

EVALUACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL BAGRE DEL PATIA
Rhamdia quelen (QUOY Y GAIMARD, 1824) A DIFERENTES RANGOS DE
TEMPERATURA DEL AGUA DE INCUBACIÓN.

WILSON ORLANDO PAZ ROSERO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA ACUICOLA
PASTO-COLOMBIA
2005

EVALUACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL BAGRE DEL PATIA
Rhamdia quelen (QUOY Y GAIMARD, 1824) A DIFERENTES RANGOS DE
TEMPERATURA DEL AGUA DE INCUBACIÓN.

WILSON ORLANDO PAZ ROSERO

Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero
en Producción Acuícola

Presidente:
JORGE NELSON LOPEZ MACIAS
M.V.Z., Esp., M.Sc., Ph.D.(C)

Co-presidente:
ALVARO RENAN CAJAS BURBANO
Biólogo., M.Sc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA ACUICOLA
PASTO-COLOMBIA
2005

“Las ideas y conclusiones aportadas en la Tesis de Grado, son responsabilidad exclusiva de su autor”

Artículo 1ero del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN:

JORGE NELSON LOPEZ MACIAS M.V.Z., Esp., M.Sc., Ph.D (C)
PRESIDENTE DE TESIS

ARIEL EMIRO GOMEZ CERON. Biólogo Marino.
JURADO DELEGADO

ARMANDO ARROYO OSORIO. Zoot., Esp.
JURADO

San Juan de Pasto, 31 de Agosto del 2005

DEDICO A:

A Dios, a mis padres Flor de Maria y Carlos Humberto, por apoyarme siempre, a mis hermanos, Jhon Jairo y Sonia Liliana, porque siempre han estado a mi lado y a todos mis familiares y amigos, que colaboraron para realizar este proyecto.

WILSON ORLANDO PAZ ROSERO

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

JORGE NELSON LOPEZ MACIAS	M.V.Z., Esp., M.Sc., Ph.D.(C)
ALVARO RENAN CAJAS BURBANO	Biólogo., M.Sc.
ARIEL EMIRO GOMEZ CERON	Biólogo Marino.
ARMANDO ARROYO OSORIO	Zoot., Esp
MARCO ANTONIO IMUEZ FIGUEROA	Zoot., Esp
CARLOS SOLARTE PORTILLA	Zoot., M.Sc., Ph.D
IVAN HERNANDEZ RAMIREZ	Biólogo Genético., Esp
HAROLD BOLAÑOS BRAVO	Medico., Patólogo., Lic., Esp
LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA	Secretario de la facultad de Ciencias Pecuarias.
RUTH DAYANA LUCERO SALCEDO	Ingeniera en Producción Acuícola

A la Estación de Investigación Piscícola de las Tallas, adscrita a la Corporación Autónoma Regional del Cauca C.R.C.

Laboratorio de Histopatología PATOLOGOS ASOCIADOS.

Y a todas las personas que en una u otra forma contribuyeron al desarrollo exitoso de esta investigación.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	20
1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA	22
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	23
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GENERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	24
4. MARCO TEORICO	25
4.1 BIOLOGIA DEL BAGRE DEL PATIA <i>Rhamdia quelen</i> (Quoy y Gaimard, 1824)	25
4.1.1 Ubicación taxonómica	25
4.1.2 Distribución geográfica y hábitat	26
4.1.3 Generalidades de la especie	26
4.1.4 Ecología reproductiva	28
4.2 REPRODUCCIÓN	29
4.3 HORMONAS	33
4.4 DESARROLLO EMBRIOLÓGICO EN PECES	34
4.4.1 Segmentación o clivaje	40
4.4.2 Segmentación según la orientación de los planos de división	42
4.4.3 Blastulación	42
4.4.4 Gastrulación	43

4.4.5	Movimientos morfogénéticos	45
4.4.6	Capas germinativas.	45
4.4.7	Tipos de tejidos epiteliales	46
4.4.8	Organogénesis	47
4.4.9	Eclosión	47
4.5	HISTOLOGIA	47
5.	DISEÑO METODOLOGICO	49
5.1	LOCALIZACION Y DESCRIPCION DEL SITIO	49
5.2	PERIODO DE ESTUDIO	50
5.3	MATERIAL BIOLÓGICO	50
5.4	INSTALACIONES	51
5.4.1	Materiales, Insumos y Equipos	51
5.5	PLAN DE MANEJO	53
5.5.1	Adecuación de equipos.	53
5.5.2	Circulación de agua y aireación.	53
5.5.3	Control de temperatura.	53
5.5.4	Captura y transporte.	53
5.5.5	Inducción.	54
5.5.6	Desove y fertilización.	55
5.5.7	Incubación.	55
5.5.8	Seguimiento y observación del desarrollo embrionario.	56
5.6	TRATAMIENTOS	56
5.7	VARIABLES EVALUADAS	57
5.7.1	Desarrollo embrionario	57

5.7.2 Tiempo de la duración del desarrollo embrionario.	57
5.7.3 Procesamiento Histológico.	57
5.7.4 Tasa de fertilidad	57
5.7.5 Supervivencia Embrionaria	57
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	58
6.1 DESARROLLO EMBRIONARIO	58
6.1.1 Fases y estadios del periodo embrionario.	58
6.2 DURACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO	79
6.2.1 Eclosión de cada tratamiento comparado con otras investigaciones	80
6.3 ESTUDIO HISTOLOGICO	81
6.3.1 Derivados ectodérmicos	81
6.3.2 Derivados endodérmicos	82
6.4 TASA DE FERTILIDAD Y SUPERVIVENCIA EMBRIONARIA	86
6.4.1 Tasa de fertilidad	86
6.4.2 Tasa de supervivencia embrionaria	87
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	88
7.1 CONCLUSIONES	88
7.2 RECOMENDACIONES	88
BIBLIOGRAFÍA	90
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Bagre del Patía <i>Rhamdia quelen</i> .	26
Figura 2. Dimorfismo sexual en <i>Rhamdia quelen</i> .	29
Figura 3. Estación de Investigación Piscícola de las Tallas.	49
Figura 4. Piletas de concreto para la reproducción.	53
Figura 5. Pesaje y medición de los reproductores.	54
Figura 6. Inducción hormonal.	54
Figura 7. Obtención de material gamético y fertilización.	55
Figura 8. Incubadoras experimentales.	56
Figura 9. Ovocélula 15 minutos postfertilización (mpf), oocito hidratado.	59
Figura 10. Corte transversal Ovocelula H-E 5 μ 40X.	59
Figura 11. Corte transversal Ovocelula H-E 5 μ 40X.	60
Figura 12. Primer clivage 40 minutos postfertilización (mpf).	60
Figura 13. Segundo plano de segmentación (60 mpf).	61
Figura 14. Tercer plano de segmentación (100 mpf).	61
Figura 15. 16 blastómeros fase celular (120 mpf).	62
Figura 16. Discoblástula, fase celular (6hpf).	63
Figura 17. Corte transversal discoblástula.	63
Figura 18. Blastula media, fase celular (6h: 30 hpf).	64
Figura 19. Blástula tardía (7hpf).	64
Figura 20. Gastrula media 60% epibólía (8hpf).	65

Figura 21	Gastrula tardía 95% epibólia (9hpf).	66
Figura 22.	Corte Transversal gastrula H-E 5 μ 40X.	66
Figura 23.	Fase embrión organogénesis (10hpf).	67
Figura 24.	Fase embrión organogénesis (11h: 30mpf.)	67
Figura 25.	Fase embrión organogénesis (12hpf).	68
Figura 26.	Fase embrión organogénesis 8 somitas(14h: 30mpf).	69
Figura 27.	Fase embrión organogénesis 12 somitas (16hpf).	69
Figura 28.	Fase embrión organogénesis vesícula óptica (18hpf).	70
Figura 29.	Fase embrión vesículas óptica y Kupffer, 22 somitas (20hpf).	70
Figura 30.	Fase embrión 28 somitas vesícula de Kupffer (22hpf).	71
Figura 31.	Fase embrión 38 somitas cabeza y cola diferenciadas (23hpf).	71
Figura 32.	Fase embrión 44 somitas (24hpf).	72
Figura 33.	Fase embrión 48 somitas (25hpf).	72
Figura 34.	Fase embrión 50 somitas (26hpf).	73
Figura 35.	Fase embrión 52 somitas, movimientos de la cola (27hpf).	73
Figura 36.	Fase embrión 52 somitas Corion delgado (27h: 30mpf).	74
Figura 37.	Eleuteroembrión recién eclosionado (28hpf).	75
Figura 38.	Eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> .	75
Figura 39.	Gastrula, Oocito muerto, (desnaturalización de Proteína) y mal formación embrionaria (6hpf).	76
Figura 40.	Malformación de Columna y Vitelo (13hpf).	77
Figura 41.	Desviación de Columna (17hpf).	77
Figura 42.	Eclosión prematura, malformación cefálica (18hpf)	78

Figura 43. Eleuteroembrión con desviación de columna (18hpf).	78
Figura 44. Eleuteroembrión de <i>Rhamdia quelen</i> con malformación.	79
Figura 45. Tiempo de Eclosión Vs. Temperatura de Incubación.	79
Figura 46. Corte sagital zona cefálica de eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> . H-E 5 μ 40X.	81
Figura 47. Corte sagital zona truncal de eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> . H-E 5 μ 40X.	82
Figura 48. Corte sagital zona truncal posterior de eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> . H-E 5 μ 40X.	83
Figura 49. Corte sagital zona caudal de eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> . H-E 5 μ 40X.	84
Figura 50. Corte transversal zona truncal-dorsal de eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> . H-E 5 μ 40X.	84
Figura 51. Corte transversal zona truncal-media de eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> . H-E 5 μ 40X.	85
Figura 52. Corte transversal zona truncal-ventral de eleuteroembrión <i>Rhamdia quelen</i> . H-E 5 μ 40X.	85

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Promedio de los parametros fisico-quimicos de la quebrada las Tallas	50
Tabla 2. Tasa de fertilidad en hembras de <i>R. quelen</i> para los cuatro tratamientos.	86
Tabla 3. Tasa de sobrevivencia embrionaria en hembras de <i>R. quelen</i> para los cuatro tratamientos.	87

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Datos de hembras del bagre del Patía <i>R. quelen</i> para la reproducción inducida para el tratamiento T0.	97
Anexo B. Datos de hembras del bagre del Patía <i>R. quelen</i> para la reproducción inducida para el tratamiento T1.	99
Anexo C. Datos de hembras del bagre del Patía <i>R. quelen</i> para la reproducción inducida para el tratamiento T2.	101
Anexo D. Datos de hembras del bagre del Patía <i>R. quelen</i> para la reproducción inducida para el tratamiento T3.	103
Anexo E. Protocolo del proceso Histológico en embriones de peces.	105
Anexo F. Registro de peso y talla de reproductores de <i>Rhamdia quelen</i> .	107

GLOSARIO

CÉLULAS DINARIAS: célula que se separa en la división celular dando origen a otras células (mitosis).

CIGOTO: célula diploide resultante de la fecundación de un oocito por parte de un espermatozoide.

CLIVAJE: división celular dentro de la masa del embrión en el desarrollo. Cada clivaje duplica el número de células.

DEMERSAL: huevo de especie ictica que se caracteriza por su flotabilidad en el tercio medio de la columna de agua.

DESOLVE: la presencia de oocitos viables en estadio III que salen fácilmente a través del oviducto de la papila urogenital, mediante simple presión abdominal.

ELEUTEROEMBRION: embrión libre de corion dependiente de nutrición vitelina.

EMBRIOLOGÍA: ciencia que estudia el desarrollo ontogénico de los animales; describe desde el punto de vista morfológico los esbozos de órganos y analiza las analogías y diferencias en la morfogénesis de grupos zoológicos próximos.

EOSINA: colorante rojo brillante que tiñe los tejidos y organelos de las células con afinidad ácida.

ESPERMIACIÓN: liberación del líquido espermático en machos maduros cuando el abdomen es presionado.

ESTADÍO: secuencia o período corto de tiempo entre los procesos celulares del desarrollo del folículo ovárico y el embrión.

FOLÍCULO: estructura compuesta por varias capas celulares que protegen y nutren el óvulo.

HEMATOXILINA: colorante que con la ayuda de oxígeno tiñe a las células, algunos organelos y a tejidos con afinidad básica de color azul violeta.

INCUBADORA TIPO FUNÍL: aparato en forma de embudo con flujo vertical de agua donde los oocitos fertilizados están en condiciones de temperatura y protección, favorable a la continuidad de la embriogénesis.

LÍQUIDO SEMINAL: sustancia que contiene espermatozoides, agua, proteínas y carbohidratos que aseguran la motilidad y nutrición de las células germinales.

ONTOGENIA: origen y desarrollo del individuo a partir de la etapa del oocito fecundado hasta el estado de larva.

OOCITO: célula reproductora de la gonada del animal hembra.

ORGANOGENESIS: formación de órganos.

***Rhamdia quelen*:** Especie silúrida nativa Colombiana de gran potencial fisiológico y anatómico apta para la acuicultura continental.

VÉRTEBRAS WEBERIANAS: estructura ósea constituida por la fusión de las cuatro primeras vértebras cervicales que ayuda a la captación y ampliación de las ondas sonoras y es característica de algunas familias de peces como la cyprinidae.

RESUMEN

Una de las especies nativas Colombianas de gran potencial fisiológico y anatómico aptas para la acuicultura es el bagre del Patía *Rhamdia quelen*, pez silúrido que se encuentra en ríos y quebradas de la cuenca del río Patía. La presente investigación pretende describir los sucesos ontogénicos iniciales de *R. quelen*, mediante la descripción morfológica e histológica de los estadios de desarrollo y evaluar el efecto de la temperatura del agua en el desarrollo embrionario.

La investigación se realizó durante un periodo comprendido entre el mes de febrero del 2004 a abril del 2005, estudiando ejemplares sexualmente maduros capturados en el río Patía y adaptados durante ocho días en la Estación de Investigación Piscícola de las Tallas, adscrita a la Corporación Autónoma Regional del Cauca CRC. Los gametos obtenidos por masaje abdominal de los distintos ejemplares hembras y machos fueron fertilizados en seco e incubados a diferentes temperaturas constituidas por cuatro tratamientos (T0-22°C, T1-24°C, T2-27°C, T3-30°C). Para el estudio fotográfico y de video se tomaron muestras sucesivas de oocitos y embriones en desarrollo colectados cada 10 minutos durante la primera hora de incubación y cada 30 minutos a partir de la segunda hora de incubación. El estudio histológico se realizó con oocitos y embriones fijados en formaldehído bufferado (pH 7.0 al 3%) para posterior coloración con Hematoxilina y Eosina.

Los oocitos hidratados, se caracterizan por poseer espacio perivitelino y corion transparente recubierto por una capa gelatinosa. El desarrollo embrionario registró 6 estadios (Ovocélula, Clivajes, Discoblástula, Gastrula, Organogénesis, Eclosión) A medida que aumentaba la temperatura del agua de incubación, el tiempo del desarrollo embrionario, se reducía de tal manera que a temperatura de 22°C el tiempo de eclosión fue de 30 horas post-fertilización (hpf), a 24°C, 27hpf, a 27°C, 20hpf, y a 30°C, 18hpf respectivamente. Sin embargo, a temperatura de 30°C se incrementó la mortalidad de los oocitos, malformaciones y desviaciones de la cola en los embriones.

Los resultados de la presente investigación complementan el conocimiento básico de esta especie nativa con la perspectiva de obtener alevinos suficientes para programas de repoblación de cuerpos naturales con el fin de preservar esta especie como recurso importante de las pesquerías artesanales y en el futuro disponer de semilla destinada a programas de fomento de piscicultura extensiva y semintensiva.

ABSTRACT

One of the native Colombian fish of great physiological and anatomic potential apt for the aquaculture is the catfish of the river Patía *Rhamdia quelen*, fish belongs to siluridae family and it can be found in narrow creeks and affluents of the river. The objective of this investigation is to describe initial ontogénicos events that affects *R. quelen* through morphological and histological studies in different states of development and at the sometime to evaluate the effect of temperature of water in the incubation time and embryonic development.

The research was carried out at the Aquaculture station of the Corporation of Natural Resources of Cauca from February of 2004 to April of 2005. The gametes were obtained by abdominal massage of wild stock, they were fertilized in dry and incubated to different temperatures made up by four treatments, distributed in the following way: (**T0**-22°C, **T1**-24°C, **T2**-27°C, **T3**-30°C). For the photographic and video study it was taken pictures to successive eggs and embryos development each ten minutes during the first hour of incubation then leach thirty minutes during the second hour of incubation. For process of histology the eggs and embryos were fixed in solutions of 3 % buffered formaldehyde (pH 7,0) for later coloration with Hematoxiline and Eosine.

The hydrated eggs had a transparent corion and periviteline space. The embryos presented six phases know as: (Zygote, Cleavage, Blastodisc, Gastrulation, Organogénesis, Hatching).

As for as the temperature of water increases, the incubation time was reduced but the mortality rate and the number of annormal embryos and deformation of tails was higher such is the case of treatment 3 (30°C).

The results of this research will increase the basic knowledge of the *R. quelen* in order to stock it in natural bodies of water as a way to preserve it and in the future to have the information and technique to spawn it in artificial conditions and to produce fingerling for extensive and intensive aquaculture practices.

INTRODUCCIÓN

América del Sur presenta la mayor diversidad de peces de agua dulce del planeta, con más de 3.000 especies catalogadas. La mayor parte de estos peces son endémicos, o sea, se encuentran exclusivamente en este continente. Esa situación revela una enorme potencialidad para el desarrollo de la acuicultura con algunas de estas especies.

Zaniboni¹, sostiene, que la gran responsabilidad para los investigadores y productores es realizar estudios que fortalezcan la información biológica básica permitiendo el desenvolvimiento de paquetes tecnológicos de cultivo, sin la posibilidad de importación de tecnología. Considerando el aspecto evolutivo de las distintas especies de peces.

En Colombia la práctica de la pesca ilícita, la sobrepesca, la destrucción del hábitat como la deforestación de partes altas de las cuencas hidrográficas, la introducción de especies exóticas, el trasplante de especies nativas, la realización de obras de ingeniería sin consultar criterios ambientales como es la construcción de represas hidroeléctricas que han impedido la migración reproductiva y alimentaria de muchas especies ícticas nativas, la desecación de humedales, el desconocimiento de aspectos biológicos de las especies ícticas nativas tanto en su medio natural como en confinamiento, han impedido plantear y ejecutar estrategias que contribuyan al establecimiento de un aprovechamiento sostenible de los recursos hidrobiológicos.

Cajas², considera, que una de las especies nativas Colombianas de gran potencial fisiológico y anatómico apta para la acuicultura es el bagre del Patía *Rhamdia quelen*, sin embargo se desconoce aspectos de su biología reproductiva y embriológica.

¹ ZANIBONI, Filho. Valorización de especies nativas. Esfuerzos para el desenvolvimiento de paquetes tecnológicos, estudio de caso. En : JORNADA DE ACUICULTURA. (8° : 2002 : Villavicencio). Memorias de la VIII jornada de Acuicultura. Villavicencio: Alfa, 2002. p. 49

² CAJAS, Álvaro. Reproducción en confinamiento de las especies ícticas *Rhamdia quelen* y *Cichlasoma ornatum* con fines de repoblamiento en la cuenca del río Patía en el departamento del Cauca. Corporación Autónoma Regional del Cauca -C.R.C. Popayán, 2001; p. 7 Trabajo de grado (Especialista en Recursos Hidrobiológicos) Programa Nacional de Transferencia de Tecnología Agropecuaria – PRONATTA.

En consecuencia, mediante el estudio integral, anatómico, fisiológico, reproductivo y embriológico de la especie a investigar, es posible establecer parámetros de evaluación de la calidad de oocitos fertilizados y de embriones en desarrollo. El conocimiento de todos los eventos morfológicos e histológicos que transcurran durante la ontogenia inicial, permitirá el desarrollo y la aplicación de nuevas tecnologías tendientes a la producción permanente de semilla de buena calidad con fines de repoblamiento y cultivo.

Según Clavijo³, una de las limitaciones en este tipo de investigaciones, es la falta de información sobre el desarrollo ontogénico de los peces dulceacuícolas lo que impide optimizar los procesos tecnológicos de reproducción natural e inducida.

La comunidad científica y el sector productivo se ha interesado en la última década a la evaluación del potencial acuícola de peces nativos; sin embargo aun no existen paquetes técnicos consolidados para fomentar el cultivo de especies nativas que compitan en rusticidad, ganancia de peso y facilidad de manejo con las especies ícticas exóticas, sin tener que enfrentar los riesgos que conlleva para nuestros ecosistemas la introducción de especies foráneas.

³ CLAVIJO, John. Desarrollo embrionario del Yamu *Brycon siebenthalae*: Observaciones morfológicas, anatomía microscópica, efecto de temperatura de incubación en la velocidad del desarrollo embrionario. Villavicencio, 2002, p. 3 Trabajo de grado (Zootecnista) Fundación Universitaria agraria de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias.

1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA

Los oocitos fertilizados y los embriones en desarrollo de teleósteos son vulnerables a la acción de agentes físicos, químicos y biológicos. En ambientes naturales deben exponerse a múltiples presiones ambientales, (predación, contaminación, canibalismo, corrientes, etc.) que las especies las compensan con la gran producción de oocitos por kilogramo de peso vivo, como es el caso de los peces que no realizan cuidado parental, específicamente el bagre del Patía *Rhamdia quelen*. Las presiones ambientales pueden ser controladas o anuladas en condiciones de laboratorio, optimizando el proceso de incubación y obteniendo altas tasas de fertilización, sobrevivencia embrionaria y larval.

La temperatura es un factor importante en el desenvolvimiento embriológico de los peces, porque incide en la duración del periodo de eclosión, la fortaleza, sobrevivencia de las larvas, estado sanitario de futuros adultos y por ende en la productividad y rentabilidad de un cultivo. En consecuencia antes de definir el potencial fisiológico y anatómico de una especie íctica para la acuicultura, se deben estudiar básicamente, aspectos relacionados con su desarrollo embriológico, ontogénico, modo de incubación y larvicultura, mediante un seguimiento permanente y ordenado desde el cigoto incluyendo los distintos estadios relacionados con la división celular y organogénesis con el fin de implementar en un futuro la producción de semilla, en condiciones de laboratorio de excelente calidad genética.

La revisión de literatura efectuada, demuestra que son escasos los trabajos de investigación referentes a la ontogénesis de las especies ícticas nativas de la cuenca del Patía. Tampoco, se han estudiado los factores más importantes que influyen en el desarrollo temprano del individuo como es la caracterización fisicoquímica y bacteriológica del agua. Lo cual afecta los porcentajes de sobrevivencia en las primeras etapas de desarrollo, por tanto si se logra una mejor comprensión de los eventos embriológicos, sería susceptible de mejorar el manejo larval en cautiverio.

