



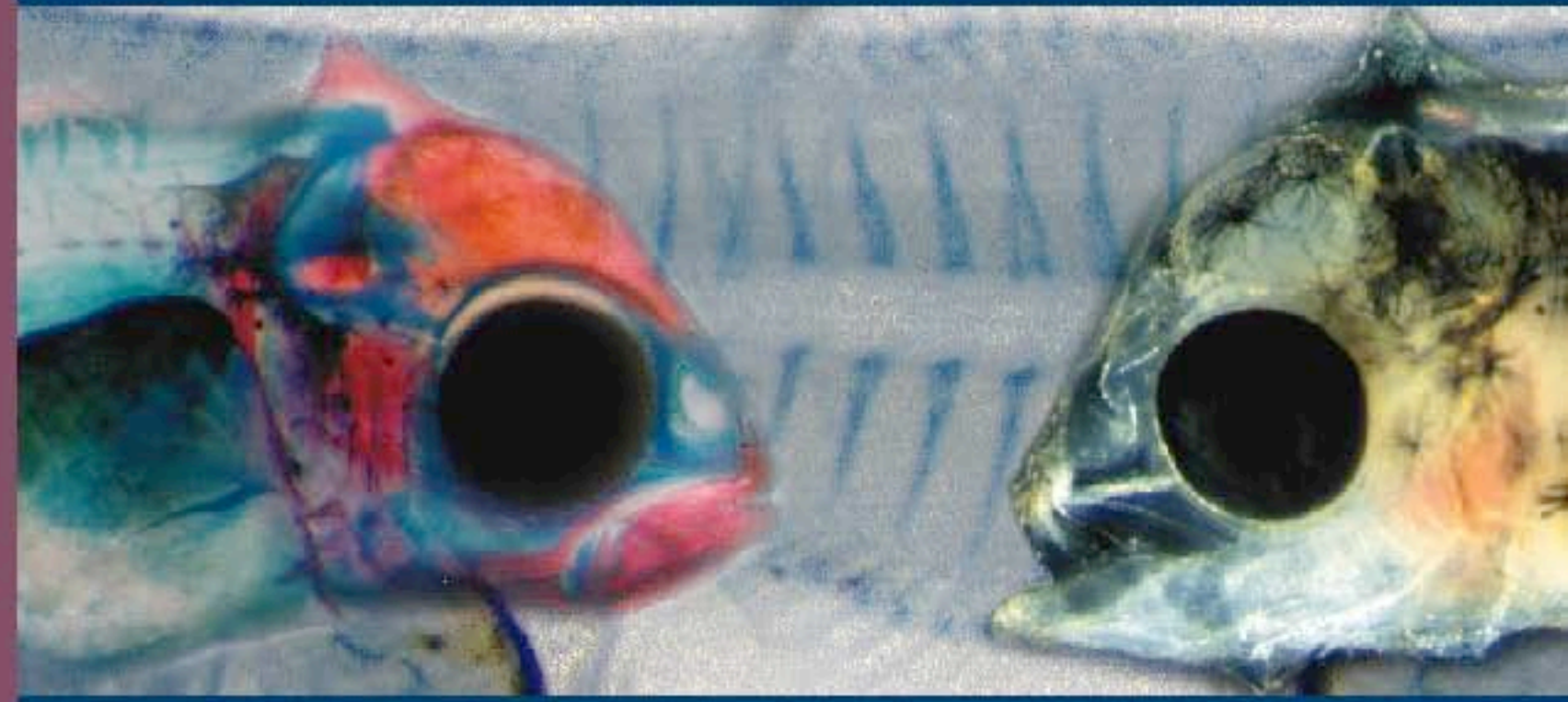
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Biología

Estudio comparado del desarrollo embrionario y larvario del
bocinegro (*Pagrus pagrus*) y de la sama de pluma (*Dentex gibbosus*)

Juan A. Socorro Cruz
Las Palmas de Gran Canaria - 2006

TESIS DOCTORAL

Estudio comparado del desarrollo embrionario y larvario del
bocinegro (*Pagrus pagrus*) y de la sama de pluma (*Dentex gibbosus*)



Juan A. Socorro Cruz

Las Palmas de Gran Canaria - 2006



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Biología





DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Anexo I

**D/D^a.Carmen Maria Hernández Cruz.....SECRETARIO/A DEL
DEPARTAMENTO DEBiología.....
DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,**

CERTIFICA,

Que el Consejo de Doctores del Departamento en su sesión de
fecha ..18/05/2006..... tomó el acuerdo de dar el
consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada “.....
Estudio comparado del desarrollo embrionario y larvario del bocinegro
(*Pagrus pagrus*) y de la sama de pluma (*Dentex gibbosus*).....”
presentada por el/la doctorando/a D/D^a..Juan Antonio Socorro Cruz ...
.. y dirigida por el/la Doctor/a...M^a Soledad Izquierdo López.....

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº
73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta
Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a
18...de.....Mayo.....de dos mil...seis.....

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Departamento: BIOLOGÍA

Programa de Doctorado: CULTIVO, BIOTECNOLOGÍA Y GESTIÓN DE
ORGANISMOS MARINOS

Título de la Tesis

ESTUDIO COMPARADO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVARIO
DEL BOCINEGRO (*Pagrus pagrus*) Y DE LA SAMA DE PLUMA (*Dentex
gibbosus*)

Tesis Doctoral presentada por D. JUAN ANTONIO SOCORRO CRUZ

Dirigida por la Dra. Dña. MARÍA SOLEDAD IZQUIERDO LÓPEZ

Dirigida por la Dra. Dña. MARÍA JOSÉ CABALLERO CANSINO

La Directora,

La Directora,

El Doctorando,

Las Palmas de Gran Canaria, a 15 de mayo de 2006

**UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**



TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO COMPARADO DEL DESARROLLO
EMBRIONARIO Y LARVARIO DEL BOCINEGRO (*Pagrus
pagrus*) Y DE LA SAMA DE PLUMA (*Dentex gibbosus*)**

Memoria que presenta el Licenciado Juan Antonio Socorro Cruz para la colación del Grado de Doctor en Ciencias del Mar en la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Las Palmas de Gran Canaria, mayo 2006

A Yoly, Nereida y Néstor.

Por el tiempo robado.

CASTILLOS EN EL AIRE

Alberto Cortez

"Quiso volar igual que las gaviotas,
libre en el aire, por el aire libre
y los demás dijeron, ""¡pobre idiota,
no sabe que volar es imposible!"".

*

Mas él extendió las alas hacia el cielo
y poco a poco, fue ganando altura
y los demás, quedaron en el suelo
guardando la cordura.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	VI
1.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.- PESCA Y ACUICULTURA.....	1
1.2.- LOS ESPÁRIDOS COMO RECURSO.....	5
1.3.- CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES A ESTUDIO.....	9
1.3.1.- BOCINEGRO	9
1.3.1.1.-Descripción.....	10
1.3.1.2.-Hábitat.....	10
1.3.1.3.- Distribución.....	11
1.3.1.4.- Perspectivas de cultivo.....	11
1.3.2.- SAMA DE PLUMA.....	13
1.3.2.1.- Descripción.....	13
1.3.2.2.- Hábitat.....	14
1.3.2.3.- Distribución.....	14
1.3.2.4.- Perspectivas de cultivo.....	14
1.4.- DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVARIO EN PECES.....	16
1.4.1.- DESARROLLO EMBRIONARIO EN PECES.....	18
1.4.2.- DESARROLLO LARVARIO EN PECES.....	22
1.4.2.1.- Morfología de la larva.....	22
1.4.2.2.- Osificación.....	24
1.4.2.3.- Morfometría.....	26
1.4.2.4.- Sistema digestivo.....	28
1.5.- OBJETIVOS.....	30

2.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	31
2.1.- CAPTURA Y MANTENIMIENTO DE LOS REPRODUCTORES.....	31
2.1.1.-BOCINEGRO.....	31
2.1.2.- SAMA DE PLUMA.....	35
 2.2.- OBTENCIÓN DE LAS PUESTAS, INCUBACIÓN DE LOS HUEVOS Y SEGUIMIENTO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO.....	37
 2.3.- CULTIVO LARVARIO.....	38
 2.4.- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	40
2.4.1.- OBSERVACIONES EN FRESCO.....	40
2.4.2.- COLORACIÓN DE CARTÍLAGOS Y HUESOS.....	40
2.4.3.- MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)....	42
 2.5.- ESTUDIO MORFOMÉTRICO.....	44
 2.6.- ESTUDIO HISTOLÓGICO.....	48
2.6.1 .- INCLUSIÓN EN PARAFINA, TINCIÓN Y MONTAJE.....	48
2.6.1.1.- Hematoxilina-eosina (H&E).....	50
2.6.1.2.- Ácido peryódico-reactivo de Schif –Hematoxilina (PAS-H).....	51
2.6.2.- INCLUSIÓN EN METACRILATO, TINCIÓN Y MONTAJE	52
2.6.3.- PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA CRIOSTATO.....	55
2.6.3.1.- Aceite rojo en propanodiol.....	55
2.6.3.2.- Bromo-acetona-negro Sudán	56
 2.7.- TRATAMIENTO DE DATOS Y SOPORTE INFORMÁTICO.....	58
 3.- DESARROLLO EMBRIONARIO.....	60

3.1.- ANTECEDENTES.....	60
3.2.- RESULTADOS.....	62
3.2.1.- BOCINEGRO.....	62
3.2.2.- SAMA DE PLUMA.....	68
3.3.- DISCUSIÓN.....	71
4.- ANATOMÍA Y MORFOMETRÍA DE LA LARVA.....	79
4.1.- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	79
4.1.1.- ANTECEDENTES.....	79
4.1.2.- RESULTADOS.....	82
4.1.2.1.- BOCINEGRO.....	82
4.1.2.2.- SAMA DE PLUMA.....	91
4.1.3.- DISCUSIÓN.....	99
4.2.- DESARROLLO OSTEOLÓGICO.....	103
4.2.1.- ANTECEDENTES.....	103
4.2.2.- RESULTADOS.....	105
4.2.2.1.- BOCINEGRO.....	105
4.2.2.1.1.- Región cefálica.....	105
4.2.2.1.2.- Vértebras.....	109
4.2.2.1.3.- Aletas.....	111
4.2.2.2.- SAMA DE PLUMA.....	114
4.2.2.2.1.- Región cefálica.....	114
4.2.2.2.2.- Vértebras.....	116
4.2.2.2.3.- Aletas.....	116
4.2.3.- DISCUSIÓN.....	118
4.3.- ESTUDIO MORFOMÉTRICO.....	122

4.3.1.- ANTECEDENTES.....	122
4.3.2.- RESULTADOS.....	124
4.3.2.1.- BOCINEGRO.....	124
4.3.2.2.- SAMA DE PLUMA.....	144
4.3.3.- DISCUSIÓN.....	161
 5.- DESARROLLO HISTOLÓGICO DEL SISTEMA DIGESTIVO Y VEJIGA NATATORIA.....	171
5.1.- ANTECEDENTES.....	171
 5.2.- RESULTADOS.....	173
5.2.1.- DESARROLLO HISTOLÓGICO DEL SISTEMA DIGESTIVO Y DE LA VEJIGA NATATORIA EN LARVAS DE BOCINEGRO.....	173
5.2.1.1.- Bucofaringe	176
5.2.1.2.- Esófago	177
5.2.1.3.- Digestivo anterior	178
5.2.1.4.- Digestivo medio	180
5.2.1.5.- Digestivo posterior	182
5.2.1.6.- Hígado.....	183
5.2.1.7.- Páncreas.....	184
5.2.1.8.- Vejiga natatoria.....	186
 5.2.2.- DESARROLLO HISTOLÓGICO DEL SISTEMA DIGESTIVO Y DE LA VEJIGA NATATORIA EN LARVAS DE SAMA DE PLUMA.....	188
5.2.2.1.-Bucofaringe y esófago.....	190
5.2.2.2.-Digestivo anterior	191
5.2.2.3.- Digestivo medio.....	192
5.2.2.4.- Digestivo posterior	195
5.2.2.5.- Hígado	196

5.2.2.6.- Páncreas	197
5.2.2.7.- Vejiga natatoria	198
5.3.- DISCUSIÓN.....	199
6.- CONCLUSIONES.....	212
7.- BIBLIOGRAFÍA.....	215
8.- LISTA DE TABLAS.....	245
9.- LISTA DE FIGURAS.....	246
10.- LISTA DE ABREVIATURAS.....	255

Bueno,.....pues nada, parece que si.....que ya hemos terminado. Y ahora tengo que poner en unas líneas las personas a las que tengo que agradecer su apoyo.....pues son tantas.....que creo que haría falta otra tesis, pero vamos a intentarlo.

Vamos a empezar por mi jefa, Marisol, jefa, amiga, compañera de aventuras, pesca, paseos, vacaciones, asaderos, juegos, familias.....la que siempre esta ahí. Aunque hayamos tenido que comprarle un turnomatic.....que tiempos.....nada Marisol, un beso muy fuerte y gracias por disfrutar juntos tantas cosas.

Detrás de una “madre” siempre hay un “padre”, en este caso será el DR. Fernández-Palacios, más conocido por Pipo....que por el me hice “fans” del Barcelona, solo pa putearlo. Tantas cosas compartidas, desde una actuación en directo del dúo dinámico.....el era Ramón...hasta algunas campañas en el Taliarte, y creo que algún asaderito.....gracias Pipo, sabes que todo esto no hubiese sido posible sin ti.

La otra madre del grupo es sin duda Carmelilla, que maravilla, de ella aprendí todo lo que se puede aprender del cultivo de larvas, y más. Siempre corre que corre, desde que la conocí cuando íbamos a sembrar, tres mil larvas por tanque, en 18 tanques, en un sótano ruinoso.....eso si que era afición.....gracias Carmela, aquí también esta tu huella.

Este párrafo está lleno de lágrimas, pero tienen que estar, si no, no seria justo, por fin terminamos la p.....tesis. Muchas larvitas contamos juntos y cada una de ella me invade de tu recuerdo. Un abrazo Valencia,.....que coño.....“pequeñito”.

Y si seguimos con la familia, ahora le tocaría al tío Jose Vergara, que con su siempre visión vanguardista, nos ha permitido a todos pasar muy buenos momentos. Desde Stirling hasta ahora, parece que hemos hecho algo, no Jose?

Gracias a Lidia, que no sabia si llamarte lilifoo, pero como esto es una cosa seria no lo pongo. Gracias coleguilla, por muchos buenos ratitos, a veces bajo el microscopio, y otros bajo la barbacoa....ambos han sido un placer.

Bueno Dani, que te voy a decir a ti, si casi no hablamos.....jejeje.....desde los famosos eritrocitos de peces, sin núcleo.....”paper” todavía por publicar....porque todavía recuerdo yo esa explicación de una premamá.....muchos, muchos buenos ratillos hemos pasado. Algunos mas estresados que otros, o mejor, viendo el stress de los peces...pero todos inolvidables. Gracias.

Un especial recuerdo a nuestras famosas “Jaimas” aquellas que montamos con Maria Salhi y Moisés González, sin duda, auténticos pioneros en el cultivo larvario en nuestro grupo, y sin los cuales este trabajo no se hubiese podido realizar. Una abrazo, y un beso....(el abrazo para Moisés).

Gracias también a Mapi, que todavía esta buscando las larvitas en los bloques de parafina.....te acuerdas Mapi....cuando te apuntaste a esto de la histología de larvas....A Lucia, que sin duda es la persona mas fuerte y valiente que conozco, con más energía que el

conejito de duracell...empezamos casi juntos, y seguimos en la vereda a trancas y barrancas. Por muchos más buenos ratitos. A Guille e Isabel, que junto con Lucia formamos aquel bienio de doctorado, ya en el siglo pasado, y a Martín que también puso su granito de arena en la técnica del cultivo larvario.

Un muy cálido agradecimiento a Javi Roo, que últimamente quizás sin darse cuenta ha sido mi gran aliado para continuar a tope viviendo este mundillo de la investigación. Por muchos mas pulpos juntos, cartílagos, larvas, deformidades o lo que venga...contigo a donde sea.

Gracias a mi compañera de microscopio, tinciones, observaciones, discusiones sobre lo que veíamos o no veíamos en el micro...o fuera de el, en el mundo real...bueno, a Maria José, por todas esas horas compartidas y por muchas, muchísimas más.

A Dominique, por esos buenos ratitos de campaña y risas en el microscopio....y por tener las manos limpias.....jejeje...gracias también a JuanMa., Rafa y M^a Jesús, tres fichajes que han traído consigo todas esas ganas de trabajar, hacer y divertirse con lo que se hace, bien sea en un muestreo, en una caminata o por supuesto en una buena juerga.....gracias por estar siempre dispuestos a colaborar y por todo ese pozo de sabiduría que tenéis.

Un especial agradecimiento a las técnicas mas guapas de cultivo, aunque solo sean ellas. A Ada, por ser tan especial que me ha cortado ponerlo en un papel, no cambies, a Mone, que traes contigo siempre esas ganas de vivir, de la cual nos aprovechamos los puretas, a Daniela, que con tu simpatía alegras cualquier trabajo en la nave. A Regina, por permitirme darte esas bromas y estar siempre dispuesta a colaborar y a Carmen que es un placer compartir contigo tantas cositas, aunque digas que siempre soy yo el que te las sacas.....ambos sabemos que no.

También quisiera agradecer su gran profesionalidad, colaboración y capacidad de trabajo a los muchachos de cultivo, a Manolo y a los niños del Mesocosmo, Rubén y Damián, gracias por tantas ayudas y buenos ratillos que hemos pasado, aunque para ello se hayan tenido que disfrazar de piba....

Muchas gracias a toda la familia de cultivo, a Jezabel, que siempre le toca algún papelito que hacer y sobretodo cuando mas apurada está, y por compartir esos ratitos tan especiales contándonos nuestras cosillas. A Gloria, Tatiana, Gercende, Eduardo, Eloisa, Rachid, Eyad, Valeria, Tibi, Amaia, Marcos, Pablo, Eneko, Juan, y muchos otros que seguramente no he nombrado, pero que están ahí , y día a día hacen posible que sigamos compartiendo tantos buenos momentos, y que una profesión sea un placer.

Un muy, muy especial agradecimiento a los compañeros de Pesquerías, en especial a Pepe Ignacio y Jose A. González, sin duda motores de todas las campañas realizadas para las capturas de los reproductores y sobre todo por esa gran calidad humana que ambos poseen, tan diferentes y a la vez tan iguales, sino porqué se aguantan.....? Por estar siempre dispuestos a colaborar, a divertirnos y a trabajar. Un enorme abrazo a los dos.

Quiero también agradecer al Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM, desde que era Centro de Tecnología Pesquera de Taliarte, por permitirme ser parte de esa gran familia.

Gracias a sus directores a través de estos años, Prudencio, Joaquín, Eladio, y en especial a Octavio Llinás....que ya no me volverá a preguntar “¿Para cuando?”.

Por otro lado agradecer al departamento de Biología de la Universidad de Las Palmas, y todos los profesores del mismo, por aceptarme en su doctorado, allá por el 90, y por innumerables colaboraciones a lo largo de estos años. A la Fundación Universitaria de Las Palmas y al Excmo. Cabildo Insular de Las Palmas de Gran Canaria, por otorgarme respectivas becas que permitieron la realización de parte de este trabajo.

Al buque “Taliarte” y toda su tripulación que me ha permitido disfrutar de las campañas y de las ciencias del Mar. En especial a Manolo por estar siempre dispuesto a ayudar y a Jonay, por esas charlas nocturnas, entre pejerrey, bocinegros y calamares.

También un recuerdo muy especial a Vicente, que todavía tengo la sensación de verte salir de tu despacho con esa risa única. A Víctor y Mercedes, por pasar todos tan buenos momentos tanto en las campañas, como en el laboratorio. Por estar siempre dispuestos a colaborar en cualquier cosa. Y como no, a todo ese nuevo grupo de “pesqueros” con tantas ganas y buen humor, que es un placer compartir con ellos cualquier pequeña escapada.

Muchas Gracias a todo el personal del ICCM. A Miguel Medina, por solventar tantos y tantos apuros siempre a contrarreloj y por supuesto por los buenos ratitos fuera del Centro. A Sergio, que ya no es tan gruñón como era antes, pero siempre nos saca del apuro, tanto en la nave como en el barco. Gracias igualmente a Juan Falcón y Salvador, por esas pequeñas cosillas, tan imprescindibles. A Calderín por su eficiente diligencia en cualquier tipo de trámite. Y como no, a Paula, siempre tan amable y eficaz para cualquier problemilla.

Muchas Gracias también a Alicia Ojeda, por esos ratitos compartidos bajo el microscopio. A Leopoldo y Chano, colaboradores siempre dispuestos ante cualquier necesidad. Y a los Antonios, por su ayuda ante cualquier problema con un ordenador o un bendito poster.

A Nieves, coordinadora del departamento de Medio Litoral, por su continua colaboración para cualquier problema a resolver, desde un scanner, un microscopio o una firmita, al igual que a todos los miembros de su grupo, muchas Gracias.

Gracias también a Maria José, Pepín, Antonio, Marimar, Javier y al Departamento de Química Oceanográfica en general, por compartir tantas charlas de los temas de la vida, entre horas de microscopio. A Yaiza, por nuestros ratitos de conversación y seguir tan encantadora como siempre.

Igualmente agradecer a todo el personal de Administración: Tere, Paco, Dunia, Saro, Jose Manuel, Mabel, Roberto, Elisa, etc. que hacen posible que las cosas funcionen. Gracias a Eulogia, Maria, Pino, Tere y Roque, que nos permiten tener siempre el Centro como los paños del oro. Y como no, a todo el personal de seguridad que ha velado por nuestro bienestar, en especial a Martín y Cristina, que con los años compartidos son casi como de la familia.

A todo el grupo de Anatomía patológica del Departamento de Morfología de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, que me permitieron iniciarme en el mundo de la

histología. A Toño, por apoyarme en todo momento a seguir adelante y respaldarme en muchos proyectos. A José Carlos, José Luís, Jorge y Antonio, de ellos aprendí a mirar en el microscopio y poder identificar que era lo que veía, muy buenos ratitos pasamos juntos en Zárate hace ya algunos añitos. A Pedro, sin duda la persona que me ha permitido resolver en cualquier momento toda duda sobre las técnicas de histología. Por estar siempre dispuesto a ayudarme, muchas gracias.

Un enorme agradecimiento a Elin kjorsvik, por permitirme compartir todo su conocimiento de la biología de las larvas y a Morten, con ellos pasamos muy buenos ratitos tanto en Trondheim, como en casa. A Trina, que facilitó muchísimo mi estancia en Noruega. A Gulia por permitir poner a punto toda la técnica osteológica.

A Paco y Chicha, miembros del Departamento de Microscopía Electrónica de la Universidad de las Palmas, que me han permitido ver lo invisible de las larvas.

Al personal de los Servicios de Microscopía Electrónica de Barrido de la Universidad de Trondheim (Noruega) y del Jardín Botánico Viera y Clavijo, que me han permitido admirar la grandeza de este mundo.

Gracias también a la familia del restaurante Casa Perico, que me han permitido comer casi como en casa mamá, por disfrutar de tantos “menús” juntos y aguantarme todas esas bromas siempre con buen humor.

Gracias a Rafa, Tomi, Marta, Juanjo, y todo el personal de las empresas del sector que siempre han estado dispuestos a colaborar por la causa....

Gracias a los compañeros de Oceanográfica, y en especial a Bruno, por su paciencia conmigo para dar un poquito más de color a este documento.

Ya dentro de mi otra vida, tengo que agradecer el continuo apoyo que he recibido por mis compañeros del ISM, en especial a los del Instituto Marítimo Pesquero, A Domingo y Wence, por hacer más fácil el día a día y el apoyo continuo a todo. A Natalia, Víctor, Elena, Noemí, Paco, Victote, Adolfo, Paco Toledo y Miguel por tantos desayunos comprimidos y esos buenos ratitos fuera del Centro. A Manolo de la Guardia, por ser tan especial cuando se te conoce, un abrazo. A mis compañeros de San Viernes, Miguel, Antonio, David, Jose, Paquillo. Y en general al resto de la tripulación, Enrique, Octavio, Juan Dámaso, Paco Luís, Carmelo Álamo y Miranda, los Víctor del Rosario, Martínón, Pedro y Jose Antonio. Un cariñoso agradecimiento a Andrés y Antonio, que me aguantan cada día siempre con buen humor y muchas ganas. Un agradecimiento muy especial a Anilla, por ser tan loca como es y tener esa calidad humana. Además de haberse tenido que leer este tocho buscando erratas. Gracias, rubia. (¿o sobra la coma?). A Mary, Carmen y Maricarmen por esos pequeños momentos en los pasillos.

Gracias a mis amigos de cada día, en especial a Consuelo, Juan, Mary, Pepe, Saro, Oscar, Luz, Melo y Macu. Por compartir tantos recuerdos inolvidables. Y en especial a Jose, por ser ese hermano con el que he compartido tantos buenos momentos. Gracias pibe...mucho ha llovido desde esos primeros escaneos de pagrus....

Gracias también y de un modo especialmente cariñoso a Ricardo, Mónica y Álvaro, por un lado por permitirme raptar algunos ratitos a mami, y por otro por ser parte de mi familia.

Un agradecimiento muy cariñoso a Gerardo, (por fin la termine viejillo) a Loli y toda “Villa Garcecitos” por su continuo apoyo y cariño durante esta media vida compartida.

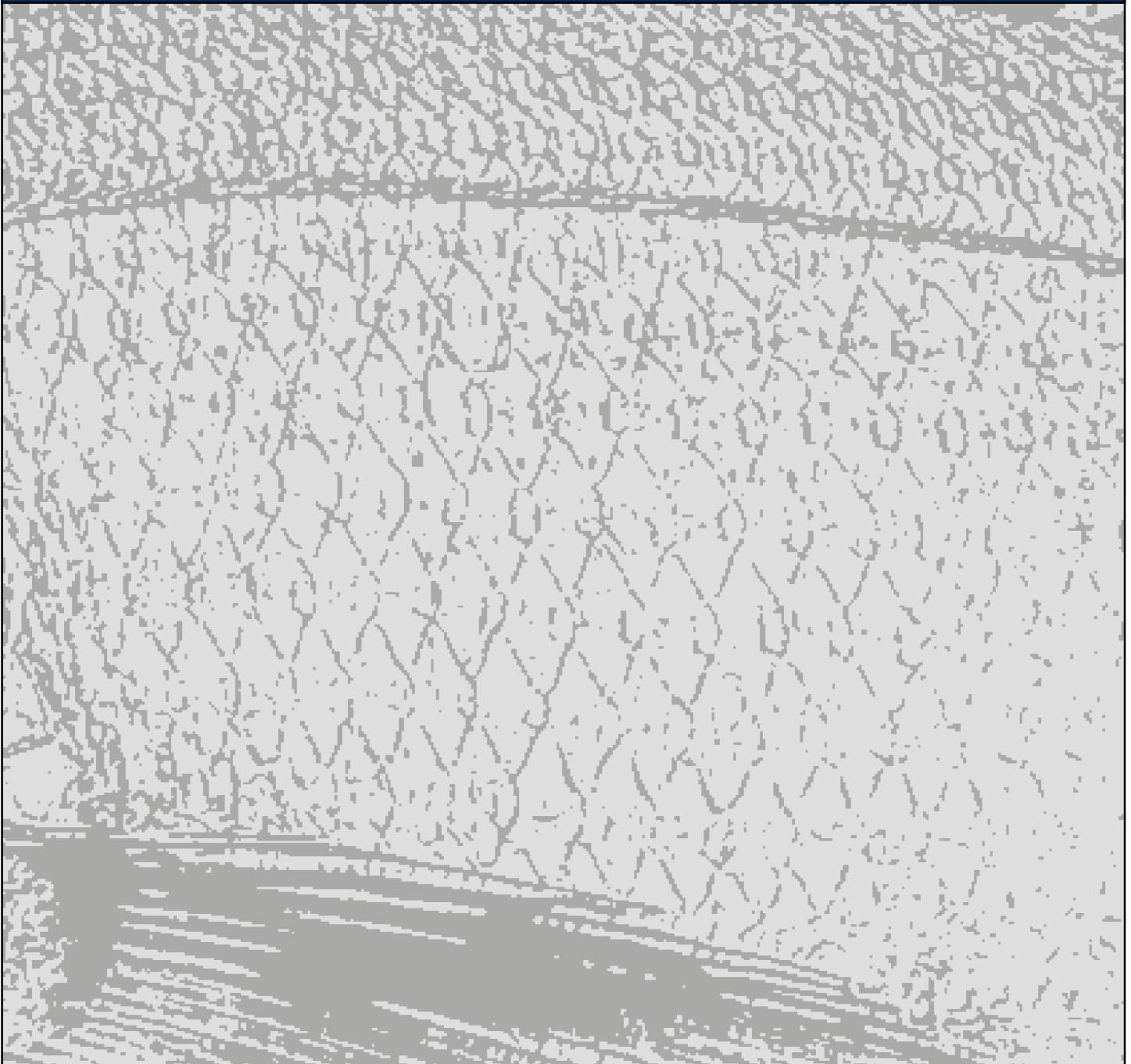
Sin duda este proyecto no se podía haber llevado a cabo sin las siguientes dos personas, Juan y Micaela, mis padres, que desde siempre me han dado su amor y apoyo INCONDICIONAL. Muchas gracias a los dos. También agradecer a mis “brothars”, Lupe y Yuri, por ser como son, es una suerte tener dos hermanas así. A Angelito y David, así como a Gabriel e Irene, mis sobrinitos, que con un fin de semana me he dado cuenta de que hay que ser padres prontito.

Y Por último y por ello para mí los más impórtates a Yolanda, Nereida y Néstor. A Yoly por ser esa persona tan especial que es, imposible de conocer y no querer, la mejor esposa que se puede aguantar (Si hay que aguantar a alguna claro.....) y soportarme durante tanto tiempo, Un beso muy grande. Y a mis retoños, Nereida y Néstor, porque se que les he robado mucho tiempo, pero que también el resto lo he disfrutado a tope, gracias niños por llenar mi vida.

Y probablemente “tú” que piensas “coño y yo no estoy” si lo estas leyendo seguro que si estás, aunque en este momento mi memoria, no yo, se está volviendo mayor....

Gracias a todos.

I.- Introducción



1. INTRODUCCIÓN

1.1.- PESCA Y ACUICULTURA

El crecimiento de la población lleva consigo la necesidad del incremento de la producción de alimento para cubrir sus necesidades. El pescado es uno de los principales alimentos, bien directamente o como subproducto y derivados. Para conseguir cubrir la demanda de productos del mar ha sido necesario por un lado incrementar el esfuerzo pesquero y conseguir un mayor número de capturas y por otro lado, buscar otras actividades complementarias a las pesquerías que cubran la demanda del mercado. Según datos de la FAO, se estima que en el año 2005 la demanda mundial de pescado por persona y año haya alcanzado los 20 kg.

El conseguir un mayor número de capturas se ha logrado a costa de incrementar el esfuerzo sobre los bancos pesqueros; para ello se han desarrollado modernas artes de pesca, barcos de mayor capacidad y autonomía, sistema de detección por satélite y otras nuevas tecnologías. Pero todo ello tiene un límite, puesto que para lograr la supervivencia de un sistema ecológico tan complejo como el marino, es necesario que la biomasa del mar se pueda recuperar como mínimo a la misma velocidad con que se captura, consiguiendo con ello una pesquería racional.

Las herramientas que tenemos para poder mantener un mar productivo incluyen desde la regulación de tallas de capturas y la implantación de vedas temporales y espaciales hasta la utilización de artes de pesca selectivos, sin olvidarnos de las alternativas complementarias a la pesca.

La pesca siempre ha sido el último recurso de empleo en poblaciones que no poseen una política eficaz de conservación y ordenación. Quizás esta mala gestión de los recursos pesqueros nos ha llevado al punto en el que se encuentran actualmente las pesquerías mundiales, en el cual aunque se incremente el esfuerzo, el rendimiento no mejora, llegando a la sobrepesca.

En la Fig. 1-1 se presenta la evolución de las capturas de peces marinos en los últimos años, observándose como éstas no han incrementado en esta última década. Desde finales de los 80, el incremento de las capturas por pesquerías ha llegado a las cotas máximas sostenibles, en las cuales un incremento irracional de esta actividad tendría graves consecuencias sobre determinadas especies del ecosistema marino.

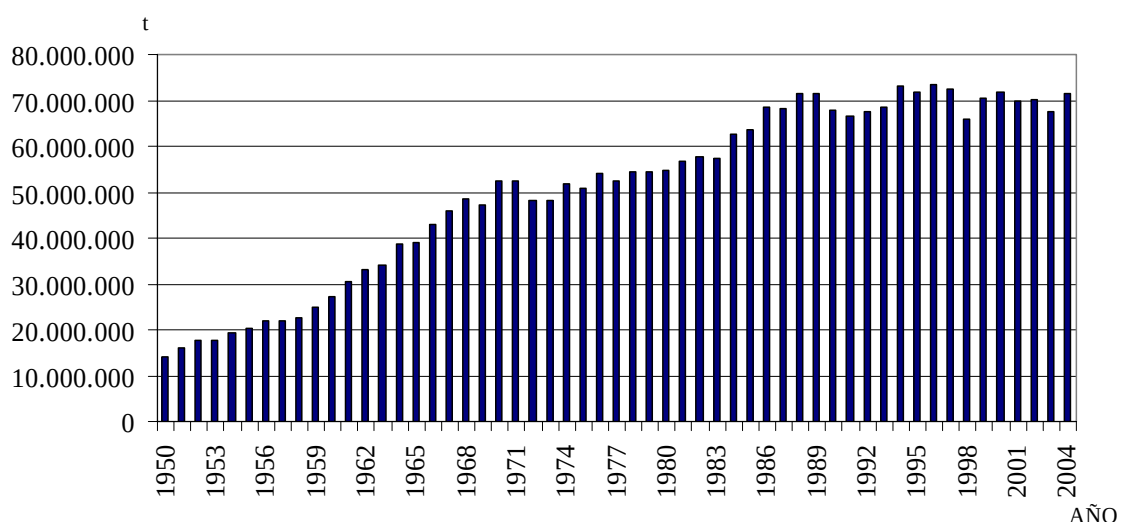


Fig. 1-1.- Evolución de las capturas de peces marinos (FAO, 2006).

La acuicultura tiene unas profundas raíces, teniéndose constancia de su aplicación cerca de 1500 años antes de Cristo. La principal técnica consistía en capturar ejemplares jóvenes y mantenerlos vivos hasta alcanzar una talla adulta. Fue en la edad media cuando se realizaron los primeros cultivos integrales en peces, marcando los objetivos que hoy seguimos intentando alcanzar. La evolución de esta actividad ha llevado consigo la mejora de las técnicas empleadas en acuicultura, consiguiendo logros en todos los campos relacionados con el cultivo: reproducción, técnicas, ingeniería, nutrición, patología, genética, etc.

Actualmente los objetivos principales de la acuicultura animal son 1) Optimizar el cultivo en las especies que actualmente se están comercializando 2) Desarrollar las técnicas de cultivo de nuevas especies que diversifiquen la oferta del mercado.

La acuicultura ha ido evolucionando principalmente con especies continentales, la aplicación de estas técnicas a las especies nuevas ha permitido un explosivo incremento de

la acuicultura marina. Como se puede observar en la Fig. 1-2 la acuicultura presenta un aumento continuo en producción mundial, con valores significativos a partir de los años 60.

La importancia de esta producción se observa mejor si la comparamos en porcentajes frente a la pesquera (Fig. 1-3). Así se puede observar como la producción en acuicultura marina representa una parte importante del total de producción. En 1990, de los 103 millones de toneladas métricas (t) de producción mundial, 88 millones de t tenían origen marino, y de éstas últimas 8,15 millones de t fueron producidas por la acuicultura. Esta cifra, que en 1990 correspondía al 9% de la producción marina total, en el año 2004 casi se ha triplicado, llegando a alcanzar la acuicultura el 25% de la producción marina mundial.

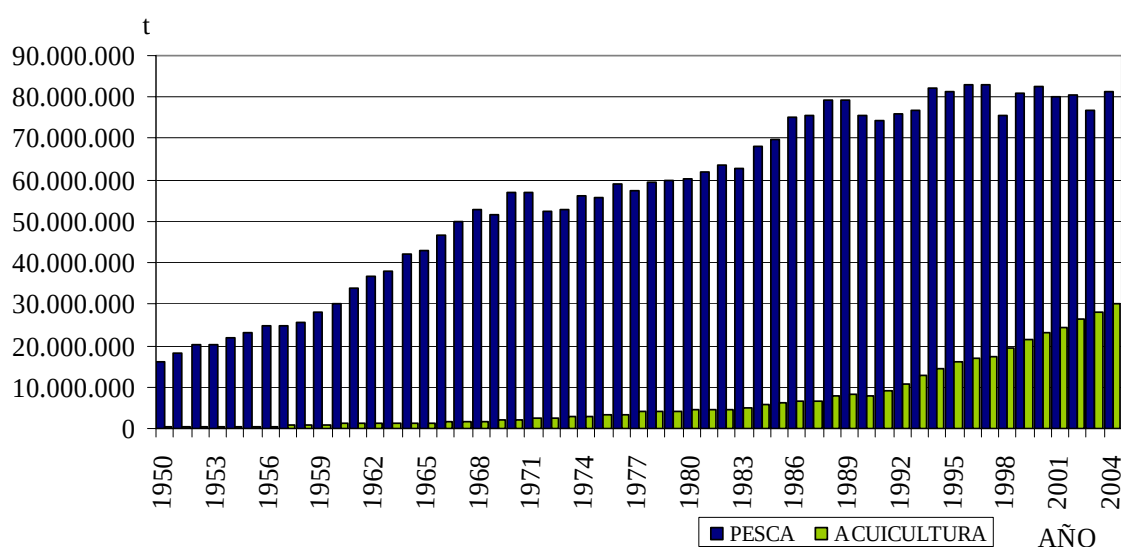
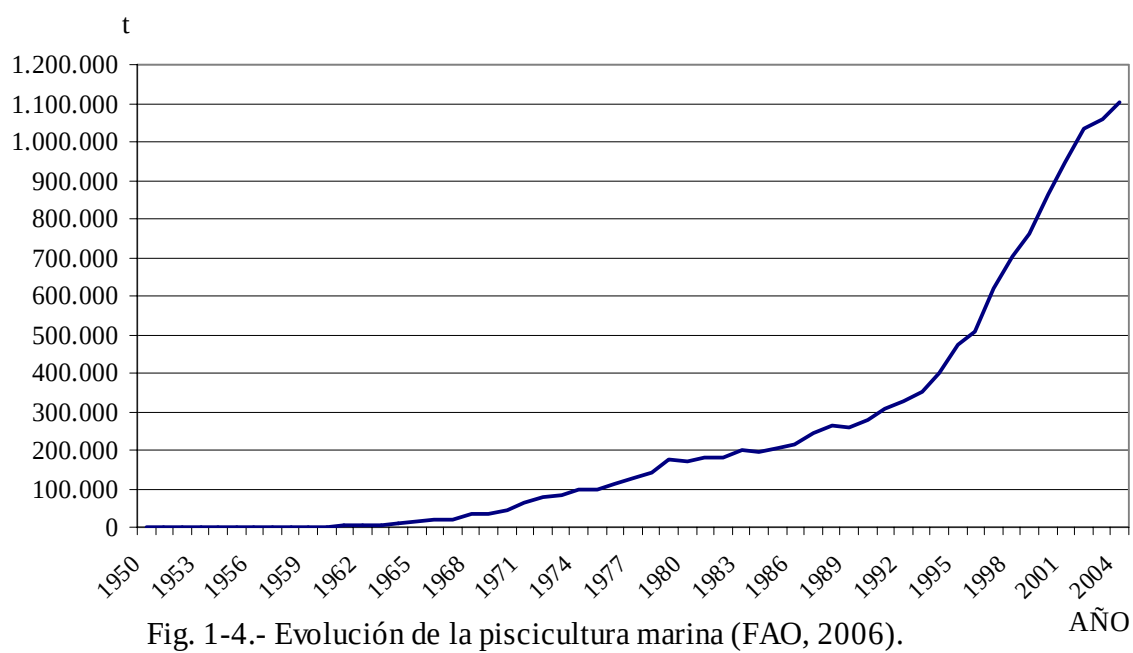
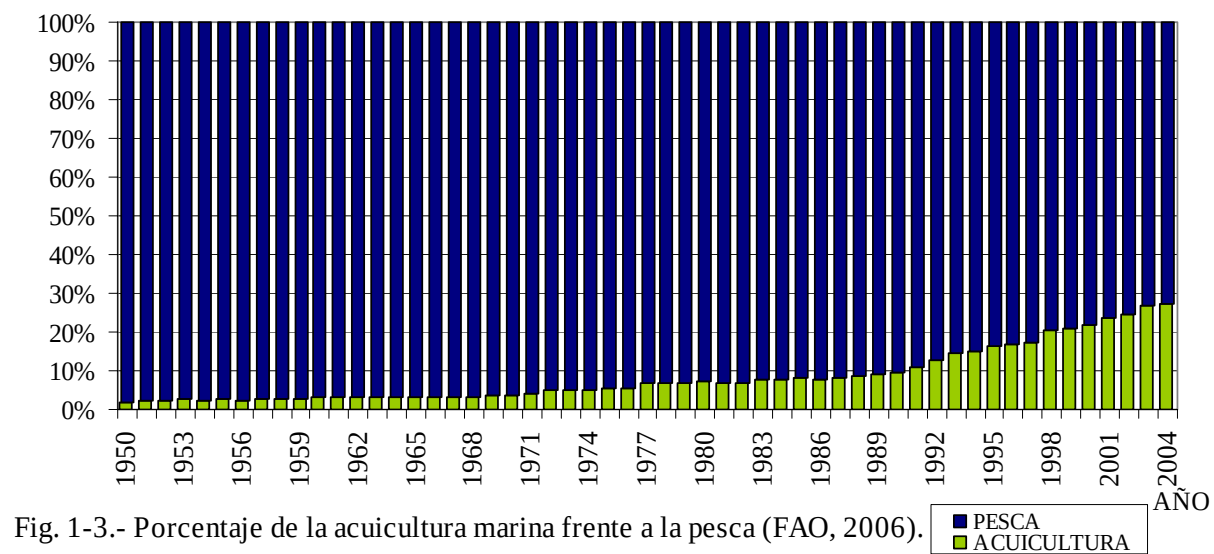


Fig. 1-2.- Evolución de la acuicultura marina frente a la pesca (FAO, 2006).

Dentro de la piscicultura la producción continental es mayor que la marina, aunque si comparamos los rendimientos económicos, el precio en mercado de los productos marinos es muy superior al de los continentales. Si observamos la Fig. 1-4, la producción de la piscicultura marina en los últimos doce años casi se ha cuadruplicado, logrando obtener 1.103.000 toneladas en el 2004. Este importante incremento ha sido posible gracias a la mejora de las técnicas de cultivo de las especies marinas.



1.2.- LOS ESPÁRIDOS COMO RECURSO

Los espáridos son una parte importante de las capturas mundiales de peces, con cifras en los últimos años superiores a las 300.000 t; aunque sus capturas descendieron progresivamente en la década de los ochenta (Fig. 1-5), en la actualidad han recuperado el rango de sus máximas capturas históricas. Esta familia con más de 30 géneros posee una amplia distribución, pescándose y comercializándose en todos los continentes.

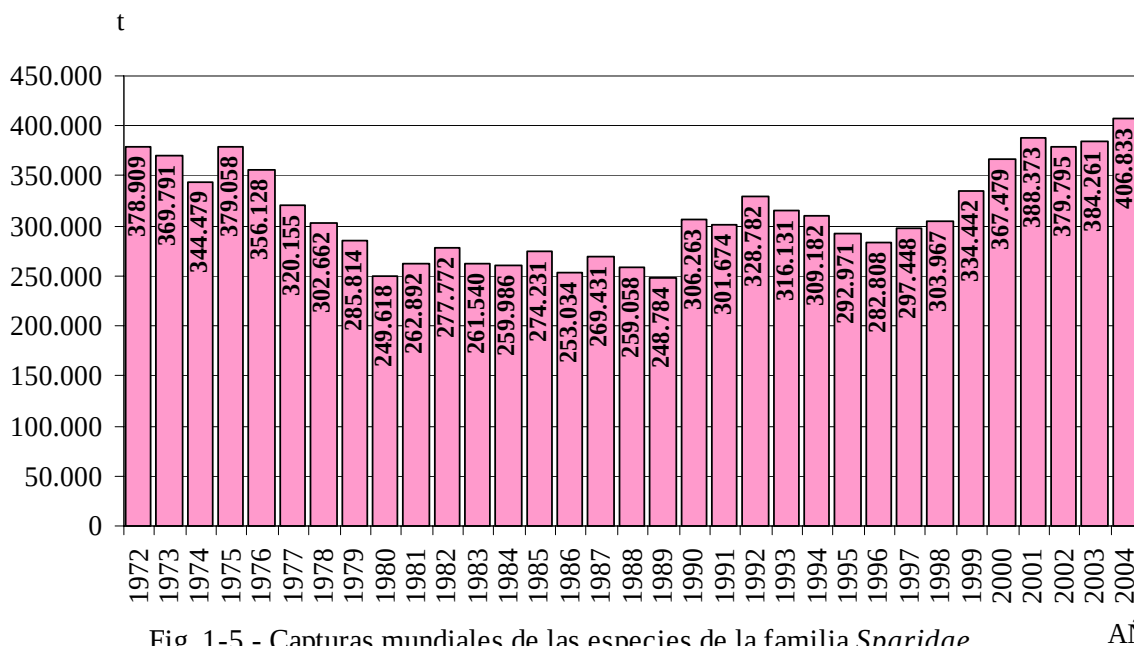


Fig. 1-5.- Capturas mundiales de las especies de la familia *Sparidae* (FAO, 2006).

Los espáridos juegan un papel importante en la producción mundial de la acuicultura marina, representando junto con los serránidos un elevado porcentaje de la producción acuícola de peces marinos (New, 1991). Los cultivos de especies más extendidos son los del pargo japonés, *Pagrus major* * en Extremo Oriente con más de 80.000 t en el año 2000, y la dorada europea (*Sparus aurata*) en el Mediterráneo, con 74.000 t en 2004 (Ver Fig. 1-6) y mas de 96.000 t, en Europa en 2005 (datos provisionales, FEAP, 2006). En España, la principal producción de piscicultura marina en 2004 fue de dorada, la cual se aproximó a las 14.000 t, siendo el segundo productor de Europa de esta especie, después de Grecia (Fig. 1-7).

* La nomenclatura utilizada para las especies es la empleada comúnmente en acuicultura, y no la estrictamente taxonómica.

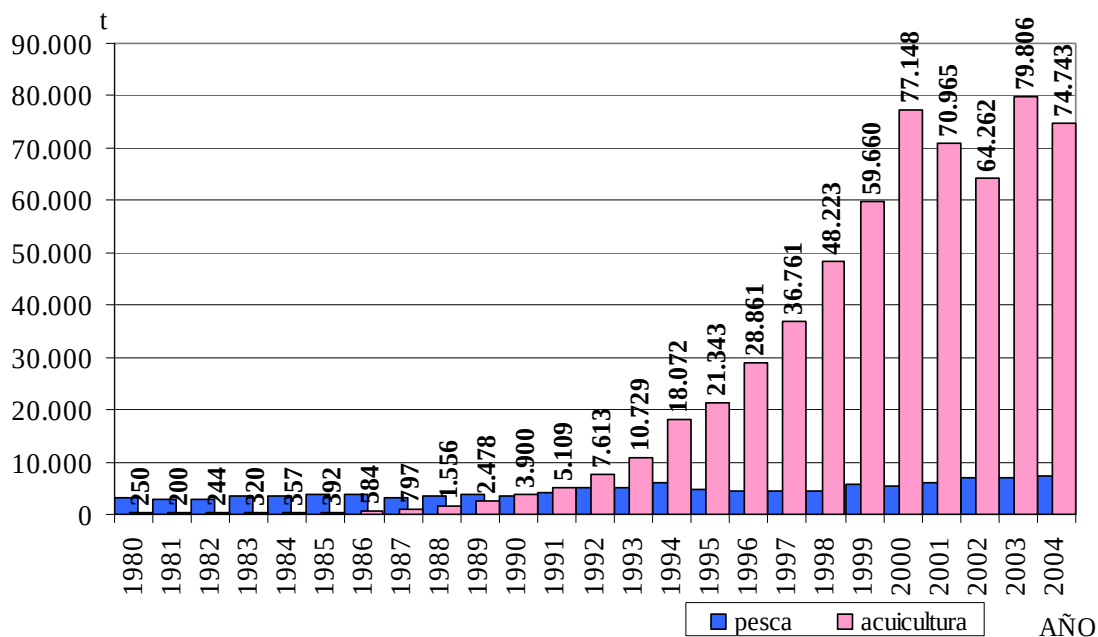


Fig. 1-6.- Pesca y acuicultura de dorada en la región mediterránea (FAO, 2006).

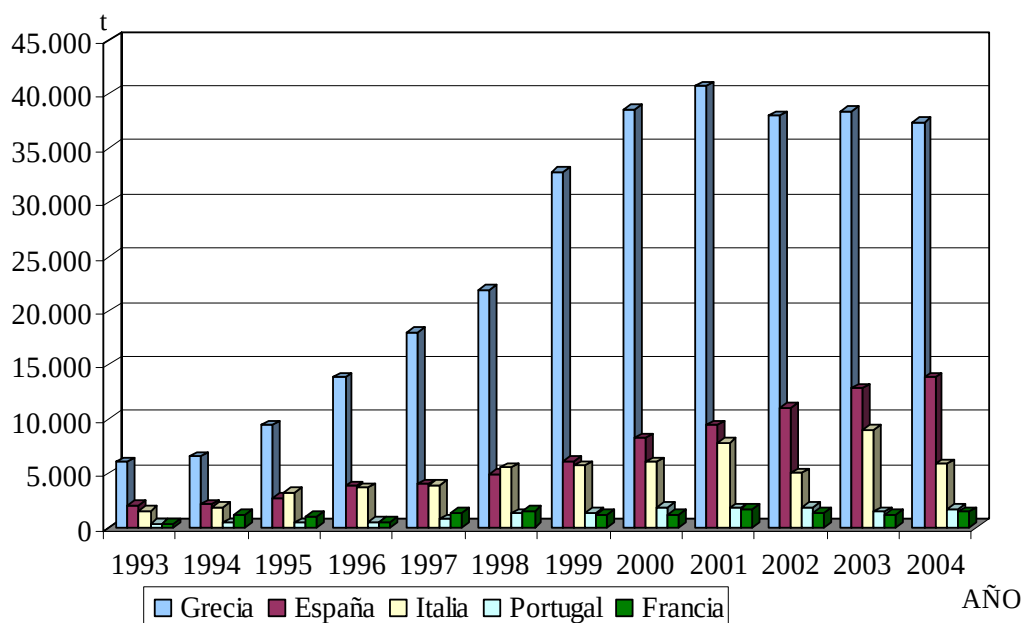


Fig. 1-7.- Producción de dorada en Europa (FAO, 2006).

En Canarias, los espáridos son parte importante de las capturas realizadas por los pescadores artesanales, principalmente con nasas, liñas y palangres. Entre ellos cabe destacar bocinegro (*Pagrus pagrus*), breca (*Pagellus erythrinus*), sargos (*Diplodus spp.*),

chopa (*Spondyllosoma cantharus*), sama de pluma (*Dentex gibbosus*) y boga (*Boops boops*) (González y Lozano, 1996).

En el análisis de la ictiofauna de las Islas Canarias, Brito *et al.* (1996) localizaron 23 especies de la familia *Sparidae*, las cuales tienen una alta presencia en las costas saharianas, ibero-marroquíes y mauritanas.

Entre 1980 y 1990, el 68% de las capturas de peces demersales desembarcados en el puerto de Mogán (Gran Canaria) pertenecían a la familia de los espáridos, y de estos el 29% fueron sama de pluma (*Dentex gibbosus*) y bocinegro (*Pagrus pagrus*) (Carrillo *et al.*, 1996).

Aunque solo dos espáridos, dorada y pargo japonés, tienen una importante producción en la acuicultura, en los últimos años se están desarrollando cultivo de otros espáridos como sargo sobaito (*Sparidentex hasta*) (Hussain *et al.*, 1981), dentón nufar (*Cheimerus nufar*) (Garratt *et al.*, 1989), dentón (*Dentex dentex*) (Glamuzina *et al.*, 1989; Pastor *et al.*, 1995), sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) (Faranda *et al.*, 1985, Tucker, 1987), herrera (*Lithognathus mormyrus*) (Divanach y Kentouri, 1983a), bocinegro (*Pagrus pagrus*) (Hernández-Cruz *et al.*, 1990b), sama de pluma (*Dentex dentex*) (Fernández-Palacios *et al.*, 1994), sama roquera (*Pagrus auriga*) (Padilla *et al.*, 2005) que permitirán diversificar la producción acuícola de esta familia.

En Canarias, en el 2006 existen 33 empresas dedicadas a la acuicultura marina, agrupadas en dos comercializadoras, DYLCAN y ACUIMARCA. Las dos especies que están siendo explotadas comercialmente, son la lubina (*Dicentrarchus labrax*), un serránido con una producción importante en los últimos años en España; y la dorada, que lidera la producción nacional dentro de los peces marinos. El crecimiento que ha experimentado la acuicultura en Canarias puede resumirse en el paso de 500 t en 1997, entre dorada y lubina, a 3420 t de dorada y 1600 t de lubina en el 2005, siendo en este año la tercera comunidad española en producción de dorada, detrás de la Andaluza y la Valenciana y la segunda en producción de lubina, detrás de la Andaluza (JACUMAR, 2006).

En España se está potenciando el cultivo de nuevas especies, dentro de las líneas prioritarias de investigación en acuicultura. Entre estas nuevas especies, en 1996 llegó a producirse la primera tonelada de otro espárido con una prometedora perspectiva para la acuicultura, el dentón (*Dentex dentex*), especie del mismo género que la sama de pluma (*Dentex gibbosus*), una de las especies objetivo de la presente tesis. En el 2004, se obtuvieron las primeras 48 t del besugo de la mancha o voraz (*Pagellus bogaraveo*) (JACUMAR, 2006), especie al igual que la sama de pluma y el bocinegro presenta un alto valor en el mercado y una buena adaptación al cultivo.

1.3.- CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES A ESTUDIO

El presente trabajo tiene como protagonistas principales dos espáridos, el primero de ellos, el bocinegro (*Pagrus pagrus*) tiene algunos antecedentes en acuicultura, por el contrario de la sama de pluma (*Dentex gibbosus*), donde es la primera vez que se logra su reproducción en cautividad, y se describe su desarrollo embrionario y larvario.

1.3.1.- BOCINEGRO

Phyllum: *Chordata*

Superclase: *Gnathostomata*

Clase: *Osteichthyes*

Subclase: *Actinopterygii*

Infraclasse: *Teleostei*

Superorden: *Acanthopterygii*

Orden: *Percomorphi*

Suborden: *Percoidei*

Familia: *Sparidae*

Género: *Pagrus*

Especie: *pagrus*

El género *Pagrus* comprende las siguientes cinco especies: pargo sureño (*P. africanus*, Akazaki, 1962), urta o sama roquera (*P. auriga*, Valenciennes, 1843), *Pargo zapata* (*P. caeruleostictus*, Valenciennes, 1830), *pargo japos* (*P. major*, Temminck y Schlegel, 1843) y bocinegro o pargo (*P. pagrus*, Linnaeu, 1758).

Podemos encontrar en la literatura diversas sinonímias de *P. pagrus*: *Aurata orphus* (Linnaeus, 1758), *Sparus orphus* (Linnaeus, 1758), *Sparus pagrus* (Linnaeus, 1758), *Sparus argenteus* (Schneider, 1801), *Pagrus vulgaris* (Valenciennes, 1830), *Pagrus orphus* (Valenciennes, 1837), *Pagrus sedecim* (Ginsbury, 1952), *Sparus pagrus pagrus* (Bauchot et al., 1981) (Manooch y Hassler, 1978; Hernández et al., 1990b; González, 1997).

1.3.1.1.-Descripción

El bocinegro tiene un color rosado, con pequeñas manchas azules que resaltan sobre él. Dependiendo del estado de estrés en que se encuentre el pez, podemos apreciar franjas blancas transversales a lo largo de todo su cuerpo. Su cuerpo es oval, la altura representa una tercera parte con respecto a su longitud estándar, con un frontal poco pronunciado y convexo. La boca y los ojos tienen un tamaño mediano. Posee en la frente, entre ojo y ojo, una franja azulada. La aleta caudal del bocinegro finaliza en sus extremos con coloración blanca, lo cual nos permite una fácil diferenciación con otros espáridos con características generales similares (Manooch y Hassler, 1978; Bauchot y Hureau, 1986).

Los tres primeros radios de su aleta dorsal crecen progresivamente, para luego disminuir su tamaño hasta la mitad de los radios restantes, pasando a continuación a una serie descendente de radios con los extremos blandos.

Posee dos hileras de dientes molariformes en los laterales y en la región frontal de ambas mandíbulas dientes agudos, los cuales se transforman en caninos mayores al aproximarnos a los molares. La fórmula de sus aletas es: D,XII-9/10; A, III,8-9; V, I-5; P, 15; C, 23/27. La talla media es de 35 cm de longitud estándar, mientras que la talla máxima puede llegar a los 75cm (Bauchot y Hureau, 1986; Manooch y Hassler, 1978).

El bocinegro es un voraz depredador que se alimenta de invertebrados, como cangrejos, camarones, cefalópodos, y pequeños peces.

El periodo de puesta oscila entre los meses de diciembre y enero en el Atlántico occidental (Ciechomski y Weiss, 1973), aunque en Canarias se puede prolongar hasta comienzo de primavera (Pajuelo y Lorenzo, 1996).

1.3.1.2.- Hábitat

Puede ser encontrado en una gran variedad de hábitats, aunque generalmente se encuentra en pedregales y fondos rocosos situados sobre los 60 m de profundidad, mientras que los jóvenes suelen encontrarse a menor profundidad. En general, puede hallarse entre los

18 y los 180 m de profundidad, teniéndose datos de capturas próximos a los 300 m (Manooch y Hassler, 1978).

1.3.1.3.- Distribución

Se encuentra en el Mar Mediterráneo y en el Adriático; en el Atlántico Este desde las Islas Británicas hasta el sur de Angola, incluyendo las Islas Canarias y Azores; en el Atlántico Oeste se puede localizar desde Nueva York, aunque solo esporádicamente, hasta el Sur de Argentina (Fig. 1-8) (Manooch & Hassler, 1978).

Las capturas de esta especie han disminuido en la región Atlántica, donde Argentina, principal país que lo comercializa, ha pasado de capturar 15.365 t en 1981 a 2300 t en 2004. Por otro lado las capturas en el Mediterráneo son mucho más reducidas, aunque varios países han mantenido una captura constante sobre esta especie, como se puede observar en la Fig. 1-9.

1.3.1.4.- Perspectivas de cultivo

El género *Pagrus* tiene un importante representante en la acuicultura marina: el pargo japonés o *Pagrus major*, el cual posee un alto interés acuícola en países asiáticos como China, Korea, Taiwan y Japón.

El bocinegro o pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) está comenzando a introducirse en la acuicultura, siendo Grecia el primer país en 1995 que ha conseguido una producción industrial, con las primeras 130 t producidas en cautividad de esta especie.

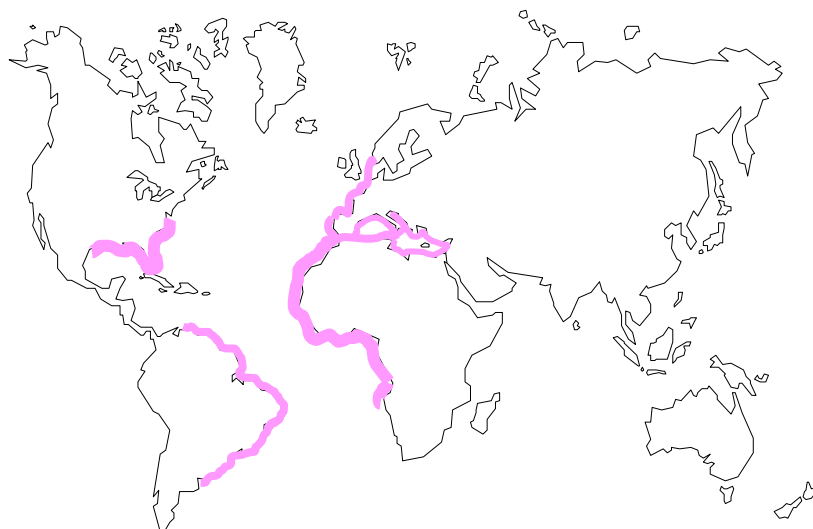


Fig. 1-8.- Distribución geográfica de bocinegro

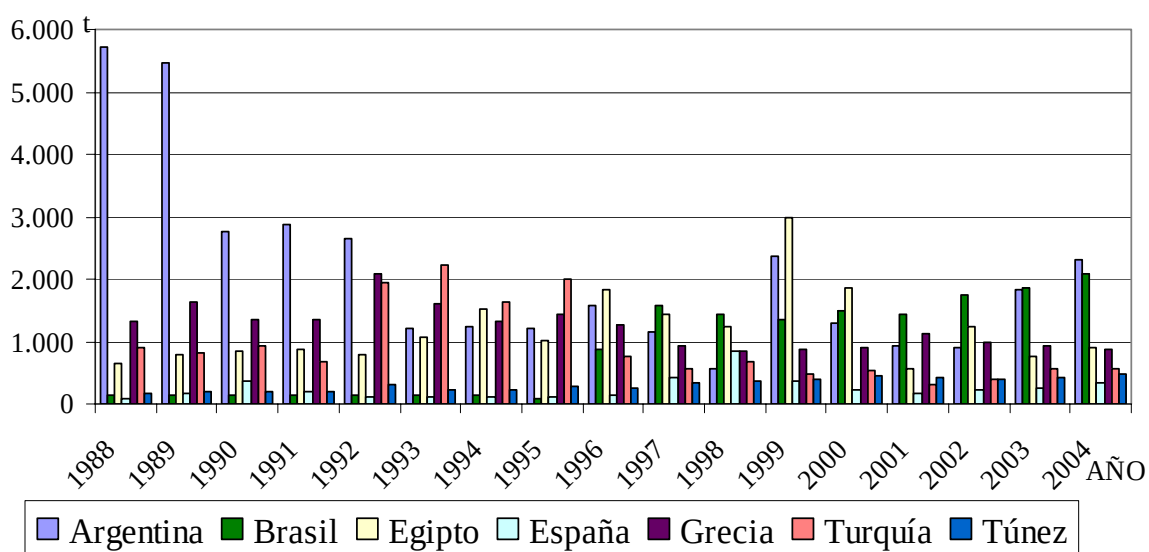


Fig. 1-9.- Evolución de las capturas de bocinegro en los principales países productores de esta especie (FAO, 2006).

1.3.2.- SAMA DE PLUMA

Phyllum: *Chordata*

Superclase: *Gnathostomata*

Clase: *Osteichthyes*

Subclase: *Actinopterygii*

Infraclase: *Teleostei*

Superorden: *Acanthopterygii*

Orden: *Percomorphi*

Suborden: *Percoidei*

Familia: *Sparidae*

Género: *Dentex*

Especie: *gibbosus*

La sama de pluma (*Dentex gibbosus*) fue clasificada por primera vez por Rafinesque en 1810. En 1836, Valenciennes la denominó como *Dentex filusus*, al confundir su estado juvenil con una nueva especie.

Dentro del mismo género *Dentex*, Cuvier, 1814, existen algunas especies de importante presencia en el área Atlántico-nororiental y el Mediterráneo: dentón angolés (*Dentex angolensis* Poll & Maul, 1953), chacarona (*D. canariensis*, Steindachner, 1881), dentón (*D. dentex*, Linnaeus, 1758), cachucho (*D. macrophthalmus*, Bloch, 1791) y sama marroquí (*D. maroccanus*, Valenciennes, 1830). Las samas, nombre por el cual se identifican en general las especies de este género, tienen un alto interés comercial y pesquero en las regiones mediterráneas (Abdelkader y Ktari, 1983) y Atlántico nor-oriental (Quintero *et al.*, 1991).

1.3.2.1.- Descripción

La sama de pluma se diferencia del resto las especies del mismo género por poseer los dos primeros radios de su aleta caudal muy cortos y un tercero muy largo en forma de fusta. En los ejemplares adultos, el cuarto y quinto radio alcanzan un tamaño próximo al del tercero. Su cuerpo tiene forma ovalada, aunque más alargado en los jóvenes. Tiene un color

rosado, más claro en los flancos, y un tono blanco en el vientre. Posee una cabeza grande, y en los machos adultos se desarrolla un abultamiento prominente. La boca es amplia y provista de dientes cónicos. La fórmula de sus aletas es D, XII-10; A, III-8; V, I-5; P, 14; C, 17. El tamaño medio de la sama de pluma es de 30 a 50 cm, pero puede llegar a los 100 cm y 13 kg de peso (Lotina y Hormaechea, 1986).

Es una especie carnívora que se alimenta principalmente de moluscos, crustáceos y pequeños peces.

El periodo de reproducción es en primavera en el Mediterráneo (Bauchot y Hureau, 1990) mientras que en Canarias la reproducción tiene lugar en los meses de junio y julio (Fernández-Palacios *et al.*, 1994; Pajuelo y Lorenzo, 1995). Es una especie hermafrodita proterándrica con un 50-70% de machos en tallas superiores a los 50 cm (Bauchot *et al.*, 1981; Bauchot y Hureau, 1990; Pajuelo y Lorenzo, 1995).

1.3.2.2.- Hábitat

Se encuentra en fondos rocosos y arenosos, entre los 50 y los 200 m de profundidad, aunque los jóvenes suelen encontrarse próximos a la costa. Su pesca se realiza con palangres, aparejo de línea y artes de arrastre (Lotina y Hormaechea, 1986).

1.3.2.3.- Distribución

Su distribución se extiende en el Atlántico desde Portugal hasta Angola, y en el área este mediterránea, Fig. 1-10. Sin embargo las capturas de esta especie no están referenciadas, si bien este género tiene una importancia relativa dentro del área africana próxima, siendo España el cuarto país en capturas en el 2004, detrás de Angola, Ghana y Senegal (Fig. 1-11).

1.3.2.4.- Perspectivas de cultivo

Aunque existen numerosos trabajos sobre la puesta de espáridos bajo condiciones de confinamiento (Hussain *et al.*, 1981; Camus y Koutsikopoulos, 1984; Fernández-Palacios *et*

al., 1990), y sobre el desarrollo embrionario y larvario (Ramos, 1978; Divanach *et al.*, 1982; Ezzat *et al.*, 1982; Divanach y Kentouri, 1983b; Jug-Dujakovic y Glamuzina, 1988) muy pocos se refieren a especies del género *Dentex* (Glamuzina *et al.*, 1989; Fernández-Palacios *et al.*, 1994; Pastor *et al.*, 1995; Saka *et al.*, 2004). Existiendo hasta el momento solo mantenimiento de reproductores y primeras experiencias de larvicultura a nivel experimental (Fernández-Palacios *et al.*, 1994).



Fig. 1-10. Distribución geográfica de sama de pluma.

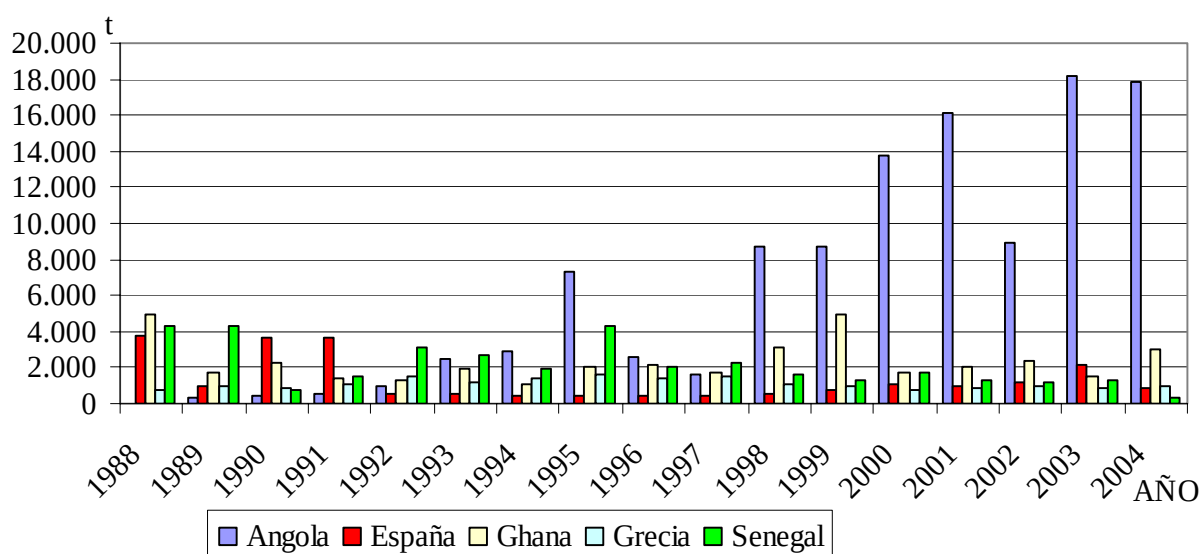


Fig. 1-11.- Evolución de las capturas de *Dentex* en los principales países productores de este género (FAO, 2006).

1.4.- DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVARIO EN PECES

Cualquier máquina funciona por medio de pequeñas piezas, las cuales son imprescindibles para un resultado óptimo. Igual ocurre con la acuicultura, no podemos decir que la patología es más necesaria que la reproducción, o la genética que la nutrición. Sin embargo, como en cualquier máquina las piezas dependen de la fábrica que las construya, y nos va a condicionar el resultado final de nuestro producto. Pues bien, la fábrica que hace funcionar la máquina de la acuicultura son las larvas.

El estudio de la anatomía, fisiología, etología etc. que nos permita conocer la vida de una larva nos va a permitir optimizar su producción. El concepto de acuicultura cambió en el momento en que se consiguió reproducir aquellas especies que anteriormente eran capturadas muy jóvenes, y mantenidas en cautividad hasta el momento de su consumo. El principal reto a la hora de trabajar con una nueva especie en acuicultura es el conseguir su cultivo integral, es decir, completar el ciclo de la vida de esa especie. El comienzo de este reto se inicia con la busca y captura de unos reproductores que en el mejor de los casos sobrevivan a su primera freza en cautividad, consiguiendo lo que se denomina una puesta espontánea. Una vez que se produzca la fecundación de los óvulos femeninos, el objetivo del estudio sería la formación del embrión. Esta etapa es fundamental en el desarrollo de la larva, ya que las condiciones en que se realice van a determinar "la calidad" de la larva en el momento de la eclosión. Por lo que, el conocer los distintos estadios y las características del desarrollo embrionario debe ser una labor inicial al comenzar a trabajar con una nueva especie.

El siguiente objetivo a tener en cuenta es el conocer las características de la larva con la cual vamos a trabajar. Estas características implican un conocimiento morfológico, morfométrico e histológico de la larva. El conocer los parámetros biológicos de la larva nos permitirá comparar con resultados obtenidos anteriormente e ir mejorando continuamente las condiciones de cultivo de las larvas. Si bien las condiciones de cultivo llevan una serie de parámetros fundamentales como son, luz, temperatura, densidad de cultivo, etc. Todos ellos van a estar representados en el momento de la alimentación de la larva, por ello el conocer la fisiología de la digestión, así como las características del sistema digestivo, nos dará una información trascendental para la mejora de las condiciones de cultivo.

En conclusión, podemos afirmar que toda la información que conozcamos de las larvas nos va a facilitar el conocimiento de su biología, y con ello el eficaz desarrollo de la técnica de cultivo idónea para una especie.

1.4.1- DESARROLLO EMBRIONARIO EN PECES

Dentro del oviducto, el huevo de los teleósteos posee una estructura suave y flexible, que se endurece una vez son liberados al medio acuoso (Blaxter, 1969; Davenport *et al.*, 1986). El endurecimiento del corion, está asociado con la activación y la fertilización del mismo (Davenport *et al.*, 1986).

La membrana del huevo y el fluido perivitelino constituyen estructuras de defensa durante el desarrollo del embrión (Laale, 1980). Por otro lado, la envuelta de los huevos de los teleósteos marinos, presenta características morfológicas propias de cada especie (Lonning, 1972; Lonning y Hagstram, 1975).

Los huevos de los espáridos se caracterizan por poseer una apariencia visual muy similar: son transparentes, presentan generalmente una única gota lipídica y un mejor aspecto aquellos que flotan que los que no (Hussain *et al.*, 1981; Fernández-Palacios, *et al.*, 1994).

Tras la fecundación del huevo, los alvéolos corticales se fusionan y dan lugar al espacio perivitelino, signo indiscutible de la fecundación (Lonning y Hagstram, 1975; Davenport *et al.*, 1986). Esta fertilización debe realizarse en condiciones idóneas de salinidad y temperatura. Así Kjorsvik (1990) demostró que en el caso del halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) la fertilización puede realizarse en un rango de salinidad bastante amplio (92% de fecundidad entre 34 y 37 ‰), aunque el porcentaje de esta disminuye considerablemente por fuera del rango óptimo. Así, por ejemplo a 20 ‰ la tasa de fecundación disminuye hasta el 25 %.

Tras la fertilización se produce el endurecimiento del corion, sin embargo la resistencia posterior que presenta el huevo va disminuyendo según avanza el estado embrionario. De esta forma la dureza que presenta un huevo próximo a la eclosión es tan solo el 2,5% de la que posee en estado de gastrulación (Kjorsvik, 1990). Sin embargo esta disminución en la resistencia del corion no conlleva necesariamente una mayor mortalidad del embrión tras un estrés mecánico, Holmerfjord y Bolla (1988), comprobaron que el

halibut presenta una mortalidad del 2% al ser sometido a un estrés mecánico tras cerrarse el blastoporo, mientras que en los estados iniciales del desarrollo embrionario, la mortalidad puede llegar hasta el 50 %.

El vitelo, está separado del citoplasma por la membrana vitelina, la apariencia del vitelo puede ser tanto homogénea, como poco compacta, con abundantes espacios intercalado (Lonning, 1972). En el caso de los teleósteos los huevos poseen gran cantidad de vitelo, y se denominan telolecitos, la segmentación durante la embriogenesis es meroblástica es decir, los blastómeros no llegan a separarse (Carlson, 1990). Durante la vitelogénesis de los peces podemos encontrarnos con tres tipos de inclusiones de reserva dentro del huevo. Estas reservas serán la fuente de energía durante todo el desarrollo embrionario. Para la dorada, como para la mayoría de los espáridos estudiados hasta el momento nos encontramos por un lado con las vesículas de vitelo, las cuales están formadas por mucosustancias neutras y acidas, por otro lado con los gránulos de vitelo, ricos principalmente en proteínas, y por último las vacuolas lipídicas, que almacenan fundamentalmente lípidos neutros (Sarasquete *et al.*, 1993b).

Aunque podamos establecer un patrón de desarrollo embrionario para los peces, como hemos visto las características morfológicas, del huevo, corion y vitelo, son específicas de cada especie, cuanto mas lo será la formación del embrión que tiene lugar dentro del mismo. Así Iwamatsu (1994) describió para el Medaka (*Oryzias latipes*) 39 estadios del desarrollo embrionario, comenzando con un estadio 0 ó huevos sin fertilizar y terminando con la eclosión de la larva, tras nueve días de desarrollo a 27°C. El autor estableció que esta especie sigue el patrón típico de los teleósteos, que podemos esquematizar en 8 etapas:

Etapas de fertilización: una vez que el espermatozoide llega a la superficie del huevo, y atraviesa el corion a través del micropilo, se produce una serie de reacciones en los alvéolos corticales, que originan el espacio perivitelino, cerrándose el micropilo inmediatamente y evitando la posible entrada de más espermatozoides. Se produce la asociación de los pronúcleos de macho y hembra, originándose el blastodisco en el polo animal.

Etapa de división celular o segmentación: se produce la división continua del blastodisco dando lugar a diferentes blastómeros, cada vez más numerosos y de menor tamaño, hasta alcanzar la forma de mora.

Etapa de mórula: se define a partir de la existencia de 64 blastómeros, que se van agrupando en 3 capas.

Etapa de blástula: en esta etapa el blastodermo comienza a recubrir la paredes del huevo.

Etapa de gástrula: en la que el blastodermo empieza a expandirse sobre la superficie de la esfera del huevo, llegando a recubrirlo casi en su totalidad, hasta que comienza a replegarse dejando una pequeña área abierta en el polo animal.

Estado de neurula: se diferencia un cerebro rudimentario así como las vesículas de Kupffer (hepatopáncreas primitivo), además de un sistema visual inicial.

Estado de formación de somitos: se cierra el blastoporo y se definen mejor la estructura del cerebro y las capsulas ópticas. A partir de este momento se produce la formación de los diferentes órganos, corazón, melanóforos, otolitos, etc.

Eclosión: el embrión realiza movimientos esporádicos cada vez más intensos, lo que permite liberar las enzimas necesarias para degradar el corión y salir al exterior.

