a life-span of 4 years, reaches maturity at 9 months with asynchronous spawning throughout the year with one marked peak from March to August and eggs are spawned on submerged aquatic vegetation (Paulo-Maya et al., 2000). It has been one of the main sources of animal protein in this region, since pre-Hispanic times. In the last years, *C. humboldtianum* populations have been markedly affected due to pollution, alteration of its distribution sites, over fishing, and inadequate management. At present, it does not reach its original maximal size and, in some regions, it has disappeared, as in the Valley of Mexico (Paulo-Maya et al., 2000), where it was last recorded in 1947, in the channels of the lake of Xochimilco (Alvarez del Villar and Navarro, 1957). It has a great aquaculture potential, just like other species of the genus. Recently, several attempts have been made to cultivate this and other *Chirostoma* species but results have not been successful. In spite of this, several aspects about their biology, reproduction and growth have been studied (Martínez Palacios et al., 2001; Chacón et al., 2003; Blancas-Arroyo et al., 2004).

A major problem is rearing their larvae to metamorphosis, when the highest mortality is observed in embryos and yolk-sac larvae. Little information exists on the early development of *C. humboldtianum* and no research has been conducted to determine conditions suitable for rearing. It is generally accepted that survival is related to constraints in morphology and physiology. Our laboratory studies have indicated that the use of "live food" is essential at this stage because of lack of digestive enzymes for adequate digestion and assimilation of artificial food and besides, the size of food is not entirely dependant of the mouth size but the structures associated with the buccal apparatus (Figueroa-Lucero et al., 1999, 2004a,b). These results have provided the support for continuing this study from early development to metamorphosis of *C. humboldtianum*.

In this paper we characterize the main morphological and functional changes from hatching to metamorphosis

in the species. The decrease in yolk-sac and oil globule are quantitatively analyzed during the eleutheroembryo phase (yolk-sac larvae), as well as the growth in body length, cephalic length, and mouth size in order to define the type of feed to be administered and the time of its application to establish adequate methodologies for the conservation or culture of this species during critical periods to reduce mortality.

2. Materials and methods

2.1. Maturation of broodstock and fertilization

Fish used in the experiment were obtained from a laboratory broodstock (F3) maintained in the Experimental Hydrobiology Laboratory at the Instituto Politécnico Nacional, in Mexico City. Maturation was induced by manipulating photoperiod and water temperature cycles (Figueroa-Lucero et al., 2003; Blancas-Arroyo et al., 2004). *In vitro* fertilization was performed with the semen of two males and the ova of one female previously anesthetized in benzocaine (8 mg/L) for easy management and to avoid skin damage. The gametes from broodstock were obtained by applying a slight abdominal pressure. The ova were placed on sterilized spawning substrates, consisting of yellow plastic fiber threads, submerged into a plastic dish with reconstituted semi-hard water (160–180 mg/L CaCO₃), filtered to 2 μm at a saline concentration of 5 gm of NaCl per litre. Thereafter, the sperm were put on the ova and they were gently mixed for a few minutes.

2.2. Incubation of eggs and rearing larvae

Once the perivitelline space had been formed, eggs were separated from spawning substrates and the filaments of the eggs were cut to avoid proliferation of fungi and bacteria. Four hundred and fifty eggs were transferred to an incubation container, in the same conditions used for fertilization. Three hundred free embryos were randomly selected and reared in a 40 L capacity container until metamorphosis and under the following conditions: oxygen (5±0.5 mg/L), temperature (18±0.5 °C), pH (8±0.2), photoperiod of 12 h and fed *ad libitum* twice a day. Feeding was carried out using the method of Figueroa-Lucero et al. (2004a) modified for this species. The mixohaline rotifer, *Brachionus plicatilis*, was used as a food organism at a density of 20 rotifers/mL, from the mixed-feeding time (4 days post-hatch) on to 10 day post-hatch (dph). Thereafter, *Artemia nauplii* were provided at a density of 10 nauplii/mL until 25 dph, and from 20 dph on until metamorphosis,

they also were fed also *Moina macrocopa* (Cladocera) neonates at a density of 5 organisms/mL. Thirty percent of the volume of container was replaced with clean water on alternate days. Fecal matter and other detritus were siphoned as necessary.