Por lo anteriormente expuesto y teniendo en cuenta que los peces son poiquilotérmicos, la condición del agua que más afecta el desarrollo de oocitos y larvas es la temperatura, lo que justifica ampliamente su evaluación.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo es la morfogénesis de *R. quelen* y cual es la temperatura óptima de incubación de oocitos que asegure las mejores tasas de fertilidad, desarrollo embrionario y eclosión?.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la temperatura del agua de incubación sobre la fertilidad y el desarrollo embrionario del bagre del Patía *Rhamdia quelen* (Quoy y Gaimard, 1824).

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Caracterizar morfológica e histológicamente los estadios del desarrollo embrionario del bagre del río Patía *R. Quelen*.
- Determinar la temperatura que afecte positivamente las tasas de fertilización y eclosión.

4. MARCO TEORICO

4.1 BIOLOGIA DEL BAGRE DEL PATÍA *Rhamdia quelen*, (Quoy y Gaimard, 1824).

4.1.1 Ubicación taxonómica. Silfvergrip citado por Carvalho *et al*, afirma que:

La sistemática del género *Rhamdia* es confusa, recientemente se realizó una amplia revisión taxonómica del género basada en características de morfología interna en la cual se concluyó que el género *Rhamdia* esta formado por apenas 11 especies dentro de las 100 estudiadas. Además considera que *Rhamdia quelen* (Figura 1) presenta 49 sinonimias entre ellas: *Pimelodus quelen*, *Pimelodus sebae*, *Pimelodus nandia*, *Pimelodus sapo*, *Pimelodus hilarii*,⁴.

Según Miles, citado por Cajas, la taxonomía del bagre del río Patía es:

Reino:	Animal
Subreino:	Metazoa
Phylum:	Chordata
Superclase:	Gnatostomata
Clase:	Actinopterygios
Orden:	Siluriformes
Familia:	Pimelodidae
Genero:	<i>Rhamdia</i>
Especie:	<i>quelen</i>
Nombre científico	<i>Rhamdia quelen</i>
Nombre Vulgar:	Liso, Barbudo negro, Bagre del Patía ⁵ .

⁴ CARVALHO, Levy. y otros. Biología do jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). En: Ciencia Rural Santa María, No 30. Santa María: Bermado, 2000. p.180

⁵ CAJAS, Op. cit., p. 10.

Figura 1. Bagre del Patía (*Rhamdia quelen*).



www.fishbase.org

4.1.2 Distribución geográfica y hábitat. Ortega⁶, afirma que el área de distribución del bagre del Patía (*Rhamdia quelen*, Quoy y Gaimard, 1824) abarca desde el sur de México hasta Argentina. En Colombia, se encuentra en los ríos Magdalena, Cauca, Patía, San Juan y Atrato. Vive en la mayoría de las zonas medias y bajas de los subsidiarios que llegan al río Cauca. Es una especie de hábitos crípticos, en el día se ocultan tras la vegetación acuática, rocas y restos vegetales. Habita en quebradas, ríos grandes y medianos con aguas tranquilas y de bajas corrientes.

4.1.3 Generalidades de la especie. De acuerdo con Carvalho⁷, El barbudo *R. quelen*, posee cuerpo alargado y cilíndrico, su cabeza es un poco deprimida con la boca terminal, la margen del ojo es separada a la piel de la cabeza, ojos de tamaño medio, los huesos de la cabeza no se unen con la aleta dorsal. La coloración del barbudo varía de marrón rojizo claro a gris oscuro; la pigmentación de la parte inferior de la cabeza es variable, los barbicelos presentan un crecimiento alométrico negativo y esta relacionado con el

⁶ ORTEGA, Armando y otros. Peces de la Cuenca Alta del Río Cauca. Riqueza Ictiológica del Valle del Cauca. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca – CVC. Subdirección de Patrimonio Ambiental. Santiago de Cali: CVC, 2000. p 48.

⁷ CARVALHO, Levy, *et al.* Op. cit., p. 180.

crecimiento del cuerpo. *R. quelen* se diferencia de otras especies a través de las siguientes características: las aletas pectorales presentan espinas aserradas en ambos lados, aleta caudal con lóbulos desiguales, la membrana interradial es menor a 2/3 del crecimiento del radio del lóbulo superior de la aleta caudal / el lóbulo inferior de la misma. Presenta poros sensoriales múltiples en la cabeza, narinas posteriores abiertas ubicadas postero-lateralmente, posee de 5-16 arcos branquiales con 36-44 vértebras posweberianas.

El mismo autor menciona que la especie exhibe dimorfismo sexual únicamente en la época reproductiva, se caracteriza porque el macho toma una coloración mucho mas clara que la hembra y se marca una franja oscura a nivel de la línea media y dorsal, esta por su parte conserva su color normal, aunque en algunas de ellas aparecen unas pecas oscuras en la totalidad de su parte dorsal; la especie presenta dimorfismo sexual, determinado por la papila urogenital y con la tinción, en el macho se observa de forma aguda y marcado un solo orificio en la parte extrema terminal, de color amarillo claro; en la hembra la papila, es de forma redondeada y vascularizada, en época de reproducción la papila de las hembras toma un color rojo intenso. Este dimorfismo se puede observar en especímenes adultos lo que no ocurre en la fase juvenil. En el grupo de ejemplares colectados se observa que la hembra es de mayor talla que el macho.

Según Ortega et. al⁸, la especie se encuentra madura sexualmente al llegar a una talla promedio de 19.6 a 34 cm (LT) y un peso promedio de 65 a 340 gr Presentando una fecundidad absoluta entre 33630 a 103870 oocitos Kg, y una fecundidad relativa del 97,47% sus huevos son de tipo semipelágicos demersales

Sin embargo Narahara et. al⁹ menciona que la maduración sexual en *R. quelen* para machos inicia desde 13,4 y para hembras de 16,5 cm; a partir de 16,5 cm y 17,5 cm todos los animales machos y hembras respectivamente están potencialmente aptos para la reproducción.

⁸ ORTEGA, Armando, *et al.* Op. cit., p. 46.

⁹ NARAHARA, Levy y otros. Relacao peso – comprimento e fator de condicao de *R. hilarii* (Valencienis, 1840). En: Boletim do Instituto de Pesca, No 12. Rio Grande Dosul: 1985. 13-22 pp.

Mardini et. al¹⁰ reporta que los machos aptos sexualmente liberan con facilidad el liquido espermático cuando el abdomen es presionado. Además el orificio genital es protraído, las hembras maduras presentan un orificio genital hepírenico rojizo y con dilatación ventral.

4.1.4 Ecología reproductiva. Las hembras presentan aspectos morfológicos externos cuando están óptimas para el desove, como abdomen poco flácido. La maduración sexual de estos peces es precoz aún dentro del primer año de vida. Para la inducción hormonal en hembras, es recomendable suspender la ración alimenticia 24 horas antes, para evitar confusión entre las que presentan abdomen grande debido al volumen de los gónadas y otras debido al volumen del estómago.

Carneiro¹¹ afirma que la identificación de los machos durante el proceso de selección de los reproductores es un trabajo fácil debido a la diferencia morfológica de las papilas genitales entre los dos sexos. Los machos muestran una protuberancia fácilmente percibida además de expulsar semen después de un masaje ventral en sentido céfalo-caudal. Otra característica que facilita la identificación de los sexos es el crecimiento reducido de los machos en relación con las hembras (Figura 2). Es común en estos peces que con menos de 200 gr liberen semen luego del inicio de las lluvias. Muchos piscicultores inducen a los machos para obtener mayor volumen de semen y es posible notar un aumento significativo (cerca de 5 veces mas), inducidos con 0,5 mg/kg de extracto hipofisiario en el momento de la segunda aplicación de las hembras.

¹⁰ MARDINI, Raúl y otros. Técnica de Indução da desova em Jundiá *R. quelen* en pregada na estacao experimental de piscicultura da lagoa dos cuadros. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1981. p. 14

¹¹ CARNEIRO, Paulo. y otros. Jundiá: Um grande peixe para a região sul. En: Panorama da AQUICULTURA , No 4. Sao Jose dos pinhais: 2002. p. 43

Figura 2. Dimorfismo sexual en *Rhamdia quelen*.



Álvaro Renan Cajas.

4.2 REPRODUCCIÓN

De acuerdo con Ventre¹², la reproducción, o perpetuación de la especie que se produce en los animales no es otra cosa que la fecundación de los dos elementos sexuales, del macho y de la hembra, produciendo un huevo. Esta es la fusión de dos pronúcleos que se encuentran en un óvulo y un espermatozoide, y puede ocurrir dentro del cuerpo, lo que se llama fecundación interna, o fuera de él, lo que se denomina fecundación externa.

Hernández¹³ sostiene que, casi todos los animales acuáticos presentan la fecundación externa, y por ese mecanismo las parejas liberan sus óvulos y espermatozoides simultáneamente en el agua, para su respectiva unión; muchos de los cuales se pierden devorados por depredadores, la cantidad de oocitos es tan grande, que hay un número suficiente que perduran para perpetuar la especie.

Según Sagaon¹⁴, la asociación de los dos elementos sexuales no se realiza en cualquier parte del medio acuático, se necesita que se den ciertas condiciones, poca

¹² VENTRE, Manuel. La reproducción de los peces (online) (España), 21 Agosto. 2003. <http://www.canal-h.net/webs/sgonzalez002/Prodacuat/REPRODUCCION.html>.

¹³ HERNANDEZ, Néstor. SEAMAG S.A. Reproducción de peces y mariscos (online) (México), 25 Agosto.2003. <http://www.fondef.cl/bases/fondef/INST/0002342.html>.

profundidad, y con vegetación acuática, proporción adecuada de oxígeno disuelto, pH próximo al neutro, temperatura adecuada etc.

De acuerdo con Martínez¹⁵, Todas estas condiciones varían de acuerdo a las especies, pero, por lo general, las condiciones adecuadas en nuestros ríos y lagos se dan en los grandes esterales y pantanos, o en los nacimientos de los arroyos. Se sabe que existe una época del año en que los peces empiezan a migrar, por lo general aguas arriba, para encontrar los lugares óptimos para el desove.

- **La maduración sexual.** Según Radunz¹⁶, El pez está listo para expulsar sus oocitos o espermatozoides cuando tiene maduros sus órganos sexuales. Esta una función fisiológica se manifiesta a medida que se acrecientan los síntomas, comenzando su migración. La maduración depende de la alimentación, sea abundante o escasa, y también de la presencia de ciertos elementos químicos en el agua. Si se quiere determinar la época de reproducción de una especie, se debe capturar un ejemplar y observar sus gónadas y el contenido estomacal, además de hacer una análisis de la calidad del agua en que se encuentra, se determinan ciertos parámetros que definen la función fisiológica que producen los elementos sexuales. En los casos de la piscicultura, se realiza la fecundación “in Vitro”, en el laboratorio, para lo cual se procede a realizar la maduración inducida de las gónadas mediante inyección de hormonas (Extracto Pituitario de Carpa) a los reproductores, lo cual acelera la maduración sexual, y se procede a la extrusión manual de los oocitos y los espermatozoides, los que son mezclados, fertilizados en medio adecuado y puestos en incubadoras. Se obtienen los llamados “peces probeta”.

- **Gónadas.** Ventre¹⁷ sostiene, que al abrir el pez, se observan en los machos dos estructuras pares, ramificadas y acintadas de color blanco. En hembras se observa, ovarios pares de color anaranjado (color de vitelo del huevo) El tamaño máximo de la gónada en las hembras puede ser mas de la mitad del peso, en los machos puede ser la décima parte.

¹⁴SAGAON, Natalia. Captura y Reproducción de peces (online) (México) 23 Agosto. 2003. <http://www.ultramarinos.com.mx/octopus/enero03/articulos/reproducción-peces.html>.

¹⁵ MARTINEZ, Alfonso. Peces de Colombia. Bogota: Ediciones Fondo Cultural Cafetero, 1981. p. 49.

¹⁶ RADUNZ, Neto. Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas e alevinos de Jundiá *R. quelen*. Santa Maria: Ediciones Elsevier, 1981. p. 77.

¹⁷ VENTRE, Op. cit.,

• **Obtención de los gametos.** Los peces silvestres a punto de desovar, se capturan y se adaptan en la estación. Sin embargo, la adaptación es difícil por el cambio de medio. Atrapar juveniles salvajes, mantenerlos en cautiverio y dejar que maduren es posible pero la aclimatación puede ser larga de 4 a 5 años. A partir de animales criados en cautividad el crecimiento es rápido, no tienen deformaciones, y se eligen unos como reproductores.

• **Desarrollo ovárico.** Según Ventre¹⁸, en la fecundación se encontrarán las células germinales primordiales, que se sitúan en las gónadas y se diferenciarán en oogonias hasta que llega a óvulo. Oogonia → oogénesis → oocito previtelogénico → vitelogénesis → oocito → maduración final, ovulación y por último el desove. En la profase se desarrollan dos etapas:

a. Etapa de crecimiento primario (fase de nucleolo perinuclear). Aumenta el número de nucleolos y se disponen en la periferia en el núcleo. También se forman los orgánulos citoplasmáticos y comienza la formación de la cubierta folicular.

b. Etapa de alvéolos corticales. (estructuras esféricas sin función). Son visibles al microscopio óptico en el citoplasma, dispuestas en la periferia del oocito observando inclusiones lipídicas.

Vitelogénesis. Alves¹⁹ registra este proceso cuando comienza la maduración sexual y se caracteriza por la síntesis hepática de vitelogenina (proteína compleja) que se transporta desde el hígado por la sangre a las gónadas y a los oocitos. Una vez dentro, se forman gránulos y glóbulos de vitelo. La fase de maduración de los oocitos puede ser muy rápida y esta entre 24 a 48 horas según la especie, se observa la migración del núcleo al micrópilo (agujero por donde se hará la fecundación) como también gotas lipídicas que tienen como función principal ayudar a la flotación de los huevos.

¹⁸ *Ibíd.*,

¹⁹ ALVES, G. Experiments on the fate of dissociated embryonic cells. London: Teratomas, 1953. p. 507.

- **Modelos básicos de desarrollo ovárico.** Orti²⁰, menciona que puede ser sincrónico, sincrónico de grupo, sincrónico de grupo múltiple.

a. Sincrónico. Proceso que ocurre en especies que solo maduran una vez en la vida, todos los oocitos del ovario maduran al mismo tiempo, como la anguila y salmón del pacífico.

b. Sincronía de grupo. Se encuentran en especies de agua fría, dulce o salada, como en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Habrá varios grupos de oocitos que maduran simultáneamente y solo un grupo madura cada vez, suele ser en las especies que desovan una vez por cada época de puesta.

c. Sincrónico de grupo múltiple. Durante la época de puesta hay diferentes grupos maduros, pero secuencialmente son épocas de desoves largos. Así, en la época de puesta, habrá varios desoves, este caso está presente en la mayoría de las especies, como en la lubina (*Disentrarchus labrax*).

- **Regulación del proceso de la reproducción.** En América del sur, la época de puesta suele ser, una vez/año o dos veces/año y a finales de año. La reproducción está influenciada por cambios de medio ambiente (salinidad, fotoperiodo, temperatura, etc.) Los dos factores más importantes que inician el proceso son el fotoperiodo y la temperatura. El control depende del cerebro (Hipotálamo) → Hipófisis → gónadas.

En la hipófisis se liberan gonadotrofinas (son glicoproteínas) que estimulan las gónadas para ser esteroides gónadales. En mamíferos se produce FSH, LH y HCG. Tiene dos subunidades α (muy igual en todas las especies) y β (la que diferencia las especies). Se ha determinado un gran grupo de compuestos que modulan la síntesis de estas gonadotrofinas. Neuropeptidos (GnRH, NPY). Monoaminas (Dopamina, SE, NE). Aminoácidos (GABA, taurina, glutamato, asparagina). El factor favorecedor de la liberación de gonadotrofinas, sería un neuropeptido (GnRH) y la inhibición sería casi por una monoamina (dopamina)

El resto de moduladores, la mayoría son favorecedores. La GnRH está formada por un conjunto de péptidos de diez aminoácidos, que se parecen mucho a otras GnRH (más del 50% de los aminoácidos) de otras especies: mamíferos, aves, etc. Pero

²⁰ ORTI, Gabriel. Estudio comparativo de distintos agentes inductores en *Rhamdia sapo*. Buenos Aires: Biológicas, 1981. p. 32.

se ha visto que si se usa una GnRH de mamíferos en peces si tiene efecto, pero la GnRH de peces no es efectiva en mamíferos.

Según Anderson²¹, La disminución del fotoperiodo y la disminución de temperatura, produce GnRH en el hipotálamo y en la hipófisis se libera GtH tipo uno, en las gónadas hay respuesta específica sobre la capa del folículo, liberando hormonas gónadales. La principal es el estradiol y también la testosterona, pero es menos importante y no parece que tenga una función directa, si no que sería como un almacén de estradiol que actúa sobre el hígado, provocando la síntesis de la vitelogenina (no fosfolípido), que va por la sangre y entra en el oocito por endocitosis.

4.3 HORMONAS

- **Extractos de hipotálamo.** (se macera el hipotálamo y se inyecta). Ej. Carpas.
- **Gonadotrofinas.** Preparados hipofisarios de salmón (costoso y poco práctico).
- **Gonadotropina coriónica humana.** Tiene función similar a la LH y , por lo tanto, a la GtH. Aun se usa, pero a veces hay cierta disparidad en la respuesta y en algunos casos, hay reacción inmune y enzimática. Actualmente se ha podido aislar algunos factores que se hacen en el hipotálamo y que actúan en la hipófisis. Ej. GnRH (mamífero) que libera GtH en el pez, funcionaba pero había cierto rechazo por liberación enzimática.
- **Análogos sintéticos.** Son más activos, el animal no los degrada tanto y cuestan menos (lo más usado). En Ciprinidos como en las (carpas) y peces marinos, se debe acompañar con un antidopaminérgico por que la dopamina la inhibiría. En salmónidos como en la trucha no hace falta²².

²¹ ANDERSON, E. The formation of the primary envelopment during the oocyte differentiation in teleosts. Indian: cell, 1967. p. 193.

²² DAVIS, Simón, y otros. Fisiología de peces. Santiago de Chile: Panamericana, 1992. pp. 125t-138t

4.4 DESARROLLO EMBRIONARIO EN PECES

De acuerdo con Blaxter²³, desde el punto de vista técnico y biológico, la embriología es un paso importante después de la fertilización. Realizando una revisión de la diversidad de los estados de desarrollo de los oocitos y larvas de peces.

Sánchez²⁴ demostró, que el oocito absorbe agua y el corion se endurece por la acción de la fertilizina. Se forma un espacio perivitelino y se desarrolla en un principio el polo animal, el blastodermo en forma de disco. Este envuelve el vitelo por epibolia pero deja el blastoporo. El eje embrionario se forma por la convergencia de los tejidos, se metameriza, se aísla el vitelo, la zona cefálica se alarga y posteriormente el resto del cuerpo.

Clavijo²⁵ describe, el desarrollo embrionario del Yamu (*Brycon siebenthalae*) se muestran seis estadios: ovocélula, clivages, discoblástula, gastrula, organogénesis y eclosión. Reporta eclosión larval alrededor de 14 horas post-fertilización, a una temperatura de incubación de $27.4 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$.

Lopes, R *et al*, citado por Clavijo²⁶ describe el desarrollo embrionario de matrixa, *Brycon cephalus*, en ocho etapas. Destacaron la observación de una gota o glóbulo graso dentro de la masa vitelina, durante todo el desarrollo embrionario. La eclosión se presentó a las 10 horas 30 minutos, a una temperatura media de 30°C .

Builes y Urán, citado por Clavijo²⁷ obtuvieron embriones de sabaleta *Brycon henni*, procedentes de fecundación artificial, hasta la fase somítica a las 34 horas de desarrollo. Describieron un embrión curvado sobre la parte dorsal del saco vitelino por dentro del corion y en el que se diferencian a la parte anterior del cerebro

²³ BLAXTER, Isaac. Essential practice anatomy (online) (Canada), 5 Enero. 2003.
<http://www.theJournalofExperimentalBiology.com>

²⁴ SÁNCHEZ, Jairo. Introducción a la reproducción de peces. Bogota: CIEMINS, 1999. p.19

²⁵ CLAVIJO, Op. cit., p.15.

²⁶ *Ibíd.*, p. 15.

²⁷ *Ibíd.*, p. 16.

primitivo tres regiones: prosencéfalo, mesencéfalo y romboencéfalo; también se aprecia las vesículas ópticas y 20 pares de somitas.

Bernabé G *et al.*²⁸ menciona, que el corazón es funcional y los ojos están formados antes de la eclosión. Estudios realizados con carpa roja *Ciprinus carpio*, a temperatura de 24.5 °C.

Andrade, citado por Clavijo²⁹ describe el desenvolvimiento embrionario del pibanha *Brycon insignis*, en nueve fases. Las larvas eclosionaron 14 horas posteriores a la fertilización a una temperatura de 26± 1°C.

Bermúdez³⁰ realizó ensayos con Cachama *Colossoma macropomus*. Describiendo el desarrollo embrionario, la eclosión se presentó a las 20 horas con 40 minutos después de la fertilización de oocitos con una temperatura media de 27.7°C.

Como describe Cussac *et al.* Citado por Clavijo³¹, en el desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* se encuentran 25 estadios. Obteniendo una eclosión a las 30 0 45 horas, a una temperatura entre 22°C a 24°C. Muestra variabilidad en cuanto a la velocidad del desarrollo.

Kossowski y Madrid, citados por Clavijo³² describen el desarrollo embrionario y larval de *Pseudoplatystoma fasciatum*, verificando la eclosión a las 17 horas y 10 minutos post-fertilización, a una temperatura de incubación de 25°C. Resaltan la presencia de una capa gelatinosa rodeando los oocitos y embriones en desarrollo, los cuales tienden a hundirse lentamente al fondo de la incubadora.

²⁸ BERNABÉ, Santiago y otros. Embriología en salmónidos (online) (Chile) 12 junio 1998. <http://fishbase.org/antofagasta/cl>.

²⁹ CLAVIJO. Op. cit., p 16.

³⁰BERMUDEZ, Daniel. Observaciones sobre el desarrollo embrionario de la Cachama *Colossoma macropomus*, Venezuela: Único, 1979. p. 1 - 23.

³¹ CLAVIJO, Op. cit., p 17.

³² *Ibíd.*, p. 17.

Iwamatsu, citado por Clavijo³³ describe en detalle, el desarrollo normal de medaka *Oryzias latipes*, en 39 estadios, a una temperatura de incubación de 26°C. Resaltan la presencia de filamentos adherentes a la superficie del corion, en el polo vegetal, gracias a los cuales puede fijarse a plantas acuáticas y otras superficies sólidas.

Jaworskia y Kamlerb³⁴ realizaron estudios sobre el desarrollo y modelo bioenergético para embriones y larvas con saco vitelino para cinco especies de peces de agua dulce, trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, nase *Chondrostoma nasus*, carpa *Cyprinus carpio*, tenca *Tinca tinca* y el bagre africano *Clarias gariepinus*. El modelo simulo cambios en los componentes, masa de cuerpo, temperatura sobre el consumo y la tarifa metabólica.