La duración del desarrollo embrionario está ligada a la temperatura a la cual tiene lugar. En el caso de la herrera, *Lithognathus mormyrus*, Divanach y Kentouri (1983a) observaron que a una temperatura de 19 °C el desarrollo tenía lugar en 44 horas, mientras que a 27 °C la duración era de tan solo 20 horas, sin encontrar diferencias estructurales durante el desarrollo. Camus y Koutsikopoulos (1984) determinaron para la dorada 4 etapas que engloban los mismos estadios del desarrollo embrionario ya descritos, que en esta especie dura 40 horas, cuando la temperatura es de 21,5 °C, mientras que a una temperatura de 11 °C el proceso tiene lugar en 135 horas. En el caso de un serránido, como la cherna criolla, *Epinephelus striatus* la eclosión tiene lugar en 24 horas a 28°C (Powell y Turker,

1992). En la vieja, *Sparisoma cretense*, Fernández Palacios y Moreno (1980) determinaron que este proceso tiene lugar en 26 horas, y aunque no se detalló la temperatura, la fecundación tuvo lugar en verano, a una temperatura media del agua en Canarias superior a los 21°C.

1.4.2- DESARROLLO LARVARIO EN PECES

1.4.2.1.- Morfología de la larva

Los estudios de planctología en los cuales, tras realizar una recogida de material biológico mediante redes de plancton, se obtenían importantes muestras de larvas de peces, moluscos, crustáceos y cualquier otro grupo taxonómico que tuviese una fase larvaria planctónica, han permitido profundizar en el estudio de las características morfológicas de las larvas de peces. Estos estudios fueron inicialmente centrados en la identificación de las especies a las que pertenecían. Paralelamente se fueron observando características morfológicas que nos ayudaron a entender la fisiología de la especie en su fase larvaria, lo que nos ha permitido aprender como viven las especies de peces en sus estadios larvarios, sus migraciones, su alimentación, su respiración, etc. y además aplicar estos conocimientos en las técnicas de cultivo para cada especie.

Atendiendo a las características morfológicas, las larvas pueden tener distintas denominaciones. Podemos hablar de larvas lecitotróficas cuando todavía se alimentan del saco vitelino, y de larva predadora o de alimentación exógena, a partir de la formación de la boca. Atendiendo a la flexión de la notocorda y el desarrollo de su aleta caudal, podemos pasar por tres estadios: preflexión, flexión y postflexión. Esta terminología nos permite ubicar el estado de desarrollo en el cual se encuentra la larva con bastante exactitud. Sin embargo cada autor elige su propio criterio para definir la evolución del desarrollo de la larva. Santamaría *et al.* (2004) determinaron cuatro estados para las larvas del dentón (*Dentex dentex*), estado 1 donde la boca y el ano están todavía cerrados, estado 2 cuando la larva abre la boca, estado 3 se forman las espinas operculares y por último el estado 4 caracterizado por la flexión de la notocorda.

Beckley (1989) identificó las larvas de la chopa austral (*Spondyllosoma emarginatum*) recogidas en la red de plancton por las características comunes de las larvas de los espáridos: forma del cuerpo moderadamente alargada, digestivo corto y compacto, vejiga natatoria diminuta, pequeñas espinas preoperculares y por el número de miomeros, (24 en preflexión). Las larvas recogidas fueron distribuidas por edad según su patrón de pigmentación y estado del desarrollo de las aletas, lo cual ayudó a identificar la especie. Las

características morfológicas generales de las larvas de la familia *Sparidae* fueron comparadas por Leis *et al.* (2002), evaluando casi medio centenar de especies. En este estudio se consideró una característica generalizada a las larvas de esta familia, la presencia de espinas en opérculos y cabeza. Sin embargo de las especies analizadas tan solo el 25% de las larvas presentaban espinas en su cabeza, empleando este carácter morfológico para distinguir los distintos géneros de esta familia.

El género *Pagrus* ha sido ampliamente estudiado atendiendo a sus características morfológicas y osteológicas (Bianchi, 1984). Fukuhara (1987) describió posteriormente el desarrollo larvario del “black porgy”, *Acanthopagrus schlegeli*, sentando las primeras bases de su cultivo, y describiendo detalladamente las características de la flexión de la notocorda en la región caudal, escamación y pigmentación. La secuencia en la aparición de estos caracteres morfológicos esta relacionada con la temperatura del cultivo (Fukuhara, 1990). De esta forma en el dentón Arizcun *et al.* (2003) observan que la aparición de la boca, la reabsorción del saco vitelino, la pigmentación de los ojos y la aparición de las aletas pectorales, pueden retrasarse desde el segundo hasta el tercer día con ligeros cambios de temperatura.

La pigmentación de las larvas, es una característica determinante para su identificación y determinación del estadio de desarrollo. Esta característica se va transformando en un patrón que siguen todos los individuos de una misma especie durante su desarrollo larvario. Generalmente en las larvas preflexión de la chopo austral, nos encontramos con pequeñas áreas pigmentadas, las cuales se expanden tras la flexión de la notocorda a la región medio lateral (Beckley, 1989). Un patrón bastante común de pigmentación en las larvas de espáridos es la presencia de melanóforos asociados a su digestivo en todas las larvas preflexión (Beckley, 1989; Leis *et al.*, 2002; Powell y Greene, 2005).

1.4.2.2.- Osificación

Las características osteológicas, tanto nivel de osificación de huesos, como de formación de dientes y otolitos, permiten identificar y diferenciar especies de un mismo género, como el caso del *Pagrus* (Bianchi, 1984) siendo empleadas tanto a nivel taxonómico como de relaciones filogenéticas. Powell y Greene (2005) observaron innumerables características comunes entre las larvas de las 19 especies de la familia *Sparidae* que habitan la costa oeste del Atlántico, por ejemplo todas poseen 6 (I+5) radios en la aleta pélvica, 17(9+8) radios principales en la caudal y 24 (10+14) vértebras.

Moteki (2002) analizó la formación osteológica de la cavidad oral en los estadios iniciales de larvas del pargo japonés, determinando que este estudio permite un mejor entendimiento del mecanismo de alimentación así como de la capacidad de preda de las larvas. El desarrollo del sistema bucal de las larvas de bacalao (*Gadus morhua*), fue descrito por Kjorsvik *et al.* (1991) como paso inicial del estudio de su sistema digestivo, observándose desde el momento de la eclosión la existencia del cartílago de Meckel, del cuadrado y del hionmandibular entre otros huesos de la boca, aunque no se analizó su osificación. Estas estructuras sufren una elongación durante los cuatro primeros días que necesita la larva para formar su boca.

La formación y el desarrollo de las aletas van siempre asociados a la necesidad de movimiento de las larvas, en el momento de la eclosión solamente esta presente una gran aleta embrionaria que rodea toda la larva, apareciendo en los primeros días de vida la aleta pectoral, instrumento imprescindible para perseguir las presas en el momento de abrir la boca. Ya próximo al momento de la flexión se produce el desarrollo del resto de las aletas, iniciándose con el esbozo de la caudal y de la dorsal, continuando con las aletas ventral y anal, si bien esta secuencia puede sufrir pequeños matices asociados a cada especie.

El conocimiento del desarrollo osteológico normal de los peces puede permitir evaluar las técnicas de cultivos empleadas. Así en el caso del cultivo del dentón, pasar de un sistema de cultivo intensivo a otro semiextensivo, puede implicar reducir el porcentaje de deformidades en esta especie de un 25 a un 5%, aunque en el medio natural no se aprecian tales alteraciones (Koumoundouros *et al.*, 2001).

Las deformidades sufridas en la notocorda de los peces durante su cultivo son un auténtico problema en la producción de cualquier especie, originando pérdidas que superan el 5% de la producción total (Andrades *et al.*, 1996). El cuantificar y determinar los tipos de deformidades de la columna vertebral características en los peces, lordosis (deformidad dorsal), escoliosis (desviación lateral con convexidad lateral) o cifosis (curvatura de convexidad posterior), no es siempre fácil, originándose incluso deformidades híbridas entre estas, como el caso de la denominada LSK, en la cual se combinan estas tres últimas deformidades (Afonso *et al.*, 2000). Esta deformidad no está asociada a factores nutricionales, medioambientales o de manipulación, implicando una posible causa genética. Andrades *et al.* (1996) determinan que el 27% de las larvas de dorada en el momento de la eclosión muestran algún tipo de deformación que están asociadas al desarrollo de la notocorda durante la embriogénesis, observándose las larvas lordóticas a partir de las dos semanas de vida, lo que evidencia la necesidad de conocer el proceso de osificación en la larva en condiciones de cultivo.

1.4.2.3.- Morfometría

El análisis de las características morfológicas durante el desarrollo larvario debe ir acompañado de un seguimiento morfométrico, que nos permita cuantificar los cambios morfológicos ocurridos durante el desarrollo larvario, no solo con respecto a la edad de la larva, sino atendiendo a parámetros morfométricos, tomando como referencia la longitud de la larva. Esta valoración permitirá relacionar parámetros de muestras de las cuales se desconocen su edad, o bien cuantificar su estado de desarrollo en función de sus condiciones vida. Beckley (1989) describió el desarrollo larvario de la chopá austral, utilizando larvas recogidas del medio natural, que tras ser identificadas acorde a sus rasgos morfológicos, fueron medidas y analizadas morfométricamente.

Fukuhara y Fushimi (1981) sugieren que la transición de larva a alevín en peces marinos ocurre a una talla similar, independientemente de la procedencia de las larvas, bien del medio natural o bien de cultivo. Por otro lado Santamaría *et al.* (2004) mediante relaciones alométricas, midiendo la longitud total de la larva de dentón, determinaron que el mayor crecimiento absoluto de esta especie en su fase larvaria ocurre en la etapa de postflexión, en la aparecen muy pocas nuevas estructuras, empleando así todo el aporte nutricional en crecimiento.

El estado nutricional de las larvas, puede ser reflejado mediante parámetros morfométricos, Fukuhara (1987), describe la reducción de la longitud estándar de la larva del “black porgy” (*Acanthopagrus schlegeli*), cuando tras abrir la boca es sometida a tan solo dos días de inanición. También las condiciones de cultivo pueden establecer diferencias en parámetros como la longitud de las larvas, como ocurre en el bocinegro, donde un fotoperiodo de 24 horas de luz produce un incremento de supervivencia y de la longitud total de las larvas, frente a un fotoperiodo de 12 horas de luz (Bueno *et al.*, 2001), mientras que en el dentón ocurre lo contrario (Abellán *et al.*, 2000). En el dentón el sistema de mesocosmos da lugar a larvas de mayor longitud que aquellas cultivadas de modo intensivo (Giménez y Estévez, 2005). El estudio morfométrico durante el desarrollo larvario en el mero de manchas naranjas (*Epinephelus coioides*) es empleado por Hseu *et al.* (2003) para predecir el canibalismo, los autores utilizando parámetros como la longitud total, diámetro de la boca y altura del cuerpo concluyen que la clasificación de las larvas evitando

diferencias superiores al 30% en longitud total entre ellas, puede erradicar el canibalismo. El desarrollo del sistema visual en las larvas de bocinegro, fue analizado por Roo *et al.* (1999), correlacionando el desarrollo histológico de su sistema visual con parámetros morfométricos como diámetro del ojo, altura de la cabeza o longitud total.

1.4.2.4.- Sistema digestivo

La lenta progresión del cultivo intensivo de peces marinos se debe principalmente al pobre conocimiento que poseemos del desarrollo morfológico y funcional del sistema digestivo de las larvas (Kjorsvik *et al.*, 1991).

Dependiendo de la duración del desarrollo embrionario, las larvas de peces marinos presentan en el momento de la eclosión un estadio más o menos desarrollado, siendo el caso más generalizado el presentar la boca todavía sin formar, alimentarse del saco vitelino y poseer un digestivo sin diferenciar. Durante los primeros días de vida, la larva se va a alimentar a expensas de las reservas vitelinas y de la gota lipídica, lo cual le permitirá formar la boca y un sencillo digestivo. Este sistema digestivo se estructurará en varias zonas, dependiendo de las especies, y existiendo una relación directa entre su morfología y la especificidad de la fisiología en la digestión en cada zona. Cabe destacar que la formación de un estómago glandular no ocurre en las primeras semanas de desarrollo, por lo cual la larva durante la etapa inicial debe adaptar su fisiología para sacar el máximo partido a la absorción de los nutrientes suministrados por las presas. A partir de la alimentación exógena el digestivo en la zona anterior se caracteriza por realizar la absorción de lípidos (Iwai, 1968; Iwai y Tanaka, 1968, Govoni *et al.*, 1986; Kjorsvik *et al.*, 1991). La eficacia en la digestión, absorción, transporte y utilización de los lípidos de la dieta, pueden tener una importante implicación en el intercambio gaseoso, natación, metabolismo y formación de varios de los órganos y sistemas de la larva (Izquierdo *et al.*, 2000). Los lípidos son absorbidos por hidrólisis a ácidos grasos y monoglicéridos, y resintetizados tras pasar el epitelio (Kjorsvik *et al.*, 1991), mientras que en el tramo posterior se produce la absorción de material proteico por pinocitosis (Watanabe, 1982; 1984a, 1984b; Govoni *et al.*, 1986; Kjorsvik *et al.*, 1991).

Kjorsvik *et al.* (1991) diferenciaron tres zonas a continuación del esófago en el sistema digestivo de las larvas de bacalao, dicho trabajo fue realizado de acuerdo a características ultraestructurales: el digestivo anterior y el digestivo medio, ambos con la presencia de una membrana terminal, y partículas electrodensas en el citoplasma asociadas a la absorción lipídica; el digestivo posterior que carecía de membrana terminal, observándose invaginaciones pinocitóticas y vacuolas supranucleares en todas las células.

En otro grupo tan distinto como los pleuronectiformes, el lenguado de California (*Paralichthys californicus*), especie que alcanza hasta 33 kg de peso y que actualmente es un candidato para la acuicultura en Norteamérica, posee sin embargo una estructuración del sistema digestivo muy similar al ya descrito, dividiendo el canal alimenticio en bucofaringe, esófago, intestino prevalvular, intestino postvalvular y recto. En esta especie coincide la formación del estómago con la migración del ojo a partir del día 27 (Gisbert *et al.*, 2004). Por otro lado las vacuolas supranucleares del intestino posvalvular disminuyen con la formación del estómago.

El desarrollo del sistema digestivo en las larvas de peces, va asociado a cambios de comportamiento, hábitos tróficos (Blaxter, 1986) e incluso a cambios estructurales en el desarrollo de su sistema visual (Roo *et al.*, 1999; 2001). Estos autores señalan una clara diferenciación de las capas de la retina en las larvas del bocinegro, con la estructuración de su sistema digestivo y la capacidad de predar de la larva.

El hígado es el órgano de almacenamiento de reservas, observándose las primeras vacuolas de almacenamiento de lípidos al comenzar la alimentación exógena, aunque en algunas especies como el lenguado de California (*Paralichthys californicus*) se observan estos depósitos con el cambio de régimen alimenticio (Gisbert *et al.*, 2004).

Gisbert *et al.* (2004) observaron los gránulos de zimógeno en las larvas del lenguado de California antes de comenzar la alimentación exógena, indicando la importancia que tiene el páncreas antes de la formación del estómago.

El desarrollo de estructuras tan fundamentales como la vejiga natatoria, está también influenciado por las condiciones de cultivo, en particular una variación en la temporalización del fotoperiodo en el caso del Dentón, impide el desarrollo de este órgano de flotación (Abellán *et al.*, 2000). Por otro lado, la temperatura parece que no afecta su desarrollo en esta especie (Arizcun *et al.*, 2003), aunque Fukuhara (1990) demuestra que la temperatura influye en la secuencia de aparición de órganos y caracteres externos.

1.5.- OBJETIVOS

Desde mediados del siglo XX hemos podido comprobar el auge que ha experimentado la acuicultura en nuestro país, motivado sobre todo por la drástica disminución de las capturas hechas por nuestra flota pesquera. El cultivo de especies marinas en Canarias es una actividad complementaria para la economía regional ofreciendo su aportación ante la problemática de sectores como el turístico y el pesquero. Lograr el cultivo de la sama de pluma y del bocinegro sería un complemento de la pesca para las necesidades del mercado local, y además diversificaría la oferta para los mercados europeos. No podemos olvidar además que el bocinegro y la sama de pluma son especies habituales de nuestro archipiélago con lo cual su cultivo abriría también una posibilidad para la repoblación de nuestras costas. Según experiencias preliminares, el crecimiento de sama de pluma y bocinegro es mucho más rápido que en especies de la misma familia como puede ser la dorada, pudiéndose llegar a obtener individuos de la misma talla comercial en la mitad de tiempo. Por todo ello, y teniendo en cuenta estos factores comerciales y biológicos, el cultivo de estos espáridos ofrece grandes perspectivas a medio plazo. El conocimiento del desarrollo embrionario y larvario de estas especies, nos permitirá mejorar en sus técnicas de cultivo, optimizando la producción de estas especies.

Así los objetivos a conseguir en este trabajo son:

- Describir el desarrollo embrionario del bocinegro y la sama de pluma.
- Caracterizar durante el desarrollo larvario la morfología del bocinegro y la sama de pluma.
- Detallar el proceso de osificación en las larvas de bocinegro y sama de pluma.
- Realizar el análisis morfométrico durante el desarrollo larvario del bocinegro y la sama de pluma.
- Describir el desarrollo histológico del sistema digestivo y vejiga natatoria del bocinegro y sama de pluma.

2.- Material y métodos



2.- MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.- CAPTURA Y MANTENIMIENTO DE LOS REPRODUCTORES

2.1.1.- BOCINEGRO

Los reproductores de bocinegro (Fig. 2-1) fueron capturados por dos procedimientos: algunos ejemplares lo fueron por barcos artesanales y mantenidos vivos en los tanques viveros para la carnada hasta su transporte por carretera a las instalaciones del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), utilizando tanques de 500 l de capacidad y oxígeno en continuo; mientras que la mayor parte de los reproductores se capturaron en diversas campañas (Fig. 2-2) realizadas en el buque Oceanográfico “Taliarte” entre 1994-1996 (Bocinegro 9510, Bocinegro 9604). Los peces fueron capturados con anzuelos (Fig. 2-3). La profundidad de las capturas estuvo entre los 40 y los 60 m. Las capturas se realizaron en diferentes puntos en la plataforma occidental de la Isla de Fuerteventura, localizados entre los 28° 04' y los 28° 18' de latitud Norte y los 14° 13' y los 14° 31' de longitud Oeste.

Los peces así capturados eran mantenidos en tanques de 500 l (Fig. 2-4) con circulación continua de agua de mar y con aireación complementaria. Los tanques eran revisados varias veces al día para controlar la mortalidad y evitar que los ejemplares con la vejiga natatoria hiperinflada permanecieran flotando en la superficie del tanque. Si esto ocurría, el pez era pinchado a través de los flancos con una aguja hipodérmica hasta llegar a la vejiga natatoria y extraer el exceso de aire de la misma (Fig. 2-5).

Una vez finalizadas las campañas, los peces fueron transferidos a jaulas flotantes rectangulares 4x4x4m del ICCM, situadas en el muelle de Taliarte, con el fin de conseguir una mejor adaptación a la cautividad. El periodo de adaptación fue siempre superior a dos meses.

Posteriormente los peces fueron llevados a la nave de cultivos del ICCM, sita en el muelle de Taliarte, donde se colocaron en tanques troncocónicos de 8 m³, dotados de aireación y circuito abierto con un flujo de 900 l/h. La temperatura osciló entre 18,5 y 21,5 °C.

La alimentación estuvo compuesta por dieta natural, principalmente mejillones (*Mytilus* sp.) caballa (*Scomber scombrus* Linnaeus, 1758) y calamar (*Loligo vulgaris*, Lamarck, 1798).



Fig. 2-1.- Ejemplares de bocinegro en estado natural.



Fig. 2-2.- Captura de bocinegros durante las campañas en el buque Taliarte.

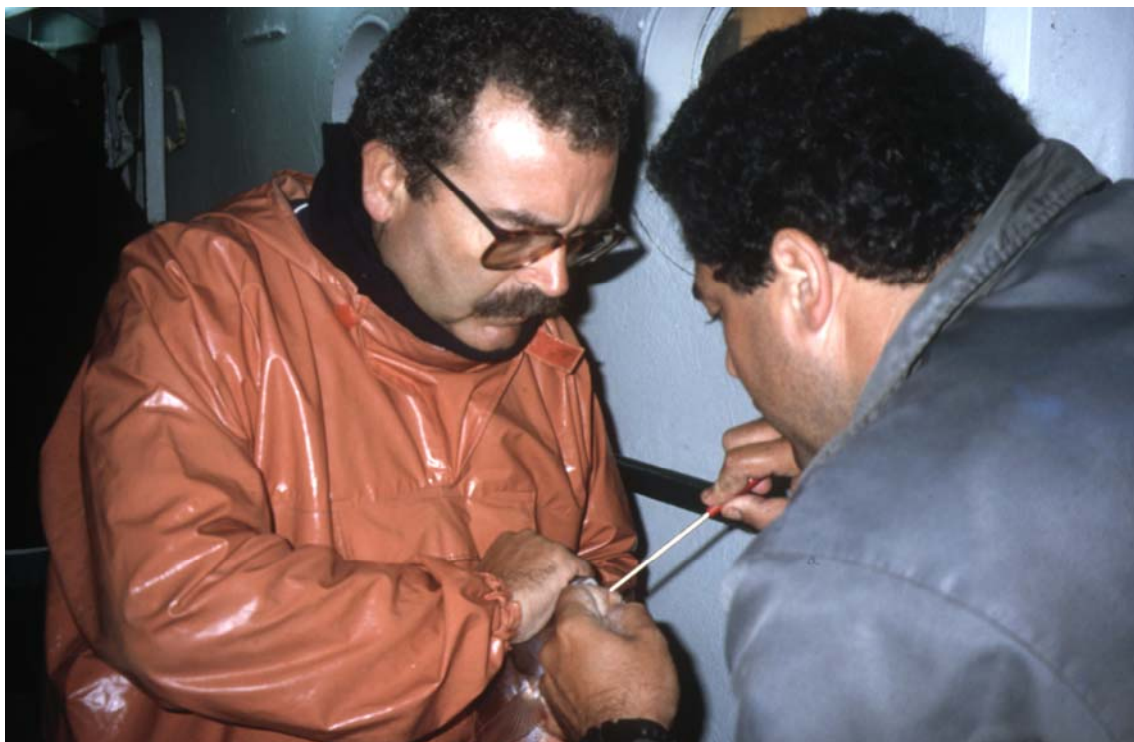


Fig. 2-3.- Liberación del anzuelo de los ejemplares capturados.



Fig. 2-4.- Tanques para el mantenimiento a bordo de los reproductores de bocinegro.



Fig. 2- 5.- Evacuación del exceso de aire de la vejiga natatoria.

2.1.2.- SAMA DE PLUMA

Los reproductores de sama de pluma (Fig. 2-6) fueron capturados en primavera de 1991 en la Punta de la Aldea, La Aldea de San Nicolás (Gran Canaria) $27^{\circ} 58' \pm 2' \text{ N } 15^{\circ} 57' \pm 2' \text{ W}$ por barcos artesanales. Las artes utilizadas fueron series de nasas de profundidad, con dimensiones entre los 250 y 300 cm de diámetro y 85 y 110 cm de altura. Las capturas se realizaron a una profundidad comprendida entre los 120 y los 150 metros.



Fig. 2-6.- Reproductores de sama de pluma, hembra (superior) y macho (inferior).

Los peces una vez capturados, se mantuvieron vivos con circuito abierto en los tanques viveros de las embarcaciones mencionadas hasta su llegada al puerto del Castillo del Romeral (Gran Canaria).

A continuación fueron trasladados por carretera en tanques de 500 litros con oxígeno

disuelto hasta la Planta Experimental de Cultivos Marinos del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM) (Hernández *et al.*, 1988), instalaciones donde se realizó la aclimatación.

Los ejemplares se colocaron en tanques ortoédricos contruidos con fibra de vidrio y con una capacidad de 6 m³. El sistema estaba dotado de aireación y circuito abierto con un flujo de 900 l/h. La temperatura osciló entre 19 y 22 °C y mantenidos con fotoperiodo natural. La alimentación de los reproductores estaba compuesta por dieta natural, principalmente caballa y calamar.

2.2.- OBTENCIÓN DE LAS PUESTAS, INCUBACIÓN DE LOS HUEVOS Y SEGUIMIENTO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

Las puestas en ambas especies fueron naturales. Con el bocinegro las puestas tuvieron lugar entre los meses de febrero y abril de 1996 y 1997. En el caso de la sama de pluma tuvieron lugar durante los meses de mayo y junio de 1991. Los huevos tenían flotabilidad positiva, por lo que se recogieron directamente en un colector, formado por un marco de madera o PVC del que pendía una malla de 500 μm de luz. El colector descansaba sobre un depósito sobre el que rebosaba el agua del tanque de los reproductores con los huevos y dispuesto de forma que los huevos no quedaran en seco. Los huevos se traspasaron posteriormente a embudos de decantación en los que se separaron las fracciones flotante y no flotante.

La fracción flotante compuesta por los huevos viables se “sembró” directamente en los tanques donde se iba a realizar el cultivo larvario en una concentración de 80-100 huevos por litro.

Desde el momento de la puesta y tras aparecer el espacio perivitelino, se realizó un seguimiento cronológico de los huevos durante el desarrollo embrionario por espacio de 48 h. Este seguimiento se realizó durante toda la etapa de puesta. Los huevos se observaron en un microscopio estereoscopio WILD M3Z (Leica, Heerbrugg, Suiza), se determinaron los estadios de desarrollo correspondientes, y se estableció la cronología del desarrollo embrionario desde el momento de la eclosión para cada puesta. Se visualizaron diariamente todas las puestas y se realizaron mediciones de un mínimo de 30 huevos cada día en un proyector de perfiles Nikon V-12^a (Nikon corporation, Tokio, Japón). Los distintos estadios del desarrollo embrionario fueron dibujados, anotadas sus características y fotografiados, con un control del tiempo que transcurre entre los distintos estadios del desarrollo, contando como tiempo 0 el momento de la freza.

El desarrollo embrionario tuvo lugar en un rango de temperaturas de 18,9 a 21,4°C para el bocinegro y de 19,9 a 21,7 °C para la sama de pluma. El régimen lumínico para ambas especies fue el natural.

2.3.- CULTIVO LARVARIO

El cultivo de las larvas de ambas especies se realizó empleando el método descrito por Hernández-Cruz *et al.* (1990a) para el cultivo de la dorada. En dicho método los mejores resultados se obtienen suministrando el rotífero (*Brachionus plicatilis*) alimentado con levadura de panificación y enriquecido con el alga *Nannochloropsis sp.*, además al tanque de cultivo larvario se añade *Nannochloropsis sp.* y se mantiene en circuito cerrado. En nuestro caso el cultivo larvario se llevó a cabo en tanques cilíndricos de 100 l de capacidad, se mantuvo una aireación central suave y circuito abierto a partir de la alimentación exógena con un caudal de 0,5 l/min.

El cultivo larvario tuvo lugar manteniendo el fotoperíodo natural, se determinaron diariamente los valores de temperatura del agua, estando el rango de temperaturas comprendida entre 18,9 y 21,4 °C para bocinegro y entre 19,9 y 21,7 °C para sama de pluma.

El rotífero *Brachionus plicatilis* (cepa S-1) fue cultivado a temperatura ambiente de 25,4 ± 1,5 °C en una concentración de 20 rot/ml, fueron alimentados con levadura de panificación añadiendo una cantidad de 1,15 g de levadura por millón de rotíferos y enriquecidos posteriormente con el alga *Nannochloropsis sp.*

Las larvas fueron alimentadas, a partir del día 3 desde la eclosión, con el rotífero. A su vez, en el tanque de cultivo larvario se añadía *Nannochloropsis* para mantener la calidad nutritiva de los rotíferos. A partir del día 15 de vida, las larvas se alimentaron también con nauplios de *Artemia*, a una concentración de 3 nauplios por ml. Estos nauplios fueron añadidos gradualmente hasta que a partir del día 20 las larvas solo se alimentaban con *Artemia*. El periodo de estudio se dio por finalizado el día 31 de vida larvaria.

Diariamente a las 9 de la mañana se tomaron muestras de larvas de cada tanque. Una vez anestesiadas con una disolución de MS-222 (Sandoz Ltd., Suiza) al 1 ‰, fueron medidas y a continuación utilizadas para el estudio morfológico, osteológico e histológico. Para el bocinegro se tomaron 100 larvas diarias durante los 10 primeros días, del día 10 al día 20, 50

larvas y del día 20 al 31, 30 larvas cada día. Para la sama de pluma se tomaron durante los 15 primeros días 50 larvas del día 16 al día 31, 30 larvas diarias.

2.4.- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

El estudio de las características morfológicas fue realizado con la combinación de las observaciones en fresco de las larvas, tanto “*de visu*” como con lupa binocular, y la microscopía óptica y electrónica de barrido. Además, para el estudio del desarrollo osteológico se utilizó la coloración de cartílagos.

2.4.1.- OBSERVACIONES EN FRESCO

Para el estudio morfológico se realizaron observaciones de huevos y larvas en vivo en un proyector de perfiles Nikon V-12 (Nikon, Tokio, Japon). También muestras de huevos y larvas, frescas y fijadas en formol fueron observadas a través de un microscopio estereoscópico WILD M3Z (Leica, Heerbrugg, Suiza) conectado a un monitor BLACK TRÍNITON 14" (Sony, Tokio, Japón) por medio de una cámara de video KPC 501 (Hitachi, Tokio, Japón). Para el estudio del sistema digestivo, las larvas fijadas en formol fueron microdisecionadas empleando un micromanipulador M (Leitz, Wetzlar, Alemania).

2.4.2.- COLORACIÓN DE CARTÍLAGOS Y HUESOS

Se realizó un estudio del desarrollo osteológico para lo que se tomaron 10 larvas los días 10, 15, 20 25 y 30, se realizaron tinciones de huesos y cartílagos y se prepararon para ser observadas al microscopio binocular. El protocolo utilizado fue una combinación de los empleados por Taylor y Van Dyke (1985) y Dingerkus y Uhler (1977).

Para ello se utilizó el siguiente protocolo:

- 1) Larvas fijadas en formol
- 2) Azul alcian 2h o más (controlado al microscopio)
 - 10mg azul alcian BGX (c.i. 16230)
 - 80ml alcohol 95%
 - 20ml acido acético glacial

A continuación se procede a la hidratación de las larvas

- 3) Alcohol 95% 1 h
- 4) Alcohol 95% 1 h
- 5) Alcohol 95% 1 h
- 6) Alcohol 75% 1 h
- 7) Alcohol 40% 1 h
- 8) Alcohol 15% 1 h
- 9) Agua destilada 1 h (o toda la noche para continuar al día siguiente).
- 10) Solución de tripsina 1 h

- 90 mg de tripsina
- 30 ml de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (solución saturada)
- 70 ml de agua destilada.

Conservación a 4°C y en oscuro. Utilizar a 25 °C. Renovar cuando se torna azul.

La actuación de la tripsina puede destruir parte de la estructura muscular y ojos de la larva, por lo que debe controlarse periódicamente bajo el microscopio.

- 11) Rojo de Alizarina 1-1:30 h

- KOH 0,5% en agua
- Rojo de alizarina 1 g / litro

- 12) Disolución Glicerina - Peróxido de Hidrógeno 1 h, aunque se puede prolongar hasta que desaparezcan los cromatóforos.

- KOH 0,5%
- Glicerina (3:1)
- H_2O_2 1,2 %

- 13) KOH 0,5% - Glicerina (3:1) 12 - 24 h
- 14) KOH 0,5% - Glicerina (1:1) 12 - 24 h
- 15) KOH 0,5% - Glicerina (1:3) 12 - 24 h
- 16) Glicerina 100 % con algunos cristales de timol (conservante)

Tras este procedimiento se pueden observar los cartílagos teñidos de color azul, mientras que el tejido óseo es de color rojo.

2.4.3- MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

Para complementar el estudio morfológico de las larvas se realizaron preparaciones de larvas de diferentes edades para ser estudiadas y fotografiadas al microscopio electrónico de barrido. Dichos estudios se realizaron en laboratorios diferentes. Las larvas de bocinegro fueron preparadas y estudiadas en el Servicio de Microscopia Electrónica de Barrido del Jardín Botánico Viera y Clavijo del Excmo Cabildo Insular de Gran Canaria. Por otro lado, el estudio de las larvas de sama de pluma se realizó en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Trondheim (Noruega).

Para este estudio, larvas de 2,10,16,20, 25 y 30 días fueron anestesiadas con MS-222 (tricaino-etano-sulfonato, disolución 1:20.000) y posteriormente fijadas en formaldehído al 10% tamponado con fosfato (Roberts, 1975).

El procesamiento de muestras para el estudio al microscopio de barrido fue el siguiente:

- 1) Lavado en tampón fosfato 3 veces durante 10 min
- 2) Contrastado con tetraóxido de osmio al 2% durante 90 min (sólo para sama de pluma)
- 3) Lavado con agua destilada 3 veces durante 10 min (sólo para sama de pluma)
- 4) Deshidratado en alcohol (bocinegro) o acetona (sama de pluma)

Alcohol o Acetona 30%-----> 10 min

Alcohol o Acetona 50%-----> 15 min

Alcohol o Acetona 70%-----> 15 min

En este punto se detiene el proceso hasta el momento de estudiar al microscopio

Alcohol o Acetona 85%-----> 15 min

Alcohol o Acetona 96%-----> 15 min

Alcohol o Acetona 100%-----> 3 veces a 15 min

- 5) Las muestras son llevadas a un recipiente hermético donde se sustituye el disolvente por CO₂ líquido a 60 bares y 15°C, y luego se realiza el secado en su punto crítico a 80 bares y 32°C, momento en el que el CO₂ se transforma de líquido a gas.
- 6) Se colocan las muestras sobre un soporte y se adhieren a él, bien por doble cinta adhesiva o mediante pegamento adhesivo.
- 7) Se cubren las muestras con una mezcla de oro, paladio y carbono, se realiza en vacío, y el espesor de la cubierta es de aproximadamente 250 amstrongs.

Las larvas fueron estudiadas y fotografiadas en un microscopio electrónico de barrido JSM-25S (JEOL Tokio, Japón).

2.5.- ESTUDIO MORFOMÉTRICO

El estudio morfométrico se realizó en larvas vivas anestesiadas con MS-222 (1:20.000), ya que al morir la larva se alteraba el aspecto externo y ello modificaba los valores a medir. El número de medidas para cada parámetro queda representado en las tablas 4.3-4.5 y 4.7-4.9 del capítulo de resultados.



Fig. 2-7.- Toma de medidas en el proyector de perfiles.

Las medidas para el bocinegro se realizaron en un proyector de perfiles Nikon V-12^a (Nikon corporation, Tokio, Japon) (Fig. 2-7), mientras que para la sama de pluma se tomaron con microscopía óptica usando un micrómetro OSM 210705 (Olympus, Tokio Japón).

Los parámetros medidos en las larvas de bocinegro (Figs. 2-8 y 2-9) fueron los siguientes:

- Longitud del saco vitelino (Lsc).
- Altura del saco vitelino (Hsc).
- Diámetro de la gota lipídica (DG).
- Longitud total (LT).
- Longitud estándar (LS).
- Longitud preanal (LPA).
- Altura cefálica (HC) tomada a nivel del centro del ojo.
- Altura del cuerpo (HCU) a nivel de la base de la aleta pectoral.
- Altura de miotomo (HM) a nivel del ano.
- Altura del hígado (HH) al nivel de la base de la aleta pectoral.
- Altura del digestivo (HD) al comenzar la constricción ileo-cecal.
- Longitud de la vejiga natatoria (Lvj).
- Altura de la vejiga natatoria (Hvj).

Para la sama de pluma se tomaron las mismas medidas, añadiendo además la longitud cefálica (LC). No se tomaron medidas de altura de hígado, ni altura de digestivo, ya que estas medidas fueron consideradas como valores interesantes a determinar a posteriori, en el estudio con el bocinegro.

El periodo de estudio, entre el momento de la eclosión y el día 31 de vida larvaria, se dividió en tres etapas. La primera etapa comprende desde el día 0 hasta el día 8, la segunda desde el día 9 hasta el día 20, y la tercera y última entre los días 21 y 31.

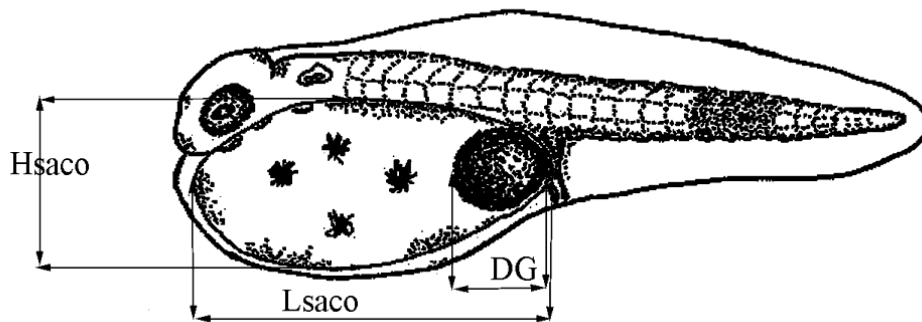


Fig. 2-8.- Medidas morfométricas de los elementos de reserva. Hsaco: Altura del saco vitelino; Lsaco: Longitud del saco vitelino; DG: Diámetro de la gota lipídica (Modificado de Fernández-Palacios *et al.* 1994).

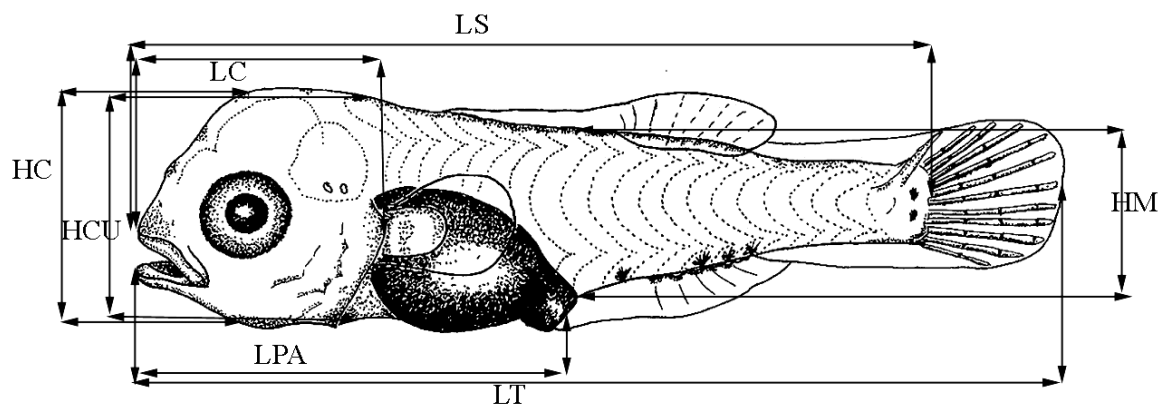


Fig. 2-9.- Medidas morfométricas en las larvas. LT: Longitud total; LS: Longitud estándar; LPA: Longitud preanal; LC: Longitud cefálica; HCU: altura del cuerpo; HC: altura cefálica; HM: altura del miotomo (Modificado de Fernández-Palacios *et al.*, 1994).

La fragmentación del periodo de estudio en tres etapas se decidió después de realizar todas las medidas y observar la evolución global de las mismas. Igualmente se consideró que era la forma más clara de representar gráficamente las medidas, uniendo en una misma gráfica medidas con valores de un mismo rango. La división del periodo de estudio en las tres etapas señaladas se realizó en función de los cambios más significativos en el desarrollo de la larva durante el primer mes de vida. El primer periodo incluye la absorción del saco vitelino, apertura de boca y cambio de alimentación endógena a exógena. El segundo periodo está marcado por la inflación de la vejiga natatoria y cambio a la alimentación con nauplio de *Artemia*. Mientras que a partir del día 20 se producen los primeros signos del fin de la metamorfosis como el desarrollo del estómago glandular y la formación de escamas.

2.6.- ESTUDIO HISTOLÓGICO

Para el estudio histológico se utilizaron entre 30 y 50 larvas de cada una de las dos especies y con edades comprendidas entre los días 0 y 31. Las larvas fueron anestesiadas en MS-222 (1:20.000). Dicha operación aseguró que estas mantuviesen su forma original, evitando que se curvasen. Una vez anestesiadas se fijaron utilizando formol tamponado con fosfato (100 ml formol 40 %, 900 ml de agua destilada, 4 g de fosfato sódico anhidro ($\text{Na H}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 6 g de fosfato disódico (Na_2HPO_4).

Transcurrido un mínimo de 24 h desde el momento de la fijación, se ensayaron tres inclusiones diferentes para el estudio al microscopio óptico. El primer procedimiento consistió en inclusión en parafina, técnica empleada rutinariamente en histología con un protocolo muy estandarizado y automatizado con unos buenos resultados. En el segundo se incluyeron larvas en resina sintética, lo cual permite realizar preparaciones con mejor detalle. Y en tercer lugar se prepararon muestras para su tratamiento en criostato, procedimiento por el cual podemos identificar entre otras, materia lipídica. Los protocolos empleados en cada caso fueron los siguientes.

2.6.1 .- INCLUSIÓN EN PARAFINA, TINCIÓN Y MONTAJE

Las larvas fijadas fueron colocadas en pequeñas microcápsulas, que permitiesen el paso de los reactivos sin la pérdida de muestra, y fueron lavadas durante 30 min en agua. A continuación tiene lugar un proceso con una duración de 24 h, donde son deshidratadas en alcohol ascendente, transferidas a xilol e infiltradas en parafina. Todo ello en un procesador de tejidos HISTOKINETTE 2000 (Leica, Nussloch, Alemania).

1) Deshidratación:

Alcohol 70%	60 min
Alcohol 80%	90 min
Alcohol 90%	90 min
Alcohol 96%	90 min
Alcohol absoluto I	90 min

Alcohol absoluto II	120 min
Alcohol absoluto III	120 min

2) Clarificado:

Xilol I	30 min
Xilol II	30 min
Xilol III	60 min

3) Infiltración en parafina:

Parafina I	3 h
Parafina II	6 h
Parafina en Vacío	1 h

Posteriormente fueron incluidas en un dispensador de parafina (Fig. 2-10) Jung Histoembedder (Leica, Nussloch, Alemania).

Los bloques fueron conservados en el congelador, para ser tallados primeramente a 15-20 μm , enfriados nuevamente y posteriormente realizar cortes a 4-5 μm en un microtomo de rotación Jung Autocut 2055 (Leica, Nussloch, Alemania). Los cortes fueron recogidos en un baño de flotación con agua destilada a 45°C.

Los portaobjetos con los cortes de la muestra fueron secados en estufa (1h a 60°C o 24h a 36°C). Las preparaciones fueron posteriormente inmersas en xilol e hidratadas en alcohol descendiente hasta llegar a agua, según el siguiente protocolo.

Xilol	15 min
Alcohol absoluto	5 min
Alcohol absoluto	5 min
Alcohol 96%	5 min
Alcohol 90 %	5 min
Alcohol 70 %	5 min
Agua	5 min



Fig. 2-10.- Elaboración de los bloques en el dispensador de parafina.

Una vez terminado el proceso anterior se realizan las tinciones, aunque fueron ensayadas varias tinciones, las que presentaron mejor resultado fueron Hematoxilina-Eosina (H&E) y ácido peryodico reactivo de Schiff-Hematoxilina (PAS-H) para la identificación de glúcidos, glucoproteínas, polisacáridos y monosacáridos. Ambas técnicas fueron modificadas a partir de Martoja y Martoja-Pierson (1970) y García del Moral (1993), y con la colaboración del Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

2.6.1.1.- Hematoxilina-eosina (H&E)

- | | | |
|---|------------------------|----------------|
| - | Hematoxilina de Harris | 15-20 min |
| - | Alcohol ácido | 3 baños cortos |
| - | Lavado en agua | |
| - | Agua amoniacal | 20 seg |
| - | Agua continua | 15 min |
| - | Eosina de Puttis | 3-4 min |
| - | Lavado en agua | |

2.6.1.2.- Ácido peryódico-reactivo de Schiff- Hematoxilina (PAS-H)

- | | | |
|---|---|--------|
| - | Acido HIO_4 (peryódico) 0,5% en peso | 5 min |
| - | H_2O | 5 min |
| - | Reactivo de SCHIFF | 20 min |
| - | H_2O | 5 min |
| - | Hematoxilina | 15 min |
| - | Lavar en agua | 20 min |

Tras la tinción se precedió a la deshidratación y clarificado de las preparaciones, de acuerdo con el siguiente protocolo.

- | | | |
|---|--------------|--------|
| - | Alcohol 96% | 5 min |
| - | Alcohol 100% | 10 min |
| - | Alcohol 100% | 5 min |
| - | Xilol | 5 min |
| - | Xilol | 5 min |

Se colocó una gota de resina sintética (Eukkit) sobre cada cubreobjeto, montando el portaobjeto sobre el cubre, presionando hasta eliminar cualquier burbuja de aire. Las preparaciones se dejaron secar al aire, fueron etiquetadas y conservadas posteriormente en un lugar fresco y sombrío.

Las preparaciones fueron observadas y fotografiadas en un fotomicroscopio Leica modelo DMBE (Fig. 2-11).



Fig. 2-11.- Sistema de microscopia óptica utilizado.

2.6.2.- INCLUSIÓN EN METACRILATO, TINCIÓN Y MONTAJE

Larvas de diferentes edades fueron deshidratadas en alcohol e incluidas en historesin, compuesto comercial de la casa Reichert-Jung (Alemania) que esta formado por tres componentes:

Resina básica-----> hidroxietilmetacrilato

Activador -----> 50% benzol peróxido

Endurecedor -----> sulfóxido de dimetil

El procedimiento empleado fue el siguiente:

a) Deshidratación

Se deshidrataron las larvas en una serie ascendente de etanol

Alcohol 30%	5 min
Alcohol 60 %	5 min
Alcohol 70%	5 min
Alcohol 80 %	5 min
Alcohol 90 %	5 min
Alcohol 90 %	5 min
Alcohol 96 %	5 min
Alcohol 96 %	5 min

b) Infiltración

Se preparó la disolución infiltradora en un agitador magnético, formada por:

50 ml de resina básica + 0,5 g de activador

La disolución puede ser conservada durante varias semanas a temperatura ambiente (25°C).

Las larvas después de ser deshidratadas fueron dejadas en una disolución intermedia (1:1; 96% etanol: solución infiltradora) durante un tiempo mínimo de 3 h, al partir del cual eran completamente traslúcidas y se depositaban en el fondo del vaso de precipitado.

A continuación las muestras se introdujeron en la solución infiltradora pura. Para facilitar la infiltración las muestras fueron sometidas al vacío a una presión de -0,6 atmósferas, utilizando una bomba de vacío Capex L2C (Leica, Nussloch, Alemania) y durante un tiempo mínimo de 6 h.

c) Inclusión

El medio de inclusión utilizado se preparó a partir de 15 ml de solución infiltradora al cual le añadimos 1 ml de solución endurecedora. La mezcla se debe utilizar inmediatamente.

A continuación se llena la parte más baja del molde (Historesin Kit) con el medio de inclusión. El tamaño y tipo de molde varió según la edad de las larvas, utilizando un único bloque para larvas mayores de 20 días y poniendo dos larvas por bloque para las menores de dicha edad. Las larvas fueron sumergidas y orientadas dentro del molde rápidamente. A continuación se colocaba el adaptador del molde sobre el cual quedaba incluida la larva y se terminó de llenar el molde con el medio de inclusión.

Los bloques no fueron separados hasta el día siguiente, una vez realizada la polimerización los bloques estaban listos para ser cortados.

d) Secciones

Secciones de 1 o 2 micras fueron realizadas en el microtomo (Leica 2055) con cuchillas de acero no desechables.

e) Recolección

Los cortes fueron recogidos y extendidos en portaobjetos con agua destilada a temperatura ambiente. Los portaobjetos fueron previamente desengrasados con alcohol al 96%. Las preparaciones se dejaron secar a temperatura ambiente.

f) Tinción

Las preparaciones fueron teñidas con solución de azul de toluidina al 1%, secadas al aire y montadas sobre cubreobjetos con eukitt.

2.6.3.- PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA CRIOSTATO

Las muestras de larvas fueron fijadas en formol cálcico, aunque algunas pruebas realizadas con formaldehído al 10% ofrecieron semejantes resultados. Seguidamente se realizó la infiltración en sacarosa 2,3M durante 2 h, para luego ser colocadas en ependorf con la misma disolución e introducidos en nitrógeno líquido. Una vez congeladas las muestras fueron conservadas a -80°C hasta ser cortadas en el criostato.

Formol cálcico:

Formaldehído al 40% (Formalina)	10 ml
Agua destilada.	90 ml
Acetato cálcico	2 g

Las larvas fueron posteriormente incluidas individualmente en OCT 4583 (Medio de inclusión, Tissue-tek, Miles) a -20°C, seccionadas serialmente a 5 µm en un criostato Frigocut 2800 (Reichert-Jung, Nussloch, Alemania) y recogidas en portaobjetos previamente desengrasados y dejadas secar al aire.

Se realizaron cortes por congelación en larvas de diferentes edades con la finalidad de realizar la identificación de lípidos en las estructuras celulares.

Diferentes tinciones con Negro Sudán y Aceite Rojo (Oil red) fueron ensayadas, obteniéndose los mejores resultados con Aceite Rojo en propanodiol y con Bromo- Acetona - Negro Sudán siguiendo los siguientes protocolos.

2.6.3.1.- Aceite rojo en propanodiol (Mikel, 1994)

- Lavado en agua destilada
- 1,2 propanodiol absoluto 2 min

- Solución de aceite Rojo O 16 h

(0,5% de aceite rojo O en 1,2 propanodiol)

- Propanodiol 85% 1 minuto
- Lavado en agua destilada
- Hematoxilina de Mayer 1 minuto
- Lavado en agua destilada
- Montar en medio acuoso (IMMU-MOUNT, SHANDON), o en una mezcla de glicerol y gelatina.

El protocolo comienza preparando la gelatina con el agua destilada y dejarla reposar durante 2 h. Añadir el fenol y el glicerol, colocarlos en un baño a una temperatura próxima a 60°C, durante 15 min. Por último se debe filtrar la disolución.

Gelatina	7 g
Glicerol	50 g
Fenol	0,5 g
Agua destilada	42 g

2.6.3.2.- Bromo-acetona-negro Sudán (High, 1981)

- Sumergir las secciones en bromo acuoso al 2,5% durante 30 min. Se debe realizar esta operación en una campana de extracción.
- Lavado con agua.
- Lavado con disulfito de sodio 0,5% durante 1 min para eliminar el exceso de bromo.
- Lavar bien las secciones con agua y dejar secar.
- Extraer las grasas con acetona anhidra durante 20 min a 4°C.
- Lavar las secciones en alcohol 70%.

- Teñir con Negro Sudán saturado en alcohol al 70%, filtrado antes de utilizar.
- Diferenciar en etanol al 70% por un minuto o dos.
- Contrastar los núcleos con verde metilo 1%, lavando en cloroformo en un embudo de decantación con 30 ml de cloroformo por 100 ml de verde de metilo. Repetir varias veces el lavado. Lavar bien y montar en glicerol-gelatina.

2.7.- TRATAMIENTO DE DATOS Y SOPORTE INFORMÁTICO

Los datos morfométricos obtenidos con el proyector de perfiles fueron transferidos diariamente a los estadillos diseñados para tal propósito. Dichos datos fueron procesados y se calcularon los parámetros estadísticos descriptivos: número de datos, media, mediana, moda, varianza, desviación típica, mínimo, máximo, rango y coeficiente de variación. Este primer paso nos permitió detectar errores de transcripción y conocer la variación de las distintas medidas Lsaco, Hsaco, DG, LT, LS, LPA, HC, LC, HCU, HM, HH, HD, Lvj, Hvj.

Seguidamente se determinó qué modelo de regresión simple se ajustaba más a la nube de puntos formada por cada variable medida, considerando como variable independiente la LT. Considerando los valores óptimos del coeficiente de correlación (R) se determinó la ecuación que mejor representó cada variable frente a LT.

También se determinó la regresión que presenta la LT con respecto al tiempo, estableciéndose el crecimiento para ambas especies en su primer mes de vida.

Por último se realizó el estudio de la variación en la relación entre LP/ LT frente a la LT, y se compararon con otros espáridos.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó en el programa STATGRAPHICS (Statgraphics plus versión 3.1 windows, 1994-1997, Statistical Graphics Corp.).

Los datos del Statgraphics fueron transferidos al programa SIGMAPLOT (versión 2.0 windows (1986-1994), Scientific Graphing software), donde se trabajaron y se realizaron las gráficas que representan el crecimiento de las distintas variables y sus desviaciones. Otras gráficas fueron realizadas con el programa HARVARD GRAPHICS (versión 4.0 1995, Software Publishing Corporation).

El material fotográfico (negativos de MEB, diapositivas y fotografías) fue escaneado en escáner HP 6100 (Hungría) a 600 ppp y los negativos y diapositivas en el FILMSCAN 200 EPSON (Hirooka, Japón) a 720 ppp. Las imágenes fueron tratados en el ADOBE PHOTOSHOP

(versión 5.0. 1989-1998, Pantone and Pantone calibrated).

Los datos histológicos fueron grabados durante el momento de la observación y posteriormente transcritos y trabajados en WORD (Versión office 2003, 1983-2003, Microsoft), al igual que la redacción del presente trabajo.

3.- Desarrollo embrionario



3.- DESARROLLO EMBRIONARIO

3.1 ANTECEDENTES

Desde el momento de la fertilización del huevo hasta la eclosión de la larva, se producen una serie de cambios morfológicos, químicos e histológicos que van a marcar el desarrollo embrionario. Los cambios morfológicos permitirán conocer las características fundamentales del embrión y nos servirán como carta de presentación a la hora del estudio de las larvas.

Los parámetros que pueden condicionar el desarrollo embrionario de los peces son muy diversos. Entre ellos la temperatura es el principal elemento a considerar (Camus y Koutsikopoulos, 1984), afectando incluso la morfogénesis de las larvas (Mihelakakis y Kitajima, 1994). Así, el desarrollo normal del embrión se detiene incluso por pequeñas variaciones en la temperatura. Por ejemplo, en algunos espáridos como el dentón (*Dentex dentex*) el desarrollo embrionario sólo sucede entre los 12 y 18°C, pereciendo los embriones fuera de este rango (Saka *et al.*, 2004).

El éxito en el desarrollo embrionario se vé reflejado en la calidad de la puesta, determinada por los porcentajes de fecundidad y de eclosión, y posteriormente por la supervivencia larvaria en el inicio de la alimentación exógena y la producción final de larvas. Sin embargo, estos dos últimos factores van a estar afectados por otras variables distintas exclusivas de la calidad de la puesta.

El concepto de calidad de una puesta se basa en el potencial de producir larvas viables, lo cual esta relacionado con factores físicos, químicos y genéticos, así como con los procesos fisiológicos iniciales del desarrollo embrionario (Kjorsvik *et al.*, 1990). El arquetipo estándar de un huevo de pez es muy difícil de definir, ya que hay una gran variedad de formas, colores, composición, densidad, y distribución del vitelo entre otros. Sin embargo, en el caso de los espáridos, podemos generalizarlos como huevos transparentes, esféricos y con una sola gota lipídica (Ciechomski y Weiss, 1973; Ezzat *et al.*, 1982; Divanach y Kentouri, 1983b; Fukuhara, 1985; Fararanda *et al.*, 1985; Jug-Dujajovik y Glamuzina, 1988; Hernández-Cruz *et al.*, 1990b; Fernández-Palacios *et al.*, 1994).

Las primeras aportaciones al conocimiento del desarrollo embrionario del bocinegro fueron realizadas por Ciechomski y Weiss en 1973, que obtuvieron puestas por medio de fecundación artificial. Estos autores describieron los ovocitos completamente maduros y extraídos del ovario como transparentes, ligeramente amarillentos y sin espacio perivitelino, de forma esférica y con vitelo liso, sin división en alvéolos. Estudios posteriores realizados por Manooch y Hassler (1978), Hernández Cruz *et al.* (1990, 1999) y Mihelakakis *et al.* (2001) han profundizado en el conocimiento de las técnicas de cultivo de esta especie, lo cual ha permitido describir en detalle las características morfológicas de las larvas (Socorro *et al.*, 1997, Socorro *et al.*, 2001, Machinandirena *et al.*, 2003, Darias *et al.*, 2005). Recientemente Radonic *et al.* (2005) evaluaron el efecto de la temperatura de incubación en el tiempo de eclosión.

Por otro lado, el desarrollo embrionario de la sama de pluma ha sido descrito por Fernández-Palacios *et al.* (1994), estando esta especie todavía en fase inicial de adaptación a la acuicultura.

El objetivo del presente capítulo fue el de describir los principales cambios morfológicos que suceden durante el desarrollo embrionario de bocinegro y sama, para completar la escasa información que se posee sobre estas especies y permitir posteriormente establecer los criterios morfológicos determinantes de la calidad de sus puestas. Los resultados de este capítulo han sido parcialmente publicados en Fernández-Palacios *et al.*, 1994 y Socorro *et al.*, 1997 y 2001.

3.2.- RESULTADOS

3.2.1.- BOCINEGRO

Los huevo de bocinegro colectados eran esféricos con un corion liso, un citoplasma homogéneo y prácticamente transparentes y con un ligero tono amarillento. Presentaban una gota lipídica en posición central de un intenso tono amarillo. Sin embargo, también aparecieron con frecuencia huevos con pequeñas gotas lipídicas próximas a la gran gota central, las cuales se fueron fusionando con la central a lo largo del desarrollo embrionario. El diámetro medio del huevo fue de $1,016 \pm 0,026$ mm, mientras que el de la gota lipídica fue de $0,227 \pm 0,011$ mm. El desarrollo embrionario fue detalladamente estudiado y fotografiado, y el tiempo de eclosión estuvo comprendido entre las 37 y las 41 h tras la puesta.

La descripción morfológica que se presenta a continuación se basa en el desarrollo a una temperatura próxima a los 21°C.

El primer cambio morfológico aparente tras la fecundación fue la formación del espacio perivitelino, que con una anchura de $35 \pm 0,3$ μ m rodea el vitelo y lo separa del corion.

La primera división celular que dió lugar al estado de 2 blastómeros, tuvo lugar a partir de los 30 min desde la fecundación (Fig. 3-1). Las células se situaban en el polo animal y con disposición paralela a la superficie del huevo. El tiempo de esta primera división osciló entre los 30 y los 90 min, sin que esto afectase al desarrollo normal del embrión.

La segunda división celular tuvo lugar a los 50 min desde la fecundación, en dirección perpendicular a la primera división. En este estado de cuatro células, cada blastómero alcanzó una longitud máxima de 0,28 mm. La gota lipídica continuó manteniéndose en el centro del huevo.

La tercera división celular llevó al estado de ocho células y tuvo lugar a los 60 min, aunque en ocasiones extremas pudo llegar a los 120 min. Esta segmentación se realizó en la

misma dirección que la primera, originando ocho pequeños blastómeros. Los estadios de 16 y 32 células tuvieron lugar entre los 105 y los 140 min respectivamente desde la fecundación. A partir de este momento se sucedieron los estadios de 64 y 128 células, denominados etapa de mórula temprana. Este estado se alcanzó a las 4 h en las que los blastómeros se fueron apilando hasta en tres capas de células.

La siguiente división, hasta alcanzar los 256 blastómeros, tuvo lugar a las 6 h, después de la eclosión dando lugar al llamado estado multicelular o de mórula tardía (Fig. 3-1). En este estadio se observó una gran cantidad de pequeñas células dispersas en muchas capas sobre el vitelo del huevo.

A partir de este momento comenzó el recubrimiento del vitelo no segmentado por el blastodisco, alcanzando el estado de blástula hacia las 8 h. El recubrimiento por parte del blastodermo, de la superficie de la esfera de vitelo, hacia la zona donde estará el futuro embrión originó el estado de gástrula, donde la epibolia del huevo había recubierto mediante un conjunto de pequeñas células un cuarto de la superficie, alcanzando el estado de gastrulación temprana a las 10 h (Fig. 3-1).

A las 13 h, se observó una delgada línea que divide al huevo en dos, el blastodermo recubrió la mitad de la esfera del vitelo. Mientras que el estado de $\frac{3}{4}$ de epibolia no se alcanzó hasta las 13-14 h.

A partir de este momento comenzaron a diferenciarse los primeros vestigios de órganos del embrión, formándose un primitivo sistema nervioso, incluyendo el cerebro. Este estado, denominado neurula se alcanzó a las 17 h observándose un engrosamiento en los bordes del tejido que fueron recubriendo el huevo. Este engrosamiento se invagina hacia la zona interior de la masa de tejido delimitando un sistema nervioso primitivo, con el primer esbozo del embrión.

El esbozo de las cápsulas ópticas se evidenció a las 19 h, estando estas ubicadas en un extremo del tejido ya definido que constituye la región cefálica. En el extremo opuesto del embrión, en la región caudal, se observa una pequeña vesícula que sobresale de la dermis, la vesícula de Kupffer (Fig. 3-1).

A las 21 h el embrión ha ido definiendo su estructura corporal, observándose la presencia de los primeros miómeros musculares y pequeños melanóforos en forma de puntos, a lo largo de la región dorsal de la notocorda.

Las cápsulas ópticas constituyeron la estructura más evidente a las 26 h de vida embrionaria. En este momento, el embrión ocupaba la mitad de la longitud del huevo y el cuerpo había adquirido un gran número de pequeños melanóforos que lo recubrieron completamente. A su vez el número de miómeros aumentó, hasta ocupar toda la longitud del embrión (Fig. 3-1).

A las 29 h se pudo apreciar la formación de las cápsulas óticas, así como los primeros signos de latidos del corazón, acompañado por pequeños movimientos esporádicos del embrión.

Pasadas 31 h desde la freza, el embrión ocupaba las dos terceras partes de la longitud del huevo y realizaba movimientos esporádicos con más frecuencia.

El crecimiento del embrión continuó en las horas siguientes, hasta que su tamaño superó la longitud del huevo y comenzaron una serie de movimientos aprovechando que la región caudal se había desplazado hacia la zona interior del huevo. En el momento de la eclosión el embrión replegaba y extendía su cuerpo empujando las paredes del huevo y haciendo presión con la cabeza. La eclosión de la larva tuvo lugar a partir de las 37 h, aunque las últimas larvas eclosionaron a las 41 h.

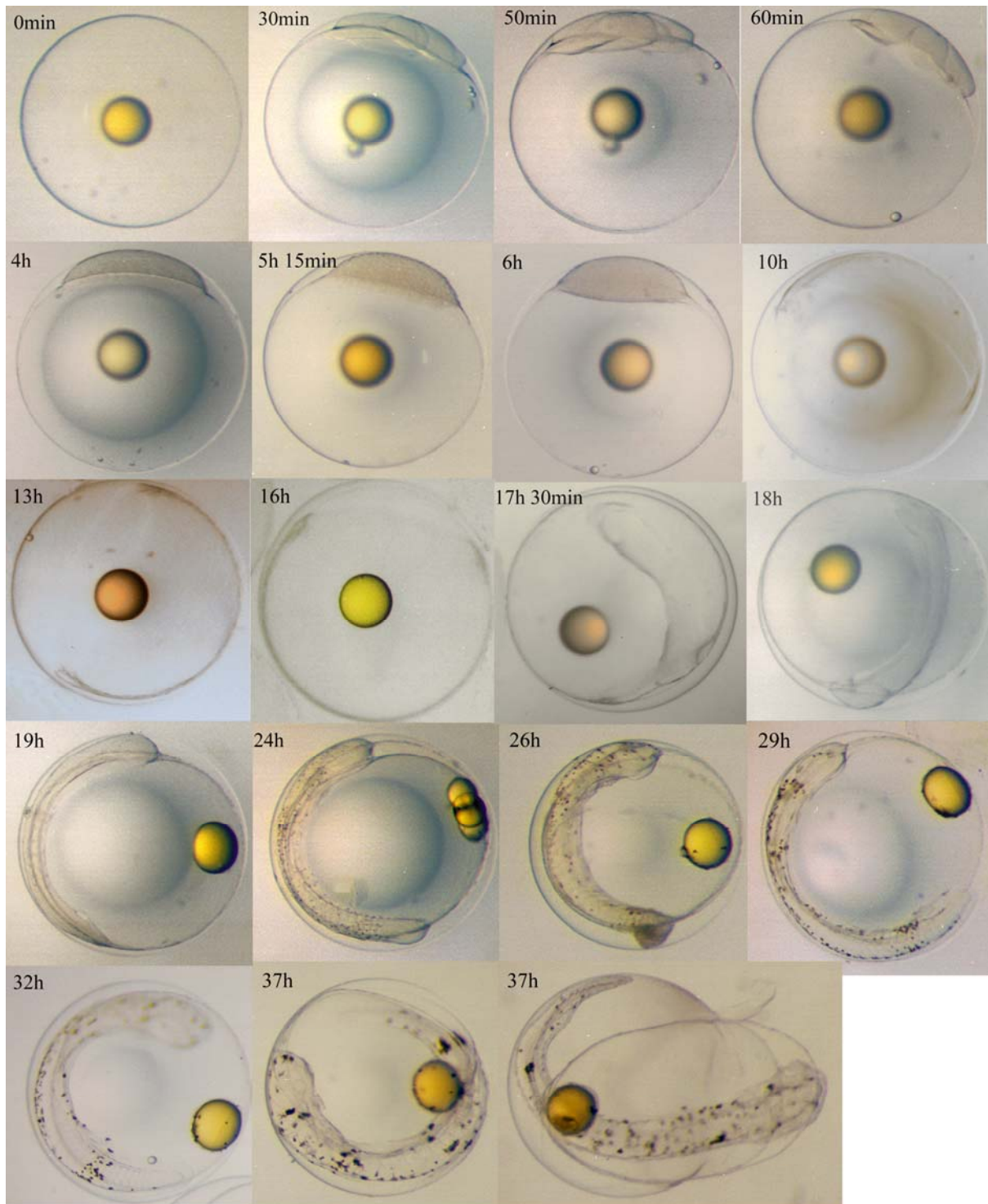


Fig. 3-1.- Desarrollo embrionario en bocinegro.

Aunque lo habitual es encontrar en cada huevo una única gota lipídica, una pequeña proporción de huevos poseían dos, tres o incluso más gotas lipídicas, aunque estas en estos casos eran de tamaño inferior a cuando existe una única gota (Fig. 3-2). Aunque no se llegó a cuantificar la supervivencia de estos embriones, si se constató la presencia de larvas con más de una gota lipídica.

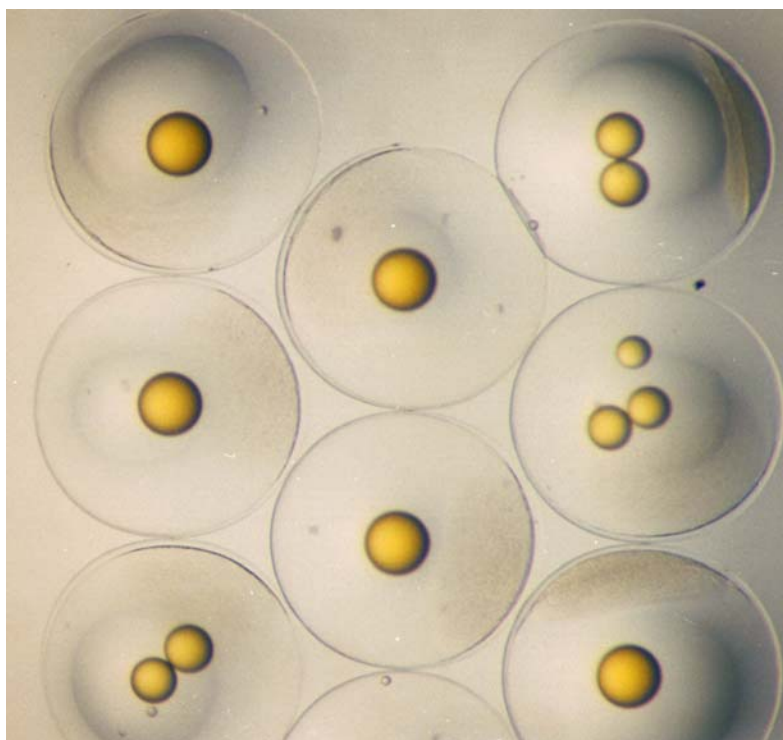


Fig. 3-2.- Huevos con varias gotas lipídicas.

Ocasionalmente, se encontraron embriones inviables durante el desarrollo (Fig. 3-3), aunque esto no fue lo más común, sino que por el contrario era en los primeros estadios durante la segmentación, antes de la formación de la mórula, donde podían observarse huevos deteriorados que no iban a completar su desarrollo.

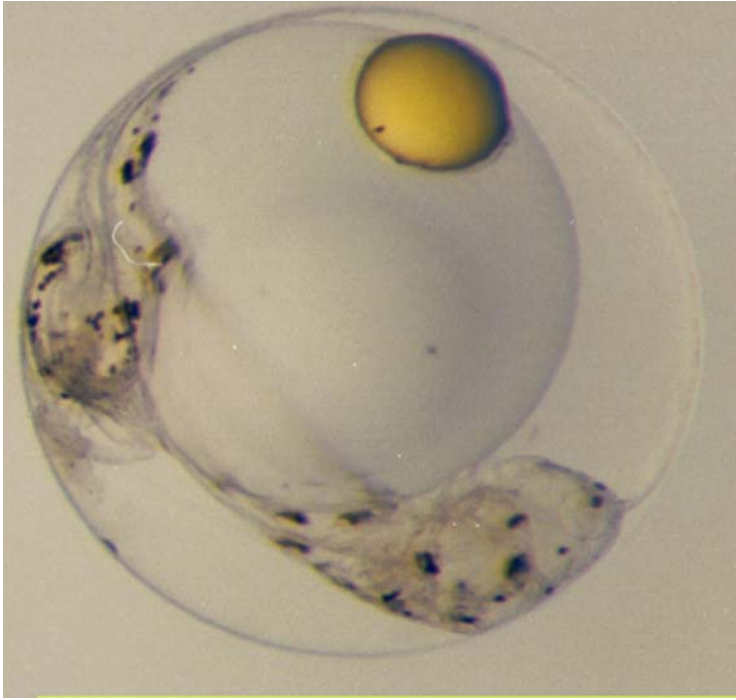


Fig. 3-3.- Embrión con desarrollo anormal, no viable.

3.2.2.- SAMA DE PLUMA

Se dispusieron de 11 individuos adultos capturados en la punta de la Aldea en marzo de 1991; las primeras puestas de sama de pluma tuvieron lugar durante los meses de mayo y junio de 1991. Los tanques de 6.000 litros y con una renovación de 900 litros h⁻¹, rebosaban sobre un depósito con una maya de 500 micras donde los huevos flotantes fueron recogidos directamente. Los huevos se traspasaron posteriormente a embudos de decantación en los que se separaron las fracciones flotante y no flotante.

El desarrollo embrionario se produjo bajo el rango de temperaturas de 19,9 a 21,7 °C. La salinidad fue de 36 ± 1 ‰ y el régimen lumínico mantenido fue de fotoperíodo natural.

Los huevos ya fertilizados eran completamente transparentes, con un diámetro de 0,956 ± 0,02 mm y presentando una gota lipídica central con un diámetro de 0,184 ± 0,005 mm.

A los 20 min de la puesta, la membrana del huevo estaba completamente separada del vitelo formando el espacio perivitelino. La primera célula apareció a los 45 min de la fecundación, formando el disco germinativo. A partir de aquí se produjo la primera división celular que dividió el disco en dos blastómeros iguales a los 60 min de la fecundación. La segunda división se produjo a los 80 min de la fecundación, dejando 4 blastómeros claramente visibles. Los huevos con 8 blastómeros se observaron a los 105 min de la fecundación. Los estados 16 y 32 células se produjeron a los 125 y 150 min de la fecundación respectivamente (Fig. 3-4).

El estado multicelular se observó a las 3h y 15 min (ver Fig. 3-4) de la fecundación, mientras que a la blastulación temprana se llegó a las 4h de la fecundación. El anillo germinativo fue visible a partir de las 8h y 45 min. La gastrulación a las 10 h ya cubría la cuarta parte del huevo, pero no se llegó a cubrir la mitad del huevo hasta las 11h y 45 min (Fig. 3-4).

Las cápsulas ópticas se esbozaron en el embrión a partir de las 12 h y 45 min (Fig. 3-4). A partir de este momento el eje neural fue visible, apreciándose las primeras diferenciaciones

somáticas y la elongación del embrión.

A las 24h y 40 min continuó el crecimiento del embrión y la progresión de la metamerización hacia la zona caudal, con la aparición de un corazón primitivo. A las 27h y 45 min el embrión ocupa ya las dos terceras partes de la periferia del huevo. Las lentes cristalinas están perfectamente formadas, siendo reconocible la cápsula ótica. Los miómeros musculares fueron visibles a las 29h y 15 min. A partir de este momento se observó una intensa pigmentación en la región caudal, la cual comienza a plegarse hacia la región cefálica (Fig. 3-4). A partir de las 33h el embrión comienza a producir movimientos bruscos, sin periodicidad aparente, plegándose y estirándose dentro del huevo.

Entre las 35 y 37 h se produjo la eclosión de todas las larvas.

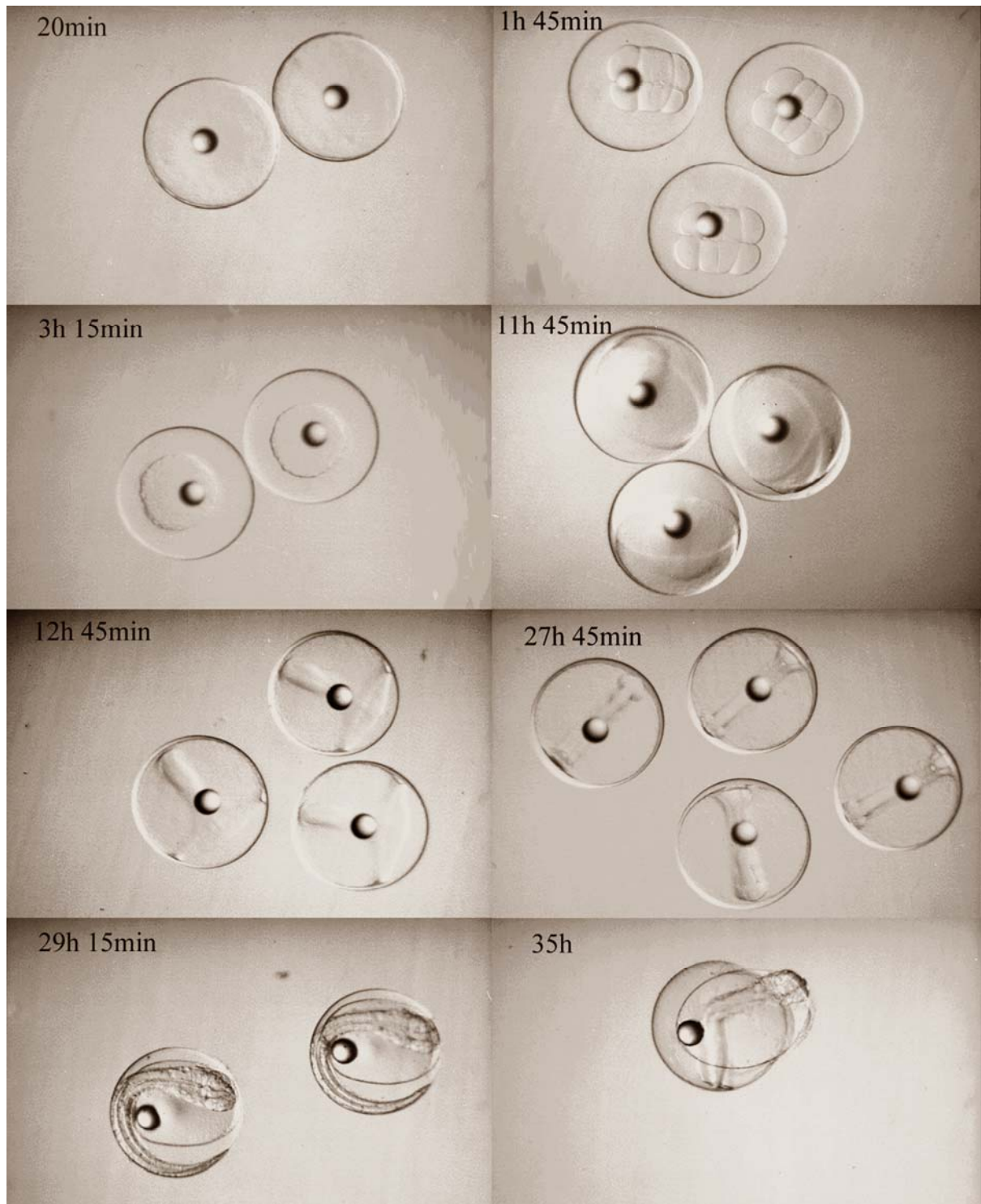


Fig. 3-4.- Desarrollo embrionario de la sama de pluma.