2.3. Body measurements and development

Ten organisms were preserved with 4% phosphate formalin daily, during the first 10 days and thereafter, at 5 days intervals, until transformation to juvenile.

Body length was measured from the tip of the mouth to the end of the notochord (notochordal length, NL) before flexion and to the posterior margin of the hypural bones after flexion (standard length, SL); cephalic length (CL) was measured from the tip of the mouth to the posterior margin of the operculum; besides, mouth size (MS) was measured using Shirota's method (1970). Measurements were made with an accuracy of 0.1 mm using a stereomicroscope (Stemi IV, Zeiss) and an imaging analysis program (KS400, Version 3.02).

Changes in yolk-sac length and oil globule diameter were measured. In both periods, data on NL (or SL), CL and MS vs time, and relationships between NL (or SL) vs CL, NL (or SL) vs MS and CL vs MS were analyzed through regression models.

First exogenous feeding, anus opening, time of fin formation, the changes in flexion, and appearance of scales were determined by direct observations. The duration of free embryo phase (yolk-sac larvae) and larval period were documented. Observations on the pigmentation pattern were also made.

In this study, the embryo period has included the free embryo (eleutheroembryo) phase, only: The larval period has been divided into finfold larva (Apterolarva) and finformed larva (Pterolarva). The short-form designation for each step follows the system proposed by Balon (1985). Capital letters "F", "FL" and "FFL" denote the eleutheroembryonic (free embryo), apterolarva and pterolarva phases, respectively. A superscript Arabic numeral immediately following the capital letter denotes the number of the steps within that particular phase, and a subsequent Arabic numeral denotes the number of the steps in the total sequence of ontogeny (Balon, 1985).

3. Results

C. humboldtianum shows indirect development and spherical eggs (1.36 ± 0.047 mm) with 1 to 4 filaments, usually 1 filament, which attaches to plants and rocks. These are characteristics of the "guild" nonguarding

open substratum phytolithopils spawners (Balon, 1985). The chorion is smooth, transparent, and slightly amber colored. Hatching occurs at the eleutheroembryo phase, 12 days after fertilization, incubated at 18 °C.

3.1. Embryonic period

3.1.1. Phase: Eleutheroembryo (F) (free embryo)

3.1.1.1. Step F_{11} . (0–4 dph). This phase is characterized by endogenous feeding and differentiation of the embryonic finfold.

At hatch, the average notochordal and cephalic lengths were 4.86 ± 0.112 mm and 0.79 ± 0.04 mm, respectively. The recently hatched eleutheroembryos remain in the bottom and depict positive phototaxis.

Eyes are pigmented and completely formed as well as the otoliths. The pectoral primordial fins are rounded without rays. They exhibit four groups of dendritically shaped black melanophores: one, at the dorsal region of the head, with several big melanophores; a second one, with smaller melanophores along the dorsal margin of the trunk forming a line. The third group is present in the ventral region of the yolk-sac, and the fourth group runs along the base of the ventral finfold. Eleutheroembryos are pale-yellow in color with a slight green color in the dorsal region of their body. Fifty-four myomeres can be distinguished. The yolk-sac is small and rounded with a 1.1 ± 0.096 mm diameter; it has an oil globule of 0.3 ± 0.088 mm in diameter, located in the center of the ventral region of the yolk-sac. Vascularization is well-defined both in the ventral part of the yolk-sac and along the dorsal and ventral regions of the notochord. The mouth is formed and opened (0.24 ± 0.094 mm), and the anus remains closed. At 1 dph, the swim bladder has been filled and the eleutheroembryos swim near the water surface. They achieve suspension by means of their pectoral fins and the swim bladder. From this age on and until the end of the larval period, they remain aggregated, swimming in close proximity. At 3 dph, the yolk-sac's diameter has decreased to 0.26 ± 0.02 mm and that of the oil globule to 0.12 mm; while the size of the mouth has doubled to 0.46 ± 0.05 mm.