Rizzoa³⁵ realizó investigaciones con huevos de 23 Caraciformes y 8 Siluriformes, pertenecientes a nueve familias con un comportamiento reproductivo diverso. La especie migratoria expuso huevos no adhesivos, débilmente adhesivos y adhesivos, presentando zona radiada, filamentos y poros parecidos a un panal dependiendo del grupo sistemático. Los huevos de Siluriformes presentaron una capa gelatinosa utilizada como protección.

Stehmann y Merrett³⁶ estudiaron cinco especies de embriones analizando su longitud total con promedio de 142-279 μ a profundidad de 1541 m, y 1900 m observando cuidado parental, las características del corion, variación de la morfología externa y hábitat batimétrico obteniendo mejores resultados en oocitos que fueron depositados en rocas a profundidad de 1541 m, mostrando una independencia larval y juvenil.

McDonald y O'Donnell investigaron el contenido iónico en el agua de incubación evaluando cuatro tratamientos así: Tratamiento 1 con (Ca²⁺+ C+ I) tratamiento 2 con (Na⁺, Ca²⁺), tratamiento 3 con (Cl⁻ y Ca²⁺) y

³³ *Ibíd.*, p. 17.

³⁴ JAWORSKIA y KAMLERB. Desarrollo y modelo del presupuesto bioenergético para embriones y larvas con saco vitelino. *The Journal of fish biology*. Poland: Elsevier science, 2002. p. 785-809.

³⁵ RIZZOA, Denis y otros. Modelo adhesivo y superficial del corion en huevos de teleósteos neotropicales de agua dulce. *The Journal of fish biology*. Poland: Elsevier science, 2002. p. 342-356.

³⁶ STEHMANN y MERRETT. Primeros registros de embriones avanzados y corion de bathyrāja *patinan del atlántico*. *The Journal of fish biology*. Berlin: Elsevier science, 2002. p. 652-656.

tratamiento 4 con (Ca²⁺ y Cl⁻), reportan que el contenido Na⁺ afecta tejidos de los embriones en las etapas posteriores del desarrollo, el contenido del saco vitelino permanece constante e intacto, indicando una respuesta positiva al Na⁺, recomiendan que el Ca²⁺ no sea adicionado al final de la eclosión³⁷.

Rodríguez, *et al* evaluaron la influencia de la temperatura sobre el desarrollo, índices de supervivencia y el temprano crecimiento de los embriones de lamprea de mar *Petromyzon marinus*, incubado en cinco temperaturas constantes (7,11,15, 19 y 23 °C). La tasa de fertilización en incubación fue del 50%. Los embriones incubados a 7°C colapsaron a etapas muy tempranas, a temperatura de 11°C los oocitos murieron en etapa de blástula y a 15, 19 y 23°C obtuvieron una supervivencia de larvas del 89, 91 y 89%. Las larvas criadas durante los tres primeros meses con alimentación exógena a temperatura de 21°C presentaron una sobrevivencia del 43% recomendando un intervalo de 19 a 23°C para obtener una buena calidad larval de lamprea de mar.³⁸

Privitera, evaluó la reproducción del goby *Asterropteryx semipunctata*, en el arrecife de coral Hawaiano Diuma, reportando una longitud de huevos depositados en grupos con un promedio de 0.76mm, el diámetro del huevo es de 0.47mm. La cantidad de huevos por hembra es de 296 a 1552/gr, dependiendo de la longitud estándar y del peso. La incubación dura entre cuatro a cinco días después del desove, la longitud notocordal de larvas es de 1.88 mm, las hembras vuelven a presentar otra camada de oocitos después de cinco a seis días. Comparado con otros gobys, la especie tiende a tener períodos de incubación más cortos, dando pequeños huevos y obteniendo pequeñas larvas.³⁹

Ková, Investigó los oocitos de *Zingel streber* y afirmó que son relativamente grandes (1.63 –1.83 mm de diámetro después de la activación) fuertes y

³⁷ MCDONALD y O'DONNELL. Los cambios de los iones facilitan el transporte durante el desarrollo embrionario de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*. The Journal of fish biology. Ohio: Elsevier science, 2002. p. 258-266.

³⁸ RODRIGUEZ, Maria y otros. Los efectos de temperatura sobre funcionamiento del desarrollo embrionario, supervivencia y crecimiento de la lamprea de mar. The Journal of fish biology. España: Elsevier science, 2000. p. 16-25.

³⁹ PRIVITERA, Mario. las características de huevo y producción larval de goby *asterropteryx semipunctata*. The Journal of fish biology. Honolulu: Elsevier science, 2000. p. 133-139.

adhesivos. El corion del huevo es grueso (espeso) y no transparente. El cierre del blastoporo fue a partir de 14 a 19 días después de la activación. El desarrollo embrionario dura 23 días a temperatura de 14.3°C. Los embriones y larvas presentan un desarrollo temprano de estructuras espinosas sobre la cabeza proporcionando protección contra depredadores.⁴⁰.

Breining y Tübingen⁴¹ realizaron estudios sobre el corion que recubre el oocito de tres especies del Atlántico, *Lepadogaster lepadogaster*, *Apletodon dentatus* y *Diplecogaster bimaculata*, presentando numerosos filamentos que se bifurcan y provienen desde el polo animal del oocito, protegidos por una capa mucosa. El grosor de la capa mucosa, zona radial, la estructura y el tamaño del micrópilo varía entre la tres especies.

Killeen, *et al*⁴² evaluaron el desarrollo embrionario desde el período de fertilización hasta el final de la reabsorción del saco vitelino en la trucha marrón *Salmo trutta*, a temperaturas (2, 6 y 10°C), reportando 40 pasos sucesivos, indican la mejor temperatura en la formación temprana del latido del corazón, contracciones del músculo del tronco, la producción de bilis, movimientos de aletas pectorales.

Vieira y Johnston, mostraron el desarrollo del músculo en las larvas del pez Amazónico, tambaqui *Colossoma macropomum*. El desarrollo embrionario disminuyó en un tiempo de 28 a 29 horas a una temperatura de 23.5°C, de 11 a 12 horas en 31°C. Las larvas, terminaron la somitogénesis (38 somitas) a temperatura de 23.5°C a temperatura de 28 a 31°C, (33 somitas). Los embriones fueron coloreados con anticuerpos acetyl colinesterasa y acetylated tubulin para visualizar procesos nerviosos⁴³.

⁴⁰ KOVÁ, Bratislava. Desarrollo temprano de *zingel streber*. The Journal of fish biology. Slovakia: Elsevier science, 2002. p. 255-265.

⁴¹ BREINING y TÜBINGEN, estructura de superficie del huevo en tres especies de clingfish, usando microscopía electrónica. The Journal of fish biology. Germany: Elsevier science, 2002. p. 525-528.

⁴² KILLEEN, Nelson y otros. Desarrollo embrionario de *salmo trutta* a temperaturas diferentes, con un método cuantitativo para comparaciones intra específicas. The Journal of fish biology. St Andrews: Elsevier science, 2002. p. 189-192.

⁴³ VIEIRA Y JOHNSTON. Evaluación de temperatura en el desarrollo neuromuscular del tambaqui. The Journal of fish biology. St Andrews: Elsevier science, 2002. p. 189-192.

Junqueira, citado por Clavijo⁴⁴ estudia el efecto de la temperatura en embriones y larvas de curimatá, *Prochilodus scrofa*. La temperatura y tiempo de desarrollo embrionario fueron inversamente proporcionales a la temperatura. La temperatura de investigación es de 23°C, 26°C, 29°C, 32°C con e clusión a 27, 17.2, 13.9, 11.2 horas post-fertilización respectivamente.

Según Killeen *et al.* citados por Clavijo⁴⁵ describen en 42 pasos el desarrollo de *Salmo trutta* a diferentes rangos de temperatura 2°C, 6°C, 10°C. Agrupan los pasos de desarrollo en seis fases: Clivage, Gástrula, somitogénesis, vascularización del saco vitelino, formación de radios en la aleta caudal y reabsorción de las aletas primigenias.

Según Kentoury, *et.al.*⁴⁶ compararon procesos embrionarios de lubina (*Dicentrarchus labrax*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) dando a conocer la diferencia desde diámetro del oocito y longitud de larva; haciendo referencia en tres fases en la división del desarrollo embrionario: clivage, blástula, gastrula.

De acuerdo con Godhino, *et al.*⁴⁷ El desarrollo embrionario y larval de *Rhamdia hilarii* dura 27 horas a una temperatura de 23°C, pH de 6.8 recorridos 15 minutos de fertilización se observa el polo animal, en seguida con intervalos de 2 horas y treinta minutos ocurren divisiones de 2, 4, 8, 16, blastómeros respectivamente. Czerkies, *et. al.*⁴⁸, reportaron trabajos sobre la influencia de factores bióticos y abióticos en el desarrollo embrionario en teleósteos, tales como las presiones parciales de oxígeno. Buscando triploidia a una temperatura de 27°C.

⁴⁴ CLAVIJO Op. cit., p. 18.

⁴⁵ *Ibíd.*, p. 18.

⁴⁶ KENTOURY, Jonás y otros. EmbriologyJournal (online) (Canadá) 25 mayo. 1987. <http://www.TheJournalofExperimentalBiology/ontario/canadá>

⁴⁷ GODHINO, Hernán y otros. Desarrollo embrionario y larval de *Rhamdia Hilarii*. Sao Paulo: GUNTHER, 1978. p.152

⁴⁸ CZERKIES, Robert y otros. Critical partial pressures of oxygen causing precocious hatching in *Coregonus lavaretus* and *C. Albula* embryos. Aquaculture. Ohio: GUNTHER, 1978. pp. 151-158.

4.4.1 Segmentación o clivaje. Balinsky⁴⁹ considera, que una de las peculiaridades de la reproducción sexual en teleósteos es que el complejo cuerpo multicelular de la progenie se origina de una sola célula, el huevo fecundado. Es necesario, por lo tanto, que ésta célula única se transforme en un cuerpo multicelular. Esta transformación tiene lugar en la misma iniciación del desarrollo y se logra mediante varias divisiones celulares que se suceden rápidamente. La segmentación es el periodo de desarrollo en que:

1. El huevo fecundado unicelular se transforma, por divisiones mitóticas consecutivas en un complejo multicelular.
2. No hay crecimiento.
3. No cambia la forma general del embrión, si se exceptúa la formación de una cavidad interna, el blastocele.
4. No existen cambios cualitativos en la composición química del huevo aunque tiene lugar una transformación de las reservas alimenticias en citoplasma activo y en sustancias citoplasmáticas nucleares.
5. Las partes constituyentes del citoplasma del huevo no sufren desplazamientos importantes y, en general, permanecen en la misma posición que en el huevo, al principio de la segmentación.
6. La relación núcleo citoplasmático, baja al principio de la segmentación alcanzando, al final, el nivel propio de las células somáticas.

Davis⁵⁰ menciona, una serie de divisiones mitóticas, que no están acompañadas por crecimiento celular, la segmentación termina en un plano de clivaje, que es como un disco de células del mismo tamaño que el huevo sobre un vitelo. Dependiendo de cómo se hagan las divisiones mitóticas, hay varios tipos de segmentación.

- **Segmentación según la cantidad y localización de vitelo.** Determina la velocidad con que las células se dividen. En las zonas que hay más vitelo la división es más lenta, los huevos se pueden dividir en planos paralelos al eje

⁴⁹ BALINSKY, B. J. Introducción a la Embriología. Tercera edición. Barcelona: Ediciones OMEGA, 1975. p. 90

⁵⁰ DAVIS, Simón. *et al.* Op. cit., p. 140t.

de polaridad (plano longitudinal), y en planos perpendiculares al eje de polaridad (plano ecuatorial y plano latitudinal).

- **Segmentación holoblástica.** Las células resultantes de cada división son independientes y cada una rodeada de su propia membrana protoplasmática. Siempre las dos primeras divisiones son longitudinales y la tercera perpendicular al eje de polaridad a partir de la primera división a cada célula que forma parte del embrión se le llama blastómero.
- **Holoblástica igual.** La tercera división es ecuatorial por lo que se forman ocho blastómeros iguales, los cuales se siguen dividiendo y llegan a dar un plano de clivaje con todas sus células iguales.
- **Holoblástica desigual.** La tercera división es latitudinal (mas arriba de la ecuatorial) debido a que el vitelo esté acumulado en el polo vegetativo y cuando ocurre la división se hace por la zona de menor resistencia. Se forman ocho blastómeros desiguales. El plano de clivaje tiene un polo animal formado por muchas células pequeñas y un polo vegetal.
- **Segmentación parcial o meroblástica.** la gran abundancia de vitelo impide que los blastómeros resultantes de cada división se independicen, no quedan rodeados por la membrana.
- **Meroblástica discoidal.** El plano de clivaje es un disco de células que descansan sobre una masa de vitelo, debido a la gran masa de vitelo el citoplasma en división activa queda confinado a una delgada masa discoidal situada sobre la esfera del vitelo.
- **Meroblástica superficial.** El vitelo esta acumulado en el centro de la célula, los núcleos se dividen y luego migran a la superficie en los cuales se insinúan los tabiques de la división (huevos centrolecitos).

4.4.2 Segmentación según la orientación de los planos de división.

- **Segmentación radial.** Según Gupta⁵¹, Los ejes de división son paralelos o perpendiculares al eje de polaridad. La orientación de la división viene dada por como se orientan los usos mitóticos. Como consecuencia en el embrión cada blastómero se sitúa por encima o por debajo del otro blastómero. La segmentación radial también se llama reguladora debido a que cada blastómero puede ajustar su desarrollo para dar un embrión completo y bien proporcionado (aunque probablemente mas pequeño) lo presentan equinodermos como estrellas de mar y cordados. Además la presentan los deuteróstomos (en los que el blastoporo produce el ano y la boca se formara secundariamente).
- **Segmentación espiral.** La división es oblicua al eje de polaridad. Como consecuencia cada blastómero queda siempre situado sobre o bajo otros dos. En este caso los determinantes para la formación de los órganos están muy localizados en el citoplasma y si se separa algún blastómero del embrión intentara seguir su desarrollo como si todavía fuera parte del embrión. Esto genera embriones incompletos y defectuosos. Se da en anélidos, platelmintos tubelarios, moluscos excepto cefalópodos y algunos braquiópodos. Esta segmentación es la que presentan los protóstomos (formación de la boca a partir de la primera apertura embriológica)

4.4.3 Blastulación. Gopal⁵² afirma, que la segmentación, aunque modificada por las diferentes cantidades de vitelo y patrones de división produce una masa de células llamada blástula, hasta ahora no ha habido un aumento de tamaño, simplemente hay mas células pero son mas pequeñas, lo que si aumenta en gran numero es el material genético, en muchos animales estas células se disponen alrededor de una cavidad llena de fluido llamada blastocele. En las blástulas que ocurre esto, se les llama celoblastulas donde el blastocele puede ser central o excéntrico, las que son macizas se llaman esteroblastulas y puede ser peri o discoblástula.

⁵¹ GUPTA, Salomon. Observations on the reproductive biology of *Mastacembelus armatus*. Huntingdon: Fish boil, 1974. p. 20

⁵² GOPAL, Dutt. The yolk nucleus in the oocytes of *Anabus scandens*. New York: Editions Cambria, 1964. p. 352

Sin embargo Machado⁵³ menciona, que la segmentación progresa, además la adhesión de los blastómeros entre si aumenta, y aparece un verdadero epitelio. En teleósteos se forma una cavidad en el interior del embrión, la capa epitelial encierra completamente a esta cavidad y el embrión se convierte en un línea hueca, cuyas paredes están formadas por una capa de células epiteliales. Este embrión se llama blástula. La capa de células se denomina blastodermo, y la cavidad el blastocele.

4.4.4 Gastrulación. El proceso de gastrulación consiste en desplazamientos de partes del embrión joven, como consecuencia de ello los esbozos de los órganos endodérmicos y mesodérmicos se desplazan en la superficie del embrión. El blastodermo da origen a tres capas germinales: el ectodermo, el endodermo y el mesodermo. Los rasgos mas destacados de la gastrulación son los siguientes:

1. Una reordenación de las células del embrión mediante movimientos morfogenéticos.
2. Disminuye el ritmo de las divisiones celulares.
3. El crecimiento, si es que existe es insignificante.
4. Cambia el tipo de metabolismo; se intensifica la oxidación.
5. Aumenta la actividad de los núcleos para regular las actividades de las células embrionarias. La influencia de los cromosomas paternos se manifiesta durante la gastrulación.

En peces la formación de los esbozos primarios de los órganos en la parte anterior del embrión, se inicia mucho antes de terminada la invaginación en la parte posterior. Primero aparece el extremo anterior de la placa neurál, que corresponde a la parte precordial del encéfalo. Luego aparece la placa neurál de la región posterior del encéfalo y de la región anterior del tronco. Simultáneamente, el notocordio empieza a separarse del mesodermo, con el cual había estado unido antes, formando una capa continua. El manto mesodérmico ya se había engrosado a lo largo del futuro notocordio, debido a su concentración hacia la línea media durante la gastrulación. Estas partes engrosadas del mesodermo, adyacentes al notocordio, se subdividen ahora en segmentos, los somitas. El resto del manto mesodérmico permanece

⁵³MACHADO, Paula. Reproducao de *Rhamdia Branneri* e suas relacoes com fatores abióticos. Paraná: clemens, 1971. p. 66

insegmentado y corresponde a la placa lateral del mesodermo. En una fase anterior al endodermo se ha separado del mesodermo. Ahora, la placa endodérmica se concentra hacia la línea media, con lo cual se engruesa, pero la cavidad del tubo digestivo no aparece hasta una fase mucho más avanzada. Al parecer ésta, se forma por separación de las células existentes en el centro del cordón endodérmico.

En teleosteos, en el proceso de la neurulación existe una placa neurál, los pliegues neurales están ligeramente indicados. La placa neurál no se enrolla para formar un tubo, si no que se estrecha gradualmente, hundiéndose cada vez más profundamente en los tejidos subyacentes. Por último, se separa de la epidermis, que pasa a ser continua en la superficie dorsal del embrión. No aparecen cavidades en el esbozo del sistema nervioso, mientras se separa del resto del ectodermo. Los ventrículos del encéfalo y el conducto central de la medula espinal se forman más tarde, por separación de células existentes en el centro del encéfalo y el cordón espinal.

Mientras se realiza la invaginación del endodermo y del mesodermo se van formando los esbozos primarios de los órganos de la parte anterior del cuerpo, el blastodisco, como un todo se extiende y cubre una superficie del vitelo en dirección centrípeta. Este movimiento del borde del blastodisco puede compararse con el borde del blastoporo de los anfibios, desde el polo animal hacia el polo vegetativo del embrión. El borde del blastodisco termina por converger en el lado opuesto del vitelo y la abertura se cierra por constricción del borde. Termina después de que todo el vitelo está cubierto por el blastodisco. Inmediatamente antes de que el blastoporo se cierre puede verse el tapón del vitelo sobresaliendo de él. Este tapón del vitelo se parece mucho al de los anfibios, pero se diferencia en que está formado solo por vitelo no segmentado, mientras que el de los anfibios está formado por células de la región vegetativa. Cuando los labios de el blastoporo se desplazan por la superficie del vitelo no contienen el futuro endodermo, excepto en el borde posterior del blastodisco. Por lo tanto el endodermo no forma un manto continuo alrededor del vitelo, debido a que en la parte lateral y ventral el embrión está en contacto directo con el mesodermo de la placa lateral.

En los elasmobranquios la gastrulación y la formación de los esbozos primarios de los órganos sigue el mismo modelo que en los peces óseos, con la diferencia, no obstante, de que en el borde posterior del blastodisco se forma un arquenteron por invaginación del futuro

notocordio y del endodermo. El esbozo del sistema nervioso también es compacta pero la placa neurál se enrolla formando un tubo que posee una cavidad desde el principio⁵⁴.

4.4.5 Movimientos morfogénéticos. Wooton⁵⁵ sostiene que, la gastrulación consiste, esencialmente, en movimientos de las partes del embrión. Cada parte permanece en la posición que ha adquirido a consecuencia del movimiento precedente. Estos movimientos varían la estructura del embrión, formando nuevos elementos estructurales, tales como el blastoporo, el tubo neurál y el notocordio. Estos movimientos afectan a grandes regiones del embrión, que se estiran, se pliegan, se contraen o aumentan de tamaño.

4.4.6 Capas germinativas. Según Estévez⁵⁶, en la gástrula aparece una tercera capa germinal entre el ectodermo y el mesodermo. Los animales que poseen dos capas germinativas se les llama diblásticos y a los que tiene tres, triblásticos. Los primeros no pueden generar el celoma, y el segundo pueden o no generar celoma (cavidad rodeada por tejido mesodérmico).

- **Mecanismo de formación del mesodermo.** Ross⁵⁷, las clasifica en:

a. Esquizocelia. El mesodermo se forma a partir de una célula del endodermo próxima al blastoporo, esta célula empieza a dividirse por mitosis y forma dos masas macizas de células que quedan al principio flotando en el blastocele.

b. Enterocelia. Las células de la pared del blastoporo comienzan a proliferar formando dos evaginaciones hacia el blastocele (vesículas celomáticas) en el momento en que ya se tienen las capas germinales éstas empiezan a dividirse para formar los tejidos y órganos.

⁵⁴ BALINSKY. Op. cit., p. 170-174.

⁵⁵ WOOTON, R. Physiological mechanisms in development. Ontario: Physiol, 1957. p. 24.

⁵⁶ ESTÉVEZ, F. Fundamentos de Embriología. Río de Janeiro: Finep 1988. p. 575.

⁵⁷ ROSS, Luis. Cytochemical study of the oocytes of the fish. Canada: Interamericana, 1982. p.149.

c. Ectodermo. Forma la cubierta exterior del cuerpo, el tegumento y otras estructuras derivadas de él, pápas, bigotes, glándulas epiteliales, revestimiento de la boca, epitelio nasal y olfativo.

d. Tubo neurál. Encéfalo, medula espinal, nervios motores.

e. Cresta neurál. Ganglios sensoriales y nervios, medula adrenal, ganglios simpáticos, cráneo, arcos branquiales, extremos anterior y posterior del cuerpo que reciben el nombre del estomodeo y protodeo.

f. Endodermo. Forma las glándulas anejas al tubo digestivo, epitelio del tracto respiratorio, faringe, tiroides, hígado, páncreas, tubo digestivo primitivo.

g. Mesodermo. Forma la mayoría de los órganos internos, revestimiento de las cavidades torácica y abdominal, órganos del sistema urogenital, riñón, gónadas, conductos reproductores, sistema circulatorio, sangre, medula ósea, tejido linfático, músculo esquelético, hueso y cartílago del esqueleto, dermis y tejido conjuntivo.