3.3- DISCUSIÓN

Los espáridos realizan la puesta siguiendo un ciclo anual en el cual cada especie pone durante un periodo de tiempo que varía de uno a cinco meses, de acuerdo principalmente con los ciclos de temperatura del mar, aunque se observan variaciones para las distintas zonas de puesta. De esta manera la época de reproducción del bocinegro en Canarias se extiende desde enero hasta marzo, cuando la temperatura del agua del mar oscila entre los 18,5 y los 21 °C (Hernández-Cruz *et al.*, 1990b). Sin embargo en el Atlántico occidental, en particular en Argentina, la puesta se realiza entre los meses de diciembre y enero, con temperaturas que oscilan entre los 21 y los 22,5°C (Ciechomski y Weiss 1973); aunque Machinandirena *et al.* (2003) la establecen en la misma región a partir de octubre, a una temperatura de 18°C. En el caso del Mediterráneo, Kentouri *et al.* (1995) y Stephanou *et al.* (1995) establecieron la época de puesta desde febrero hasta abril, con un rango de temperatura entre los 14,2°C y los 17,8°C, mientras que Mihelakakis *et al.* (2001) con valores de temperatura entre 12,2 y 18°C determinaron que el periodo de puesta puede durar desde febrero hasta junio.

En el presente estudio los huevos de bocinegro tuvieron un diámetro medio de $1,016 \pm 0,026$ mm, mientras que Ciechomski y Weiss (1973) determinaron un rango de diámetro de huevos sin fecundar que osciló entre 610 y 924 μ m. Si bien tras la fecundación el diámetro de los huevos aumenta, esta gran diferencia puede ser debida a causas como las distintas temperaturas existentes en ambos estudios. El bocinegro puede presentar una gran variedad de valores en lo referido al diámetro del huevo, Mihelakakis *et al.* (2001) establecieron una relación entre el tamaño del huevo y la temperatura, observando que con valores de temperatura próximos a los 18°C se obtenían huevos de un diámetro próximo a 1,1 mm, mientras que este valor disminuye hasta poco menos de 1 mm a temperaturas de 12,5°C.

Comparando los resultados obtenidos con los encontrados por otros autores para distintas especies de espáridos, se puede observar una tendencia a la disminución generalizada del tamaño del huevo para esta familia al aumentar la temperatura (Fig. 3-5). En la Tabla 3.1 se señalan los diámetros de huevos y gotas de grasa de algunos espáridos, observándose que la gota de grasa de dentón, *D. dentex*, es mayor que la de sama de pluma, *D. gibbosus*, para el

mismo tamaño de huevo. Esta diferencia podría estar relacionada con una mayor temperatura de incubación en *D. dentex*, o con la diferente distribución geográfica de ambas especies, ya que *D. dentex* se distribuye desde las Islas Británicas a Cabo Blanco y *D. gibbosus* desde Portugal hasta Angola (Bauchot *et al.*, 1981), siendo la gota lipídica en aguas mas frías una importante reserva energética para la larva.

El primer síntoma de fecundación es la formación de un estrecho espacio perivitelino, separándose el corion del ooplasma.

En el caso del bocinegro, en ocasiones se podían observar huevos con más de una gota lipídica, esta anomalía aparece en otras especies como la dorada (Ezzat *et al.*, 1982). A diferencia de otras especies como el medaka (Iwamatsu, 1994), la gota lipídica continúa permaneciendo en el centro del huevo durante las primeras divisiones celulares.

Ciechomski y Weiss (1973) dividieron en tres fases el desarrollo embrionario del bocinegro: Fase 1 desde la fecundación hasta el principio de gastrulación, Fase 2 desde la gastrulación hasta el desprendimiento de la cola del embrión y Fase 3 desde el comienzo del crecimiento de la cola hasta la eclosión. Sin embargo, estas etapas puede ser tan numerosas como el autor decida, existiendo referencias de hasta 39 estadios de desarrollo (Iwamatsu 1994) durante los 9 días que dura el desarrollo embrionario del medaka (*Oryzias latipes*).

Hernández-Cruz *et al.* (1990b) señalan la aparición de los primeros esbozos del embrión de bocinegro hacia las 18 h tras la fecundación, así como la aparición de movimientos erráticos del mismo hacia las 30 h, con una temperatura del agua de 18,5°C. Estos tiempos, aunque ligeramente superiores a los obtenidos en el presente estudio, están de acuerdo con nuestros resultados, siendo causada la diferencia de tiempos por la mayor temperatura a la que nosotros hemos obtenido las puestas naturales.

Ciechomski y Weiss (1973) determinaron que transcurridas 21 h desde la fertilización, cuando el embrión ocupa las dos terceras partes del perímetro del huevo, se produce la formación de las cápsulas ópticas secundarias y las cápsulas óticas. Si comparamos estos horarios con los nuestros, donde el embrión llega a ocupar las dos terceras partes del huevo a las

31 h, coincidiendo con la formación de las cápsulas óticas, observamos que hay una diferencia de 10 h durante ambos desarrollos. Esto coincide con la diferencia obtenida entre las eclosiones de las dos experiencias y nos indica que en las primeras etapas del desarrollo, durante la fase de segmentación, gastrulación y hasta la fase de neurula, la temperatura influye decisivamente en el tiempo de desarrollo, mientras que en la fase de organogénesis del embrión el proceso se retrasa y se hace menos dependiente de la temperatura.

Antes de la eclosión, el embrión comienza a producir movimientos bruscos, sin periodicidad aparente, probablemente debido a la liberación de enzimas que poseen en la cabeza encargadas de deshacer la cubierta del huevo (Faranda *et al.*, 1985).

La vesícula de Kupffer es observada en ambas especies antes de las 20 h, funcionando durante la mitad del periodo del desarrollo embrionario como un hepatopáncreas. Al cerrarse el blastoporo se funde con los esbozos intestinales y hepáticos.

El periodo de tiempo desde el momento de la fecundación hasta la eclosión varía entre las especies, incluso dentro de una misma familia, estando afectado sobretodo por la temperatura. Así en el caso del pargo japonés (*Pagrus major*) a 20°C es necesario llegar a las 50 h desde el momento de la puesta (Fukuhara, 1985). En el caso de la dorada, *Sparus aurata*, el desarrollo embrionario puede variar desde las 135 h a 11°C hasta las 40 h a 21,3°C (Camus y Koutsikopoulos, 1984), mientras que Ciechomski y Weiss (1973), determinaron que el tiempo de eclosión para el bocinegro era de entre 28 y 38 h en temperaturas que oscilaban de 21,5 a 22,5°C. Observando estos valores, se puede apreciar que el tiempo de eclosión de estas especies presentan una gran dependencia de la temperatura, en nuestro caso el tiempo máximo de eclosión de 41 h sucedió a una temperatura de 19°C, mientras que a poco más de 21°C se produjo la eclosión a las 37h, con lo cual nuestro rango de valores está dentro de lo predecible. A partir de los 21°C, el tiempo de eclosión se reduce drásticamente (Ciechomski y Weiss 1973), pero repercute negativamente en la supervivencia y calidad de las larvas (Camus y Koutsikopoulos, 1984). Valores similares a los obtenidos en nuestro estudio fueron determinados por Hernández-Cruz *et al.* (1990b), donde obtuvieron el tiempo de eclosión de 42 h para una temperatura de 18,5°C. Así mismo, valores de temperatura de 18°C para el bocinegro originan tiempos de eclosión de 50 h (Machinandirena *et al.*, 2003) y a 15°C el tiempo se

prolonga hasta las 65 h (Radonic *et al.*, 2005).

El desarrollo del embrión del dentón (*Dentex dentex*) sucede solo en un intervalo de temperatura de 12 a 18°C, pereciendo en los primeros estadios por debajo de los 10°C, y ya en fase de gastrulación a partir de los 20°C (Sakas *et al.*, 2004).

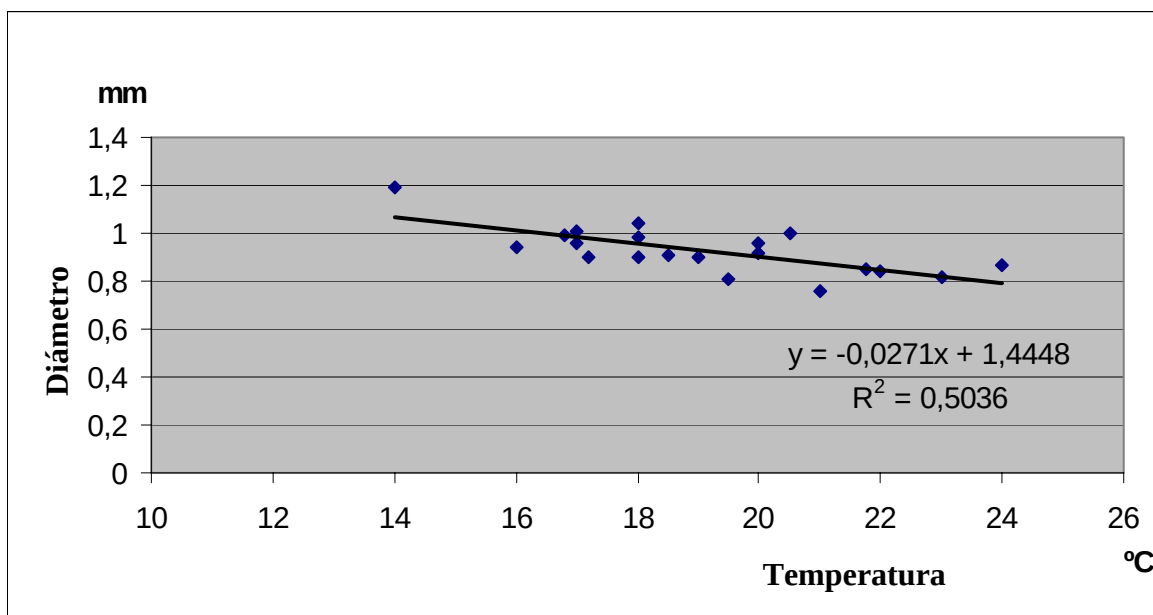


Fig. 3-5.- Diámetro de huevos de distintos espáridos y su relación con la temperatura a la que se realizó la puesta.

Existen diversos estudios relacionando la temperatura con la duración del desarrollo embrionario, donde se ha comprobado que a mayor temperatura el desarrollo embrionario tiene menor duración. Sin embargo, lo difícil de esta relación es plasmar los límites de temperatura para conseguir una mejor eficacia del desarrollo, es decir un menor tiempo pero con la mayor supervivencia posible. En la Tabla 3.2 se señala la duración del desarrollo embrionario en función de la temperatura de diversos espáridos. En la Fig. 3-6 se muestra la correlación inversa entre el periodo de desarrollo embrionario y la temperatura a la cual tiene lugar. En esta figura la reproducción de los espáridos predomina en un rango de temperatura que oscila entre los 18 y 21 grados, temperaturas frecuentes del mar en las Islas Canarias, indicando la idoneidad de nuestras aguas para el cultivo de un gran número de estas especies.

Tabla 3.1.- Diámetro de huevo y gota lipídica para diversos espáridos

ESPECIE	HUEVO mm	GOTA mm	REFERENCIA
<i>Acanthopagrus cuvieri</i>	0,780 - 0,84	0,170 - 0,200	Hussain <i>et al.</i> (1981)
<i>Acanthopagrus schlegeli</i>	0,902 ± 0,027	---	Fukuhara (1987)
<i>Archosargus probatocephalus</i>	0,82	0,2	Tucker (1987); Powell y Greene (2005)
<i>Archosargus rhomboidalis</i>	0,80-0,94	0,21-0,26	Powell y Greene (2005)
<i>Dentex dentex</i>	0,958 ± 0,07 1,005±0,0197	0,208 ± 0,06 0,218 ±0,012	Glamuzina <i>et al.</i> (1989) Pastor <i>et al.</i> (1995;1997)
<i>Dentex gibbosus</i>	0,956±0,02	0,184 ±0,005	Fernández-Palacios <i>et al.</i> (1994)
<i>Diplodus puntazzo</i>	0,845	0,180 - 0,200	Faranda <i>et al.</i> (1985)
<i>Diplodus sargus</i>	0,975 - 1,02	0,150 - 0,210	Divanach <i>et al.</i> (1982)
<i>Diplodus vulgaris</i>	1,010 ±0,02	0,220 ± 0,008	Jug-Dujakovic <i>et al.</i> (1988)
<i>Lithognathus mormyrus</i>	0,700-0,820	0,150-0,220	Divanach <i>et al.</i> (1983a)
<i>Pagellus bogaraveo</i>	1,19±0,0215	0,025	Peleteiro <i>et al.</i> (1999)
<i>Pagrus auratus</i> o <i>Chrysophrys auratus</i>	0,80 - 1,00	---	Pankhurst <i>et al.</i> (1991)
<i>Pagrus auriga</i>	1,0	---	Cardenas <i>et al.</i> (2003)
<i>Pagrus major</i>	0,918 ±0,029	---	Fukuhara (1985)
<i>Pagrus pagrus</i>	0,810 - 0,88 0,890-0,930 0,991-1093	0,176 - 0,194 0,180-0,200	Ciechomski <i>et al.</i> (1973) Machinandirena <i>et al.</i> (2003) Mihelakakis <i>et al.</i> (2001)
<i>Sparus aurata</i>	0,940 ± 0,05 0,980 ± 0,02	0,230 ± 0,02 0,220 ± 0,01	Ezzat <i>et al.</i> (1982) Ramos (1978)
<i>Stenotomus chrysops</i>	0,80-1,00	0,17-0,21	Powell y Geene (2005)

Tabla 3.2.- Duración del desarrollo embrionario en diversos espáridos, y la temperatura a la cual tuvo lugar.

ESPECIE	Tª °C	HORAS	LT LARVA	REFERENCIAS
<i>Acanthopagrus cuvieri</i>	16,5 - 22,5 18 - 21	34,5 36	1,72 - 1,96 ---	Hussain <i>et al.</i> (1981) Ridha <i>et al.</i> (1983)
<i>Acanthopagrus schlegeli</i>	17,2	48	2,179 ± 0,056	Fukuhara (1987)
<i>Archosargus probatocephalus</i>	23	28	1,65	Tucker (1987)
<i>Archosargus rhomboidalis</i>	24	22	2,0-2,2	Powell y Greene (2005)
<i>Cheimerius nufar</i>	20 - 23	36 - 40	---	Garrat <i>et al.</i> (1989)
<i>Dentex dentex</i>	17 18 15,6-23,7	79,10 ---- 72-48	2,17 ± 0,2 3,012-3,213 2,6 ± 0,1	Glamuzina <i>et al.</i> (1989) Arizcum <i>et al.</i> (2003) Abellan <i>et al.</i> (1997)
<i>Dentex gibbosus</i>	19 - 21	35	2,097 ± 0,12	Fernández-Palacios <i>et al.</i> (1994)
<i>Diplodus puntazzo</i>	22	24 - 26	1,69	Faranda <i>et al.</i> (1985)
<i>Diplodus sargus</i>	16,8	64	3	Divanach <i>et al.</i> (1982)
<i>Diplodus vulgaris</i>	17	58,50	2,63 ± 0,07	Jug-Dujakovic <i>et al.</i> (1988)
<i>Lagodon rhomboides</i>	18	48	---	Powell y Greene (2005)
<i>Lithognathus mormyrus</i>	21 19	39 40	--- 1,73	Divanach <i>et al.</i> (1983a) Divanach <i>et al.</i> (1983b)
<i>Pagellus bogaraveo</i>	14 ± 1	58	3,7 ± 0,093	Peleteiro <i>et al.</i> (1999)
<i>Pagrus auratus</i>	18 - 20	36 - 48	2,06 (LS)	Pankhurst <i>et al.</i> (1991)
<i>Pagrus auriga</i>	20-21	---	3,186 ± 0,026	Prieto <i>et al.</i> (2003)
<i>Pagrus major</i>	20	48 - 50	2,01 ± 0,06	Fukuhara (1985)
<i>Pagrus pagrus</i>	21 - 22,5 18,5 18°C 15°C	28 - 38 42 - 43 50h 65h	2,420 2,60 ± 0,13 2,6-2,8 ---	Ciechomski <i>et al.</i> (1973) Hernández-Cruz <i>et al.</i> (1990b) Machinandirena <i>et al.</i> (2003) Radonic <i>et al.</i> (2005)
<i>Sparus aurata</i>	16 18	65 49	2 2,0 - 2,4	Ezzat <i>et al.</i> (1982) Ramos (1978)
<i>Stenotomus chrysops</i>	18	70-75	2,0	Powell y Greene (2005)

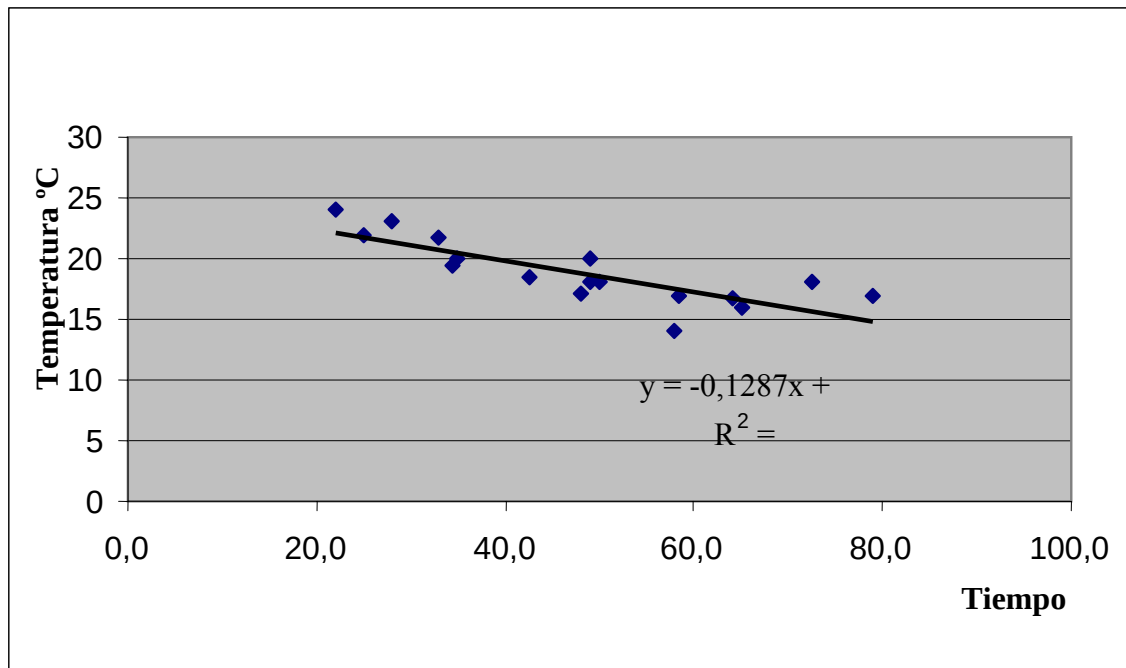


Fig. 3-6.- Relación entre la temperatura de incubación y la duración del desarrollo embrionario en espáridos.

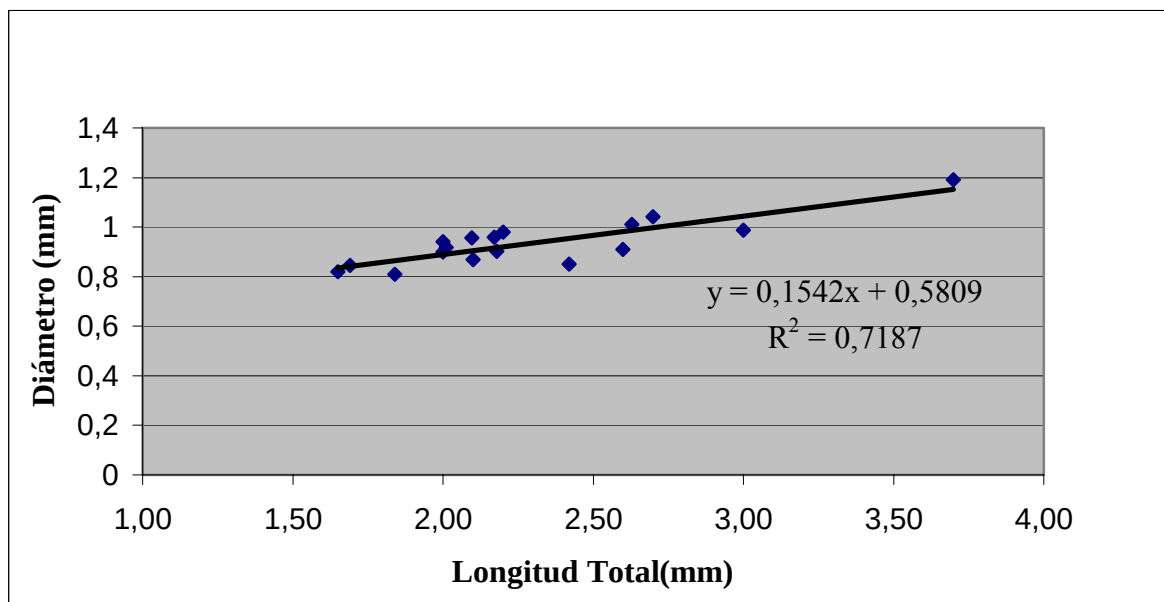


Fig. 3-7.- Relación entre el diámetro del huevo y la longitud de la larva en los espáridos.

Por otro lado, la temperatura a la que tiene lugar la puesta y el desarrollo embrionario nos va a determinar la calidad del huevo, y con ello la calidad de la larva (Kjorsvik *et al.*, 1990; Fernández Palacios *et al.*, 1994). La longitud total de la larva presenta una correlación directa con el diámetro del huevo en la familia de los espáridos (Fig. 3-7), donde entre las distintas especies a mayor tamaño del huevo mayor longitud larvaria lo que implica una mayor capacidad de predación y esperanza de supervivencia.

4.- Anatomía y morfometría de la larva



4.- ANATOMÍA Y MORFOMETRÍA DE LA LARVA

El presente capítulo se ha dividido en tres apartados independientes. En primer lugar, se presentan las características morfológicas externas más relevantes, tales como anatomía externa, pigmentación, aparición de aletas, etc.... A continuación se describen los principales patrones de osificación que siguen las larvas durante el primer mes de vida, haciendo mayor hincapié en la osificación de sus aletas, vértebras y huesos de la cabeza. Y por último, pero no por ello menos importante, se realizó un estudio morfométrico de las principales características de las larvas, tales como longitud total, longitud estándar y altura del cuerpo entre otras, que permitirá conocer la evolución de las larvas y determinar el estado en el que se encuentren en cualquier momento en los futuros cultivos.

4.1.- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

4.1.1.- ANTECEDENTES

De todas las características fascinantes que se pueden encontrar en el conocimiento de cualquier especie, quizás sea su aspecto el que mas llame la atención, no solo por el placer de observar un ser con unas características morfológicas determinadas, sino porque nos hace valorar la gran diversidad de organismos que nos rodea.

Para aquellos que no se han relacionado de forma directa con los peces, no es de extrañar el oír una expresión tal como “todos los peces son iguales”; nada más lejos de la realidad para aquellos que admiramos y nos preocupamos por conocer el mundo marino. Pero si indagamos un poquito más y procuramos observar un simple pez en sus primeros días de vida, podemos comprobar lo grande y lo pequeño que nos hace sentir a la vez una simple larva.

Una vez admitida la majestuosidad de esta simple larva, vamos a preocuparnos de aprovechar este descubrimiento de sus características morfológicas para poder utilizarla como elemento útil a nuestra vida, tal como puede ser su producción en acuicultura.

Los primeros estudios realizados sobre el conocimiento de las larvas de peces fueron “simples” estudios descriptivos, sin ser quizás conscientes de ser el principal soporte para toda una serie de técnicas y estudios que se han de apoyar “*a posteriori*” en él.

El antecesor de toda una generación de científicos que se han preocupado de divulgar los aspectos relevantes de las larvas de peces fue el Dr. Elbert Halvor Ahlstrom, el cual durante los años 50 sentó las bases para el estudio de las larvas de peces marinos, seguido hasta nuestros días por científicos como Blaxter, Giovoni o Kendall.

En general el estudio de las larvas de peces, presenta una serie de características relevantes que nos van a marcar las etapas de su desarrollo. Si bien estas características son comunes en todas las larvas como pueden ser la apertura de la boca, la formación de las aletas, el desarrollo del digestivo, la formación de escamas, etc., otras características pueden ser peculiares para algunos grupos de peces como por ejemplo, la migración del ojo, para los pleuronectiformes.

Pedersen (1995) relaciona el rápido crecimiento en los primeros días de la vida de la larva con la mortalidad existente, ya que la mortalidad decrece rápidamente según incrementa el tamaño de la larva. Sin embargo, el crecimiento de la larva está determinado por las condiciones de cultivo (Koumoundouros *et al.*, 1995) que afectan significativamente a diversos parámetros morfométricos tales como la altura del cuerpo, o la altura cefálica. Dentro de las condiciones de cultivo, la temperatura es uno de los parámetros físicos que mas influye en el crecimiento de la larva. De esta forma en un espárido como la dorada, Polo en 1991 estableció un rango entre los 16 y los 22 grados para el desarrollo embrionario y larvario de la dorada, y fuera de este intervalo la mortalidad incrementa considerablemente. La fase más crítica de su desarrollo aparece cuando las larvas han absorbido el vitelo y comienza la alimentación exógena (Watanabe y Kiron, 1994).

Muy pocas son las referencias encontradas que hagan mención a las características morfológicas de las especies a estudio. En el caso del bocinegro destacan los trabajos de Ciechomski y Weiss (1973), Hernández-Cruz *et al.* (1990b), Kentouri *et al.* (1995),

Machinandiarena *et al.* (2003), mientras que para la sama de pluma solo encontramos el trabajo de Fernández Palacios *et al.* (1994).

El objetivo de este capítulo fue la descripción de algunos aspectos morfológicos del desarrollo larvario tales como formación de boca, aletas, escamas, inflación de la vejiga natatoria, flexión de la notocorda, pigmentación, etc. que van a establecer las pautas para el correcto desarrollo de las técnicas de acuicultura para la sama de pluma y el bocinegro.

Para el presente estudio fueron anestesiadas, observadas y fotografiadas un mínimo de 30 larvas diariamente de cada especie. La toma de muestra se realizó a primera hora de la mañana cada día. La temperatura de cultivo fue de $20,1 \pm 1,2$ °C para el bocinegro y de $20,8 \pm 0,9$ °C para la sama de pluma. El cultivo se realizó en tanques de 500 litros en circuito abierto y bajo condiciones naturales de fotoperiodo.

4.1.2.- RESULTADOS

4.1.2.1.- BOCINEGRO

En el **momento de la eclosión** la larva de bocinegro era muy transparente resaltando la presencia de pequeños núcleos de melanóforos y xantóforos (pigmentos negros y amarillos respectivamente) dispersos por su cuerpo, sobretudo en la región dorsal, y una estrecha banda característica situada a partir del tercer cuarto de su longitud (Fig. 4-1).

La larva recién nacida presentó un gran **saco vitelino** elipsoidal que ocupaba aproximadamente el primer tercio de la longitud de la larva, con una única gota lipídica en el extremo distal del mismo. Esta gota presentó diferentes tonalidades de amarillo, e inclusive pudieron observarse varias gotas, aunque estas de menor tamaño. La **gota lipídica** poseía varios melanóforos de forma estrellada sobre su envuelta, mientras que el saco vitelino carecía de ellos (Fig. 4-1). Al eclosionar la larva carecía de **boca**, que se fue esbozando gradualmente hasta el tercer día, donde se produjo la apertura de la misma, esta situación puede prolongarse por casi un día más en algunas larvas. El cuerpo de la larva estaba rodeado por una única **aleta** embrionaria que lo envuelve. El **corazón** en el momento de la eclosión se identificó por sus latidos, estando situado en posición anterior al saco vitelino (Fig. 4-2). Las **cápsulas óticas** con los otolitos se observaron perfectamente desde la eclosión detrás de las cápsulas ópticas (Fig. 4-2).

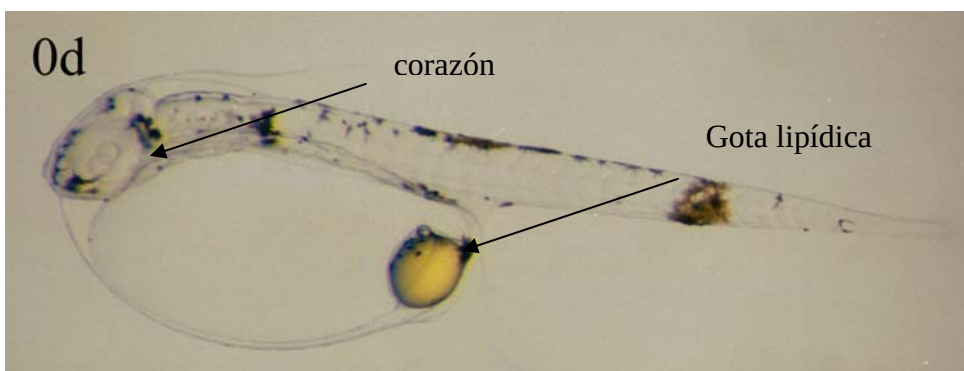


Fig. 4-1.- Larva de bocinegro recién eclosionada.

La primera etapa de la larva se denomina fase lecitotrófica, y abarca desde el momento de la eclosión hasta que se produjo la apertura de la boca y la alimentación larvaria no dependía exclusivamente del saco vitelino. En nuestras condiciones de temperatura, la apertura de la boca se produjo entre el tercer y cuarto día. A partir del momento en que la larva abrió la boca se produjo una evolución constante en sus características morfológicas que implicó la estructuración del digestivo, la inflación de la vejiga natatoria y la formación de dientes y escamas, últimos estadios de la fase larvaria.

El **saco vitelino** redujo gradualmente su tamaño, pasando de tener poco más de un milímetro en el momento de la eclosión a reducir su longitud a la sexta parte en los tres primeros días (Tabla 4-1). A partir del cuarto día solo quedó un pequeño resto del mismo, que terminó por desaparecer completamente al séptimo día.



Fig. 4-2.- Larva de bocinegro de dos días.

El **sistema visual** de la larva se desarrolló muy rápidamente en los primeros cuatro días. En el momento de la eclosión se observaron los glóbulos oculares con una estructura homogénea e incolora, comenzando a notarse los signos de pigmentación en el día 2, destacando la pigmentación de la retina sobre la cual resalta un cristalino esférico en posición central. El ojo era altamente reflectante, con tonos azulados.

Tabla 4-1 Evolución morfométrica del saco vitelino y gota lipídica durante los 5 primeros días (Lsc: Longitud del saco vitelino; Hsc: Altura del saco vitelino; DG: Diámetro de la gota lipídica)

<i>Pagrus pagrus</i>		0 h	12 h	1d	2 d	3 d	4 d	5 d
Lsc	$\bar{x}$	1,17	0,85	0,83	0,38	0,20		
	sd	0,09	0,06	0,06	0,04	0,02		
Hsc	$\bar{x}$	0,71	0,48	0,47	0,29	0,24		
	sd	0,10	0,04	0,06	0,03	0,02		
DG	$\bar{x}$	0,25	0,23	0,22	0,16	0,10	0,07	0,06
	sd	0,02	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01	0,01

El patrón de **pigmentación** de las larvas lecitotróficas presentó algunos cambios posteriores. Así al cuarto día desapareció la banda de pigmentos situada cerca de la región caudal. Por otro lado predominó la disposición de melanóforos rodeando al sistema digestivo, en la zona del riñón anterior y en la cabeza, sobretudo en las cápsulas óticas. Sin embargo, seguían quedando restos de melanóforos en forma estrellada dispersos por la región ventral en la mitad caudal de la larva. A partir del día 7 fue característico de esta especie el melanóforo en posición anterior al ano. Este patrón de pigmentación se repitió durante los 30 días de estudio, aunque la presencia de los mismos no fue siempre con la misma intensidad, sobretudo en la región nasal, en la cerebral y en la digestiva. Así mismo, apareció un aumento de intensidad en las mandíbulas al final del periodo de estudio. En el día 30, la larva había comenzado a recubrir su cuerpo de escamas (Fig. 4-3).



Fig. 4-3.- Formación de escamas en larva de bocinegro de 30 días (microscopio de barrido).



Fig. 4-4.- Larva de bocinegro de 25 días.

Las **aletas pectorales** se esbozaron a partir del segundo día de vida, con un rápido desarrollo en los cinco primeros días, facilitando la natación de la larva. Al día 7 se observó un importante estrangulamiento de la aleta embrionaria en la región caudal, diferenciándose

así la **aleta caudal**. En el día 25, con el inicio de la flexión de la larva (Fig. 4-4), que dura hasta casi el día 40, comenzó la formación de la **aleta anal** en dirección ventral-dorsal que fue desplazándose hacia la apertura anal durante los siguientes días. En este mismo día 25, aparece la **aleta dorsal**, que crece rápidamente y que en el día 30 se observa con apariencia erguida. En el día 30 se apreció el rápido desarrollo de las **aletas ventrales** destacando a partir de ese día la pigmentación amarillenta que fueron adquiriendo las aletas, sobretodo las ventrales y dorsal.

A partir del cuarto día, se observó el desarrollo de las **mandíbulas** y los cartílagos que forman la región bucal. Mientras que los primeros esbozos de dentición en la mandíbula inferior se apreciaron a partir del día 7, no se observaron pequeños dientes en ambas mandíbulas hasta el día 15. A partir de aquí, continuó el desarrollo de las mandíbulas hasta el día 30, apreciándose una poderosa dentición (Fig. 4-5).

Las **branquias**, visibles a la lupa binocular desde el segundo día, evolucionaron rápidamente a partir del día 7 con un crecimiento constante y continuo de las mismas, ocupando cada vez mas espacio dentro de la cavidad branquial, a partir del día 20 ocupaban toda la cavidad branquial. El desarrollo de las lamelas secundarias resaltó la coloración rojiza de esta zona, ocupando principalmente la región posterior de la cavidad branquial. Una de las estructuras de protección que posee la larva son las **espinas branquiales**, que se observaron desde el día 7, con el crecimiento de los opérculos. A los 15 días, estas espinas están dirigidas hacia la región ventral y cubrían el cuerpo de la larva ocupando la región cardíaca y parte de la hepática, continuando su desarrollo con el crecimiento de la larva (Fig. 4-6).

La característica morfológica determinante de la larva de bocinegro es la **espina nugal** (Fig. 4-7), que se evidenció a partir del día 10. Esta espina creció gradualmente desde este día hasta final del período de estudio, el día 30. A partir de aquí, el mayor crecimiento de la cabeza hizo que la espina nugal tuviese una menor proporción con respecto al resto de la cabeza.

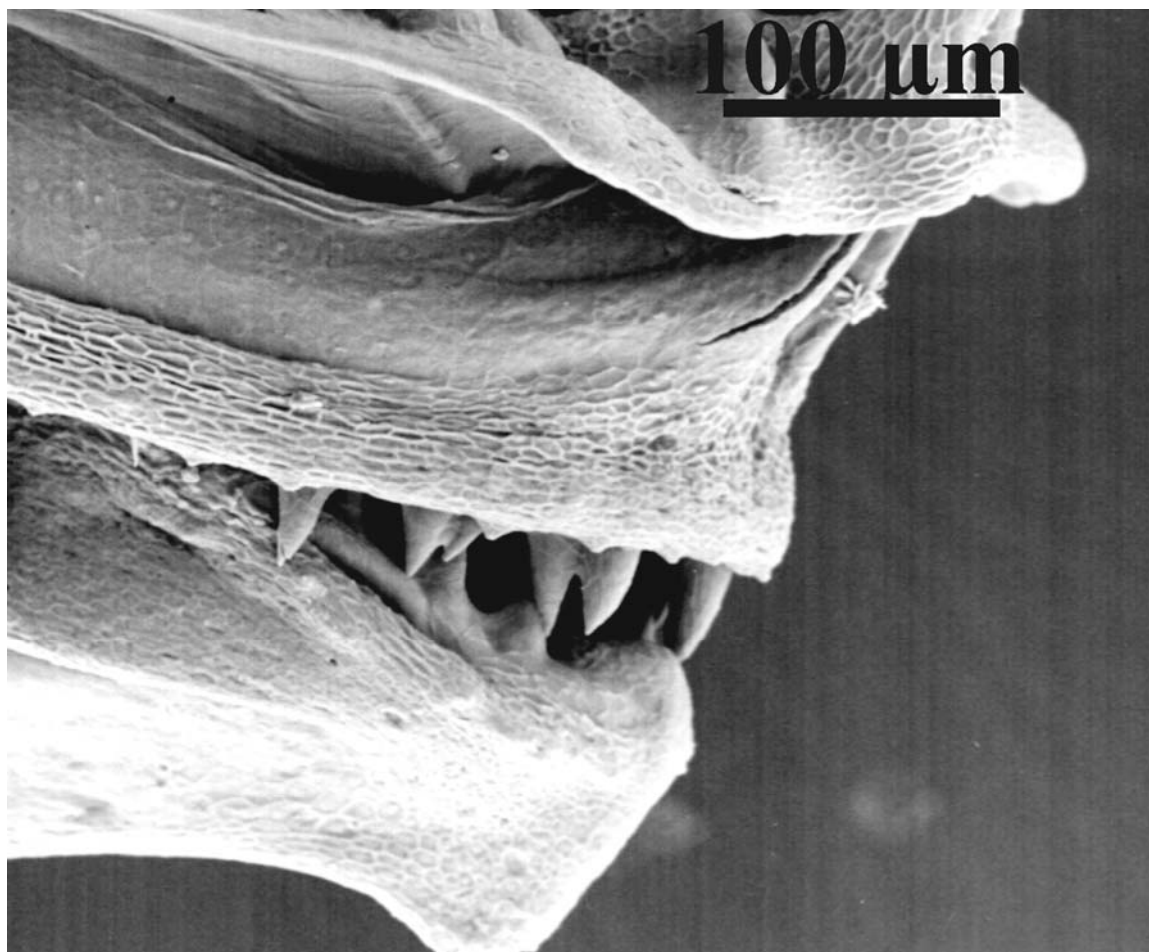


Fig. 4-5.-Características de la boca de la larva de bocinegro de 30 días (microscopio de barrido).

En larvas recién eclosionadas ya se observó un **digestivo** primitivo presionado por el saco vitelino. Desde el primer día se observó el engrosamiento del tubo **digestivo**, que aumentó principalmente durante los cuatro primeros días. Al tercer día se formó la válvula ileocecal, que separa el digestivo medio del posterior. En el tubo digestivo no se observaron pliegues en los primeros días, siendo este rectilíneo en la zona anterior, comenzándose a curvarse en ángulo recto en la zona posterior a partir del día uno para dar lugar al ano. El ano no se abrió hasta el tercer día de vida larvaria. A la semana de vida se observó el primer bucle en el digestivo medio, mientras que las primeras bandas que implican pliegues del mismo se evidenciaron a la tercera semana de desarrollo.

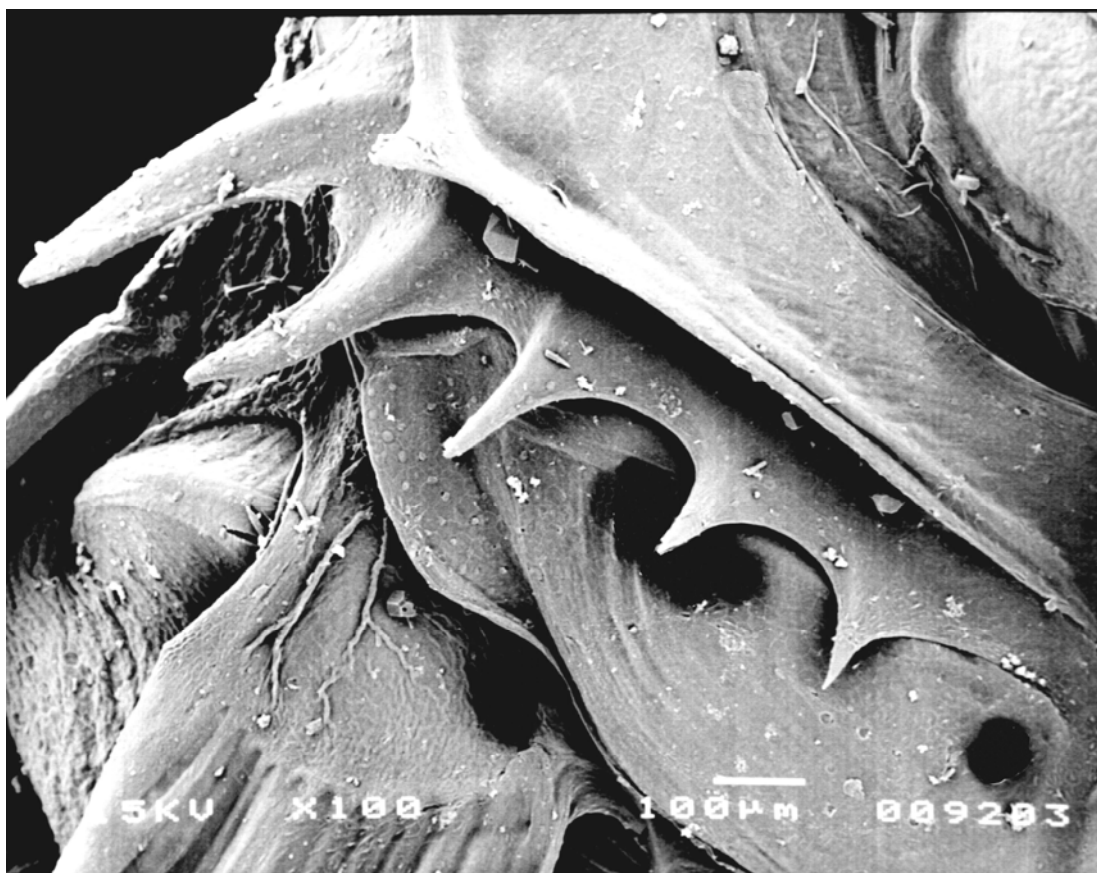


Fig. 4-6.- Opérculo y espinas branquiales en larva de bocinegro de 30 días (microscopio de barrido, barra 100 μ m).

En la lupa binocular el **hígado** se pudo observar desde el cuarto día. A partir de ese momento se produjo un crecimiento importante en este órgano, localizado en posición próxima al corazón, siendo el primer órgano visible de la cavidad digestiva, con aspecto de enmallado y aumentando su volumen durante la primera semana de vida de la larva.

La **vejiga urinaria** se observó a partir del segundo día de vida, estando situada en posición dorsal al recto y siendo completamente funcional en el cuarto día. Se visualizaron depósitos cálcicos en la misma, sobretodo a partir de la tercera semana de vida de la larva, que en ocasiones estuvieron acompañados de inflamación de la vejiga (Fig. 4-8).

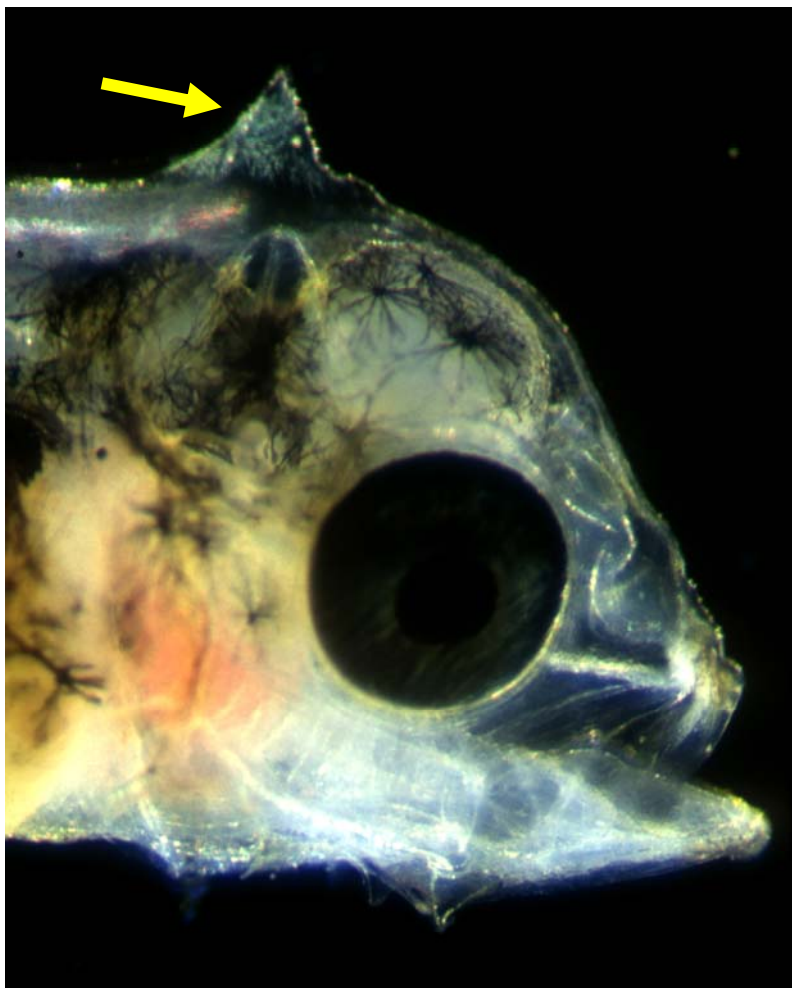


Fig. 4-7.- Cabeza de larva de bocinegro de 24 días, destacando la espina nual (flecha).

El **bazo** fue visible desde el día 3 y se diferenció por ser un pequeño corpúsculo de coloración rojiza situado en medio de la masa visceral. Este órgano se hizo mucho más visible a partir del día 5, aumentando su tamaño y su intenso color.

Externamente la **vejiga natatoria**, situada en posición dorsal a la masa visceral, comenzó a evidenciarse a partir del día 5 de la larva, con una longitud inicial de 0,20 mm, aunque su crecimiento no fue patente hasta los días 8 y 10 donde se puede observar la inflación de la misma.

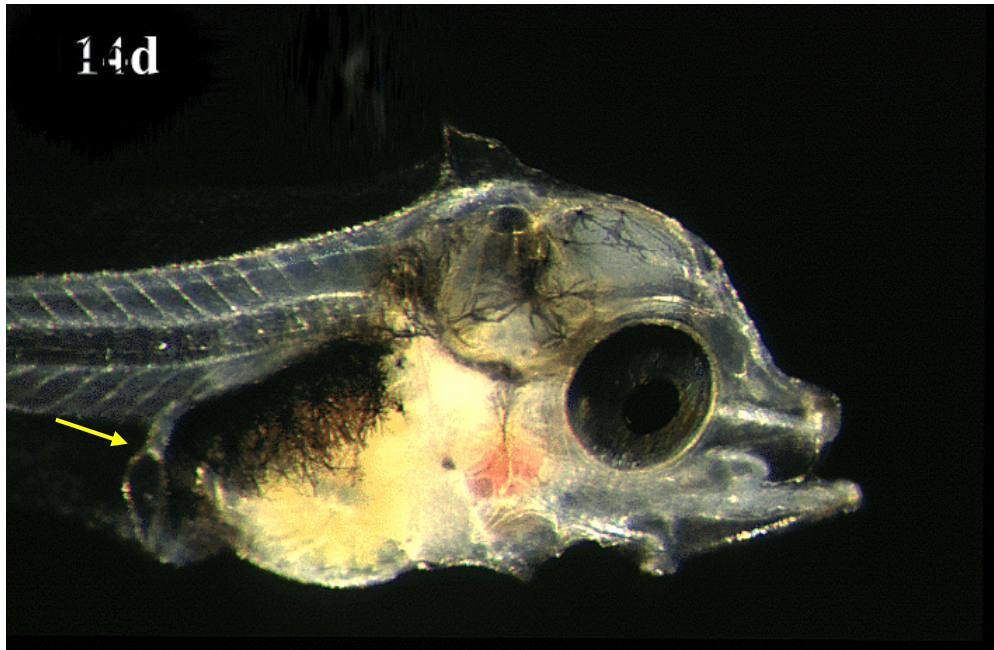


Fig. 4-8.- Larva de bocinegro de 14 días, donde se aprecia inflamación de vejiga urinaria y la presencia de cálculos cálcicos (flecha).

4.1.2.2.- SAMA DE PLUMA

La larva de sama de pluma, se caracterizó por ser en el **momento de la eclosión** muy transparente, y presentar durante los primeros días de vida una banda de cromatóforos (xantóforos) en la zona media de la región caudal, característica que puede permitir diferenciarla de otras larvas de peces marinos (Fig. 4-9, 4-10). En el momento de la eclosión midió $2,097 \pm 0,12$ mm con un **saco vitelino** de $1,189 \pm 0,09$ mm de longitud y $0,822 \pm 0,096$ mm de diámetro que sobrepasaba por delante la altura de la cabeza y llegaba hasta la zona del ano. El saco vitelino ocupó aproximadamente las dos terceras parte de la longitud total de la larva y poseía una sola gota lipídica en la zona posterior del saco. La reducción del saco vitelino fue gradual a medida que la larva iba creciendo reabsorbiéndose progresivamente durante las primeras 72 horas de vida en que desaparece totalmente (Fig. 4-9 a la 4-12 y tabla 4-2).



Fig. 4-9.- Larva de sama de pluma recién eclosionada.

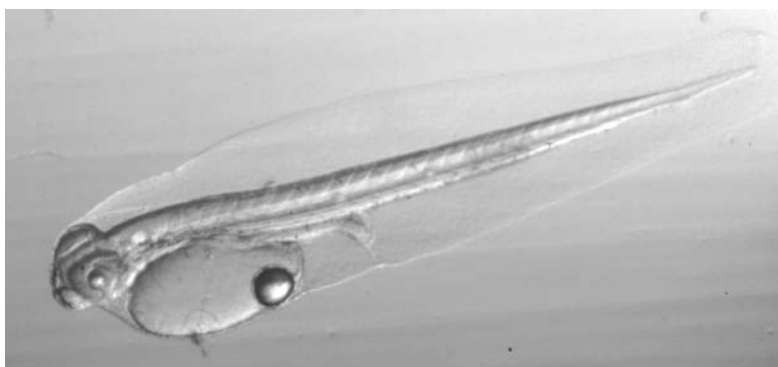


Fig. 4-10.- Larva de sama de pluma de 1 día.

En el segundo día de vida se podía observar todavía la gota lipídica en la parte inferior del saco vitelino (Fig. 4-11). Esta reserva lipídica perduró un poco más que el vitelo, con un diámetro inicial de 0,19 mm, y que prácticamente había desaparecido el tercer día de vida.

Tabla 4-2. Evolución morfométrica del saco vitelino y gota lipídica durante los 3 primeros días (Lsc: Longitud del saco vitelino; Hsc: Altura del saco vitelino; DG: Diámetro de la gota lipídica)

<i>Dentex gibbosus</i>		0 h	12 h	1d	36h	2 d	60h	3 d
Lsc	$\bar{x}$	1,19	1,00	0,90	0,56	0,40	0,17	
	sd	0,09	0,07	0,12	0,11	0,11	0,05	
Hsc	$\bar{x}$	0,82	0,63	0,58	0,46	0,35	0,22	
	sd	0,1	0,05	0,05	0,06	0,07	0,04	
DG	$\bar{x}$	0,19	0,17	0,14	0,14	0,12	0,08	0,08
	sd	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03

En cuanto a su **sistema visual**, la organización de las capas que forman la retina fue evolucionando desde una estructura sin diferenciar en el momento de la eclosión hasta la formación de capas concéntricas. A las 48 horas destacó en la lupa binocular la buena definición de la estructura de las capas más externas, con una alta transparencia en el cristalino y tonos ligeramente azulados en su retina.

En la **epidermis** de la larva en los primeros días de vida se pudieron observar abundantes neuromastos libres, que permiten a la larva identificar presas y estímulos, mientras se desarrolla completamente su sistema sensorial. Estos neuromastos permanecieron durante todo el desarrollo larvario (Fig. 4-13).

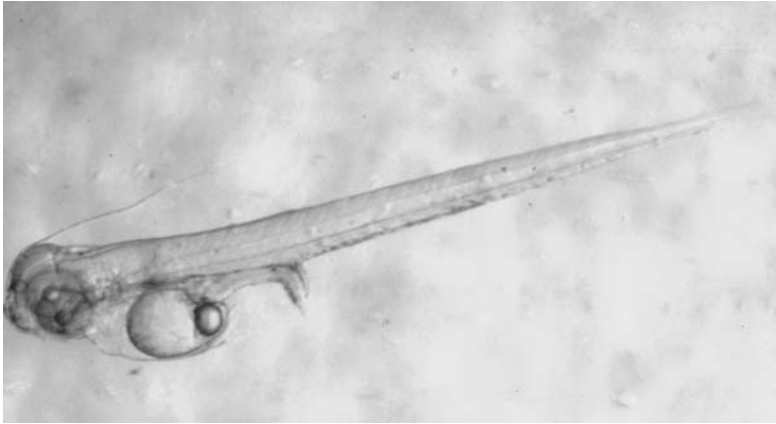


Fig. 4-11.- Larva de sama de pluma de 2 días.

A las 60 horas, se observaron algunas larvas con la boca abierta (Fig. 4-12) en las que el saco vitelino casi ha desaparecido. También se observaron las pequeñas **aletas pectorales** que le permitirán perseguir a las ya necesarias presas, ya que la larva comienza a desarrollar su actividad predadora.

A los 3 días de vida, ya se apreciaron la mayoría de las larvas con la **boca** abierta. A su vez el **ano** estaba muy próximo a abrirse, sobresaliendo del resto de la epidermis. A partir del día 4, todas las larvas poseían la boca formada y con rotíferos en digestión dentro de la luz del digestivo.



Fig. 4-12.- Larva de sama de pluma de 60 horas.

En el momento de la eclosión, la estructura del tubo **digestivo** no se diferenciaba a través de la lupa binocular, observándose una disposición de tejido sin estructurar, en posición dorsal al saco vitelino (Fig. 4-9). A las 24 horas se apreció como un tubo de morfología simple y rectilínea, y es a partir del segundo día cuando se observó una curvatura en ángulo recto descendente en la región distal de este tubo, conduciendo esta, antes del tercer día de vida, a la ubicación del ano.

El tubo digestivo, caracterizado desde el tercer día por dicho ángulo recto, se fue engrosando, observándose la formación de pliegues en las invaginaciones de su pared. La estructura rectilínea fue desapareciendo en la región media del tracto digestivo (Fig. 4-14), dando lugar a una curvatura del tubo, produciéndose a partir del día 13 un bucle o lazo en la zona caudal del digestivo, previo al último tramo descendente que lo une con el ano.



Fig. 4-13. - Neuromastos libres en larva de sama de pluma de 16 días, barra 10 µm.

El **hígado**, situado en la zona anterior de la masa visceral, se observó macroscópicamente con un aspecto algodonoso, que fue aumentando considerablemente en densidad a partir del cuarto día de vida. Su tamaño incrementó con la edad de la larva, ocupando a día 13 una gran parte de la cavidad visceral.

La **vejiga natatoria** pudo observarse desde el día 6 de vida de la larva, tenía forma de pequeño saco en posición ventral al notocordio y a una altura ligeramente posterior al hígado. Su tamaño inicial fue de 0,2 mm, y aumentó a partir del día 9 con las primeras inflaciones. Su evolución morfométrica será estudiada en el capítulo de morfometría, mientras que su caracterización histológica lo será en el capítulo 5 del desarrollo histológico.



Fig. 4-14. - Larva de sama de pluma de 10 días.

En el segundo día de vida, los 4 arcos branquiales estaban definidos, aunque con una pobre superficie lamelar. A partir del tercer día, se pudo observar el desarrollo del sistema branquial, con un incremento de tejido en dicha región. Sin embargo, es a partir del día 11 cuando se observó el desarrollo de las lámelas secundarias, con un incremento intenso en la tonalidad rojiza de esta zona (Fig. 4-15).

Las primeras **aletas** en desarrollarse fueron las pectorales, que pudieron observarse desde el tercer día. Un estudio mas detallado de la organogénesis de las aletas, así como su osificación será ampliado en el capítulo de osteogénesis.

La visión de la larva se acentuó a partir del tercer día de vida, tras abrir la boca y tener la necesidad de localizar las presas. En este día 3, incrementó la intensidad de color de la retina, con la formación de las capas nucleares externas, altamente melanófora. La envuelta corioide se pudo observar a partir del día 11.



Fig. 4-15.- Larva de sama de pluma de 16 días.

El **bazo** se pudo diferenciar microscópicamente a partir del día 7, teniendo la apariencia de un pequeño corpúsculo que se observa inmerso dentro de la masa visceral. Este órgano fue fácilmente localizable por la alta intensidad rojiza que presenta, y su tamaño se fue incrementando con la edad de la larva, aunque no la intensidad de su coloración.

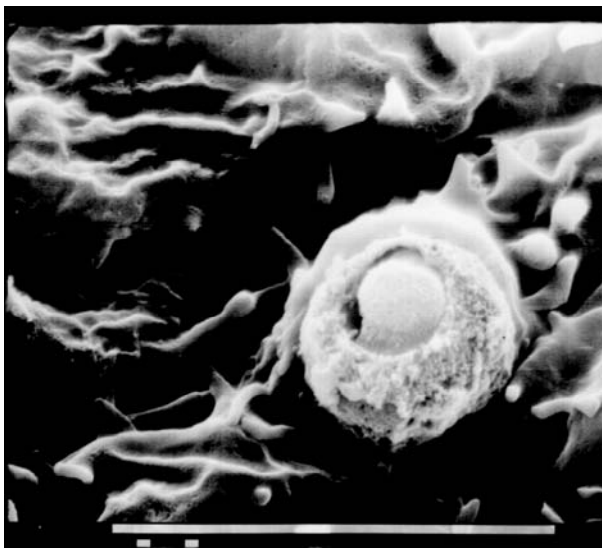


Fig. 4-16.- Liberación de material de desecho a través de los poros dérmicos en una larva de sama de pluma de 20 días (barra 10 μ m, microscopía electrónica de barrido).

El riñón, situado a lo largo del eje longitudinal de la larva, en posición ventral a la musculatura que envuelve al notocordio, se diferenció en la lupa binocular desde el día 7 por una intensa banda de pigmentos melanóforos que lo cubre a lo largo de su longitud. La capacidad de excreción de la larva se complementaba por medio de la secreción de partículas de desecho (Fig. 4-16) a través de los poros ubicados en la epidermis, intercalados entre las células epiteliales (Fig. 4-17)

La **dermis** de la larva estaba recubierta por células mucosas y órganos sensoriales, los neuromastos dispersos en el epitelio. La percepción olfativa se realizaba a través los órganos olfativos en la parte frontal de la cabeza (Fig. 4-18), situados encima de la mandíbula superior.

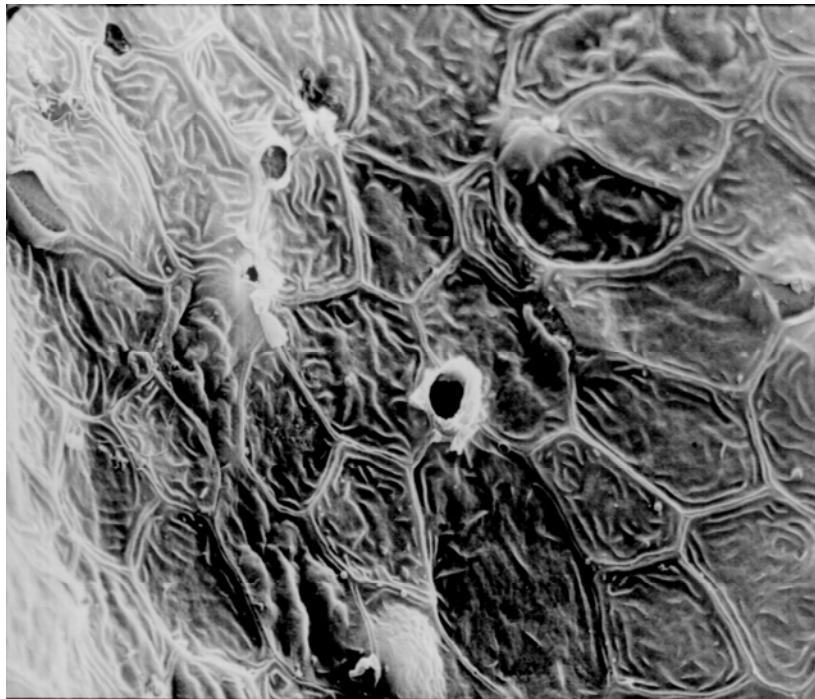


Fig. 4-17.- Detalle de poros en la dermis de larva de sama de pluma de 25 días (microscopía electrónica de barrido).

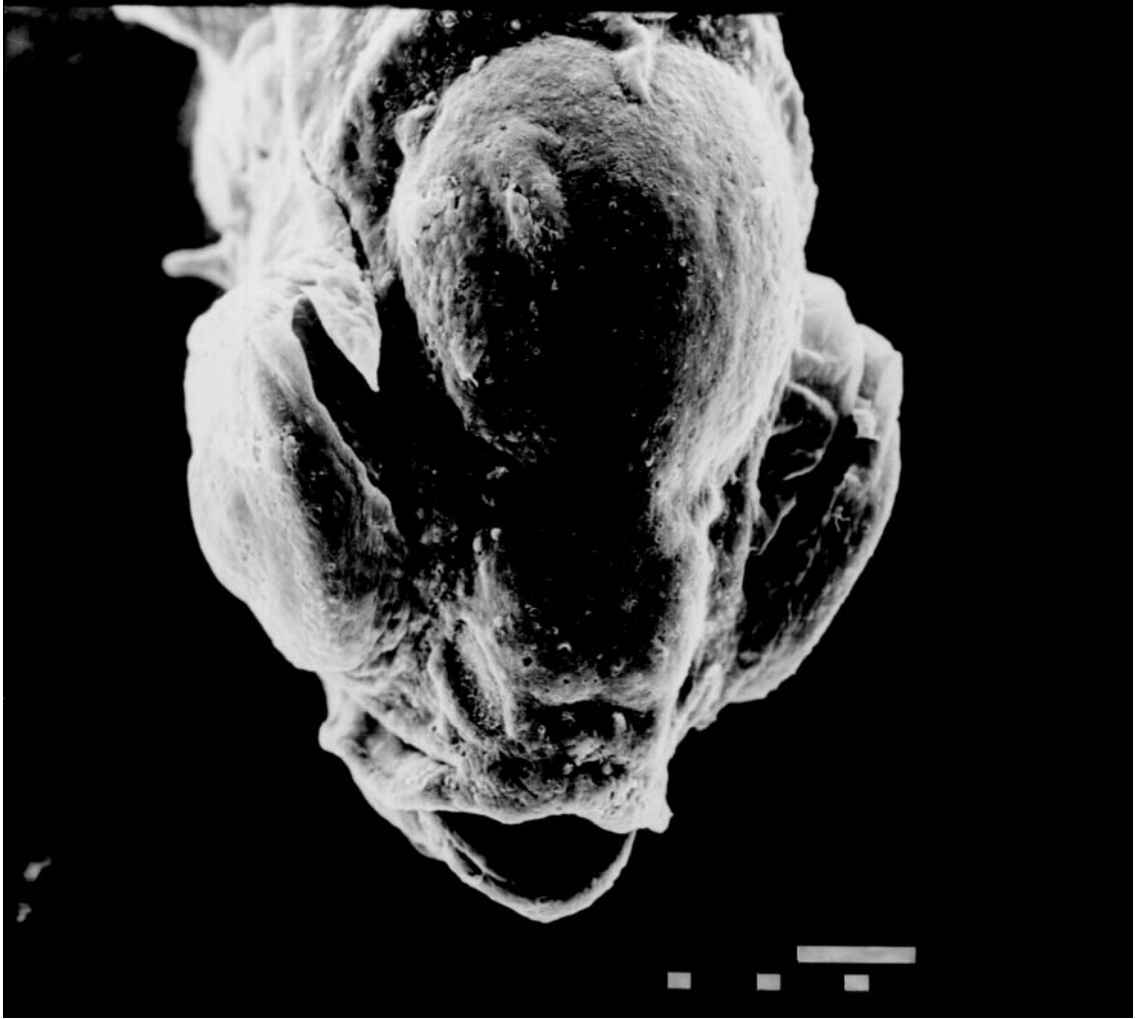


Fig. 4-18.- Larva de sama de pluma de 20 días, destacando los órganos olfativos (Barra 100 μ m, microscopía electrónica de barrido).

4.1.3.- DISCUSIÓN

La organogénesis de la larva, está relacionada con sus necesidades fisiológicas, alimenticias y natatorias. De esta manera, cualquier cambio fisiológico siempre va a ir acompañado por cambios morfológicos que puedan permitir esta evolución. En este sentido, el inicio de la alimentación exógena es determinante en la morfología de la larva, que pasa de una alimentación por absorción de sus reservas vitelinas a la captura de presas vivas. Así, durante la organogénesis van sucediendo una serie de eventos que incluyen el desarrollo de una boca, hasta el momento innecesaria o la evolución de las aletas, que le permitan mayor eficacia en la persecución de sus presas. Además la reducción en la flotabilidad, suministrada por la gota lipídica que va siendo consumida progresivamente, es compensada por la formación de la vejiga natatoria cuando la gota termina por desaparecer. De esta forma, las características morfológicas nos ayudan a entender los procesos fisiológicos que van sucediendo en la larva.

Ranzi (1969) y Ciechowski y Weiss (1973) aportaron las primeras descripciones de las características morfológicas de las larvas de bocinegro. Ciechowski y Weiss (1973) describen durante los primeros cuatro días de la larva de besugo, como se denomina al bocinegro en Argentina, la distribución de melanóforos y xantóforos. Las células con pigmentos amarillos están distribuidas por el cuerpo en cinco franjas: dos principales, una entre el ano y el extremo caudal y otra a la altura del ano, y tres menos pronunciadas: detrás de la cápsula ótica, detrás del ojo y detrás de las cápsulas olfatorias. El presente trabajo corrobora estas observaciones y establece el patrón de pigmentación posterior al cuarto día. Por un lado desaparece la banda de melanóforos ubicada entre el ano y la región caudal y por otro se incrementa la presencia de pigmentos en la región cefálica y el digestivo, y se sitúa un melanóforo estrellado muy próximo al ano.

Por otra parte, nuestro estudio corrobora la formación de la boca a partir de las 60 horas y el consumo de una proporción importante de vitelo al tercer día de vida tal como fue descrito por Ciechowski y Weiss (1973). La coincidencia en las observaciones entre estos estudios está relacionada con la semejanza en las temperaturas ensayadas en ambos. Por otro lado Mihelakakis *et al.* (2001) trabajando a una temperatura máxima de 21°C observan que la boca está formada a partir de los dos días aunque no es funcional hasta el

tercero. En rangos de temperaturas mas bajos Stephanou *et al.* (1995) y Machinandiarena *et al.* (2003) señalan que a 18°C la apertura de la boca se realiza entre el tercer y cuarto día en que la larva ya ha consumido el vitelo y comienza su alimentación exógena.

Así, Mihelakakis *et al.* (2001) describen la completa absorción del saco vitelino en el bocinegro al cuarto día, mientras que en el presente estudio sucedió en el tercero, y la absorción completa de la gota lipídica el día 7, dos días más tarde que los señalados en este trabajo. La temperatura influye en la organogénesis de los teleósteos, así como en las características morfológicas de estos (Fukuhara, 1990), por lo que las diferencias entre ambos estudios estarían relacionadas con la menor temperatura en el estudio de Mihelakakis *et al.* (2001), con valores que alcanzaron los 17 °C, tres grados menos que los del presente estudio.

Dentro del género *Dentex*, quizás la especie más próxima por su hábitat, distribución y morfología a la sama de pluma es el dentón (*Dentex dentex*, Linnaeus 1758). Glamuzina *et al.* (1989) realizan las primeras experiencias con el cultivo larvario del dentón a 17°C, y encuentran que la completa absorción del saco vitelino sucede el día 8, mientras que la gota lipídica permanece hasta el día 10, ocurriendo la formación de la boca en el día 6, un poco antes de agotar las reservas de vitelo. Sin embargo Arizcun *et al.* (2003) señalan que la apertura de la boca, la reabsorción del saco vitelino, la pigmentación en los ojos y la aparición de las aletas pectorales tienen lugar el segundo día de vida en el dentón cuando el cultivo se realizaba a 18 °C, mientras que a 17 °C, tiene lugar en el tercer día de vida. Resultados casi idénticos hemos obtenido con la sama de pluma entre los 20 y los 21°C, donde la formación de la boca, y el consumo del vitelo tuvo lugar un poco antes de llegar a los 3 días.

Mihelakakis *et al.* (2001) determinan que la inflación de la vejiga natatoria en el bocinegro ocurre a partir del día 5 de vida a una temperaturas entre 20 y 21°C, con un 100% de larvas con la vejiga funcional en el día 7. Sin embargo, Stephanou *et al.* (1995) determinan que a 18 °C solo el 75% de las larvas de bocinegro tenían la vejiga natatoria inflada el día 10. Socorro *et al.* (2001) observaron mediante técnicas histológicas la formación de la misma a partir del día 4, aunque la inflación comenzó días más tarde.

Arizcun *et al.* (2003) sugieren que la inflación de la vejiga natatoria en el dentón no se ve afectada claramente por la temperatura, ocurriendo generalmente esta cuando las larvas tienen 7 días. La sama de pluma sigue una evolución similar al dentón inflando la vejiga natatoria a partir del 6 día de vida. Por otro lado Abellán *et al.* (2000), señalan una mayor proporción de larvas de dentón con inflación de la vejiga natatoria con un fotoperiodo de 18h de luz, régimen lumínico muy similar al utilizado en nuestro estudio.

La formación de escamas es uno de los últimos estadios del desarrollo larvario. En este estudio se observó que tanto en la sama como en el bocinegro la formación de escamas comienza antes del día 30 de vida. Resultados similares obtuvo Arizcun *et al.* (2003) para el dentón, que comienza la formación de escamas el día 28. Ya alcanzada esta edad (Fig. 4-19) ambas especies tienen una morfología de alevín, pendiente de terminar el recubrimiento completo por las escamas.

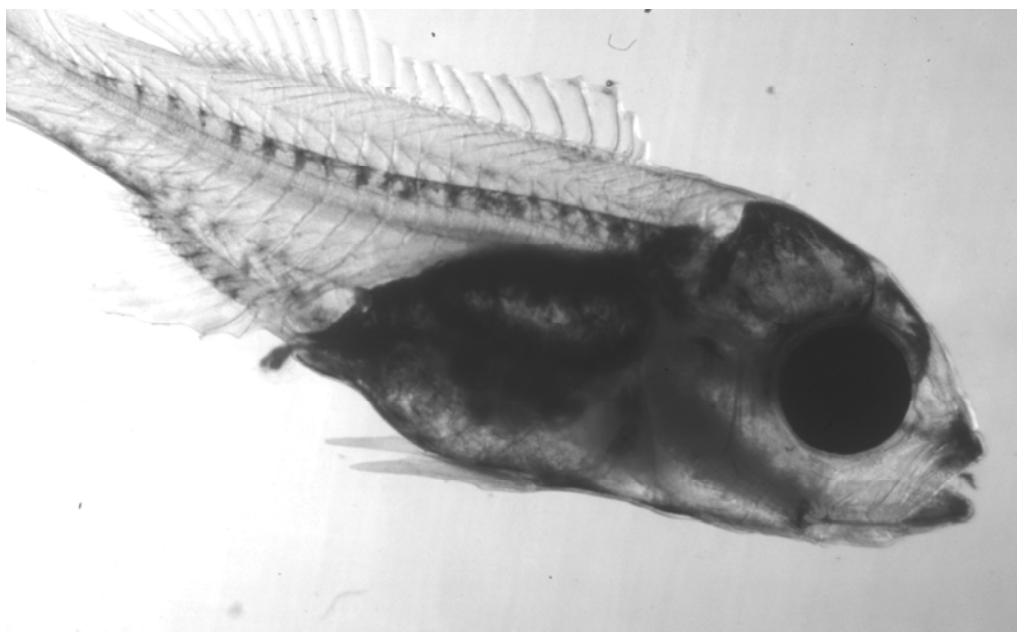


Fig. 4-19.- Larva de sama de pluma de 30 días, con una morfología próxima al alevín.

Aunque morfológicamente podemos tener una idea de la evolución de las características visuales de las larvas de peces marinos, es necesario recurrir a técnicas más precisas como los estudios histológicos para observar los cambios morfológicos. De esta forma Roo *et al.* (1999) estudiaron el desarrollo del sistema visual del bocinegro, asociado

a los cambios en su tracto digestivo. Estos autores observan como desde el día 3 las larvas de bocinegro habían comenzado a predar, existiendo un importante incremento de los fotorreceptores visuales el día 4, esta característica se refleja externamente por una gran capacidad reflectora de la retina, y con cambios de tonalidades en el ojo de la larva. A su vez la aparición de los fotorreceptores en forma de bastón coincide con el inicio del estómago funcional, demostrando la relación directa existente entre las necesidades alimenticias y los cambios morfológicos en el sistema visual.

La evolución de las características morfológicas de las larvas de peces marinos, sigue un patrón similar, inclusive en familias distintas a la de los espáridos. De esta forma, una especie tan dispar como el silago japonés (*Sillago japonica*) (Oozeki *et al.*, 1992) presenta un patrón muy similar a la sama de pluma y al bocinegro: abre la boca el día 3, agota su saco vitelino el día 5, aumenta la superficie branquial el día 11, se produce la flexión de la notocorda el día 18, desarrolla las aletas pectorales el día 21 y aparecen signos de formación de estómago el día 24. Esta cronología podría aplicarse con pequeñas variaciones a cualquiera de las dos especies del presente estudio, lo que evidencia la complejidad de asociar características evolutivas a patrones filogenéticos.

4.2.- DESARROLLO OSTEOLÓGICO

4.2.1. – ANTECEDENTES

A pesar de que se han realizado varios estudios acerca de la biología y el estado de las pesquerías del bocinegro o pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) (Manooch y Hassler, 1978; Alekseev, 1982; 1983; González *et al.*, 1988; Lozano *et al.*, 1990; Pajuelo y Lorenzo, 1996) y la sama de pluma (*Dentex gibbosus*, Rafinesque, 1810) (Abdelkader y Ktari, 1983; Mennes, 1984; Pajuelo y Lorenzo, 1995), los estudios referentes al desarrollo larvario del bocinegro (Ciechomski y Weiss, 1973; Hernández-Cruz *et al.*, 1990; Stephanou *et al.*, 1995; Kentouri *et al.*, 1994; 1995) o la sama de pluma (Fernández-Palacios *et al.*, 1994) son escasos, y ninguno de ellos hace referencia específica al desarrollo osteológico.

El origen y progresión de las deformidades esqueléticas en los peces de cultivo es en muchos casos desconocida, si bien hay una alta incidencia de las mismas en la piscicultura frente al medio natural. El origen de estas alteraciones o malformaciones, puede ser de diversa naturaleza, tales como genética, fisiológica, medioambiental, nutricional, contaminante, etc. (Hinton y Lauren, 1990; Faustino y Power, 1998; Hattori *et al.*, 2003).

La determinación de los patrones de osificación habituales en cada una de las especies mediante el estudio osteológico durante el desarrollo larvario, permite determinar con mayor precisión las causas de deformidades y el efecto de las condiciones de cultivo y manejo sobre las mismas. Koumoundouros *et al.* (2001) han estudiado el efecto que producen las condiciones de cultivo en el dentón, incluyendo algunas deformidades que aparecen en estas larvas. De igual forma Matsuoka (2003) demuestra el efecto de las condiciones de cultivo en el pargo japonés (*Pagrus major*) en los cambios osteológicos que suceden en esta especie.

El bocinegro es una especie que actualmente está en auge dentro de la acuicultura mediterránea, con buenas perspectivas de futuro (Stephanou *et al.*, 1995) (Kentouri *et al.*, 1995). Igualmente la sama de pluma es un espárido con muy prometedoras condiciones para la acuicultura (Fernández Palacios *et al.*, 1994), estando todavía su cultivo en fase

experimental. Por ello el conocimiento de los cambios más representativos que ocurren durante sus primeros días de vida, facilitarán el desarrollo de las técnicas específicas de cultivo de estas especies. El conocimiento sobre la formación de huesos y cartílagos, los cuales están relacionados con la funcionalidad de la respiración, predación y natación entre otros, permitirá adaptar los sistemas de cultivo a las necesidades reales de la larva durante las distintas fases de su desarrollo. Además, al inicio de este estudio se desconocía la naturaleza de la espina nuchal del bocinegro, por lo que se trató de averiguar si estaba constituida por cartílago y si éste llegaba a osificarse y en que momento sucedía.

Por ello, el objetivo de este capítulo fue analizar el proceso de osificación de las larvas de bocinegro y de sama de pluma, centrándonos en la formación del aparato bucal, branquial y en el proceso de la formación de vértebras y aletas. Ello nos permitirá entender los cambios de comportamiento en el sistema de cultivo y la adaptación de la larva a las nuevas presas vivas e inertes que puedan ser suministradas, dándonos información muy valiosa sobre la susceptibilidad al manejo de ambas especies durante los primeros 30 días de vida.

Para el presente estudio tomamos un mínimo de 10 larvas para ambas especies en los días 10, 16, 20 25 y 30. Las larvas fueron cultivadas en tanques de 500 litros sometidas a circuito abierto y bajo condiciones natural de fotoperiodo. El rango de temperatura fue de 18,9 a 21,4°C para el bocinegro y de 19,9 a 21,7 °C para la sama de pluma.

4.2.2. – RESULTADOS

Hemos estructurado el estudio del desarrollo de los cartílagos y huesos atendiendo a zonas diferenciadas anatómica y fisiológicamente. Comenzaremos por los huesos de la cabeza: mandibulares, de recubrimiento y respiratorios. A continuación veremos el sistema vertebral principal, para seguir con la aleta caudal y por último el resto de las aletas.

