

BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y AVANCES EN EL CULTIVO DEL CATÁN *TRACTOSTEUS SPATULA*

Roberto Eduardo Mendoza Alfaro
Carlos Javier Aguilera González
Jesús Montemayor Leal



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ROBERTO EDUARDO MENDOZA ALFARO / CARLOS JAVIER AGUILERA GONZÁLEZ
JESÚS MONTEMAYOR LEAL

●
BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y AVANCES
EN EL CULTIVO DEL CATÁN *TRACTOSTEUS SPATULA*



Biología, ecología y avances en el cultivo de catán *Atractosteus spatula*







BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y AVANCES EN EL CULTIVO DEL CATÁN *ATRACTOSTEUS SPATULA*

Roberto Eduardo Mendoza Alfaro
Carlos Javier Aguilera González
Jesús Montemayor Leal

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE NUEVO LEÓN
Secretaría de Extensión y Cultura

Jesús Áncer Rodríguez
Rector

Rogelio Garza Rivera
Secretario General

Rogelio Villarreal Elizondo
Secretario de Extensión y Cultura

Celso José Garza Acuña
Director de Publicaciones

Facultad de Biología
Juan Manuel Alcocer González

Biblioteca Universitaria Raúl Rangel Frías
Alfonso Reyes 4000 norte, Planta principal
Monterrey, Nuevo León, México, C.P. 64440
Teléfono: (5281) 8329 4111 / Fax: (5281) 8329 4095
e-mail: publicaciones@seyc.uanl.mx
Página web: www.uanl.mx/publicaciones

© Universidad Autónoma de Nuevo León

© Roberto Eduardo Mendoza Alfaro, Carlos Javier Aguilera González y Jesús Montemayor Leal

ISBN: 978-607-433-359-6

Impreso en Monterrey, México
Printed in Monterrey, Mexico

PRÓLOGO

La acuicultura ha ido incrementando su importancia a nivel global, como una estrategia para garantizar la seguridad alimentaria, incremento que oscila anualmente alrededor del 10% y 5%, a nivel mundial y nacional, respectivamente, con producciones mundiales que alcanzan los 60 millones de toneladas.

Siendo México un país megadiverso, se explotan unas 550 especies marinas y 115 de agua dulce, recursos pesqueros y acuícolas que forman parte de nuestro patrimonio. Para que esta explotación se realice de manera sustentable, la investigación y desarrollo tecnológico deberá orientarse a conocer nuestro patrimonio natural

en tres vertientes: recursos explotados, recursos con potencial y recursos para cultivo, acorde a las circunstancias y realidades ambientales y socioeconómicas de cada región.

Esta orientación resulta apremiante ya que aunque México se encuentra dentro de los 17 países con mayor producción pesquera, erróneamente no hemos valorado este contexto, ya que la pesca y la acuicultura aportan menos del uno por ciento del Producto Interno Bruto. Sin embargo, de estas actividades dependen más de 1.2 millones de personas, sin contar que indirectamente se generan otros 2.4 millones de empleos dentro de la misma cadena productiva.

En consecuencia, los cambios en el

ordenamiento político del país y su inserción en el mercado global requieren una reflexión sobre acciones necesarias para la pesca y la acuicultura ordenadas, y el trazo de una ruta crítica para reposicionar al sector en las políticas de desarrollo nacionales.

Conscientes de la relevancia que la producción acuícola, y primordialmente el desarrollo de las especies nativas, tiene para el país, se deberá de proponer la ordenación acuícola haciendo la actividad sustentable, declarando como objetivo central la necesidad de incrementar significativamente la producción nacional, tanto por la vía de la optimización de la producción actual, como por el desarrollo de nuevas alternativas de producción, mediante la incorporación de nuevas especies, en donde predominen las nativas, con potencial de cultivo.

Con base en lo anterior se pretende que las orientaciones estratégicas contenidas en este

documento estén sustentadas en el diagnóstico y análisis integral de diferentes factores que intervienen en el desarrollo de nuevas especies, considerando los aspectos económicos, sociales, ambientales, biológicos y tecnológicos con una aproximación regional.

Se presenta en este libro, un conjunto de estrategias de domesticación que pueden servir de plataforma para facilitar el proceso de consulta e integración de la información referente a los Lepisostéidos en México. Esta información, sin duda, podrá derivar en estudios que permitan no sólo la conservación de la especie en el entorno natural, sino la generación de estrategias de producción de carne de alta calidad que permitan el desarrollo de las comunidades regionales.