4.4.7 Tipos de tejidos epiteliales. Narain⁵⁸, las clasifica en:

a. Tejido epitelial. El epitelio es una capa celular que tapiza una superficie externa o interna, así como canales y conductos por los que se transportan diversos materiales y secreciones. En muchas superficies las células se modifican para formar glándulas productoras de moco, hormonas o enzimas. Los vasos sanguíneos no penetran en el epitelio por lo que estos dependen de la difusión para alimentarse. Puede generarse a partir de cualquiera de las capas embrionarias y su función principal es la de protección.

a. Tejido mesenquimático. Todos proceden del mesodermo como es el tejido óseo o cartilaginoso, tejido adiposo, tejido vascular (células linfáticas y sanguíneas), tejido conjuntivo (tejido de relleno).

b. Tejido muscular. Este procede del mesodermo, donde hay tres tipos.

⁵⁸ NARAIN, D. Cytoplasmic inclusions in the oogenesis of *Ophiocephalus punctatus*. California : Zellforsch, 1979. p. 237.

Músculo liso. Contracción involuntaria, se encuentran fundamentalmente en las vísceras.

Músculo estriado. Control voluntario, pedúnculo caudal, aletas.

Músculo cardíaco. Contracción involuntaria.

c. Tejido nervioso. Procede del ectodermo, la unidad funcional es la neurona.

4.4.8 Organogénesis. Raven⁵⁹ considera que, la formación de los diferentes esbozos de los órganos, a partir de las capas de células epiteliales, se realiza en gran parte de la misma manera que la gastrulación, esto, es, mediante movimientos morfogenéticos, por cambios en la posición y disposición de las células. La naturaleza de los movimientos es diferente si los realizan células epiteliales o células del mesénquima. Llamamos células epiteliales, a las que están en estrecho contacto, adheridas unas a otras, independientemente de si forman un manto extenso o una masa compacta.

4.4.9 Eclosión. Según Samudio⁶⁰, entre dos y diez días después de la fecundación, el huevo eclosiona y da nacimiento a la larva, que mas tarde se convertirá en alevino y luego en ejemplar juvenil de la especie. Estos tres periodos son los mas peligrosos, pues son presa fácil de los peces mas grandes; inclusive, se dan casos de canibalismo, por lo cuál los padres también devoran a las crías.

4.5 HISTOLOGÍA

De acuerdo con Fawcett⁶¹, en los últimos años la ciencia ha orientado sus conocimientos a esfuerzos hacia el estudio de los organismos vivos a nivel molecular, en un intento de comprender la organización de los mismos estudiando sus componente mas pequeños a nivel histológico. Los rápidos progresos en este campo han permitido un gran desarrollo de la biología molecular y celular.

⁵⁹ RAVEN, C. Oogénesis the storage of development in formations. London: Pergamon, 1961. p.498.

⁶⁰ SAMUDIO, Franco. Fertilización animal. Barcelona: Mc Graw Hill, 1997. pp. 34 - 57.

⁶¹ FAWCETT. D. W. Tratado de Histología. Madrid: Interamericana, 1995. p.12.

Weiss⁶² menciona, que la organización tisular, la anatomía microscópica, la histofisiología y el desarrollo embrionario son esenciales para poder comprender la estructura y funcionamiento de los diferentes órganos y tejidos. Permitiendo reconocer e interpretar los cambios morfológicos y funcionales que permitan reconocer alguna patología y explicar al menos en parte, la manifestación clínica de alguna enfermedad.

Las muestras seleccionadas de oocitos fertilizados y embriones en desarrollo se destinan para el análisis microscópico así:

- Delicadamente se retira el corion para facilitar la acción del fijador, a continuación se fija y conserva en soluciones del 5% a 10% de formaldehído amortiguado a un pH 7.
- A las tres horas posteriores a la fijación las muestras se transfieren y se lavan en soluciones de alcohol al 70% para retirar el exceso del fijador.
- Las muestras así fijadas se procesan según las técnicas de inclusión en parafina y tinción hematoxilina (H) y eosina (E), las muestras se seccionan entre 3 y 7 μm .
- Muestras seleccionadas se destinan para hacer cortes semidelgados. Los preparados histológicos se examinan en microscopio óptico y las mejores placas se seleccionan y fotografían en aumento de 4x, 10x⁶³.

Leme dos Santos⁶⁴ recomienda que, las diversas etapas del desarrollo embrionario deben ser estudiadas por cortes histológicos de huevos incluidos en parafina e historresina, fijados en solución de (glutaraldeido a 2% fosfato 0.1M con pH 7.2; 20 ml de paraformaldeido a 20%; 30ml de tampón fosfato de Sorensen 0.1M, pH 7.2) en mezclados con solución Bouin, para posterior toma de fotografías.

⁶² WEISS, Loris. Histología: Biología celular y tisular. Madrid: El ateneo, 1986. p.15.

⁶³ CLAVIJO, Op. cit., p. 64 .

⁶⁴ LEME DOS SANTOS, Heid. Histología de peces: Antónima microscópica dos ovos de teleósteos nas diferentes etapas do desenvolvimento embrionario. Brasil: Funep, 1995. p. 53.

5. DISEÑO METODOLOGICO

5.1 LOCALIZACION Y DESCRIPCIÓN DEL SITIO

El presente trabajo se realizó en la Estación de Investigación Piscícola de las Tallas, adscrita a la Corporación Autónoma Regional del Cauca C.R.C (Figura 3).

Figura 3. Estación de Investigación Piscícola de las Tallas.



La estación piscícola se encuentra ubicada a una altitud de 619 msnm, con coordenadas de 02° 06' 22" Latitud N, y 077° 05' 15 .4" Longitud E (Figura 3), la temperatura promedio ambiental es de 25.24°C, localizada al occidente del municipio del Patía, distante de la ciudad de Popayán a 115 Km al sur, de los cuales, 90 Km pertenecen a al vía panamericana y 25 se recorren por la margen derecha del río Patía, en sentido norte a sur.

El centro de investigación tiene un área total de 2.76 Ha, de las cuales, 1.27 Ha corresponden a estanques excavados en tierra de diferentes dimensiones, 0.14 Ha a oficinas, habitaciones, laboratorio y sala de manejo, las 1.4 Ha restantes están dedicadas a zonas verdes.

El agua que surte a la estación piscícola proviene de la quebrada las Tallas, la cual posee unas condiciones fisicoquímicas (Tabla 1) características de arroyos provenientes de bajas montañas, como son las estribaciones de la cordillera occidental en el valle del alto Patía.

Tabla 1. Promedio de los parámetros físico químicos de la quebrada las tallas.

PARAMETRO	DATOS
Temperatura ambiente	27.47
Temperatura del agua	24.2
O ₂ mg/l	7.73
Saturación O ₂	94.1%
PH	7.33
NO ₂ mg/l	0.01
Dureza mg/l CaCo ₃	2 nd

Álvaro Renan Cajas

5.2 PERIODO DE ESTUDIO

La etapa de estudio y procesamiento de resultados que comprendió desde el preensayo, estandarización de manejo, recolección de ejemplares, selección de reproductores, adaptación, obtención de las larvas, se extendió durante 16 meses comprendidos entre febrero del 2004 hasta abril del 2005, de los cuales 8 meses corresponden a trabajo de campo aprovechando la época de lluvias y la temporada de reproducción de la especie.

5.3 MATERIAL BIOLÓGICO

Los reproductores se preseleccionaron, según las características morfológicas externas de maduración gonadal descritas por Cajas⁶⁵. El número de reproductores utilizados en ésta investigación fue 12 hembras con peso promedio de 185,42 gr ± 45,66 y talla promedio de 28,39 cm ± 3,66 y 36 machos con un peso promedio de 162,64 gr ± 33,01 y talla promedio de 26.53 cm ± 4.04 (Anexo F). En las hembras se

⁶⁵ CAJAS. Op. cit., p. 48.

observó aumento de la cavidad abdominal, tensión en los músculos y papila urogenital pronunciada. En los machos por medio de una presión abdominal se obtuvo líquido seminal. Los oocitos fertilizados y embriones en desarrollo de *R. quelen* fueron pesados y fertilizados en seco para posterior incubación.

5.4 INSTALACIONES

Se utilizó una pileta de 1.0 m de ancho, 4.0 m de largo y 1.0 m de alto, dividida en dos secciones por medio de un separador elaborado de angeo, con el fin de ubicar y separar los machos y hembras. Igualmente se usaron cuatro recipientes de eternit de 0.37 m de largo, 0.37 m de ancho y 0.60 m de alto, con una capacidad de 60 litros como contenedores de incubadoras experimentales de plástico tipo Funil con capacidad de 1.5 litros recomendadas por Pardo *et. al*⁶⁶.

5.4.1 Materiales, insumos y equipos

- Chinchorro de 40 m, de largo, por 3 m de ancho y 1 pulgada de ojo de malla.
- Nasas de 0.40 X 0.40 m
- Baldes de 12 litros.
- Carreta (transporte de materiales)
- Ictiómetro.
- Platos y vasos plásticos.
- 10 jeringas tipo insulina 1 ml
- Solución isotónica (0.9% de NaCl) 1 Litro.
- Quinaldina 100 ml
- Azul de metileno 1 Litro.

⁶⁶ PARDO, Sandra. y otros. Avaliação de incubadoras experimentais para pesquisa em reprodução induzida En :AQUICULTURA. (11º:2000:Brasil). Memórias AQUICULTURA. Florianapolis-SC: Simbraq, 2000. 202 p.

- Sal marina 1 Kilo.
- Formaldehido al 3% buffer 7. 1 Litro.
- 4 recipientes de eternit, con capacidad 60 Litros.
- Incubadoras experimentales de plástico, tipo Funil, con capacidad de 1.5 litros.
- 4 motores para aireación marca HI-TECH PUMP-500, 115 voltios 60Hz-4.5 Watts.
- Filtros con capacidad de 50 galones.
- Bombas sumergibles, con capacidad 500 litros / hora.
- Termostatos eléctricos 110voltios,1.2 Amp. Frec. 60Hz., con capacidad 3 y 10 galones.
- Beaker de 200 ml
- Tubos de ensayo con capacidad de 5 ml
- Cajas petri.
- Extracto Pituitario de Carpa 5 mg
- Papel secante.
- Medidor digital de temperatura y pH Y550A cable 2.0 m
- Balanza analítica con precisión de 0.0001 gr
- Balanza gramera con aproximación de 1 g / 2 Kg
- Balanza gramera con aproximación de 0.1 g /150 gr
- Estereoscopio de microfotografía marca Nikon AFX-DX. Smz-U. Zoom 1:10.
- Cámara digital 8 Sony TVR-250. Zoom 700X.

5.5 PLAN DE MANEJO

5.5.1 Adecuación de equipos. Los cuatro recipientes de eternit y las incubadoras experimentales fueron lavados y desinfectados con azul de metileno a una concentración de 50 a 100 ppm, y sal común a 25 ppm.

5.5.2 Circulación de agua y aireación. Se utilizó una bomba sumergible de 500 litros / hora, con el fin de mantener la recirculación y flujo ascendente de agua de las incubadoras experimentales asegurando la oxigenación permanente de los oocitos y los embriones.

5.5.3 Control de temperatura. la temperatura se mantuvo constante a 27°C y 30°C mediante los termostatos anteriormente descritos. Para mantener la temperatura a 22°C se usaron bolsas de agua salada.

5.5.4 Captura y transporte. Los peces fueron capturados por medio de chinchorro y nasas en estanques excavados. Posteriormente se trasladaron a piletas de concreto (Figura 4) separando los machos de las hembras, se pesaron con el fin de calcular el inductor hormonal, Extracto Pituitario de Carpa (EPC) (Figura 5).

Figura 4. Piletas de concreto para la reproducción



Álvaro Renan Cajas.

Figura 5. Pesaje y medición de los reproductores



5.5.5 Inducción. Posteriormente las hembras y machos aptos, fueron seleccionados mediante la visualización de oocitos y liquido seminal obtenidos con masaje abdominal, se realizó la inducción reproductiva, inyectando intramuscularmente extracto de hipófisis de carpa EPC a una dosis de 5.5 mg. por cada 1000 gr de peso; dividida en dos inyecciones, (Figura 6) de tal manera que la primera constituía el 20% (0.2 ml) de la dosis y 12 horas después se aplicó el 80% restante, (0.8 ml) según lo recomendado por Ortega y Rodríguez⁶⁷.

Figura 6. Inducción hormonal



⁶⁷ ORTEGA, Lucy y RODRÍGUEZ, Carlos. Evaluación comparativa del efecto del Extracto Pituitario de Carpa (EPC) y Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) en la reproducción inducida del bagre del Patía *Rhamdia quelen* en condiciones de cautiverio. San Juan de Pasto, 2005, p. 82 Trabajo de grado (Ingeniero en Producción Acuicola) Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

5.5.6 Desove y fertilización. Se procedió a la obtención de oocitos y líquido seminal por medio de presión abdominal, ocho horas después de la segunda inyección (Figura 7). Posteriormente se pesaron tres gramos de oocitos (5400 oocitos aproximadamente) en 12 recipientes plásticos y luego se fertilizaron en seco (Figura 7). Con la ayuda de una pluma se mezclaron los dos gametos, hasta lograr la fertilización. Transcurrido 10 minutos se lavaron los oocitos dos a tres veces para remover el exceso de líquido seminal y lograr la posterior hidratación.

Figura 7. Obtención de material gamético y fertilización



5.5.7 Incubación. Hidratados los tres gramos de oocitos de cada recipiente plástico se sembraron suavemente en cada incubadora experimental con capacidad de 1.5 litros (Figura 8), evitando lesiones causadas por movimientos bruscos dentro de la circulación o flujo de agua.

Figura 8. Incubadoras experimentales



5.5.8 Seguimiento y observación del desarrollo embrionario. En el laboratorio de la estación de investigación piscícola las Tallas. Los oocitos fecundados y embrionados fueron observados cada hora mediante un estereoscopio (NIKON AFX-DX. Smz-U. Zoom 1:10) y se registraron las fotos utilizando una cámara digital SONY. Zoom 700X, verificando su evolución con relación a la temperatura y determinando la fase embrionaria en que encuentran. Posteriormente, se recolectaron las muestras de oocitos fertilizados y embriones en desarrollo para su respectiva fijación en formaldehído al 3% con buffer 7 para tinción en protocolo histológico con Hematoxilina y Eosina (Anexo E). Una vez realizado las placas histológicas, se procedió a la toma de microfotografías con una cámara digital NIKON E-950 incorporada a un microscopio NIKON ECLIPSE E-200 a objetivos 10X. Las microfotografías fueron escaneadas con Scanner Colorpage - Vivid III y editadas empleando el software Adobe fotodeluxe versión 2.8.

5.6 TRATAMIENTOS

Se evaluaron cuatro tratamientos con tres replicas por tratamiento de la siguiente forma:

- **T0** = Control, temperatura del agua de laboratorio de la estación piscícola de investigación las Tallas. 24°C
- **T1** = Temperatura de 22°C

- **T2** = Temperatura de 27°C
- **T3** = Temperatura de 30°C

Cada replica estuvo constituida por tres unidades experimentales consistente en 3.0 gr de oocitos postfertilizados (5400 oocitos aproximadamente)

5.7 VARIABLES EVALUADAS

Las variables evaluadas fueron:

5.7.1 Desarrollo embrionario. Descripción de la morfología observada desde la fase de ovocélula hasta la eclosión por medio de estereoscopio con objetivo de 4X.

5.7.2 Tiempo de la duración del desarrollo embrionario. Se determinó por monitoreo permanente y se cuantificó el tiempo en horas del desarrollo embrionario hasta la eclosión.

5.7.3 Descripción Histológica. Se tomaron muestras de oocitos y embriones incubados a temperatura de 24°C para su posterior fijación y procesamiento histológico, en las etapas de desarrollo: Ovocélula, Clivaje, Organogénesis, Eclosión.

5.7.4 Tasa de fertilidad. Se cuantifico de acuerdo a el porcentaje de oocitos fecundados por la célula germinal masculina, en cada uno de los tratamientos.

5.7.5 Sobrevivencia embrionaria. Se cuantifico de acuerdo al porcentaje de embriones vivos que expresaban movimiento caudal autónomo, en cada uno de los tratamientos.

Por tratarse de un estudio básico biológico, los resultados obtenidos en cada una de las variables fueron sometidos a un análisis estadístico de tipo descriptivo.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 DESARROLLO EMBRIONARIO

Los huevos maduros de *R. quelen*, son esféricos, transparentes, demersales, la masa vitelina es de color amarillo traslucido y no son adhesivos. Después de la fertilización e hidratación los huevos poseen una envoltura gelatinosa, la membrana de fertilización es transparente con espacio perivitelino lo cual está de acuerdo con lo reportado por Rizzo⁶⁸.

El liquido seminal fue evaluado según las características citadas por Cruz⁶⁹, como la coloración blanco pálido, consistencia espesa, viscosidad y sin contaminantes procedentes de otros líquidos orgánicos como: el agua, orina, bilis y materia fecal.

6.1.1 Fases y estadios del periodo embrionario.

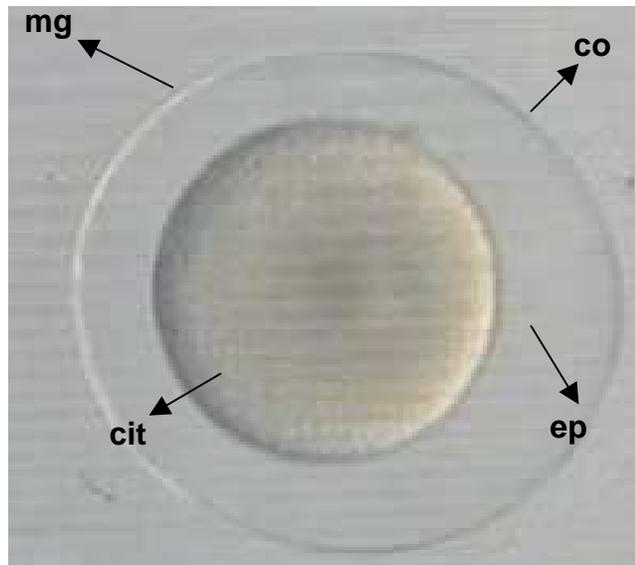
El desarrollo de la anatomía microscópica fue similar en los distintos tratamientos, presentándose variaciones únicamente en el periodo de aparición de las distintas estructuras. Las fases detectadas en este estudio fueron:

Fase: Clivaje – Estadio 1: Ovocélula. En los distintos tratamientos, se observa a los quince minutos postfertilización (mpf) un ovocito en proceso de hidratación con espacio perivitelino, citoplasma diferenciado, corion (Figura 9). Toda la estructura es envuelta por una capa gelatinosa que proporciona protección mecánica bloqueando el pasaje bacteriano. Durante la ovocélula, el oocito presenta membrana celular poco diferenciada y dentro de ella aparecen pequeños gránulos de vitelo (Figuras 10 - 11).

⁶⁸ RIZZO, E. Biología de ovos de peixes neotropicais de agua doce: Estudos comparativo e experimental, com ênfase na análise da superfície e do aparelho micropilar. Belo Horizonte, p. 103. Tese de Doutorado (Biólogo) Universidad Federal de Minas Gerais.

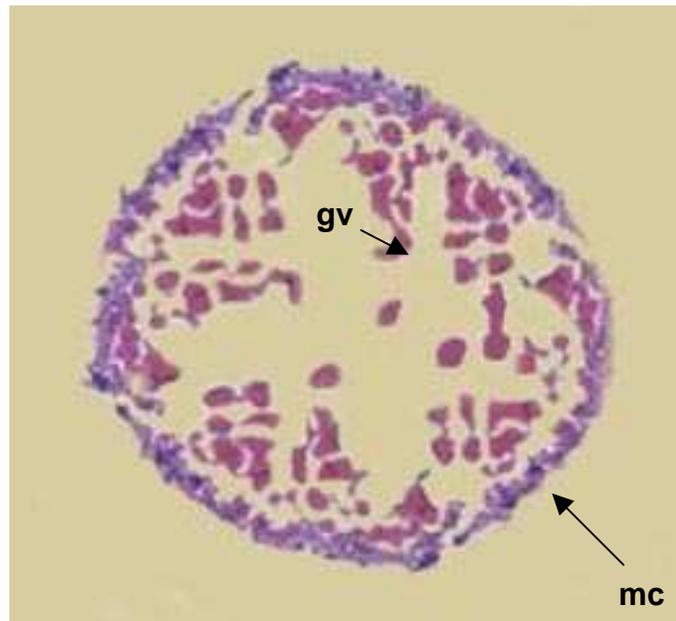
⁶⁹ CRUZ, Pablo Emilio. Caracterización seminal y determinación de la proporción espermatozoides: huevo en peces tropicales. En: JORNADA DE ACUICULTURA. (9º: 2003: Villavicencio). Memorias de la 9º Jornada de Acuicultura. Villavicencio: Alfa, 2003. p.39.

Figura 9. Ovocélula a los 15 minutos postfertilización (mpf) oocito hidratado.



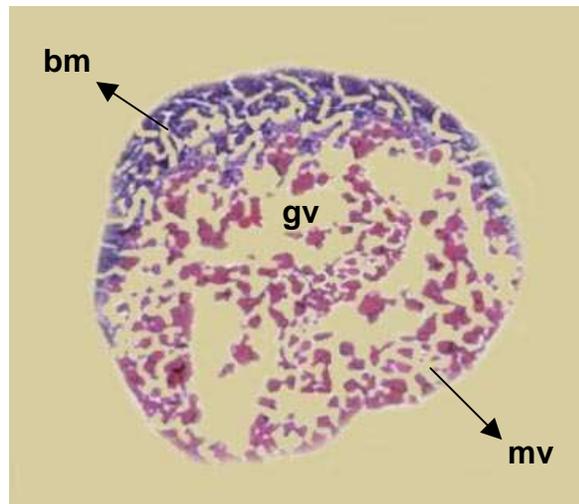
mg: masa gelatinosa, co: corion, cit: citoplasma, ep: espacio perivitelino

Figura 10. Corte transversal ovocélula H-E 5 μ 40x



gv: gránulos de vitelo mc: membrana celular.

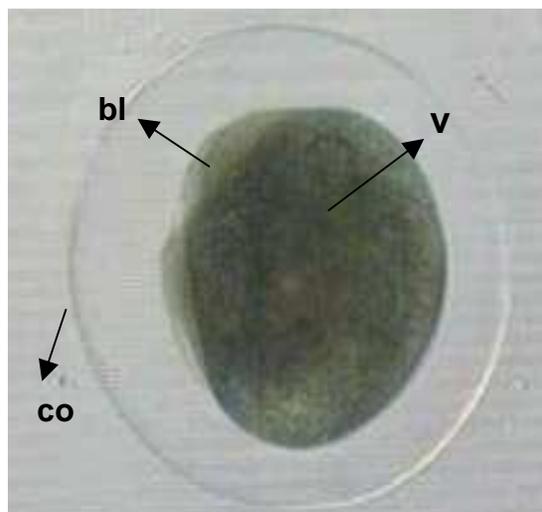
Figura 11. Corte transversal ovocélula H-E 5 μ 40x.



gv: gránulos de vitelo bm: blastómero,
mv: masa vitelina

- **Fase: Clivaje – Estadio 2: Clivaje.** Se aprecia, la elevación de la masa vitelina, blastodermo con dos células diferenciadas, polo animal y vegetal, espacio perivitelino, formación del blastodisco, capa sincitial, corion, membrana gelatinosa (Figura 12). Este evento ocurre en el T0 a 40 mpf, T1 a 60 mpf, T2 a 30 mpf, T3 a 30 mpf.