4.2.2.1. – BOCINEGRO

4.2.2.1.1.- Región cefálica

Desde el día 10 se pudo observar la formación de las siguientes estructuras mandibulares: el maxilar superior, el cartílago de Meckel, el cartílago cuadrado y el hiomandibular (Fig. 4-20 y 4-21). En el día 16, comenzó la osificación del maxilar y el hiomandibular, que completó su osificación el día 20. La osificación de las mandíbulas ocurrió el día 25 y los dientes, comenzaron a formarse desde el día 15.

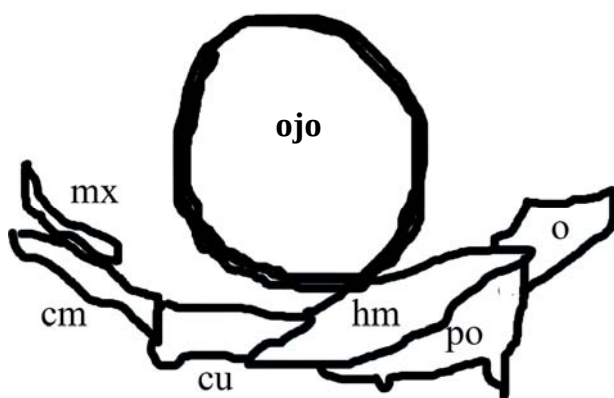


Fig. 4-20.- Esquema de los principales cartílagos del rostro en larva de bocinegro a los 10 días (mx: maxilar; cm: cartílago de Meckel; cu: cuadrado; hm: hiomandibular; po: preopérculo; o: opérculo).

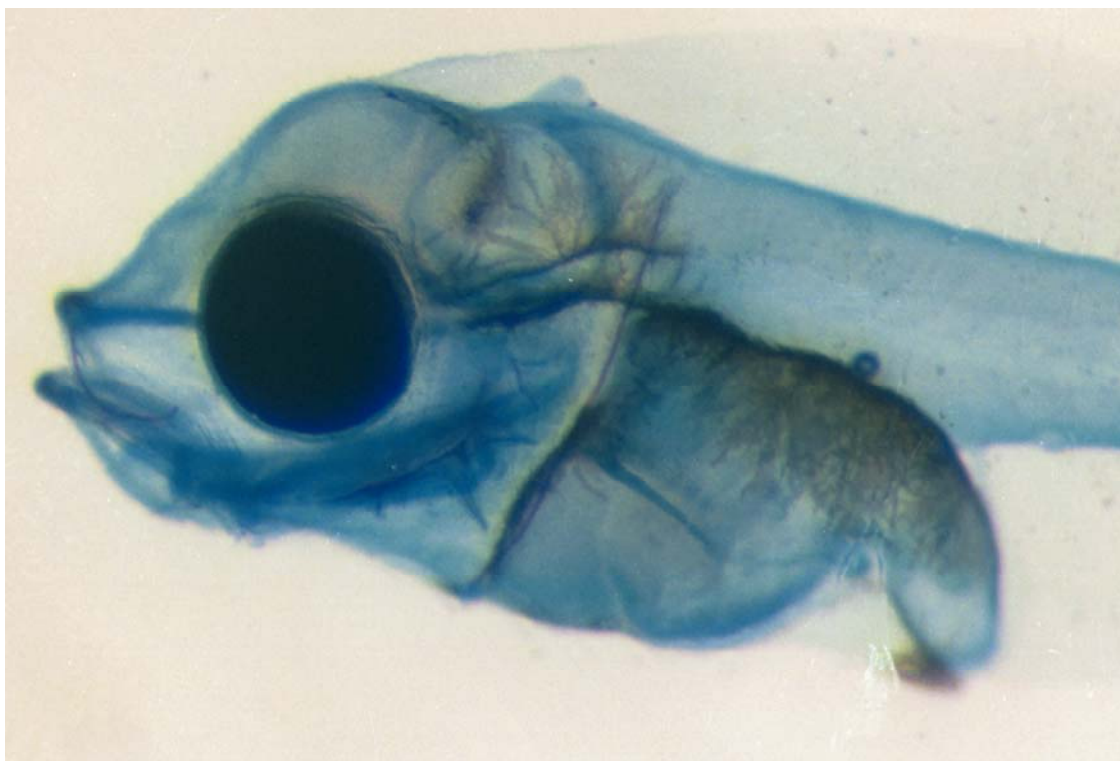


Fig. 4-21.- Larva de bocinegro de 10 días, se aprecian esbozados los cartílagos mandibulares y la espina nual (Azul alcian - Rojo alizarina).

El bocinegro en su fase larvaria es fácilmente diferenciable de otras especies por la formación de un cartílago característico de esta especie en la parte dorso-anterior de la cabeza (Fig. 4-21), que aparece esbozado desde el día 10, estando presente en todas las larvas el día 16. Dicho cartílago comenzó a osificarse desde la región más dorsal, y su osificación se intensificó entre los días 20 y 25, estando completada el día 30 (Fig. 4-22).

El cartílago preopercular estaba formado el día 10, (Fig 4-20 y 4-21) y poseía algunas espinas formadas que no se calcificaron hasta el día 16, resaltando la fuerte afinidad por la alizarina del hueso preopercular, osificado desde el día 16 (Fig. 4-23 y 4-24). También destacó la osificación de 3 de los arcos branquiales el día 16, que se completó el día 25.

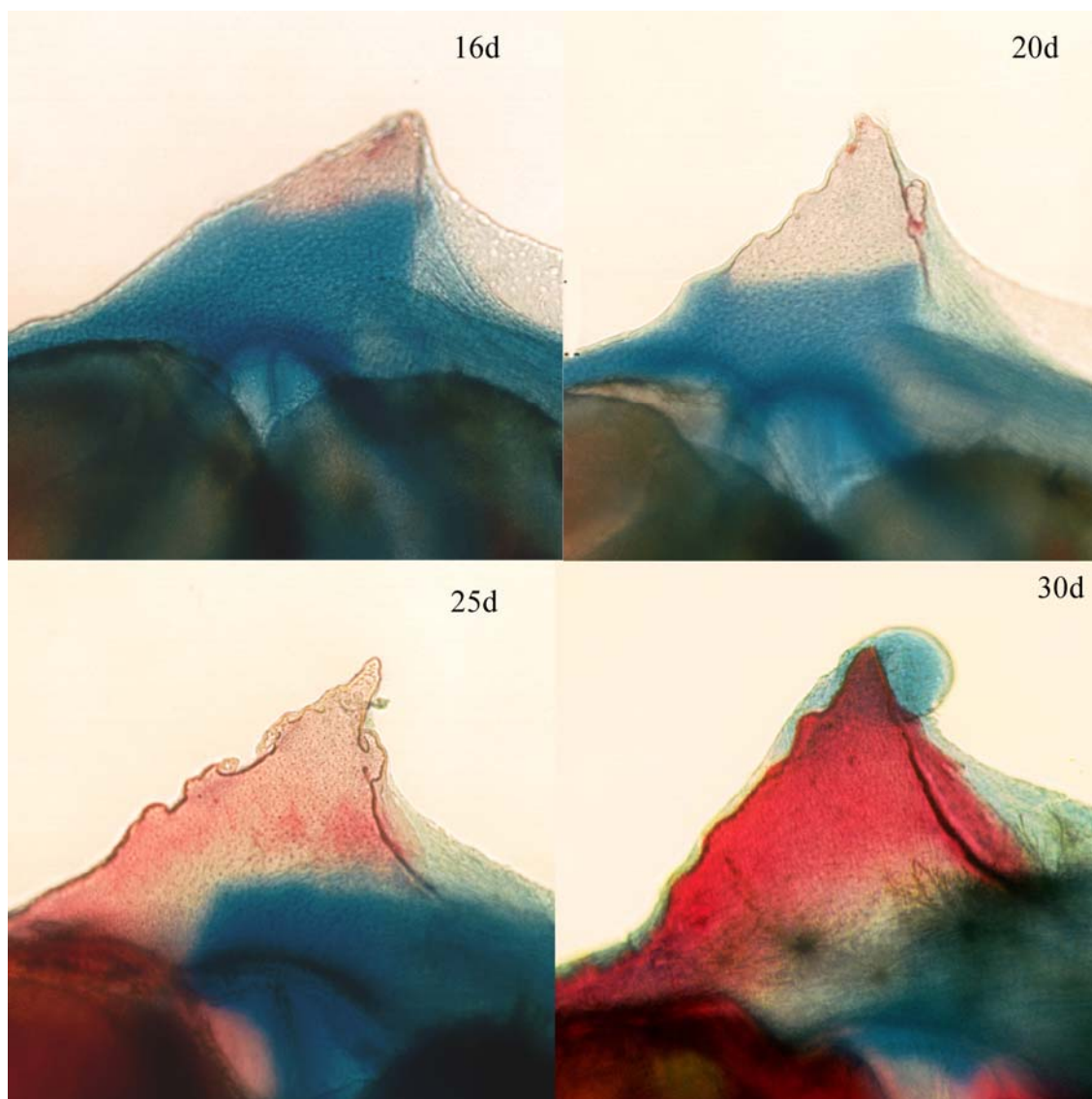


Fig. 4-22.- Osificación de la espina nuchal en larva de bocinegro de 16, 20, 25 y 30 días (Azul alcian - Rojo alizarina: azul cartílago, rojo hueso).

El opérculo comenzó a calcificarse el día 20 (Fig. 4-23), destacando su fuerte afinidad a la tinción del calcio el día 25, particularmente en el margen posterior de la zona apical (Fig. 4-24)

A partir del día 20 se desarrolló el cartílago frontal, cubriendo todo el cerebro. Este cartílago apareció fuertemente osificado el día 25 y en el día 30 se había osificado también el cartílago parietal (Fig. 4-25).

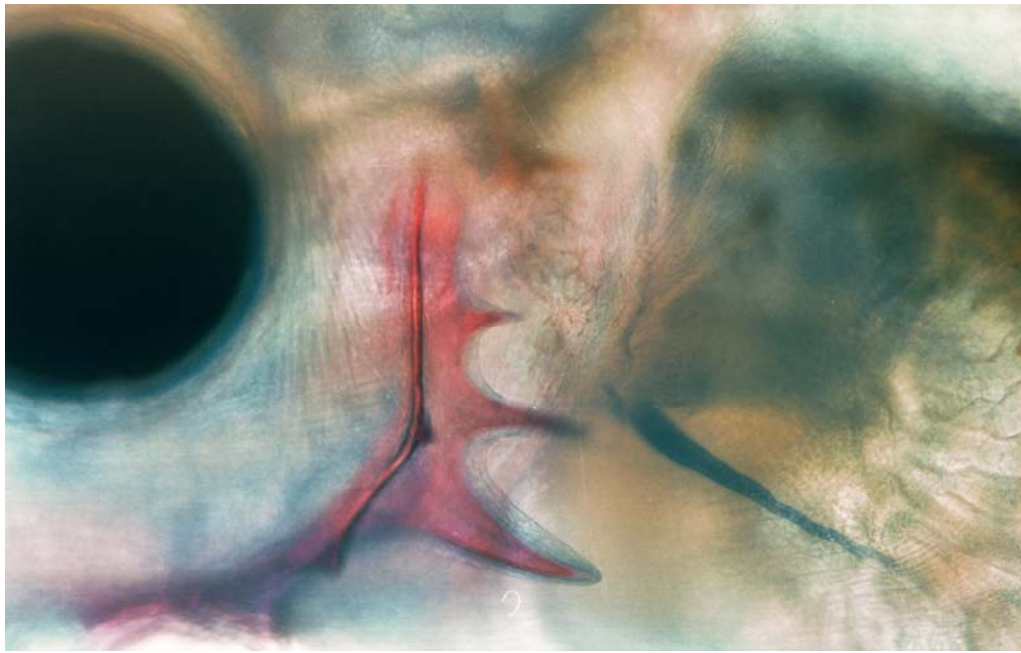


Fig. 4-23.- Comienzo de osificación de opérculo en una larva de bocinegro de 20 días.

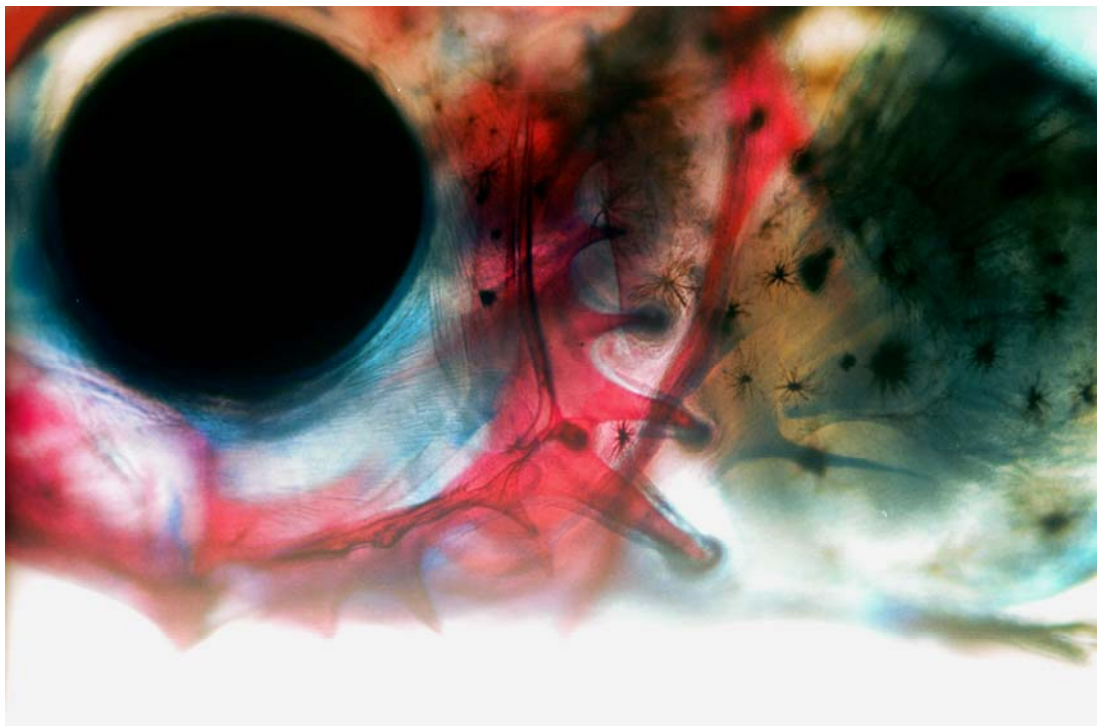


Fig. 4-24.- Características de osificación en la región branquial y cefálica en una larva de bocinegro de 30 días (Azul alcian - Rojo alizarina).

El hueso proóptico apareció calcificado el día 16, mientras que los huesos epióticos y pteróticos completaron su calcificación el día 25 (Fig. 4-25), junto con los huesecillos que cubren la cápsula óptica. El día 30 se habían osificado también las cápsulas ópticas.

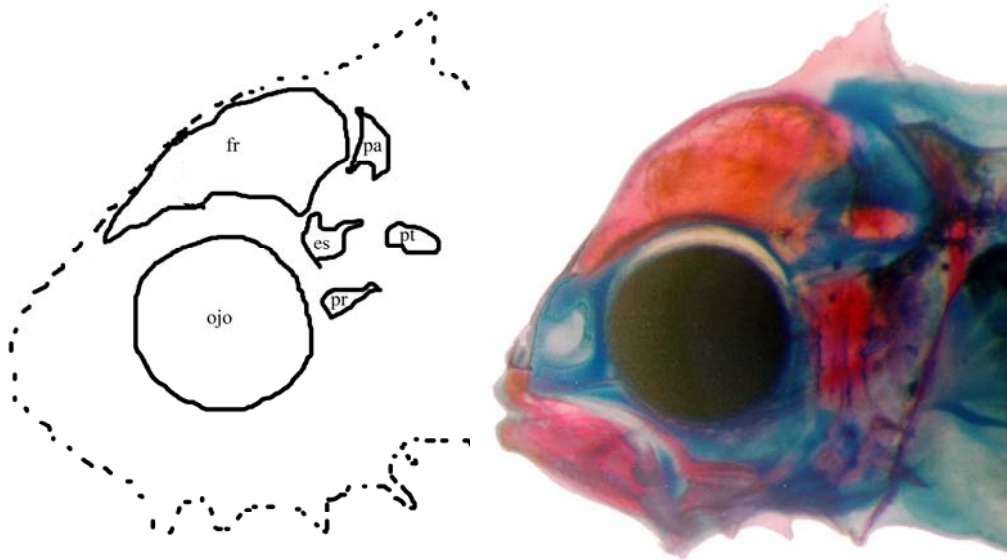


Fig. 4-25.- Detalle de la cabeza de una larva de bocinegro de 25 días (fr: frontal; pa: parietal; es: esfenotico; pr: proótico; pt: pterótico).

4.2.2.1.2.- Vértebras

El día 16 se observó la formación de las vértebras del notocordio, principalmente las anteriores, destacando ya en el día 20 una afinidad al azul indicando su estructura cartilaginosa (Fig. 4-26). Continuó el crecimiento de las espinas centrales del notocordio también con estructura cartilaginosa. Algunas de las vértebras anteriores comenzaron a osificarse el día 25, en el día 30 se habían osificado aproximadamente dos tercios de las vértebras, comenzando desde la región cefálica hacia la región caudal (Fig. 4-26).

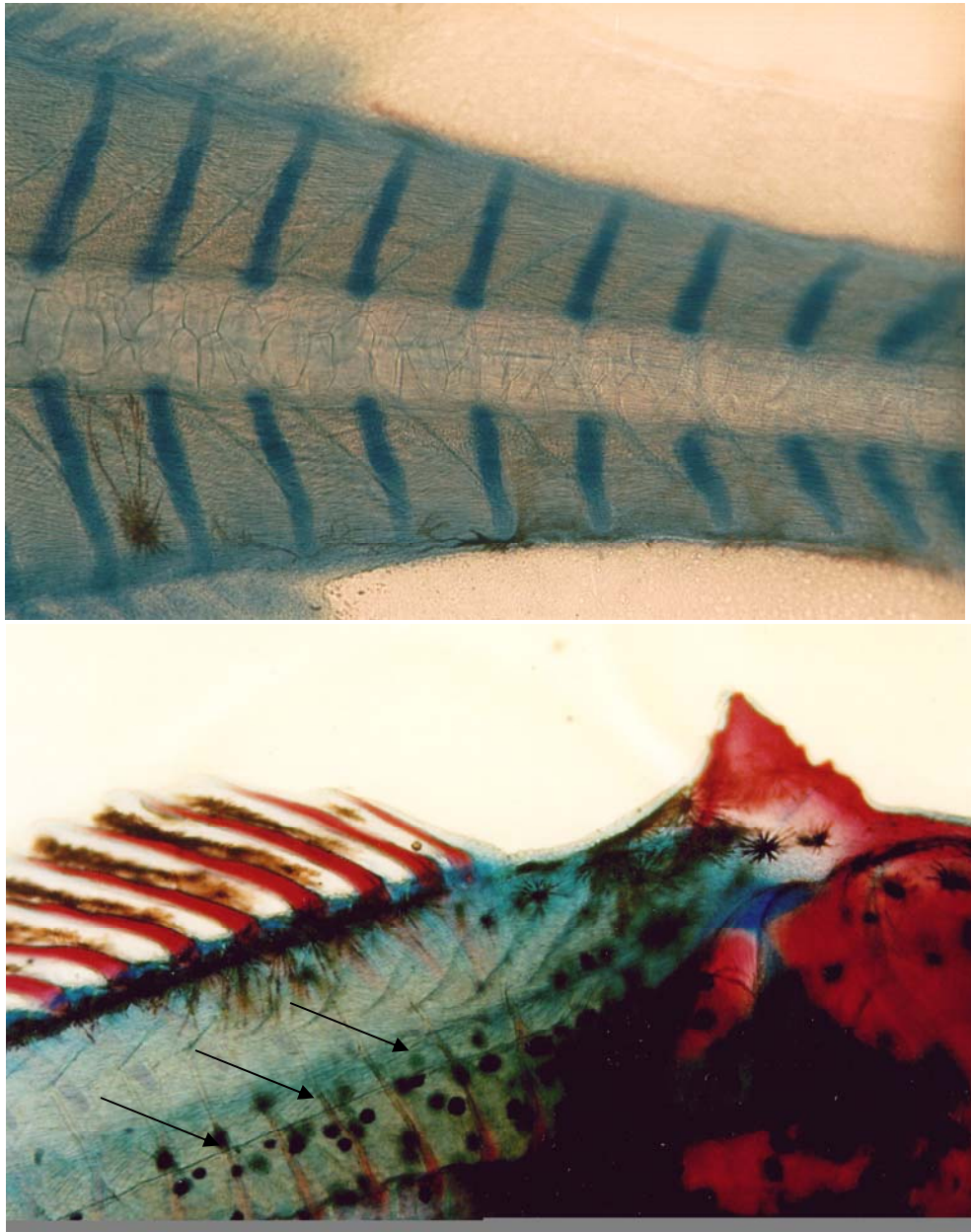


Fig. 4-26.- Vértebras posteriores sin osificar en una larva de bocinegro de 25 días (superior) y vértebras anteriores osificadas (flechas) en una larva de 30 días (inferior) (Azul alcian - Rojo alizarina).

4.2.2.1.3.-Aletas

El día 16 se observaron los primeros radios con estructura cartilaginosa de la aleta caudal (Fig. 4-27) estando ya formados en este día los cartílagos hipourales 1 y 2. A los 20 días, están los 4 primeros cartílagos hipourales ya formados. El día 25 se habían formado los 6 cartílagos hipourales y comenzaron a osificarse los radios. Este mismo día se estaban formando los 6 cartílagos epiurales (Fig. 4-28). En el día 30 se inició la osificación de todos los radios de la aleta caudal, mientras que los cartílagos hipourales 1-4 ya habían comenzado a osificarse y el hipoural 5 todavía tenía estructura cartilaginosa (Fig. 4-27).

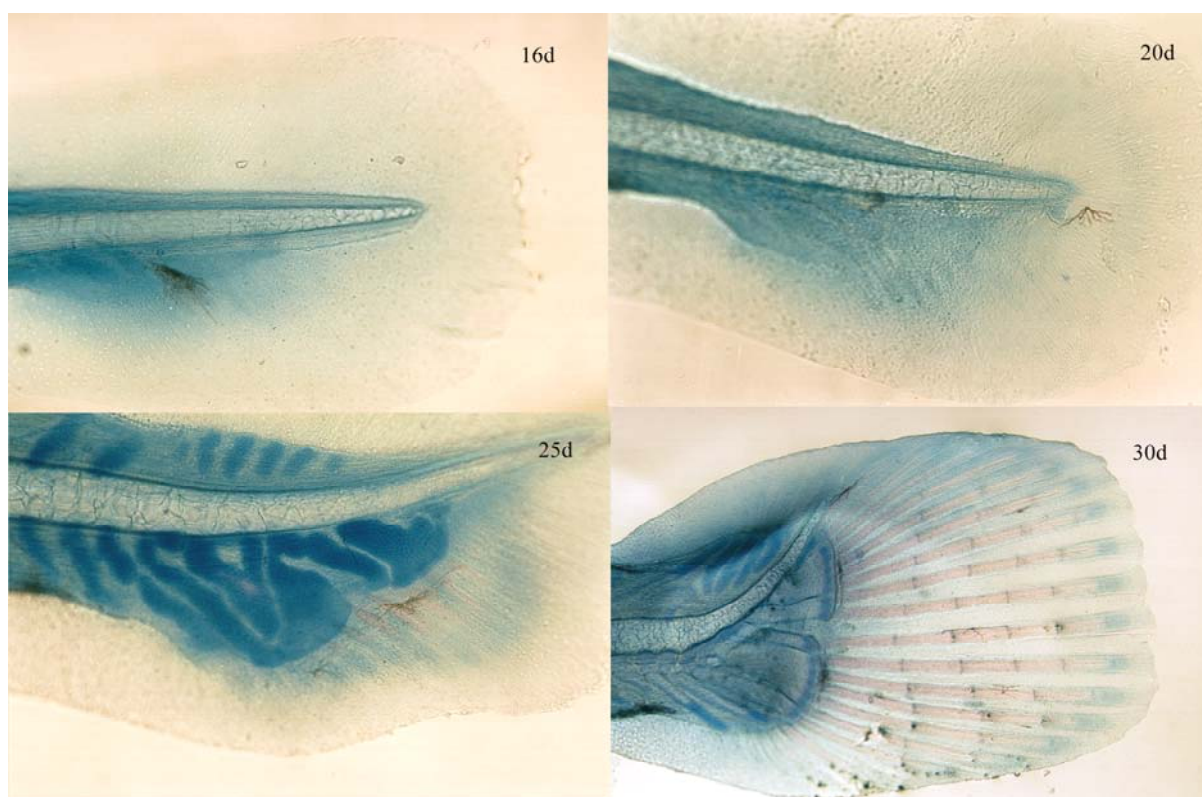


Fig. 4-27.- Evolución y osificación de la aleta caudal en larvas de bocinegro de 16, 20, 25 y 30 días (Azul alcian - Rojo alizarina).

En el día 25 se formaron los radios cartilaginosos de la aleta ventral y anal. En el día 30 se observó la osificación del primer radio de los 6 que forman la aleta ventral. En este mismo día la aleta anal ya tenía una estructura completamente calcificada en los tres primeros radios anteriores, mientras que los restantes 9 radios, que serán blandos, solamente estaban osificados en su región basal (Fig. 4-29).

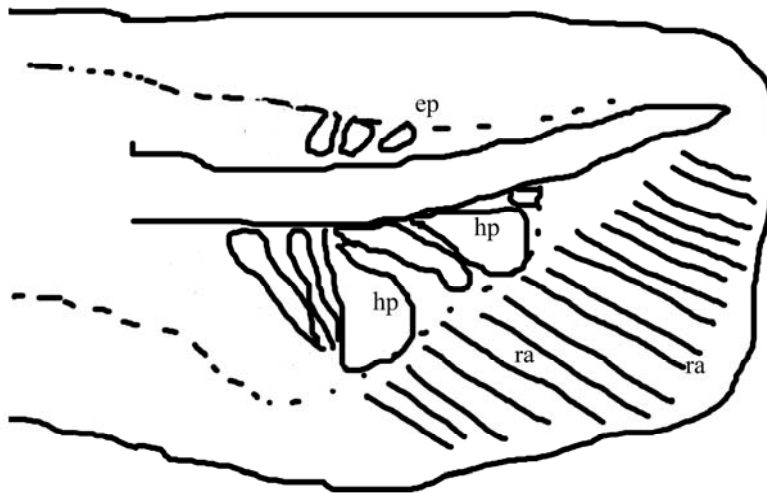


Fig. 4-28.- Esquema de la osificación de la aleta caudal a los 25 días (ep: epiural; hp: hipoural; ra:radio).

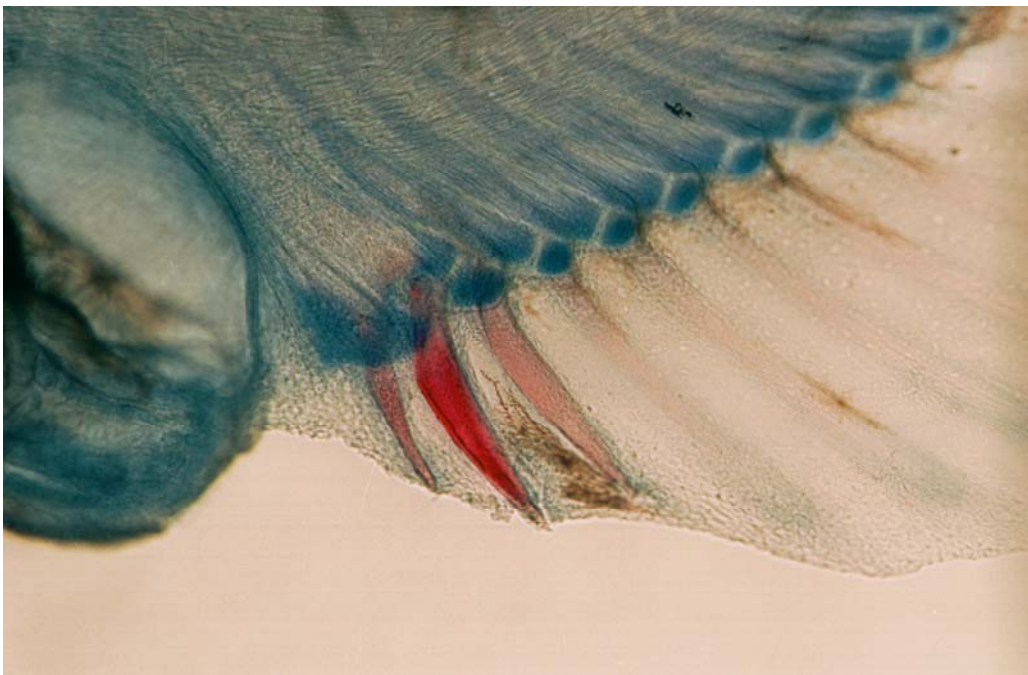


Fig. 4-29.- Osificación de los primeros radios de la aleta anal en una larva de bocinegro de 30 días (Azul alcian - Rojo alizarina).

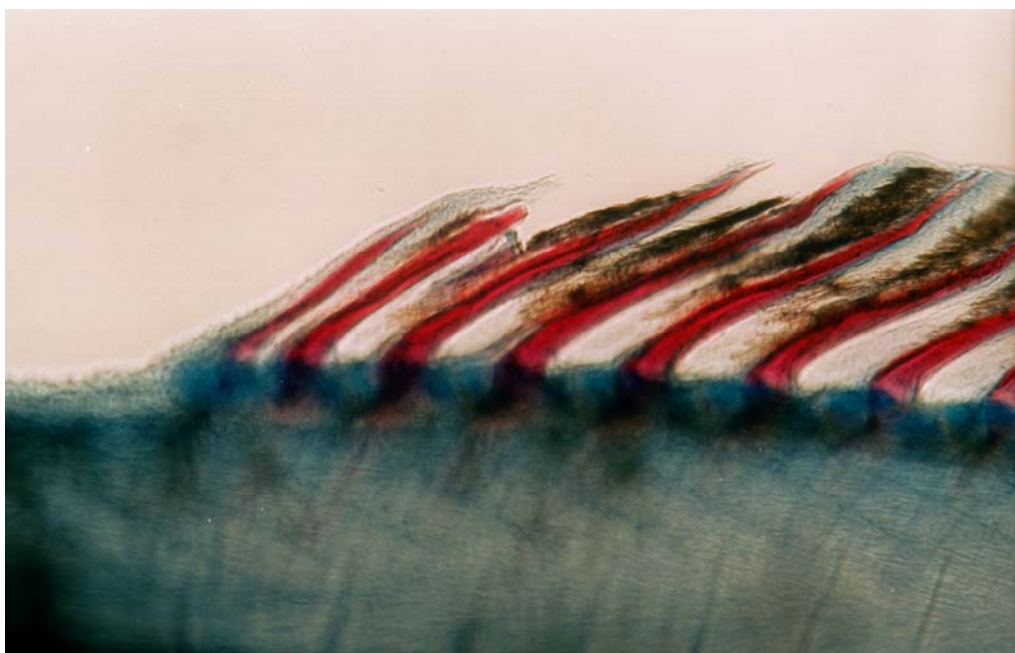


Fig. 4-30.- Osificación de la aleta dorsal en una larva de bocinegro de 30 días, (Azul alcian - Rojo alizarina).

En el día 25 también se han formado los 21 radios de la aleta dorsal (Fig. 4-26), pero es a partir del día 30, cuando ya se pudieron observar osificados los 12 primeros radios, que son los denominados “radios duros” de la aleta, mientras que los restantes 9 radios solo presentan una ligera osificación y son los denominados “radios blandos” (Fig. 4-30).

4.2.2.2- SAMA DE PLUMA

4.2.2.2.1.- Región cefálica

Los primeros cartílagos en formarse en la región cefálica se observaron el día 16. En este día se pudieron distinguir el cartílago de Meckel, el cartílago hiomandibular, el cartílago cuadrado, cartílago maxilar superior, el preopérculo y el opérculo (Fig. 4-31). La formación del primer diente en este día resaltaba la osificación del maxilar en la sama de pluma.

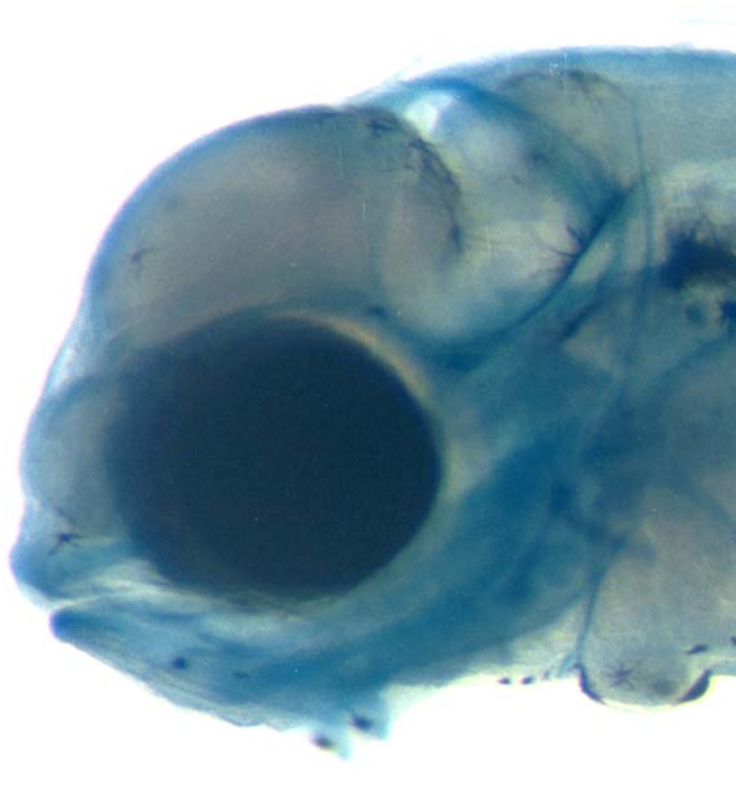


Fig. 4-31.- Vista de la cabeza de una larva de sama de pluma de 16 días, con los cartílagos de la región cefálica (Azul alcian - Rojo alizarina).

La osificación del preopérculo comenzó también el día 16, observándose esta con más claridad en el día 20 (Fig. 4-32), al igual que las espinas preoperculares, que estaban osificándose en este día. Por otro lado, la osificación de la mandíbula y el cartílago proóptico se observó en el día 25.

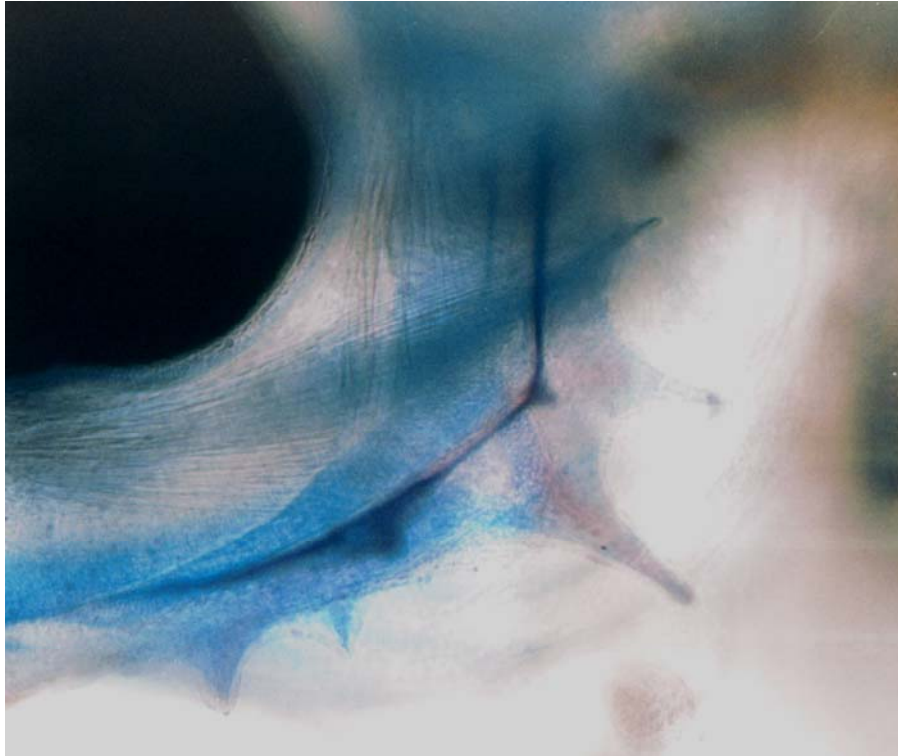


Fig. 4-32.- Osificación del opérculo y espinas preoperculares en una larva de sama de pluma de 20 días (Azul alcián - Rojo alizarina).

4.2.2.2.-Vértebras

Desde el día 16 comenzó a observarse la formación de las vértebras en algunas larvas, proceso que ocurrió en todas ellas en el día 20. Sin embargo, las vértebras mantuvieron su estructura cartilaginosa hasta el día 25 incluido. La primera osificación de las vértebras pudo observarse el día 30, afectando en primer lugar a las vértebras dorsales (Fig. 4-33), mientras que las vértebras de la región caudal aún no habían comenzado a osificarse.

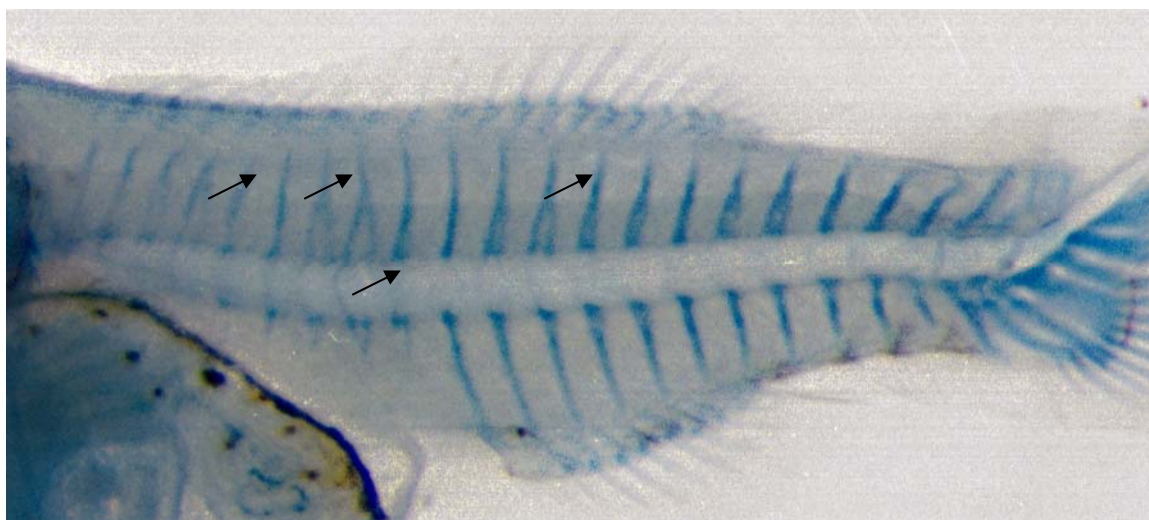


Fig. 4-33.- Vértebras en proceso de osificación (flechas) en una larva de sama de pluma de 30 días (Azul alcian - Rojo alizarina).

4.2.2.3.- Aletas

El día 16 aún no había comenzado la formación de los cartílagos hipourales (Fig. 4-34), mientras que en el día 25 ya estaban formados los primeros cuatro cartílagos, e incluso el hipoural 1 había comenzado a osificarse. Por otro lado, aunque los tres cartílagos epiurales estaban formados el día 25, el día 30 de vida larvaria aún no habían comenzado su osificación.

También en el día 16 ya estaban esbozados los primeros radios de la aleta caudal, observándose los primeros signos de osificación desde el día 25.

La formación de las aletas dorsal, ventral y anal comenzó el día 25, con todos los radios presentes, pero aún sin osificar.

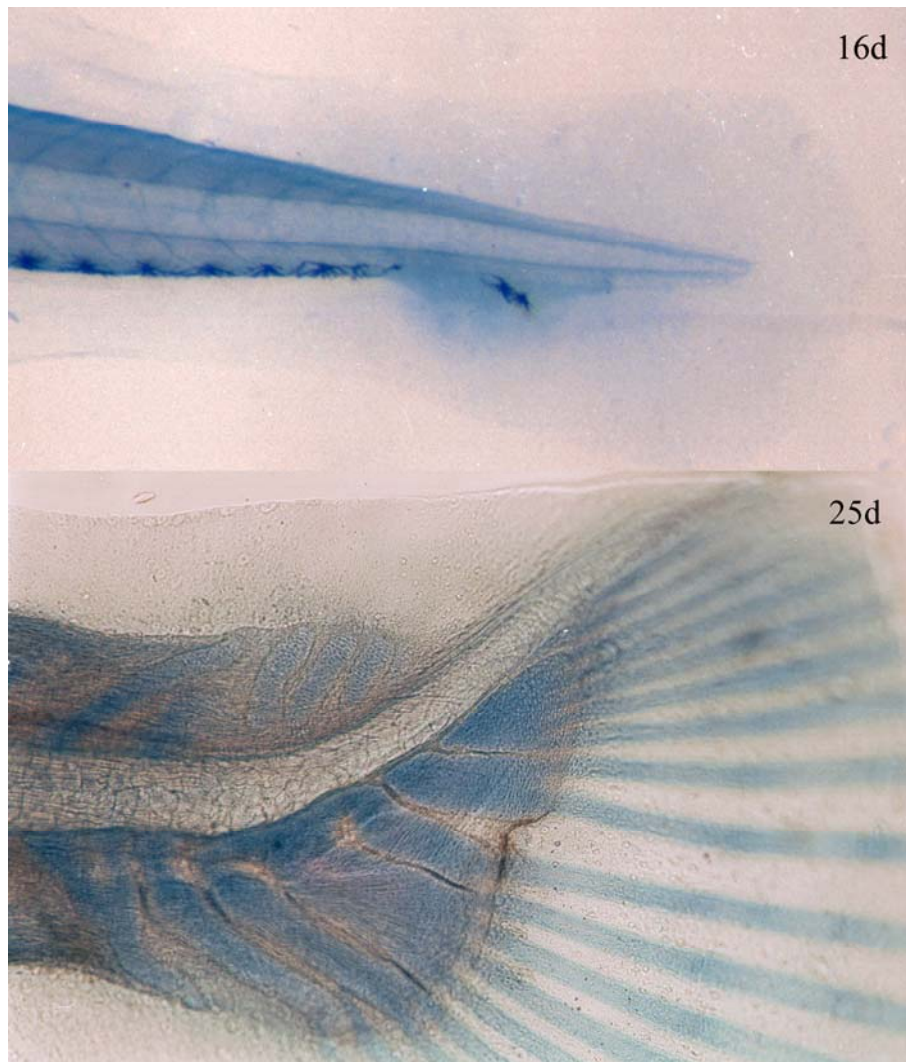


Fig. 4-34.- Características de la osificación de la aleta caudal de sama de pluma (Azul alcian - Rojo alizarina).

4.2.3.- DISCUSIÓN

Caracterizar las anomalías esqueléticas en los primeros estadios del desarrollo larvario, facilita una herramienta al acuicultor para predecir las deformidades manifestadas en el estado adulto y la calidad de los alevines producidos (Favaloro y Mazzola, 2003). En el presente trabajo se han caracterizado por primera vez los desarrollos osteológicos del bocinegro y de la sama de pluma lo cual ayudará a la realización de estudios posteriores que puedan prevenir la aparición de deformidades en estas especies.

Como sucede en otras especies (Potthoff, 1983) entre los huesos que antes osifican se encontraron los de las áreas que están sometidas a mayor tensión, como son los huesos mandibulares y los que soportan el sistema respiratorio. Así mismo, se encontró una estrecha relación entre la calcificación de los huesos mandibulares y la aparición de los primeros dientes. Según vimos en el estudio de la morfología externa, desde los primeros días de vida aparecen los primeros cartílagos en ambas especies, estando ya formados en el momento de la apertura de la boca. Al igual que en otros espáridos como el pargo japonés (*Pagrus major*), el cartílago de Meckel fue la primera estructura en formarse (Moteki, 2002), estando ya desarrollado antes de la apertura de la boca. Sin embargo, la osificación del maxilar superior en el bocinegro ocurrió más tarde, estando formado el día 16, coincidiendo con la aparición de los primeros dientes. En *Pagrus major* (Moteki, 2002), la osificación del maxilar comienza el día 12 y la aparición del primer diente el día 15, similar a lo que ocurre en la sama y el bocinegro. La formación del cartílago cuadrado el día 10 en el bocinegro, también coincide con la del pargo japonés (Moteki, 2002) al igual que posteriormente la osificación del cartílago hiomandibular. La osificación del maxilar y la formación de los dientes a partir del día 16 en estas especies posibilitan un cambio en la alimentación, permitiendo nuevas presas vivas con exoesqueleto más rígido, tales como nauplios de *Artemia* e incluso dietas inertes.

La espina nual fue visible desde el día 16 en todas las larvas de bocinegro, presentando inicialmente estructura cartilaginosa y estando completamente osificada el día 25. Esta espina ha sido señalada en muy pocas especies de la familia de los espáridos, siendo únicamente descrita para la Pandora de natal, *Pagellus natalensis*, por Leis *et al.* (2002). Estos autores la denominan cresta supraoccipital, que aparece cuando la larva tiene

apenas 3 mm; la calcificación de esta estructura no fue evaluada por dichos autores. En nuestro estudio, la sama de pluma no presenta espina nual, al igual que las demás especies del género *Dentex* (Leis *et al.*, 2002).

El desarrollo de espinas preoperculares fue una característica de las dos especies estudiadas, comenzando la osificación en ambas el día 20. Leis *et al.* (2002), estudiando esta característica en larvas de espáridos señalaron que de las 46 especies de su estudio, doce presentaban aspecto espinoso. Entre ellas aparecen representantes del género *Pagrus* (*P. auratus*, *P. major* y *P. pagrus*) y del género *Dentex* (*D. dentex* y *D. tumifrons*). Sin embargo, estos autores clasifican a las larvas de *D. gibbosus* en el grupo de las larvas que carecen de espinos preoperculares, mientras que la sama de pluma si presenta dichas espinas (ver Fig. 4-32) como hemos podido demostrar en el presente trabajo. La formación de espinas preoperculares es característica también de los peces planos como el rodaballo (Al-Maghazachi y Gibson, 1984) y podría servir de arma disuasoria a posibles predadores.

Tanto en el bocinegro como en la sama de pluma se inicia la formación de las primeras vértebras en el día 16, cuando su longitud estándar era de $4,97 \pm 0,57$ mm, siendo más evidentes los arcos neurales más anteriores. En el dentón, la formación de las vértebras es también en dirección cefalo-caudal, y con un desarrollo más temprano en los arcos neurales frente a los hemales (Koumoundouros *et al.*, 1999). Al igual que en las especies objeto de este estudio, en el dentón (Koumoundouros *et al.*, 1999) la formación de las primeras vértebras tiene lugar cuando la longitud total es de aproximadamente 5,0 mm, y comienza por la segunda y la tercera, para formar luego la primera y a partir de ella de la cuarta hasta la última.

En el bocinegro se empezó a observar el proceso de calcificación de las vértebras a los 25 días cuando la LS es de $6,62 \pm 0,60$ mm. Sin embargo, la sama de pluma había comenzado a osificar sus vértebras el día 31 siendo su LS algo inferior a los 7,5 mm. En el caso de la dorada la osificación de las vértebras comienza aproximadamente a los 6,0 mm de LS, al finalizar la ontogenia de los cartílagos (Faustino y Power, 1998). Un poco más tardío es el proceso en el dentón que comienza su osificación a los 6,3 mm (Koumoundouros *et al.*, 1999) y sigue el mismo patrón.

En pargo japonés, una de las especies más representativas de la piscicultura marina, durante los primeros años de su cultivo, los ejemplares producidos presentaban deformidades esqueléticas de origen múltiple e incluso desconocido (Hattori *et al.*, 2003). El estudio de la ontogenia y la osificación de las vértebras en los peces candidatos para la acuicultura, nos facilita información necesaria para evaluar el efecto de distintos factores como el manejo o las condiciones de cultivo sobre la aparición de deformidades y mejorar la calidad de los peces de cultivo.

Según Kendall *et al.* (1984) la flexión de la notocorda está acompañada por la flexión del complejo caudal y, por lo tanto, por cambios en los hábitos natatorios y alimenticios. Faustino y Power (1998) observaron para la dorada que el primer cartílago de la región caudal que se forma es el hipoural 1, antes de la flexión, cuando la larva tiene aproximadamente una LS de 4,1 mm. Posteriormente a los 5,7 mm están formados los primeros 5 cartílagos hipourales. En el caso del bocinegro, a los 16 días con $4,97 \pm 0,57$ mm de LS, se han formado los dos primeros cartílagos hipourales, mientras que a los 20 días, con 5,6 mm de LS, son visibles los cuatro primeros cartílagos. En la sama de pluma, con 26 días y $6,19 \pm 0,34$ mm de LS, tampoco está formado el hipoural 5, aunque si ha comenzado la osificación de los radios. Este último cartílago también tiene un desarrollo tardío en otros espáridos del mismo género. De esta forma en el caso del dentón el hipoural 4 se forma a 5,7 mm de longitud total (LT), mientras que el 5 cuando LT es de 7,5 mm (Koumoundouros *et al.*, 2001). Si comparamos la sama de pluma con el dentón vemos una concordancia en el tiempo, en cuanto a la formación de los cartílagos del complejo caudal, existiendo muy pocas diferencias entre longitud y estado de osificación en ambas especies. Tanto en el bocinegro como en la sama los primeros radios de la aleta caudal están esbozados desde el día 16, mientras que para la dorada es preciso esperar al día 20.

De esta forma, los resultados del presente estudio muestran que la formación de los cartílagos del complejo caudal sucede en bocinegro y sama en larvas mayores que en la dorada, pero es semejante a la de otros espáridos mas cercanos filogenéticamente como el dentón. Si bien este hecho podría implicar una menor fuerza en la aleta caudal, en estas tallas, y por lo tanto una velocidad de natación larvaria menor en bocinegro y sama de pluma. Esta aparente falta de soporte en la aleta caudal se ve compensada por la más

temprana aparición de los radios caudales en comparación con larvas de dorada de tamaño parecido.

Respecto a la osificación del complejo caudal, la de los primeros 4 cartílagos hipourales en bocinegro estaba casi finalizada a los 30 días con LS de $7,2 \pm 0,64$ mm, siguiendo un patrón semejante al de la dorada que no completa la osificación del hipoural 5 hasta los 9,7 mm (Faustino y Power, 1998). Sin embargo la sama de pluma presentó una osificación algo mas tardía, así la osificación del primer hipoural comienza a los 25 días, con LT de 6,8 mm, al igual que sucede en otros espáridos del genero *Dentex* como el dentón (Koumoundouros *et al.*, 2001) en el que la osificación comienza con LT de 6,6 mm.

Si comparamos el bocinegro y la sama de pluma en lo que se refiere al desarrollo de las aletas dorsal, ventrales, anal y pectorales, vemos que ya estaban esbozadas el día 25, coincidiendo con la etapa de flexión de la larva, mientras que la osificación de los radios estaba ya avanzada el día 30. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Leis *et al.* (2002) en el *Pagellus natalensis*, donde observan el esbozo de estas mismas aletas antes de la flexión de la notocorda y su desarrollo durante la flexión.

Si comparamos la osificación del bocinegro, la sama de pluma y la dorada, las tres especies tienen un patrón de osificación muy similar, aunque la cronología del desarrollo es algo más retrasada para la sama.

4.3.- ESTUDIO MORFOMÉTRICO

4.3.1.- ANTECEDENTES

Los estudios morfométricos han servido para una gran variedad de aplicaciones en la investigación sobre las larvas de peces. Entre otros podemos destacar su utilización en la identificación de especies (Auer, 1982; Olvera-Limas y Cid del Prado, 1983), en el estudio de los efectos de contaminantes (Somasundaram *et al.*, 1984; Fu y Lock, 1990), en el conocimiento de relaciones interespecíficas (Strauss y Fuiman, 1985; Mamuris *et al.*, 1997), estudios ecológicos (Grover, 1993), en la fisiología muscular (Alfei *et al.*, 1989; Fukuda, 1990; Alami-Durante *et al.*, 1997) o en las condiciones nutricionales, el estado de hambruna y el punto de no retorno (Uriarte y Balbontin, 1987; Setzler-Hamilton *et al.*, 1987; Martin y Wright, 1987; Strussmann y Takashima, 1989; Polo, 1991; Polo *et al.*, 1991; Reichow *et al.*, 1991, Pedersen, y Falk-Petersen, 1992). Además el estudio morfométrico nos permite determinar puntos de inflexión en el desarrollo larvario (Kawamura y Hosoya, 1997) y estrategias de crecimiento de las distintas especies (Froese, 1990), que nos serán útiles a la hora de desarrollar las técnicas de cultivo larvario y de diseñar experiencias (Fukuhara, 1991; Restrepo *et al.*, 1992). La relación alométrica entre diferentes partes del cuerpo durante el desarrollo larvario ha sido estudiada en muy diversas especies marinas (Divanach *et al.*, 1982; Sabates y Olivar, 1990; Fukuhara, 1991; Polo *et al.*, 1991; Moreno, 1993; Koumoundouros *et al.*, 1995; Kawamura y Hosoya, 1997) y con fines diferentes.

El crecimiento es un parámetro importante para las larvas de peces, ya que la supervivencia depende de la predación y la mortalidad decrece rápidamente según incrementa el tamaño de las larvas. Significativos gradientes de crecimiento implican además substanciales transferencias de energía para la síntesis de componentes corporales, y como la energía puede ser limitante, el coste del crecimiento tiene una gran relevancia (Pedersen, 1995). Así mismo es trascendental conocer la edad y longitud de la transformación de larva en juvenil, y señalar los cambios importantes en hábitat, fisiología o ecología que acompañan a la metamorfosis (Fukuhara, 1991).

Durante el primer año de vida el crecimiento del bocinegro está por encima del 35% de su crecimiento total (Vassilopoulos y Papaconstantinou, 1992) siendo por ello muy importante el crecimiento durante la fase larvaria.

A pesar de que hay estudios preliminares sobre la fase larvaria del bocinegro (Manooch y Hassler, 1978; Hernández-Cruz *et al.*, 1990b; 1999), las relaciones alométricas durante el desarrollo larvario han sido estudiadas solo muy recientemente por algunos autores (Socorro *et al.*, 2001; Machinadiarena, *et al.*, 2003), mientras que el estudio completo y las relaciones talla-edad entre las diferentes medidas de referencia, aún no han sido estudiadas.

Así el objetivo del presente capítulo fue el de realizar un estudio morfométrico exhaustivo a lo largo del desarrollo larvario de bocinegro y sama de pluma, completando los pocos estudios de este tipo que existen en estas especies. Los resultados de este capítulo han sido parcialmente publicados en Socorro *et al.* (2001) y Fernández-Palacios *et al.* (1994).

Para el estudio morfométrico las larvas de ambas especies fueron cultivadas en tanques cilíndrico-cónicos de fibra de vidrio de 500 litros con circuito abierto y bajo condiciones de fotoperiodo natural. El rango de temperatura fue de 18,9 a 21,4°C para el bocinegro y de 19,9 a 21,7 °C para la sama de pluma. Las larvas fueron alimentadas con rotíferos (*Brachionus plicatilis*) desde el día 3 de vida, a una concentración de 20 rotíferos/ml, añadiendo nauplios de *Artemia* a razón de tres nauplios/ml a partir del día 18 para el bocinegro y del día 20, para la sama de pluma. Diariamente se realizaron medidas morfométricas de las larvas (25 larvas por día). Las larvas fueron anestesiadas previamente con MS222, para evitar las malformaciones y curvaturas que sufren las larvas al manipularlas para ser medidas.

4.3.2.- RESULTADOS

4.3.2.1.- BOCINEGRO

La longitud del saco vitelino (Lsc, Tabla 4.3, Fig. 4-35) experimentó una fuerte reducción durante las primeras 12 h tras la eclosión, seguida por un estancamiento hasta las 24 h, para ir reduciéndose posteriormente hasta el tercer día de vida larvaria. De manera semejante, la altura del saco vitelino (Hsc, Tabla, 4.3, Fig. 4-35) fue reduciéndose primero drásticamente hasta las 12 h, seguida por un estancamiento y una reducción posterior menos pronunciada que la de la longitud del saco vitelino. Sin embargo, la reducción de la gota lipídica (Dg, Tabla, 4.3, Fig. 4-35) fue progresiva de manera continuada, desde el inicio de la eclosión hasta el día 5 de vida.

La evolución de la longitud total (LT, Tabla 4.3, Fig. 4-36) y de la longitud estándar (LS, Tabla 4.3, Fig. 4-36) durante los 8 primeros días de vida fue semejante con un crecimiento inicial muy marcado que tras alcanzar los dos días de edad fue reduciéndose a lo largo del tiempo. Ambas longitudes fueron separándose por el incremento de la región caudal y el desarrollo en general de la aleta larvaria. Por otro lado, la longitud preanal (LPA, Tabla 4.3, Fig. 4-36) mostró dos etapas bien diferenciadas, en los primeros 5 días este parámetro permaneció prácticamente constante, con valores de 1,3 mm. A partir del día 6 se observó un crecimiento constante de este parámetro, incrementándose en un 15% en solo 3 días (Fig. 4-36).

La altura del hígado (HH, Tabla 4.3, Fig. 4-37) fue medida a partir del día 4, momento en el que se apreció este órgano externamente. Tiene un crecimiento constante durante la primera etapa establecida (8 días). La altura del digestivo (HD, Tabla 4.3, Fig. 4-37) fue considerada desde el día en que se formó el ano, presentando un crecimiento considerable desde que la larva comenzó a alimentarse, triplicando así su tamaño en los cinco primeros días de alimentación exógena (Fig. 4-37).

La cabeza presentó un importante crecimiento durante los cuatro primeros días (HC,

Tabla 4.3, Fig. 4-38), la altura cefálica aumenta más durante la formación de la boca que en los días posteriores a la formación de la misma, con un crecimiento más moderado a partir del día 4. El crecimiento muscular de la larva de bocinegro fue indicado por la altura del miotomo (HM, Tabla 4.3, Fig. 4-38) que experimentó un importante aumento durante las primeras 12 horas, manteniéndose constante a partir de ese momento hasta el día 5, donde se produjo un crecimiento del mismo. La altura del cuerpo a nivel de la base de las aletas pectorales (HCU, Tabla 4.3, Fig. 4-38) fue tomada desde el día 4, en el cual se observaba con claridad estas aletas. Su crecimiento fue continuo y homogéneo desde el día 4 hasta el día 8.

Tabla 4.3.- Valores morfométricos de larvas de bocinegro desde el día 0 hasta el día 8 (n = tamaño de muestra, μ = media, sd = desviación estándar)

<i>Pagrus pagrus</i>		0 h	12 h	1d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
Lsc	n	24	8	22	24	24					
	μ	1,17	0,85	0,83	0,38	0,20					
	sd	0,09	0,06	0,06	0,04	0,02					
Hsc	n	24	8	22	24	24					
	μ	0,71	0,48	0,47	0,29	0,24					
	sd	0,10	0,04	0,06	0,03	0,02					
DG	n	24	8	22	24	23	8	4			
	μ	0,25	0,23	0,22	0,16	0,10	0,07	0,06			
	sd	0,02	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01	0,01			
LT	n	24	8	22	24	24	24	24	24	24	24
	μ	2,63	3,24	3,32	3,70	3,79	3,89	3,88	3,95	4,02	4,15
	sd	0,11	0,13	0,13	0,13	0,11	0,13	0,09	0,17	0,17	0,17
LS	n	24	8	22	24	24	24	24	24	24	24
	μ	2,52	3,11	3,20	3,54	3,60	3,75	3,71	3,76	3,84	3,96
	sd	0,11	0,09	0,13	0,11	0,11	0,08	0,07	0,15	0,16	0,16
LPA	n	24	8	22	24	24	24	24	24	24	24
	μ	1,33	1,27	1,32	1,30	1,27	1,30	1,28	1,35	1,43	1,49
	sd	0,04	0,07	0,08	0,10	0,05	0,04	0,04	0,11	0,11	0,09
HD	n					24	24	24	24	24	24
	μ					0,09	0,12	0,16	0,22	0,26	0,30
	sd					0,02	0,02	0,02	0,06	0,05	0,05
HH	n					24	24	24	24	24	24
	μ					0,12	0,23	0,26	0,28	0,29	
	sd					0,02	0,04	0,07	0,04	0,05	
HC	n	23	8	22	24	24	24	24	24	24	24
	μ	0,27	0,33	0,36	0,45	0,54	0,61	0,60	0,66	0,69	0,74
	sd	0,03	0,02	0,02	0,04	0,03	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06
HM	n	24	8	22	24	24	24	24	24	24	24
	μ	0,19	0,23	0,23	0,25	0,24	0,23	0,23	0,25	0,27	0,29
	sd	0,01	0,05	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,04
HCU	n					24	24	24	24	24	
	μ					0,56	0,60	0,64	0,69	0,74	
	sd					0,04	0,03	0,05	0,07	0,07	

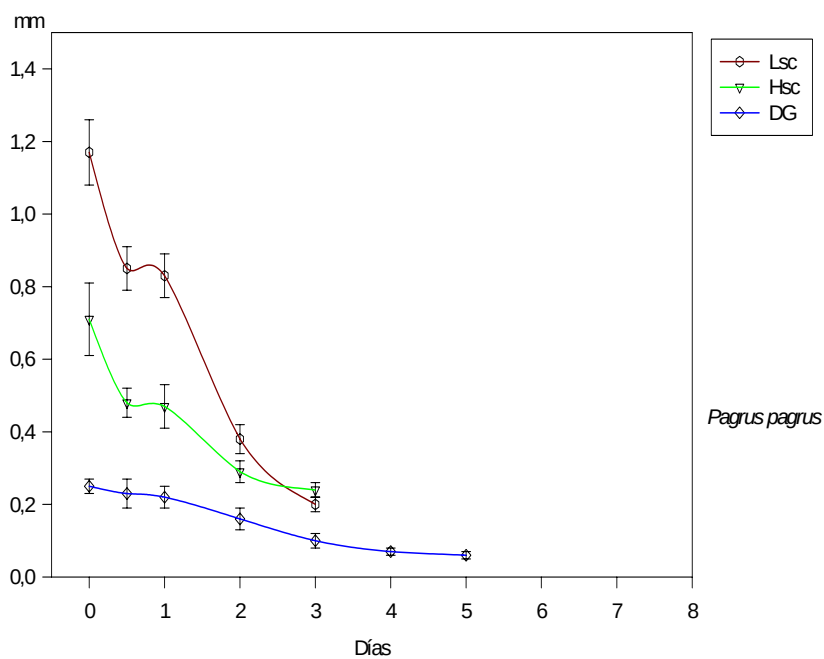


Fig. 4-35.- Evolución de Lsc Hsc y Dg durante los ocho primeros días de vida.

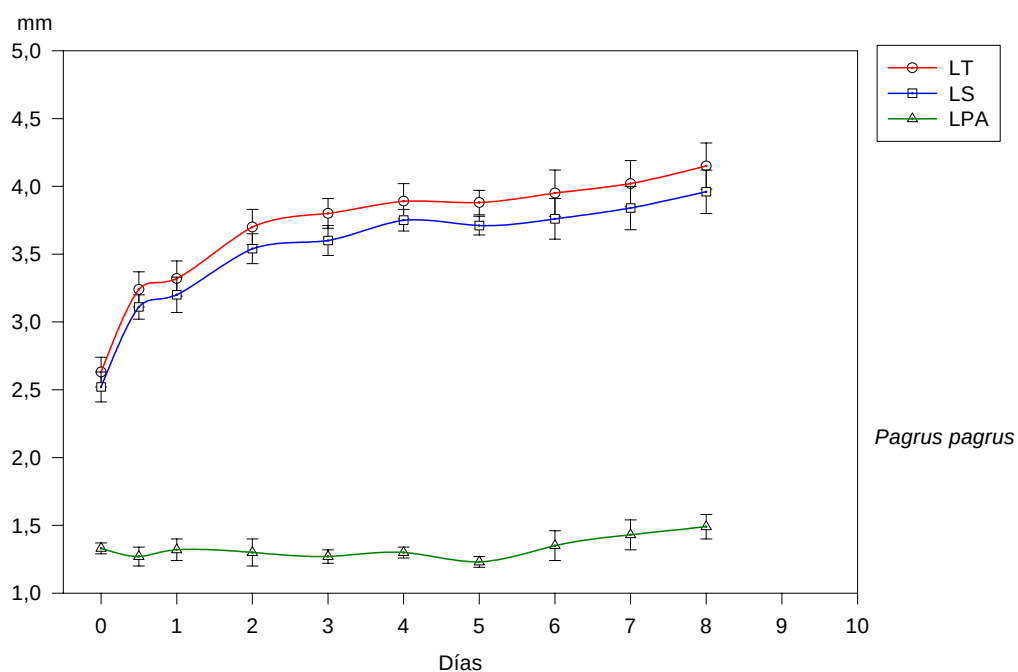


Fig. 4-36.- Evolución de LT, LS y LPA durante los ocho primeros días de vida.

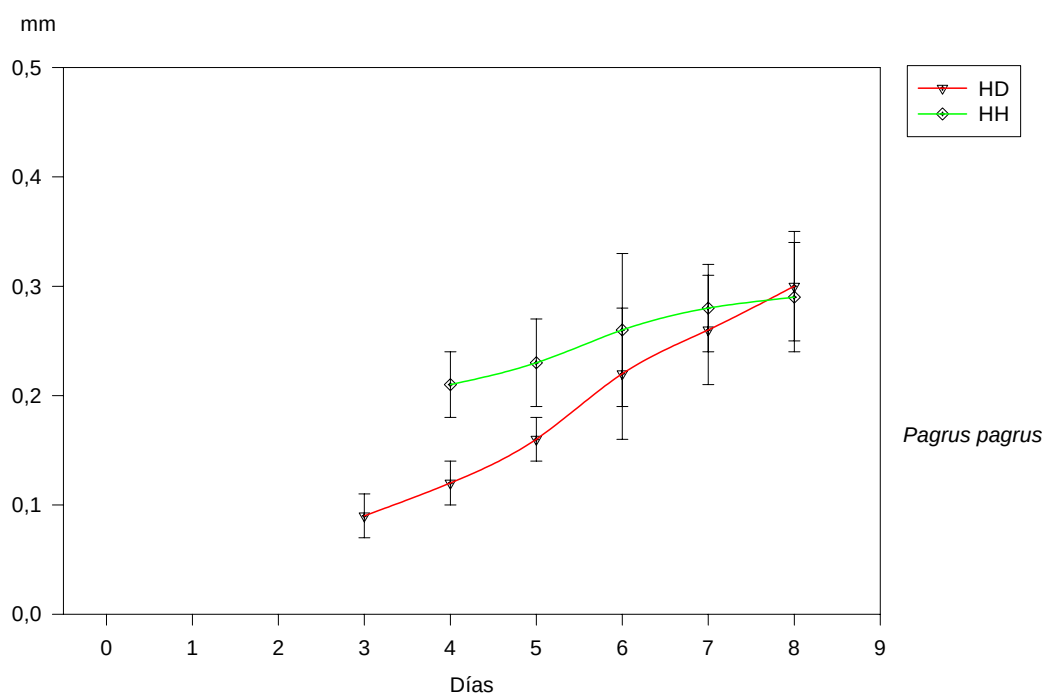


Fig. 4-37.- Evolución de HD y HH durante los ocho primeros días de vida.

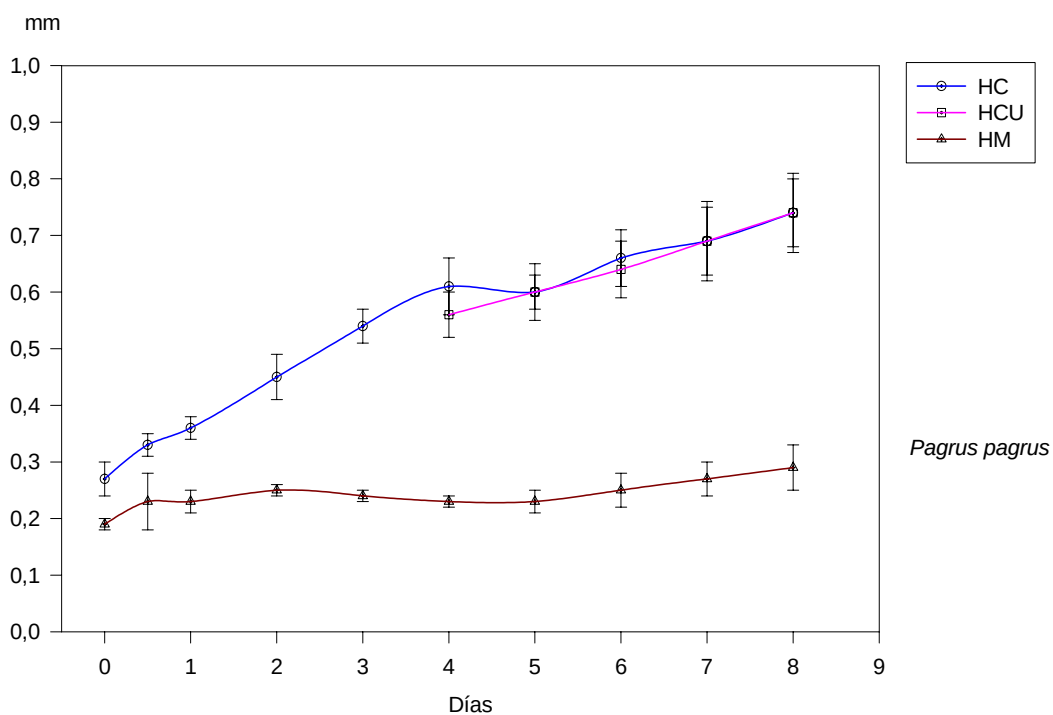


Fig. 4-38.- Evolución de HC, HCU y HM durante los ocho primeros días de vida.

La longitud total (LT, Tabla 4.4, Fig. 4-39), la longitud estándar (LS, Tabla 4.4, Fig. 4-39) y la longitud preanal (LPA, Tabla 4.4, Fig. 4-39) presentaron una sincronía en su evolución desde el día 9 hasta el día 20. Estos tres parámetros presentaron un crecimiento continuo y moderado durante esta etapa, con pequeños incrementos puntuales en los días 13 y 18.

La evolución de la altura cefálica (HC, Tabla 4.4, Fig. 4-40) a partir del día 9 fue continua y creciente durante todo este periodo. La misma evolución sufrió la altura del cuerpo (HCU, Tabla 4.4, Fig. 4-40), pero con una tendencia de crecimiento mayor que HC. La altura muscular (HM, Tabla 4.4, Fig. 4-40) permaneció prácticamente invariable desde el día 8 hasta el día 12, incrementándose la pendiente de este parámetro a partir del día 14 de forma continua y homogénea.

El crecimiento en altura del hígado (HH, Tabla 4.4, Fig. 4-41) fue bastante heterogéneo, aunque siempre con una tendencia creciente, observándose una gran variabilidad en el crecimiento diario de este parámetro. Algo similar ocurrió con la altura del digestivo (HD, Tabla 4.4, Fig. 4-41), aunque con menor variación diaria.

Los parámetros que determinaron el tamaño de la vejiga natatoria, longitud y altura (Lvj, Hvj, Tabla 4.4, Fig. 4-41) fueron medidos a partir del día 9. La Lvj presentó un valor similar en el inicio y final de este periodo de medida, aunque este valor aumentó y decreció en varios momentos entre el día 9 y el día 20. De esta forma se observa un incremento de la Lvj los días 9, 12 y 15. La altura de la vejiga presentó un crecimiento sincronizado con la longitud, aunque su rango de valores fue mucho menor (Fig. 4-41).

Tabla 4.4.- Valores morfométricos de larvas de bocinegro desde el día 9 hasta el día 20

(n = tamaño de muestra, μ = media, sd =desviación estándar)

<i>Pagrus pagrus</i>		9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d
LT	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	μ	4,37	4,45	4,49	4,64	4,95	4,81	5,06	5,24	5,33	5,68	5,56	5,89
	sd	0,25	0,28	0,24	0,27	0,43	0,43	0,36	0,59	0,53	0,40	0,64	0,53
LS	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	μ	4,14	4,25	4,29	4,42	4,73	4,59	4,78	4,97	5,04	5,39	5,29	5,61
	sd	0,22	0,24	0,23	0,24	0,39	0,41	0,34	0,57	0,51	0,39	0,61	0,51
LPA	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	μ	1,61	1,67	1,68	1,82	2,02	1,87	2,12	2,19	2,23	2,45	2,43	2,60
	sd	0,13	0,16	0,15	0,16	0,28	0,24	0,33	0,39	0,34	0,27	0,41	0,35
HD	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	μ	0,34	0,38	0,38	0,42	0,45	0,41	0,48	0,51	0,52	0,62	0,57	0,59
	sd	0,05	0,07	0,06	0,07	0,08	0,08	0,07	0,11	0,11	0,09	0,13	0,09
HH	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	μ	0,30	0,35	0,34	0,39	0,48	0,40	0,46	0,50	0,51	0,58	0,58	0,61
	sd	0,04	0,05	0,06	0,07	0,14	0,08	0,10	0,14	0,12	0,10	0,14	0,20
HC	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	μ	0,81	0,83	0,83	0,91	0,99	0,97	1,04	1,15	1,21	1,29	1,28	1,38
	sd	0,09	0,10	0,08	0,08	0,11	0,15	0,14	0,20	0,19	0,17	0,23	0,18
HM	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	27
	μ	0,32	0,35	0,34	0,39	0,44	0,41	0,46	0,53	0,55	0,62	0,61	0,68
	sd	0,05	0,06	0,05	0,06	0,09	0,09	0,08	0,17	0,15	0,14	0,17	0,19
HCU	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	μ	0,83	0,89	0,92	1,09	1,19	1,15	1,23	1,42	1,49	1,60	1,61	1,74
	sd	0,10	0,13	0,15	0,14	0,19	0,25	0,21	0,31	0,30	0,26	0,31	0,27
Lvj	n	2	7	11	6	6	10	12	7	14	13	16	5
	μ	0,29	0,21	0,20	0,26	0,27	0,31	0,39	0,32	0,37	0,40	0,40	0,35
	sd	0,15	0,02	0,03	0,03	0,05	0,08	0,13	0,07	0,08	0,09	0,14	0,05
Hvj	n	2	7	11	6	6	10	12	7	14	13	16	5
	μ	0,15	0,14	0,12	0,15	0,16	0,17	0,20	0,21	0,20	0,21	0,20	0,19
	sd	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,05	0,07	0,05	0,04	0,04	0,07	0,05

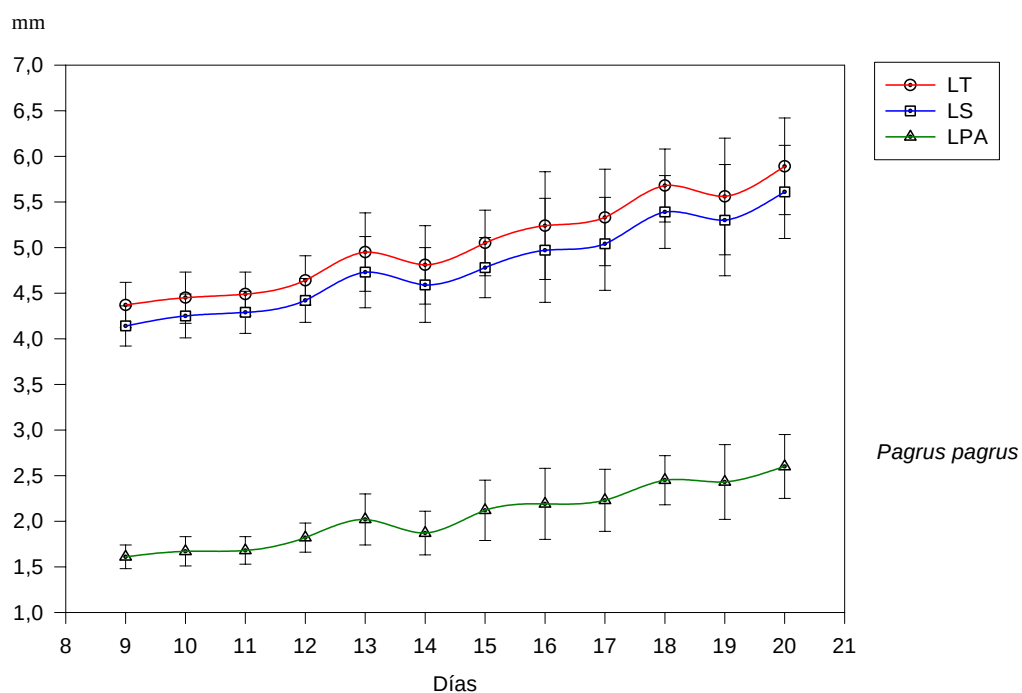


Fig. 4-39.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 9 al día 20.