3.1.1.2. Step F_{22} . (4–5 dph). This phase is characterized by mixing feeding (endogenous and exogenous feeding) and depletion of the yolk-sac. Start of exogenous feeding at 4 dph, with mixed feeding. The diameter of the yolk-sac is 0.21 ± 0.03 mm and that of the oil globule is 0.095 mm. The average notochordal and cephalic lengths were 5.12 ± 0.17 mm, and 0.98 ± 0.03 mm, respectively and mouth size was of 0.55 ± 0.024 mm. At 5 dph, a row of

melanophores appears along the lateral line, as well as the other 3 groups of melanophores. Fin ray primordia have developed in the pectoral fins and swimming becomes more active, with organisms retaining their positive phototaxis throughout this step. The yolk-sac and oil globule are completely consumed in this period. No increase in mouth size was observed, but the anus is now open. Mixed feeding ends and rotifers (*B. plicatilis*) are consumed efficiently. The diameter of the yolk-sac decreases logarithmically with respect to time ($R^2=0.93$), whereas the decrease in the oil globule shows a linear tendency ($R^2=0.92$). However, consumption of both was not gradual but stepwise, with long periods in which the diameter did not change, against short periods with a marked decrease in their diameter, particularly from 4 dph to 5 dph (i.e. when exogenous feeding starts), corresponding to the end of the embryonic period (Fig. 1).

3.2. Larval period

3.2.1. Phase: Apterolarva (FL) (finfold/preflexion)

3.2.1.1. Step FL₁₃. (6–16 dph). This phase is characterized by exogenous feeding and increase in swimming speed.

At 6 dph, the average notochordal and cephalic lengths were 5.16 ± 0.046 mm and 0.02 ± 0.12 mm, respectively. The notochord is in preflexion. This step is characterized by the development of the digestive tract organs, as well as gills. If feed is administered starting at this age, the organisms die within 24 h due to starvation. At 10 dph, mouth size allows consumption of *Artemia* nauplii. There is no noticeable increase in their length, but active feeding is observed. Development of the caudal fin starts. This development step is complete at 16 dph, with a notochordal length of 6.16 ± 0.11 mm, and a cephalic length of 1.20 mm; mouth size remains constant.

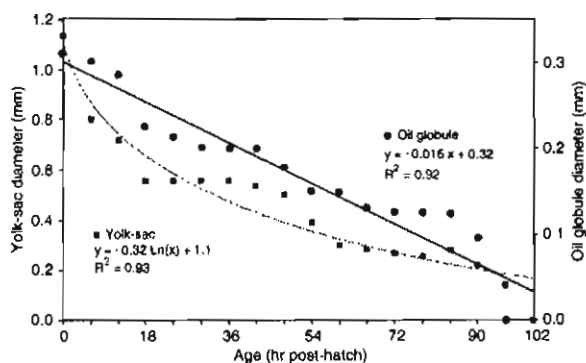


Fig. 1. Absorption rates (diameter, mm per dph) of yolk-sac (■) and oil globule (●) of *C. humboldtianum* free embryos.

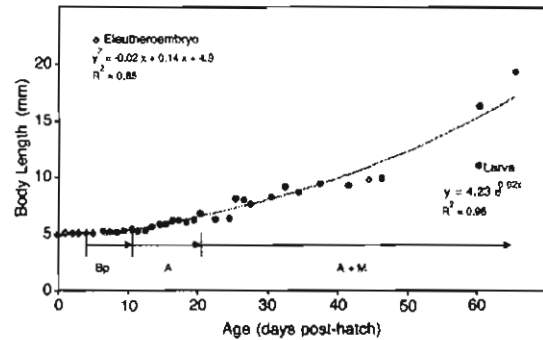


Fig. 2. Absolute growth (mm per dph) of NL (○) and SL (●) of *C. humboldtianum* free embryos and larvae, respectively. Food articles for each age are presented. (Bp, *B. plicatilis*; A, *Artemia* nauplii; M, *Moina macrocopa*).

3.2.2. Phase: Pterolarva (FFL) (finformed/flexion)

3.2.2.1. Step FFL₂₄. (17–65 dph). This phase is characterized by efficient exogenous feeding, development of fins and fast growth; when complete, this is the end of the larval period.