DR. MARCO LINNÉ UNZUETA BUSTAMANTE
Director de Acuicultura
Instituto Nacional de Pesca

INTRODUCCIÓN

El catán (*Atractosteus spatula*) es la especie dulceacuícola de mayor tamaño que habita en las aguas continentales de México. En nuestro país su localización se restringe a la vertiente del Golfo de México y se le encuentra específicamente en el estado de Tamaulipas y norte de San Luis Potosí, Nuevo León y Veracruz. En estos estados existe un mercado bien establecido, ya que es apreciado por la calidad de su carne y por su tamaño, además estos peces también son objeto de pesca deportiva, ya que su tamaño los convierte en un atractivo trofeo (pueden alcanzar hasta 3 metros de largo). Sin embargo, en la actualidad no existen normas que regulen su captura, lo cual ha provocado una explotación desmedida. Esto, aunado a las alteraciones de su hábitat, ha hecho que los volúmenes de su captura decrezcan. Esta disminución en los niveles

poblacionales actualmente implica no sólo la privación de un recurso tradicional para los pescadores y comerciantes de la región Noreste, sino también el riesgo de que la especie se extinga. A este respecto, desde hace varios años se viene argumentando, que de no protegerse permanentemente se corre el riesgo de desaparecer de la zona. Así mismo, se ha señalado la necesidad de establecer zonas reservadas para la conservación de la especie, dándole oportunidad para que se reproduzca. Esta situación no es exclusiva de nuestro país, ya que en diversas regiones de Norte América se ha propuesto que esta especie sea considerada como amenazada o en peligro.

Considerando el valor faunístico de esta especie, por ser endémica y por la situación actual de sus poblaciones que tienden a desaparecer, su valor científico, por tratarse de organismos



pancrónicos y sus posibilidades de explotación comercial, se plantea un problema de índole científico, social y económico, cuya solución requiere de una base teórica que sirva como punto de partida en la elaboración de medidas eficaces para su conservación y aprovechamiento, como lo sugieren León *et al.*, (1978). Esta solu-

ción radica en el desarrollo de técnicas dirigidas hacia el control de la reproducción en cautiverio, así como del dominio del manejo y alimentación de larvas y juveniles, como una medida para recuperar las poblaciones amenazadas y la disminución de la presión ejercida sobre éstas, por medio del cultivo comercial de la especie.



CAPÍTULO 1

SISTEMÁTICA Y DISTRIBUCIÓN DE CATANES, PEJELAGARTOS Y AGUJAS (FAMILIA *LEPISOSTEIDAE*) EN MÉXICO

SALVADOR CONTRERAS BALDERAS¹, Y GORGONIO RUIZ CAMPOS²

¹. Profesor Emérito, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. (✉)

². Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California

Los catanes o peces lagartos son organismos sumamente antiguos, con estructuras primitivas, que pueden considerarse verdaderos fósiles vivientes. Las primeras especies aparecieron en el Periodo Cretácico, esto es 180 millones de años atrás, y florecieron en casi todo el mundo (excepto Asia), para luego disminuir hasta las siete especies en dos géneros que aún prevalecen en Norte y Centro América.

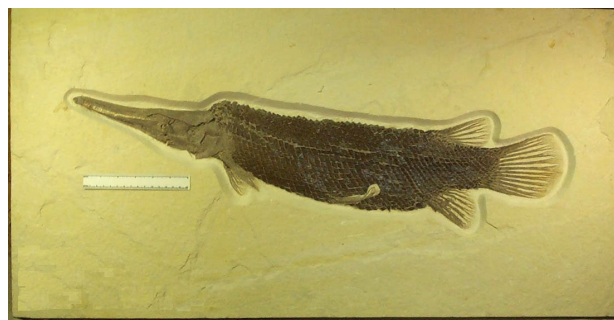


Figura 1.1.- Fósil de lepisostéido (*Lepisosteus simplex*). (Tomado de la página Fossil Museum).

Taxonomía

Estos catanes se clasifican modernamente en la siguiente secuencia taxonómica:

Clase: *Actinopterygii*

Subclase: *Neopterygii*

Orden: *Lepisosteiformes*

Familia: *Lepisosteidae*

Géneros: *Lepisosteus* y *Atractosteus*

La controversia científica en cuanto al orden taxonómico al cual pertenecen (*Lepisosteiformes* versus *Semionotiformes*), es discutible y queda fuera del contexto de este capítulo.

Son peces de tamaño mediano a grande, pues como adultos alcanzan desde 60 hasta 250 cm de longitud. Estos peces son carnívoros, con fuertes dientes en varias filas. Sus cuerpos son alargados y cilíndricos, cubiertos de escamas pesadas, rómbicas, llamadas ganoideas, que les permiten poca flexibilidad. Generalmente prefieren aguas de movimiento lento, como pozas grandes, lagos, ríos mayores, estuarios, esteros y marismas. Las especies actuales son esencialmente dulceacuícolas, aunque toleran amplias variaciones en salinidad, por lo que algunas especies se encuentran frecuentemente en aguas salobres. Las aguas estancadas generalmente

son bajas en oxígeno, que los catanes toleran fácilmente dado que tienen una vejiga natatoria conectada al tubo digestivo, por el que pueden respirar oxígeno atmosférico, a través de sus paredes ampliamente vascularizadas y con pliegues.