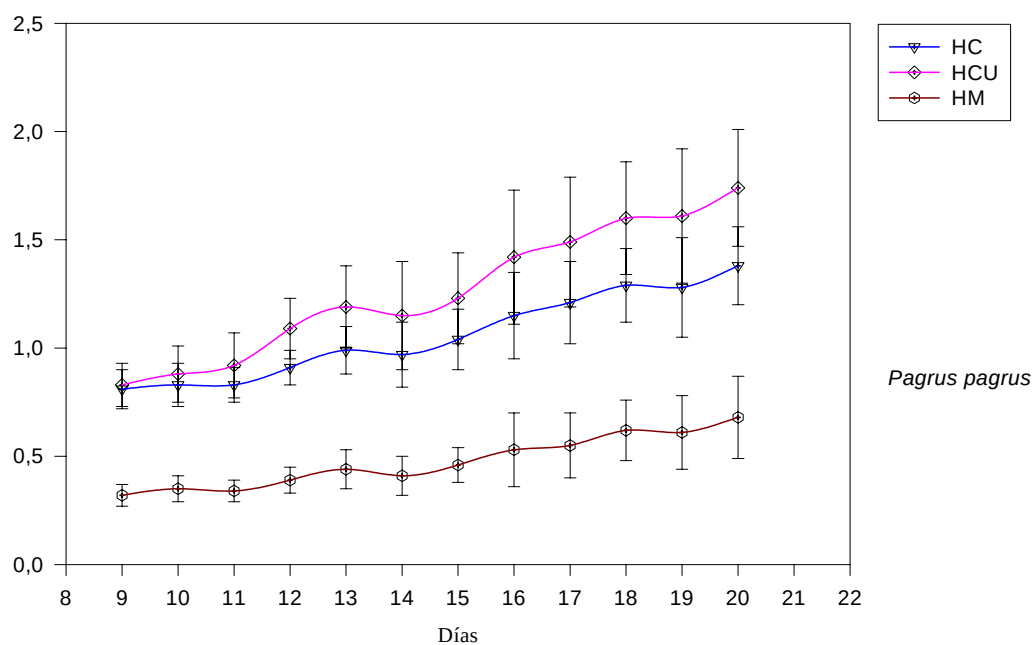


Fig. 4-40.- Evolución de HC, HCU y HM desde el día 9 al día 20.

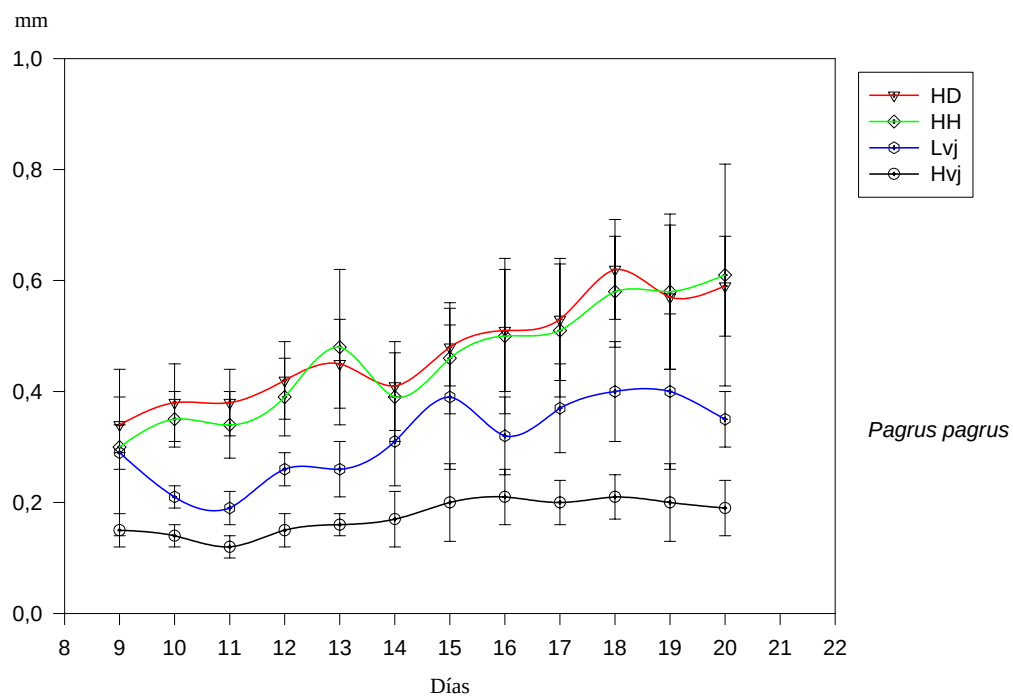


Fig. 4-41.- Evolución de HD, HH, Lvj y Hvj desde el día 9 al día 20.

La evolución de la longitud total (LT, Tabla 4.5, Fig. 4-42), longitud estándar (LS, Tabla 4.5, Fig. 4-42), y longitud preanal (LPA, Tabla 4.5, Fig. 4-42), a partir del día 21 fue muy similar. Se observó una reducción en el crecimiento el día 24, la cual se compensa al día siguiente, y un segundo crecimiento desproporcionado el día 30.

Por otro lado los parámetros que representan la altura de la larva: altura del cuerpo, altura cefálica y altura del miotomo (HCU, HC y HM, Tabla 4.5, Fig. 4-43) también mostraron una evolución sincronizada en este periodo, observándose una mayor tendencia a la variación a partir del día 23.

Los parámetros internos medidos altura del hígado y altura del digestivo (HH, HD, Tabla 4.5, Fig. 4-44) presentaron al igual que los parámetros anteriores una tendencia al crecimiento, aunque no de forma continua durante este periodo, observándose una mayor discontinuidad en el crecimiento a partir del día 23.

En cuanto a la altura y longitud de la vejiga natatoria (Lvj, Hvj, Tabla 4.5, Fig. 4-44) mostraron una gran variación en este intervalo, sobretodo en la longitud, donde se observaron tres picos de crecimiento máximo en los días 25, 28 y 30.

Tabla 4.5.- Valores morfométricos de larvas de bocinegro desde el día 21 hasta el día 31
(n = tamaño de muestra, μ = media, sd = desviación estándar)

<i>Pagrus pagrus</i>		21 d	22 d	23 d	24 d	25 d	26 d	27 d	28 d	29 d	30 d	31 d
LT	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	6,14	5,99	6,33	5,94	7,23	6,83	7,20	7,29	7,19	8,53	7,98
	sd	0,56	0,56	0,89	0,42	0,94	0,82	0,69	0,98	0,77	0,79	1,21
LS	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	5,87	5,71	5,93	5,67	6,62	6,33	6,64	6,56	6,69	7,20	7,14
	sd	0,55	0,50	0,65	0,40	0,60	0,67	0,48	0,96	0,53	0,64	0,62
LPA	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	2,76	2,73	2,88	2,66	3,48	3,24	3,48	3,56	3,63	4,44	3,91
	sd	0,44	0,46	0,59	0,29	0,58	0,54	0,45	0,69	0,85	0,84	0,77
HD	n	24	24	34	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	0,68	0,61	0,64	0,59	0,81	0,74	0,80	0,78	0,82	1,014	0,96
	sd	0,13	0,12	0,18	0,09	0,25	0,13	0,15	0,20	0,14	0,19	0,23
HH	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	0,65	0,68	0,76	0,64	0,88	0,81	0,91	0,88	0,87	1,14	1,02
	sd	0,16	0,14	0,20	0,10	0,21	0,17	0,15	0,19	0,14	0,38	0,26
HC	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	1,44	1,48	1,57	1,42	1,90	1,73	1,88	1,89	1,89	2,27	2,18
	sd	0,21	0,22	0,32	0,14	0,36	0,28	0,22	0,28	0,25	0,30	0,36
HM	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	0,75	0,76	0,85	0,65	1,16	0,98	1,16	1,16	1,16	1,61	1,34
	sd	0,27	0,22	0,33	0,14	0,35	0,30	0,28	0,35	0,35	0,29	0,37
HCU	n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	8
	μ	1,83	1,82	1,96	1,74	2,37	2,12	2,31	2,34	2,29	2,86	2,65
	sd	0,32	0,30	0,39	0,17	0,45	0,35	0,31	0,40	0,30	0,36	0,47
Lvj	n	11	12	8	13	10	6	7	3	4	6	2
	μ	0,44	0,43	0,43	0,41	0,81	0,48	0,36	0,59	0,50	0,85	0,71
	sd	0,16	0,14	0,06	0,10	0,26	0,08	0,06	0,37	0,09	0,26	0,14
Hvj	n	11	12	8	13	10	6	7	3	4	6	2
	μ	0,24	0,24	0,21	0,21	0,38	0,24	0,20	0,26	0,23	0,39	0,33
	sd	0,08	0,07	0,02	0,05	0,12	0,05	0,06	0,16	0,02	0,06	0,06

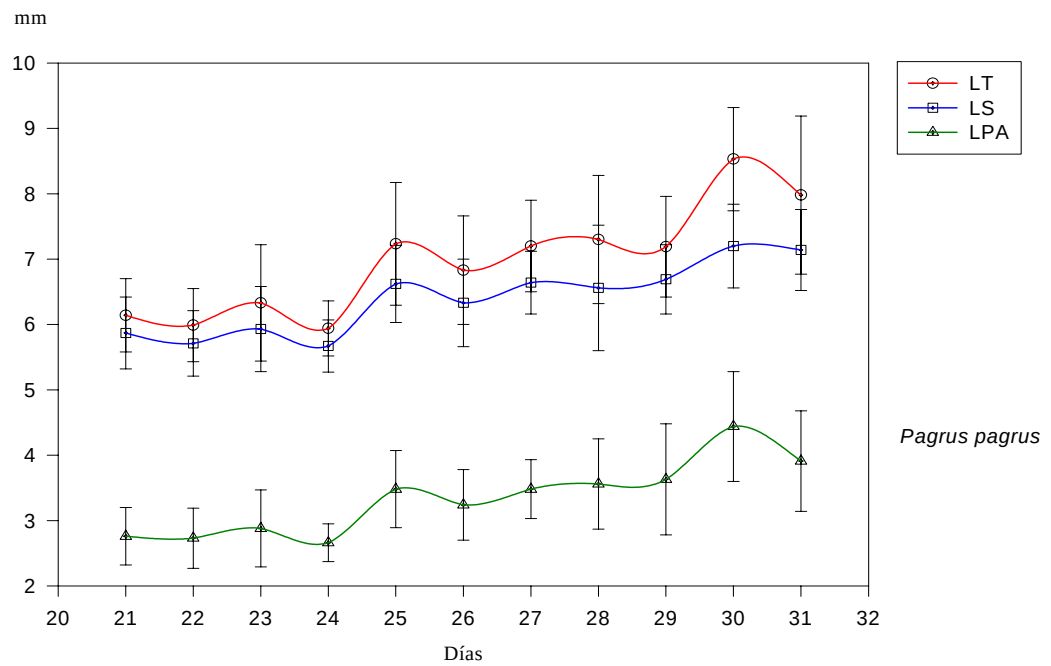


Fig. 4-42.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 21 al día 31.

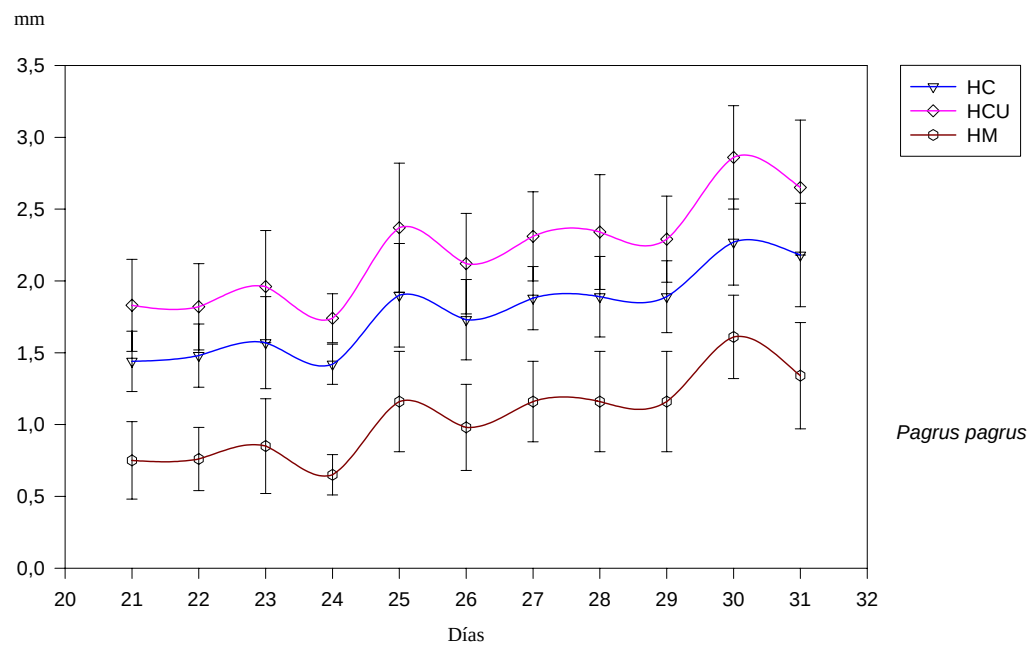


Fig. 4-43.- Evolución de HC, HCU y HM desde el día 21 al día 31.

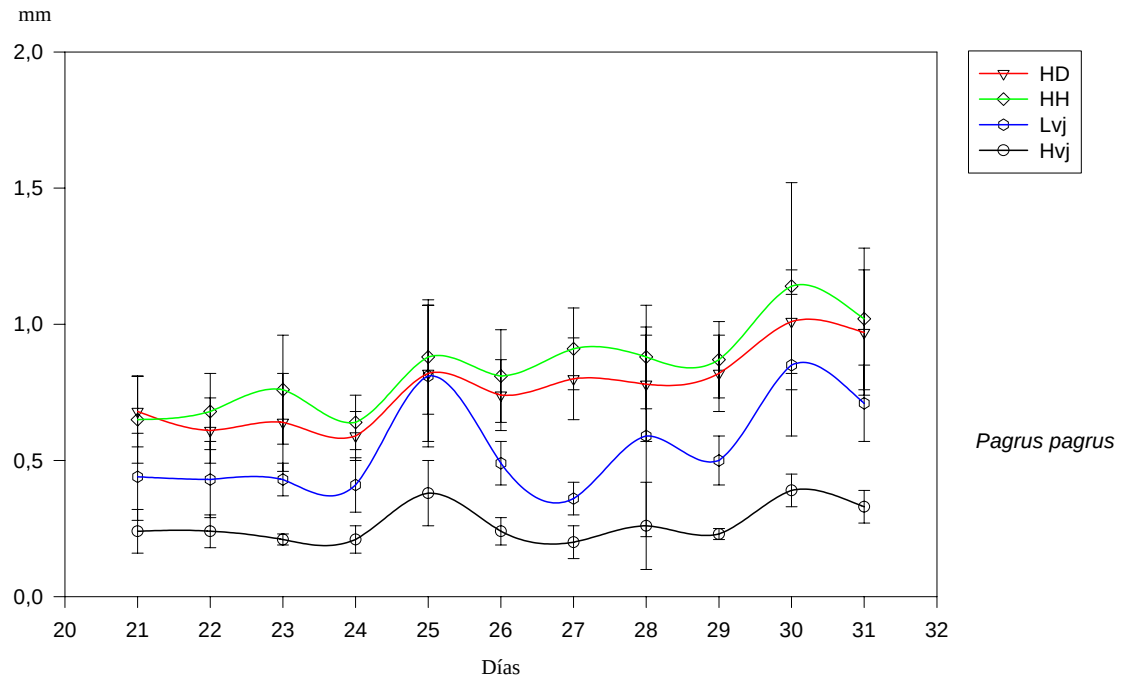


Fig. 4-44.- Evolución de HD, HH, Lvj y Hvj desde el día 21 al día 31.

En la Tabla 4.6 se indican las ecuaciones que representan la evolución de los parámetros estudiados en relación a la longitud total de la larva.

La relación existente entre la longitud total de la larva y el resto de los parámetros morfométricos estudiados se muestran en las Fig. 4-45 a 4-56.

Tabla 4.6.- Ecuaciones de regresión de las larvas de bocinegro

ECUACIÓN	R	n	P
$L_{sc} = 3,16922 - 0,74939 * LT$	-0,917	101	<0,001
$H_{sc} = 1,71093 - 0,382627 * LT$	-0,938	101	<0,001
$D_g = 0,569147 - 0,115636 * LT$	-0,801	112	<0,001
$LS = 1/(0,00876856 + 1,01089/LT)$	0,997	749	<0,001
$LPA = (0,453293 + 0,193577 * LT)^2$	0,978	749	<0,001
$HD = -1,39743 + 0,82488 * \sqrt{LT}$	0,938	679	<0,001
$HH = -0,0503139 + 0,191585 * LT$	0,951	647	<0,001
$HC = -0,8020 + 0,36904 * LT$	0,986	748	<0,001
$HM = \exp(-2,92365 + 0,417018 * LT)$	0,979	749	<0,001
$HCU = -4,1291 + 2,4060 * \sqrt{LT}$	0,986	647	<0,001
$L_{vj} = (0,1131 + 0,087882 * LT)^2$	0,756	190	<0,001
$H_{vj} = -0,0737749 + 0,0495377 * LT$	0,705	190	<0,001

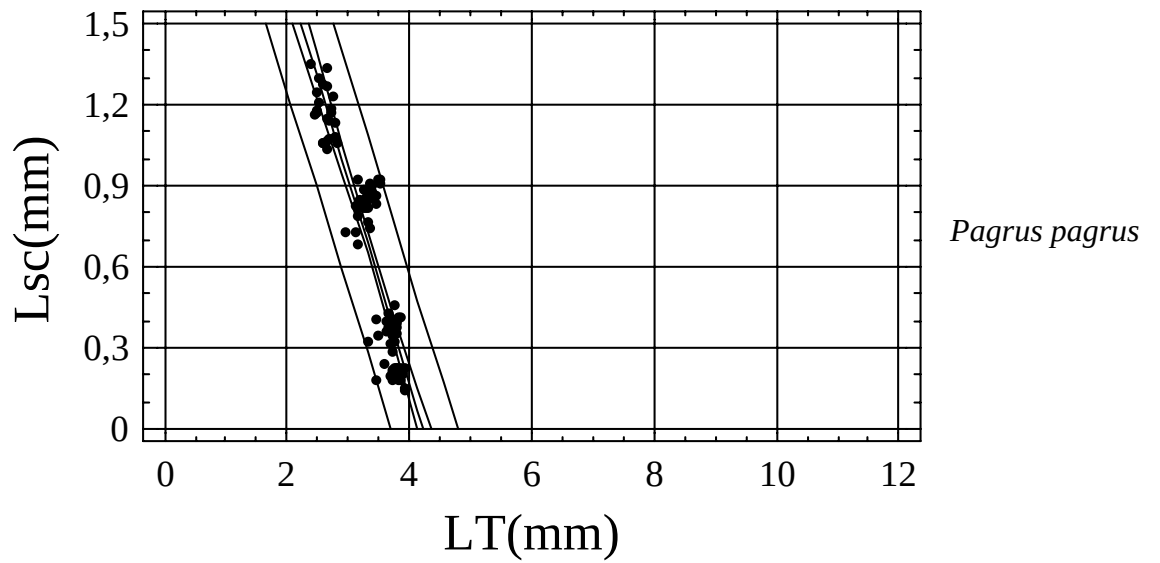


Fig. 4-45. Relación existente entre Lsc y LT ($Lsc = 3,16922 - 0,74939 * LT$).

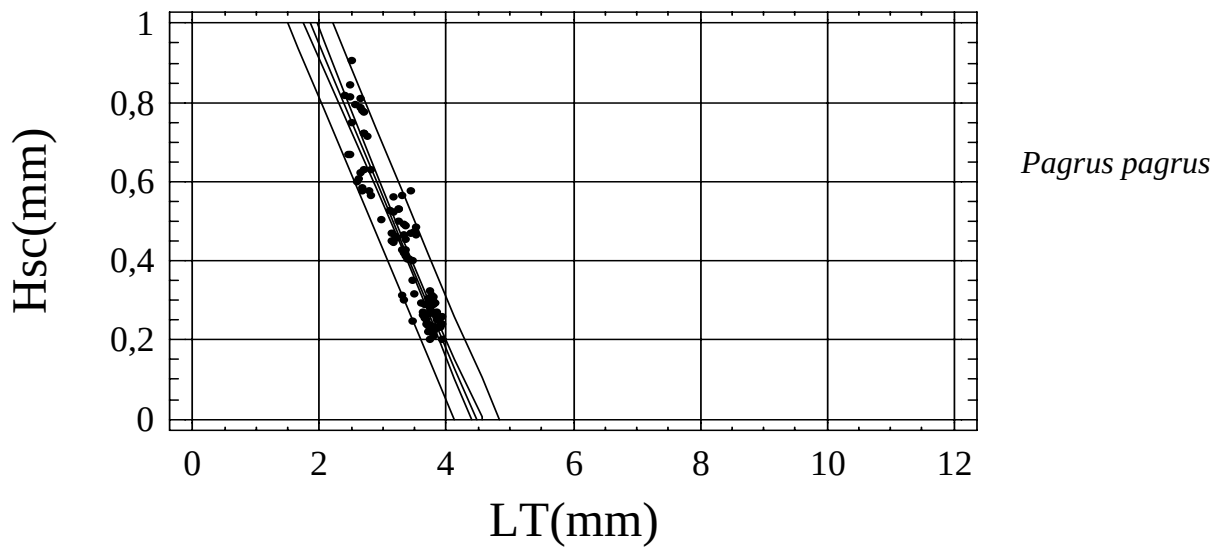


Fig. 4-46.- Relación existente entre Hsc y LT ($Hsc = 1,71093 - 0,382627 * LT$).

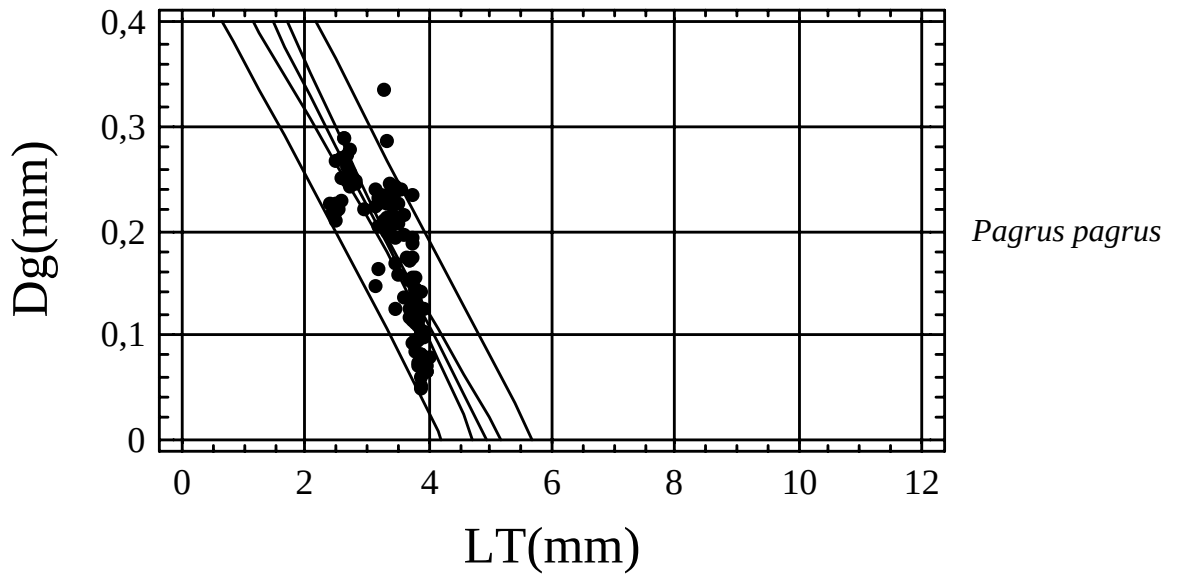


Fig. 4-47.- Relación existente entre Dg y LT ($Dg = 0,569147 - 0,115636 * LT$).

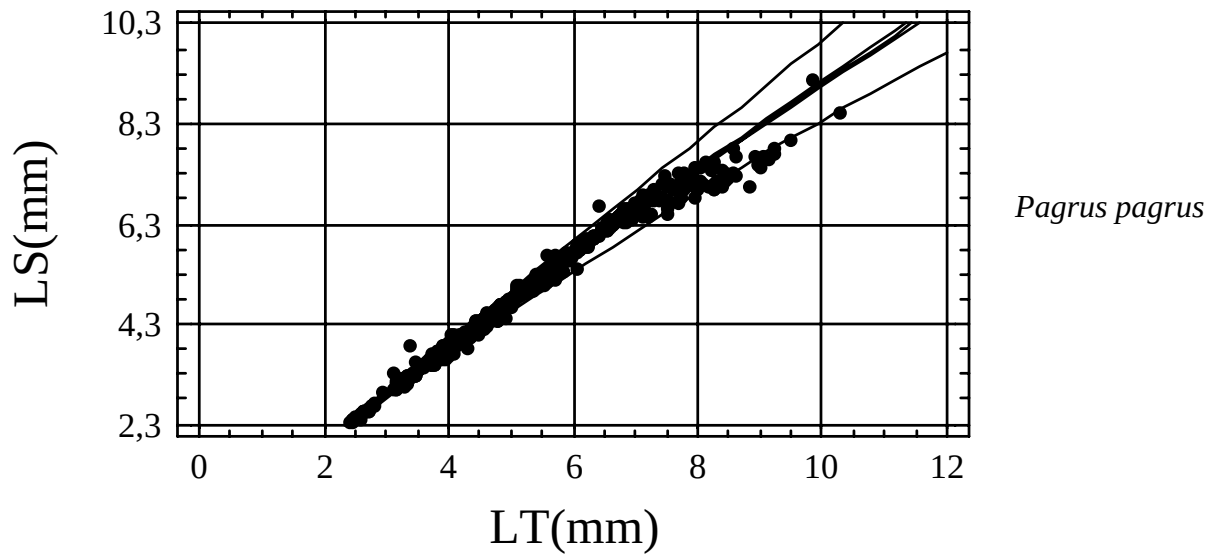


Fig. 4-48.- Relación existente entre LS y LT ($LS = 1/(0,00876856 + 1,01089/LT)$).

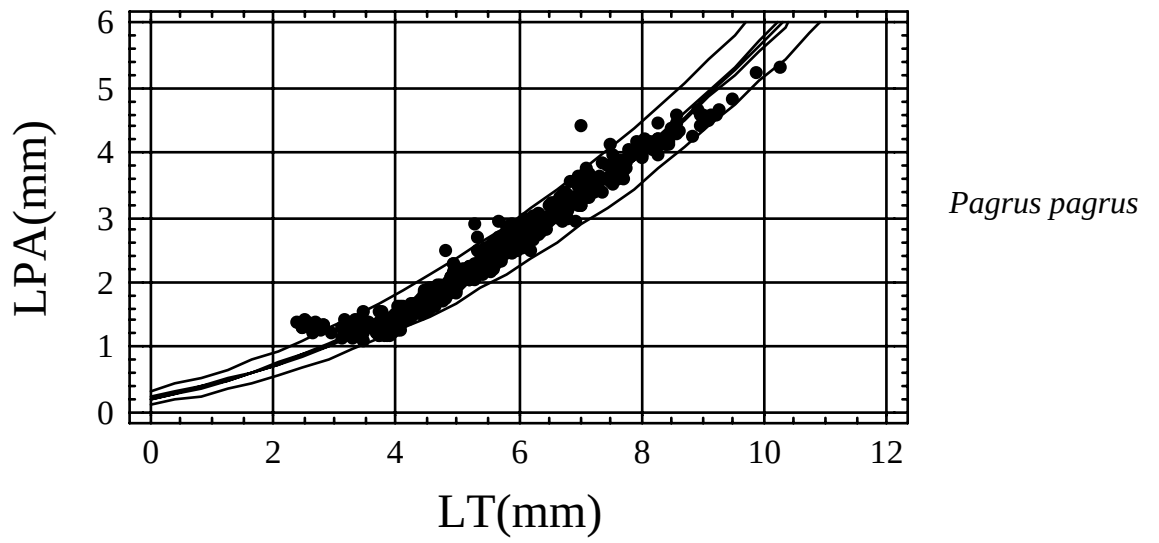


Fig. 4-49.- Relación existente entre LPA y LT ($LPA = (0,453293 + 0,193577 * LT)^2$).

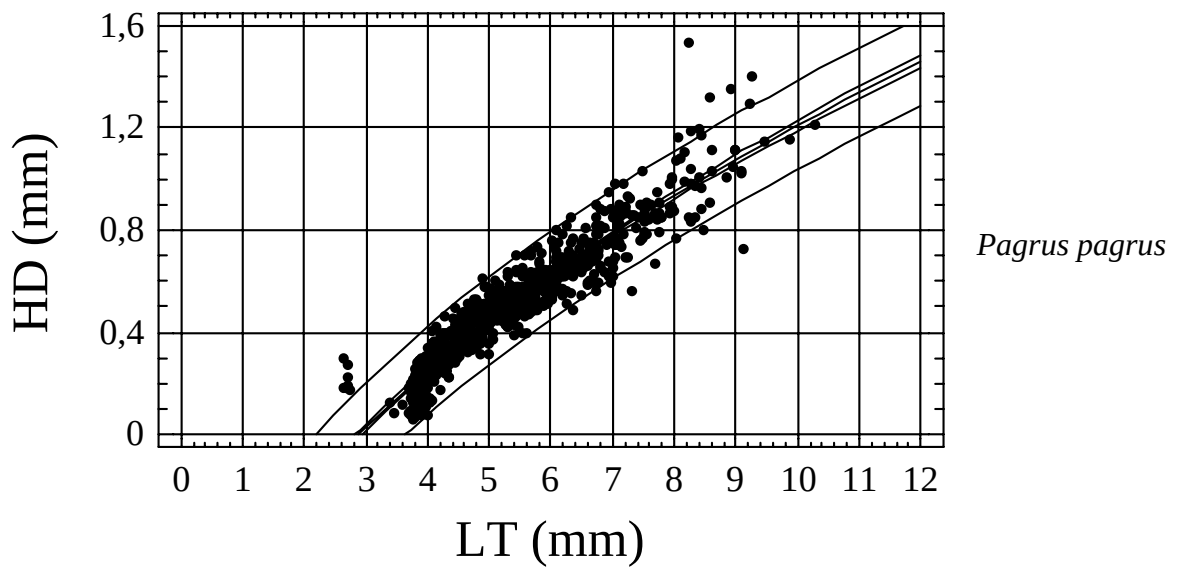


Fig. 4-50.- Relación existente entre HD y LT ($HD = -1,39743 + 0,82488 * \sqrt{LT}$).

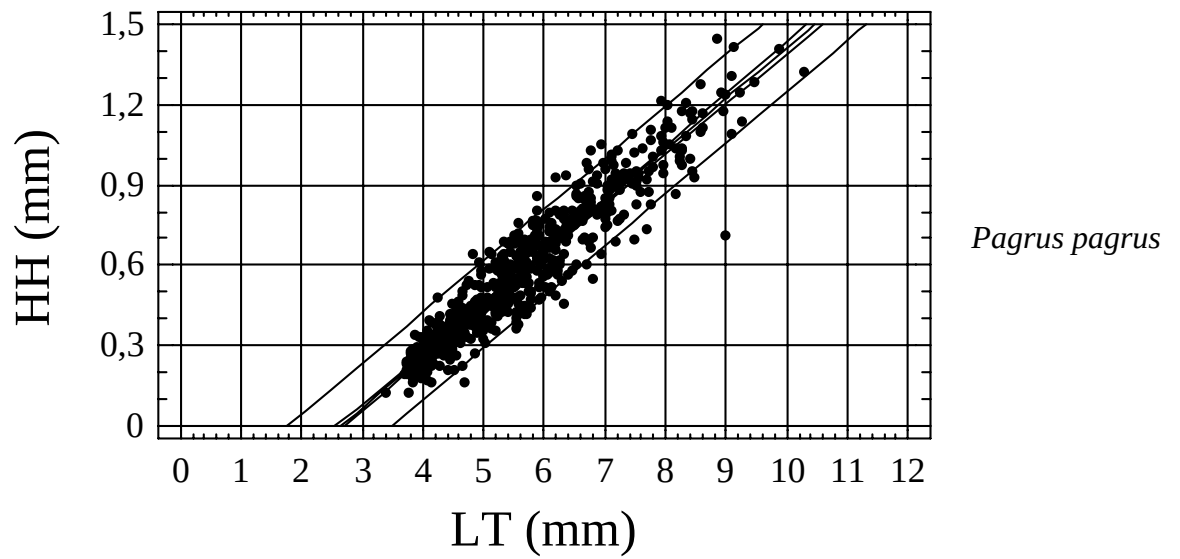


Fig. 4-51.- Relación existente entre HH y LT ($HH = -0,0503139 + 0,191585 * LT$).

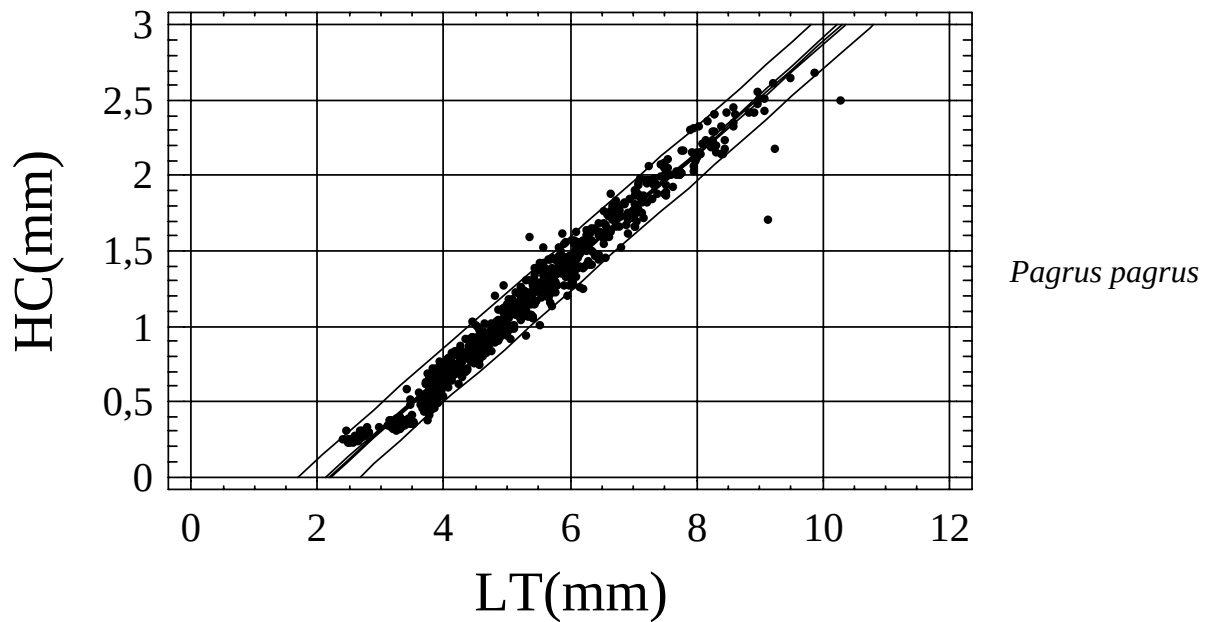


Fig. 4-52.- Relación existente entre HC y LT ($HC = -0,8020 + 0,36904 * LT$).

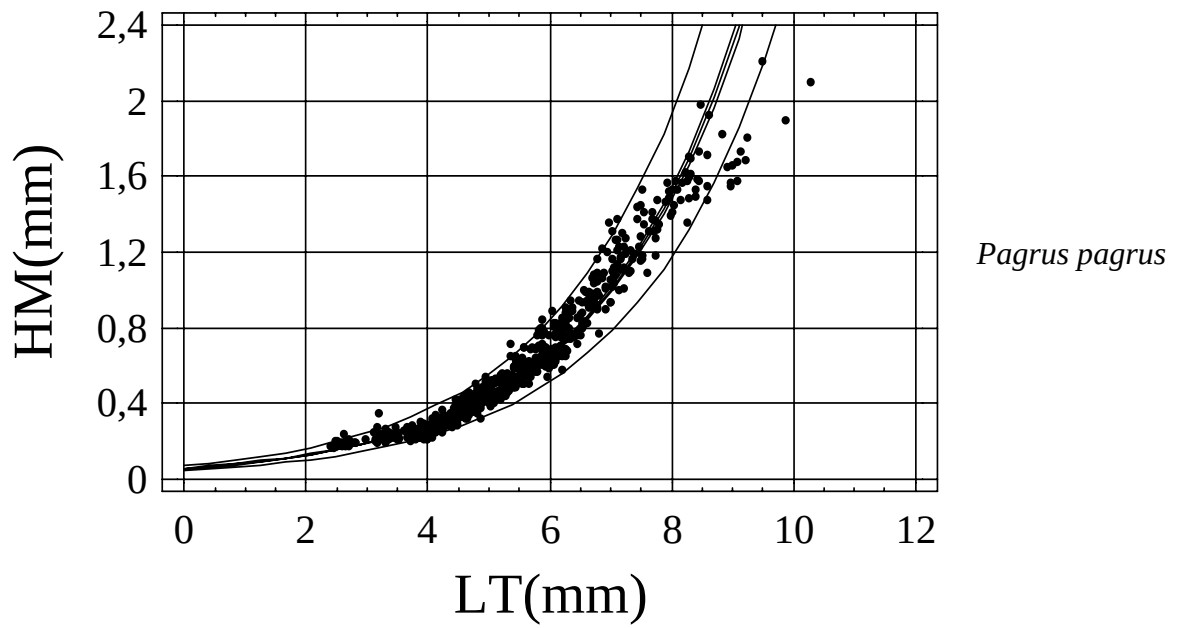


Fig. 4-53.- Relación existente entre HM y LT ($HM = \exp(-2,92365 + 0,417018 \cdot LT)$).

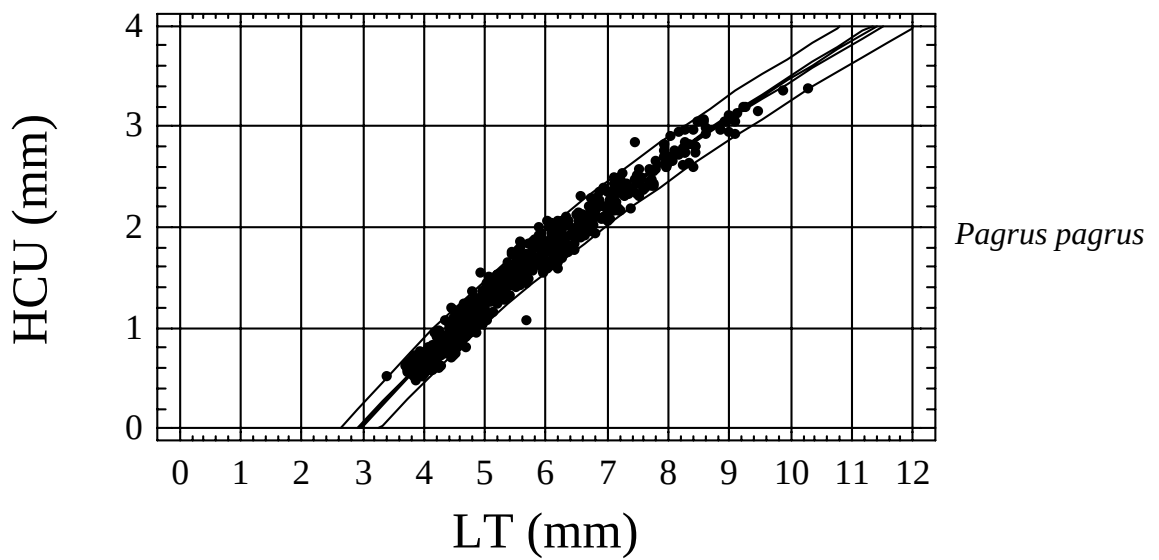


Fig. 4-54.- Relación existente entre HCU y LT ($HCU = -4,1291 + 2,4060 \cdot \sqrt{LT}$).

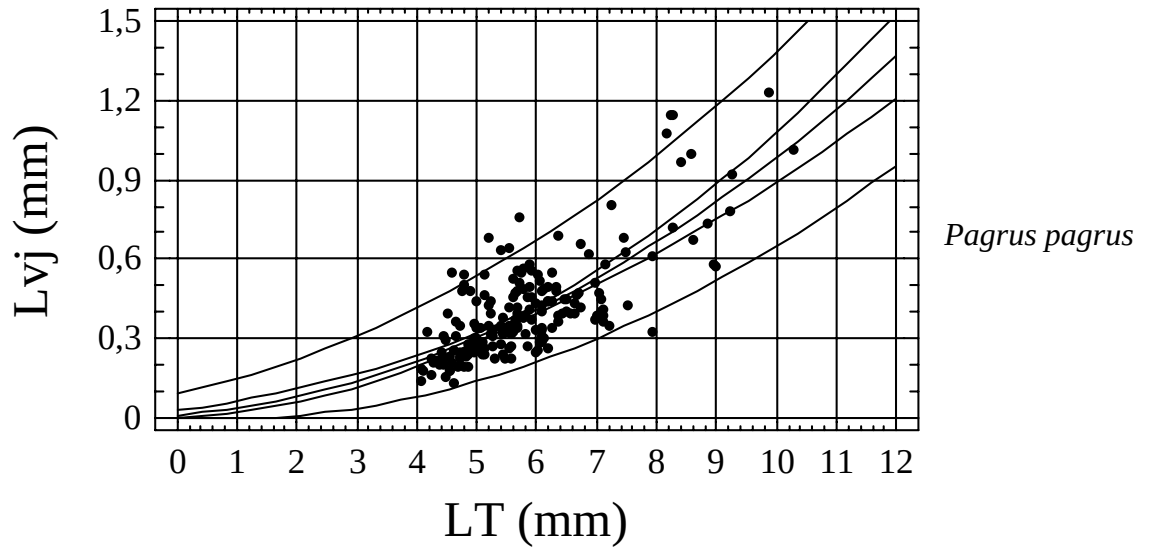


Fig. 4-55.- Relación existente entre Lvj y LT ($Lvj = (0,1131 + 0,087882 * LT)^2$).

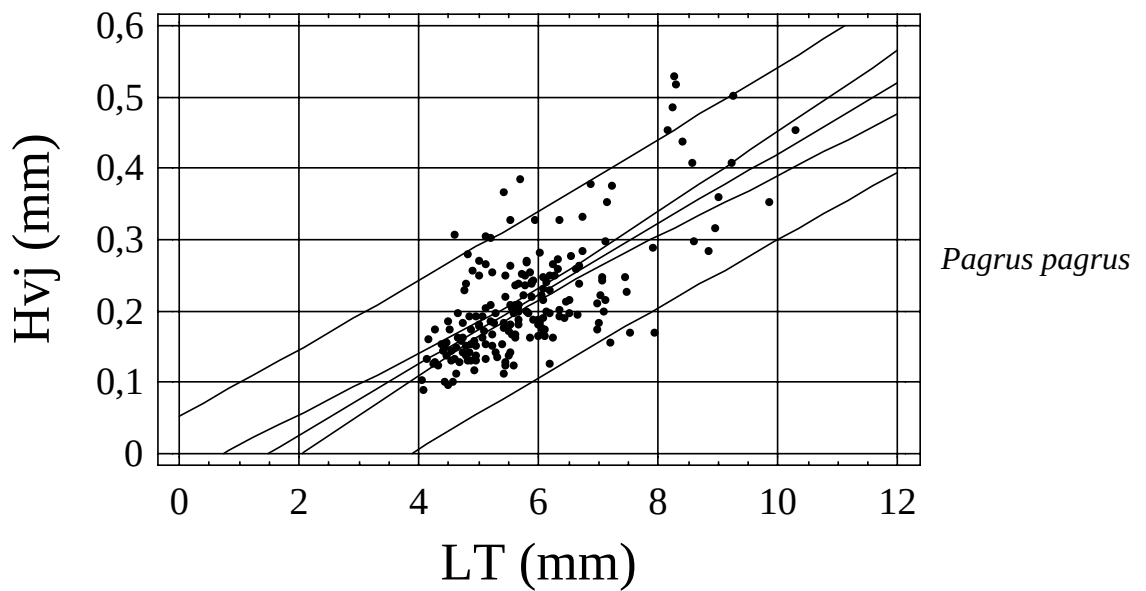


Fig. 4-56.- Relación existente entre Hvj y LT ($Hvj = -0,0737749 + 0,0495377 * LT$).

4.3.2.2.- SAMA DE PLUMA

La longitud del saco vitelino (Lsc, Tabla 4.7, Fig. 4-57) mostró una fuerte disminución durante las primeras 60 horas de vida de la larva, esta reducción fue continua y homogénea durante todo el periodo de medida. De manera similar la altura del saco vitelino (Hsc, Tabla 4.7, Fig. 4-57) experimentó una reducción homogénea en el mismo periodo, aunque más acentuada en las primeras 12 horas de desarrollo. El diámetro de la gota de grasa (Dg, Tabla, 4.7, Fig. 4-57), sufrió de la misma manera una reducción continua y homogénea durante las 72 horas que necesitó para ser completamente absorbida.

El crecimiento de la larva, evaluado mediante la longitud total (LT, Tabla 4.7, Fig. 4-58) y la longitud estándar (LS, Tabla 4.7, Fig. 4-58), mostró en ambos parámetros una tendencia similar, así el crecimiento se acentuó en los dos primeros días, para luego ser más moderado hasta el día 8. Sin embargo, la longitud preanal (LPA, Tabla 4.7, Fig. 4-58) aumentó en las primeras 24 horas, para luego sufrir una disminución hasta el día cuatro, donde volvió a continuar su crecimiento.

La longitud cefálica (LC, Tabla 4.7, Fig. 4-59) permaneció invariable durante las 36 primeras horas, para luego experimentar un importante crecimiento hasta el día 3, moderándose a partir de este día. Por otro lado, la medida que hace referencia a la altura de la musculatura de la larva (HM, Tabla 4.7, Fig. 4-59), presentó un crecimiento continuo durante los ocho primeros días de vida larvaria de la sama de pluma, siendo mayor el crecimiento de este parámetro en las primeras 48 horas.

Tabla 4.7.- Valores morfométricos de larvas de sama de pluma desde el día 0 hasta el día 8 (n = tamaño de muestra, μ = media, sd = desviación estándar)

<i>Dentex gibbosus</i>		0 h	12 h	1d	36h	2 d	60h	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
Lsc	n	31	30	10	25	21	23						
	μ	1,19	1,00	0,90	0,56	0,40	0,17						
	sd	0,09	0,07	0,12	0,11	0,11	0,05						
Hsc	n	31	30	10	24	21	23						
	μ	0,82	0,63	0,58	0,46	0,35	0,22						
	sd	0,1	0,05	0,05	0,06	0,07	0,04						
DG	n	31	30	10	25	21	23	3					
	μ	0,19	0,17	0,14	0,14	0,12	0,8	0,08					
	sd	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03					
LT	n	31	30	10	25	21	23	9	8	10	9	10	10
	μ	2,10	2,69	3,02	3,25	3,33	3,35	3,34	3,29	3,51	3,38	3,93	3,89
	sd	0,12	0,18	0,11	0,21	0,15	0,15	0,17	0,14	0,12	0,15	0,29	0,25
LS	n	31	30	10	25	21	23	9	8	10	9	10	10
	μ	2,03	2,59	2,90	3,12	3,19	3,19	3,18	3,13	3,34	3,38	3,72	3,73
	sd	0,13	0,18	0,10	0,20	0,13	0,15	0,18	0,13	0,13	0,13	0,33	0,22
LPA	n	13	30	10	25	21	23	9	8	10	9	10	10
	μ	1,19	1,26	1,25	1,23	1,21	1,15	1,17	1,16	1,22	1,26	1,38	1,42
	sd	0,08	0,06	0,06	0,07	0,05	0,06	0,08	0,04	0,07	0,07	0,11	0,11
LC	n	15	25	5	15	16	19	1	5	10	5	5	10
	μ	0,32	0,31	0,30	0,31	0,45	0,63	0,66	0,60	0,68	0,65	0,73	0,81
	sd	0,04	0,04	0,02	0,03	0,09	0,04	0,00	0,06	0,04	0,06	0,03	0,12
HM	n	10	10	5	14	13	10	2	5	5	5	5	10
	μ	0,15	0,19	0,21	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,25	0,29	0,28
	sd	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01

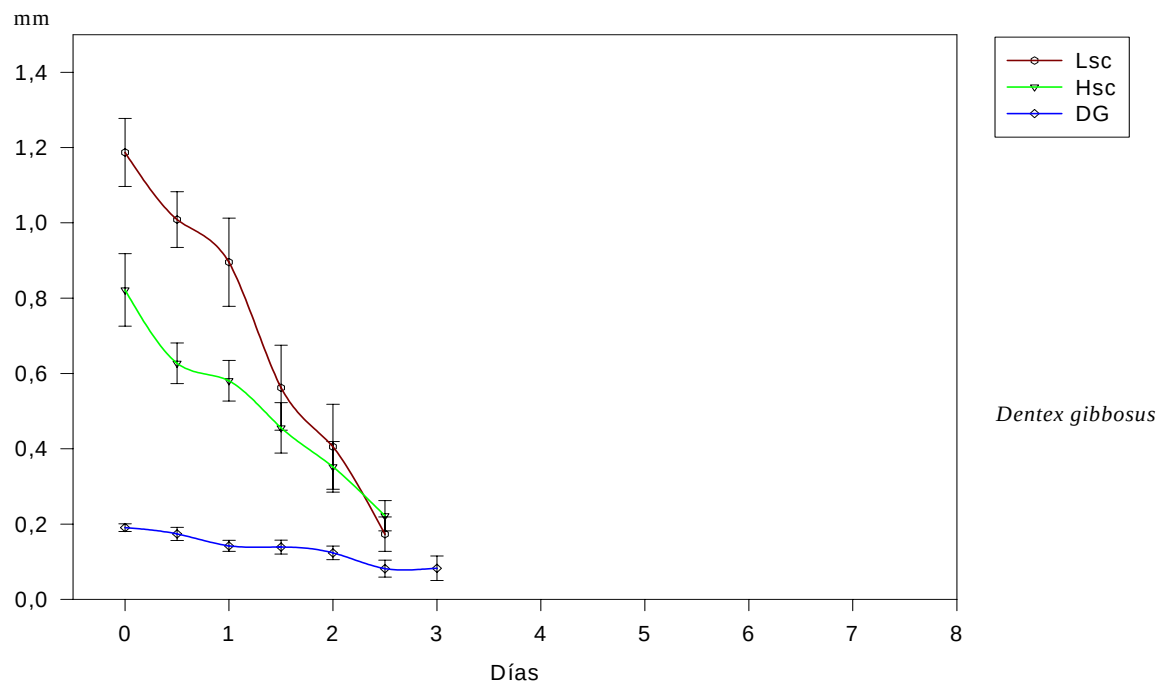


Fig. 4-57.- Evolución de Lsc Hsc y Dg durante los ocho primeros días de vida.

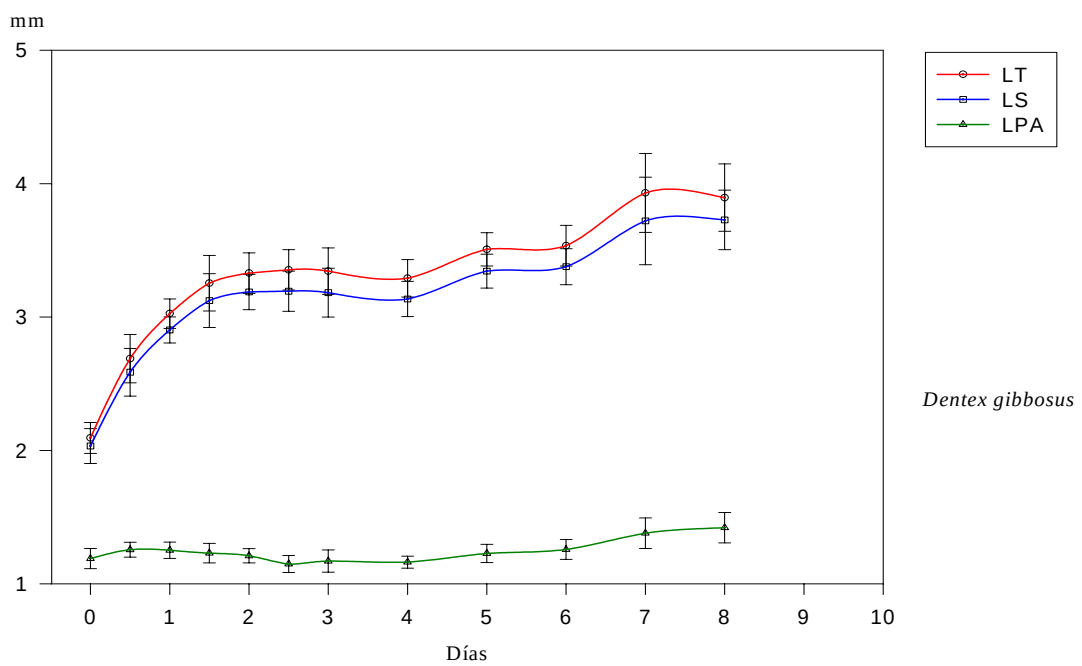


Fig. 4-58.- Evolución de LT, LS y LPA durante los ocho primeros días de vida.

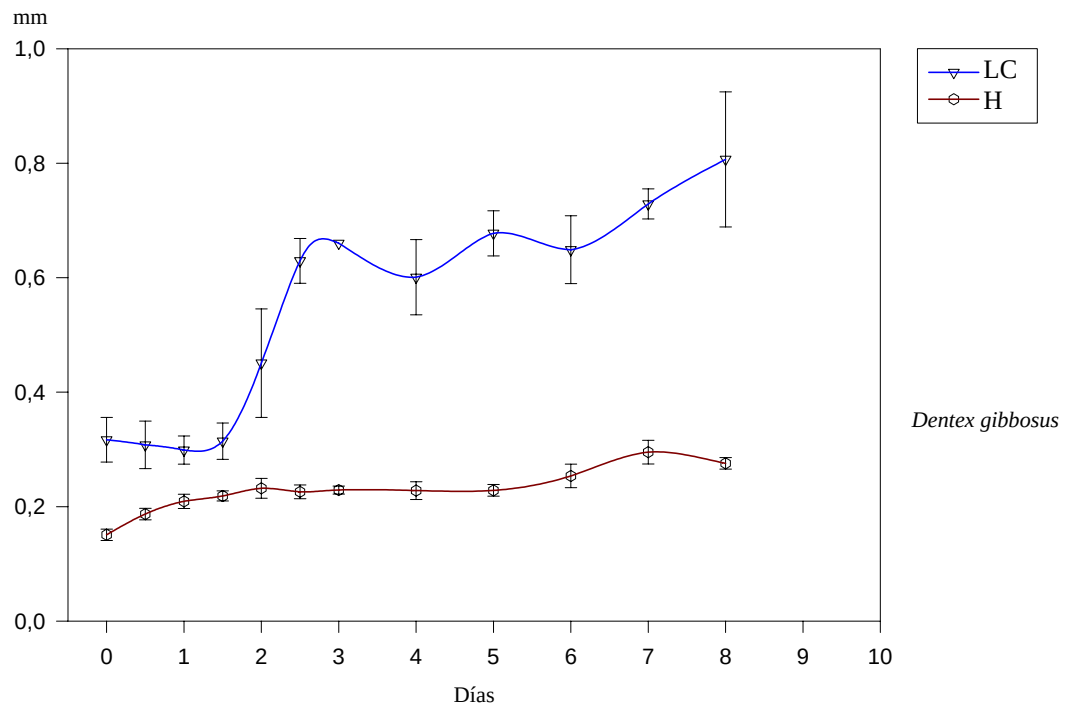


Fig. 4-59.- Evolución de LC y HM durante los ocho primeros días de vida.

En cuanto al periodo comprendido entre el día 9 y 20 de la larva, la longitud total, (LT, Tabla 4.8, Fig. 4-60) presentó un crecimiento continuo desde el día 9 hasta el día 19, reduciéndose dicho valor en el día 20. El mismo comportamiento fue observado para la longitud estándar (LS, Tabla 4.8, Fig. 4-60) y para la longitud preanal (LPA, Tabla 4.8, Fig. 4-60), observándose una sincronía entre estas tres magnitudes, coincidiendo en ellas el día 20 una reducción de su medida.

La longitud cefálica (LC, Tabla 4.8, Fig. 4-61) experimentó un constante crecimiento, principalmente a partir del día 12, que se vio truncado en el día 20, en el que dicha magnitud sufrió una disminución. La altura muscular (HM, Tabla 4.8, Fig. 4-61) permaneció constante hasta el día 11, experimentando a partir de este momento una tendencia creciente hasta el día 19, donde vuelve a suceder una reducción de la medida. Por otro lado la altura del cuerpo (HCU, Tabla 4.8, Fig. 4-61) presentó un crecimiento irregular desde el día 9 hasta el día 18 de la larva, produciéndose a partir de aquí una reducción del mismo.

La longitud de la vejiga natatoria (Lvj, Tabla 4.8, Fig. 4-62) experimentó en los días 10 y 12 dos picos de crecimiento. Sin embargo, la altura de la vejiga, mostró una tendencia de crecimiento continua desde el día 9 hasta el día 13.

Tabla 4.8.- Valores morfométricos de larvas de sama de pluma desde el día 9 hasta el día 20 (n = tamaño de muestra, μ = media, sd = desviación estándar)

<i>Dentex gibbosus</i>		9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	17 d	18 d	19 d	20 d
LT	n	10	10	10	13	10	10	8	5	4	5	9
	μ	4,01	4,22	4,24	4,64	4,55	4,82	5,05	5,47	5,47	5,56	5,11
	sd	0,28	0,19	0,29	0,25	0,44	0,34	0,26	0,37	0,05	0,46	0,42
LS	n	10	10	10	13	10	10	8	5	4	5	9
	μ	3,80	4,00	4,04	4,41	4,34	4,59	4,80	5,22	5,21	5,29	4,89
	sd	0,28	0,18	0,28	0,23	0,42	0,32	0,26	0,36	0,07	0,49	0,39
LPA	n	10	10	10	13	10	10	8	5	4	5	9
	μ	1,53	1,55	1,64	1,84	1,80	1,96	2,13	2,41	2,50	2,52	2,12
	sd	0,14	0,14	0,21	0,16	0,28	0,27	0,15	0,08	0,22	0,26	0,29
LC	n	10	10	10	13	10	10	8	5	4	5	9
	μ	0,82	0,87	0,86	1,04	1,03	1,05	1,14	1,27	1,32	1,35	1,19
	sd	0,09	0,09	0,08	0,11	0,09	0,14	0,08	0,09	0,06	0,09	0,14
HM	n	5	5	5	13	5	10	8	5	4	5	9
	μ	0,30	0,31	0,31	0,43	0,36	0,49	0,54	0,66	0,66	0,72	0,53
	sd	0,03	0,04	0,04	0,05	0,07	0,10	0,05	0,09	0,05	0,08	0,12
HCU	n	10	10	10	9	10	10	8	5	4	5	9
	μ	0,81	0,90	0,88	1,03	1,13	1,32	1,35	1,41	1,57	1,58	1,30
	sd	0,05	0,04	0,10	0,08	0,09	0,13	0,08	0,14	0,08	0,14	0,17
Lvj	n	9	10	10	9	10	10					
	μ	0,20	0,30	0,24	0,37	0,37	0,37					
	sd	0,07	0,03	0,05	0,09	0,06	0,04					
Hvj	n	9	10	10	9	9	10					
	μ	0,12	0,12	0,14	0,18	0,21	0,18					
	sd	0,03	0,02	0,02	0,04	0,01	0,02					

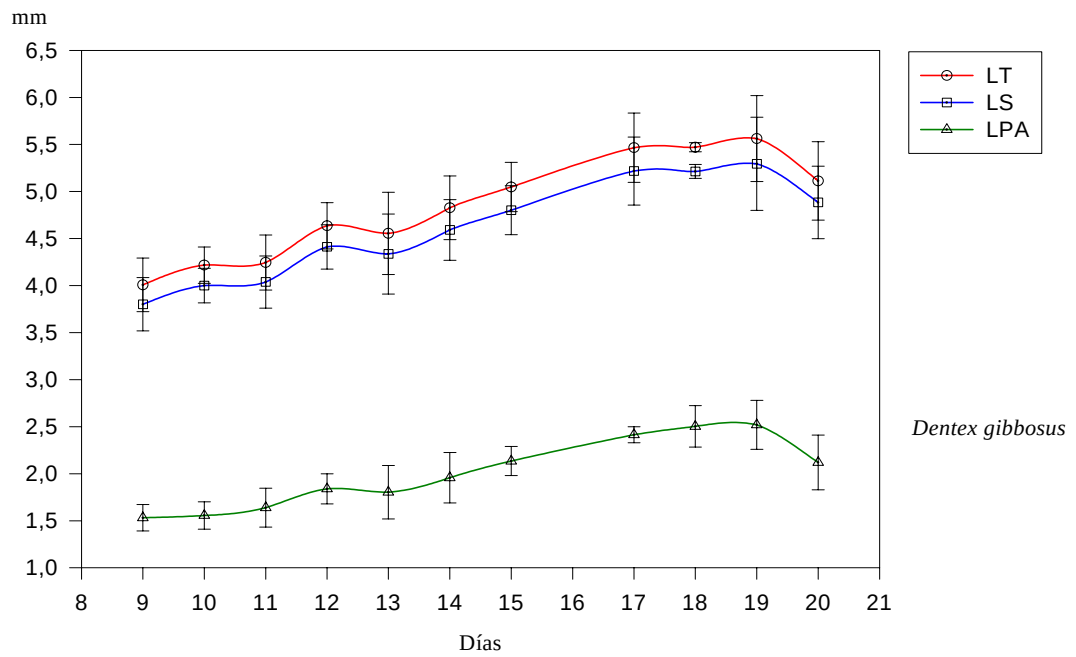


Fig. 4-60.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 9 al día 20.

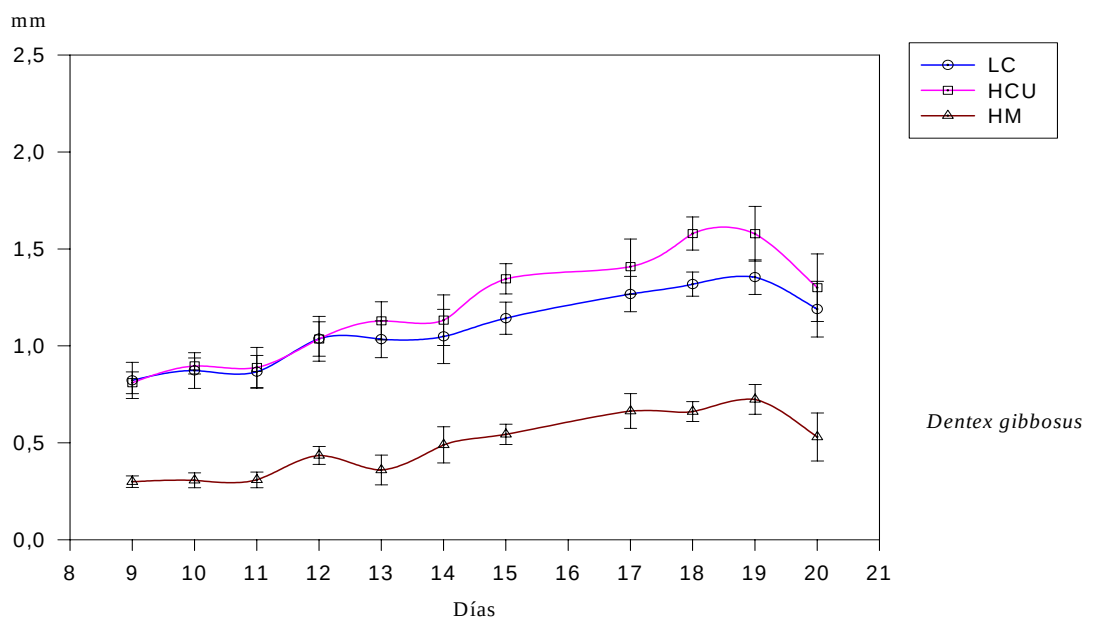


Fig. 4-61.- Evolución de LC, HCU y HM desde el día 9 al día 20.

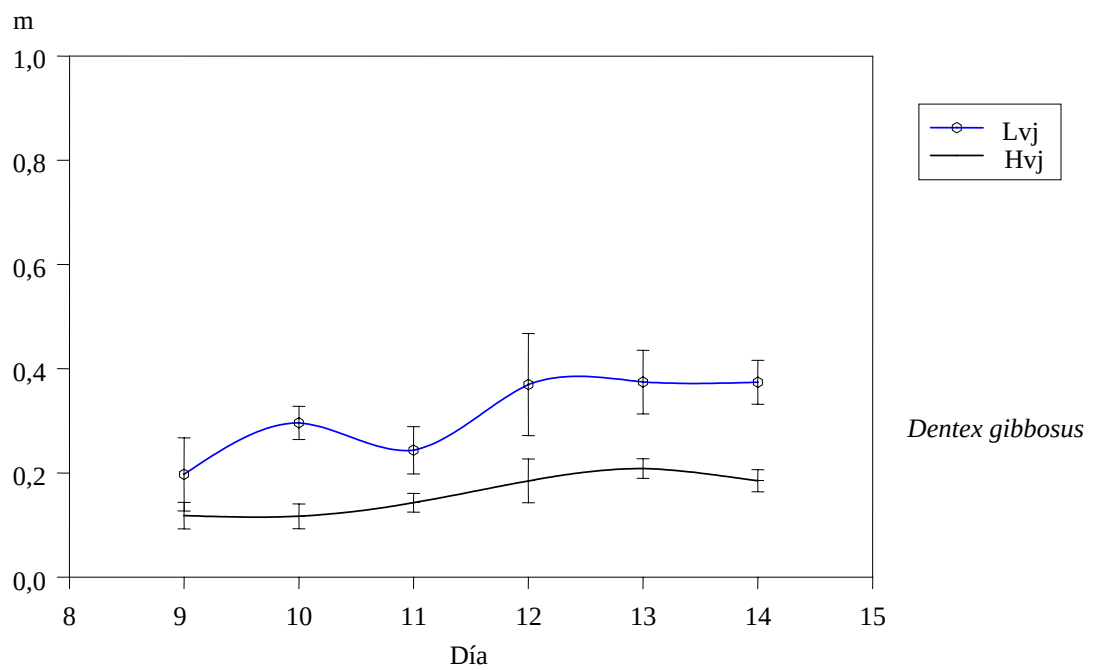


Fig. 4-62.- Evolución de Lvj y Hvj desde el día 9 al día 14.

Desde el día 21 hasta el día 31. La longitud total, (LT, Tabla 4.9, Fig. 4-63) presentó tres etapas de crecimiento diferentes, inicialmente mostró un rápido crecimiento, el cual se suavizó mediante una ligera pendiente hasta el día 24. A partir de aquí y hasta el final del periodo de estudio aumentó la pendiente de crecimiento. El mismo comportamiento fue observado para la longitud estándar (LS, Tabla 4.9, Fig. 4-63). Sin embargo, la longitud preanal (LPA, Tabla 4.9, Fig. 4-63) mostró una tendencia de crecimiento continua, con una ligera pendiente durante toda esta etapa.

La longitud cefálica (LC, Tabla 4.9, Fig. 4-64) experimentó un crecimiento constante durante este intervalo aunque ligeramente mas acentuado a partir del día 26. Mientras tanto, la altura del cuerpo (HCU, Tabla 4.9, Fig. 4-64) mostró una ligera tendencia de crecimiento durante estos diez días, aunque con un momento de crecimiento irregular en el día 22. La altura muscular (HM, Tabla 4.9, Fig. 4-64) presentó una gran sincronía con HCU, siguiendo la misma tendencia durante todo el periodo.

Tabla 4-9.- Valores morfométricos de larvas de sama de pluma desde el día 21 hasta el día 31 (n = tamaño de muestra, μ = media, sd desviación estándar)

<i>Dentex gibbosus</i>		21 d	22 d	23 d	24 d	26 d	31 d
LT	n	5	4	4	5	3	3
	μ	5,86	6,54	6,59	6,69	7,09	9,03
	sd	0,44	0,39	0,78	0,53	0,56	0,37
LS	n	5	4	4	5	3	3
	μ	5,68	6,12	5,99	6,04	6,19	7,59
	sd	0,33	0,26	0,56	0,33	0,34	0,27
LPA	n	5	4	4	5	3	3
	μ	2,65	3,10	3,18	3,26	3,54	4,45
	sd	0,23	0,18	0,44	0,28	0,46	0,33
LC	n	5	4	4	5	3	3
	μ	1,47	1,65	1,65	1,73	1,82	2,40
	sd	0,13	0,11	0,23	0,20	0,18	0,12
HM	n	5	4	4	5	3	3
	μ	0,75	0,94	0,98	1,06	1,11	1,76
	sd	0,10	0,10	0,20	0,19	0,22	0,08
HCU	n	5	4	4	5	3	3
	μ	1,62	1,88	1,72	1,85	1,91	2,43
	sd	0,11	0,21	0,17	0,20	0,10	0,07

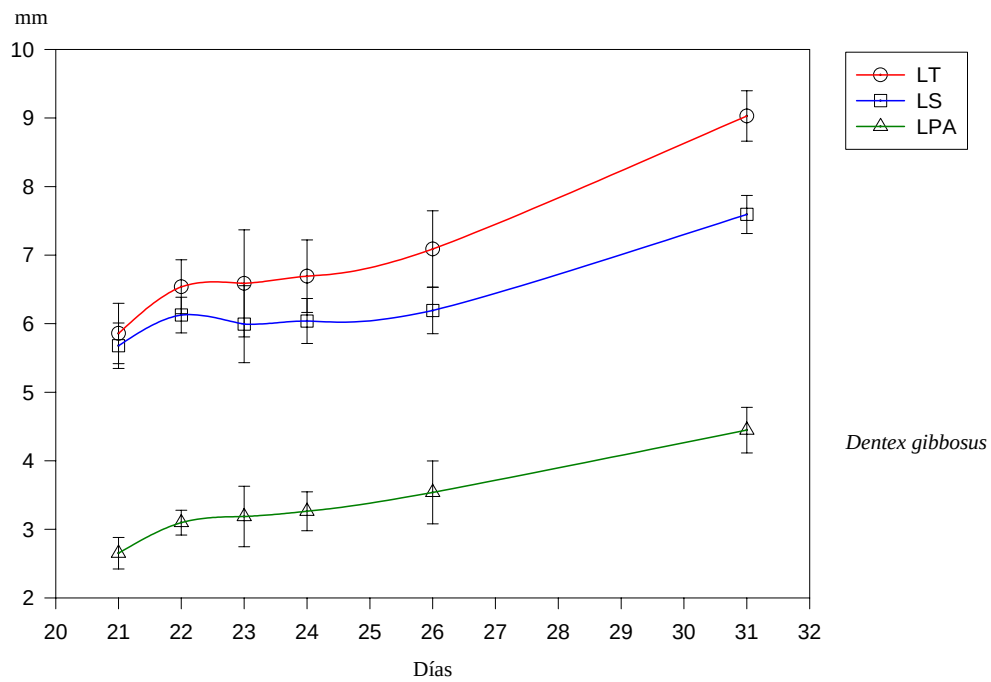


Fig. 4-63.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 21 al día 31.

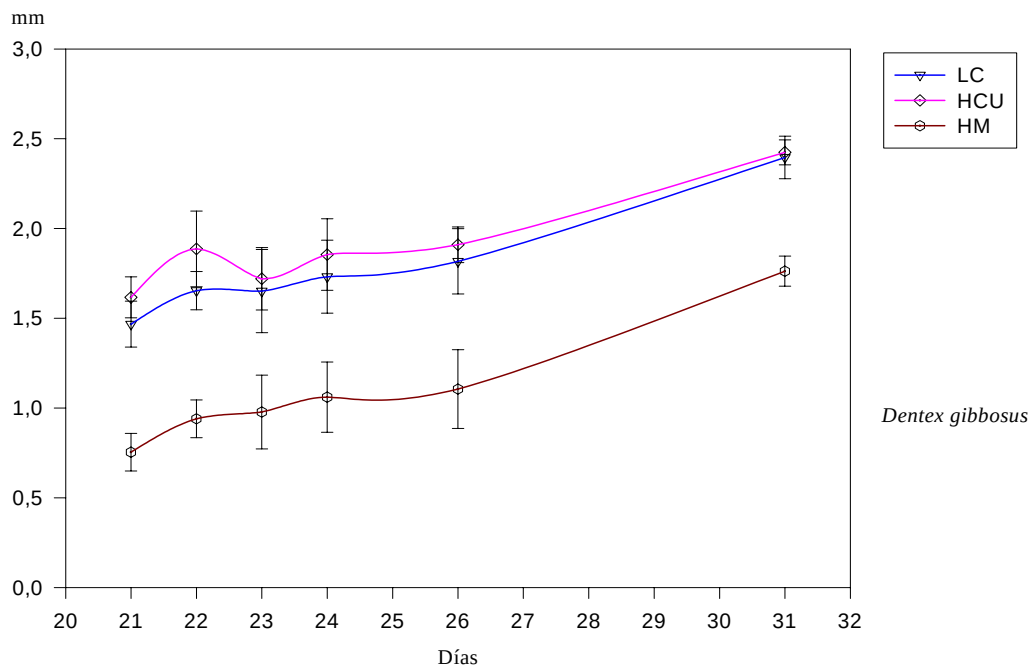


Fig. 4-64.- Evolución de LC, HCU y HM desde el día 21 al día 31.

En la Tabla 4.10 se indican las ecuaciones que representan la evolución de los parámetros estudiados en relación a la longitud total de la larva.

La relación existente entre la longitud total de la larva y el resto de los parámetros morfométricos estudiados se muestran en las Fig. 4-65 a 4-74

Tabla 4.10.- Ecuaciones de regresión de las larvas de sama de pluma

ECUACIÓN	R	n	P
$L_{sc} = 2,60676 - 0,648422 * LT$	-0,866	138	<0,001
$H_{sc} = 1,61578 - 0,376518 * LT$	-0,880	137	<0,001
$DG = 0,326945 - 0,0627209 * LT$	-0,772	141	<0,001
$LS = 1/(0,0090069 + 1,01518/LT)$	0,999	303	<0,001
$LPA = (0,565146 + 0,172653 * LT)^2$	0,945	285	<0,001
$LC = -0,55337 + 0,334501 * LT$	0,968	236	<0,001
$HM = (-0,00398464 + 0,146818*LT)^2$	0,977	169	<0,001
$HCU = -0,344594 + 0,321141 * LT$	0,945	111	<0,001
$L_{vj} = \exp (1,67634 - 13,1346/LT)$	-0,704	29	<0,001
$H_{vj} = -0,24024 + 0,0872929 * LT$	0,662	27	<0,001

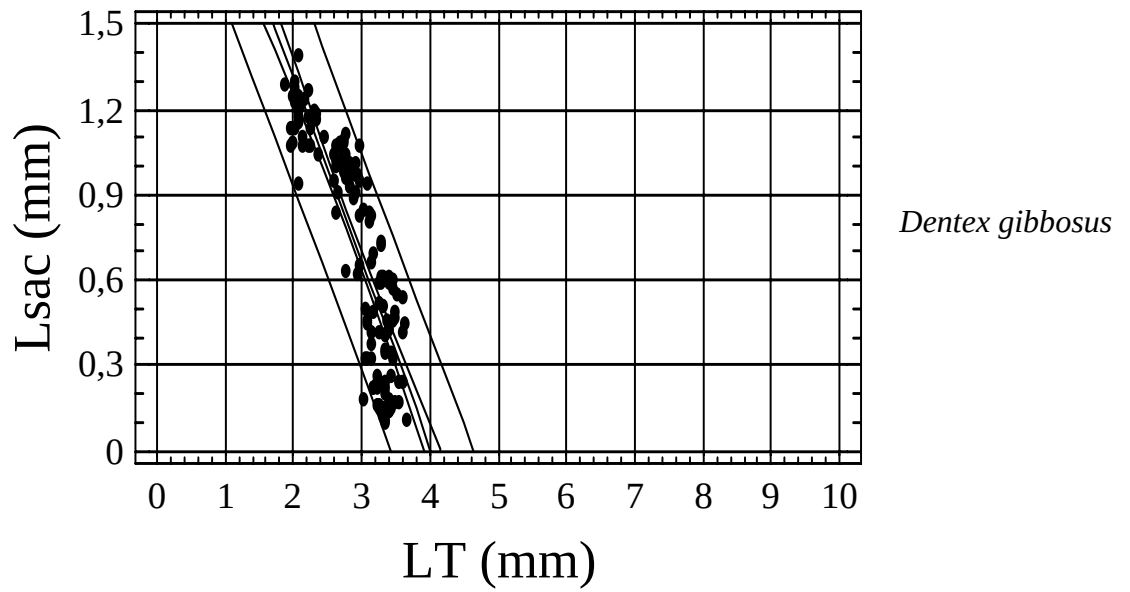


Fig. 4-65.- Relación existente entre Lsc y LT ($Lsc = 2,60676 - 0,648422 * LT$).