Seventeen days after hatching, flexion of the notochord starts and four rays appear in the primordium of the caudal fin and the anal fin and the second dorsal fin become delineated. At 20 dph, larvae reach a notochordal length of 6.72 ± 0.63 mm and a cephalic length of 1.31 ± 0.13 mm; they also start to consume cladocerans (*Moina macrocopa*) neonates, although mouth size does not increase. They become more active in chasing their prey and are negatively phototactic. On 32 dph, postflexion starts by the formation of the hypural plaque and rays of the second dorsal and anal fins. Standard length averages is of 9.07 ± 0.61 mm. Mouth size increases noticeably (i.e. 1.03 mm). With this increase in size, larvae are able to consume *M. macrocopa* neonates and adults. The melanophores arrangement along the base of the fins precedes rays formation, which after postflexion, starts to become segmentary. On 37 dph, standard length is of 9.38 ± 1.11 mm, the pectoral fins are already developed and primordia of the rays of the pelvic fins and first dorsal fin are observed. At 65 dph, standard length is 19.34 ± 2.28 mm, metamorphosis to the juvenile stage occurs with the end of the development of fins and scales, which are ctenoid and smooth in the posterior margin.

3.3. Absolute growth

Absolute growth of notochordal length in the free embryo stage exhibited a linear relationship ($R^2=0.85$), with a slow daily increment of change (i.e. 0.14 mm/

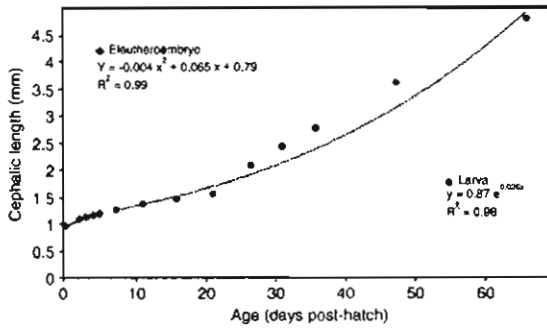


Fig. 3. Absolute growth (mm per dph) of CL of *C. humboldtianum* free embryos (◆) and larvae (●).

day). During the larval period, speed of growth is slow during the first weeks and accelerates exponentially ($R^2=0.96$) from 46 dph on, once postflexion and fin development have occurred (Fig. 2).

Increase in cephalic length is also slower in the free embryo stage compared to the larvae stage. Free embryo cephalic growth had a linear relationship ($R^2=0.99$) at a rate of 0.065 mm/day; while larvae exhibited an exponential relationship with a growth rate of 0.026 mm/day ($R^2=0.98$) (Fig. 3).

The increase in mouth size had an exponential adjustment in free embryo and larvae, and although the mouth size in free embryo is smaller, they depict a larger growth rate (0.2 mm/day, $R^2=0.8$) than larvae (0.024 mm/day, $R^2=0.9$). Mouth size also grows stepwise, like the body length. This increment is related with the start of mixed feeding (Fig. 4).

3.4. Allometric relations

Free embryo and larvae allometric coefficients are given in Table 1. Growth in cephalic length, in relation to notochordal length and standard length is negatively allometric, as well in free embryo as larvae, but this tendency decreases with advancing development

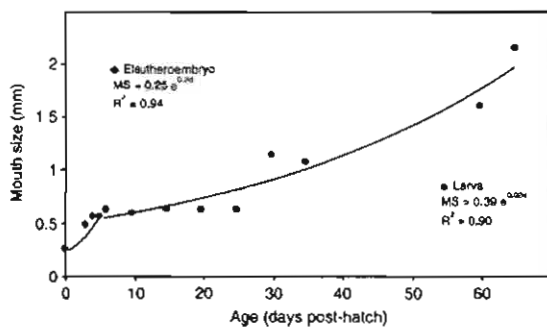


Fig. 4. Absolute growth (mm per dph) of MS of *C. humboldtianum* free embryos (◆) and larvae (●).

Table 1

Allometric growth (mm) for eleutheroembryos and larvae of *C. humboldtianum*

Variables	Eleutheroembryos	Larvae
CL/NL;	CL=0.05 NL+0.77	CL=0.25 SL-0.3
CL/SL	($R^2=0.91$)	($R^2=0.99$)
MS/NL;	MS=0.21 NL ^{0.6}	MS=0.31 e ^{0.1 SL}
MS/SL	($R^2=0.91$)	($R^2=0.91$)
MS/CL	MS=0.5 CL ^{3.7}	MS=0.35 e ^{0.4 CL}
	($R^2=0.74$)	($R^2=0.91$)

CL = Cephalic length; NL = Notochordal length; SL = Standard length and MS = Mouth size.