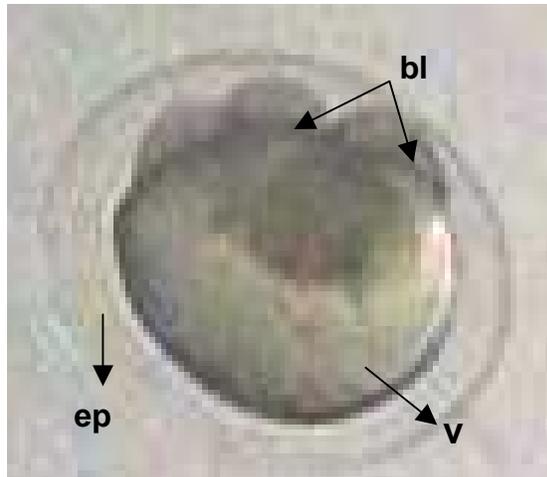
Figura 12. Primer clivaje 40 minutos postfertilización (mpf).



bl: blastomero, v: vitelo, co: corion.

En el segundo plano de segmentación se detectan cuatro blastómeros bien diferenciados sobre un vitelo, espacio perivitelino, corion y membrana gelatinosa (Figura 13). Este evento ocurre para, T0 a 60 mpf, T1 a 90 mpf, T2 a 60 mpf, T3 a 50 mpf.

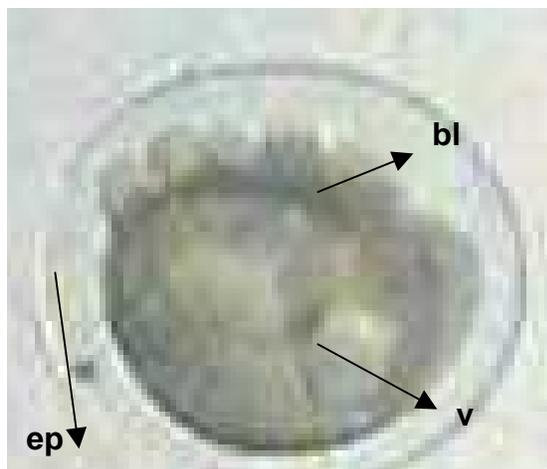
Figura 13. Segundo plano de segmentación (60 mpf).



bl: blastómeros, v: vitelo, ep: espacio perivitelino

En el tercer plano de segmentación se observan ocho blastómeros dispuestos en dos filas (Figura 14), lo cual varía en los distintos tratamientos de tal manera que para el T0 es a los 100 mpf, T1 a 120 mpf, T2 a 50 mpf, T3 a 50 mpf.

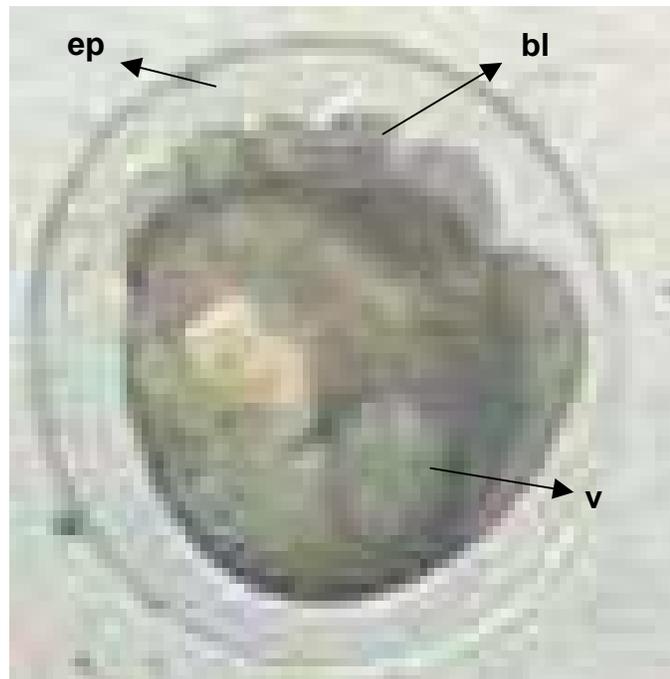
Figura 14. Tercer plano de segmentación (100 mpf).



bl: blastómeros, v: vitelo, ep: espacio perivitelino

En el cuarto plano de segmentación se originan surcos que dividen cuatro filas de células, detectando 16 blastómeros (Figura 15), que ocurre, para el T0 a 120 mpf, T1 a 200 mpf, T2 a 70 mpf, T3 a 60 mpf.

Figura 15. 16 blastómeros fase celular (120mpf).



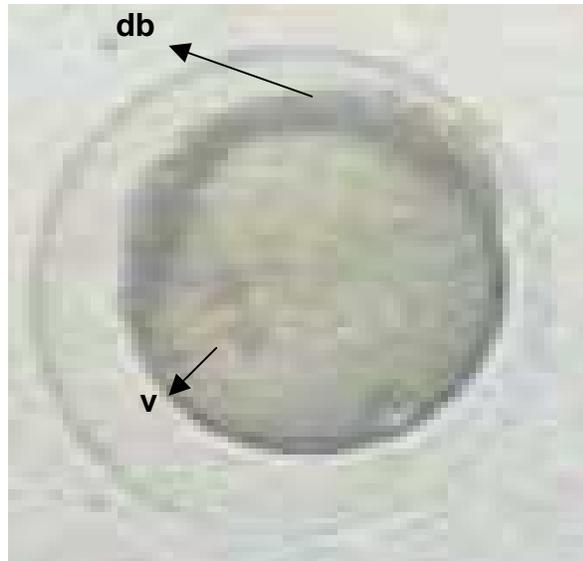
**bl: blastómeros, v: vitelo,
ep: espacio perivitelino**

En el quinto clivaje se dificulta la observación de los planos de segmentación, Godhino⁷⁰, describe que el blastodisco presenta una forma multicelular, creando una región opaca sobre el vitelo.

- **Fase: Clivaje - Estadio 3: Discoblástula.** Se aprecian, los primeros movimientos morfológicos de la célula hacia el polo vegetal, extendiéndose encima del vitelo (Figura 16). El movimiento de las células, se conoce como epibolia que ocurre en el T0 a 5 hpf, T1 a 6 hpf, T2 a 90 mpf, T3 a 70 mpf. Los blastómeros se distribuyen en forma discoidal, migrando hacia el polo vegetal constituido por gránulos de vitelo(Figura 17).

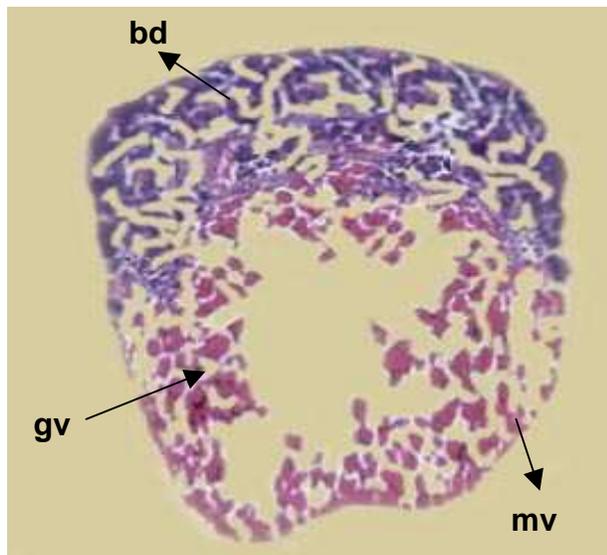
⁷⁰ GODHINO, Op. cit., p.152

Figura 16. Discoblastula, fase celular (6hpf).



db: discoblástula, v: vitelo

Figura 17. Corte transversal discoblástula H-E 5 μ 40x

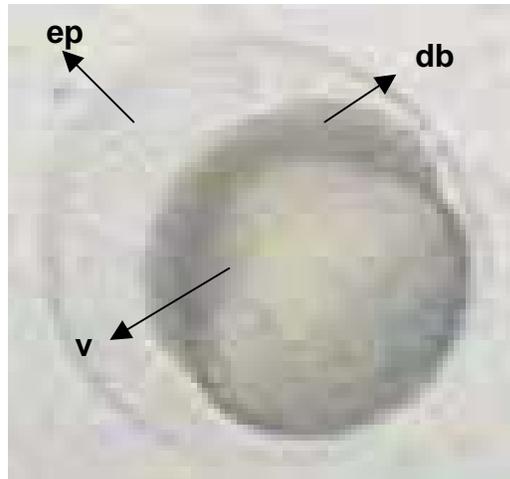


gv: gránulos de vitelo, bd: blastodisco mv: masa vitelina.

Se aprecia el reordenamiento de células y aparece el blastodermo individual, este periodo se denomina blástula temprana y se presenta en el T0 a 5 h: 30 mpf, T1 a 6h: 30mpf, T2 a 150 mpf, T3 a 90 mpf.

El blastodermo pasa de ser un disco y se transforma en embrión (Figura 18). Este evento se conoce como blástula media que ocurrió, en el T0 a 6 h:30 mpf, T1 a 7 h: 30 mpf, T2 a 210 mpf, T3 a 150 mpf.

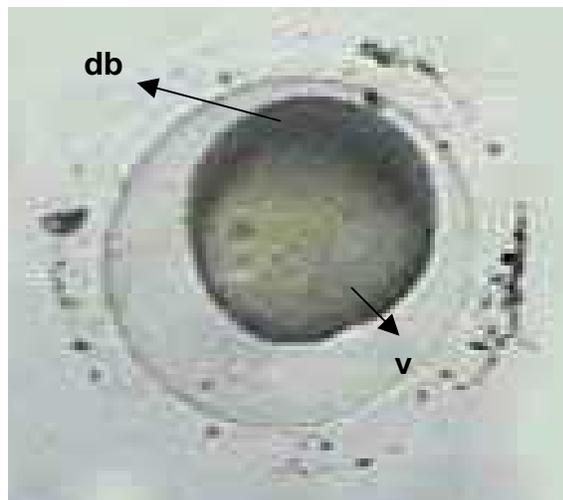
Figura 18. Blástula media, fase celular (6h: 30mpf).



ep: espacio perivitelino, db: discoblástula v: vitelo.

El blastodermo se extiende encima de la célula del vitelo, acercándose al polo vegetal observándose una blástula tardía (Figura 19). Este evento ocurre para el T0 a 7 hpf, T1 a 8 h: 30 mpf, T2 a 270 mpf, T3 a 180 mpf.

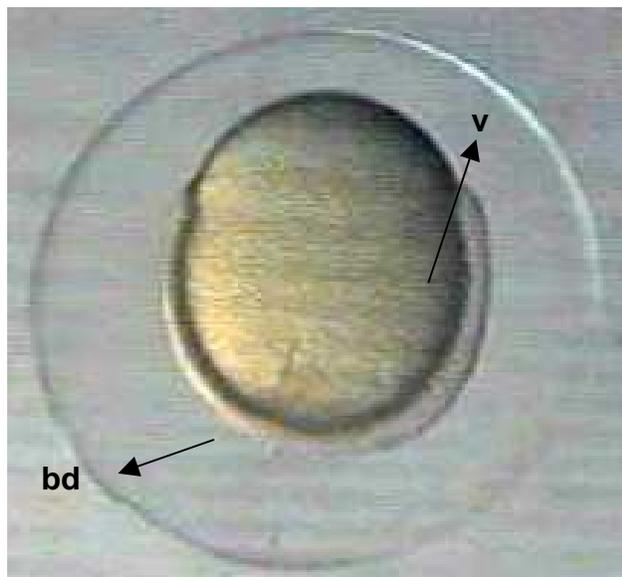
Figura 19. Blástula tardía (7hpf).



db: discoblástula, v: vitelo.

- **Fase: Clivaje – Estadio 4: Gastrulación.** El estadio de Gastrula, se caracteriza inicialmente por movimientos celulares de involución, convergencia y extensión del blastodermo, comenzando a migrar hacia el polo vegetal (Figura 20). Este evento se manifiesta para el T0 a 8 hpf, T1 a 9 hpf, T2 a 5 hpf, T3 a 210 mpf. Se observó un recubrimiento epibólico del blastodermo a la masa vitelina (45% epibolia) expandiéndose brevemente alrededor de ella. Este evento se observó para el T0 a 8 h:30 mpf, T1 a 9 h:30 mpf, T2 a 5 h:30 mpf, T3 a 2 h:30 mpf.

Figura 20. Gastrula media 60% epibolia (8hpf)

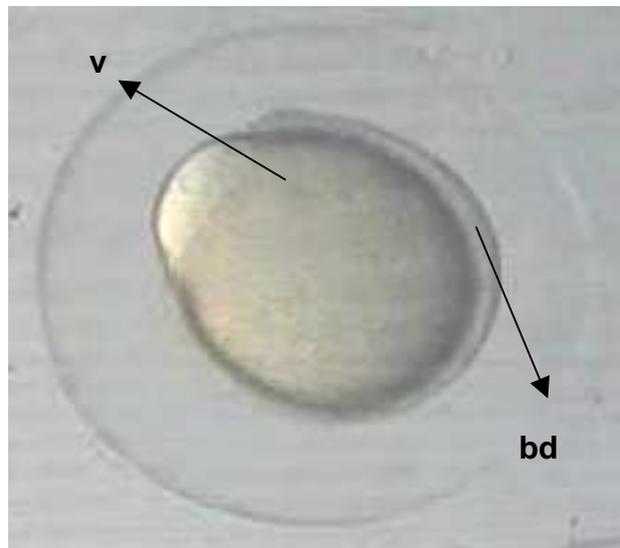


bd: blastodermo, v: vitelo.

La epibolia termina cuando el 95% del vitelo converge al blastodermo, el cual en esta fase es delgado y desplegado completamente sobre el vitelo, la influencia de los gametos paternos se manifiestan y se evaluó el porcentaje de fertilidad (Figura 21). Este evento se presenta para el T0 a 9 hpf, T1 a 11 hpf, T2 a 6 hpf, T3 a 250 mpf. la actividad enzimática de los procesos bioquímicos del oocito son susceptibles al bloqueo por aumento y descenso de la temperatura. Por esta razón a temperatura de 30°C (250 mpf), se observaron malformaciones embrionarias como exogastrulación (Figura 39), alterando la acción de enzimas y proteínas que participan en la formación del blastodermo. Iguales observaciones fueron reportadas por Clavijo⁷¹ para *Brycon siebenthalae* a temperaturas de 30°C y 32°C incrementándose la presencia de exogastrulación, con coloración blanquecina en los oocitos. Durante la formación de la gástrula, el blastodermo permanece plegado al vitelo con movimientos en la parte del polo animal (Figura 21).

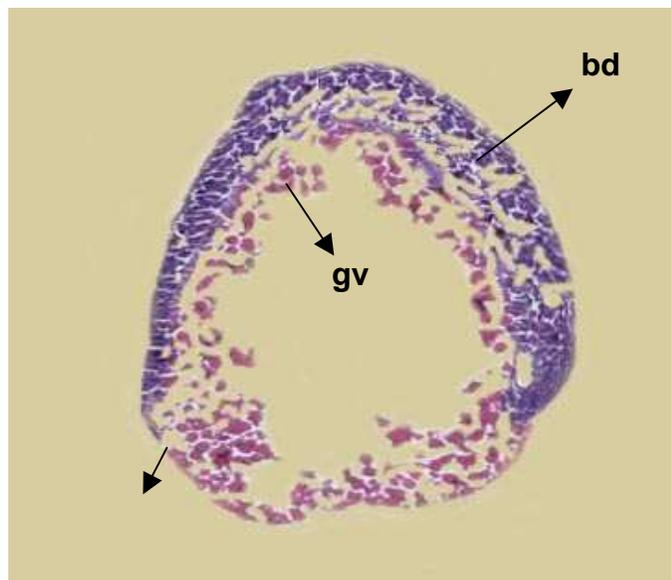
⁷¹ CLAVIJO. Op. cit., p.40

Figura 21. Gastrula tardía 95% epibolia (9hpf).



bd: blastodermo, v: vitelo.

Figura 22. Corte transversal gastrula H-E 5 μ 40x

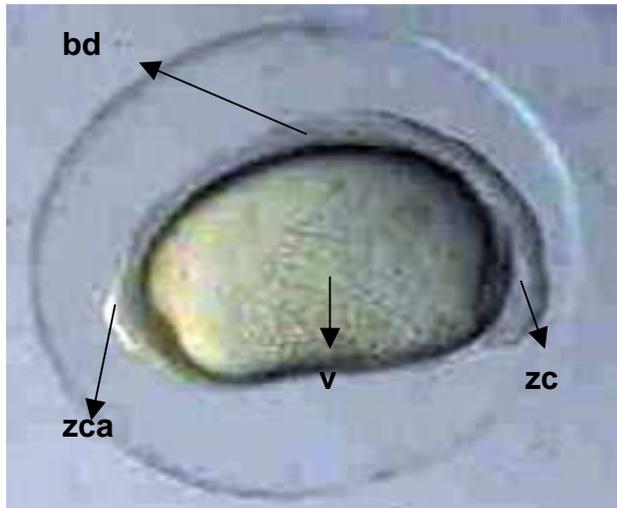


gv: gránulos de vitelo bd: blastodisco, mv: masa vitelina

• **Fase: Embrión – Estadio 5: Organogénesis.** Se observa en los distintos tratamientos un ordenamiento en la formación de tejidos, órganos y sistemas que demarcan un esbozo de embrión temprano en la parte superior del vitelo, se exhibe el eje embrionario, blastodermo con coloración café claro adosado a

un vitelo amarillento, se diferencio la zona cefálica, troncal y caudal de embrión (Figuras 22 - 23). Este evento ocurre para el T0 a 10 hpf, T1 a 12 hpf, T2 a 7 hpf, T3 a 6 hpf.

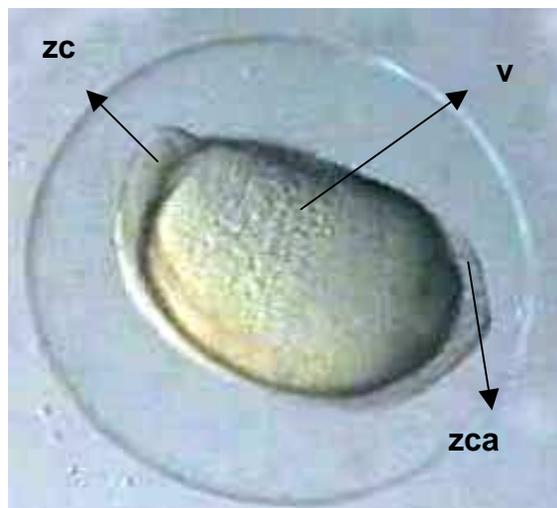
Figura 23. Fase embrión organogénesis (10hpf).



bd: blastodermo, zc: zona cefálica, zca: zona caudal, v: vitelo.

Para los distintos tratamientos se detecta una diferenciación cefálica y caudal con coloración café clara y vitelo de color amarillo, pequeños glóbulos de aceite y espacio perivitelino evidente (Figura 24). Este evento aparece, para el T0 a 11 h:30 mpf, T1 a 12 hpf, T2 a 9 hpf, T3 a 8 hpf.

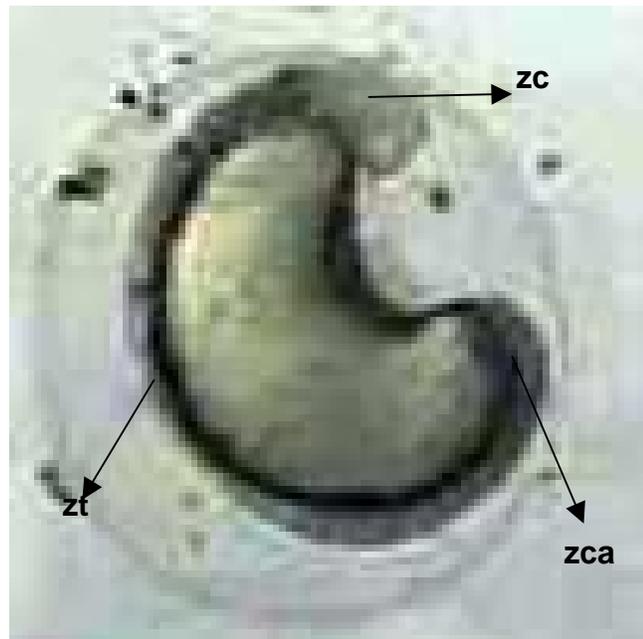
Figura 24. Fase embrión organogénesis (11h:30mpf)



zc: zona cefálica, zca: zona caudal, v: vitelo

Se diferencia una forma más clara del embrión la cual muestra una desarrollada zona cefálica y caudal, el vitelo presenta glóbulos de aceite descritos por Ballon⁷² para *R. hilarii*, Carvalho⁷³, lo detecta a las 9 hpf a 28°C (Figura 25). Este evento se manifiesta para el T0 a 12 hpf, T1 a 13 hpf, T2 a 10 hpf, T3 a 9 hpf.

Figura 25. Fase embrión organogénesis (12hpf).



**zc: zona cefálica, zca: zona caudal,
zt: zona troncal.**

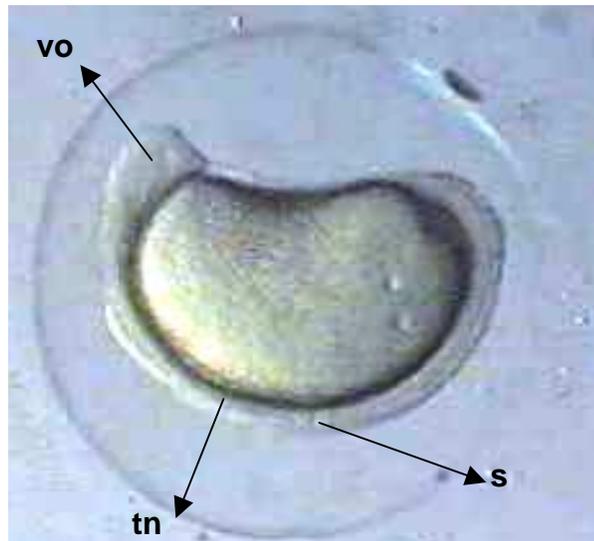
El eje embrionario es más definido presentando un blastodermo diferenciado en zona cefálica, troncal y caudal. Los gránulos de aceite en el vitelo son más claros y aparece el esbozo de la vesícula óptica. Este evento se diferencia para T0 a 13 hpf, T1 a 14 hpf, T2 a 11 hpf, T3 a 10 hpf.

Se observa la organización de ocho somitas, vesícula óptica clara, notocordio visible desde el extremo anterior al posterior del embrión (Figura 26), este evento se distingue para T0 a 15 hpf, T1 a 14 h: 30 mpf, T2 a 11 h :30 mpf, T3 a 10 h :30 mpf.

⁷² BALLON, Ghermin. Ultrastructure Observations the embryos, yolk sincitial layer. Bruxelles: Arch, 1981.p.415.