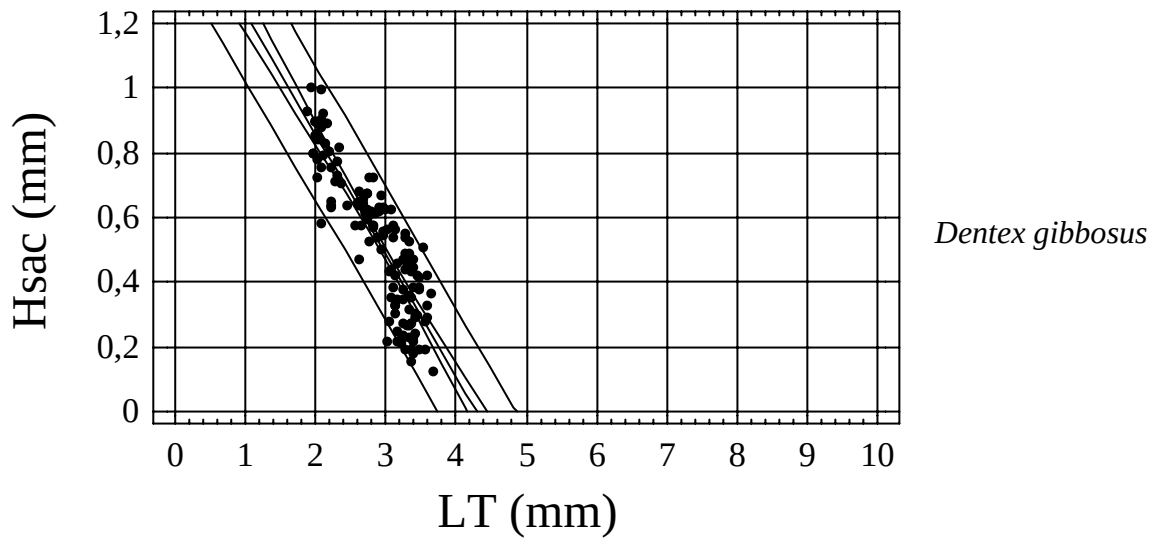


Fig. 4-66.- Relación existente entre Hsc y LT ($Hsc = 1,61578 - 0,376518 * LT$).

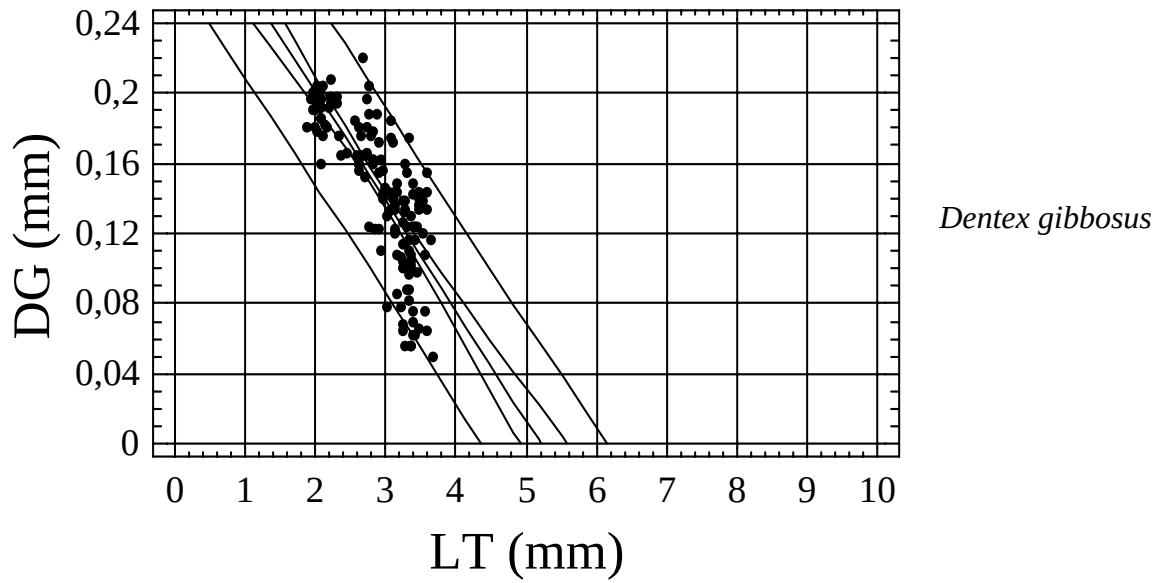


Fig. 4-67.- Relación existente entre DG y LT ($DG = 0,326945 - 0,0627209 * LT$).

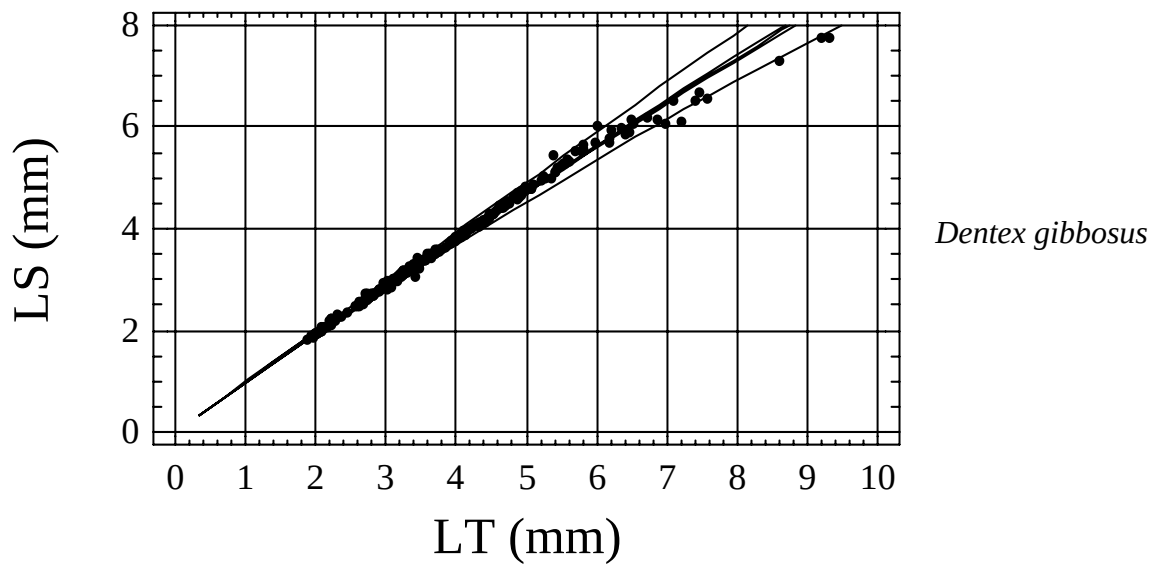


Fig. 4-68.- Relación existente entre LS y LT ($LS = 1/(0,0090069 + 1,01518/LT)$).

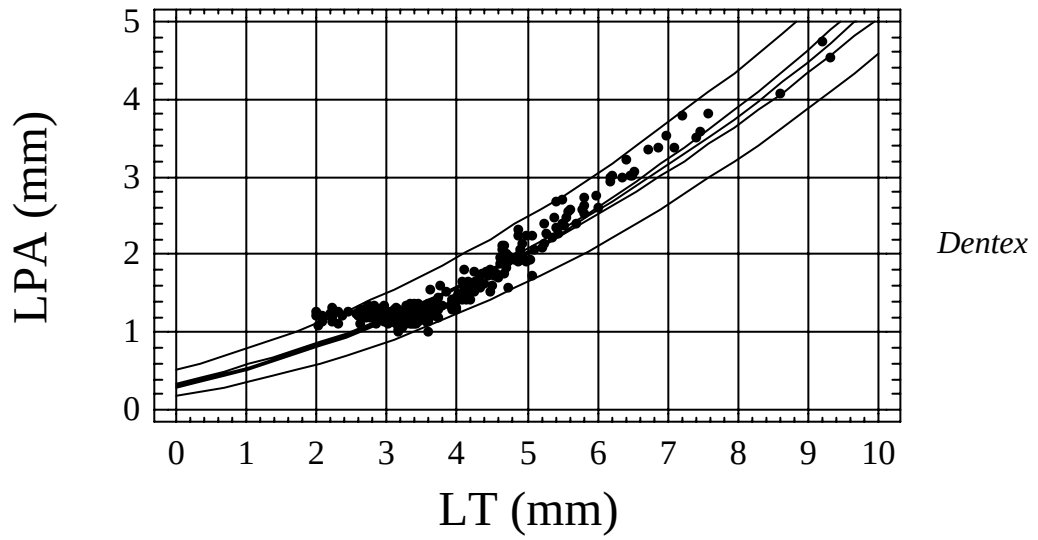


Fig. 4-69.- Relación existente entre LPA y LT ($LPA = (0,565146 + 0,172653 * LT)^2$).

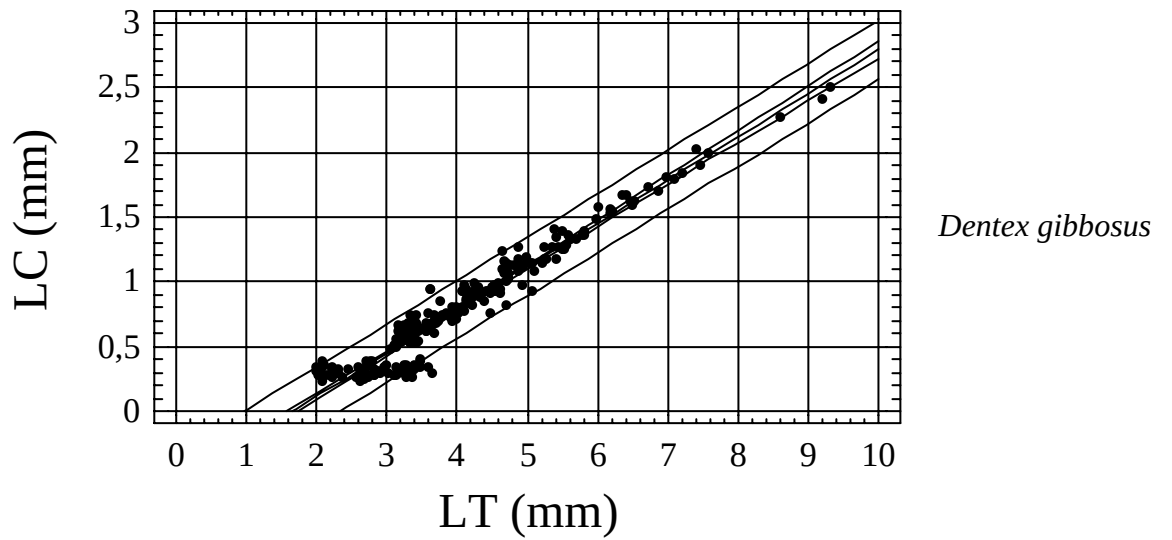


Fig. 4-70.- Relación existente entre LC y LT ($LC = -0,55337 + 0,334501 * LT$).

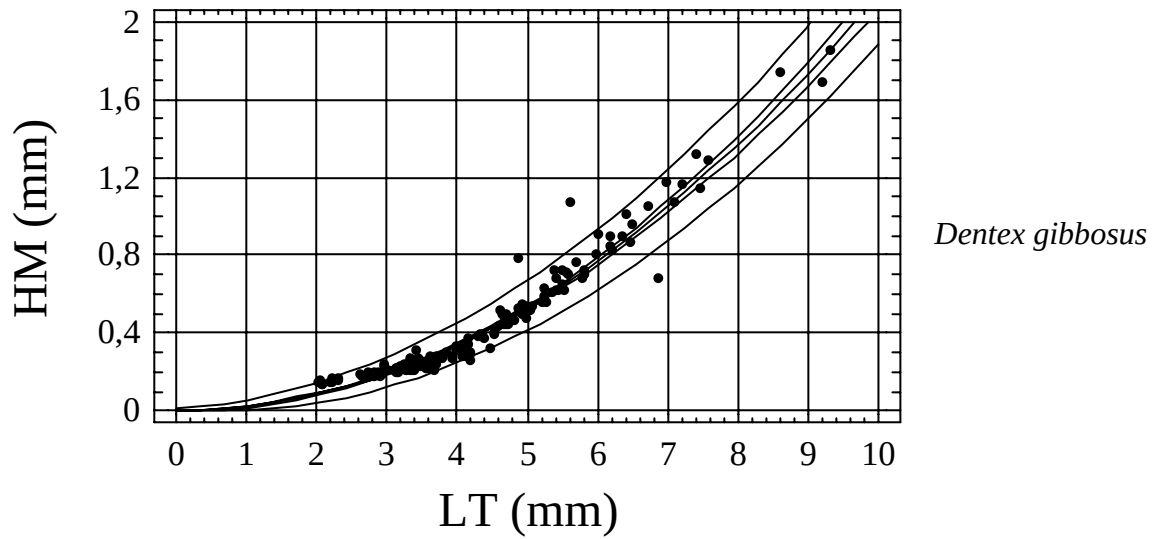


Fig. 4-71.- Relación existente entre HM y LT ($HM = (-0,00398464 + 0,146818 * LT)^2$).

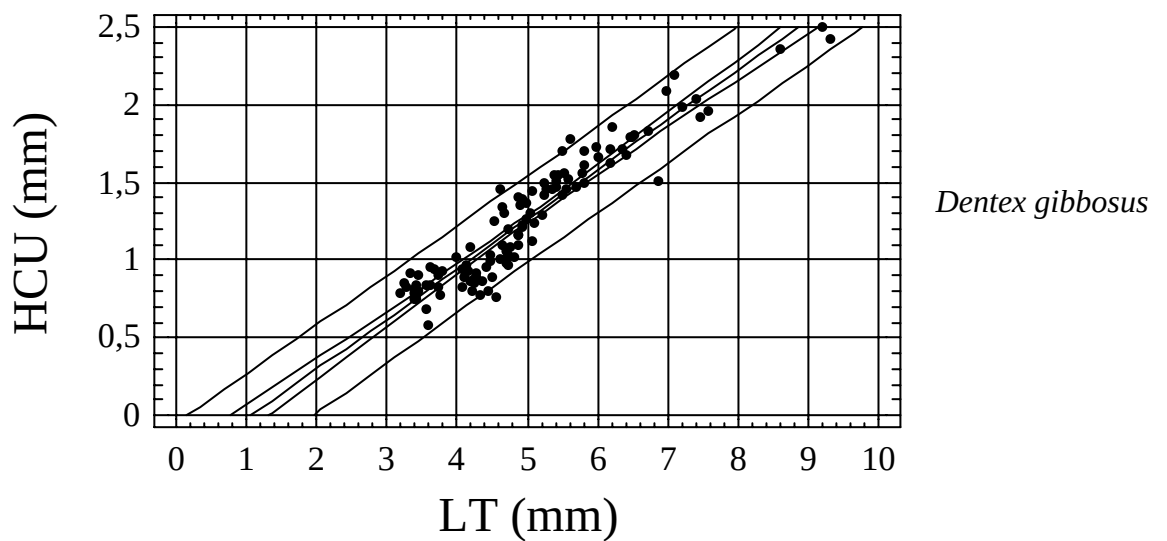


Fig. 4-72.- Relación existente entre HCU y LT ($HCU = -0,344594 + 0,321141 * LT$).

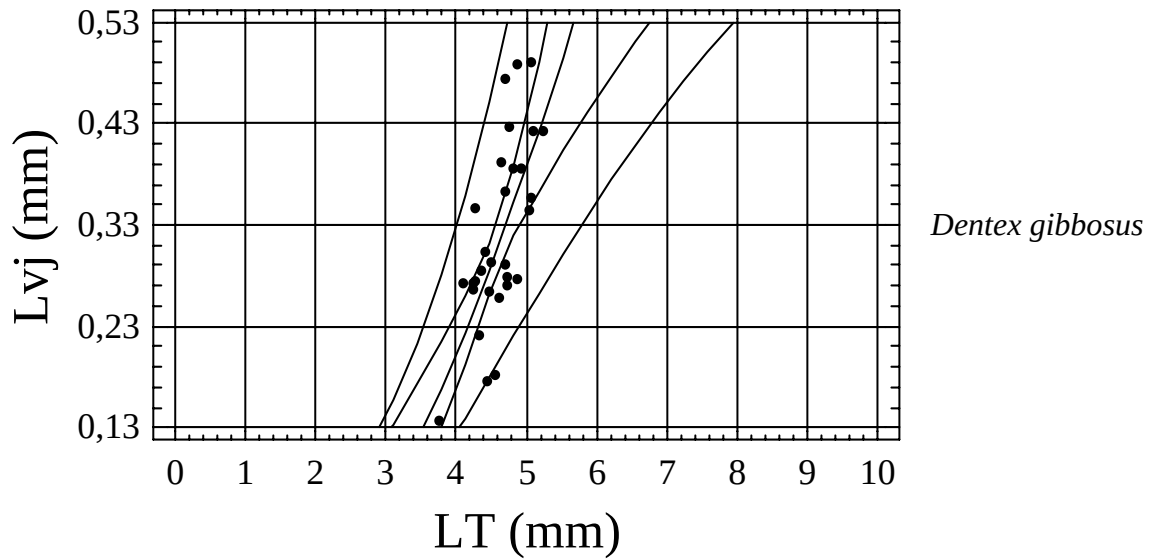


Fig. 4-73.- Relación existente entre Lvj y LT ($Lvj = \exp (1,67634 - 13,1346/LT)$).

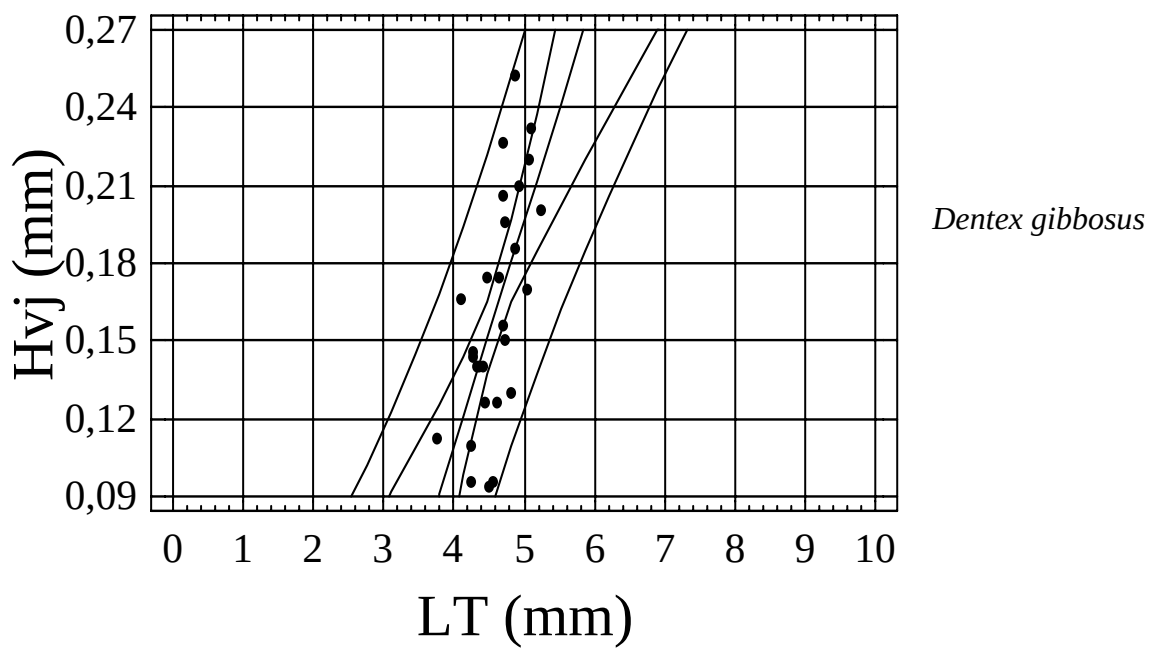


Fig. 4-74.- Relación existente entre Hvj frente a LT ($Hvj = -0,24024 + 0,0872929 * LT$).

4.3.3.- DISCUSIÓN

La longitud del saco vitelino en las larvas de bocinegro que medía $1,17 \pm 0,09$ mm en el momento de la eclosión disminuyó alrededor del 30% el primer día de vida, y cerca del 68 % el segundo día, quedando solo un pequeño saco vitelino de $Lsc\ 0,2 \pm 0,02$ mm en el tercer día de vida (Fig. 4-35). En la sama de pluma aunque inicialmente la disminución del saco vitelino es un poco más lenta que en el bocinegro, el saco es completamente consumido en las primeras 60 horas (Tabla 4.7, Fig. 4-57). La disminución de la altura del saco vitelino fue constante durante los tres días que necesitó la larva de bocinegro para reabsorber el saco vitelino. Aunque el saco vitelino estaba prácticamente reabsorbido al tercer día de vida, fueron necesarios seis días en el bocinegro para reabsorber completamente la gota lipídica (Tabla 4.3, Fig. 4-35), mientras que en la sama de pluma cuatro días fueron suficientes (Tabla 4.7, Fig. 4-57). El tiempo en el que se reabsorbió el saco vitelino en las larvas de bocinegro, tres días, fue muy similar al de otros espáridos como el pargo japonés, *Pagrus major*, que reabsorbe el saco vitelino completamente el día tres (Fukuhara, 1985), o el black porgy *Acanthopagrus schlegeli*, que lo consume en los 4 primeros días de vida, mientras que la gota lipídica perdura hasta el siguiente día (Fukuhara, 1987). Una vez que el saco vitelino ha sido reabsorbido y la larva comienza a utilizar los nutrientes exógenos tiene lugar la fase mas crítica del periodo larvario (Watanabe y Kiron, 1994), de ahí la importancia de conocer la evolución del saco vitelino.

En ambas especies el tipo de regresión que mejor relacionó las medidas del saco vitelino (Figs. 4-45, 4-46, 4 65, 4-66) y la gota lipídica (Figs. 4-47, 4-67) con la longitud total de la larva, es la lineal, y como era de suponer todas de pendiente negativa (Tabla 4.6 y Tabla 4.10) ya que al aumentar la longitud de la larva, las reservas se van consumiendo.

Entre los valores morfométricos, Longitud total (LT) y Longitud estándar (LS) presentaron un rápido crecimiento durante los dos primeros días, pasando luego a un crecimiento menor hasta el día 20 (Fig. 4-39), con crecimientos muy variables entre los días 25 y 30 (Fig. 4-42). La evolución que presentó LT y LS fue idéntica a lo largo de los primeros 24 días (Fig. 4-36, 4-39), a partir del cual LT sufrió un incremento mayor con respecto a LS (Fig. 4-42).

En el momento de la eclosión *Acanthopagrus schlegeli* tiene una longitud total (LT) de 2,18 mm (Fukuhara, 1987), *Pagrus major* de 2,01 mm (Fukuhara, 1985) y *Pagrus auratus* de 3,10 mm (Battaglene y Talbot, 1992). Ciechowski y Weiss (1973) señalan para el bocinegro una LT de 2,42 mm al eclosionar (21-22,5°C) mientras que en presente estudio se determinó una LT de 2,63 mm en el momento de la eclosión, valor similar al determinado por Hernández-Cruz *et al.* (1990b) a 18,5°C (2,60 ± 0,13 mm). Según estos datos, la larva de bocinegro recién eclosionada es de las mayores entre los espáridos. La diferencia entre las medidas determinadas por Ciechowski y Weiss (1973) y nuestros valores puede ser ocasionada, bien por la evolución en los aparatos de medida, que nos permite hoy en día cuantificar con mayor precisión pequeñas medidas, o porque la dieta de los reproductores influye en la longitud de la larva recién eclosionada (Fernández-Palacios *et al.*, 1997). En nuestro caso los progenitores fueron alimentados tres veces por semana con calamar, mejillón y caballa, mientras que los bocinegros utilizados por Ciechowski y Weiss, procedían directamente del medio natural, desconociéndose el tipo de alimento que habían tenido durante el periodo de madurez gonadal.

El periodo de crecimiento entre los días 25 y 30, en el cual se observaron grandes variaciones morfométricas en las larvas de bocinegro, coincide con el desarrollo del sistema digestivo (Socorro *et al.*, 1998) y es una fase muy crítica de la transformación de las larvas.

La ecuación de crecimiento encontrada en el presente estudio para el bocinegro $LT=3,2809 e^{(0,02865X)}$ (Fig. 4-75) es similar a la del *Pagrus major* $LS=2,2 e^{(0,0525X)}$ (Fukuhara, 1991), sobretodo en los primeros 15 días de vida, distanciándose a partir de ese día el crecimiento del pargo japonés. Ello nos puede sugerir la necesidad de mejorar las técnicas de cultivo para el bocinegro a partir de esta edad, que coinciden con el momento en el que se le suministra los nauplios de *Artemia* a las larvas de bocinegro. El incremento en longitud de las larvas de *Dentex gibbosus* queda reflejado en la ecuación $LT=2.321 * e^{0.03975X}$ (Fig. 4-76), que corresponde también a una ecuación exponencial, aunque el crecimiento de la sama de pluma a partir del día 25 fue mayor que el del bocinegro, encontrándose ya la larva en fase de flexión y con las glándulas digestivas funcionales, con lo cual su capacidad de supervivencia es mayor. Encontrándose además, a esta edad, en las últimas fases de la metamorfosis.

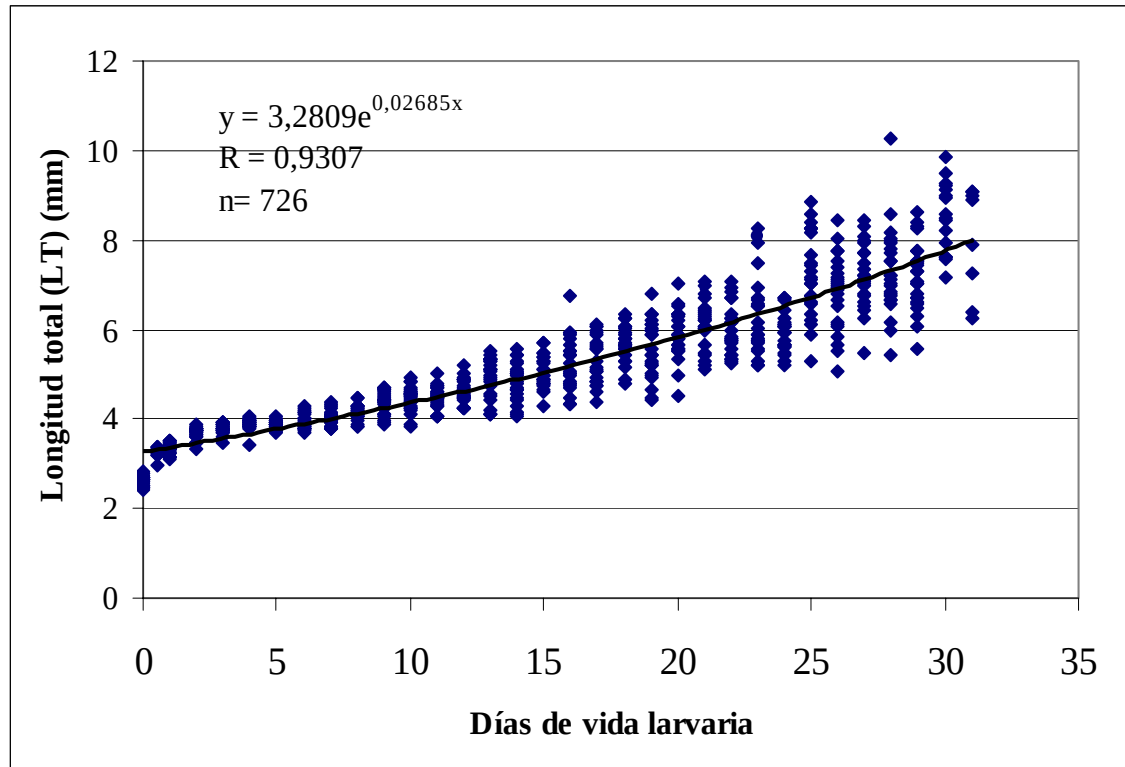


Fig. 4-75.- Crecimiento en longitud total (LT) en larvas de bocinegro.

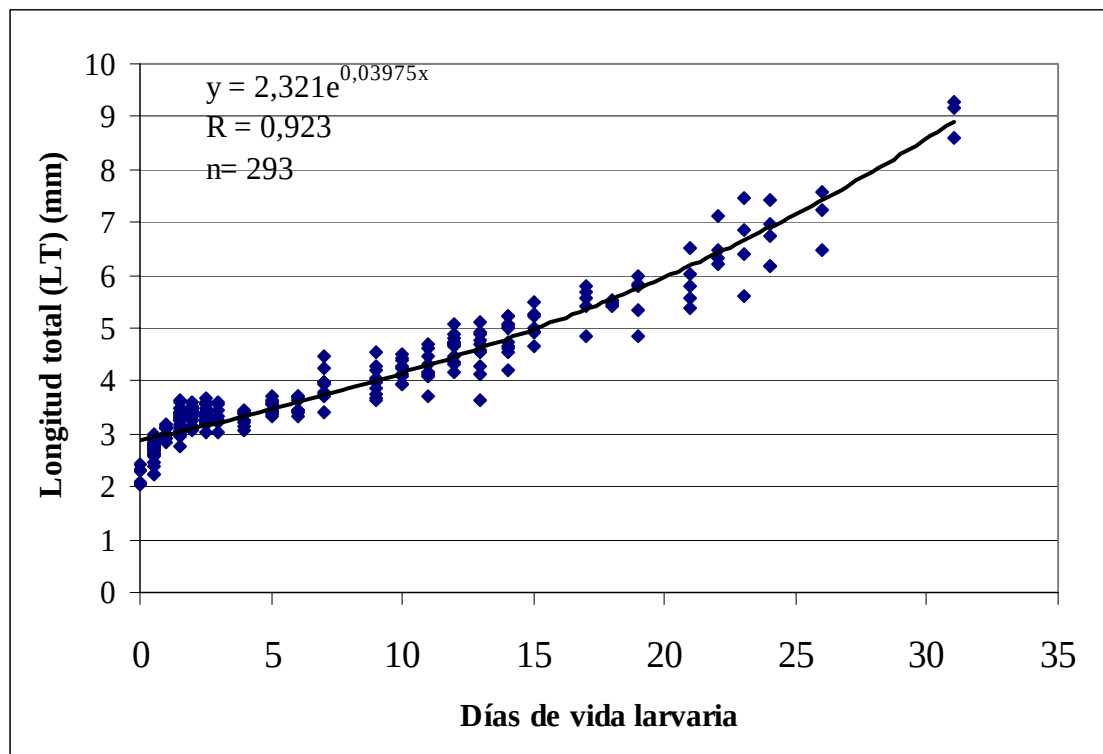


Fig. 4-76.- Crecimiento en longitud total (LT) en larvas de sama de pluma.

Fukuhara (1991) determina para *Pagrus major* que la transformación en alevín ocurre entre los 26 y 33 días con una LS comprendida entre 7,38 y 9,33 mm. En *Acanthopagrus schlegeli* la metamorfosis de la larva tiene lugar a los 28 días con una LS de 9.0 mm (Fukuhara, 1987). Battaglione y Talbot (1992) determinan la transformación para *Pagrus auratus* entre los días 25 y 35 a partir de una LT de 8,6 mm. Kentouri *et al.* (1995) señalaron como un periodo crítico para el bocinegro el momento de comenzar la metamorfosis, con una LT de 8 mm. Los primeros signos histológicos de la transformación fueron observados a nivel del digestivo a los 22 días con gran parte de las escamas formadas el día 31 con una LT de 7,98 mm (Socorro *et al.*, 1998).

Se observa que las larvas de *D. gibbosus* presentan una tasa de crecimiento, en los diez primeros días de vida, mayor que la de otros espáridos de interés comercial, como *Sparus aurata* o *Pagrus major*, incluso también algo superior que el dentón (*Dentex dentex*), que alcanza una LT de 4,06 mm a los 10 días (Santamaría *et al.*, 2004). Sin embargo el dentón presenta una mayor tasa de crecimiento cuando nos acercamos al momento de la flexión de la notocorda, en el día 23. Sólo los espáridos del género *Acanthopagrus* presentan tasas de crecimiento mayores, pero son especies de menor interés comercial.

El crecimiento negativo encontrado en las larvas de bocinegro en el día 24 (Fig. 4-42) podría estar relacionado con el cambio de alimentación de las larvas, a las que se suministraron solo nauplios de *Artemia* desde el día 20, una presa nueva que la larva tiene que aprender a capturar y adaptarse a su utilización como nueva fuente de alimento. Así, la reducción del crecimiento se pudo producir como consecuencia del gasto energético de la larva para adaptarse a la captura y metabolización de las nuevas presas. El crecimiento mejora a partir del día 25, y se incrementa la desviación de los datos, probablemente debido a que las larvas mayores tienen más posibilidades de preda sobre las presas mayores. Así la mayor desviación entre las tallas podría estar asociada a una alimentación insuficiente de las larvas más pequeñas, que pierden parte de su energía en intentar capturar las nuevas presas compitiendo con las larvas más grandes y, en cualquier caso, indica la necesidad de clasificar los alevines de esta especie con anterioridad a los de dorada.

El distanciamiento que experimenta la LT con respecto a la LS a partir del día 24 en el

bocinegro (Fig. 4-42) y del día 22 en la sama de pluma (Fig. 4-63) está relacionado con la flexión de la notocorda a partir de estos días. La longitud preanal (LPA) y la LT presentan un crecimiento sincronizado en ambas especies sobretodo después del octavo día, hasta finalizar el periodo estudiado (Figs. 4-39, 4-42, 4-60, 4-64) con una correlación entre ambos parámetros de 0,978 para el bocinegro y 0,945 para la sama de pluma.

Las relaciones entre la LT, la LS y la LPA fueron definidas para *Acanthopagrus schlegeli* por Fukuhara (1987) como $LS=0,682 + 0.768LT$ y $LPA= - 1,06+0,544LT$. Por otro lado en el pargo japonés se encontraron las siguientes relaciones $LS=0,827+0,726LT$ y $LPA=0,32+0,5022LT$ (Fukuhara, 1985). En el caso del bocinegro las relaciones encontradas tuvieron un coeficiente de correlación algo mayor para LS que LPA frente a LT, al igual que en las otras especies comparadas, siendo en ambos casos superior a 0,975 (Tabla 4.6)

Fukuhara (1987) indicó que la relación entre la longitud preanal y la longitud total está muy asociada al estado de desarrollo de los órganos digestivos. La relación LPA/LT aumenta en *Acanthopagrus schlegeli* desde un 30 % hasta un 50 % cuando la larva está transformando su tracto digestivo al de un adulto. En el caso de *Pagrus major* la LPA de las larvas recién eclosionadas es el 55% de la LT y decrece rápidamente con la absorción del saco vitelino hasta el 32%, incrementándose con la alimentación exógena manteniéndose próxima al 50% cuando las larvas realizan la metamorfosis (Fukuhara, 1987).

En el bocinegro se produce un incremento idéntico al de otros espáridos como *Acanthopagrus schlegeli*, donde la relación del 50% de LPA/LT frente a LT se mantiene a partir de una LT de 8mm (Fig. 4-77). Este resultado está en concordancia con el estudio histológico del sistema digestivo realizado por Socorro *et al.* (1998), situándose en este periodo la formación del estómago funcional característico de adultos.

En cuanto a la variación de la relación LPA/LT con LT a lo largo del desarrollo larvario en la sama de pluma, se observó que la longitud preanal de las larvas recién nacidas correspondía al 58 % de la longitud total y decrecía rápidamente hasta 31 %, a medida que se reabsorbía el saco vitelino y la gota de grasa. La relación incrementaba desde el 31 % hasta 50 % de LT desde el momento en que la larva abre la boca y comienza una alimentación distinta

(Fig. 4-78), coincidiendo con el inicio del desarrollo del digestivo, denominándose esta fase del desarrollo larvario fase de transformación. En otros espáridos, como *Acanthopagrus schlegeli*, a los 25 días sucede la fase de transformación con una LS de 8,5mm (Fukuhara 1987), mientras que en *Pagrus major* tiene lugar entre 7,6 y 8,6 mm, correspondiente a los 25 y 29 días (Fukuhara, 1991). Así, la metamorfosis está estrechamente relacionada con el tamaño de la larva más que con la edad (Policansky, 1982; Fukuhara, 1985, 1991).

En las larvas de bocinegro la altura del digestivo (HD) mostró un rápido crecimiento entre los días 3 y 8 (Fig. 4-37). Esta es la etapa en la cual se forma, abre y estructura mediante válvulas el tubo digestivo (Socorro *et al.*, 1998) presentando un crecimiento menor en el resto del periodo estudiado (Figs. 4-41y 4-44). La correlación existente entre la HD y la LT ($R=0,938$) (Fig. 4-50) indica que este parámetro (HD) nos informa sobre la funcionalidad del digestivo a medida que la larva va creciendo, permitiendo el paso de las presas cada vez mayores al poseer una gran capacidad de dilatación (Govoni, 1980, Govoni *et al.*, 1986; Kjorsvik y Opstad, 1989).

La altura del hígado (HH) presentó continuos cambios, que podían estar asociados a la importancia del hígado en la fisiología de la nutrición de las larvas de bocinegro, al ser éste un órgano de almacén y síntesis en constante evolución durante el desarrollo larvario. (O'Connell y Paloma, 1981; Guyot *et al.*, 1995).

En las larvas de bocinegro la altura de la cabeza (HC), experimentó un rápido crecimiento en los cuatro primeros días en los que se desarrolla gran parte del sistema nervioso de la larva (Fig. 4-38). Por otro lado y junto con la altura del cuerpo (HCU) es detrás de la LS, el valor que mayor correlación presenta con la longitud total de la larva ($R=0,986$). En el caso de la sama de pluma, la longitud cefálica (LC) también presentó una buena correlación con la LT con un coeficiente de correlación de 0,968. Estos datos demuestran que las medidas cefálicas en las larvas, pueden ser buen indicativo del estado del crecimiento de las mismas, bien como parámetro a medir en el caso de experiencias de cultivo, o simplemente para evaluar muestras de ejemplares procedentes del medio natural en las que sea imposible tomar otras medidas por pérdidas corporales debidas a distintas causas.

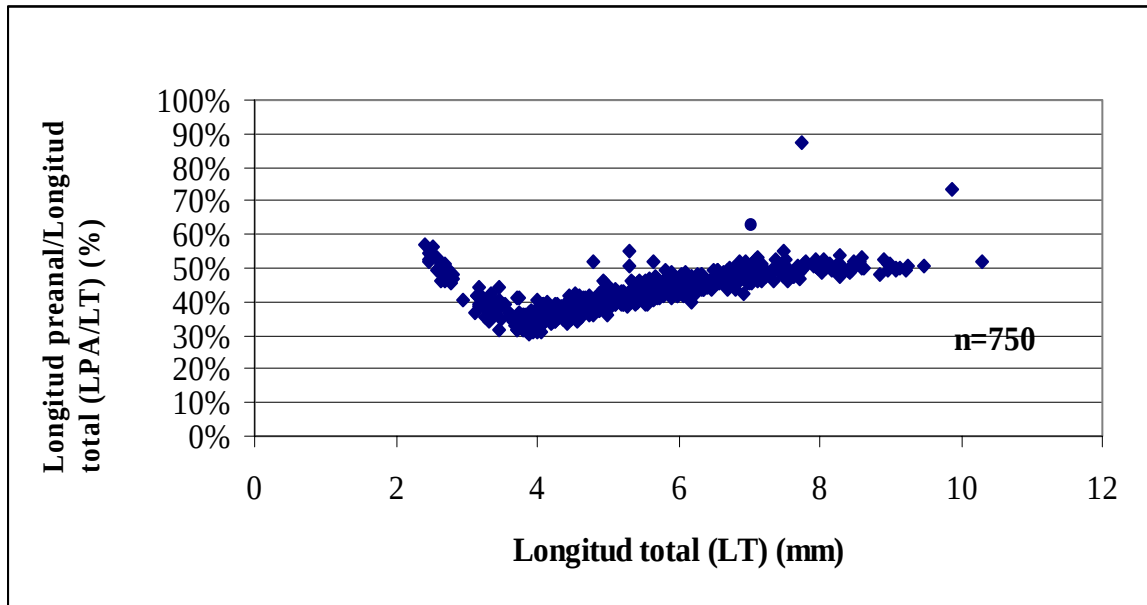


Fig. 4-77.- Relación entre la proporción LPA/LT y longitud total (LT) en larvas de bocinegro.

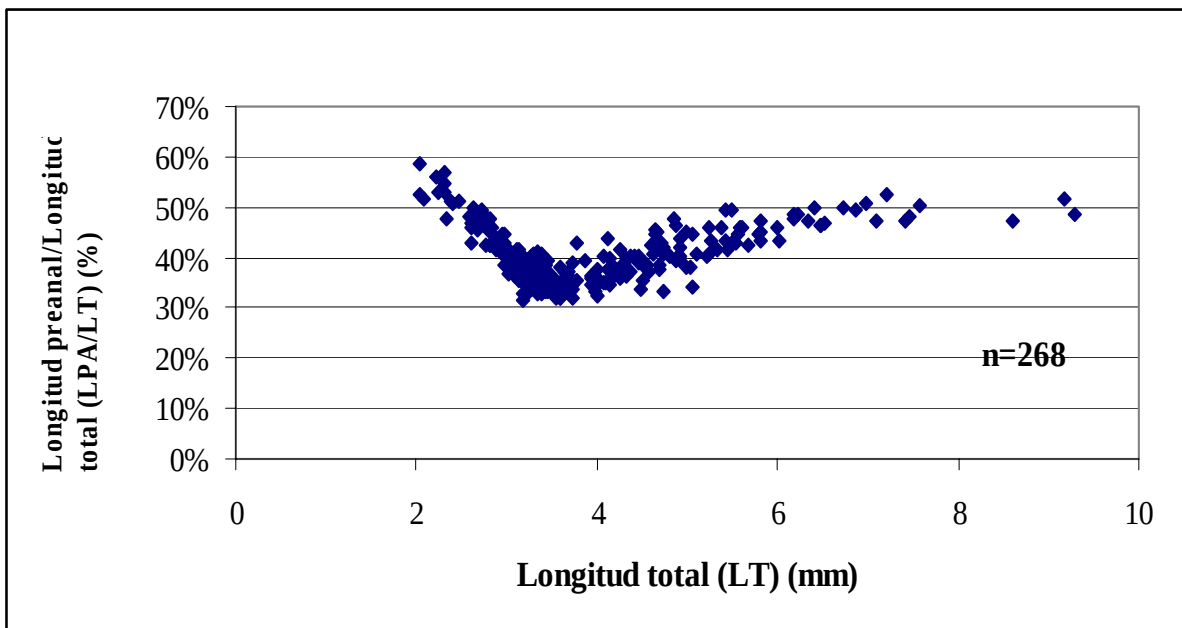


Fig. 4-78.- Relación entre la proporción LPA/LT y longitud total (LT) en larvas de sama de pluma.

La altura del cuerpo (HCU) se mide al nivel de la base de la aleta pectoral, por lo que no tenemos registro hasta pasado el día 3, en que empieza a aparecer dicha aleta. Inicialmente la HCU es menor que la HC, coincidiendo ambas medidas para el bocinegro entre los días 7 y 9 (Fig. 4-38), y es a partir del día 10 cuando la HCU incrementa con respecto a HC (Fig. 4-40, 4-43). Sin embargo el parámetro que mantiene la misma tendencia que la HCU en ambas especies, es la altura muscular (HM).

La determinación de la evolución de estos dos parámetros (HCU y HC), es muy importante ya que su comparación es utilizada como un indicador del estado nutricional de la larva. Así, en larvas en las que HC es notoriamente superior a HCU, denominadas cabeza de alfiler, indica estados de carencia nutricional importante que suelen estar asociados a una reducción en la actividad natatoria y predadora de la larva y que desemboca en la muerte de la misma.

Koumoundouros *et al.* (1995) utilizan parámetros como HC, HM y HCU para comparar la calidad de las larvas de dorada producidas en cultivos intensivos o extensivos, mostrando estos parámetros diferencias significativas entre ambos sistemas principalmente en la fase de premetamorfosis.

Entre los caracteres morfométricos utilizados para determinar el crecimiento de larvas de dentón (*Dentex dentex*), Renobell *et al.* (2001) señalan que la altura muscular a nivel del ano es el mejor indicador de crecimiento en larvas a las que se suministraron metanauplius de *Artemia* enriquecidos con diferentes tratamientos. La altura muscular HM, fue mejor indicador de carácter nutricional que la LT, la LS o la LPA, mostrando que el crecimiento de la larva no solo se puede medir en su longitud, sino también en el incremento de su masa muscular en un punto de fácil identificación como puede ser el ano.

Las larvas de *Pagrus major* presentan un aumento exponencial en la velocidad al incrementarse la HM y el desarrollo de las aletas (Fukuhara, 1985). La HM en el bocinegro presentó un crecimiento exponencial marcado, sobretudo entre los 6 y los 8 mm, donde se produjo la flexión de la notocorda y desarrollaron una parte importante de las aletas y su osificación (Socorro *et al.*, 1997)

La altura del cuerpo (HCU) y la altura muscular (HM) presentaron la misma tendencia en ambas especies, observándose una disminución de su crecimiento en los periodos que implican una adaptación a un nuevo tipo de alimento, es decir entre los días 3 y 5 (Figs. 4-38, 4-59) donde la larva pasa de un alimento endógeno a una fuente exógena que son los rotíferos, y en el día 24 donde se han añadido nauplios de *Artemia* a partir del día 20 (Figs 4-43, 4-64). El cambio en la alimentación implica un gasto energético extra, donde la larva puede utilizar parte de sus estructuras, principalmente masa muscular, para la obtención de energía.

Durante los primeros 6 días de vida HCU es menor que HC y es a partir del día 10 cuando HCU aumenta con respecto a HC. Ello puede implicar la necesidad inicial de la larva de desarrollar su sistema nervioso, para luego predominar un crecimiento de masa muscular, necesaria para nadar.

Podemos observar un aumento de los valores de HCU entre los días 11 y 13, tanto para el bocinegro (Fig. 4-40), como para la sama de pluma (Fig. 4-61), en plena inflación de la vejiga natatoria, donde inicialmente el volumen del gas puede modificar estos valores, hasta la adaptación de la larva a distribuir la forma y contenido de la vejiga natatoria. Este aumento de HCU no estaba relacionado con una mejora en el crecimiento como se podría suponer, ya que no existen evidencias de un mayor aumento en los valores de la LS, la LT ó la HM. Así, la adaptación de la larva a la inflación de la vejiga natatoria, y el gasto que ello conlleva, compensa las posibles mejoras en su natación y por lo tanto en la capacidad de predación y crecimiento.

El mayor crecimiento que experimentó la longitud de la vejiga natatoria (Lvj) frente a su altura (Hvj) hace suponer que el crecimiento longitudinal de la larva, esta asociado con el de la vejiga natatoria, por lo que éste órgano tiende a ocupar longitudinalmente la cavidad visceral.

Los parámetros relacionados con la vejiga natatoria, longitud (Lvj) y altura (Hvj), son tomados a partir del día 10 en las larvas de bocinegro (Figs. 4-41 y 4-44) y en la sama de pluma (Fig. 4-62). Las relaciones encontradas en ambas especies entre Lvj y Hvj con la LT, muestran bajos coeficientes de correlación (en torno a 0,7), indicando que es un parámetro poco

significativo para conocer el crecimiento real de la larva. Sin embargo estos parámetros nos permiten evaluar el estado de inflación de la vejiga natatoria, como podemos observar en las Figs. 4-41 y 4-62. Además la evolución de estos parámetros en las larvas de bocinegro nos indica distintas crestas los días 15, 18 y sobretodo 25, lo que sugiere que este espárido realiza varias inflaciones de la vejiga natatoria durante su vida larvaria, por lo que será imprescindible mantener limpia y libre de grasas la superficie del agua para que no se impida a la larva acceder a la misma. Esta característica debe ser considerada en todas las larvas, ya que aunque en estado adulto sean fisoclistas en su estado larvario funcionan como fisóstomos, necesitando ascender a la superficie del agua para tomar pequeñas burbujas de aire que le permitan inflar su vejiga natatoria.

La medida corporal que mayor correlación presenta en ambas especies con la longitud total de la larva es la longitud estándar, con valores del coeficiente de correlación superiores a 0,997. Los valores de HC y HCU ($R=0,986$) para el bocinegro y la altura del miotomo HM para la sama de pluma con $R=0,977$, son los siguientes valores que mejor se relacionan con la longitud total de la larva. Estos resultados sugieren que los valores de altura de musculatura para la sama de pluma y altura cefálica y altura del cuerpo para el bocinegro pueden ser buenos indicadores de la calidad real de la larva.

5.- Desarrollo histológico del sistema digestivo y vejiga natatoria



5.- DESARROLLO HISTOLÓGICO DEL SISTEMA DIGESTIVO Y DE LA VEJIGA NATATORIA

5.1.- ANTECEDENTES

Como cabría esperar para una especie de importancia comercial como el bocinegro (*Pagrus pagrus*), podemos encontrar referencias bibliográficas relacionadas fundamentalmente con su biología y el estado de sus pesquerías (Manooch y Hassler, 1978; Alekseev, 1982,1983; González *et al.*, 1988; Lozano *et al.*, 1990; Pajuelo y Lorenzo, 1996). La mayoría de los estudios sobre la biología de esta especie están relacionados con su reproducción y con la dinámica de su población en el medio natural. Sin embargo la información es escasa en cuanto al estudio de su desarrollo larvario (Ciechomski y Weiss, 1973; Socorro *et al.*,1997; Machinandiarena *et al.*, 2003).

El interés sobre esta especie como candidata para la acuicultura mediterránea ha promovido un mayor esfuerzo de investigación sobre las técnicas de su cultivo larvario (Hernández-Cruz *et al.*, 1990b; 1997; Kentouri *et al.*, 1994; 1995; Stephanou *et al.*, 1995; Cejas *et al.*, 1997), así como aspectos relacionados con la fisiología de su digestión en la fase larvaria (Socorro, *et al.*, 1998; Darias *et al.*, 2005).

La sama de pluma (*Dentex gibbosus*) es un espárido con muy buenas perspectivas para la acuicultura (Fernández Palacios *et al.*, 1994), estando todavía su cultivo en fase experimental. Por ello el conocimiento de los cambios más representativos que ocurren durante sus primeros días de vida, sobre todo a nivel de su digestivo, nos permitirá conocer algunos aspectos de la fisiología de su nutrición y contribuir con ello al desarrollo de las técnicas de su cultivo larvario.

La gran mayoría de las larvas de los peces carecen de un estómago morfológico y funcional durante gran parte de su desarrollo larvario, aunque la región anterior del digestivo puede realizar esta función, dilatándose y almacenando el alimento (Govoni *et al.*, 1986; Dabroski y Culver, 1991; Watanabe y Kiron, 1994). Este digestivo original mantiene la misma estructura histológica hasta la absorción completa del saco vitelino y de la gota lipídica, y

permanece prácticamente cerrado (Govoni, 1980). A partir de este momento, se pueden observar regiones histológicamente diferenciables, y la formación de válvulas que delimitan las distintas regiones. Aunque cada especie posee características estructurales específicas, una estructura genérica del sistema digestivo ha sido descrita por varios autores (Govoni, 1980; Fukuhara, 1985; Avila y Juario, 1987; Kjorsvik *et al.*, 1991; Sarasquete *et al.*, 1995; Domeneghini *et al.*, 1998). La mayoría de ellos distinguen cinco regiones: bucofarínge, esófago, digestivo anterior, digestivo medio y digestivo posterior.

El desarrollo de un estómago y ciegos pilóricos a partir de la región caudal del digestivo anterior acompaña la metamorfosis y constituye el último cambio morfológico del tracto alimenticio (Govoni, 1986). Morfológicamente en el digestivo diferenciado de la larva se diferencian tres segmentos: el digestivo anterior que dará lugar al esófago y estómago del adulto, el digestivo medio que originará el intestino anterior y por último el digestivo posterior, precursor del intestino posterior.

El momento de la alimentación exógena implica el desarrollo funcional de los órganos y estructuras que de un modo u otro intervienen en la predación (visión, locomoción, quimiorreceptores, sistema digestivo, etc.)

El objetivo principal de este capítulo es conocer el desarrollo histológico del digestivo y vejiga natatoria en las larvas de bocinegro y de sama de pluma, así como la caracterización de la dinámica de su digestión. El conocimiento de los cambios más representativos que ocurren durante sus primeros días de vida, facilitarán el desarrollo de las técnicas específicas de cultivo de estas especies.

5.2.- RESULTADOS

5.2.1.- DESARROLLO HISTOLÓGICO DEL SISTEMA DIGESTIVO Y DE LA VEJIGA NATATORIA EN LARVAS DE BOCINEGRO.

En el momento de la eclosión la larva poseía un gran saco vitelino con, generalmente, una única gota lipídica localizada en la posición posterior del saco. El saco vitelino fue absorbido gradualmente, siendo prácticamente insignificante al final del día 3, mientras que la gota lipídica no desapareció hasta el día 5.

Las larvas recién eclosionadas, poseen un tubo digestivo rectilíneo que descansa dorsalmente sobre el saco vitelino y que esta cerrado por ambos extremos (boca y ano), y en él solo se pudo apreciar existencia de lumen en la región anterior, encontrándose la región posterior sin una estructura bien definida.

Histológicamente el tubo digestivo estaba formado por un epitelio simple de células cúbicas, que poseían un núcleo basófilo en la zona central (Fig. 5-1).

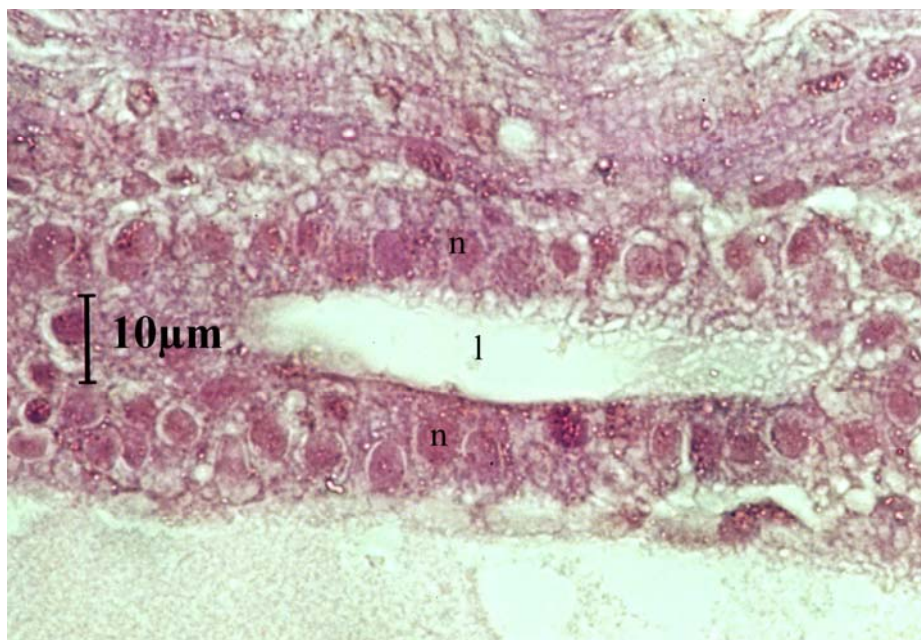


Fig. 5-1.- Digestivo en larvas recién eclosionada (H&E)(n: núcleo, l: Lumen).

A las 24 horas, en las paredes del epitelio en la zona anterior del digestivo se observó un suave cepillo de microvellosidades. El digestivo, cubierto por una delgada capa serosa (Fig. 5-2), fue incrementando su luz desde la zona anterior hacia la posterior, aunque está última estaba todavía por estructurarse en una fracción importante de larvas observadas. En la región posterior del digestivo, predominó un epitelio columnar.

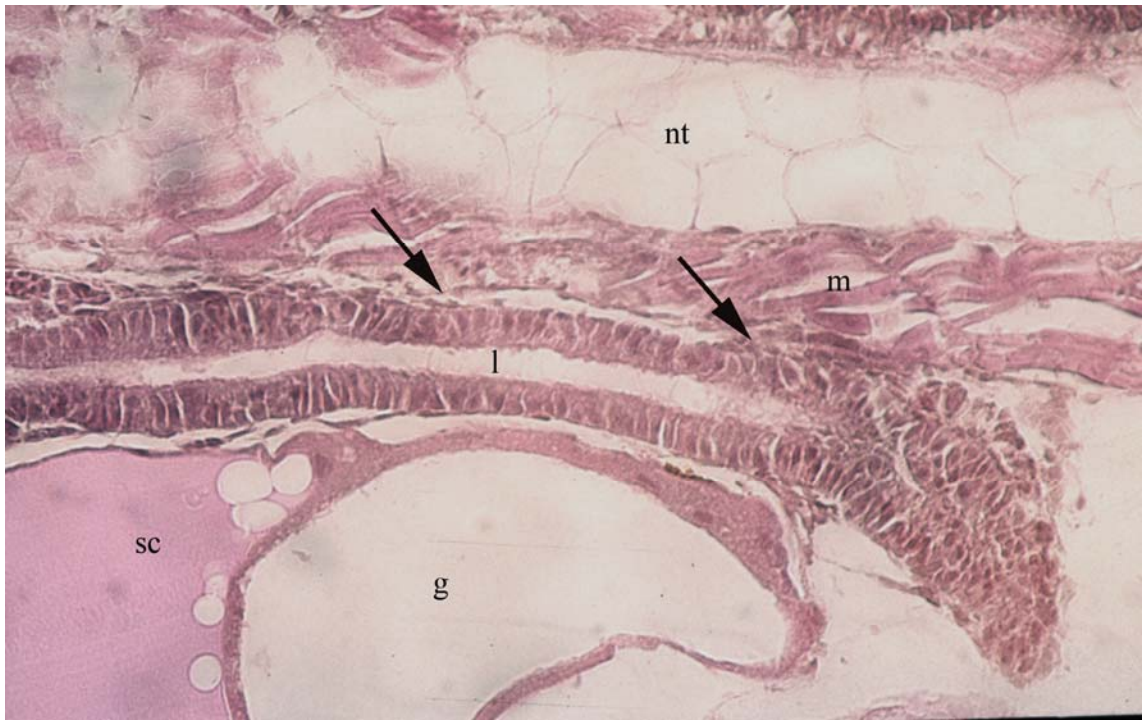


Fig. 5-2.- Digestivo en larva de bocinegro de 1 día, serosa (flecha) envolviendo el tubo rectilíneo (H&E). (g:gota lipídica, l: lumen, m: musculatura, nt: notocorda, sc: saco vitelino).

El digestivo presentó al segundo día una ligera curvatura en dirección dorso-ventral en el último tercio de su longitud. Todo el tubo digestivo menos oprimido por la reabsorción del saco vitelino presentó una clara luz. Las microvellosidades en la zona posterior del digestivo fueron menos evidentes que en la zona anterior. A los tres días las larvas abrieron la boca, y la válvula ileorectal estaba formada, separando a partir de este día el digestivo medio del digestivo posterior (Fig. 5-3). Así, a partir del día tres el digestivo se estructuró en sus cinco regiones características: bucofaringe, esófago, digestivo anterior, digestivo medio y digestivo posterior (Fig 5-4).



Fig. 5-3.- Visión general del digestivo en una larva de bocinegro de 3 días (H&E) (dm: digestivo medio, dp: digestivo posterior, va: válvula ileorectal).

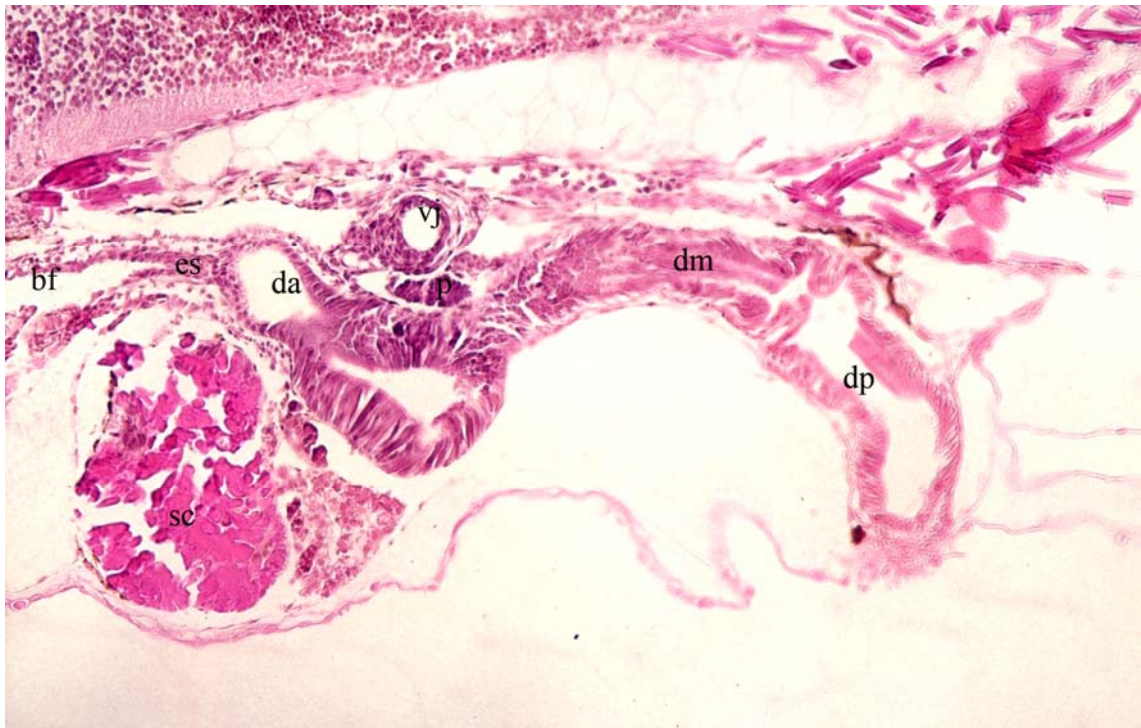


Fig. 5-4.- Visión general del digestivo en una larva de bocinegro de 3 días (H & E) (bf: bucofaringe, da: digestivo anterior, dm: digestivo medio, dp: digestivo posterior, es: esófago, p: páncreas, sc: saco vitelino, vj: vejiga natatoria).

5.2.1.1.- Bucofaringe

La bucofaringe, que es la región comprendida desde la boca hasta el esófago incluida la región branquial, se observa recubierta por un epitelio plano simple, una envuelta de tejido conectivo y una envuelta muscular desarrollada desde el día 12. A partir del día 23 se aprecia la formación de pliegues en el epitelio de la faringe, originando áreas multiestratificadas. Se pudo observar un engrosamiento en la capa muscular que la envuelve.

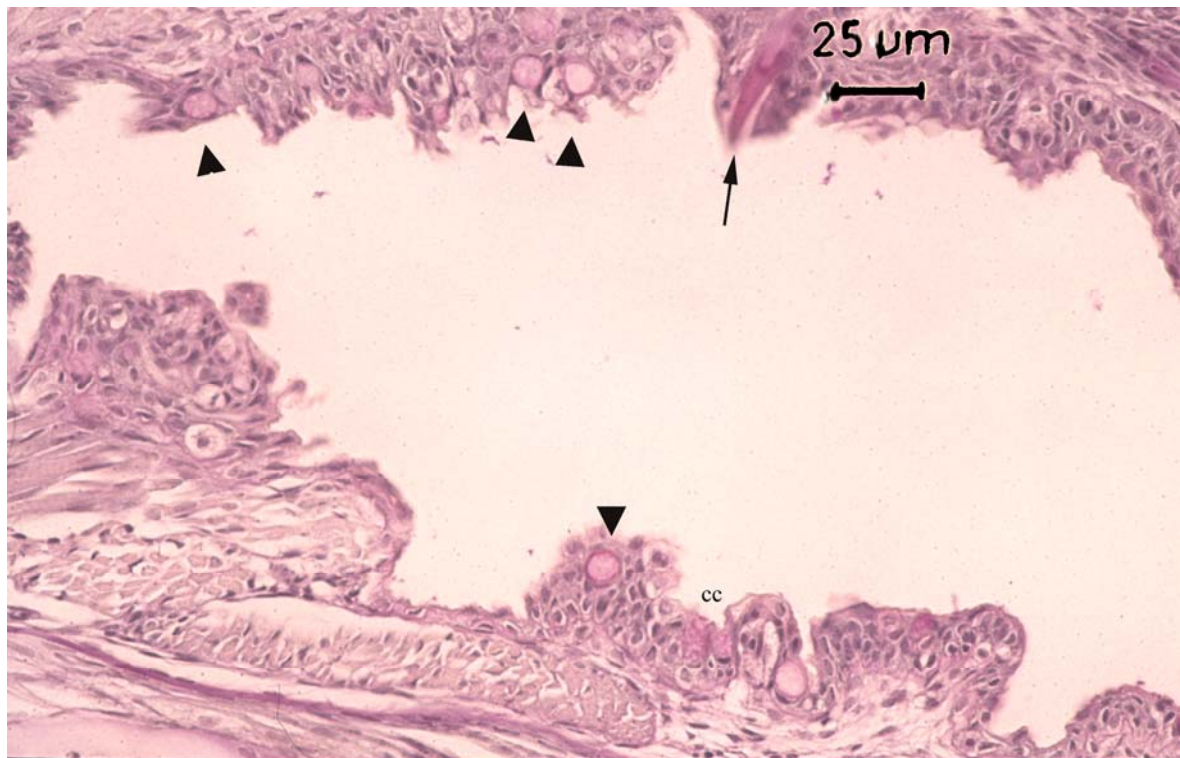


Fig. 5-5.- Sección de bucofaringe de larva de bocinegro de 20 días, con dientes faríngeos (flecha), células mucosas (punta de flecha) y células de cloruro (cc) (PAS-H).

Las primeras células mucosas PAS positivas se formaron el día 8, aumentando de tamaño y número a partir del día 12 y predominando en la región posterior de la bucofaringe (Fig. 5-5). En la cavidad bucal, se observaron también células mucosas PAS positivas desde el día 23. A partir del día 28 se encontraron células mucosas sin reacción al PAS.

A partir del día 7, se observaron los primeros esbozos de dientes faríngeos en la larva, pero no emergieron de la mucosa hasta el día 13 (Fig. 5-5). Los dientes orales fueron observados a partir del día 15.

5.2.1.2.-Esófago

En el día cuatro se produjo un estrechamiento del tubo digestivo en la región anterior, que dio origen por una parte al esófago y por otra al digestivo anterior. El esófago estaba formado inicialmente por un epitelio cúbico simple, pudiendo observarse epitelio estratificado en algunos segmentos, y estaba envuelto por una capa de tejido conectivo, una capa muscular y una delgada membrana serosa.

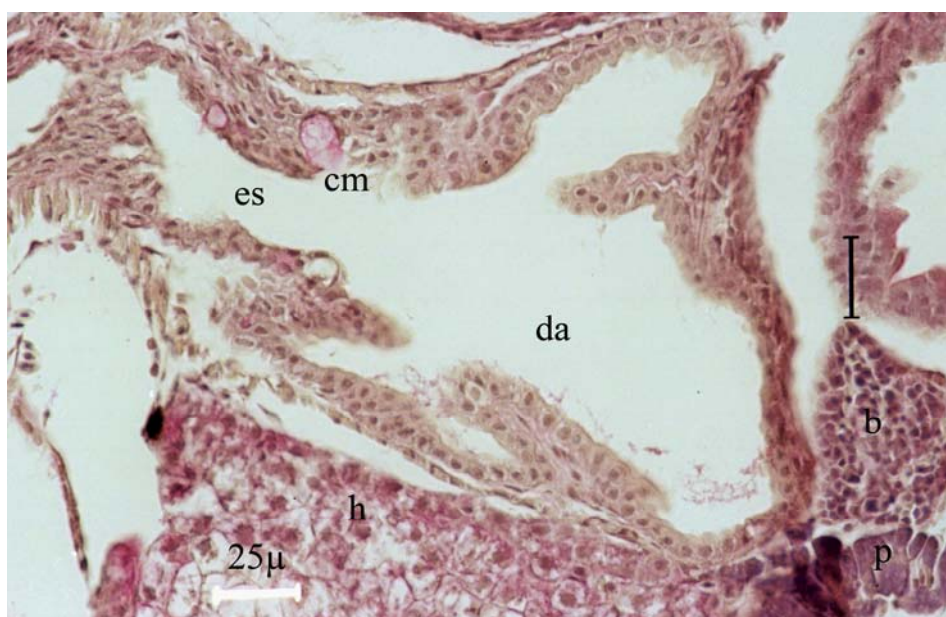


Fig. 5-6.- Sección de una larva de bocinegro de 10 días, en el que se observan las células mucosas, reacción PAS- positiva (PAS-H) (b: bazo, cm: células mucosas, da: digestivo anterior, es: esófago, h: hígado, p: páncreas).

A partir del día 23 se produjeron una serie de invaginaciones en el epitelio, en la región posterior, aumentando a su vez el grosor de la envuelta muscular. Las primeras células mucosas en el esófago fueron observadas el día 4, estando intercaladas dentro de un epitelio plano y no reaccionaron frente al PAS hasta el día 8 (Fig. 5-6), incrementado su número con los días (Fig. 5-7). En las larvas de 14 días y posteriores, se pudieron observar células mucosas que no reaccionaron al PAS, estas células eran menores y estaban en menor proporción que las PAS positivas.

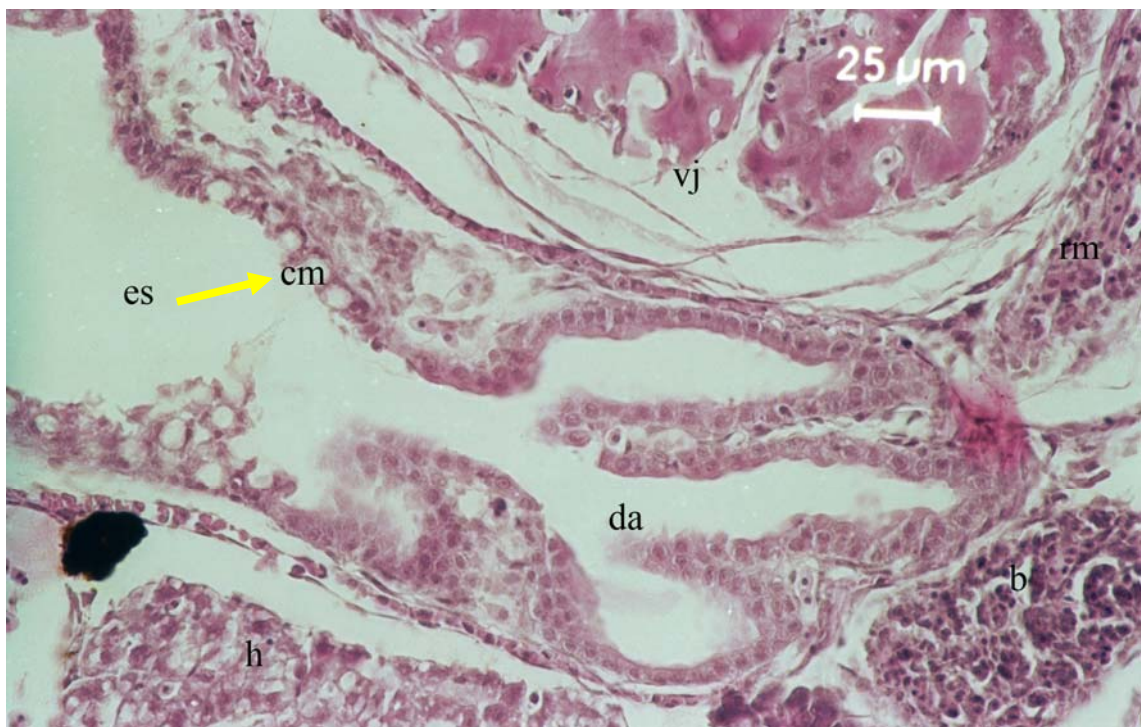


Fig. 5-7.- Diferenciación entre esófago y digestivo anterior en una larva de bocinegro de 22 días. Destaca en número de células mucosas (flecha) (H&E) (b: bazo, cm: células mucosas, da: digestivo anterior, es: esófago, h: hígado, rm: rete mirabile, vj: vejiga natatoria).

5.2.1.3.-Digestivo anterior

El digestivo anterior es la región del digestivo a partir de la cual se produce la formación de un estómago glandular y de los ciegos pilóricos. Conecta el esófago con el digestivo medio, constituyendo una porción muy pequeña de la longitud total del digestivo, sobre todo en los primeros días y presentando gran capacidad de dilatación para almacenar y digerir las presas.

La mucosa estaba constituida por un epitelio cúbico con células inicialmente carentes de microvellosidades, un único núcleo basófilo en posición central y un citoplasma poco denso (Fig. 5-7).

Durante los primeros días su epitelio carecía de invaginaciones, y es a partir del día 12 cuando aparecieron pequeñas invaginaciones en la región más distal, incrementando gradualmente su número y tamaño.

Las primeras células glandulares comenzaron a formarse sobre el día 20, observándose el día 22 las primeras criptas claramente definidas, constituidas por células cúbicas (Fig. 5-8). La formación de las glándulas gástricas estuvo acompañada por un engrosamiento de la envuelta muscular del digestivo y una mejor irrigación sanguínea, que se puede apreciar por el incremento de vasos sanguíneos que rodean el digestivo. En el estómago se pudo diferenciar una región glandular y otra carente de este tipo de células.

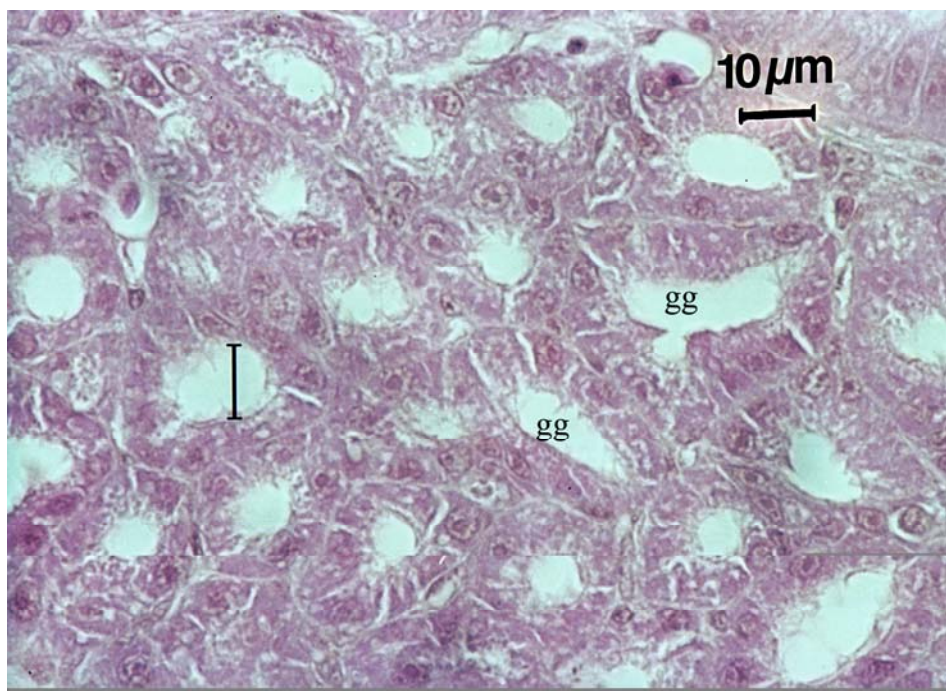


Fig. 5-8.- Estómago glandular desarrollado en larva de bocinegro de 29 días (H&E) (gg: glándulas gástricas).

Al finalizar el periodo estudiado, el tejido conectivo que envuelve todo el epitelio y la envuelta muscular que lo rodea se habían engrosado notablemente. El estómago estaba en formación, incrementando el número de criptas. Las criptas presentaron un ligero cepillo de microvellosidades (Fig. 5-8) y una débil afinidad al PAS.

En el día 4 la mucosa del digestivo anterior presentó reacción negativa al PAS, observándose una tendencia positiva a partir del día 25, fundamentalmente en la base del cepillo de microvellosidades (membrana basal). Las primeras células mucosas se observaron a partir del día 12, estando intercaladas entre las células epiteliales. Presentaban un tamaño aproximado de 7 micras y una reacción negativa al PAS. En el día 19 se observaron células mucosas PAS positivas. Las primeras vacuolas de absorción se observaron el día 4, eran

vacuolas aisladas, carentes de tinción, situadas hacia la zona basal de la célula. Estas vacuolas se encontraron durante todo el periodo estudiado y presentaron una reacción negativa al PAS. El número de vacuolas incrementó gradualmente, situándose en la región caudal del digestivo anterior.

5.2.1.4.-Digestivo medio

El digestivo medio presentó actividad digestiva desde el día cuatro. Su epitelio simple estaba constituido por células columnares, con un marcado núcleo esférico situado próximo a la zona basal de la célula. Presentó desde los primeros días un cepillo de microvellosidades bien desarrollado y con destacado carácter eosinófilo. El epitelio presenta pequeñas invaginaciones desde el día cuatro, incrementándose gradualmente su tamaño y número en la zona anterior y central desde el quinto día. El epitelio está rodeado por una delgada envuelta muscular y una membrana serosa (Fig. 5-9). La mucosa del digestivo presentó un fuerte carácter PAS positivo desde el cuarto día, destacando en la zona donde aparecen las invaginaciones. La actividad del PAS se acentuó en las larvas con material en digestión (Fig. 5-9).