($p<0.05$). Mouth size related to notochordal length and standard length also follows a negative allometric tendency in each case, but free embryo depicts a potential growth at a higher increase rate ($p<0.05$) in contrast to larvae, which depict an exponential growth ($p<0.05$). Finally, in free embryo, the relative growth of mouth size with respect to cephalic length is potential and positive, whereas in larval stage it is exponential and negative ($p<0.05$).

4. Discussion

Qualitative and quantitative characteristics of embryonic and larval periods are now well defined for early development of *C. humboldtianum*. The periods in the ontogeny define the way in the organisms get and use the matter and energy, and explain the morphological and physiological changes (Balon, 1985). In particular, this allows determination of size and food type in relation to the rate of mouth size growth. Fuiman (1994) showed that the changing growth coefficients over body length during early growth are features in different fish families and suggested that a functionally optimized growth increases fitness and survival in fish larvae. Quantitative analysis of the changes in body proportions of *C. humboldtianum* has shown that growth rate is not continuous, but occurs in a step-wise fashion.

The absolute growth, in notochordal length and cephalic length, in free embryos of *C. humboldtianum*, is minimal due to the growth priority being aimed at the formation and function of the organs and systems.

Free embryos and larvae of *C. humboldtianum* showed a higher relative increase in mouth size in relation to cephalic length than notochordal length. These results are consistent with other studies in freshwater species (Dabrowski and Bardega, 1984). An adequate mouth size is required, not only for a better opportunity to catch preys, but also to catch larger organisms; this represents less energy expenditure, since their swimming ability is still poor, limiting their displacement capacity. At the end

of the free embryo phase, *C. humboldtianum* exhibits an interval of mixed feeding (endogenous and exogenous). According to Balon (1985) this delimits a threshold in development. Administration of exogenous food at this step is crucial (4 dph), because when exogenous feeding starts later, larvae do not survive because the point of no-return has been reached (i.e. fish have not learned to feed before they have absorbed their yolk-sac) (Dou et al., 2002). As in the case of *C. riojai*, the digestive glands of the eleutheroembryos of *C. humboldtianum* are not efficient at this age (Figueroa-Lucero et al., 2004b). Digestion of proteins during the early development of many fish species is characterized by a limited production of digestive enzymes by the pancreas and a unique pynocytic intracellular digestion. This requires a source of easily digestible nutrients, which are found in their natural zooplankton diet that contains high concentrations of digestive enzymes, free amino acids (FAA), and soluble proteins (Walford et al., 1991; Kamler, 1992; Watanabe and Kiron, 1994). Besides, live feed favors the predator activity of larvae, increasing consumption. However, since it has a small head, despite the increase in mouth size, the organism is limited to consume small preys, such as rotifers, that are essential as an initial food of *Chirostoma* larvae (Martínez Palacios et al., 2001; Figueroa-Lucero et al., 2004a,b; Morales Ventura et al., 2004). Later, the development of the pharynx allows ingesting larger whole preys through suction, which is the dominant way of catching preys in fishes (Gubrich, 2001; Figueroa-Lucero et al., 2004a). This, together with the hyoman-dibular and opercular process, increases the efficiency of food catching (Osse et al., 1997; Hunt von Herbing, 2001). This action was corroborated by direct observation of *Artemia* nauplii consumption in the digestive tract.

The end of the yolk-sac and oil globule consumption coincides with the anal opening and the functionality of the main organs, such as the intestine, due to digestive enzymes activity, and the gills, together with the increase in mouth size and feeding exclusively exogenous, this stage marks the end of the embryonic period and the beginning of the larval period, constituting another threshold (Tucker, 1998; Hamlin et al., 2000).

During the larval period, head growth, increase in visual acuity, and the development of fins are events that increase the ability of *C. humboldtianum* to catch larger prey. A change in feeding is required and this is given by the increase in the size and type of prey. Larger prey, like *Artemia* nauplii and cladoceran neonates, are now consumed as mouth size has increased. A fast growth rate decreases the probability of death due to predation, although this requires larger energy expenditure for the synthesis of body components and its maintenance

(Pedersen, 1997). However, when gape size is not a constraint, it is energetically beneficial to capture a few large prey rather than several small prey (Juanes, 1994; Lima-Junior and Goitein, 2003; Reñones et al., 2002).