⁷³ CARVALHO, Op. cit., p. 52

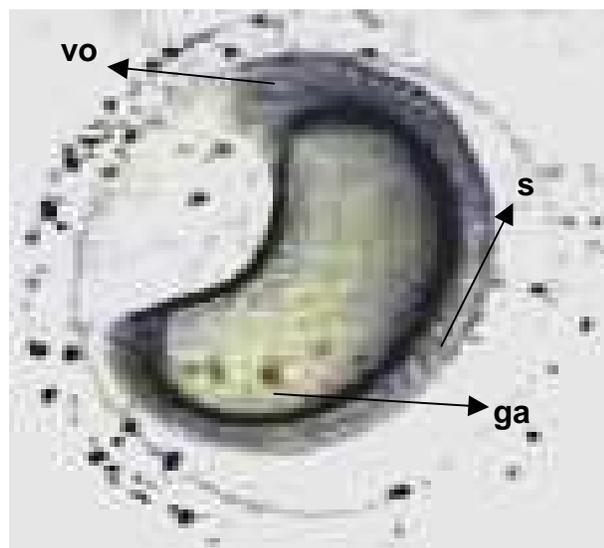
Figura 26. Fase embrión organogénesis 8 somitas (14h:30mpf).



vo: vesícula óptica, tn: tubo neural, s: somito.

Organización de doce somitas, vesícula óptica, placa ótica, notocordio y canal nervioso se diferencia al margen del corazón, desarrollado ventralmente al cerebro medio. La zona troncal registra tubos miomerales anteriores a los somitos y los glóbulos de aceite se exhiben en el vitelo (Figura 27). Este evento aparece para T0 a 16 hpf, T1 a 18 hpf, T2 a 12 hpf, T3 a 11 hpf.

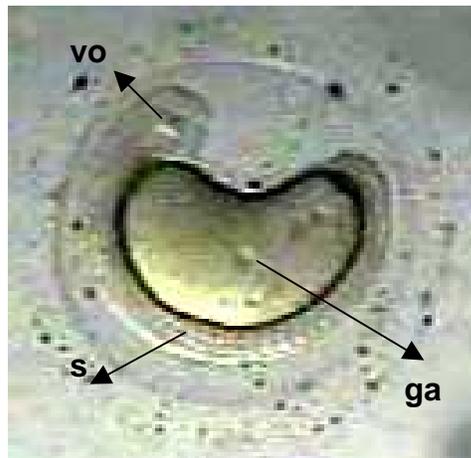
Figura 27. Fase embrión organogénesis 12 somitas (16hp).



vo: vesícula óptica, s: somitos, ga: gránulos de aceite

Se observa la organización de dieciséis somitas diferenciadas, la zona caudal se envuelve alrededor del vitelo, diferenciación del brote que da paso a la formación de nuevos somitos extendiéndose posteriormente, vesícula óptica, placa ótica, vesícula de Kupffer originaria del bazo y notocordio evidentes (Figura 28). Este evento ocurre para el T0 a 18hpf, T1 a 19h: 30mpf, T2 a 13hpf, T3 a 12hpf.

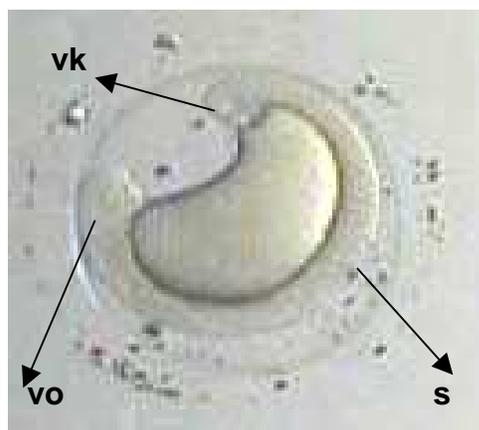
Figura 28. Fase embrión organogénesis Vesícula óptica (18hpf).



vo: vesícula óptica, s: somitos, ga: gránulos de aceite

Se distingue veintidós pares de somitas, se inicia el desprendimiento de la zona caudal del vitelo, son evidentes el canal nervioso, vesícula óptica, placa ótica, vesícula de Kupffer, notocordio y margen del corazón (Figura 29). Este evento se distingue para el T0 a 20hpf, T1 a 22hpf, T2 a 14hpf, T3 a 12h: 30mpf.

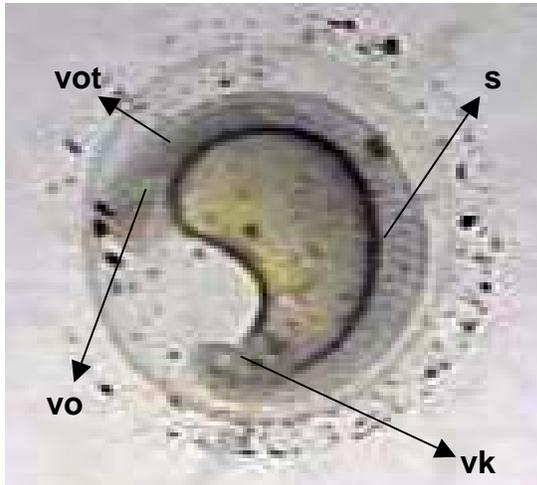
Figura 29. Fase embrión vesículas óptica y Kupffer, 22 somitas (20hpf)



vo: vesícula óptica, s: somitos, vk: vesícula de Kupffer.

Se aprecian veintiocho a treinta pares de somitas, se activa el corazón, al igual que el movimiento del embrión, fortaleciendo las somitas a nivel troncal y caudal, vesícula óptica visible (Figura 30). Este evento ocurre par el T0 a 22hpf, T1 a 24hpf, T2 a 15hpf, T3 a 13hpf.

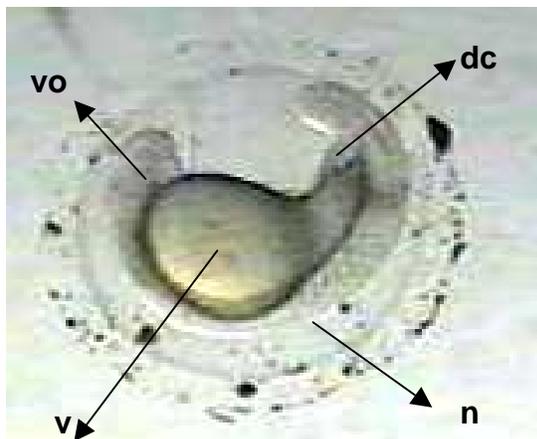
Figura 30. Fase embrión 28 somitas vesícula de Kupffer (22hpf).



vo: vesícula óptica, vot: vesícula ótica, s: somitos, vk: vesícula de Kupffer.

Se observan de treinta y dos a treinta y ocho pares de somitas, un corazón mas activo, la zona caudal es desprendida totalmente del vitelo; se detecta el esbozo del poro anal, vesícula óptica, placa ótica y notocordio definidos (Figura 31). Este evento se diferencia para el T0 a 23hpf, T1 a 25hpf, T2 a 16hpf, T3 a 14hpf.

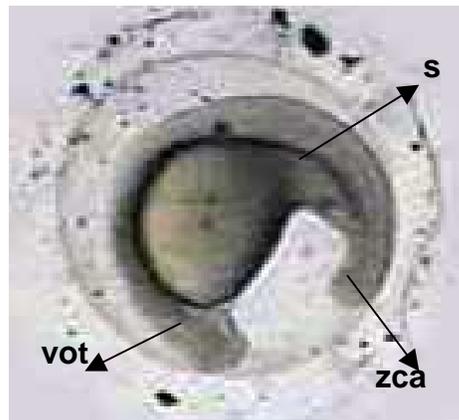
Figura 31. Fase embrión 38 somitas cabeza y cola diferenciadas (23hpf)



vo: vesícula óptica, dc: desprendimiento caudal, n: notocorda, v: vitelo.

Se diferencian cuarenta a cuarenta y cuatro pares de somitas, los movimientos del embrión son mas regulares, la placa ótica se vuelve una vesícula clara que contiene los primeros esbozos de otolitos, canal nervioso visible, corazón activo y funcional (Figura 32). Este evento aparece para el T0 a 24hpf, T1 a 26hpf, T2 a 17hpf, T3 a 15hpf.

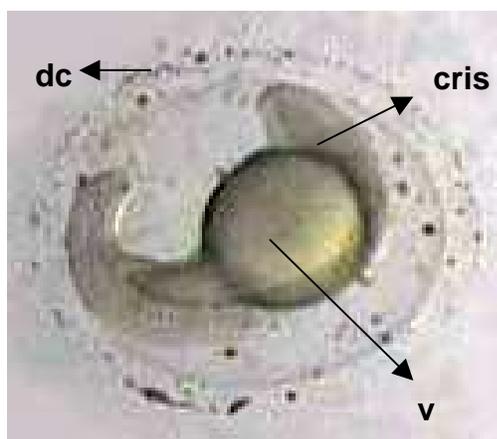
Figura 32. Fase embrión 44 somitas (24hpf).



vot: vesícula ótica, s: somitos, zc: zona caudal.

Se desarrollan cuarenta y ocho pares de somitas, el espacio perivitelino es reducido, y se nota un crecimiento homogéneo del embrión, pigmentación difusa del cristalino, los movimientos de la zona caudal son más rápidos y bruscos, facilitando el debilitamiento del corion (Figura 33). Este evento ocurre para el T0 a 25hpf, T1 a 27hpf, T2 a 18hpf, T3 a 16hpf.

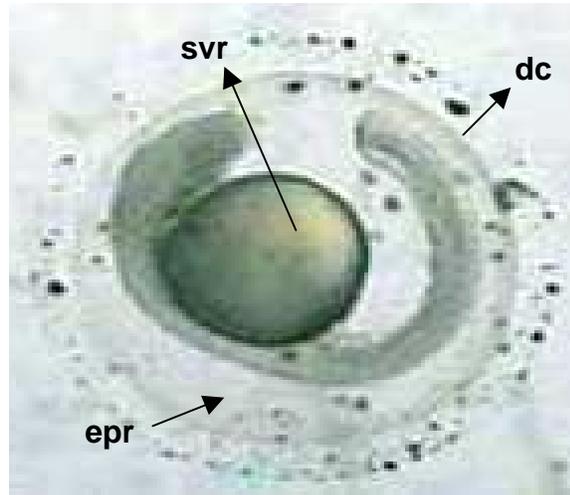
Figura 33. Fase embrión 48 somitas (25hpf).



v: vitelo, dc: debilitamiento del corion , cris: cristalino.

Se observan cincuenta pares de somitas, espacio perivitelino pequeño, vesícula óptica y ótica bien desarrolladas, primeros brotes del ano, yema vitelina reducida, corazón activo y funcional, corion débil (Figura 34). Este evento se distingue para el T0 a 26hpf, T1 a 28hpf, T2 a 19hpf, T3 a 17hpf.

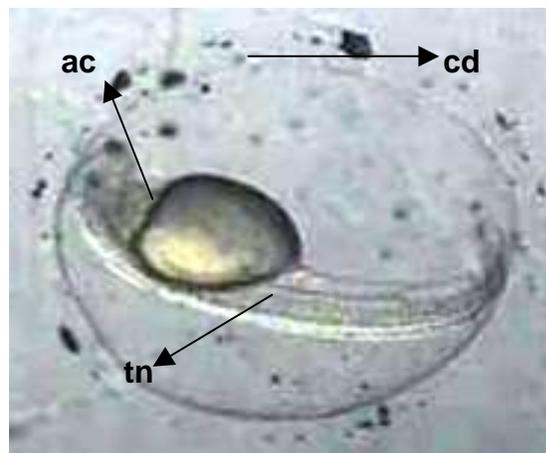
Figura 34. Fase embrión 50 somitas (26hpf).



svr: saco vitelino reducido, epr: espacio perivitelino reducido, dc: debilitamiento del corion.

Se observa la formación de cincuenta y dos pares de somitas, intestino pigmentado igualmente es visible el atrio del corazón. La placa olfatoria, los conductos pronefrales originarias del riñón, la aleta primigenia, el corion es mas delgado y débil (Figura 35). Este evento es visible para el T0 a 27hpf, T1 a 30hpf, T2 a 20hpf, T3 a 18hpf.

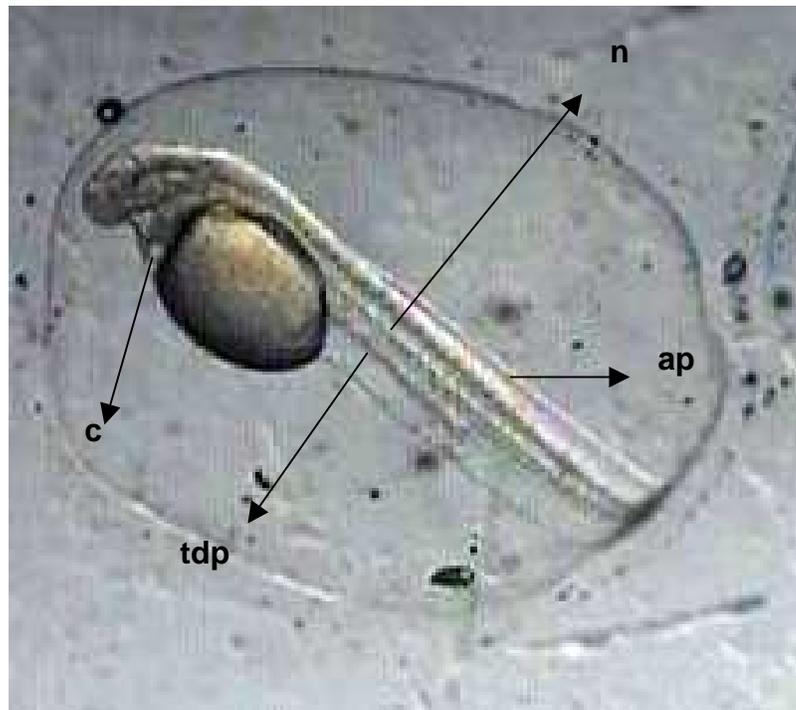
Figura 35. Fase embrión 52 somitas, movimientos de la cola (27hpf)



ac: atrio del corazón, cd: corion débil, tn: tubo neurál.

Fase: Embrión – Estadio 6: Eclosión. La eclosión se presenta en T0 a 27 hpf, T1 a 30hpf, T2 a 20 hpf, T3 a 18 hpf. Las larvas poseen movimiento errático horizontal, cuerpo sin pigmentación, presencia de músculo estriado esquelético, tubo neurál, telencéfalo, ojos desarrollados y presencia de nervio motor ocular común, vesícula ótica, otolitos, placa olfatoria, cavidad pericardiaca, aorta ventral, corazón funcional con ventrículo, aleta primigenia transparente desprendida desde el sexto par de somitos, saco vitelino reducido, ano cerrado, formación de intestino anterior conectado a ala cavidad bucal que se abre al extremo posterior, conductos pronefrales e intestino pigmentado (Figura 36, 37 y 38).

Figura 36. Fase embrión 52 somitas, Corion delgado. (27h:30mpf).

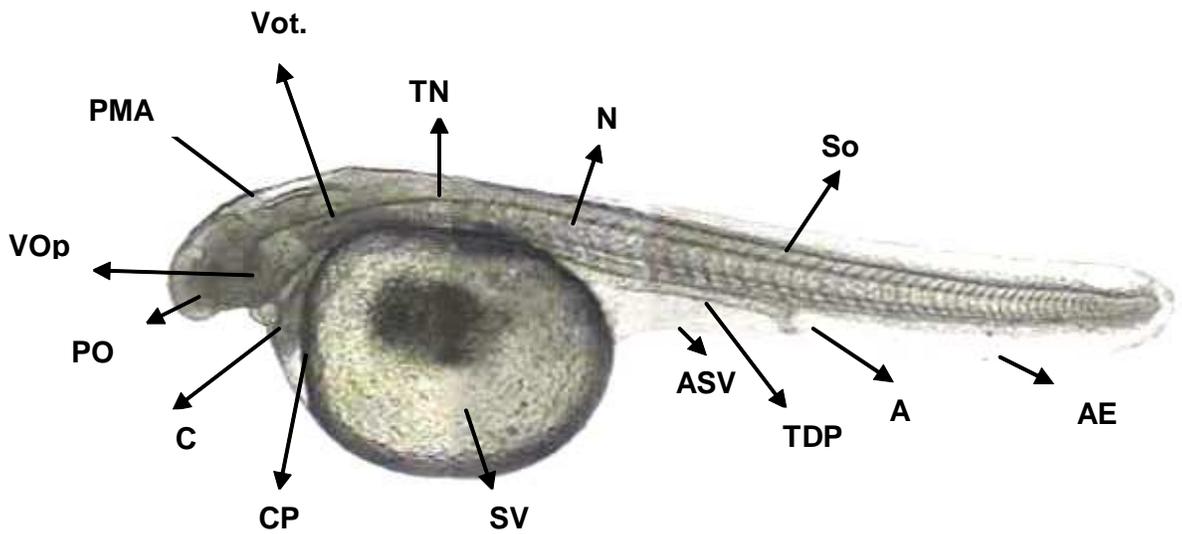


**c: corazón, n: notocorda, tdp: tubo digestivo posterior,
ap: aleta primigenia.**

Figura 37. Eleuteroembrión recién eclosionado (28hpf).



Figura 38. Eleuteroembrión de *Rhamdia quelen*.



Eleuteroembrión de bagre del Patía. *Rhamdia quelen*. CP: Cavidad pericardiaca. C: Corazón. PO: Placa Olfatoria. VOP: Vesícula Optica. PMA: Paquetes mesodermicos Anteriores. VOT: Vesícula Otica. TN: Tubo Neural. N: Notocorda. So: Somita. AE: Pliegue de aleta. A: Ano. TDP: Tubo Digestivo Posterior. ASV: Adelgazamiento del saco vitelino. SV: Saco Vitelino.

El tratamiento (T3) a 30°C fué el que registro el mayor numero de malformaciones, debido que a medida que aumenta la temperatura el contenido del oocito se desnaturaliza, tomando un color blanco cremoso (Figura 39 - 44).

La mortalidad que se presentó en las primeras horas de incubación se explica por el efecto de la alta temperatura sobre la viabilidad de las enzimas y proteínas del vitelo, debido a la heterotermia, Parker et. al⁷⁴, considera que la temperatura acelera o retarda los procesos metabolicos en teleosteos; muy bajas o altas temperaturas podrían desnaturalizar proteínas e inactivar enzimas, alterando los procesos ontogenicos normales, generando malformaciones o hasta la muerte de oocitos y embriones en distintos estados de desarrollo.

Asi mismo Clavijo⁷⁵ reporta que al incrementarse la temperatura disminuye el contenido de oxígeno disuelto en el agua generando condiciones hipóxicas. Eclusiones tempranas se observan en medios hipóxicos como una reacción fisiologica del embrión tratando de escapar del corion, que lo limita a su búsqueda de oxígeno lo cual es mas grave, a medida que avanza el desarrollo, aumentan las necesidades respiratorias del embrión.

Figura 39. Gástrula, oocito muerto (desnaturalización de proteína) y malformación embrionaria. (6hpf)

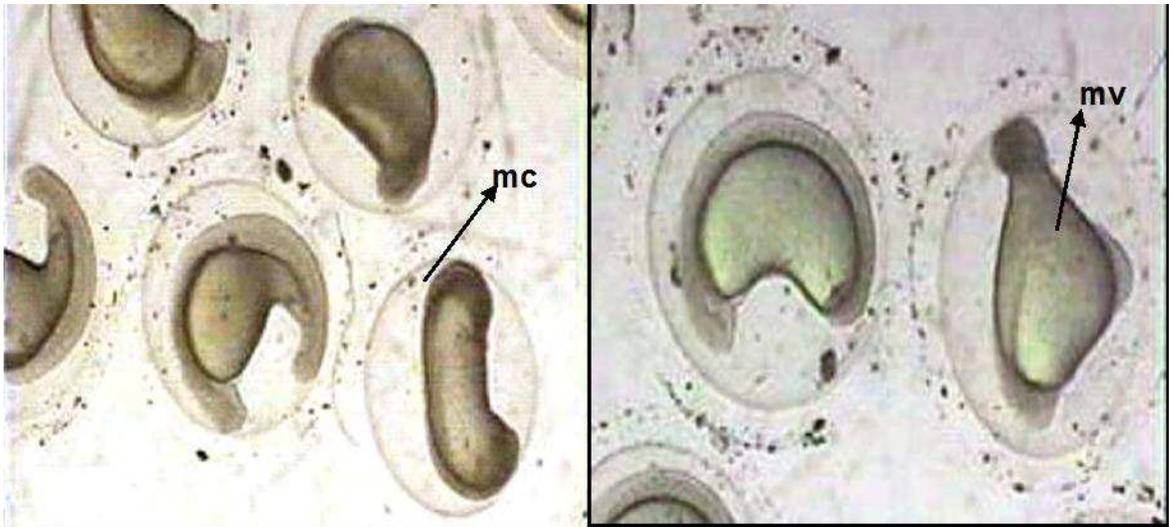


**ofg: oocito en fase de gastrulación, dp: desnaturalización de proteína,
me: malformación embrionaria**

⁷⁴ PARKER, Antón. y otros. Anatomía y Fisiología animal. México: Interamericana,1980. p. 8

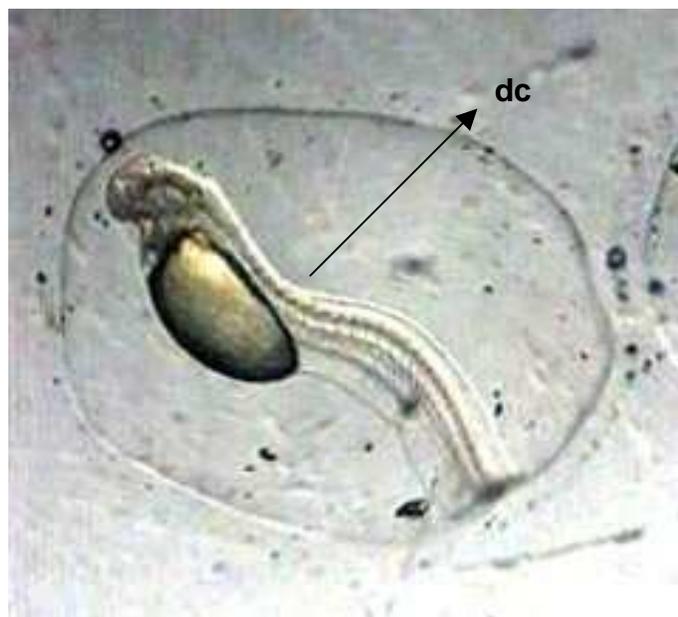
⁷⁵ CLAVIJO. Op. cit., p.15.

Figura 40. Malformación de columna y vitelo (13 hpf).



mc: malformación de columna, mv: malformación de vitelo

Figura 41. Desviación de columna (17hpf).