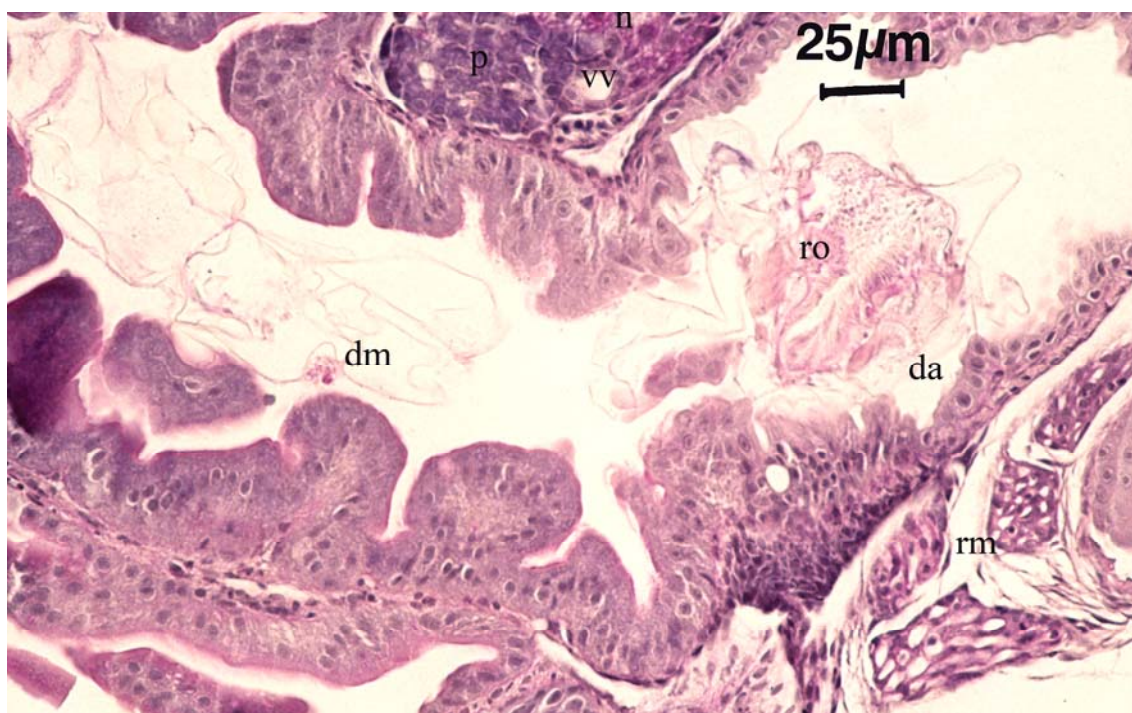


Fig. 5-9.- Digestivo anterior y medio en una larva de 10 días (PAS-H) (da: digestivo anterior, dm: digestivo medio, p: páncreas, ro: rotífero, rm: rete mirabile).

Desde el comienzo de la alimentación exógena pudieron observarse vacuolas incoloras en el enterocito (Fig. 5-10). Estas pequeñas vacuolas predominaron en la región apical de las células y aumentaron de tamaño hacia la zona basal del enterocito. A partir del día 17 se pudieron observar zonas con grandes depósitos lipídicos en la zona basal de la célula, los cuales pueden expandirse hacia la capa submucosa y muscular. En la región más distal del digestivo medio se pudieron observar pequeñas vacuolas eosinófilas y con una ligera afinidad al PAS. Estas vacuolas estaban distribuidas uniformemente en toda la célula. Las primeras células mucosas caliciformes se localizaron a partir del día 10, presentando un marcado carácter PAS positivo y estando intercaladas en la zona apical del epitelio. Estas células se observaron en todo el digestivo medio, aunque predominan en la región anterior. A partir del día 14 se observaron células caliciformes carentes de afinidad al PAS, presentando un tamaño mayor que las anteriores positivas al PAS, y predominando en la zona anterior del digestivo medio. Al pasar del día 20 se incrementó considerablemente el número de células caliciformes.

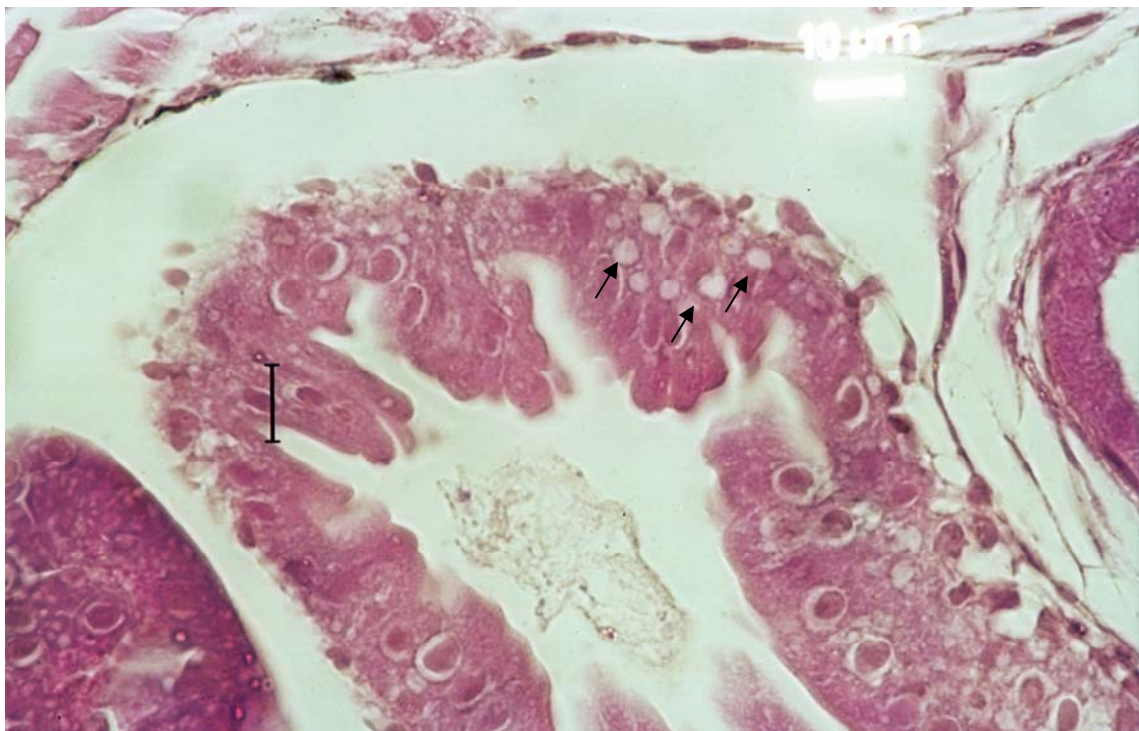


Fig. 5-10.- Vacuolas lipídicas (flechas) en digestivo medio en larvas de 4 días (H&E).

5.2.1.5.- Digestivo posterior

El último segmento del digestivo era mucho más corto que el medio y se diferenciaba de éste por la formación de una válvula ileorectal visible desde el día 3 (Fig. 5-3). El digestivo posterior estaba formado por células cúbicas. Sin embargo al comenzar a alimentarse las larvas, el epitelio se volvió columnar al producirse la formación de vacuolas en las células, desplazándose los núcleos hacia la zona basal de las células. Estas vacuolas que comenzaron a formarse el día cinco, están situadas por encima del núcleo, presentan un carácter eosinófilo y se denominan vacuolas supranucleares eosinófilas (Fig. 5-10). El epitelio poseía un cepillo de microvellosidades eosinófilas bien desarrolladas, con una ligera afinidad PAS positiva desde el día 10.



Fig.- 5-11. Digestivo posterior en larva de 22 días con las características vacuolas supranucleares (vs) (PAS-H).

La zona más distal del digestivo posterior presentó un estrangulamiento en la zona próxima al ano. Esta zona carecía de microvellosidades y presentaban un epitelio más delgado. Las inclusiones supranucleares eosinófilas se incrementaron gradualmente en número, y mostraron afinidad variable al PAS. A partir del día 22 se observó un incremento importante de

estas vacuolas. En el digestivo posterior se observaron, a partir del día 6, pequeñas vacuolas carentes de tinción, similares a las encontradas en el digestivo medio.

El día 16 se observaron vacuolas PAS positivas de variado tamaño, aunque predominaban las menores. El día 31 estas vacuolas estaban distribuidas en toda la célula, aunque casi siempre próximas a la zona basal. Las células caliciformes se observaron el día 23.

5.2.1.6.- Hígado

Durante el periodo larvario estudiado, el hígado fue independiente del páncreas, sin producirse la inclusión de los acinares pancreáticos que tiene lugar en los adultos de esta especie.

En el momento de la eclosión el hígado no está bien definido y es necesario esperar hasta las 48 horas para poder diferenciar el parénquima hepático. El hígado presentó una estructura poco compacta y formada por hepatocitos poligonales con un núcleo basófilo en posición central. Al tercer día, los hepatocitos mostraron los primeros signos de actividad almacenadora, apreciándose la formación de vacuolas ligeramente eosinófilas y de otras incoloras (Fig. 5-12).

Los cordones hepáticos formados por dos cadenas de células se fueron agrupando desde el tercer día, distribuyéndose alrededor de los sinusoides. El citoplasma poco denso, fue ligeramente eosinófilo. Los cordones se fueron agrupando y uniéndose, formando así en el séptimo día un parénquima compacto.

Las primeras vacuolas se formaron el día 3, con un alto número de las mismas presentando signos de almacenar glucógeno, al mostrar afinidad eosinófila y reacción PAS positiva. En menor cantidad existían vacuolas carentes de tinción y que no reaccionaron al PAS. Desde los primeros días las pequeñas vacuolas PAS positivas se fueron incrementando en los hepatocitos. Esta actividad de acúmulo glucogénico fue observada durante todo el periodo estudiado.

Desde el día 19 hasta el día 31 se observó un incremento considerable en el número y

tamaño de vacuolas que no presentaron reacción positiva frente al PAS. Al incrementar estas vacuolas se observaron algunas células con núcleos migrados.

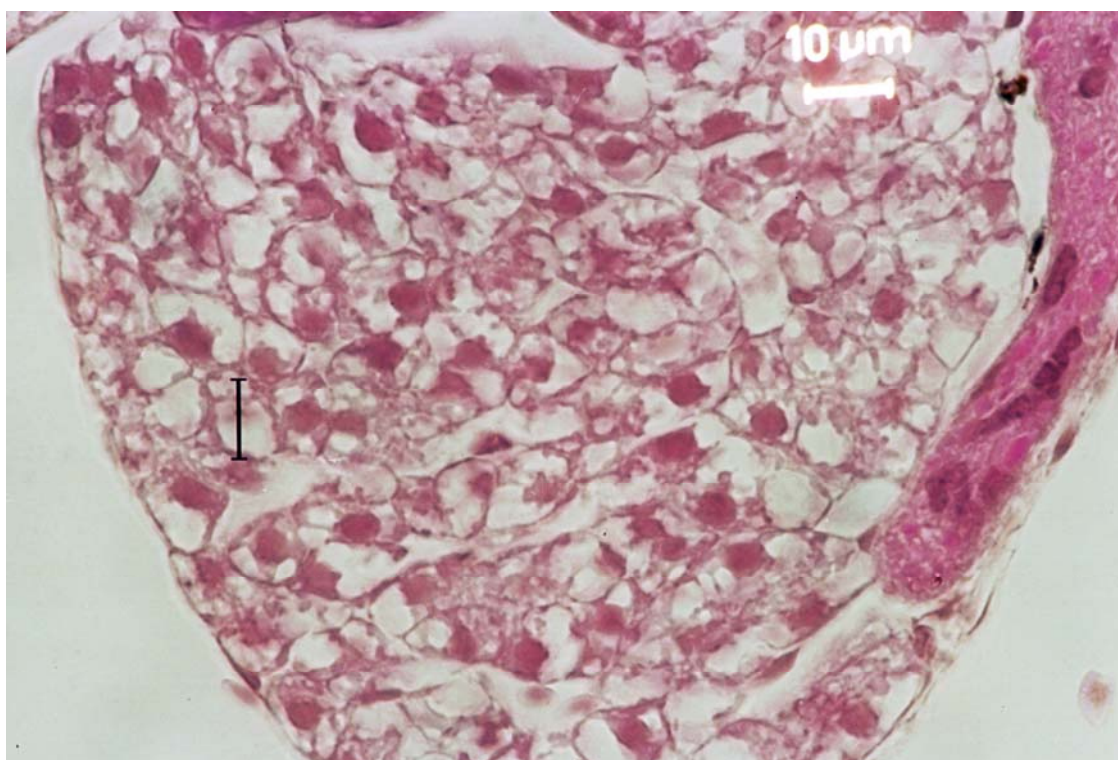


Fig. 5-12.- Hígado de larva de bocinegro de 4 días de edad (H&E).

Vesícula biliar

A los dos días de edad se observó una pequeña vesícula biliar, formada por un corto epitelio plano y una envuelta serosa (Fig. 5-13). Está muy próxima al hígado y en contacto también con el tejido pancreático. La vesícula biliar durante el periodo estudiado estuvo rodeada por tejido pancreático.

5.2.1.7.- Páncreas

En el segundo día de vida larvaria se diferenció el tejido pancreático. El páncreas exocrino estaba formado por acinares celulares de fuerte afinidad basófila. Al mismo tiempo se diferenciaron gránulos eosinófilos correspondiente a los gránulos de zimógeno (Fig. 5-9, 5-14).

Algunas porciones de páncreas endocrino se identificaron desde el tercer día, estando inmersas en el tejido pancreático exocrino. Presentaron una morfología esférica, con una tinción eosinófila muy débil y un parénquima granulado.

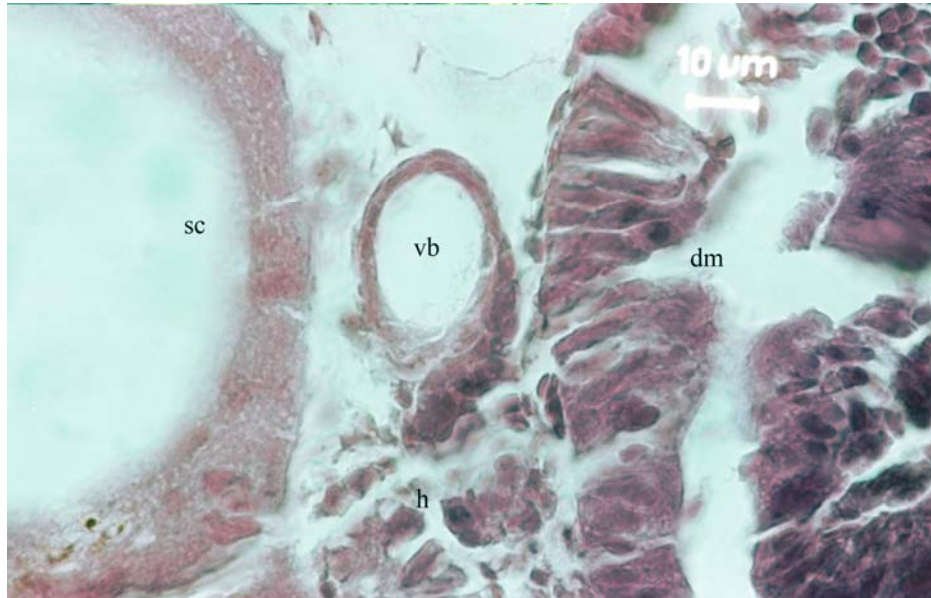


Fig. 5-13.- Vesícula biliar en larvas de 2 días (H&E) (h: hígado, dm: digestivo medio, sc: saco vitelino, vb: vesícula biliar).

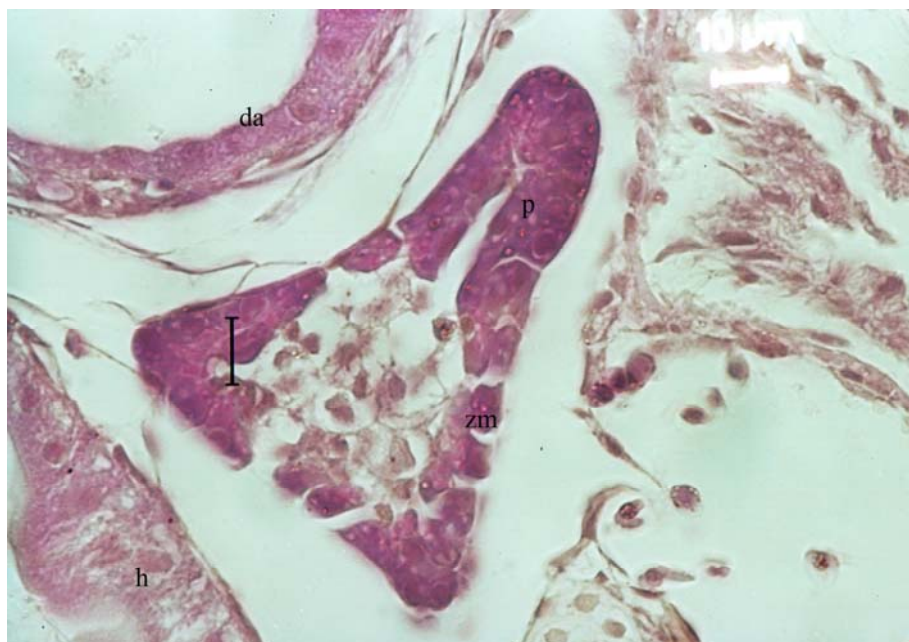


Fig. 5-14.- Páncreas en larva de 4 días y primeros gránulos de zimógeno (H&E) (da: digestivo anterior, zm: zimógeno).

La cantidad de tejido pancreático aumentó diariamente. Se pudo observar en distintas zonas, mostrando una apariencia difusa. Estaba situado alrededor del tubo digestivo y rodeando a la vesícula biliar. Su distribución difusa perduró durante el periodo de estudio.

El conducto pancreático, formado por un túbulo con un epitelio cúbico se observó el día 19, estando situado en el centro del páncreas. Poseía un epitelio simple con grandes núcleos basófilos, su epitelio presentó citoplasma granular y ligera afinidad al PAS. Estos conductos están rodeados por una serosa simple.

5.2.1.8.- Vejiga natatoria

La formación de la vejiga natatoria comenzó el tercer día (Fig. 5-4), apareciendo como una masa densa de tejido formado por células cúbicas con un núcleo basófilo y sin una estructura definida, estando situada entre la cavidad visceral y el riñón. En el día 4 esta estructura evolucionó hacia un epitelio columnar, rodeada por un tejido conectivo. El conducto neumático, que conecta la vejiga con el tubo digestivo, se pudo observar desde el tercer día. La glándula del gas se observó en algunas larvas desde el día 3, esta masa de tejido fuertemente eosinófilo llegó a invadir completamente la vejiga natatoria y perduró durante el periodo estudiado en bastantes larvas. Se consideraron estas larvas como larvas con la vejiga atrofiada (Fig. 5-7).

La glándula del gas y el rete mirabile estaban formados desde el día cinco. La glándula del gas estaba formada por un epitelio cúbico estratificado, mostrando sus células eosinófilas una alta vacuolización en el día 7. El rete mirabile, constituido por pequeños vasos sanguíneos entrelazados, estaba situado en la posición ventral y posterior de la vejiga natatoria (Fig. 5-15).

La inflación inicial de la vejiga natatoria fue observada microscópicamente desde el día 5, aunque fue a partir del día 8 cuando se produjo su gran expansión. El día 11 el 50 % de las larvas mostraron la vejiga natatoria inflada.

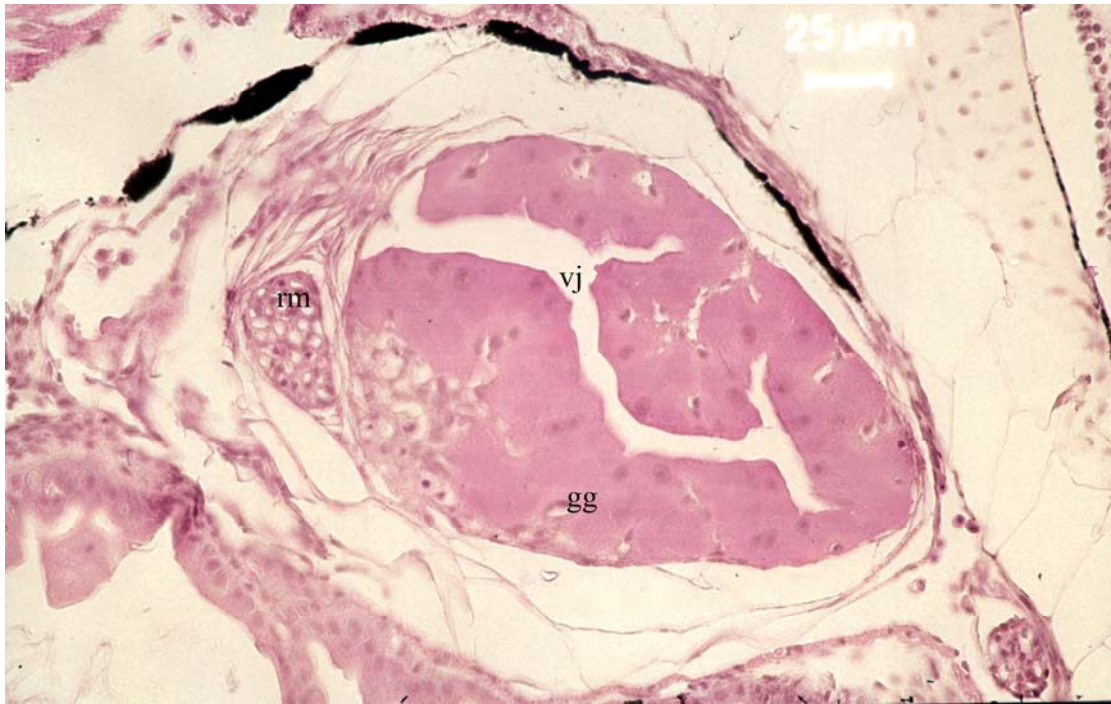


Fig. 5-15.- Vejiga natatoria en larva de bocinegro de 15 días (H&E) (gg: glándula del gas, vj: vejiga natatoria, rm: rete mirabile).

5.2.2- DESARROLLO HISTOLÓGICO DEL SISTEMA DIGESTIVO Y DE LA VEJIGA NATATORIA EN LARVAS DE SAMA DE PLUMA

La longitud total de la larva recién eclosionada fué de $2,097 \pm 0,12$ mm, presentando un saco vitelino de $1,189 \pm 0,09$ mm de diámetro y $0,822 \pm 0,096$ mm de altura. Este saco fué reabsorbido progresivamente durante las primeras 72 horas de vida. A partir de las 60 horas de vida, algunas larvas abrieron la boca y comenzaron a desarrollar su actividad predadora, apareciendo signos de digestión a partir de las 72 horas.

La estructura del sistema digestivo, durante los primeros días de vida de la larva, consistió en un tubo rectilíneo situado por encima del saco vitelino. El digestivo inicial estaba formado por un epitelio monoestratificado de células columnares con un borde eosinófilo y un solo núcleo situado en la zona basal (Fig. 5-16). El saco vitelino ocupa algo más de la mitad de la longitud total de la larva y posee una sola gota lipídica en la zona posterior del saco.

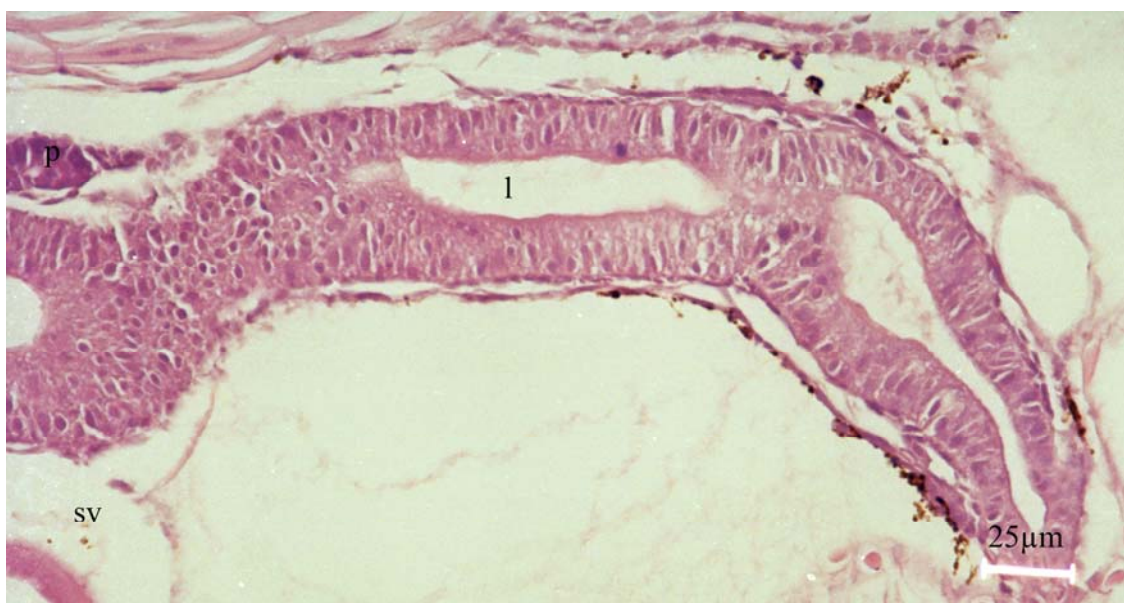


Fig. 5-16.- Digestivo de larva de sama de pluma de 2 días (H&E) (l:lumen, p: páncreas, sv: saco vitelino).

A partir del tercer día de vida, cuando la larva tiene ya capacidad predadora, comenzó la estructuración del digestivo en zonas bien diferenciadas a partir de la bucofaringe. Una zona anterior que englobó el esófago y un estómago aun no funcional, una zona media que

podríamos llamar digestivo medio, y que estaba bien diferenciada del último tramo o digestivo posterior.

El tubo digestivo, inicialmente rectilíneo, sufrió una curvatura con la apertura del ano al tercer día, y un bucle o lazo en dirección perpendicular al eje longitudinal de la larva a partir del día 13.

El canal digestivo comenzó por una bucofaringe formada por un epitelio simple plano, al cual seguía un corto esófago y un tubo digestivo, que durante las primeras horas de vida, estaba constituido por un epitelio simple con células cilíndricas que poseían un núcleo basófilo situado en la zona basal las células. Ya en este día se apreciaron las microvellosidades.

En las larvas de 2 días, en las que más de la mitad del saco vitelino había sido consumido, se apreció una curvatura en ángulo recto a la altura del prominente digestivo posterior (Fig. 5-16). Todavía se observaba la gota lipídica en la parte inferior del saco vitelino.

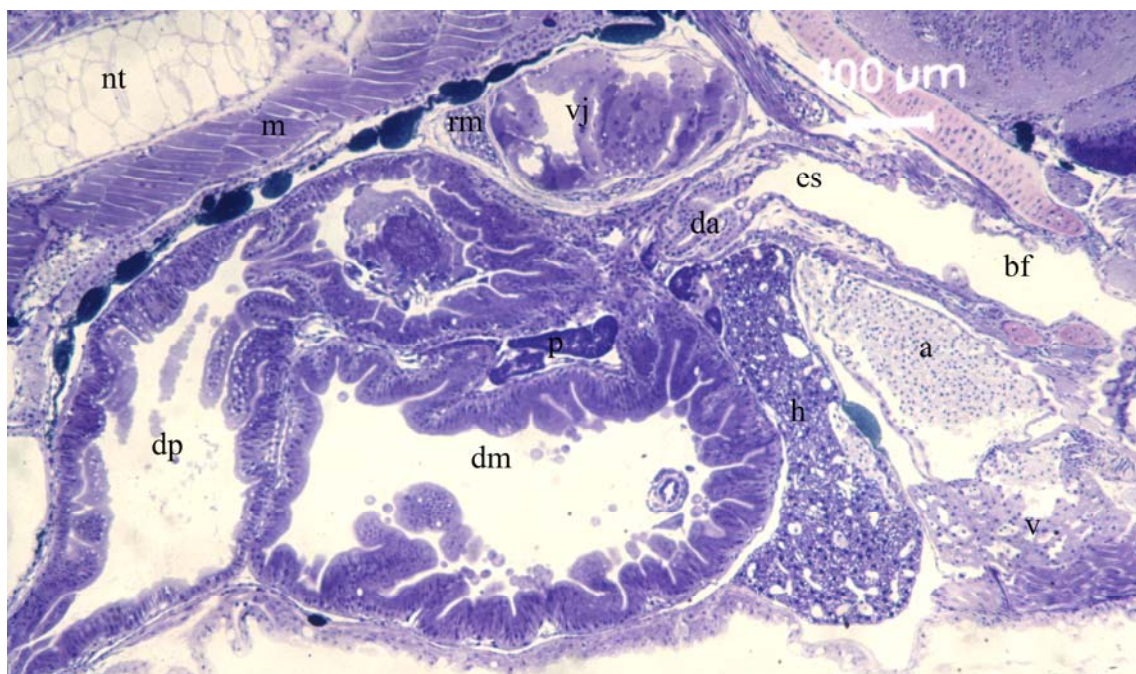


Fig. 5-17.- Visión general del digestivo en una larva de sama de pluma de 20 días (historesin, Azul de toluidina) (a: aurícula, bf: bucofaringe, da: digestivo anterior, dm: digestivo medio, dp: digestivo posterior, es: esófago, h: hígado, m: musculatura, nt: notocorda, p: páncreas, rm: rete mirabile, v: ventrículo, vj: vejiga natatoria).

En las larvas de 60 horas, se apreció un estrangulamiento en el digestivo formándose la válvula ileorectal que divide el último tramo del digestivo.

A las 72 horas de vida el ano estaba abierto y la mayoría de las larvas ya tenían la boca abierta. A partir de este momento y tras la bucofaringe dividimos el digestivo en esófago, digestivo anterior, digestivo medio y digestivo posterior (Fig. 5-17).

5.2.2.1.-Bucofaringe y esófago

La bucofaringe estaba cubierta por un epitelio simple plano. A partir del cuarto día se produjo un engrosamiento en la región caudal de la bucofaringe, formando un epitelio multiestratificado con algunos pliegues, características que lo delimitan (Fig. 5-18). El día nueve se diferenció una envuelta de tejido conectivo, apareciendo a su vez intercaladas en el epitelio las primeras células mucosas. Las células secretoras de clorhídrico no fueron diferenciables hasta el día catorce. En el esófago de las larvas aparecieron dos tipos de células mucosas, unas más pequeñas PAS positivas y otras mayores con reacción negativa a la tinción PAS.

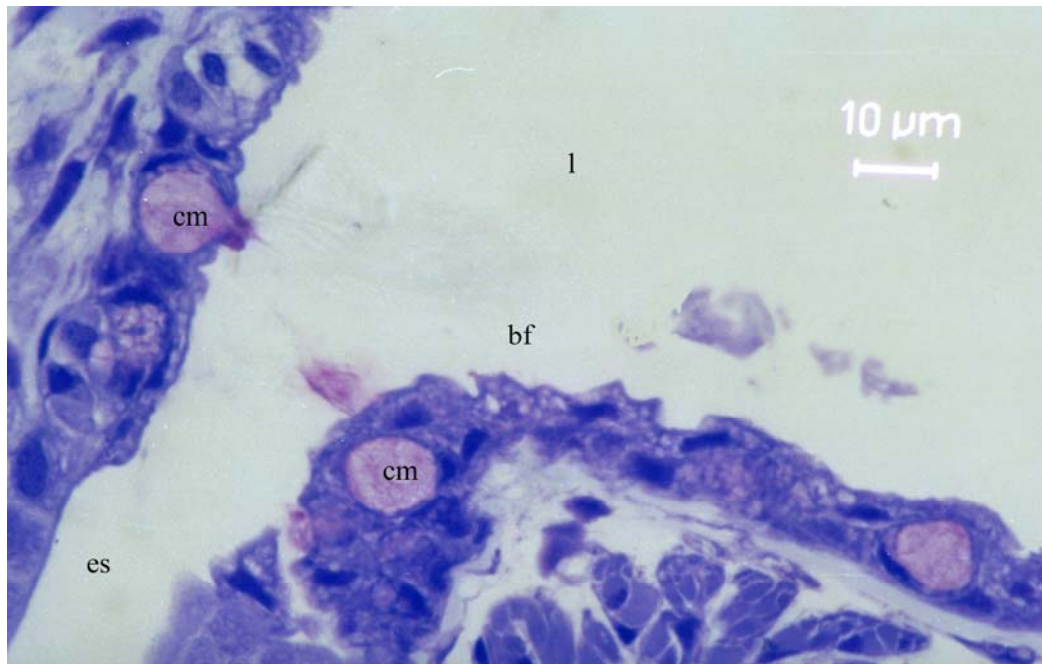


Fig. 5-18.- Transición entre bucofaringe y esófago en larva de 20 días, (Histoiresin- azul de toluidina) (bf: bucofaringe, cm: células mucosas, e: esófago, l: lumen).

5.2.2.2.-Digestivo anterior

El digestivo anterior estaba caracterizado por un epitelio de células cúbicas con un núcleo basófilo situado en el centro del citoplasma (Fig. 5-19). Las primeras invaginaciones no aparecieron hasta el día cuatro. Se apreciaron células con pequeñas vacuolas en la zona apical y algunas células mucosas PAS positivas. Las vacuolas citoplasmáticas presentaban tanto reacción positiva como negativa al PAS, presentando además parte de estas vacuolas afinidad al negro Sudán. A partir del día 14 se localizaron por microdissección de las larvas los primeros esbozos de ciegos pilóricos.



Fig. 5-19.- Digestivo anterior en larva de sama de 18 días (H&E) (cm: células mucosas, da: digestivo anterior, dm: digestivo medio, es: esófago, h: hígado, vj: vejiga natatoria).

Aunque las primeras glándulas gástricas aparecieron sobre el día 23, es hacia el día 31 de vida larvaria cuando se apreció un sistema glandular en el intestino anterior, comenzando con ello la funcionalidad del estómago (Fig. 5-20).

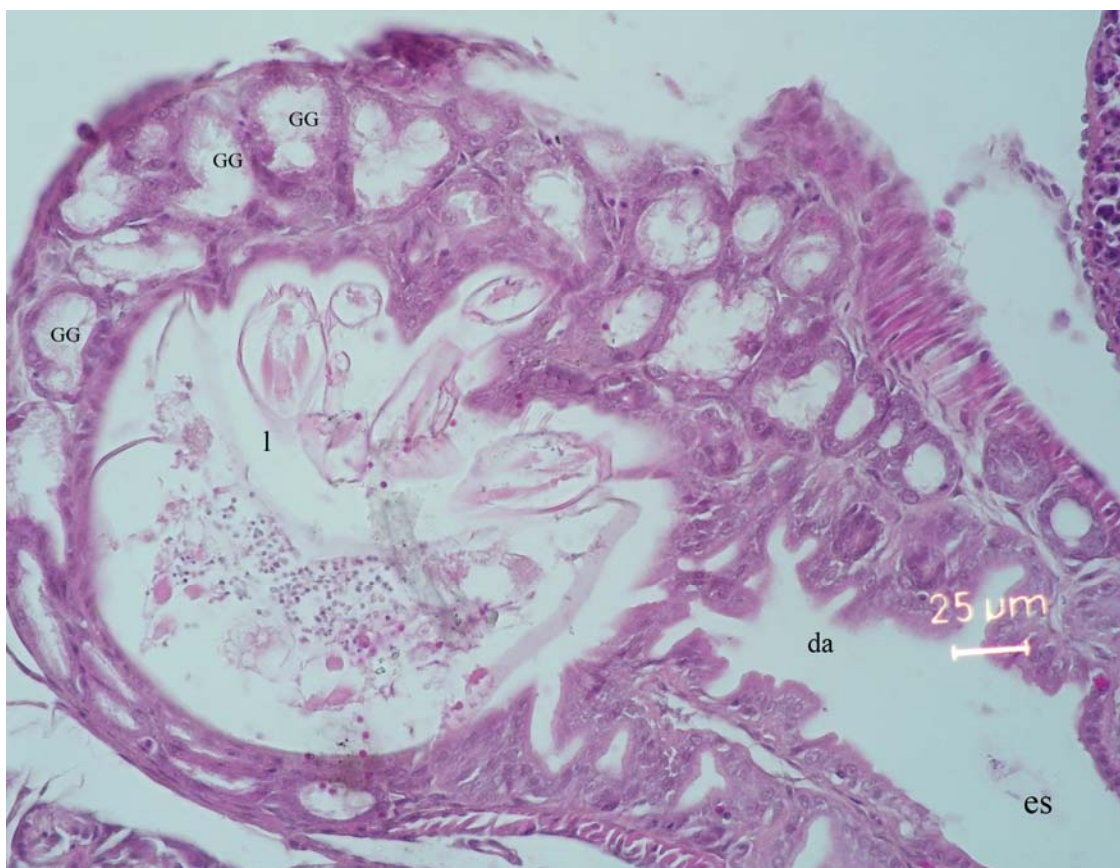


Fig. 5-20.- Sección del sistema digestivo glandular en larva de sama de pluma de 31 días (H&E) (es: esófago, da: digestivo anterior, gg: glándulas gástricas, l: lumen).

5.2.2.3.- Digestivo medio

El digestivo medio estaba formado por un epitelio cilíndrico, donde el núcleo basófilo estaba situado generalmente en la zona basal de la célula, existiendo una banda de abundantes microvellosidades en la zona apical del epitelio.

Al tercer día se formó la válvula ileorectal que separaba el digestivo medio del posterior. En el digestivo medio pudimos encontrar ensanchamientos donde son identificables algunos pliegues formando invaginaciones.

A partir del cuarto día se observaron restos de digestión dentro de la luz en este tramo del digestivo. Esta zona del digestivo sufrió grandes ensanchamientos a partir del momento en que la larva ingirió su primer alimento, tomando la forma de un estómago y donde se aprecia gran actividad de digestión en su luz. Este ensanchamiento se caracteriza por desarrollar abundantes invaginaciones.

Las células de este tramo del digestivo presentaron una membrana basal y abundantes microvellosidades (Fig. 5-21). En ella se encontraban pequeñas vacuolas en la zona apical del epitelio, que disminuían en número hacia la zona basal. Estas vacuolas tenían carácter PAS positivo. A su vez otras microvacuolas, con un marcado carácter eosinófilo, presentaron una reacción negativa al PAS.



Fig. 5-21.- Digestivo medio en lava de 20 días (historesín, azul de toluidina) (l: lumen, mv: microvellosidades, nu: núcleo, se: serosa, vc: vacuolas).

Las vacuolas PAS negativo, mostraron afinidad positiva al negro Sudán (Fig. 5-22) y

rojo aceite, encontrándose además grandes depósitos de origen lipídico en la zona basal de las células (Fig. 5-23).



Fig. 5-22.- Digestivo medio en sama de pluma de 25 días, observándose las vacuolas lipídicas (criocorte, negro Sudán).

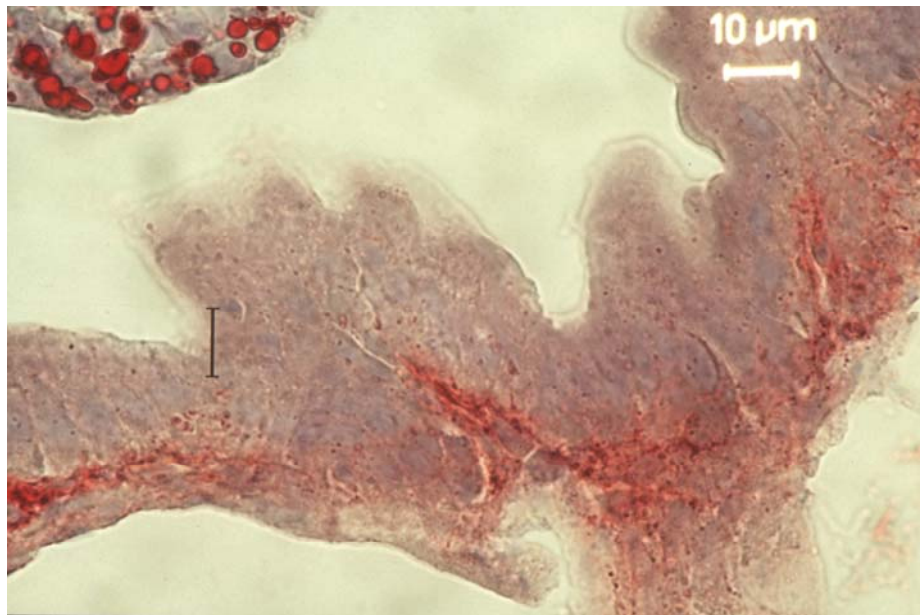


Fig. 5-23.- Digestivo medio en sama de pluma de 25 días, observándose los depósitos lipídicos (rojo) (criocorte, rojo aceite).

5.2.2.4.- Digestivo posterior

A las 48h de vida se diferenció el digestivo posterior. Esta zona, comprendida entre la válvula ileorectal y el ano, estaba formada por células columnares, más pequeñas que en el tramo anterior, con un núcleo basófilo situado en la zona basal. En algunas larvas se pudo encontrar el ano abierto en este día.

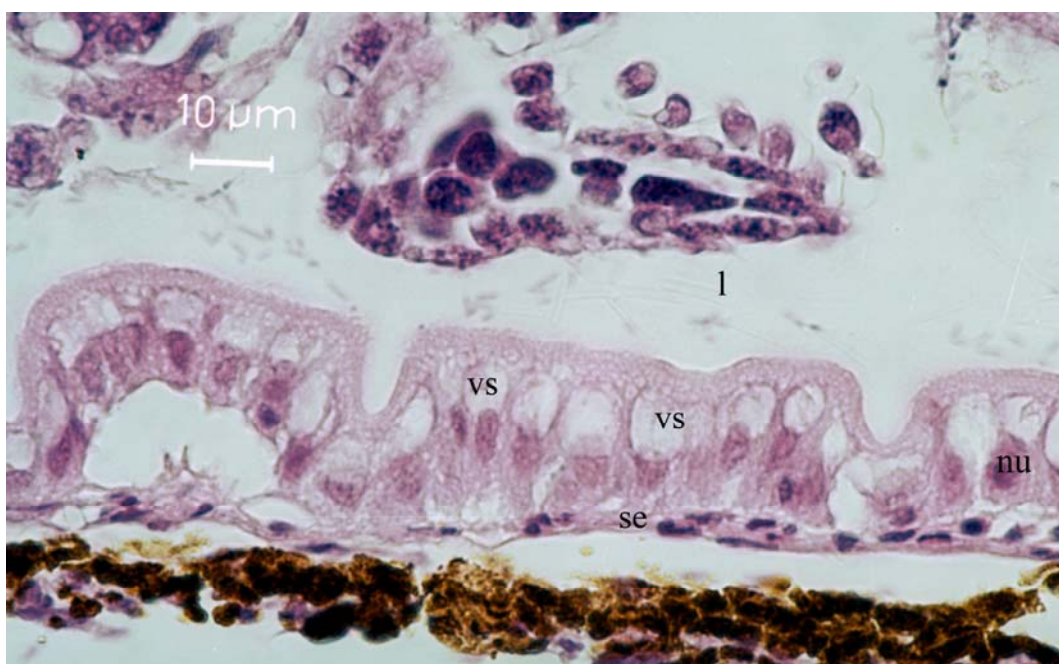


Fig. 5-24.- Digestivo posterior en sama de pluma de 26 días (H&E) (l: lumen, nu: núcleo, se: serosa, vs: vacuolas supranucleares).

A partir del cuarto día se localizaron en las células del digestivo posterior grandes vacuolas supranucleares, (Fig. 5-24) que permanecieron a lo largo de todo el período estudiado. Estas vacuolas presentaron una ligera afinidad eosinofílica y una reacción negativa frente al PAS. Dichas vacuolas fueron disminuyendo de tamaño hacia el recto, donde se encontró una zona sin estas macrovacuolas características. El esfínter rectal se formó en el octavo día.

5.2.2.5.- Hígado

El hígado estaba situado justo debajo del saco vitelino. Inicialmente estaba formado por cordones hepáticos de una ó dos células y con abundantes espacios intercelulares donde se formaron posteriormente los sinusoides y canalículos biliares. La vesícula biliar apareció a partir del segundo día, conectada a la región caudal del hígado. En el día dos existían en los hepatocitos vacuolas que mostraron reacciones positivas al PAS. A las 60 h estas células aumentaron de tamaño e incrementaron su vacuolización.

A partir del séptimo día los cordones hepáticos comenzaron a unirse, las células aparecieron bastante vacuolarizadas, presentando estas vacuolas tanto reacción positiva como negativa al PAS. Durante el resto del desarrollo el hígado apareció formado por células con un citoplasma muy claro y vacuolarizado (Fig. 5-25), con un núcleo más basófilo el cual sufría a veces un desplazamiento hacia la membrana celular. Así mismo se pudo observar en el día 25 una reducción del tamaño de los hepatocitos, disminuyendo el estado de vacuolización de su citoplasma.

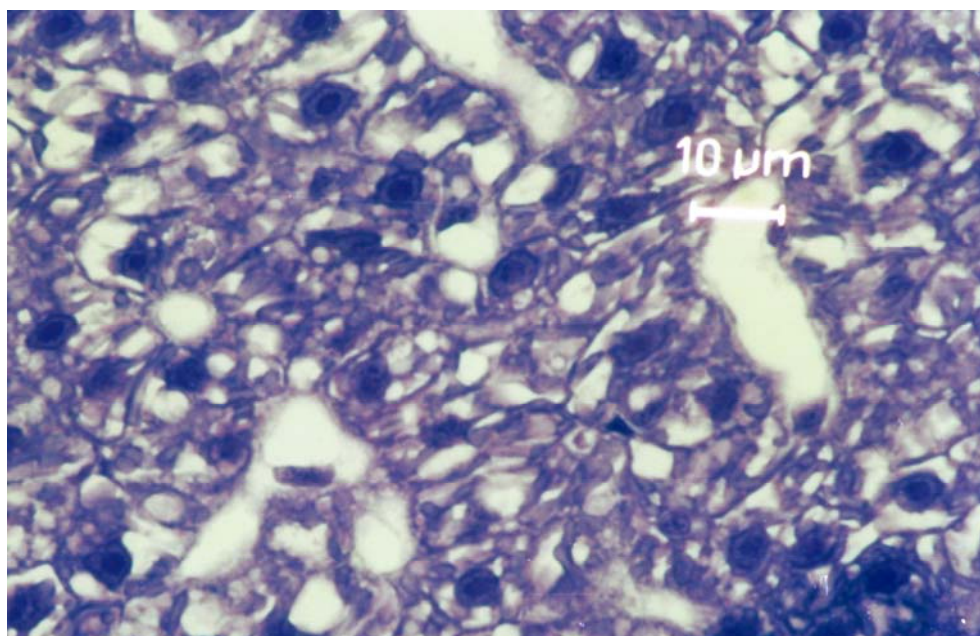


Fig. 5-25.- Hígado en sama de pluma de 20 días (Histoiresín, azul de toluidina).

5.2.2.6.- Páncreas

A los dos días se observaron porciones del páncreas alrededor del digestivo (Fig. 5-16). Este parénquima estaba formado por acinos celulares fuertemente basófilos. Los primeros gránulos de zimógeno aparecieron a partir de las sesenta horas (Fig. 5-26). El tamaño del páncreas fue aumentando especialmente en estos primeros días.

Durante todo el desarrollo, el páncreas continuó siendo difuso, rodeando al digestivo y en las proximidades del hígado, no encontrándose, en ningún momento, infiltraciones pancreáticas dentro del hígado en el presente estudio, que duró hasta el día 31 de vida larvaria.

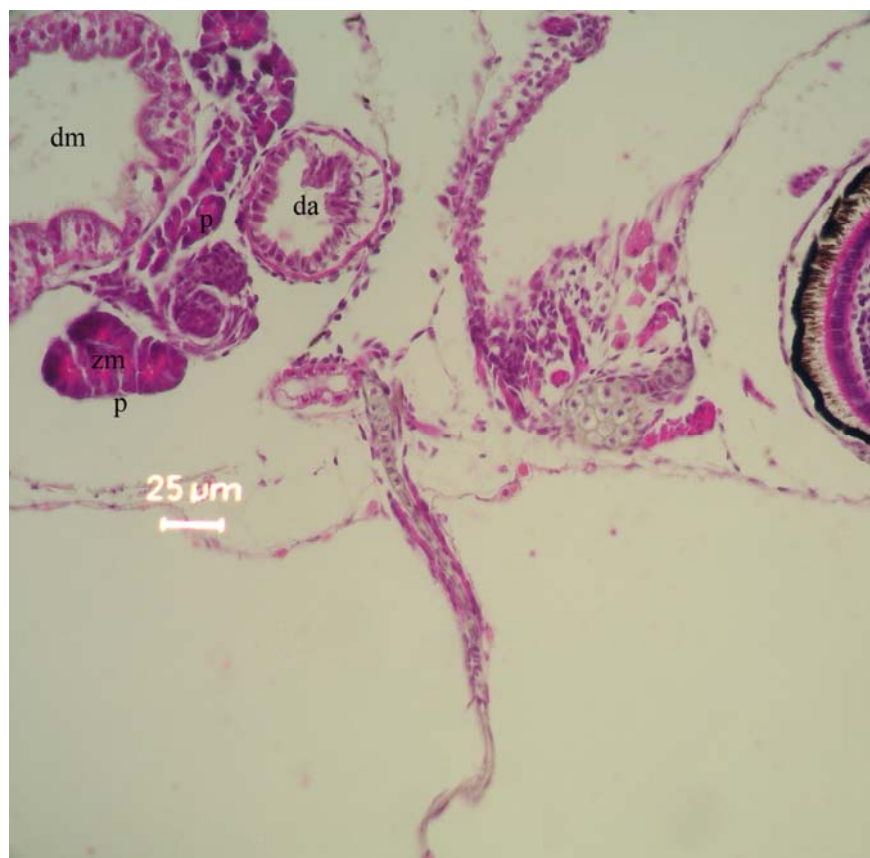


Fig. 5-26.- Páncreas en sama de pluma de 3 días, con presencia de zimógeno (H&E) (da: digestivo anterior, dm: digestivo medio, p: páncreas, zm: zimógeno).

5.2.2.7.- Vejiga natatoria

La vejiga natatoria apareció a los cuatro días en algunas larvas y a partir del día 6 en la totalidad de ellas. Inicialmente tenía forma de saco vacío y estaba situada en posición dorsal al tubo digestivo. A partir de este día 6 se observó el rete mirabile, dispuesto en posición caudal, constituido por una serie de ramificaciones sanguíneas, y la glándula del gas, en posición centrada de la vejiga natatoria, la cual presentaba un marcado carácter eosinófilo y tiende a ocupar gran parte de la vejiga natatoria en las larvas (Fig. 5-27). En el octavo día estaba formada por una envuelta que encierra la glándula del gas.

A los 11 días la vejiga ya estaba inflada en la totalidad de las larvas. En las larvas de 15 días la vejiga natatoria había aumentado considerablemente de volumen y su estructura permaneció invariable (Fig. 5-17).



Fig. 5-27.- Vejiga natatoria en sama de pluma de 7 días (PAS-H) (dm: digestivo medio, gg: glándula del gas, rm: rete mirabile, vj: vejiga).

5.3.- DISCUSIÓN

Como era de esperar, el desarrollo del sistema digestivo a nivel histológico de las larvas de bocinegro y de la sama de pluma fue muy similar al de otros espáridos como el pargo japonés (*Pagrus major*) (Fukuhara, 1991; Moteki, 2002) o el dentón (*Dentex dentex*) (Santamaría *et al.*, 2004). El desarrollo en el bocinegro fue en general más rápido que en la dorada (*Sparus aurata*), así por ejemplo, la formación del estómago glandular ocurre en una fase más temprana que en la dorada (Sarasquete *et al.*, 1995). Este hecho implica la necesidad de modificar las estrategias de alimentación empleadas en la dorada cuando son utilizadas en las larvas de bocinegro, adaptando estas técnicas a una especie con un precoz desarrollo del estómago.

El rápido desarrollo de la boca en las larvas de peces facilita un cambio de régimen alimenticio de endógena a nutrición exógena (Watanabe y Kiron, 1994). La mayoría de los espáridos cultivados comienzan a alimentarse a partir del 4-5 día de vida, cuando alcanzan una talla superior a los 3,5 mm independientemente del tiempo transcurrido entre la formación de la boca y la funcionalidad del digestivo, esto ha sido descrito para algunos espáridos como el sargo sobaito (*Acanthopagrus cuvieri*) (Hussain *et al.*, 1981), sargo picudo (*Puntazzo puntazzo*) (Faranda *et al.*, 1985), seifia (*Diplodus vulgaris*) (Jug-Dujakovic, 1988), pargo japonés (*Pagrus major*) y black porgy (*Acanthopagrus schegeli*) (Miyazaki y Fujiwara, 1988). En el caso de la dorada *Sparus aurata* (Yúfera *et al.*, 1993, Sarasquete *et al.*, 1995) la boca se forma sobre el día 3. En el dentón (*Dentex dentex*) la boca no está formada hasta el día 6 mientras que los primeros indicios de digestión aparecen en el día 7 (Glamuzina *et al.*, 1989). Sin embargo, en la sama de pluma (*Dentex gibbosus*) también del género *Dentex* la formación de la boca en las larvas tiene lugar antes del tercer día.

En *Pagrus pagrus* la boca es funcional después del tercer día (Ciechomski y Weiss, 1973; Hernández Cruz *et al.*, 1990b). Pankhurst *et al.* (1991) señalaron para *Pagrus auratus* que la apertura de la boca ocurre al segundo día aunque no comienza a ingerir rotíferos hasta el día 5, el mismo día en que la larva ha reabsorbido el saco vitelino, coincidiendo a su vez con la pigmentación del ojo. Otras especies como la chopo austral (*Spondyliosoma emarginatum*) ya ha reabsorbido todo el material vitelino con una talla inferior a los 3,0 mm (Beckley, 1989)

dependiendo su supervivencia de la alimentación exógena.

En todos los casos la reabsorción completa del saco vitelino coincide con la funcionalidad del digestivo, aunque los vestigios de la gota lipídica perduran algunos días más, incluso hasta 8 días como en el caso del *Diplodus vulgaris* (Jug-Dujakovic, 1988). Aunque la apertura de la boca se produce con anterioridad, la alimentación exógena no comienza hasta que se ha reabsorbido gran parte del saco vitelino por lo que es preferible pequeñas larvas con un gran saco vitelino, prolongándose así el tiempo de alimentación endógena, de modo que tengan un mayor tamaño a la hora del primer alimento exógeno.

Muchas características del desarrollo de bocinegro tienen lugar en el mismo espacio de tiempo que en el pargo japonés. En ambas especies la reabsorción del saco vitelino tiene lugar el tercer día (Fukuhara, 1985; Hernández-Cruz *et al.*, 1990b) y el rápido desarrollo de la boca facilita una buena adaptación para pasar de la alimentación endógena a la exógena (Watanabe y Kiron, 1994). Sin embargo, en otros espáridos como *Pagrus auratus* aunque la boca y el tubo digestivo están presentes en el día 3, la alimentación exógena no comienza hasta el día 6 (Battaglene y Talbot, 1992) y en la dorada (*Sparus aurata*)(Ezzat *et al.*, 1992) y el sargo (*Diplodus sargus*) (Jug-Dujakovic y Glamuzina, 1988) la boca no se abre hasta el tercer y cuarto día respectivamente.

Las células secretoras de cloruro en la bucofaringe tienen una relación importante con la función de osmorregulación de las larvas de peces, predominando en las estructuras branquiales de estas (Kirsch *et al.*, 1985; Padrós, 1994; Santamaría *et al.*, 2004). Además durante el desarrollo larvario se encuentran también dispersas en la piel (Padrós, 1994).

Las células mucosas observadas en el esófago de las larvas de sama de pluma y de bocinegro han sido también descritas en otras especies como la dorada (Saraquete *et al.*, 1995), donde estas células contenían mucosustancias ácidas carboxiladas y sulfatadas, y mucosustancias neutras.

En el caso del dentón, Santamaría *et al.* (2004) determinaron en las células goblet (células mucosas en forma de copa) del esófago su naturaleza de mucosustancias neutras y

ácidas. A partir del día 8, con el crecimiento de la larva, incrementaron en número las de naturaleza ácida.

La diferenciación de los ciegos pilóricos y glándulas gástricas esta relacionada con la transición de larva a alevín (Govoni *et al.*, 1986). En esta fase, el digestivo se adecua a un cambio de hábitos alimenticios, teniendo una mayor capacidad de degradación del alimento. La estructura del digestivo anterior en ambas especies estudiadas, se caracterizó por ser una zona de tránsito en las primeras semanas de la larva, pasando a tomar una mayor importancia a partir de la tercera semana, formándose en ella las primeras glándulas gástricas.

Mientras que la formación de las primeras glándulas gástricas en las larvas de bocinegro sucedió sobre el día 22, estas son evidentes en el pargo japonés a partir del día 20 (Fukuhara, 1985). Algo similar ocurre en el género *Dentex*, así el dentón forma sus primeras glándulas gástricas el día 22 (Santamaría *et al.*, 2004), mientras que en la sama de pluma la formación tiene lugar en el día 23 (LT 6,6mm).

Aunque los primitivos ciegos pilóricos observados por microdissección en la sama de pluma se forman a partir del día 14 (su evolución no se incluyó dentro del presente estudio) en el pargo japonés (Fukuhara, 1985) la aparición de los ciegos pilóricos tiene lugar a los 29 días, estando bien desarrollados a los 52 días (LT 10mm). Mientras que un sistema glandular primitivo es visible desde el día 20. En el caso de *Acanthopagrus schlegeli* a los 25 días (LT 8,5 mm) aparecen rudimentarios ciegos pilóricos, aunque la formación del estómago, ocurre a partir del día 52 (LT 17 mm), completando la metamorfosis (Fukuhara, 1987).

Fukuhara (1991) observa una gran dispersión de tamaño en el pargo japonés cuando completa la metamorfosis a juvenil con 26 días de vida. En *Pagrus auratus* la metamorfosis se completa sobre el día 25, cuando la larva tiene 8,6 mm LT (Battaglione y Talbot, 1992).

La diferenciación de las glándulas gástricas está estrechamente relacionada con la metamorfosis de las larvas, las cuales requieren un desarrollo del sistema digestivo (Fukuhara, 1985). Por otro lado la formación del sistema glandular gástrico en bocinegro y sama de pluma sucede antes que en otros espáridos como la dorada, la cual carece de glándulas gástricas en el

estómago durante su primer mes de vida (Sarasquete *et al.*, 1993a; Polo, 1991; Polo *et al.*, 1991).

Por lo tanto, el periodo de transformación coincide en el bocinegro y en la sama de pluma a partir del día 23, iniciándose con la formación del estómago. A partir de aquí la actividad digestiva comienza a cambiar, ofreciendo mejores recursos enzimáticos que hasta ese momento. Esta metamorfosis temprana permite a ambas especies unas mejores perspectivas para la adaptación al alimento particulado, con una capacidad digestiva que facilita el pasar del alimento vivo al alimento inerte, como microdietas, permitiendo un “destete” mas temprano que en especies como la dorada.

Los productores enzimáticos para la digestión en peces son fundamentalmente la mucosa gástrica que segrega principalmente proteasas, la cual actúan a pH ácido, y HCl; los ciegos pilóricos y la mucosa intestinal que producen las enzimas encargadas de la digestión de proteínas, carbohidratos y grasas, las cuales necesitan un pH neutro o poco básico, y el páncreas que segrega tripsina, proteasa efectiva a pH básico, amilasa, fosfolipasa, lipasas y maltasa (Kapoor *et al.*, 1975).

Las secreciones de las glándulas gástricas, pepsina y HCl, efectúan una digestión proteica preliminar, facilitando así la completa hidrólisis de las proteínas a péptidos y aminoácidos a través de la acción de tripsina, quimotripsina y aminopeptidasas en el digestivo medio y posterior (Kapoor *et al.*, 1975).

Una capa simple de de epitelio columnar con microvellosidades y sin membrana terminal forma el digestivo posterior de las larvas (O'Connell, 1981; Govoni *et al.*, 1986). Se diferencia del digestivo medio sobre todo a nivel de las células epiteliales mucosas y de la carencia de la membrana terminal.

La capacidad de digestión de las larvas de bocinegro y sama de pluma fue evidente desde el comienzo de la alimentación exógena, donde signos visibles de esta actividad pudieron observarse en la luz del digestivo desde el día 3, acompañados por la formación de vacuolas con reacción tanto positiva como negativa al PAS cuando la larva comienza a preñar.

Las características de los diferentes tipos de vacuolas encontradas están relacionadas con el tipo de absorción de las diversas regiones del tubo digestivo. Los lípidos, asociados a vacuolas carentes de tinción en el procesado rutinario por parafina, y a la aparición de numerosas vacuolas teñidas con negro Sudán en el digestivo medio de las larvas de sama de pluma, indican una absorción de compuestos lipídicos, que parecen tener una tendencia a ser absorbidos en el digestivo medio, aunque esta actividad fue también encontrada en menor medida en los tramos adyacentes. La absorción de lípidos en el digestivo medio ha sido descrita para varias larvas de peces (Segner *et al.*, 1989; Boulhic y Gabaudan, 1992; Sarasquete *et al.*, 1995). La hidrólisis de los lípidos de la dieta a ácidos grasos y monoglicéridos ocurre en la luz del digestivo, siendo de esta forma absorbidos y posteriormente resintetizados en el retículo endoplasmático (Govoni *et al.*, 1986; Kjorsvik *et al.*, 1991).

La absorción de lípidos en este tramo del digestivo, el transporte y depósito en la zona basal del epitelio, están íntimamente asociados a la capacidad de asimilación y utilización de los ácidos grasos esenciales de las larvas de peces marinos, de esta forma un suplemento de lecitina puede favorecer el mecanismo de transporte de lípidos en la dorada, incrementando el depósito de los lípidos en la zona basal de los enterocitos (Izquierdo *et al.*, 2000).

Miyazaki y Fujiwara (1988) observaron en larvas de *Pagrus major* y *Acanthopagrus schlegeli* que la absorción de lípidos se realiza en el digestivo posterior en ambas especies, mientras que el pargo japonés podía además realizarla en el digestivo medio.

El digestivo medio de las especies estudiadas poseía células columnares provistas de microvellosidades siendo inicialmente un tramo sin invaginaciones, aunque estas incrementan con la edad. La abundancia de pequeñas vacuolas supranucleares en el digestivo medio, y las grandes vacuolas eosinófilas supranucleares en el digestivo posterior eran características evidentes de diferenciación entre ambas regiones.

Por otro lado, la ausencia de tinción negro Sudán de las vacuolas supranucleares del digestivo posterior y su carácter eosinófilo sugiere la especialización del digestivo posterior en

la absorción del material proteico. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos por Miyazaki y Fujiwara (1988) para *Pagrus major* y *Acanthopagrus schegeli*, quienes describieron que la absorción de grasa se realiza en las regiones media y posterior del digestivo junto con la absorción de material soluble, gránulos de albúminas y la absorción proteica se realiza por las células del recto. Una especificidad similar presentan las larvas de dorada (Yúfera *et al.*, 1993, Sarasquete *et al.*, 1995) donde desde el día 6 aparecen pequeñas vacuolas de carácter lipídico en las células del digestivo medio, mientras que el digestivo posterior se caracteriza por grandes vacuolas supranucleares de origen proteico.

La absorción por pinocitosis puede compensar la incompleta capacidad de digestión causada por la pobre actividad extracelular de la proteasa en larvas jóvenes. La presencia de gránulos de proteínas en las células epiteliales del recto es un signo de activa digestión de proteína intracelular, la cual tiene un importante papel en las larvas antes de la aparición de las glándulas gástricas (Watanabe, 1984a; Govoni *et al.*, 1986).

Watanabe (1981;1982) usando peroxidasa de rábano blanco (HRP) como un marcador de proteínas, observó la absorción por pinocitosis y digestión intracelular de macromoléculas de proteínas en el epitelio del digestivo posterior de las larvas, y describió este mecanismo de absorción de proteínas. Cuando las larvas eran inyectadas con una solución de HRP y el tejido de su digestivo posterior incubado con peróxido (H_2O_2); las células epiteliales mostraron productos de reacción sin los cuerpos de inclusión, mientras que las larvas control no mostraron producto de reacción. Fue claro que la HRP era absorbida por la célula sin encontrar actividad enzimática, por ejemplo hidrólisis a péptidos o aminoácidos. Watanabe (1984a) comprobó como los productos de la reacción eran evidentes durante todo el desarrollo larvario, incluso después de aparecer las glándulas gástricas, mientras que desaparecían en juveniles a partir de una determinada talla.

Es conocido que las larvas de algunos teleósteos realizan la ingestión por pinocitosis de macromoléculas de proteínas en las células epiteliales del digestivo posterior (Watanabe 1984a). Además, la membrana terminal que limita el borde estriado del digestivo medio, no muestra signos de interrupción durante la digestión, mientras que en el digestivo posterior la membrana plasmática apical muestra numerosas invaginaciones, especialmente en larvas

recién alimentadas (Govoni *et al.*, 1986). Se pudo observar que estos cuerpos de inclusión iban desapareciendo con el desarrollo de un estómago con glándulas gástricas durante la transformación, pero permanecía presente en los peces con estómago reducido, con lo que estos peces carentes de estómago como peces dorados, carpas y tencas ingieren las proteínas de la misma forma que las larvas de los peces con estómago (Watanabe, 1984b). Govoni (1980) encontró estos cuerpos de inclusión supranucleares en juveniles que poseían un estómago funcional y en larvas que no lo poseían. Esto implica que los cuerpos de inclusión acidófilos, electrodensos y granulares situados supranuclearmente en las células epiteliales del digestivo posterior son el resultado de la absorción por pinocitosis de macromoléculas desde la luz del digestivo.

Las moléculas de HRP absorbidas fueron digeridas a través de 5 pasos en las células epiteliales: pinocitosis, transporte, acumulación, digestión y extinción. La pinocitosis de las moléculas de HRP es llevada a cabo entre las microvellosidades de la membrana plasmática. Dentro de la célula las vesículas pinocíticas son llevadas hacia el núcleo. La HRP fue entonces acumulada en inclusiones supranucleares por la unión de vesículas. Los lisosomas presumiblemente procedentes del Golgi, comenzaron a asociarse con estos cuerpos de inclusión desde su formación. Las moléculas de HRP en los cuerpos de inclusión supranuclear perdieron su actividad enzimática, indicado por la disminución de los productos de reacción, probablemente como un resultado de la actividad hidrolítica de los lisosomas, y poco a poco fueron extinguidas (Govoni *et al.*, 1986).

La absorción de proteínas, relacionada con la formación de vacuolas eosinófilas supranucleares se realizó en el digestivo posterior. La absorción por pinocitosis compensa la reducida actividad digestiva de las larvas. La presencia de vacuolas eosinófilas en el digestivo posterior sugiere una activa digestión proteica intracelular, la cual es esencial en las larvas antes de la formación de las glándulas gástricas (Watanabe, 1984a; Govoni *et al.*, 1986). Esta actividad es realizada mediante la absorción por pinocitosis de macromoléculas, como un mecanismo para compensar la baja capacidad digestiva de las larvas (Watanabe, 1981; 1982; 1984a; Govoni *et al.*, 1986; Kjorsvik *et al.*, 1991). La formación de vacuolas acidófilas supranucleares es característica de las larvas de espáridos como la dorada (Sarasquete *et al.*, 1993a; Polo, 1991), el pargo japonés, y *Acanthopagrus schlegeli* (Miyazaki y Fujiwara, 1988),

donde la absorción de material proteico se realiza en el digestivo posterior con la formación de estas vacuolas características desde los días 5 y 6. El carácter eosinófilo de las vacuolas supranucleares del digestivo posterior indica absorción proteica, mientras que la afinidad al PAS esta asociada a carbohidratos o glucoproteínas que estén absorbiéndose en este último tramo del digestivo.

La absorción por pinocitosis de macromoléculas de proteínas parcialmente digeridas por las células epiteliales del digestivo posterior es importante en las larvas, ya que carecen de un estómago y digestión proteica completa (Kapoor et al., 1975). En los adultos el mecanismo de digestión y absorción de proteínas cambia desde una pinocitosis y digestión intracelular a digestión extracelular y transporte de membranas con el desarrollo de las glándulas gástricas, mientras que en los peces que poseen una predigestión proteica el mecanismo de digestión de las larvas es similar al de los adultos (Govoni *et al.* 1986).

En el digestivo posterior de las larvas de sama de pluma se observaron algunas vacuolas pequeñas teñidas con negro Sudán, probablemente relacionadas con la absorción de lipoproteínas o material lipídico que todavía no ha sido absorbido. Esto está en concordancia con lo descrito por Kjorsvik *et al.* (1991) para bacalao (*Gadus morhua*), quienes describieron invaginaciones pinocitóticas y vesículas con contenido granular en la región apical del digestivo posterior en larvas, con partículas electrodensas en este tramo de digestivo.

Los resultados obtenidos para la sama de pluma referentes a la fisiología de digestión son semejantes a los obtenidos para otros peces no espáridos. En el *Coregonus lavaretus* (Rösch y Segner, 1990) la absorción lipídica está restringida al tramo anterior del intestino, con numerosas pequeñas vacuolas supranucleares que van aumentando de tamaño con la edad de la larva. El tramo II del intestino se caracterizó por poseer grandes vacuolas supranucleares, donde la actividad proteolítica ocurre tanto en los tramos I y II, mientras que la actividad de las aminopeptidasas aumenta hacia el intestino medio-posterior, marcadas en las vacuolas citoplasmáticas de estos últimos tramos del intestino (Segner *et al.*, 1989).

El hígado de las larvas de sama de pluma y de bocinegro presenta capacidad almacenadora desde el día dos de vida, y antes de la alimentación exógena. Estos resultados

están de acuerdo con los encontrados por Miyazaki y Fujiwara (1988) para el pargo japonés y para *Acanthopagrus schlegeli*, que en su fase vitelotrófica absorben el glucógeno del saco a través de la membrana vitelina a los 3 días de vida. Sustancias PAS-positivas aparecen en el hígado de las larvas de *Pagrus major* a partir del día 6, mientras que el glucógeno comienza a ser almacenado en el hígado a los 31 días (Umino *et al.*, 1990). Sarasquete *et al.* (1995) detectaron acúmulos de glucógeno a partir del día 4 para larvas de dorada, estando ya en fase de alimentación exógena. Guyot *et al.* (1995), en un estudio realizado a nivel ultraestructural, señalaron la presencia de glucógeno en el hígado primitivo de las larvas de dorada con 1 día de vida.

Rösch y Segner (1990) encontraron en las larvas de *Coregonus lavaretus* una relación directa entre el tamaño de los hepatocitos y su contenido en glucógeno con la variación del metabolismo de los lípidos en el tramo anterior del intestino. En la sama de pluma se produce una reducción de las vacuolas existentes en el hígado a partir del día 25. Esto podría estar relacionado con el cambio de actividad del digestivo, ya que aparecen las primeras glándulas gástricas, o bien en el cambio de alimentación a nauplios de *Artemia*.

Encontramos vacuolas PAS positivas en los hepatocitos de larvas de sama de pluma con dos días de vida y en el bocinegro con tres días, indicando que ya son capaces de almacenar glucógeno. A su vez en esos mismos días hay en larvas algunas vacuolas de apariencia lipídica carentes de tinción. Desde el día 19 se produce en el bocinegro un incremento considerable en el número y tamaño de vacuolas de naturaleza lipídica, originando algunas células con núcleos migrados. Esta característica se incrementó con la formación de las primeras glándulas gástricas. La afinidad y cantidad de estas vacuolas PAS positivas varía de una larva a otra inclusive en un mismo día, lo cual hace pensar en la rápida movilidad de este glucógeno en función de la necesidad energética de la larva. Algunas larvas presentan menor índice de vacuolización, ello puede estar relacionado con la cantidad y tiempo de la alimentación, puede ser que en el momento en que se esté acercando el desarrollo, la capacidad de almacenar se reduzca, pues el gasto energético en el metabolismo se incrementa. La aparición de vacuolas en el hígado, bien sean carbohidratos o lípidos, está asociada a la absorción y transporte de los mismos desde el digestivo, con lo cual los cambios de hábitos alimenticios o aprendizaje de la larva a utilizar sus nuevas estructuras implican movilización

de los depósitos hacia o desde el hígado. Por ello, algunas larvas no presentan depósitos PAS positivos en el hígado mientras que en otras hay gran cantidad de reservas. Esto puede ser debido a la movilización del glucógeno existente en el hígado, y sugieren una menor capacidad predatora de estas larvas.

Los depósitos lipídicos en hígado están asociados directamente a la capacidad de utilización de los lípidos de la dieta de la larva (Izquierdo *et al.*, 2000), siendo la calidad proteica de la misma un factor que refleja alteraciones estructurales en el hígado de los peces (Robaina *et al.*, 1998; Caballero *et al.*, 1999). De este modo, Salhi *et al.* (1997) demuestran que la incorporación de los ácidos grasos n-3 HUFA, en particular el docosaenoico 22:6n-3 (DHA), en microdietas para dorada facilita la utilización de los mismos.

Por otro lado, los depósitos de glucógeno están asociados también a la idoneidad de la dieta, estando íntimamente relacionados con la calidad lipídica de la misma (Salhi *et al.*, 1997), e incluso a su calidad proteica (Robaina *et al.*, 1997). También un efecto combinado de la calidad de ambos nutrientes puede producir en el hígado grandes depósitos indeseados que lleven a migraciones de núcleos y con ello a casos patológicos de esteatosis (Caballero *et al.*, 1999).

La aparición de la vesícula biliar en un estadio temprano en las especies estudiadas podría potenciar la producción de sales biliares que faciliten la asimilación de los lípidos (Watanabe y Kiron, 1994). Sarasquete *et al.* (1995) observaron en el día 4 la formación de la vesícula biliar en la dorada. En la sama de pluma la vesícula biliar ya era visible desde el día 2, sugiriendo una mejor utilización de los lípidos dietéticos en esta especie que en la dorada en un estado de desarrollo larvario temprano.

El hígado y el epitelio de la mucosa de los teleósteos muestran signos de secreción de lipasa (Kapoor *et al.*, 1975), pero los gránulos de zimógeno, evidencia histológica de los precursores enzimáticos, no se encuentran en los hepatocitos o en las células epiteliales de la mucosa de los peces. En algunas especies, el páncreas está bien desarrollado desde la eclosión de las larvas, y sus células acinares están cubiertas con corpúsculos acidófilos, gránulos de zimógeno, probablemente los precursores de tripsina y quimiotripsina (O'Connell, 1976).

Tampoco fueron observados aminopeptidasas, otra secreción de la mucosa epitelial. El origen de la maltasa es principalmente el páncreas (Kapoor *et al.*, 1975). La pepsina, una secreción de la mucosa gástrica, no aparece en las larvas de peces de estómago reducido hasta que las glándulas gástricas comienzan a ser funcionales durante la metamorfosis.

Los gránulos de zimógeno, evidencia histológica de los precursores enzimáticos, se encontraron localizados en las porciones de páncreas alrededor del tubo digestivo (Govoni *et al.*, 1986). Los gránulos de zimógeno comenzaron a ser evidentes en los acinares pancreáticos en las larvas de bocinegro y sama desde el segundo día de vida, mientras que en el pargo japonés el zimógeno fue evidente en el día 3 (Miyazaki y Fujiwara, 1988), y en la dorada el día 4 (Sarasquete *et al.*, 1993a; 1993b; 1995; Yufera *et al.*, 1993). Como consecuencia de ello y la temprana apertura de la boca, la alimentación exógena puede comenzar desde el tercer día de vida.

La cantidad de zimógeno presentó variaciones a lo largo del periodo de estudio, asociado siempre a la necesidad digestiva de la larva para su utilización. Así, periodos críticos como el de inflación de la vejiga natatoria, o el aprendizaje en la estabilidad pueden llevar a una disminución de presas capturadas y con ello una menor necesidad enzimática digestiva.

La actividad de las enzimas digestivas es pobre con el primer alimento exógeno, e incrementa con el desarrollo de la larva antes de la transformación (Sarasquete *et al.*, 1993^a, 1993b; Moyano *et al.*, 1995). Hay dos posibles explicaciones para el incremento en la actividad de las enzimas carbohidrolíticas y proteolíticas en larvas de peces marinos después de la absorción del saco vitelino y la primera alimentación exógena. Por un lado las enzimas que son inherentes en la comida de las larvas pueden incrementarse por aumento de la alimentación. Sin embargo, Baragi y Tovell (1986) trabajando con larvas de lubina estriada (*Morone saxatilis*) comprobaron que tanto larvas alimentadas con alimento vivo como aquellas alimentadas con una microdieta artificial experimentaban conjuntamente un aumento de la actividad enzimática, sin que fuese necesario el alimento vivo para desarrollar esta actividad. Por otro lado la producción de enzimas por el hígado, el páncreas y el epitelio de la mucosa pueden ser estimulados en respuesta a una primera alimentación y un incremento posterior. Lauff y Hofer (1984) encontraron que las tripsinas exógenas se activaban por el elevado pH (9)

del digestivo posterior. La estimulación de las enzimas no fue comprobada, pero el deterioro de los gránulos de zimógeno pancreático y de las enzimas proteolíticas activas en el canal alimenticio de las larvas en inanición implican que la producción de enzimas es variable (Dabrowski, 1982, Hjelmeland *et al.*, 1983).