Metamorphosis is a remodeling of larval structures; the allometric relations during this period seem to be sufficient to shape the juvenile. The large differences in the relative dimensions of the body, between the eleutheroembryos and the post-metamorphic juveniles are consistent with the need of establishing priorities during early growth to create, at least, the primary conditions required for survival. Metamorphosis of larvae is not only required by the change in growth priorities and the escalating effect with the increment in size, but also for their relation with the changing aquatic environment (Fuiman, 1994; Osse et al., 1997; Stefanson et al., 2003).

The analysis of early development of *C. humboldtianum*, under the perspective of the theory of saltatory ontogeny, allows the determination, not only of the sequence of morphological changes that occur successively until their transformation into juveniles, but also of the periods in which these organisms change their feeding habits, as a function of mouth size and fin development, that make them more efficient predators. Knowledge of the morphological and functional development of *C. humboldtianum* larvae is necessary to be able to establish feeding regimes for shortfin silversides that will secure survival through early developmental stages. This can then be applied to larviculture, to obtain reared juveniles of better quality; possibly having a significant economic impact on subsequent farming practices.

Acknowledgements

This research is part of the PhD thesis of the first author at the División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Xochimilco. Financial support was received from Coordinación General de Posgrado e Investigación del Instituto Politécnico Nacional, CGPI-IPN-20060700 and CONACyT for the PhD Scholarship 61195. We are grateful to the two anonymous reviewers for their valuable comments on a previous version of the manuscript.

References

- Alvarez del Villar, J., Navarro, L., 1957. Los peces del Valle de México. Secretaría de Marina, Instituto Nacional de la Pesca, Dirección de Pesca e Industrias Conexas, México, D. F. 62 pp.
- Balon, E., 1985. Early life histories of fishes. New Developmental, Ecological and Evolutionary Perspectives. Dr. W. Junk Publishers, USA.