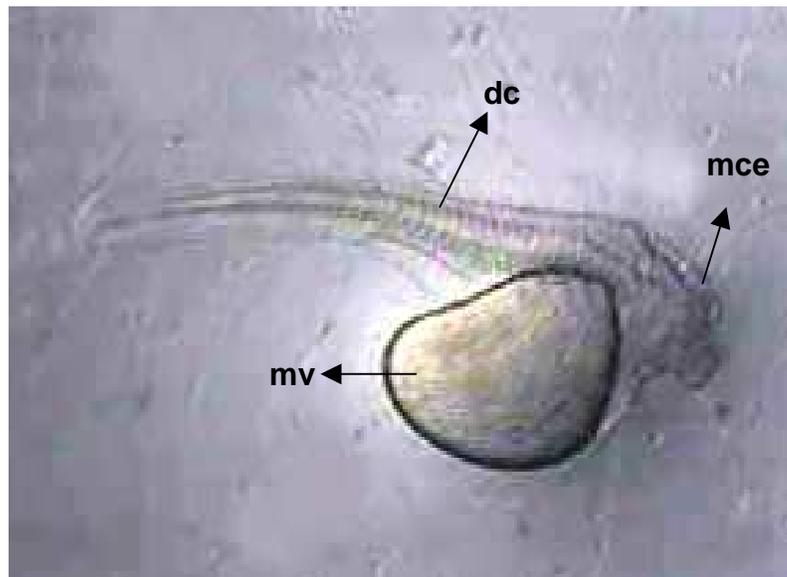
dc: desviación de columna

Figura 42. Eclosión prematura, malformación cefálica (18hpf).



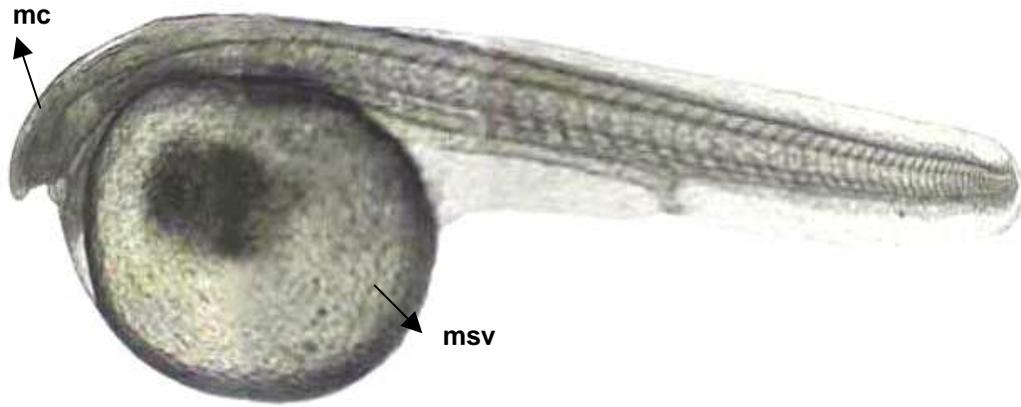
mce: malformación cefálica

Figura 43. Eleuteroembrión con desviación de columna (18hpf).



dc: desviación de columna, mv: malformación de vitelo

Figura 44. Eleuteroembrión de *Rhamdia quelen* con malformación.

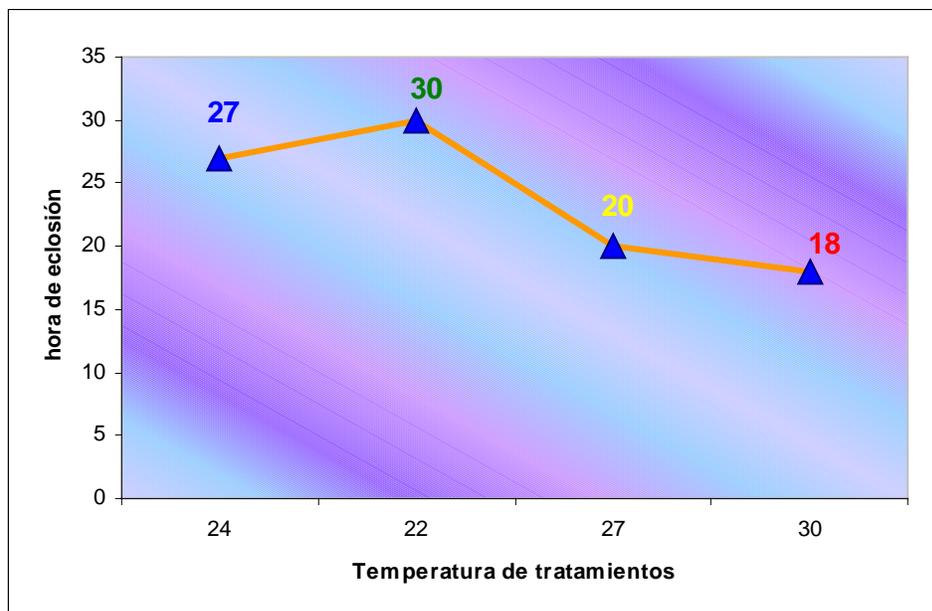


mc: malformacion cefalica, msv: Malformacion de saco vitelino.

6.2 DURACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

Se determinó la relación entre el efecto de temperatura sobre el estadio de eclosión en los diferentes tratamientos como se observa en (Figura 45).

Figura 45. Tiempo de eclosión vs. Temperatura de incubación.



6.2.1 Eclosión de cada tratamiento comparado con otras investigaciones.

a. Tratamiento cero. La eclosión de larvas ocurrió a las 27 horas posfertilización a una temperatura promedio de 24°C. Godhino *et al*⁷⁶, reportó eclosión a las 27 horas a 23°C Con *Rhamdia hilarii* y Carneiro *et al*⁷⁷, en *Rhamdia quelen* a las 27 horas a temperatura 24°C.

b. Tratamiento uno. La eclosión se presentó a las 30 horas posfertilización a 22°C de temperatura promedio. Similar observación detectó Carneiro *et al*⁷⁸, con la misma especie, a 22°C con eclosión a las 28 horas posfertilización.

c. Tratamiento dos. La eclosión ocurrió a las 20 horas posfertilización a una temperatura promedio de 27°C. Clavijo⁷⁹, determinó para *Rhamdia sebae* que la duración del desarrollo embrionario es de 15,5 horas con un rango de temperatura de 27 - 28°C. Así mismo Carneiro *et al*, en *Rhamdia quelen* observa eclosión a las 16 horas con temperatura promedio de 28°C.

d. Tratamiento tres. La eclosión se presentó a las 18 horas posfertilización a una temperatura promedio de 30°C. Las variaciones en los tiempos de eclosión, se explican por el efecto de la temperatura sobre los procesos metabólicos de los peces a su condición poiquilotérmica, debido a que, a mayor temperatura, menor es el periodo de eclosión como es el caso del tratamiento tres.

Lo anterior confirma lo expuesto por Woynarovich⁸⁰, quien estableció un embrión rápidamente desarrollado por el efecto de altas temperaturas de incubación, estará en condiciones de acelerar su eclosión liberándose así de las limitadas condiciones que supone el corion. Sin embargo López⁸¹, sostiene que los peces desarrollan mejor todas sus funciones fisiológicas a temperaturas

⁷⁶ GODHINO, *et. al.* Op. cit., p. 151.

⁷⁷ CARNEIRO, *et.al.* Op. cit., p. 43.

⁷⁸ *Ibíd.*, p. 43

⁷⁹ CLAVIJO, John. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sebae* c.f. En: JORNADA DE ACUICULTURA. (10° : 2004: Villavicencio). Memorias de la 10° Jornada de Acuicultura. Villavicencio: Alfa, 2004. p.41.

⁸⁰ WOYNAROVICH, E. Tambaqui e Pirapitinga. Propagação artificial e criação de alevinos. Brasilia: Codevasf, 1986. p. 68.

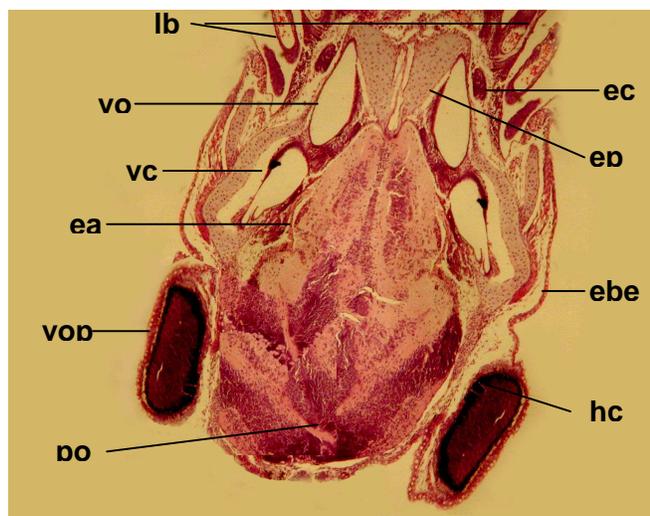
⁸¹ LOPEZ, Jorge. Nutrición Acuícola. Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Zootecnia Pasto, 1997. p 25

óptimas efectivas, que en el caso de *R. quelen* es de 24 a 28°C, de lo contrario se verán afectados en la ganancia de peso y la tasa de sobrevivencia embrionaria, incrementándose las malformaciones durante el desarrollo embrionario. Lo anterior, está de acuerdo a los resultados del tratamiento tres a 30°C que presenta el mayor porcentaje de larvas débiles con desviaciones de columna vertebral. Durante la incubación de *R. quelen* se presentó una diferencia en el tiempo de formación de órganos ± 1 hora, lo cual demuestra la acción de la temperatura sobre la actividad de las enzimas y proteínas que conforman el vitelo.

6.3 ESTUDIO HISTOLÓGICO

6.3.1 Derivados ectodérmicos. En el estadio de eclosión el tegumento que cubre el cuerpo del embrión consta de un epitelio biestratificado, compuesto por una delgada capa profunda, además puede observarse células adiposas y cromatóforos dispersos en la capa superficial. Estas células se originan del tejido mesenquimático cuya función es pigmentar y proteger. En el extremo anterior, se observa una placa olfatoria en forma de engrosamiento pluricelular, en el extremo medio se detecta la presencia de agregados neurales, como esbozo de las vesículas óticas, filamentos branquiales, formados por un tegumento laminar y evidencia de la vena cardinal anterior que transporta sangre desde la mitad anterior del cuerpo (Figura 46).

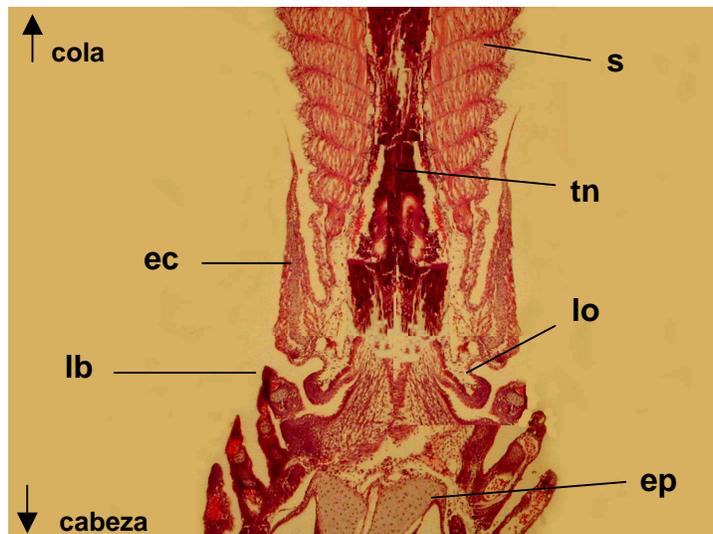
Figura 46. Corte sagital zona cefálica de eleuteroembrión *Rhamdia quelen*. H-E 5 μ 40x.



lb: laminillas branquiales, vo: vesícula ótica, vc: vena cardinal anterior, ea: encéfalo anterior, vop: vesícula ótica, po: placoide olfatorio, ec: esbozo craneal, ep: encéfalo posterior, ebe: epidermis biestratificada, hc: hendidura coroidea.

El tubo neurál esta formado por capas multicelulares apoyadas en el notocordio, el cuál comparado con lo citado por Perret⁸², las células del piso del tubo son cúbicas en tanto que las que forman la zona de las crestas, son cilíndricas, altas y forman un epitelio pseudoestratificado. En las vesículas ópticas se observa la formación del cristalino conformado por células poco diferenciadas integrando el cáliz y hendidura coroidea. De acuerdo con Oliveira⁸³, esta capa unicelular provee la nutrición de la retina, humor vítreo y del cristalino. Se detectan osteoblastos derivados del mesénquima presentes en el extremo antero posterior del embrión (Figura 47).

Figura 47. Corte sagital zona truncal de eleuteroembrión *Rhamdia quelen*. H-E 5µ 40x



ec: ectodermo, lb: laminilla branquial, s: somita, tn: tubo neural, lo: lobulo óptico, ep: encéfalo posterior.

6.3.2 Derivados endodérmicos. Los embriones en estadio de eclosión presentan un tubo neurál que consta de una luz estrecha, con un estrato de células directamente apoyado sobre el notocordio, el cuál está formado por un grueso acumulo multicelular. Las células del piso en el tubo neurál son cúbicas mientras que los que forman la zona de las crestas son pseudoestratificadas. El notocordio aparece formado en su totalidad por células grandes vesiculosas con escaso citoplasma y núcleos parietales.

⁸² PERRET, M. Developpement do coeur embryonnaire de la truite: Formation de fibres stries, 1966. pp. 567 – 570.

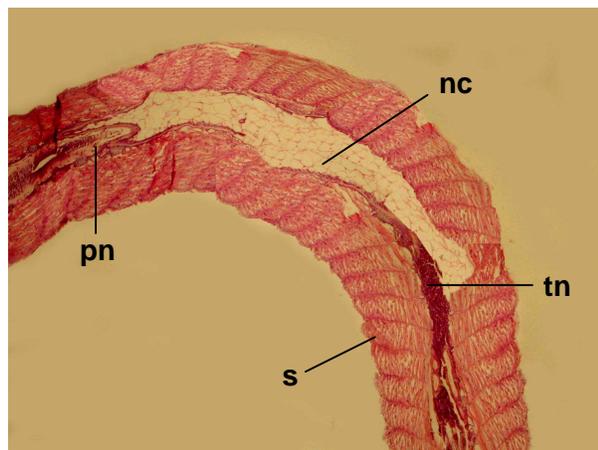
⁸³ OLIVEIRA, J. Embryonic and early larval stages of “Cangati catfish”. *Trachycorystes galeatus linnaeus*. The Amanari Fish Culture Station. Brasil: Departamento de Ciencias Biológicas, 1981. pp. 737 – 744.

Los anteriores hallazgos histológicos corrobora lo expuesto por Lamers⁸⁴, quién afirma que el notocordio se extiende desde el extremo caudal el cual no presenta vacuolización hasta la región cefálica, que se confunde con un tejido conectivo laxamente distribuido.

Las células de los miotomos (somitos) están constituidas por células poliédricas superpuestas que proliferan en forma muy activa, adquiriendo estriación con la eclosión. En el mesodermo anterior, se observa un ordenamiento paralelo de células entre los cuales se abren las hendiduras branquiales. En la región media y anterior del embrión, la estructura del sistema circulatorio esta mucho menos desarrollada. Los pronefros aparecen como un tubo de células gruesas, originadas del mesodermo interno, constituyendo el esbozo del riñón (Figuras 48 - 52).

Los resultados obtenidos en esta investigación son iguales a los citados por Cussac⁸⁵ quién caracteriza a los pronefros como unas capas unicelulares dobles ubicadas en la región preanal del embrión.

Figura 48. Corte sagital zona truncal posterior de eleuteroembrión *Rhamdia quelen*. H-E 5 μ 40x.

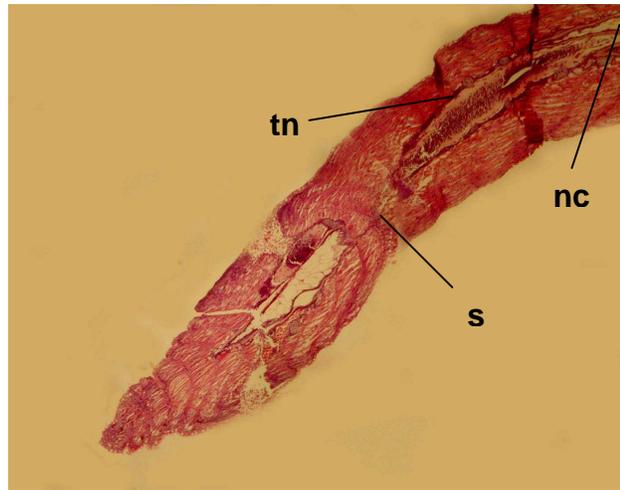


pn: pronefro, s: somita, nc: notocorda, tn: tubo neural.

⁸⁴ LAMERS, C. An experimental study of neural crest migration in *Barbus conchonioides* with special reference to origin of the enteroendocrine cells. Morphol. 1981. p. 323.

⁸⁵ CUSSAC, V. Oogenesis in *Rhamdia sapo*. Stages of the oocyte, egg's envelopes and effects of the human chorionic gonadotropic. Brasil: Departamento de Ciencias Biológicas, 1986. pp. 139 – 147.

Figura 49. Corte sagital zona caudal de eleuteroembrión *Rhamdia quelen*. H-E 5 μ 40x.



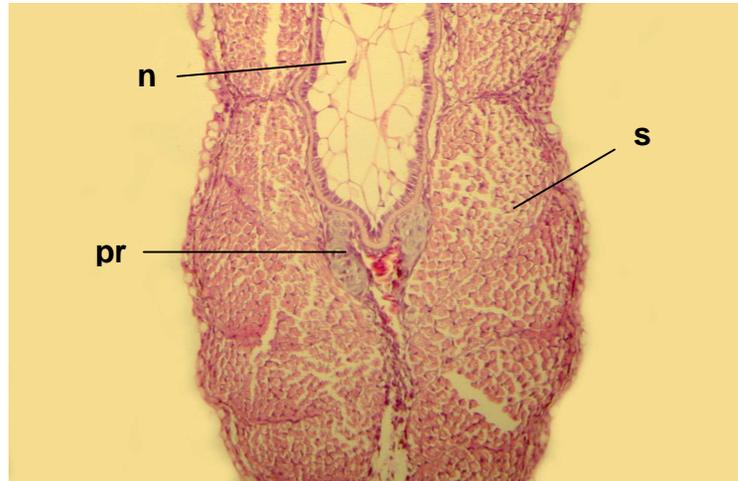
nc: notocorda, tn: tubo neural, s: somita.

Figura 50. Corte transversal zona truncal-dorsal de eleuteroembrión *Rhamdia quelen*. H-E 5 μ 40x.



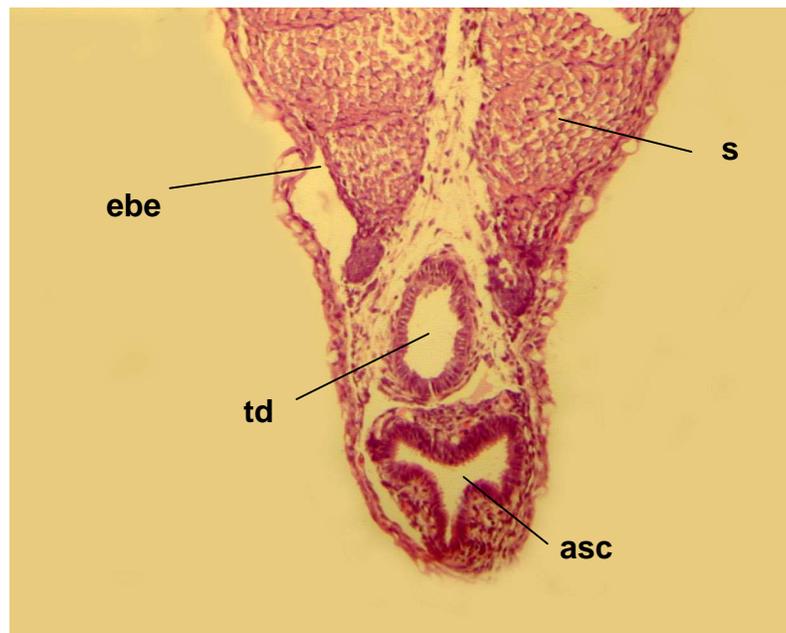
eb: epitelio biestratificado, n: notocorda, tn: tubo neural s: somitas.

Figura 51. Corte transversal zona truncal-media de eleuteroembrión *Rhamdia quelen*. H-E 5 μ 40x.



n: notocorda, pr: pronefro, s: somitas.

Figura 52. Corte transversal zona truncal-ventral de eleuteroembrión *Rhamdia quelen*. H-E 5 μ 40x.



ebe: epitelio biestratificado, td: tubo digestivo, asc: adelgazamiento del saco vitelino, s: somitas.

6.4 TASA DE FERTILIDAD Y SOBREVIVENCIA EMBRIONARIA

6.4.1 Tasa de fertilidad. La tasa de fertilidad (tabla 2) durante la fase experimental para el T0 fue de 37.6, para el T1 de 25.4, para el T2 de 43.7 y para el T3 de 40.4. Esta variable se evaluó a las 6 horas postfertilización teniendo en cuenta lo citado por Arias⁸⁶, quien afirma que en la fase de gastrulación ocurre el evento del cierre del blastoporo (la influencia de los gametos paternos se manifiestan) dando inicio a la organogénesis.

Tabla 2. Tasa de fertilidad en hembras de *R. quelen*. Para los cuatro tratamientos

Tratamiento	T 0	T 1	T 2	T 3
Porcentaje de fertilidad	35,90	21,50	32,80	38,30
	36,62	31,64	54,84	41,86
	40,26	23,20	43,64	41,33
Promedio % de fertilidad	37,6	25,4	43,7	40,4

Los resultados obtenidos para esta variable son similares a los reportados por Arias⁸⁷, para *Rhamdia cf. Sebae* entre 25 al 90% de fertilidad a una temperatura promedio de $26.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Así mismo Oliveira⁸⁸, para el jundiá *R. quelen*, reporta valores por encima del 70% de fertilidad, entre 12 a 14 horas a temperatura promedio de 25°C .

⁸⁶ COMUNICACIÓN PERSONAL con el Dr. José Alfredo Arias. Profesor titular del Instituto de Acuicultura de los Llanos, Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia, 2004.

⁸⁷ ARIAS, José. Reporte de reproducción inducida de *Rhamdia cf. Sebae* en la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de los Llanos. En: GOTAS DEL IALL. (5º 2003: Villavicencio). Boletín del Instituto de Acuicultura de los Llanos. Villavicencio: Alfa, 2003. p 3.

⁸⁸ OLIVEIRA, Paulo Jundiá: Um grande peixe para a região jundiá. En: Panorama da AQUICULTURA , No 5. Sao Jose do porto alegre: 2002. p. 27.

6.4.2 Tasa de sobrevivencia embrionaria. Este porcentaje se calculo cuando el embrión presenta un periodo funcional de desarrollo, expresado por el incremento de los movimientos caudales dentro del corion facilitando el deterioro de este y fortaleciendo los paquetes somíticos.