La formación de la vejiga natatoria comenzó en la sama de pluma a partir del sexto día, con lo cual su capacidad para la natación y mejora de la estabilidad que le faciliten la captura de presas comienza a desarrollarse antes que en otros espáridos como es el caso de la herrera (*Lithognathus mormyrus*) que ocurre en el día 9 (Divanach y Kentouri, 1983a). Por otro lado Hernández Cruz *et al.* (1990b) observaron externamente la inflación de la vejiga en el bocinegro en el día 11. Sin embargo, histológicamente se puede observar un esbozo en la formación de la vejiga natatoria desde el día 3, y un aumento importante de su volumen, en algunas larvas, desde el día 8. Por otro lado, en el caso de la sama de pluma esta es histológicamente visible desde el día 4, al igual que en el dentón (Santamaría *et al.*, 2004), mientras que la inflación comienza a partir del día 10. Para esta misma especie Arizcun *et al.* (2003) encuentran pequeñas variaciones con el aumento de la temperatura del agua, adelantándose la inflación hasta el día 8, aunque sin embargo no destacan la temperatura como un factor directamente asociado a la inflación de la vejiga. Esta pequeña variación en el periodo de inflación de la vejiga natatoria, no debe atribuirse solo a causas anatómicas, sino que la inflación de la vejiga va a estar muy ligada a las condiciones en la superficie del tanque de cultivo, permitiendo con mayor o menor facilidad el ascenso de la larva a la misma para inflar por primera vez la vejiga.

Kentouri *et al.* (1995) observan dos periodos críticos durante el cultivo larvario de bocinegro, el primero tiene lugar cuando las larvas tienen una longitud de 4,5-5 mm y se produce el cambio en la dieta de rotífero a *Artemia*, mientras que el segundo tiene lugar una vez comenzada la metamorfosis (8-9 mm LT). Estos autores relacionan el primer periodo crítico con una pobre capacidad para la asimilación de la *Artemia*, al presentar problemas de digestión para los peces.

Este primer periodo crítico coincide con la inflación de la vejiga natatoria, que en el presente trabajo ocurrió entre los días 8 y 11 (4,5 mm LT). Sin embargo, muchas larvas no

logran inflar la vejiga natatoria, necesitando por ello una mayor demanda energética. El segundo periodo crítico coincide con la transformación a un estómago glandular, el cual se está formando el día 31, y la larva tiene una longitud total de 8 mm, lo cual sugiere una incompleta actividad gástrica aún periodos críticos semejantes han sido descritos por Domeneghini *et al.* (1998) para la dorada.

En *Pagrus auratus*, Battaglione y Talbot (1992) observan que después de la inflación inicial de la vejiga natatoria, a los 7 días, las larvas con una vejiga natatoria funcional tenían un crecimiento más rápido que las larvas que carecían de vejiga funcional. Observaciones similares han sido indicadas para larvas de dorada por Modica *et al.* (1993).

Los resultados de este estudio indican que el desarrollo del digestivo de las larvas de bocinegro y sama de pluma es cronológicamente muy similar al de los principales espáridos producidos en acuicultura, como son el pargo japonés y la dorada. Además su desarrollo es más temprano a nivel de capacidad de digestión que el de la dorada, por lo cual presenta mejores perspectivas de adaptación a la dieta inerte que esta última.

Por ello, y teniendo en cuenta que las técnicas de cultivo se basaron en las de la dorada y su buena aceptación en el mercado europeo, ambas especies presentan un potencial importante para la acuicultura.

6.- Conclusiones



6.- CONCLUSIONES

1.-Se describe por primera vez en detalle la cronología y la morfología del desarrollo embrionario de *Pagrus pagrus* y *Dentex gibbosus*.

2.-El estudio comparativo dentro de la familia *Sparidae* denota que el diámetro de huevo y la duración del desarrollo embrionario de las distintas especies son inversamente proporcionales a la temperatura.

3.-Se describen por primera vez en detalle los cambios morfológicos que suceden a lo largo del desarrollo larvario en *Pagrus pagrus* y *Dentex gibbosus*, estableciéndose además los patrones de pigmentación en ambas especies para todo el desarrollo.

4.-Se constata la apertura de la boca en ambas especies durante el tercer día de vida y la absorción casi completa del saco vitelino, a excepción de la gota de grasa, indicando la necesidad inmediata de alimentación exógena en estas especies.

5.-Se ha caracterizado por primera vez el desarrollo osteológico de ambas especies, lo cual contribuirá a los estudios para prevención de la aparición de deformidades.

6.-En ambas especies se determina que la osteosíntesis sucede en primer lugar en las estructuras que están sometidas a una mayor tensión mecánica, como son los cartílagos y huesos relacionados con la alimentación, respiración y natación.

7.-La formación de los dientes se correlaciona con la osificación de la mandíbula sobre el día 16 de vida en ambas especies y se encuentra estrechamente relacionada con la

capacidad de alimentación a partir de presas mayores y con un exoesqueleto más resistente, lo cual, en comparación con otras especies, permitiría la introducción más temprana de *Artemia* o alimento inerte.

8.-La osificación de las vértebras comienza el día 25 en bocinegro y el 30 en sama, en ambos casos con mayor antelación que en otras especies de espáridos cultivadas, lo cual indicaría una precoz susceptibilidad a las deformidades.

9.-El desarrollo de las aletas en bocinegro es más rápido que en sama de pluma, permitiendo con anterioridad una mejor natación, logrando con ello una mayor capacidad de huida y eficacia en la predación.

10.-Se realizó para ambas especies un estudio morfométrico completo durante el desarrollo larvario, estableciendo las ecuaciones correspondientes a los distintos parámetros y diversas correlaciones entre ellos que permitirán determinar la calidad de las larvas producidas, el estado nutricional de la larva, el grado de inflación de su vejiga natatoria, la presencia de deformidades, la homogeneidad de talla en las poblaciones de cultivos, estudios comparativos con otras especies, predicciones de crecimiento y de cambios de alimentación, etc.

11.-El parámetro morfométrico que mayor correlación presenta con la longitud total de la larva, además de la longitud estándar, es la altura de la cabeza en el caso de bocinegro y la altura del miotomo en sama de pluma. Se constata una disminución de la altura del cuerpo y la altura muscular durante los periodos que implican la adaptación a un nuevo tipo de alimento.

12.-En bocinegro se detectan picos de mayor longitud de vejiga natatoria en los días 15, 18 y sobretodo 25, indicando que esta especie realiza varias inflaciones de la vejiga natatoria durante su vida larvaria, lo que indica la importancia de permitir a la larva la captación de aire en la superficie del agua.

13.-Se constata que tanto en bocinegro como en sama, las mayores variaciones morfométricas se encuentran entre los días 25 y 30, coincidiendo con el desarrollo funcional del estómago y constituyendo una fase muy importante en la metamorfosis.

14.-Se describe por primera vez el desarrollo histológico del sistema digestivo en ambas especies. Se determinó una temprana capacidad de digestión, absorción, transporte y deposición de nutrientes en ambas especies, desde el tercer día de vida.

15.-Se determina la diferenciación funcional del tubo digestivo, realizándose la digestión de los lípidos en el digestivo medio y encontrándose evidencias de pinocitosis en el digestivo posterior.

16.-Se demuestra en ambas especies la formación precoz en comparación con otros espáridos de cultivo del estómago glandular, que sucede en los días 22 y 23 de vida en bocinegro y sama de pluma respectivamente.

17.-Finalmente, se concluye que tanto bocinegro como sama de pluma se desarrollan más rápidamente que otras especies de espáridos cultivadas como la dorada, pero siendo similar al de otras como el pargo japonés. Así, se evidencia el potencial para la larvicultura de bocinegro y sama de pluma.

7.- Bibliografía



7.- BIBLIOGRAFÍA

- Abdelkader, B. y Ktari, M. 1983. Etude des dents des cotes tunisiennes: morphologie et production. Bulletin de l'Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche de Salammbô, 10: 55-67.
- Abellán, E., García-Alcázar, A., Arizcun, M., Delgado, J. y Martín, P. 1997. Experiencias preliminares sobre reproducción y cultivo de dentón (*Dentex dentex* L.). En: Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A. y Zamora, S. (eds.) Actas VI Congreso Nacional de Acuicultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid: 477-482.
- Abellán, E., García-Alcázar, A., Arizcun, M., Nortes, M.D. y García-Alcázar, S. 2000. Effect of photoperiod on growth, survival and inflation of the swim bladder in dentex larvae (*Dentex dentex* L.). Cahiers Options Méditerranéennes, 47: 177-180.
- Afonso, J. M., Montero, D., Robaina, L., Astorga, N., Izquierdo, M. S. y Gines, R. 2000. Association of a lordosis-scoliosis-kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure. Fish Physiology and Biochemistry, 22: 159-163.
- Ahlstrom, E. H. y Moser, H. G. 1981. Systematics and development of early life history stages of marine fishes: achievements during the past century, present status and suggestions for the future. Rapports et Proces-Verbaux des Réunions du Conseil International pour l'Exploration de la Mer, 178: 541-546.

- Alami, H., Fauconneau, B., Rouel, M., Escaffre, A.M. y Bergot, P. 1997. Growth and multiplication of white skeletal muscle fibres in carp larvae in relation to somatic growth rate. *Journal of Fish Biology*, 50: 1285-1302
- Alekseev, F. 1982. Hermaphroditism in porgies (Perciformes, *sparidae*). I Protogyny in porgies, *Pagrus pagrus*, *P. orphus*, *P. ehrenbergi* and *P. auriga*, from West Africa. *Journal of Ichthyology*, 22: 85-94.
- Alekseev, F. 1983. Hermaphroditism in porgies (Perciformes, *sparidae*). II. Sexual Structure of the Populations, Mechanism of its formation and evolution in scups, *Pagrus pagrus*, *P. orphus*, *P. ehrenbergi* and *P. auriga*. *Journal of Ichthyology*, 23: 61-73.
- Alfei, L., Bertoncetto, G., Gelosi, E. y Parvopassu, F. 1989. A morphometric analysis of the spinal motor pool in relation to its target muscle during growth in the trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, 34: 65-78.
- Al-Maghazachi, S. J. y Gibson, R. 1984. The developmental stages of larval turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 82 (1): 35-51.
- Andrades, J. A., Becerra, J. y Fernández-Llebrez, P. 1996. Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 141: 1-11.
- Arizcun, M., López-Albors, O., Ayala, M. D., Nortes, M. D., Gacía-Alcazar, A. y Abellan, E. 2003. Influencia de la temperatura sobre el desarrollo larvario del dentón *Dentex dentex*, L. En: Libro de Resúmenes del IX Congreso Nacional de

Acuicultura. Cádiz, España. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía: 428-430.

Auer, N.A. 1982. Identification of Larval Fishes of the Great Lakes Basin with Emphasis on the Lake Michigan Drainage. Great Lakes Fishery Commission, Ann Arbor, MI. Special Publication 82-3, 744 pp.

Avila, E.M. y Juario, J.V. 1987. Yolk and oil globule utilization and developmental morphology of the digestive tract epithelium in larval rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Aquaculture*, 65(3-4): 319-331.

Baragi, V. y Tovell, R.T. 1986. Digestive enzyme activities in Striped bass from first through larva development. *Transactions of American Fisheries Society*, 115: 478-484.

Battaglione, S.C. y Talbot, R.B. 1992. Induced spawning and larval rearing of snapper, *Pagrus auratus* (Pisces: Sparidae), from Australian waters. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 26(2): 179-183.

Bauchot, M.L. y Hureau, J. C. 1986. Sparidae. En: Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, J. y Tortonese, E. (eds.) *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris, 2: 883-907.

Bauchot, M.L. y Hureau, J.C. 1990. Sparidae. En : Quero, J.C., Hureau, J.C., Karrer, C., Post A. y Saldanha L. (eds.) *Check-List of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic (CLOFETA)*. JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris, 2: 790-812.

- Bauchot, M.L., Hureau, J.C. y Miguel, J.C. 1981. Sparidae. En: Fischer, W., Bianchi, G. y Scott, W.B. (eds.) FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. Eastern Central Atlantic. (Fishing Areas 34, 47 (in part)). FAO, Roma, 4: 41-81
- Beckley, L. 1989. Larval development of *Spondyllosoma emarginatum* (Cuvier & Valenciennes) (*Pisces: Sparidae*) from southern Africa. South African Journal of Zoology, 24(3): 187-192.
- Bianchi, G. 1984. Study on the morphology of five Mediterranean and Atlantic sparid fishes with a reinstatement of the genus *Pagrus cuvier*, 1817. Cybium, 8(4): 31-56.
- Blaxter, J.H.S. 1969. Development: eggs and larvae. En: Hoar, W.S. y Randall, D.J. (eds), Fish Physiology III. Academic Press, New York: 177-252
- Blaxter, J.H.S. 1986. Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. Transaction of the American Fisheries Science, 115: 98-115.
- Boulhic, M. y Gabaudan, J. 1992. Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). Aquaculture, 102: 373-96.
- Brito, A., Lozano, I., Falcon, J., Rodriguez, F. y Mena, J. 1996. Biogeographic analysis of the ichthyofauna of the Canary Islands. En: LLinas, O., González, J.A. y Rueda, M.J. Oceanography and Marine Resources in the Eastern Central Atlantic. Gobierno de Canarias: 241-269.

- Bueno, D., Izquierdo, M. S., Hernandez-Palacios, H., Acevedo, G., y Hernandez-Cruz, C. M. 2001. Densidad óptima de cultivo e influencias del fotoperiodo sobre crecimiento y supervivencia en larvas de bocinegro (*Pagrus pagrus*). En: Fernández-Palacios, H. y Izquierdo, M.S. (eds.) Convergencia entre Investigación y Empresa: un Reto para el Siglo XXI . Series Monográficas del ICCM, 4: 230-235.
- Caballero, M. J., López-Calero, G., Socorro, J., Roo, F. J. y Izquierdo, M. S. 1999. Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 179: 277-290.
- Camus, P. y Koutsikopoulos, C. 1984. Incubation experimentale et developpement embryonnaire de la daurade royale, *Sparus aurata* (L.), a differentes temperatures. Aquaculture, 42: 117-28.
- Cardenas, S., Cañabate, J.P., Sanchez-Lamadrid, A. y Naranjo, J.M. 2003. Domesticación de la hurta (*Pagrus auriga*) En: Libro de Resúmenes del IX Congreso Nacional de Acuicultura. Cádiz, España. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía: 393-394.
- Carlson, B. 1990. Embriología Básica. Interamericana McGraw-Hill. 769 pp
- Carrillo, J., González, J. A., Santana, J. I. y Lozano, I. J. 1996. La pesca en el puerto de Mogán (Islas Canarias): flota, artes y análisis de las capturas entre 1980 y 1990. En LLinas, O., González, J.A. y Rueda, M.J. Oceanografía y Recursos Marinos en el Atlántico Centro-Oriental. Gobierno de Canarias: 459-75.

- Cejas, J. R., Forés, J., Sanitaria, F. J., Samper, M., Villamandos, J. E. y Jerez, S. 1997. Experiencia preliminar de cultivo larvario de bocinegro (*Pagrus pagrus*) en régimen semiintensivo (mesocosmo). En: Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A. y Zamora, S. (eds.) Actas VI Congreso Nacional de Acuicultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación: 489-494
- Ciechomski, J.D. y Weiss, G. 1973. Desove y desarrollo embrionario y larval del besugo *Pagrus pagrus* en el mar Argentino. Phycis, 132: 481-487.
- Dabrowski, K. y Culver, D. 1991. The physiology of larval fish: Digestive tract and formulation of started diets. Aquaculture Magazine, 2: 49-61.
- Dabrowski, K. 1982. Proteolytic enzyme activity decline in starving fish alevins and larvae. Environmental Biology of Fishes, 7: 73-76.
- Darias, M. J., Murray, H. M., Gallant, J. W., Martínez-Rodríguez G., Yúfera, M. y Douglas, S. E. 2005. Differential expression of digestive enzymes precursors in yolk-sac and unfed larvae of *Pagrus pagrus*. En: Hendry, C.I., Van Stappen, G., Wille, M. y Sogeloos, P. (Eds.) Larvi,05 Fish & Shellfish Larviculture Symposium. European Aquaculture Society, Special Publication, 115-118.
- Davenport, J., Lonning, E. y Kjorsvik, E. 1986. Some mechanical and morphological properties of the chorions of marine teleost eggs. Journal of Fish Biology, 29: 289-301.
- Dingerkus, G. y Uhler, L. D. 1977. Enzyme clearing of alcian blue stained whole vertebrates for demonstration of cartilage. Stain Technology, 52: 229-232.

- Divanach, P. y Kentouri, M. 1983a. Donnees Preliminaires sur les caracterisques du development embryonnaire et larvaire du marbre *Lithognathus mormyrus*. Cybium, 7(4): 89-103.
- Divanach, P. y Kentouri, M. 1983b. Donnes Preliminaires sur la technique de production, la croissance et la survie des larves de marbre *Lithognatus mormyrus*. Aquaculture, 31: 245-56.
- Divanach, P., Kentouri, M. y Paris, J. 1982. Etapes du development embryonnaire et larvaire du sar, *Diplodus sargus* , en elevage. Aquaculture, 27: 339-53.
- Domeneghini, C., Pannelli, R. y Veggetti, A. 1998. Gut glycoconjugateds in *Sparus aurata* L. (Pisces, Teleostei). A comparative histochemical study in larval and adult ages. Histology and Histopathology, 13: 359-72.
- Ezzat, A., Ramadan, A., y Hafez, S. 1982. Embryonic and larval development of *Sparus aurata*. Vie Mar, 4: 59-66.
- FAO, 2006. <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>
- Faranda, F., Cavaliere, A., Lo Paro, G., Manganaro, A. y Mazzola, A. 1985. Preliminary studies on reproduction of *Puntazzo puntazzo* under controlled conditions. Aquaculture, 49: 111-123.
- Faustino, M. y Power, D. M. 1998. Development of osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex. Journal of Fish Biology, 52: 11-22.

- Favaloro E. y Mazzola A. 2003. Meristic variation and skeletal anomalies of wild and reared sharpsnout seabream juveniles (*Diplodus puntazzo*, Celli 1777) off coastal Sicily, Mediterranean Sea. *Aquaculture Research*, 34: 575-579.
- FEAP, 2006. http://www.feap.info/production/species/seabreams/seabreamprod_en.asp
- Fernández-Palacios, H. y Moreno, E. 1980. Descripción y desarrollo embrionario y larvario de la vieja *Sparisoma cretense* L. (*Scaridae*). *Vieraea*, 10(1-2): 31-38.
- Fernández-Palacios, H., Montero, D., Socorro, J., Izquierdo, M. S. y Vergara, J. M. 1994. First studies on spawning, embryonic and larval development of *Dentex gibbosus* (Rafinesque, 1810) (*Osteichthyes*, *Sparidae*) under controlled conditions. *Aquaculture*, 122: 63-73.
- Fernández-Palacios, H., Hernández, C.M., Fernandez-Palacios, J.E., Vergara, J.M. y Robaina, L. 1990. Influencia de distintas proporciones Hembra-Macho en la puesta de dorada. (*Sparus aurata* L.). En: *Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura*. Xunta de Galicia: 27-31.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M. S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. y Montero, D. 1997. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 148: 233-246.
- Froese, R. 1990. Modern methods for identification of fish larvae. Tesis doctoral. Universidad de Hamburgo. Alemania. 260 pp.

- Fu, H. y Lock, R. 1990. Pituitary response to cadmium during the early development of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquatic Toxicology*, 16 (1): 9-18.
- Fukuda, M. 1990. Development of the myotomal musculature and changes in swimming speed during early growth in Pacific herring *Clupea pallasii*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 (1): 11-17.
- Fukuhara, O. 1985. Functional morphology and behaviour of early life stages of red sea bream. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 51(5): 731-743.
- Fukuhara, O. 1987. Larval development and behavior in early life stages of Black Sea bream reared in the laboratory. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53(3): 371-379.
- Fukuhara, O. 1990. Effects of temperature on yolk utilization, initial growth, and behaviour of unfed marine fish-larvae. *Marine biology*, 106 (2): 169-174.
- Fukuhara, O. 1991. Size and age at transformation in red seabream, *Pagrus major*, reared in the laboratory. *Aquaculture*, 95: 117-24.
- Fukuhara, O. y Fushimi, T. 1981. Observation of morphology and squamation in *Evynnis japonica* Tanaka (*Sparidae*) reared in the laboratory. *Bulletin Nansei Regional Fisheries Research Laboratory*, 13: 1-8.
- García del Moral, R. 1993. Técnicas de Laboratorio de Anatomía Patológica. Interamericana-McGraw-Hill. 654 pp
- Garratt, P., Chater, S. y Ballard, J. 1989. Preliminary investigation into rearing santer

seabream *Cheimerius nufar* Ehrenberg, 1830 (*Pisces: Sparidae*). *Aquaculture*, 81 (3-4): 285-289.

Girin, M. 1982. French Caribbean islands enter world of aquaculture producers. *Aquaculture Magazine*, 8(5): 28-30.

Giménez, G. y Estévez, A. 2005. Effects of two culturing techniques on the growth, survival and larval quality of *Dentex dentex*. En: Hendry, C., Van Stappen, G., Wille, M. y Sorgeloos, P. (Eds.) *Larvi 05 Fish & Shellfish Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society, Special Publication 36: 184-187.

Gisbert, E., Piedrahita, R. y Conklin, D. 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquaculture*, 232: 455-470.

Glamuzina, B., Jug-Dujakovic, J. y Katavic, I. 1989. Preliminary studies on reproduction and larval rearing of common dentex, *Dentex dentex* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, 77: 75-84.

González, J.M. 1997. La pesquería artesanal canaria de especies demersales: análisis y ensayo de dos modelos de evaluación. Tesis Doctoral. Santa Cruz de Tenerife.

González, J., Lozano, I. J., Caldentey, M. A., Santana, J. I., Gómez, A. y Castillo, R. 1988. Results of the fishing prospection survey "Canarias 85". *Informes Técnicos del Instituto Español de Oceanografía*. ISSN 0212-1565

González, J. A. y Lozano, I. J. 1996. Artisanal fisheries in the Canary Islands:

Methodology of study and general characteristics. En: LLinas, O., González, J.A. y Rueda, M.J. Oceanografía y Recursos Marinos en el Atlántico Centro-Oriental. Gobierno de Canarias: 439-456.

Govoni, J. J., Boehler, G. W. y Watanabe, Y. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes*, 16 (1-3): 59-77.

Govoni, J.J. 1980. Morphological, histological, and functional aspects of alimentary canal and associated organ development in larval *Leiostomus xanthurus*. *Revue canadienne de biologie*, 39: 69-80.

Grover, J.J. 1993. Trophic ecology of pelagic early-juvenile Nassau grouper, *Epinephelus striatus*, during an early phase of recruitment into demersal habitats. *Bulletin of Marine Science*, 53(3): 1117-1125.

Guyot, E., Diaz P. y Connes, R. 1995. Organogenesis of the liver in sea bream. *Journal of Fish Biology*, 47: 427-37.

Hattori, M., Sawada, Y., Takagi, Y., Suzuki, R., Okada, T. y Humai, H. 2003. Vertebral deformities in cultured red seabream, *Pagrus major*, Temminck and Schlegel. *Aquaculture Research*, 34: 1129-1137.

Hernández, C. M., Fernández-Palacios, H. y González, J. A. 1988. La planta experimental de cultivos marinos del Centro de Tecnología Pesquera de Gran Canaria (Islas Canarias). *Informes Técnicos de Investigación Pesquera*. 144pp

Hernández-Cruz, C. M., Vergara Martín, J. M., Robaina, L., Fernández-Palacios, J. E., y

- Fernández-Palacios, H. 1990a. Resultados preliminares del cultivo larvario de dorada, *Sparus aurata*, bajo diferentes condiciones técnicas. Actas del III Congreso Nacional De Acuicultura. Xunta de Galicia: 33-38
- Hernández-Cruz, C. M., Fernández-Palacios, H., Fernández-Palacios, J. E. 1990b. Estudio preliminar del desarrollo embrionario y larvario del bocinegro *Pagrus pagrus* en laboratorio. *Vieraea*, 19: 215-224.
- Hernández-Cruz, C. M., Salhi, M., Bessonart, M., Fernández-Palacios, H, Valencia, A. y Izquierdo, M. S. 1997. Primeras experiencias de cultivo larvario de bocinegro (*Pagrus pagrus*) (*Osteichthyes, sparidae*). En: Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A. y Zamora, S. (eds), Actas VI Congreso Nacional de Acuicultura, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 507-508.
- Hernández-Cruz, C. M., Salhi, M., Bessonart, M., Izquierdo, M. S., González, M. M. y Fernandez-Palacios, H. 1999. Rearing techniques for red porgy (*Pagrus pagrus*) during larval development. *Aquaculture*, 179 (1-4): 489-497.
- High, O. B. 1984. Lipids Histochemistry. Royal Microscopical Society 6. Oxford University Press. 40 pp
- Hinton, D.E. y Lauren, D.J. 1990. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. American Fisheries Society Symposium, 8: 51-66.
- Hjelmeland, K., Ugelstad, I. y Olsen, Y. 1993. Proteolytic activity and post mortem autolysis in prey for marine fish larvae. En: Walther, B.T. y Fyhn, H.J (Eds.) Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development. University of

Bergen. Noruega: 229-232.

Holmefjord, I. y Bolla, S. 1988. Effect of mechanical stress on Atlantic halibut eggs at different times after fertilization. *Aquaculture*, 68: 369-71.

Hseu, J. R., Chang, H. F. y Ting, Y. 2003. Morphometric prediction of cannibalism in larviculture of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 218: 203-207.

Hussain, N., Akatsu, S. y El-Zahr, C. 1981. Spawning, egg and early larval development and growth of *Acanthopagrus Cuvieri* (Sparidae). *Aquaculture*, 22: 125-36.

Ivankov, V. N. y Kurdyayeva, V. P. 1973. Systematic differences and the ecological importance of the membrane in fish eggs. *Journal of Ichtiology*, 13: 864-73.

Iwai, T. 1968. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae- V. Fat absorption in the gut epithelium of goldfish larvae. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 34: 973-978.

Iwai, T. y Tanaka, M. 1968. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae- IV. Absorption of fat by the gut of Halfbeak larvae. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 34: 871-875.

Iwamatsu, T. 1994. Stages of normal development in the medaka *Oryzias latipes*. *Zoological Science*, 11: 825-39.

- Izquierdo, M. S., Socorro, J., Aranzamendi, L. y Hernández-Cruz, C. M. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 97-107.
- JACUMAR (Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos), 2006.
<http://www.mapa.es/es/pesca/pags/jacumar/estadisticas/ccaa.htm>
- Jug-Dujakovic, J. y Glamuzina, B. 1988. Preliminary studies of reproduction and early life history of *Diplodus vulgaris* (E. Geoffroy Aint-Hilaire 1817) in captivity. *Aquaculture*, 69: 367-77.
- Kapoor, B.G., Smith, H., y Verighina, I.A. 1975. The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advance Marine Biology*, 13: 109-239.
- Kawamura, K. y Hosoya, K. 1997. Larval morphometry of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Ichthyological Research*, 44 (4): 389-398.
- Kendall, A. W., Ahltrom, E. H. y 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, A.W. y Richardson S.L. (eds.) *Ontogeny and Systematics of Fish*, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, La Jolla (Ca), 11-22.
- Kentouri, M., O'Neill, D. y Divanach, P. 1994. A study on the quantitative water requirements of red porgies, *Pagrus pagrus* L. (*Pisces*, *Sparidae*), during early on-growing under self-feeding conditions. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25: 741-52.

- Kentouri, M., Pavlides, M., Papandroulakis, N. y Divanach, P. 1995. Cultured of the red porgy, *Pagrus pagrus*, in Crete. Present knowledge, problems and perspectives. Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM). Cahiers Options Méditerranéennes, 16: 65-78.
- Kirsch, R., Humbert, W. y Simonneaux, V. 1985. The gut as an osmoregulatory organ: Comparative aspects and special references to fishes. En: Gilles, R. y Gilles-Baillienm, M. (Eds.) Transport Processes and Osmoregulation. Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 265-277.
- Kjesbu, O. S. y Kryui, H. 1989. Oogenesis in cod, *Gadus morhua* L., studied by light and electron microscopy. Journal of Fish Biology, 34: 735-46.
- Kjorsvik, E., Suthre, L. J. y Lonning, S. 1982. Effects of short-term exposure to xylenes on the early cleavage stages of cod eggs (*Gadus morhua* L.). Sarsia, 67: 299-308.
- Kjorsvik, E. y Lonning, S. 1983. Effects of egg quality on normal fertilization and early development of the cod, *Gadus morhua* L. Journal of Fish Biology, 23: 1-12.
- Kjorsvik, E. y Opstad, I. 1989. Morphological development of the digestive system in larval cod (*Gadus morhua* L.) during start-feeding on artificial and live diets. En: Blaxter, J. H. S., Gamble, J. C., Westernhagen, H. (eds.) The Early Life History of Fish. The Third Ices Symposium, Bergen, 191: 480.
- Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A. y Holmefjord, I. 1990. Egg quality in fishes. Advances in Marine Biology, 26: 71-112.

- Kjorsvik, E., Van der Meeren, T., Kryvi, H., Arnfinnson, J., Kvenseth, P. G. 1991. Early development of the digestive tract of cod larvae, during start-feeding and starvation. *Journal of Fish Biology*, 38: 1-15.
- Kjorsvik, E. 1992. Morphological and ultrastructural effects of xylenes upon the embryonic development of the cod (*Gadus morhua* L.). *Sarsia*, 71: 65-71.
- Koumoundouros, G., Kiriakos, Z., Divanach, P., Kentouri, M. 1995. Morphometric relationships as criteria for the evaluation of larval quality of gilthead sea bream. *Aquaculture International*, 3(2): 143-149.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M. 1999. Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions. *Marine Biology*, 135: 561-572.
- Koumoundouros, G., Divanach, P. y Kentouri, M. 2001. Osteological development of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae): dorsal, anal, paired fins and squamation. *Marine Biology*, 138(2): 399-406.
- Laale, H.W. 1980. The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes: A review. *Copeia* 2: 210-226.
- Lauff, M. y Hofer, R. 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*, 37: 335-346.
- Leis, J.M., Tronski, T. y Beckley, L.E. 2002. Larval development of *Pagellus natalensis* and what larval morphology indicates about relationships in the perciform fish

family *Sparidae* (*Teleostei*). Marine and Freshwater Research, 53: 367-376.

Lotina, R. y Hormaechea, M. 1986. Peces de mar y de río. Studio-Credilibro, Barcelona, 4 vols. 221, 299, 293, 298 p

Lonning, S. 1972. Scanning electron microscopic studies of teleostean eggs with special reference to the chorion. Sarsia, 49: 41-48.

Lonning, S. y Hagstram, B.E. 1975. Scanning electron microscopic studies of the surface of the fish egg. Astarte, 8: 17-22.

Lonning, S., Kjorsvik, E., Haug, T. y Gulliksen, T. 1982. The early development of the halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), compared with other marine teleosts. Sarsia, 67: 85-91.

Lozano, I. J., Caldentey, M. A., González, J. A., Carrillo, J. y Santana, J. I. 1990. Talla de primera madurez sexual de seis espáridos de interés pesquero en Canarias. Informes Técnicos del Instituto Español de Oceanografía, 84: 30 pp.

Machinandiarena, L., Müller, M. y López, A. 2003. Early life stages of development of the red porgy *Pagrus pagrus* (*Pisces*, *Sparidae*) in captivity, Argentina. Investigación Marina, 31: 5-13.

Mamuris, Z., Apostolidis, A., Panagiotaki, P., Theodorou, A. J. y Triantaphyllidis, C. 1997. Morphological variation between red mullet populations in Greece. Journal of Fish Biology, 52: 107-117.

- Manooch III, C. S. y Hassler, W. 1978. Synopsis of biological data on the red porgy, *Pagrus pagrus* (Linnaeus). FAO Fisheries Synopsis, 116.
- Martin, F.D. y Wright, D.A. 1987. Nutritional state analysis and its use in predicting striped bass recruitment: Laboratory calibration. En: Hoyt R. D., editor. Tenth Annual Larval Fish Conference. American Fisheries Society Symposium 2, Bethesda, Maryland: 109–114
- Martoja, R. y Martoja-Pierson, M. 1970. Técnicas de Histología Animal. Toray-Masson S.A., Barcelona, 350 pp.
- Matsuoka, M. 2003. Comparison of meristic variations and bone abnormalities between wild and laboratory-reared red sea bream. Japan Agricultural Reserch Quartely, 37: 21-30
- Mennes, F. 1984. A multispecies assessment of the demersal fish stocks off southern Morocco with 1984 emphasis on the sparid resources. En: Assessments of the Stocks of Sparidae and Trachurus trachurus off Morocco. CECAF/TECH/84/62: 1–146.
- Mihelakakis, A. y Kitajima, C. 1994. Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate, and morphogenesis of the sea bream, *Sparus sarba* (Forskal, 1775). Aquaculture, 126: 361-371.
- Mihelakakis, A., Yoshimatsu, T. y Tsoikas, C. 2001. Spawning in captivity and early life history of cultured red porgy, *Pagrus pagrus*. Aquaculture, 199: 333-352.

- Miyazaki, T. Fujiwara, K. 1988. Histological studies on yolk utilization and digestive function in larvae and juvenile of red sea bream and black sea bream. Bulletin of Faculty of Fisheries Mie University, 1: 15-27.
- Modica, A., Santulli, A., Curatolo, A., Cusenza, L., Palillo, L. y D'amelio, V. 1993. Relationships between absence of functional swim-bladder, calculosis and larval mortality in hatchery-reared gilthead seabream, *Sparus aurata* L. Aquaculture and Fisheries Management, 24: 517-522.
- Moreno, G., (1993) Description of early larvae of four northern California species of rockfishes (*Scorpaenidae: Sebastes*) from rearing studies. National Technical Information Service number: PB94-128188.
- Moteki, M. 2002. Morphological aspects of feeding and improvement in feeding ability in the early larval stage of red sea bream *Pagrus major*. Fisheries Science, 68: 996-1003.
- Moyano, F. J., Alarcón, F. J., Díaz, M., Muñoz-Cueto, J. A., Yúfera, M. y Sarasquete, M. C. 1995. Changes of digestive enzyme activities during larval development in seabream (*Sparus aurata*). En: Lavens, P., Jaspers, E. y Roelants, L. Larvi '95 - Fish & Shellfish larviculture symposium. Gent (Bélgica). European Aquaculture Society Special Publication: 297-300.
- New, M. B. 1991. Turn of the millennium aquaculture. Navigating troubled waters or riding the crest of the wave? World Aquaculture, 22: 28-49.
- O'Connell, C. P. 1976. Histological criteria for diagnosing the starving condition in

early post yolk sac larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 25: 285-312.

O'Connell, C.P. 1981. Development of organ system in the northern anchovy, *Eugraulis mordax*, and other teleosts. American Zoologist, 21: 429-446.

O'Connell, C. P. y Paloma, P. A. 1981. Histochemical indications of liver glycogen in samples of emaciated and robust larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin, 79: 806-812.

Olvera-Limas, R. M. y Cid del Prado, A. 1983. Identification of larvae and juveniles of the *Engraulidae* and *Clupeidae* families in the fisheries of the Port of Celestun, Yucatan. Ciencia Pesquera, 4: 1-3

Oozeki, Y., Ishii, T. y Hirano, R. 1989. Histological study of the effect of starvation on reared & wild-caught larval store flounder, *Karius bicolati*. Marine Biology, 100: 269-275.

Oozeki Y., Hwang, P. P. y Hirano, R. 1992. Larval development of the Japanese whiting, *Sillago japonica*. Japanese Journal of Ichthyology, 39 (1): 59-66

Padros, F. 1994. Aspectos histológicos y ultraestructurales del desarrollo larvario del rodaballo, *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1788), y estudio histopatológico de las alteraciones observadas en su cultivo. Tesis doctoral Universidad Autónoma de Barcelona. 253 pp

Padilla, F., Muñoz, J. y Cardenas, S. 2005. Engorde de la hurta, *Pagrus auriga*, en

jaulas. En: X Congreso Nacional de acuicultura, Universidad Politécnica de Valencia, Libro de resúmenes: 360-361

Pajuelo, J. G. y Lorenzo, J. M. 1995. Biological parameters reflecting the current state of the exploited pink dentex *Dentex gibbosus* (*Pisces:Sparidae*) population off the Canary Islands. South African Journal of Marine Science, 16: 311-319.

Pajuelo, J. G. y Lorenzo, J. M. 1996. Life history of the red porgy *Pagrus pagrus* (*Teleostei: Sparidae*) in the Canary Islands, central east Atlantic. Fisheries Research, 28: 163-177.

Pankhurst, P., Montgomery, J. y Pankhurst, N. 1991. Growth, development and behaviour of artificially reared larval *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider, 1801) (*Sparidae*). Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 42: 391-398.

Pastor, E., Grau, A., Massutí, E., Sala, R. y Sanpera, C. 1997. Aspectos reproductivos, desarrollo embriológico y larvario del dentón (*Dentex dentex*) bajo condiciones controladas. En: de Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A. y Zamora, S. (eds.) Actas VI Congreso Nacional de Acuicultura, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación: 429-434.

Pastor, E., Riera, F., Pou, S., Grau, A.M. y Grau, A. 1995. A summary of investigations on reproduction and larval rearing of common *Dentex dentex* (Linnaeus, 1758). ICES Marine Sciences Symposium, 201: 148-152.

Pedersen, B.H. 1995. The cost of growth in young fish larvae, a review of new hypotheses. Lavens, P., Jaspers, E. y Roelants, L. Larvi '95 - Fish & Shellfish larviculture symposium. Gent (Bélgica). European Aquaculture Society, Special

Publication, 24: 91.

Pedersen, T. y Falk-Petersen, I. B. 1992. Morphological changes during metamorphosis in cod, *Gadus morhua* (L.) with particular reference to the stomach and pyloric caeca. *Journal Fish Biology*, 41: 449-61.

Peleteiro, J. B., Olmedo, M. y Alvarez-Blazquez, B. 1999. Culture of *Pagellus bogaraveo*: Present knowledge, problems and perspectives. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 43: 141-151.

Policansky, D. 1982. Influence of age, size and temperature on metamorphosis in the starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39: 514-517.

Polo, A., Yúfera, M. y Pascual, E. 1991. Effect of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 92: 367-375.

Polo, A. 1991. Crecimiento y alimentación durante el desarrollo larvario de la dorada, *Sparus aurata* L., en cultivo. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz.

Potthoff, T. 1983. Clearing and staining techniques. En: Moser, H.G. (ed.). *Ontogeny and Systematics of Fishes*, American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication, 1: 35-37

Powell, A. B. y Tucker, J.W. JR. 1992. Egg and larval development of laboratory-reared Nassau grouper, *Epinephelus striatus* (Pisces, serranidae). *Bulletin of Marine*

Science, 50: 171-185.

Powell, A. y Greene, M. 2005. Sparidae. En: W.J. Richards (ed.) Early Stages of Atlantic Fishes: an Identification Guide for the Western Central North Atlantic. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL. 2640 pp.

Prieto, A., Cañavete, J. P. y Cárdenas, S. 2003. Crecimiento en larvas de hurta (*Pagrus auriga*) en cultivo. En: Libro de Resúmenes del IX Congreso Nacional de Acuicultura. Cádiz, España. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía: 386-387.

Quintero, M. E., Balguerías, E. y González, J. F. 1991. Descripción de la pesquería artesanal canaria en el banco sahariano. Informes Técnicos del Instituto español de Oceanografía, 108. 23pp.

Radonić M., López, A. V., Oka, M. y Aristizábal, E. O. 2005. Efecto de la temperatura de incubación en el desarrollo embrionario y tiempo de eclosión de huevos del besugo *Pagrus pagrus* (Linne, 1758) (*Pisces: Sparidae*). Revista de Biología Marina y Oceanografía, 40(2): 91–99.

Ramos, J. 1978. Experiencias de cultivo en dorada (*Sparus aurata* L.) en tanques. Informes Técnicos del Instituto de Investigaciones Pesqueras de Barcelona, 55: 3-20.

Ranzi, S. (1969). Sparidae. En : Lo Bianco, S., (ed.) Eggs, Larvae and Juvenile Stages of Teleostei [Uova, larve e stadi giovanili di teleostei], Fauna and Flora of the Bay of Naples. Monograph, no. 38 (Jerusalem: Zoological Station of Naples (translated from Italian by L. Franchetti and edited by H. Mills).

- Reichow, D., Largiader, C., Klingenberg, C.H. Clemmesen, C., Froese, R. y Ueberschaer, B. 1991. The use of multivariate morphometrics to determine the nutritional condition for marine fish larvae. International Council for the Exploration of the Sea, 15: 1-10
- Renobell, J., Sala, R., Pastor, E., Grau, A. y Crespo, S. 2001. Crecimiento de la larva de dentón (*Dentex dentex*) durante la fase de *Artemia*: Efecto del nivel de ácidos grasos. En: Fernández-Palacios, H. y Izquierdo, M.S. (eds.) Convergencia entre Investigación y Empresa: un Reto para el Siglo XXI. Series Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas, 4: 334-337.
- Restrepo, C.E., Doroshov, S.I. y Van Eenennaam, J.P. 1992. Growth and survival of larval striped bass, *Morone saxatilis*, cultured under two temperature regimes and fed two prepared diets and a live diet. En: Aquaculture'92 Proceedings of the Annual Meeting of the World Aquaculture Society, Orlando, FL, USA, May 21–25, Libro de resúmenes.
- Ridelman, J.M., Hardy, R.W. y Brannon, E.L. 1984. The effect of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture, 37: 133-140.
- Ridha, M., Al-Marzouk, A., Khamis, MH. y Teng, S.K. 1983. Studies on the spawning, fecundity, egg incubation and hatching of sobaity (*Acanthopagrus cuvieri*) in Kuwait. Annual Research Report Kuwait Institute for Scientific Research. ISSN: 0250-4065.
- Robaina, L., Izquierdo, M. S., Moyano, F. J., Socorro, J. y Vergara J. M. 1998. Increase of the dietary n-3/n-6 fatty acid ratio and addition of phosphorus improves liver histological alterations induced by feeding diets containing soybean meal to

gilthead seabream *Sparus aurata*. Aquaculture, 161: 281-293.

Robaina, L., Moyano, F. J., Izquierdo, M. S., Socorro J., Vergara, J. M. y Montero, D. 1997. Corn gluten and meat and bone meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): Nutritional and histological implications. Aquaculture, 157: 347-359.

Roberts R. J. 1975. The Pathology of Fishes. The University of Wisconsin Press, Madison. 1004 p.

Roo, F. J., Socorro, J., Izquierdo, M. S., Caballero, M. J., Hernandez-Cruz, C. M., Fernandez, A. y Fernandez-Palacios, H. 1999 Development of red porgy *Pagrus pagrus* visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits. Aquaculture, 171: 499-512.

Roo, F. J., Izquierdo, M. S., Socorro, J., Caballero, M. J. 2001. Caracterización histológica del desarrollo visual en larvas de dorada *Sparus aurata* (Linnaeus 1758). En: Fernández-Palacios, H. e Izquierdo, M.S. (eds.) Convergencia entre Investigación y Empresa: un Reto para el Siglo XXI. Series Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas, 4: 403-411.

Rösch, R. y Segner, H. 1990. Development of dry food for larvae of *Coregonus lavaretus* L. I. Growth, food digestion and fat absorption. Aquaculture, 91:101-115.

Sabatés, A. y Olivar M. P. 1990. Early development and spawning of *Sebastes capensis* in the Southeast Atlantic. Marine Biology, 106: 389-395.

- Saka, S., Firat, K. y Çoban, D. 2004. Development of the common dentex (*Dentex dentex*) eggs in relation to temperature. *Aquaculture Research*, 35(3): 224-231
- Sakai, K., Nomura, M. y Kakashima, F. 1985. Characteristics of naturally spawned eggs of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 51(9): 1395-1399.
- Salhi, M., Izquierdo, M. S., Hernández-Cruz C. M., Socorro, J. y Fernández-Palacios, H. 1997. The improved incorporation of polyunsaturated fatty acids and changes in liver structure in larval gilthead seabream fed on microdiets. *Journal of Fish Biology* 51: 869-79.
- Santamaria, C. A, Marín de Mateo, M., Traveset, R., Sala, R., Grau, A., Pastor, E. Sarasquete, C. y Crespo, S. 2004. Larval organogenesis in common dentex, *Dentex dentex* L. (*Sparidae*): histological and histochemical aspects. *Aquaculture*, 237: 207-228.
- Sarasquete, M. C., Polo, A. y González de Canales, M. L. 1993a. A histochemical and immunohistochemical study of digestive enzymes and hormones during the larval development of the sea bream, *Sparus aurata* L. *Histochemistry Journal*, 25: 430-437.
- Sarasquete, M. C, Polo, A., Pascual, E., Yufera, M. 1993b. Histochemistry of proteins, lipids and carbohydrates in the yolk of oocytes, eggs and larvae of seabrea (*Sparus aurata*). En: Wardle, C. S.; Hollingworth, C.E. (eds) ICES Marine Science Symposia. International Council for Exploration of the Sea, 196: 309-314.

- Sarasquete, M. C., Polo, A. y Yúfera, M. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 130:79-92.
- Segner, H., Rösch, R., Schmidt, H. y Von Poeppinghausen, J. 1989. Digestive enzymes in larval *Coregonus lavaretus* L. *Journal of Fish Biology*, 35: 249-63.
- Setzler-Hamilton, E. M., Wright, D. A., Martin, F. D., Millsaps, C. V. y Whitlow, S. I. 1987. Analysis of nutritional condition and its use in predicting striped bass recruitment: Field studies. *American Fisheries Society Symposium*, 2: 2-115.
- Socorro, J. A., Izquierdo, M. S., Fernández, A., Fernández-Palacios, H. y Oros, J. 1995. Estudio histológico del desarrollo del tracto digestivo en la sama de pluma (*Dentex gibbosus*). En: Castelló, F. y Calderer A. *Actas del V Congreso Nacional de Acuicultura*. Universitat de Barcelona y Generalitat de Catalunya. Dirección General de Pesca Marítima. 1001
- Socorro, J. A., Oran, G., Izquierdo López, M. S., Fernández, A., Caballero, M. J. y Fernández-Palacios Barber, H. 1997. Primeras aportaciones al desarrollo osteológico de las larvas de bocinegro (*Pagrus pagrus*) y sama de pluma (*Dentex gibbosus*). En: de Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A. y Zamora, S. (eds.) *Actas VI Congreso Nacional de Acuicultura*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 533-538.
- Socorro, J. A., Izquierdo, M. S., Fernández A., Fernández-Palacios, H., Caballero, M. J. y Roo, F. J. 1998. Development of digestive system in red porgy larvae (*Pagrus pagrus*). *VIII International Symposium on Nutrition and Feeding of Fish*. Las Palmas (España). Libro de resúmenes: 139.

- Socorro, J., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M. S., Hernández-Cruz, C. M. y Valencia, A. 2001. Estudio morfométrico durante el desarrollo larvario del bocinegro (*Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758). En: Fernández-Palacios, H. y Izquierdo, M.S. (eds.) Convergencia entre Investigación y Empresa: un Reto para el Siglo XXI. Series Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas, 4: 217-29.
- Somasundaram, B., King, P. E. y Shackley, S. E. 1984. Some morphological effects of zinc upon the yolk-sac larvae of *Clupea harengus* L. *Journal of Fish Biology*, 25(3): 333-343.
- Stephanou, D., Georgiou, G. y Shoukri, E. 1995. Reproduction and larval rearing of the common sea bream (*Pagrus pagrus*), an experimental culture. Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM). *Cahiers Options Méditerranéennes*, 16: 79-87.
- Strauss, R. E. y Fuiman, L. A. 1985. Quantitative comparisons of body form and allometry in larval and adult Pacific sculpins (*Teleostei: Cottidae*). *Canadian Journal of Zoology*, 63 (7): 1582-1589.
- Strussmann, C. A. y Takashima, F. 1989. PNR, histology and morphometry of starved pejerrey *Odontesthes bonariensis* larvae. *Bulletin Japanese Society Science Fisheries*, 55(2): 237-246.
- Taylor, W. R. y Van Dyke, G. V. 1985. Revised procedures for staining and clearing fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9: 107-119.
- True V. 1980. Histological Study of the epithelium of the digestive tube of the Sea Bass,

Dicentrarchus labrax (L.) during post-embryonic development. Archives de Zoologie Experimentale et Generale, 121(3):191-206.

Tucker, J.W. Jr. 1987. Sheepshead culture and preliminary evaluation for farming. The Progressive Fish-Culturist. 49(3): 224-228.

Umino, T., Takaba, M. y Nakagawa, H. 1990. Lipid accumulation of the larval red sea bream, *Pagrus major*. Journal of the Faculty of Applied Biological Science Hiroshima Univ., 29(2): 117-25.

Uriarte, I. y Balbontín, F. 1987. Caracterización del estado de hambruna en las larvas de sardina *Sardinops sagax musca* (Pisces, Clupeiformes), mediante criterios morfométricos e histológicos. Revista de Biología Marina de Valparaíso, 23(1): 77-106.

Ulrika, V. M. 1994. Advanced Laboratory Methods in Histology & Pathology. Editorial: Armed Forces Institute of Pathology. ISBN: 1-881041-13-1. 254pp.

Vassilopoulos, V. y Papaconstantinou, C. 1992. Age, growth and mortality of the red porgy, *Pagrus pagrus*, in the eastern Mediterranean sea (Dodecanese, Greece). Vie Milieu, 42(1): 51-55.

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

Watanabe, Y. 1981. Ingestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells in larvae or juveniles of some teleosts. Bulletin of the Japanese Society of Scientific

Fisheries, 47(10): 1299-307.

Watanabe, Y. 1982. Intracellular digestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells of teleost larvae and juveniles. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 48(1): 37-42.

Watanabe, Y. 1984a. An ultrastructural study of intracellular digestion of horseradish peroxidase by the rectal epithelium cells in larvae of a freshwater Cottid fish *Cttus nozawae*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 50(3): 409-416.

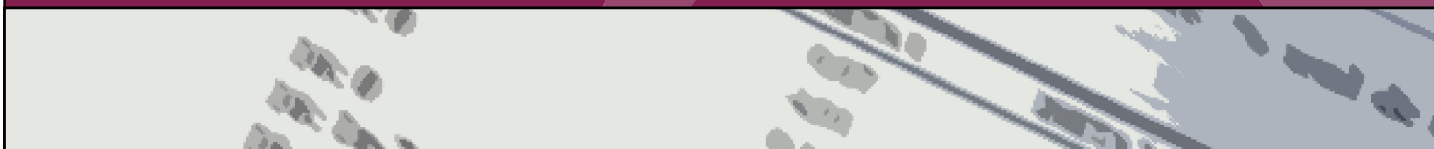
Watanabe, Y. 1984b. Morphological and functional changes in rectal epithelium cells of pond smelt. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 50(5): 805-814.

Yamamoto, T. S. y Kobayashi W. 1992. Closure of the micropyle during embryonic development of some pelagic fish eggs. Journal of Fish Biology, 40(2): 225-41.

Yúfera, M., Pascual, E. y Polo, A. 1993. First results on feeding rates of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae reared in the laboratory. En: Wardle, C. S.; Hollingworth, C.E. (eds) ICES Marine Science Symposia. International Council for Exploration of the Sea, 196:160-166.

Zanuy, S. 1975. Desarrollo del huevo y estados larvarios de cabrilla (*Paracentropristis cabrilla* L.). Investigación Pesquera, 39(2): 473-89.

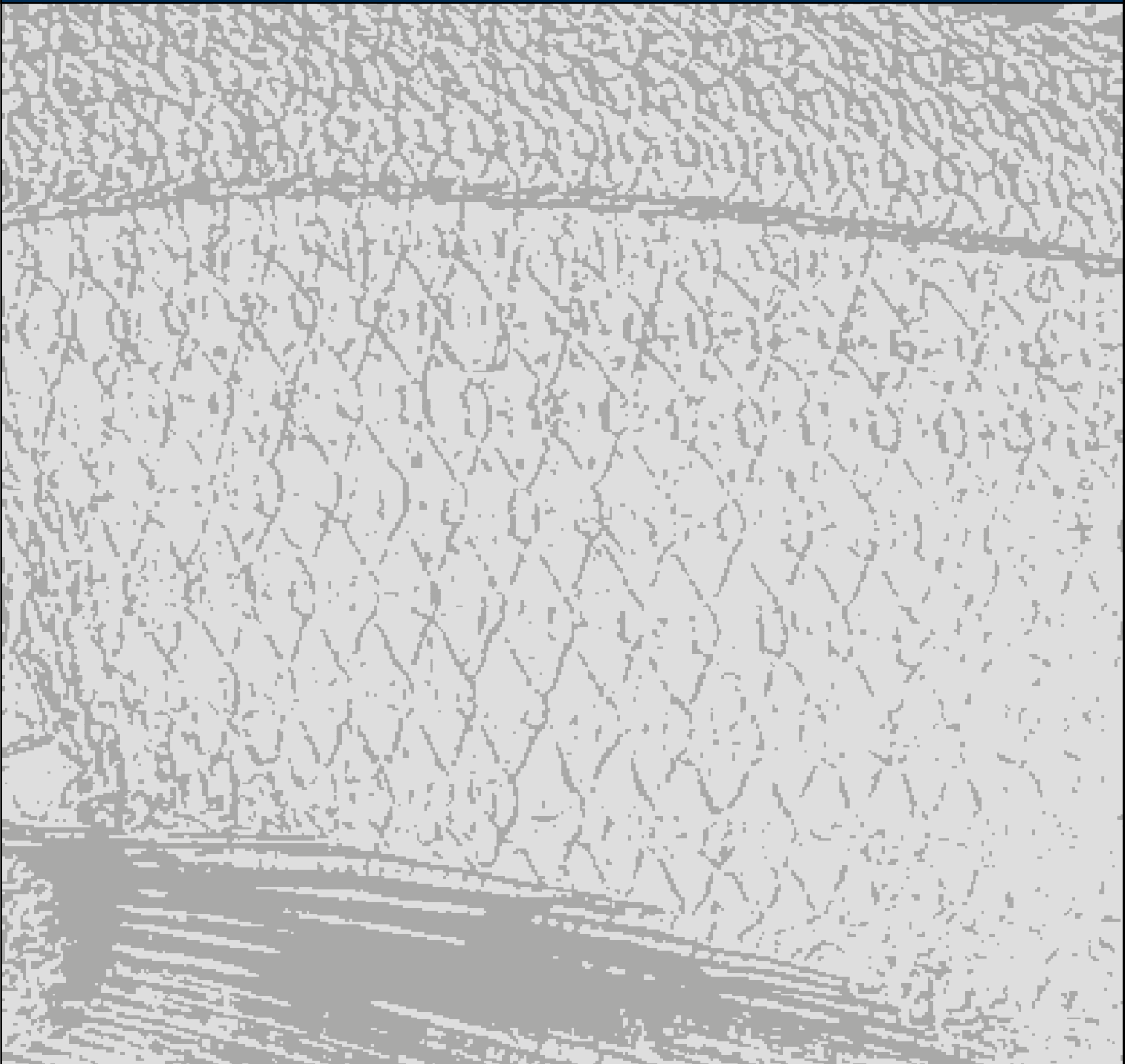
8.- Lista de tablas



8.- LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1.- Diámetro de huevo y gota lipídica para diversos espáridos.	75
Tabla 3.2.- Duración del desarrollo embrionario en diversos espáridos, y la temperatura a la cual tuvo lugar.....	76
Tabla 4-1 Evolución morfométrica del saco vitelino y gota lipídica durante los 5 primeros días (Lsc: Longitud del saco vitelino; Hsc: Altura del saco vitelino; DG: Diámetro de la gota lipídica).....	84
Tabla 4-2. Evolución morfométrica del saco vitelino y gota lipídica durante los 3 primeros días (Lsc: Longitud del saco vitelino; Hsc: Altura del saco vitelino; DG: Diámetro de la gota lipídica).....	92
Tabla 4.3.- Valores morfométricos de larvas de bocinegro desde el día 0 hasta el día 8 (n= tamaño de muestra, μ =media, sd = desviación estándar).....	126
Tabla 4.4.- Valores morfométricos de larvas de bocinegro desde el día 9 hasta el día 20 (n = tamaño de muestra, μ =media, sd =desviación estándar).....	130
Tabla 4.5.- Valores morfométricos de larvas de bocinegro desde el día 21 hasta el día 31 (n = tamaño de muestra, μ =media, sd = desviación estándar).....	134
Tabla 4.6 – Ecuaciones de regresión de las larvas de bocinegro.....	137
Tabla 4.7.- Valores morfométricos de larvas de sama de pluma desde el día 0 hasta el día 8 (n = tamaño de muestra, μ =media, sd = desviación estándar).....	145
Tabla 4.8.- Valores morfométricos de larvas de sama de pluma desde el día 9 hasta el día 20 (n = tamaño de muestra, μ =media, sd = desviación estándar).....	149
Tabla 4-9.- Valores morfométricos de larvas de sama de pluma desde el día 21 hasta el día 31 (n = tamaño de muestra, μ =media, sd desviación estándar).....	153
Tabla 4.10 – Ecuaciones de regresión de las larvas de sama de pluma.....	155

9.- Lista de figuras



9.- LISTA DE FIGURAS

Fig. 1-1. Evolución de las capturas de peces marinos (FAO, 2006).....	2
Fig. 1-2.- Evolución de la acuicultura marina frente a la pesca (FAO, 2006).....	3
Fig. 1-3.- Porcentaje de la acuicultura marina frente a la pesca (FAO, 2006).....	4
Fig. 1-4.- Evolución de la piscicultura marina (FAO, 2006).....	4
Fig. 1-5.- Capturas mundiales de las especies de la familia <i>Sparidae</i> (FAO, 2006).....	5
Fig. 1.6.- Pesca y acuicultura de dorada en la región mediterránea (FAO, 2006).....	6
Fig. 1.7.- Producción de dorada en Europa (FAO, 2006).....	6
Fig. 1-8.- Distribución geográfica del bocinegro.....	12
Fig. 1-9.-Evolución de las capturas de bocinegro en los principales países productores de esta especie (FAO, 2006).....	12
Fig. 1-10.- Distribución geográfica de sama de pluma.....	15
Fig. 1-11.- Evolución de las capturas de <i>Dentex</i> en los principales países productores de esta especie (FAO, 2006).....	15
Fig. 2-1.- Ejemplar de bocinegro en estado natural.....	32
Fig. 2-2.- Captura de bocinegros durante las campañas en el buque Taliarte.....	32
Fig. 2-3.- Liberación del anzuelo de los ejemplares capturados.....	33
Fig. 2-4.- Tanques para el mantenimiento a bordo de los reproductores de bocinegro.....	33
Fig. 2- 5.- Evacuación del exceso de aire de la vejiga natatoria.....	34
Fig. 2-6.- Reproductores de sama de pluma, hembra (superior) y macho	

(inferior).....35

Fig. 2-7.- Toma de medidas en el proyector de perfiles.....44

Fig. 2-8.- Medidas morfométricas de los elementos de reserva. Hsaco: Altura del saco vitelino; Lsaco: Longitud del saco vitelino; DG: Diametro de la gota lipídica (Modificado de Fernandez-Palacios *et al.* 1994).....46

Fig. 2-9.- Medidas morfométricas en las larvas. LT: Longitud total; LS: Longitud estándar; LPA: Longitud preanal; LC: Longitud cefálica; HCU: altura del cuerpo; HC: altura cefálica; HM: altura del miotomo (Modificado de Fernandez-Palacios *et al.* 1994).....46

Fig. 2-10.- Elaboración de los bloques en el dispensador de parafina.....50

Fig. 2-11.- Sistema de microscopia óptica utilizado.....52

Fig. 3-1.- Desarrollo embrionario en bocinegro.....65

Fig. 3-2.- Huevos con varias gotas lipídicas.....66

Fig. 3-3.- Embrión con desarrollo anormal, no viable.....67

Fig. 3-4.- Desarrollo embrionario de sama de pluma.....70

Fig. 3-5.- Diámetro de huevos de distintos espáridos y su relación con la temperatura a la que se realiza la puesta.....74

Fig. 3-6.- Relación entre la temperatura de incubación y la duración del desarrollo embrionario en espáridos.....77

Fig. 3-7.- Relación entre el diámetro del huevo y la longitud de la larva en los espáridos.....77

Fig. 4-1.- Larva de bocinegro recién eclosionada.....82

Fig. 4-2.- Larva de bocinegro de dos días.....83.

Fig. 4-3.-. Formación de escamas en larva de bocinegro de 30 días (microscopio de barrido)...	85
Fig. 4-4.-. Larva de bocinegro de 25 días.....	85
Fig. 4-5.- Características de la boca de la larva de bocinegro de 30 días (microscopio de barrido).....	87
Fig. 4-6.- Opérculo y espinas branquiales en larva de bocinegro de 30 días (microscopio de barrido, barra 100 μ m).....	88
Fig. 4-7.- Cabeza de larva de bocinegro de 24 días, destacando la espina nuchal.....	89
Fig. 4-8.- Larva de bocinegro de 14 días, donde se aprecia inflamación de vesícula urinaria y presencia de cálculos cálcicos.....	90
Fig. 4-9.- Larva de sama de pluma recién eclosionada.....	91
Fig. 4-10.- Larva de sama de pluma de 1 día.....	91
Fig. 4-11.- Larva de sama de pluma de 2 días.....	93
Fig. 4-12.- Larva de sama de pluma de 60 horas.....	93
Fig. 4-13.-. Neuromastos libres en larva de sama de pluma de 16 días, barra 10 μ m.....	94
Fig. 4-14.- Larva de sama de pluma de 10 días.....	95
Fig. 4-15.- Larva de sama de pluma de 16 días.....	96
Fig. 4-16.- Liberación de material de desecho a través de los poros dérmicos en una larva de sama de pluma de 20 días (barra 10 μ m, microscopía electrónica de barrido).....	96
Fig. 4-17.- Detalle de poros en la dermis de larva de sama de pluma de 25 días (microscopía electrónica de barrido).....	97
Fig. 4-18.- Larva de sama de pluma de 20 días, destacando los órganos olfativos (barra 100 μ m, microscopía electrónica de barrido).....	98
Fig. 4-19.- Larva de sama de pluma de 30 días, con una morfología próxima al alevín.....	101

- Fig. 4-20.- Esquema de los principales cartílagos del rostro en larva de bocinegro a los 10 días (mx, maxilar; cm, cartílago de Meckel; cu, cuadrado; hm, hionmandibular; po preopérculo; o, opérculo).....105
- Fig. 4-21.- Larva de bocinegro de 10 días, se aprecian esbozados los cartílagos mandibulares y la espina nual (Azul alcíán - Rojo alizarina)..... 106
- Fig. 4-22.- Osificación de la espina nual en larva de bocinegro de 16, 20, 25 y 30 días (Azul alizarina: azul cartílago, rojo hueso).....107
- Fig. 4-23.- Comienzo de osificación de opérculo en una larva de bocinegro de 20 días.....108
- Fig. 4-24.- Características de osificación en la región branquial y cefálica en una larva de bocinegro de 30 días (Azul alcíán - Rojo alizarina).....108
- Fig. 4-25.- Detalle de la cabeza en larva de bocinegro de 25 días (fr: frontal; pa: parietal; es: esfenotico; pr: proótico; pt: pterótico).....109
- Fig. 4-26.- Vértebras posteriores sin osificar en una larva de bocinegro de 25 días (superior) y vértebras anteriores osificadas (flechas) en una larva de 30 días (inferior) (Azul alcíán - Rojo alizarina).....110
- Fig. 4-27.- Evolución y osificación de la aleta caudal en larva de bocinegro de 16, 20, 25 y 30 días, (Azul alcíán - Rojo alizarina).....111
- Fig. 4-28.- Esquema de osificación de la aleta caudal a los 25 días (ep: epiural; hp: hipoural; ra:radio).....112
- Fig. 4-29.- Osificación de los primeros radios de la aleta anal en una larva de bocinegro de 30 días (Azul alcíán - Rojo alizarina).....113
- Fig.4-30.- Osificación de la aleta dorsal en una larva de bocinegro de 30 días, (Azul alcíán - Rojo alizarina).....113
- Fig. 4-31.- Vista de la cabeza de una larva de sama de pluma de 16 días, con los cartílagos de la región cefálica (Azul alcíán - Rojo alizarina).....114
- Fig. 4-32.- Osificación del opérculo y espinas preoperculares en una larva de sama de pluma de 20 días (Azul alcíán - Rojo alizarina).....115
- Fig. 4-33.- Vértebras en proceso de osificación (flechas) en una larva de sama de pluma de 30 días (Azul alcíán - Rojo alizarina).....116

Fig. 4-34.- Característica de osificación de la aleta caudal de sama de pluma. (Azul alción - Rojo alizarina).....	117
Fig. 4-35.- Evolución de Lsc Hsc y Dg durante los ocho primeros días de vida.....	127
Fig. 4-36.- Evolución de LT, LS y LPA durante los ocho primeros días de vida.....	127
Fig. 4-37.- Evolución de HD y HH durante los ocho primeros días de vida.....	128
Fig. 4-38.- Evolución de HC, HCU y HM durante los ocho primeros días de vida.....	128
Fig. 4-39.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 9 al día 20.....	131
Fig. 4-40.- Evolución de HC, HCU y HM desde el día 9 al día 20.....	131
Fig. 4-41.- Evolución de HD, HH, Lvj y Hvj desde el día 9 al día 20.....	132
Fig. 4-42.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 21 al día 31.....	135
Fig. 4-43.- Evolución de HC, HCU y HM desde el día 21 al día 31.....	135
Fig. 4-44.- Evolución de HD, HH, Lvj y Hvj desde el día 21 al día 31.....	136
Fig. 4-45.- Relación existente entre Lsc y LT ($Lsc = 3,16922 - 0,74939 * LT$).....	138
Fig. 4-46.- Relación existente entre Hsc y LT ($Hsc = 1,71093 - 0,382627 * LT$).....	138
Fig. 4-47.- Relación existente entre Dg, y LT ($Dg = 0,569147 - 0,115636 * LT$).....	139
Fig. 4-48.- Relación existente entre LS y LT ($LS = 1/(0,00876856 + 1,01089/LT)$).....	139
Fig. 4-49.- Relación existente entre LPA y LT ($LPA = (0,453293 + 0,193577 * LT)^2$).....	140

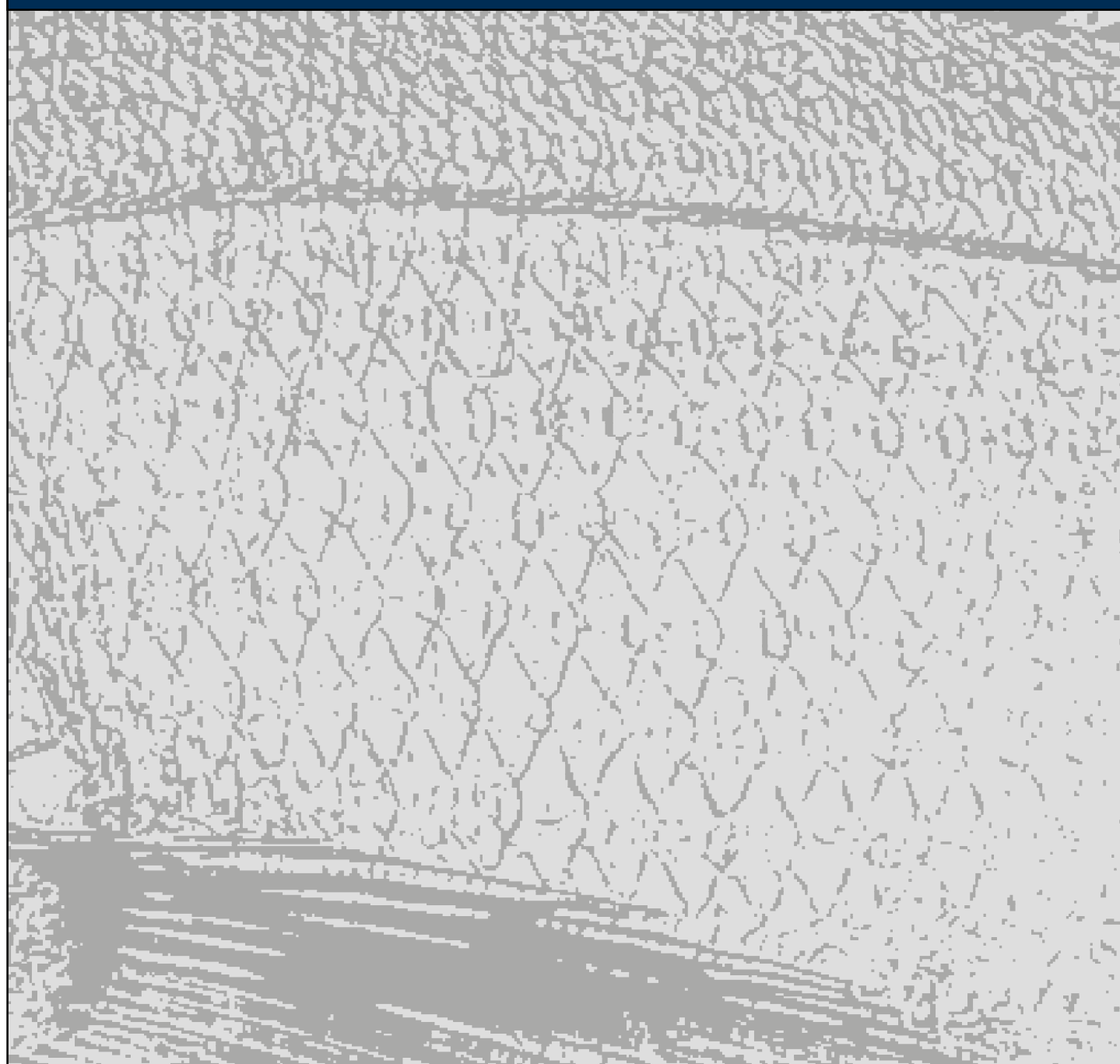
Fig. 4-50.- Relación existente entre HD y LT ($HD = -1,39743 + 0,82488 * \sqrt{LT}$).....	140
Fig. 4-51.- Relación existente entre HH y LT ($HH = -0,0503139 + 0,191585 * LT$).....	141
Fig. 4-52.- Relación existente entre HC y LT ($HC = -0,8020 + 0,36904 * LT$).....	141
Fig. 4-53.- Relación existente entre HM y LT ($HM = \exp(-2,92365 + 0,417018*LT)$).....	142
Fig. 4-54.- Relación existente entre HCU y LT ($HCU = -4,1291 + 2,4060 * \sqrt{LT}$).....	142
Fig. 4-55.- Relación existente entre Lvj y LT ($Lvj = (0,1131 + 0,087882 * LT)^2$).....	143
Fig. 4-56.- Relación existente entre Hvj y LT ($Hvj = -0,0737749 + 0,0495377 * LT$).....	143
Fig. 4-57.- Evolución de Lsc Hsc y Dg durante los ocho primeros días de vida.....	146
Fig. 4-58.- Evolución de LT, LS y LPA durante los ocho primeros días de vida.....	146
Fig. 4-59.- Evolución de LC y HM durante los ocho primeros días de vida.....	147
Fig. 4-60.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 9 al día 20.....	150
Fig. 4-61.- Evolución de LC, HCU y HM desde el día 9 al día 20.....	150
Fig. 4-62.- Evolución de Lvj y Hvj desde el día 9 al día 14.....	151
Fig. 4-63.- Evolución de LT, LS y LPA desde el día 21 al día 31.....	154
Fig. 4-64.- Evolución de LC, HCU y HM desde el día 21 al día 31.....	154
Fig. 4-65.- Relación existente entre Lsc y LT ($Lsc = 2,60676 - 0,648422 * LT$).....	156

Fig. 4-66.- Relación existente entre Hsc y LT ($Hsc = 1,61578 - 0,376518 * LT$).....	156
Fig. 4-67.- Relación existente entre DG y LT ($DG = 0,326945 - 0,0627209 * LT$).....	157
Fig. 4-68.- Relación existente entre LS y LT ($LS = 1/(0,0090069 + 1,01518/LT)$).....	157
Fig. 4-69.- Relación existente entre LPA y LT ($LPA = (0,565146 + 0,172653 * LT)^2$).....	158
Fig. 4-70.- Relación existente entre LC y LT ($LC = -0,55337 + 0,334501 * LT$).....	158
Fig. 4-71.- Relación existente entre HM y LT ($HM = (-0,00398464 + 0,146818*LT)^2$).....	159
Fig. 4-72.- Relación existente entre HCU y LT ($HCU = -0,344594 + 0,321141 * LT$).....	159
Fig. 4-73.- Relación existente entre Lvj y LT ($Lvj = \exp (1,67634 - 13,1346/LT)$).....	160
Fig. 4-74.- Relación existente entre Hvj frente a LT ($Hvj = -0,24024 + 0,0872929 * LT$).....	160
Fig. 4-75.- Crecimiento en longitud total (LT) en larvas de bocinegro.....	163
Fig. 4-76.- Crecimiento en longitud total (LT) en larvas de sama de pluma.....	163
Fig. 4-77.- Relación entre la proporción LPA/LT y longitud total (LT) en larvas de bocinegro.....	167
Fig. 4-78.- Relación entre la proporción LPA/LT y longitud total (LT) en larvas de sama de pluma.....	167
Fig. 5-1.- Digestivo en larvas recién eclosionada (H&E)(n: núcleo, l: Lumen).....	173
Fig. 5-2.- Digestivo en larva de bocinegro de 1 día, serosa (flecha) envolviendo el tubo rectilíneo (H&E). (g:gota lipídica, l: lumen, m: musculatura, nt: notocordo, sc: saco vitelino).....	174
Fig. 5-3.- Visión general del digestivo en bocinegro de 3 días (H&E) (dm: digestivo medio, dp: digestivo posterior, va: válvula ileorectal).....	175

- Fig. 5-4.- Visión general del digestivo en larva de bocinegro de 3 días (H & E) (bf: bucofaringe, da: digestivo anterior, dm: digestivo medio, dp: digestivo posterior, es: esófago, p: páncreas, sc: saco vitelino, vj: vejiga natatoria).....175
- Fig. 5-5.- Sección de bucofaringe de larva de bocinegro de 20 días, con dientes faríngeos (flecha), células mucosas (punta de flecha) y células de cloruro (cc) (PAS-H).....176
- Fig. 5-6.- Sección de una larva de bocinegro de 10 días, en el que se observan las células mucosas, reacción PAS- positiva (PAS-H) (b: bazo, cm: células mucosas, da: digestivo anterior, es: esófago, h: hígado, p: páncreas).....177
- Fig. 5-7. Diferenciación entre esófago y digestivo anterior en una larva de bocinegro de 22 días, resalta el incrementando en número de células mucosas (H&E) (b: bazo, cm: células mucosas, da: digestivo anterior, es: esófago, h: hígado, p: páncreas, rm: rete mirabile, vj: vejiga natatoria).....178
- Fig. 5-8.- Estómago glandular desarrollado en larva de bocinegro de 29 días (H&E) (gg: glándulas gástricas).....179
- Fig. 5-9.- Digestivo anterior y medio en una larva de 10 días (PAS-H) (da: digestivo anterior, dm: digestivo medio, p: páncreas, ro: rotífero, rm: rete mirabile).....180
- Fig. 5-10.- Vacuolas lipídicas (flechas) en digestivo medio en larvas de 4 días (H&E).....181
- Fig. 5-11.- Digestivo posterior en larva de 22 días con las características vacuolas supranucleares (vs) (PAS-H).....182
- Fig. 5-12.- Hígado de larva de bocinegro de 4 días de edad (H&E).....184
- Fig. 5-13.- Vesícula biliar en larvas de 2 días (H&E) (h: hígado, dm: digestivo medio, sc: saco vitelino, vb: vesícula biliar).....185
- Fig. 5-14.- Páncreas en larva de 4 días y primeros gránulos de zimógeno (H&E) (da: digestivo anterior, zm: zimógeno).....185
- Fig. 5-15.- Vejiga natatoria en larva de bocinegro de 15 días (H&E) (gg: glándula del gas, vj: vejiga natatoria, rm: rete mirabile).....187

10.- Lista de abreviaturas

LA NOUVE
de chatz, Salvat
culture Reser
L. 1902
Par last Pêche
LES



10.- LISTA DE ABREVIATURAS

a	aurícula
b	bazo
bf	bucofarínge
cc	células de cloruro
cm	celulas mucosas
CM	Cartilago de Meckel
cu	cuadrado
da	digestivo anterior
DG	Diámetro de la gota lipídica
dm	digestivo medio
dp	digestivo posterior
ep	epiural
g	gota lipídica
GG	glándulas gástricas
gg	glándula del gas
h	hígado
HC	Altura cefálica tomada a nivel del centro del ojo.
HCU	Altura del cuerpo a nivel de la base de la aleta pectoral.
HD	Altura del digestivo al comenzar la constricción ileo-cecal.
HH	Altura del hígado al nivel de la base de la aleta pectoral.
hm	hionmandibular
HM	Altura de miotomo a nivel del ano.
hp	hipoural
Hsc	Altura del saco vitelino.
Hvj	Altura de la vejiga natatoria
H&E	Hematoxilina-eosina
l	lumen o luz del digestivo
LC	Longitud cefálica
LPA	Longitud Preanal
LS	Longitud estandard
Lsc	Longitud del saco vitelino

LT	Longitud Total
Lvj	Longitud de la vejiga natatoria
n	núcleo
ne	sistema nervioso
nt	notocorda
m	musculatura
MEB	microscopía electrónica de barrido
mv	microvellosidades
mx	maxilar
o	operculo
p	páncreas
PAS-H	Acido periódico-Reactivo de schiff-Hematoxilina
po	preoperculo
ra	radio
rm	rete mirabili
sc	saco vitelino
se	serosa
v	ventrículo
va	válvula
vb	vesícula biliar
vc	vacuolas
vj	vejiga natatoria
vs	vacuolas supranucleares
zm	zimógeno