- Barbour, C.D., 1973. The systematics and evolution of genus *Chirostoma* Swainson. *Tulane Studies in Zoology and Botany* 19 (3), 97–141.
- Barriga-Sosa, I. de los A., Eguiarte, L.E., Arredondo-Figueroa, J.L., 2004. Low but significant subdivision among populations of *Chirostoma gandocule* from Lake Patzcuaro, Mexico. *Biotropica* 36 (1), 85–98.
- Blancas-Arroyo, G.A., Figueroa-Lucero, G., Barriga-Sosa, I. de los A., Arredondo-Figueroa, J.L., 2004. Effects of an artificial photothermal cycle on the reproduction of the shortfin silverside, *Chirostoma humboldtianum*, Valenciennes, 1835 (Pisces: Atherinopsidae). *Aquaculture* 241, 575–585.
- Chacón, F.A., Rosas, M.C., Segura, G.V., 2003. Biología Reproductiva y alimentación del pez blanco en condiciones experimentales. Historia y avances del cultivo de pescado blanco. Instituto Nacional de la Pesca, Dirección General de Investigación en Acuicultura, México, pp. 125–139.
- Dabrowski, K., Bardega, R., 1984. Mouth size predicted food size preferences of larvae of three cyprinid fish species. *Aquaculture* 40, 41–46.
- Dou, S., Masuda, R., Tanaka, M., Tsukamoto, K., 2002. Feeding resumption, morphological changes and mortality during starvation in Japanese flounder larvae. *Journal of Fish Biology* 60, 1363–1380.
- Figueroa-Lucero, G., Hernández-Rubio, M.C., Rios, B.G., Sevilla, H.M.L., 1999. Biensayos de alimentación en alevines de *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Pisces: Atherinidae), bajo condiciones de laboratorio. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* 45, 17–23.
- Figueroa-Lucero, G., Paulo-Maya, J., Hernández-Rubio, M.C., 2003. Retrospectiva y avances en el conocimiento de la biología y ecología de los charales y peces blancos del género *Chirostoma* (Atheriniformes: Atherinopsidae) en la ENCB-IPN. Historia y avances del cultivo de pescado blanco. Instituto Nacional de la Pesca, Dirección General de Investigación en Acuicultura. México, pp. 29–48.
- Figueroa-Lucero, G., Meza, G.O., Hernández, R.M.C., Barriga S. I. de los A., Rodríguez, C.A., Arredondo, F.J.L., 2004a. Growth, survival and mandible development in the larvae of the shortfin silverside *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Atheriniformes: Atherinopsidae) under laboratory conditions. *Aquaculture* 242, 689–696.
- Figueroa-Lucero, G., Hernández, R.M.C., Meza, G.O.R., Arredondo, F.J.L., Castro, B.T., Barriga S., I. de los A., Rodríguez, C.A., 2004b. Effect of food type on growth and survival of *Chirostoma riojai* Solórzano y López, 1965 (Atheriniformes: Atherinopsidae) during early development. *Journal of Biological Research* 2, 93–99.
- Fuiman, L.A., 1994. The interplay of ontogeny and scaling in the interactions of fish larvae and their predators. *Journal of Fish Biology* 45 (Supplement A), 55–79.
- Gubrich, J.R., 2001. Prey capture in Actinopterygian fishes: a review of suction feeding motor patterns with new evidence from an Elomorph fish, *Megalops atlanticus*. *American Zoology* 41, 1258–1265.
- Hamlin, H.J., Hunt von Herbing, I., Kilng, L.J., 2000. Histological and morphological evaluations of the digestive tract and associated organs of haddock throughout post-hatching ontogeny. *Journal of Fish Biology* 57, 716–732.
- Hunt von Herbing, I., 2001. Development of feeding structures in larval fish with different life histories: Winter flounder and Atlantic cod. *Journal of Fish Biology* 59, 767–782.
- Juanes, F., 1994. What determines prey size selectivity in piscivorous fishes? In: Stouder, D.J., Fresh, K.L., Feller, R.J. (Eds.), *Theory and Application in Fish Feeding Ecology*, vol. 18. The Belle W. Baruch Library in Marine Science, University of South Carolina Press, pp. 79–100.
- Kamler, E., 1992. Early life history of fish. An Energetics Approach. Chapman & Hall, London. 267 pp.
- Lima-Junior, S.E., Gostein, R., 2003. Ontogenetic diet shifts of a Neotropical cat fish, *Pimelodus maculatus* (Siluriformes, Pimelodidae): an ecomorphological approach. *Environmental Biology of Fishes* 68, 73–79.
- Martínez Palacios, C.A., Tovar, E.B., Taylor, J.F., Duran, G.R., Ross, L.G., 2001. Effect of temperature on growth and survival of *Chirostoma estor estor*, Jordan 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass of larval and juvenile fishes. *Aquaculture* 209, 369–377.
- Morales Ventura, J., Nandini, S., Sarma, S.S.S., 2004. Functional responses during the early larval stages of the charal fish *Chirostoma riojai* (Pisces: Atherinidae) fed rotifers and cladocerans. *Journal of Applied Ichthyology* 20, 417–421.
- Official Mexican Standard NOM-059-Ecol-2001. 2001. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana. Mayo, 61. Mexico.
- Osse, J.W.M., van der Boogaart, J.G.M., van Snik, G.M.J., van der Sluys, L., 1997. Priorities during early growth of fish larvae. *Aquaculture* 155, 249–258.
- Paulo-Maya, J., Figueroa, L.G., Soria, B.M., 2000. Peces dulccacuicolas mexicanos XIX *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniformes: Atherinopsidae). *Zoología Informa*, vol. 3. ENCB, IPN, México, pp. 59–74.
- Pedersen, B.H., 1997. The cost of growth in young fish larvae, a review of new hypotheses. *Aquaculture* 155, 259–269.
- Reñones, O., Polunin, N.V.C., Goni, R., 2002. Size related dietary shifts of *Epinephelus marginatus* in a western Mediterranean littoral ecosystem: an isotope and stomach content analysis. *Journal of Fish Biology* 61, 122–137.
- Shirota, A., 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 36 (4), 353–368.
- Stefanson, S.O., Björnsson, B.Th., Sundell, K., Nyhammer, G., McCormick, S.D., 2003. Physiological characteristics of wild Atlantic salmon post-smolts during estuarine and coastal migration. *Journal of Fish Biology* 63, 942–955.
- Tucker Jr., J.W., 1998. *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publisher, Boston.
- Walford, J., Lim, T.M., Lam, T.J., 1991. Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of seabass (*Lates calcarifer*) larvae: do the larvae ingest and digest protein-membrane microcapsules? *Aquaculture* 92, 225–235.
- Watanabe, T., Kiron, V., 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124, 223–251.