La tasa de sobrevivencia embrionaria (tabla 3) durante la fase experimental para el T0 fue de 19.8, para el T1 de 23.2, para el T2 de 37.6 y para el T3 de 28.2.

Tabla 3. Tasa de sobrevivencia embrionaria en hembras de *R. quelen*. Para los cuatro tratamientos

Tratamiento	T 0	T 1	T 2	T 3
Porcentaje de Sob. Embrionaria	21,33	17,41	28,26	25,96
	18,75	28,62	49,15	29,50
	19,46	23,82	35,46	29,60
Promedio % de Sob. embrionaria	19,8	23,2	37,6	28,2

En *Rhamdia hilarii*, Godhino, *et. al*⁸⁹, obtuvo una tasa de sobrevivencia de 32% a una temperatura de 27°C, debido que a temperaturas inferiores o superiores a esta se podrían alterar la formación y desarrollo del embrión. Los valores obtenidos para este estudio son superiores a los citados por Matkovic⁹⁰, quien reporta un porcentaje del 18% en embriones de *Rhamdia sapo* a temperatura de 24°C.

La sobrevivencia calculada en los cuatro tratamientos fue superior a la determinada por Oliveira⁹¹, de 17% a temperatura de 25°C en la incubación del jundiá *R. quelen*. Esto se debe a una mala manipulación y seguimiento incorrecto del protocolo de fertilización y la calidad de agua de incubación.

⁸⁹ GODHINO, *et. al*/Op. cit., p. 158

⁹⁰ MATKOVIC, Michael. Desarrollo embrionario de *R. sapo*. I segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. Brasil: GUNTHER, 1983. pp. 39-50.

⁹¹ OLIVEIRA, Paulo. Op. cit., p. 28

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- ◆ El patrón de desarrollo embrionario de *R. quelen* presenta seis estadios denominados, ovocélula, clivajes, discoblástula, gástrula, organogénesis y eclosión.
- ◆ El período óptimo de incubación de *R. quelen* se encuentra en un rango de temperatura de 24 a 27°C y de 20 a 30 horas.
- ◆ La velocidad de los procesos embriogénicos fue afectada según las diferentes temperaturas, diferenciando los grados hora para la formación de los tejidos, órganos, aparatos y sistemas.
- ◆ El tratamiento 3 (temperatura 30°C) que evaluó la temperatura mas alta, registró el mayor número de larvas débiles y malformadas, debido a que, al aumentar la temperatura de agua durante la incubación se incrementa la velocidad del desarrollo embrionario y simultáneamente la muerte temprana de oocitos, de tal manera que aproximadamente el 40% de la mortalidad ocurrió en este tratamiento.
- ◆ La temperatura a 27°C para el tratamiento 2 produjo la mejor tasa de fertilización y eclosión con valores de 43.7% y 37.6% respectivamente.

7.2 RECOMENDACIONES

- ◆ Ejecutar proyectos de reproducción, incubación, larvicultura y levante que ayuden a crear un paquete tecnológico integral dirigido a la producción y preservación del bagre del Patía.

- ◆ Adecuar los protocolos histológicos vigentes a las particularidades de pH y fragilidad de los tejidos de los peces para obtener mejores contrastes de tinción.

- ◆ Efectuar estudios embriológicos e histológicos de otras especies nativas para mejorar los procesos de reproducción inducida en condiciones de cautiverio.

- ◆ Promover el cultivo extensivo y semintensivo del bagre del Patía como alternativa de desarrollo social de la población mas desfavorecida del suroccidente Colombiano.

8. BIBLIOGRAFÍA

ALVES, G. Experiments on the fate of dissociated embryonic cells. London: Teratomas, 1953. 725 p.

ANDERSON, E. The formation of the primary envelopment during the oocyte differentiation in teleosts. Indian: cell, 1967. 232 p.

ARIAS, José. Reporte de reproducción inducida de *Rhamdia cf. Sebae* en la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de los Llanos. En: GOTAS DEL IALL. (5º: 2003: Villavicencio). Boletín del Instituto de Acuicultura de los Llanos. Villavicencio: Alfa, 2002. 8 p.

BALINSKY, B. J. Introducción a la Embriología. Tercera edición. Barcelona: Ediciones OMEGA, 1975. 631 p.

BALLON, Ghermin. Ultraestructure Observations the embryos, yolk sincitial layer. Bruxelles: Arch, 1981. 512 p.

BERMUDEZ, Daniel. Observaciones sobre el desarrollo embrionario de la Cachama *Colossoma macropomus*, Venezuela: Único, 1979. 72p.

BERNABÉ, Santiago y otros. Embriología en salmónidos (online) (Chile) 12 junio 1998. <http://fishbase.org/antofagasta/cl>.

BLAXTER, Isaac. Essential practice anatomy (online) (Canada), 5 Enero. 2003. <http://www.theJournalofExperimentalBiology.com>

BREINING y TÜBINGEN, estructura de superficie del huevo en tres especies de clingfish, usando microscopía electrónica. The Journal of fish biology. Germany: Elsevier science, 2002. 1230 p.

CAJAS, Álvaro. Reproducción en confinamiento de las especies ícticas *Rhamdia quelen* y *Cichlasoma ornatum* con fines de repoblamiento en la cuenca del río Patía en el departamento del Cauca. Corporación Autónoma Regional del Cauca - C.R.C. Popayán, 2001; 75 p. Trabajo de grado (Especialista en Recursos Hidrobiológicos) Programa Nacional de Transferencia de Tecnología Agropecuaria. PRONATTA.

CARNEIRO, Paulo y otros. Jundiá: Um grande peixe para a região sul. En: Panorama da AQUICULTURA, No 4. Sao Jose dos pinhais: 2002. 92 p.

CARVALHO, Levy y otros. Biología do jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). En: Ciencia Rural Santa María, No 30. Santa María: Bermado, 2000. 242 p.

CLAVIJO, John. Desarrollo embrionario del Yamu *Brycon siebenthalae*: Observaciones morfológicas, anatomía microscópica, efecto de temperatura de incubación en la velocidad del desarrollo embrionario. Villavicencio, 2002, 64 p. Trabajo de grado (Zootecnista) Fundación Universitaria agraria de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias.

CLAVIJO, John. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sebae* c..f. En: JORNADA DE ACUICULTURA. (10° : 2004: Villavicencio). Memorias de la 10° Jornada de Acuicultura. Villavicencio: Alfa, 2004. 159 p.

CRUZ, Pablo Emilio. Caracterización seminal y determinación de la proporción espermatozoides: huevo en peces tropicales. En: JORNADA DE ACUICULTURA. (9° : 2003: Villavicencio). Memorias de la 9° Jornada de Acuicultura. Villavicencio: Alfa, 2003. 72 p.

CUSSAC, V. Oogenesis in *Rhamdia sapo*. Stages of the oocyte, egg's envelopes and effects of the human chorionic gonadotropic. Brasil: Departamento de Ciencias Biológicas, 1986. 253 p.

CZERKIES, Robert y otros. Critical partial pressures of oxygen causing precocious hatching in *Coregonus lavaretus* and *C. Albula* embryos. Aquaculture. Ohio: GUNTHER, 1978. 328 p.

DAVIS, Simón y otros. Fisiología de peces. Santiago de Chile: Panamericana, 1992. 523z p.

ESTÉVEZ, F. Fundamentos de Embriología. Río de Janeiro: Finep 1988. 722 p.

FAWCETT. D. W. Tratado de Histología. Madrid: Interamericana, 1995. 42 p.

GODHINO, Hernán y otros. Desarrollo embrionario y larval de *Rhamdia Hilarii*. Sao Paulo: GUNTHER, 1978. 759 p.

GOPAL, Dutt. The yolk nucleus in the oocytes of *Anabus scandens*. New York: Editions Cambria, 1964. 456 p.

GUPTA, Salomon. Observations on the reproductive biology of *Mastacembelus armatus*. Huntingdon: Fish boil, 1974. 187 p.

HERNANDEZ, Néstor. SEAMAG S.A. Reproducción de peces y mariscos (online) (México), 25 Agosto.2003. Disponible en internet: <http://www.fondef.cl/bases/fondef/INST/0002342.html>.

JAWORSKIA y KAMLERB. Desarrollo y modelo del presupuesto bioenergético para embriones y larvas con saco vitelino. The Journal of fish biology. Poland: Elsevier science, 2002. 722 p.

KENTOURY, Jonás y otros. EmbriologyJournal (online) (Canadá) 25 mayo. 1987. Disponible en internet: <http://www.TheJournalofExperimentalBiology/ontario/Canadá>.

KILLEEN, Nelson y otros. Desarrollo embrionario de *salmo trutta* a temperaturas diferentes, con un método cuantitativo para comparaciones intra específicas. The Journal of fish biology. St Andrews: Elsevier science, 2002. 722 p.

KOVÁ Bratislava. Desarrollo temprano de *zingel streber*. The Journal of fish biology. Slovakia: Elsevier science, 2002. 722 p.

LAMERS, C. An experimental study of neural crest migration in *Barbus conchoniuis* with special reference to origin of the enteroendocrine cells. Morphol. 1981. 423 p.

LEME DOS SANTOS, Heid. Histología de peces: Antónima microscópica dos ovos de teleósteos nas diferentes etapas do desenvolvimento embrionario. Brasil: Funep, 1995. 153 p.

LOPEZ, Jorge. Nutrición Acuícola. Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Zootecnia. Pasto, 1997. 210 p.

MACHADO, Paula. Reproducao de *Rhamdia Branneri* e suas relacoes com fatores abióticos. Paraná: clemens, 1971. 129 p.

MARDINI, Raúl y otros. Técnica de Inducao da desova en Jundiá *R. quelen* en pregada na estacao experimental de piscicultura da lagoa dos cuadros. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 19981. 150 p.

MARTINEZ, Alfonso. Peces de Colombia. Bogota: Ediciones Fondo Cultural Cafetero, 1981. 180 p.

MATKOVIC, Michael. Desarrollo embrionario de *R. sapo*. I segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. Brasil: GUNTHER, 1983. 158 p.

MCDONALD y O'DONNELL. Los cambios del iones facilitan el transporte durante el desarrollo embrionario de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*. The Journal of fish biology. Ohio: Elsevier science, 2002. 722 p.

NARAHARA, Levy y otros. Relacao peso – comprimento e fator de condicao de *R. hilarii* (Valencienis, 1840). En: Boletim do Instituto de Pesca, No 12. Rio Grande Dosul: 1985. 87 p.

NARAIN, D. Cytoplasmic inclusions in the oogenesis of *Ophiocephalus punctatus*. California : Zellforsch, 1979. 366 p.

OLIVEIRA, J. Embryonic and early larval stages of “Cangati catfish”. *Trachycorystes galeatus linnaeus*. The Amanari Fish Culture Station. Brasil: Departamento de Ciencias Biológicas, 1981. 825 p.

OLIVEIRA, Paulo. Jundiá: Um grande peixe para a região jundiá. En: Panorama da AQUICULTURA , No 5. Sao Jose do porto alegre: 2002. 78 p.

ORTEGA, Armando y otros. Peces de la Cuenca Alta del Río Cauca. Riqueza Ictiológica del Valle del Cauca. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca – CVC. Subdirección de Patrimonio Ambiental. Santiago de Cali: CVC, 2000. 87 p.

ORTEGA, Lucy y RODRÍGUEZ, Carlos. Evaluación comparativa del efecto del Extracto Pituitario de Carpa (EPC) y Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) en la reproducción inducida del bagre del Patía *Rhamdia quelen* en condiciones de cautiverio. San Juan de Pasto, 2005, 115 p. Trabajo de grado (Ingeniero en Producción Acuícola) Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

ORTI, Gabriel. Estudio comparativo de distintos agentes inductores en *Rhamdia sapo*. Buenos Aires: Biológicas, 1981. 122 p.

PARDO, Sandra y otros. Avaliação de incubadoras experimentais para pesquisa em reprodução induzida En :AQUICULTURA. (11º2000:Brasil). Memórias AQUICULTURA. Florianopolis-SC: Simbraq, 2000. 202 p.

PARKER, Antón. y otros. Anatomía y Fisiología animal. México: Interamericana,1980. 56 p.

PEREZ, Edson. Atlas geográfico del Cauca. Popayán: Víctor Hugo, 1981. 322 p.

PERRET, M. Developpement do coeur embryonnaire de la truite: Formation de fibres strieses, 1966. 785 p.

PRIVITERA, Mario. Las características de huevo y producción larval de goby *asterropteryx semipunctata*. The Journal of fish biology. Honolulu: Elsevier science, 2000. 722 p.

RAVEN, C. Oogénesis the storage of development in formations. London: Pergamon, 1961. 500 p.

RADUNZ, Neto. Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas e alevinos de Jundiá *R. quelen*. Santa Maria: Ediciones Elsevier, 1981. 186 p.

RIZZO, E. Biología de ovos de peixes neotropicais de agua doce: Estudos comparativo e experimental, com ênfase na análise da superfície e do aparelho micropilar. Belo Horizonte, 230 p. Tese de Doutorado (Biólogo) Universidad Federal de Minas Gerais.

RIZZO, Denis y otros. Modelo adhesivo y superficial del corion en huevos de teleosteos neotropicales de agua dulce. The Journal of fish biology. Poland: Elsevier science, 2002. 722 p.

RODRIGUEZ, Maria y otros. Los efectos de temperatura sobre funcionamiento del desarrollo embrionario, supervivencia y crecimiento de la lamprea de mar. The Journal of fish biology. España: Elsevier science, 2000. 722 p.

ROSS, Luis. Cytochemical study of the oocytes of the fish. Canada: Interamericana, 1982. 347 p.

SAGAON, Natalia. Captura y Reproducción de peces (online) (México) 23 Agosto. 2003. Disponible en internet: <http://www.ultramarinos.com.mx/octopus/enero03/articulos/reproduccionpeces.html>.

SAMUDIO, Franco. Fertilización animal. Barcelona: Mc Graw Hill, 1997. 185 p.

SÁNCHEZ, Jairo. Introducción a la reproducción de peces. Bogota: CIEMINS, 1999. 82 p.

STEHMANN y MERRETT. Primeros registros de embriones avanzados y corion de bathyrāja *patinan del atlántico*. The Journal of fish biology. Berlin: Elsevier science, 2002. 722 p.

VENTRE, Manuel. La reproducción de los peces (online) (España), 21 Agosto. 2003. Disponible en internet: <http://www.canal-h.net/webs/sgonzalez002/Prodacuat/REPRODUCCION.html>.

VIEIRA Y JOHNSTON. Evaluación de temperatura en el desarrollo neuromuscular del tambaqui. The Journal of fish biology. St Andrews: Elsevier science, 2002. 722 p.

WEISS, Loris. Histología: Biología celular y tisular. Madrid: El ateneo, 1986. 154 p.

WOYNAROVICH, E. Tambaqui e Pirapitinga. Propavação artificial e criação de alevinos. Brasília: Codevasf, 1986. 128 p.

ZANIBONI, Filho. Valorización de especies nativas. Esfuerzos para el desenvolvimiento de paquetes tecnológicos, estudio de caso. En : JORNADA DE ACUICULTURA. (8° : 2002 : Villavicencio). Memorias de la VIII jornada de Acuicultura. Villavicencio: Alfa, 2002. 76 p.

WOOTON, R. Physiological mechanisms in development. Ontario: Physiol, 1957. 125 p.

ANEXOS

Anexo A. Datos de hembras del bagre del Patía *R. quelen* para la reproducción inducida para el tratamiento T0.

TRATAMIENTO CERO				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
1	180	26.2	46 gr	1842

Tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

46/80	55/80	46/80	32/80	42/80	48/80	41/80	55/80	39/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 35.9%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

16/80	28/80	38/80	27/80	32/80	24/80	19/80	32/80	24/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 21.33%

TRATAMIENTO CERO				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
2	230	32	59 gr	1784

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

52/80	48/80	54/80	41/80	47/80	50/80	31/80	42/80	47/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 36.62%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

18/80	24/80	16/80	22/80	31/80	27/80	28/80	21/80	24/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 18.75%

TRATAMIENTO CERO				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
3	170	30	40 gr	1740

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

52/80	61/80	54/80	48/80	37/80	42/80	57/80	61/80	41/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 40.26%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

21/80	27/80	31/80	14/80	21/80	18/80	21/80	30/80	36/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 19.46%

Anexo B. Datos de hembras del bagre del Patía *R. quelen* para la reproducción inducida para el tratamiento T1.

TRATAMIENTO UNO				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
1	150	29	36 gr	1832

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

38/80	21/80	27/80	21/80	22/80	27/80	31/80	27/80	28/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 21.50%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

27/80	31/80	21/80	17/80	15/80	21/80	18/80	21/80	25/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 17.41%

TRATAMIENTO UNO				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
2	250	32.7	57 gr	1748

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

41/80	47/80	38/80	32/80	28/80	20/80	51/80	57/80	42/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 31.64%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

27/80	34/80	38/80	17/80	24/80	17/80	61/80	51/80	53/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 28.62%

TRATAMIENTO UNO				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
3	80	24	22 gr	1722

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

31/80	28/80	37/80	30/80	32/80	37/80	21/80	18/80	27/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 23.20%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

30/80	37/80	41/80	22/80	25/80	27/80	27/80	28/80	31/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 23.82%

Anexo C. Datos de hembras del bagre del Patía *R. quelen* para la reproducción inducida para el tratamiento T2.

TRATAMIENTO DOS				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
1	170	32	37 gr	1727

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

51/80	62/80	49/80	37/80	41/80	45/80	27/80	31/80	26/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 32.80%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

47/80	51/80	42/80	31/80	37/80	28/80	31/80	27/80	24/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 28.26%

TRATAMIENTO DOS				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
2	208	29.4	62 gr	1742

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

61/80	72/80	64/80	67/80	72/80	64/80	61/80	77/80	79/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 54.84%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

57/80	63/80	54/80	57/80	54/80	61/80	67/80	73/80	67/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 49.15%

TRATAMIENTO DOS

No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
3	213	28	61 gr	1847
tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)				

51/80	47/80	58/80	62/80	61/80	64/80	59/80	38/80	51/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 43.64%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

42/80	47/80	49/80	47/80	41/80	44/80	48/80	37/80	41/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 35.46%

Anexo D. Datos de hembras del bagre del Patía *R. quelen* para la reproducción inducida para el tratamiento T3.

TRATAMIENTO TRES				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
1	184	27.8	51 gr	1812

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

47/80	54/80	41/80	38/80	41/80	47/80	51/80	58/80	54/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 38.30%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

28/80	37/80	24/80	24/80	31/80	38/80	38/80	41/80	31/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 25.96%

TRATAMIENTO TRES				
No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
2	160	25.8	48 gr	1822

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

41/80	54/80	58/80	51/80	53/80	53/80	52/80	55/80	54/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 41.86%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

41/80	38/80	31/80	42/80	47/80	41/80	31/80	27/80	34/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 29.50%

TRATAMIENTO TRES

No. hembra	Peso (gr)	Talla (cm)	Peso de oocitos	#oocitos / gr
3	230	30	57 gr	1841

tasa de Fertilidad (#oocitos vivos / muestra)

51/80	37/80	47/80	61/80	67/80	52/80	52/80	57/80	41/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de fertilidad = 41.33%

Tasa de sobrevivencia embrionaria (#oocitos vivos / muestra)

27/80	38/80	35/80	35/80	41/80	47/80	41/80	31/80	38/80
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tasa de Sob. Embrionaria = 29.60%

Anexo E. Protocolo del proceso Histológico en embriones de peces.

Fijación. Se fijó y conservó en soluciones de formaldehído al 10% amortiguado a un pH 7, conservando los tejidos de forma que muestren el mayor parecido posible al estado vivo. Interrumpiendo los precensos celulares que ocurren a la muerte de la célula.

Deshidratación. Las muestras de oocitos y embriones se procesaron y se eliminó el fijador, se realizó la deshidratación eliminando el contenido de agua del tejido. Se aplicó una serie gradual de soluciones acuosas de agente deshidratante como alcohol etílico o acetona al 50% luego a 60%, 70%, 80%, 90%, 96% alcanzando una manera paulatina hasta llegar al 100% evitando así la deformación de los tejidos.

Aclaración o diafanización. Luego de deshidratar el tejido, se pasó la muestra a una solución misible como el xileno o xilol, para aclarar el tejido ya que se torna transparente al estar en contacto con el alcohol, cambiando su índice de refracción.

Inclusión o impregnación. Para la inclusión se utilizó sustancias firmes y consistentes como la gelatina o parafina obteniendo cortes suficientemente finos para ser observados al microscopio. Se colocó la muestra en un recipiente agregando parafina fundida a 60°C, luego la muestra se la coloca en una estufa por una hora manteniendo la temperatura a 60°C. Debido al calor, el xilol o el benzol se evaporaran y los espacios ocupados por ellos son ahora ocupados por la parafina, posteriormente se coloca la muestra y un poco de parafina fundida en un molde de plástico de forma rectangular dejando solidificar a temperatura ambiente, formando un bloque sólido de parafina con la muestra de tejido incluido.

Sección o corte. El bloque se cortó en secciones suficientemente delgadas como para permitir el paso de luz. Con un grosor entre 3 y 7 micras. Para estos cortes se utilizó la ayuda de un micrótomo.

Montaje y tinción. Los cortes se colocaron sobre un portaobjetos a los que se les agregó una cantidad de bálsamo de Canadá, el cual actúa como adhesivo. La parafina se eliminó en un solvente orgánico y luego se incluyó en xilol, el corte se rehidrata pasando por una serie de graduaciones decrecientes de alcohol etílico hasta llegar a una solución 100% de agua.

Tinción de tejido. Para la tinción se empleó colorantes como Hematoxilina y Eosina. Una vez teñido , se hidrató de nuevo, de tal manera que pueda fijarse permanentemente al cubreobjetos. El cubreobjetos no solo protege al tejido sino facilita la observación al microscopio para la posterior toma de fotografías.

Anexo F. Registro de peso y talla de reproductores de *Rhamdia quelen*

Hembras			Machos		
	Peso	Talla		Peso	Talla
1	80	24	1	110	26
2	150	29	2	110	24,7
3	160	25,8	3	117	25
4	170	30	4	121	18,2
5	170	32	5	121	17,8
6	180	20,02	6	128	26,4
7	184	27,8	7	130	28
8	208	29,4	8	130	26
9	213	28	9	131	26
10	230	32	10	131	25,7
11	230	30	11	135	25,4
12	250	32,7	12	142	26,5
			13	142	22,4
			14	146	26
			15	147	26
			16	150	29,5
			17	168	29
			18	170	31,4
			19	170	31
			20	170	30
			21	171	30
			22	171	30
			23	177	31,4
			24	180	21,4
			25	181	19,8
			26	182	19,8
			27	184	28
			28	190	31
			29	191	21
			30	191	21,6
			31	192	30,7
			32	208	28,7
			33	208	28,1
			34	210	29
			35	220	30,7
			36	230	32,7
Promedio	185,42	28,39	Promedio	162,64	26,53
Desviación Estándar	45,66	3,66	Desviación Estándar	33,01	4,04