Las aletas no presentan espinas, pero tienen fuertes radios, delineados anteriormente por fulcras biseriadas que les proporcionan cierta dureza. Presentan una sola aleta dorsal, opuesta a la anal. La aleta caudal es sencilla, con borde convexo y se desarrolla de la cara ventral de la columna vertebral, que se curva hacia el dorso y termina adelgazada justo en la base de la aleta de tipo heterocerca. Es en esta porción que los juveniles presentan un filamento formado con los remanentes posteriores de la columna vertebral, que desaparece al crecer.

En el noreste de México existen tres especies de lepisostéidos, el catán (*Atractosteus spatula*), la aguja o agujón (*Lepisosteus osseus*) y el catán pinto (*Lepisosteus oculatus*). Todas ellas pueden ser encontradas en el bajo Río Bravo y sus ríos tributarios. Estas especies son fácilmente distinguibles por el tamaño y forma de su hocico, consumiendo sus presas en relación al tamaño de su boca.

Los catanes son ovíparos, con fertilización externa. Se reproducen en aguas bajas, protegidas, a donde acuden en grupos de una hembra y varios machos. Los huevecillos son adhesivos y



Figura 1.2.- Rostros de tres especies de lepisostéidos (de izquierda a derecha *A. spatula*, *L. oculatus* y *L. osseus*)

tóxicos, mientras que las larvas recién eclosionadas están provistas de una ventosa que les permite anclarse en la vegetación o sobre objetos del fondo. No se conoce cuidado paternal en estas especies. Los machos maduran a menor talla que las hembras.

Varias de las especies se usan en la alimentación humana, como el catán (*Atractosteus spatula*), y el pejelagarto (*A. tropicus*), que llegan a ser importantes como platillos regionales. Igualmente, son sujetos de pesca deportiva, sobre todo las especies más grandes. Su aspecto y gran tamaño, hacen sospechoso a *A. spatula* de posibles ataques al humano, pero no se conoce ningún caso de tal naturaleza. Además, sus dientes, aunque puntiagudos, no son precisamente cor-

tantes. Sus reacciones cuando son molestados, son huir hacia aguas profundas.

El orden zoológico existe desde el Jurásico, cuando las especies eran relativamente comunes, y de distribución global. Posteriormente se diferenció en las líneas actuales que se constituyen en géneros. El género *Lepisosteus* tiene especies donde los palatinos de los adultos no presentan dientes, y tienen de 14 a 33 branquiespinas en el primer arco branquial. Las especies de *Atractosteus* tienen dientes en los palatinos de los adultos.

Los miembros actuales de esta familia alcanzan tallas cercanas a los 3 metros (*A. spatula*), aunque la mayoría tienen de entre poco menos de uno hasta uno y medio metros.

Se conocen siete especies existentes, de las cuales cuatro habitan en México. Las siete especies y sus distribuciones son las siguientes, con las especies con distribución en México en letra negrilla:

- ***Lepisosteus oculatus*** Winchell, 1864 - Norteamérica desde los Grandes Lagos (Canadá/USA) y Alto Río Mississippi (USA), excepto la mayor parte de Florida hasta la Laguna Madre. Hay registros recientes en el Río San Fernando medio (Contreras-Balderas *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2005).
- ***Lepisosteus osseus*** (Linnaeus, 1758) - Norte América desde el Río San Lorenzo (Canadá/

USA), incluyendo norte y centro de Florida, hasta el Bajo Río Pánuco (México).

- *Lepisosteus platostomus* Rafinesque, 1820 - Lago Michigan, y Río Mississippi, desde el Río Ohio hasta Louisiana.
- *Lepisosteus platyrhincus* De Kay, 1842 - Ríos de Florida peninsular.
- *Atractosteus spatula* (Lacépède, 1803) - Norte América desde los ríos Ohio y Missouri, hasta la Laguna de Tamiahua.
- *Atractosteus tristoechus* (Bloch y Schneider, 1801) - Isla de Cuba e Isla de la Juventud (= Pinos).
- *Atractosteus tropicus* Gill, 1863 - Río Coatzacoalcos a Río Usumacinta en las vertientes del Golfo de México, y Lago de Nicaragua hasta la Laguna Tortuguero (Costa Rica), y en las vertientes del Océano Pacífico desde Oaxaca hasta el Golfo de Fonseca (Honduras).

La nomenclatura de los lepisostéidos es compli-

cada, oscilando entre dos géneros actuales, con numerosos sinónimos, pero no se profundiza en estos aspectos, que acarrearían confusión, y que se considera deben reservarse para la literatura científica en el campo de la Biosistemática. Los interesados pueden consultar las obras de Suttkus (1963) y Wilson (1976). Se sabe también de una obra próxima a salir (L. Grande, en prensa), que revisa este grupo de los catanes. No se pueden anticipar las interesantes e importantes conclusiones de este autor, que se conocerán hasta que se publique su trabajo. Sólo se puede adelantar que apoya la resurrección del Orden Holostei para los catanes, un taxón que se usó el siglo pasado y que es reevaluado con nueva información.

Quienes deseen ampliar su panorama de la clasificación alta de la familia, pueden consultar la obra de Nelson (2006).

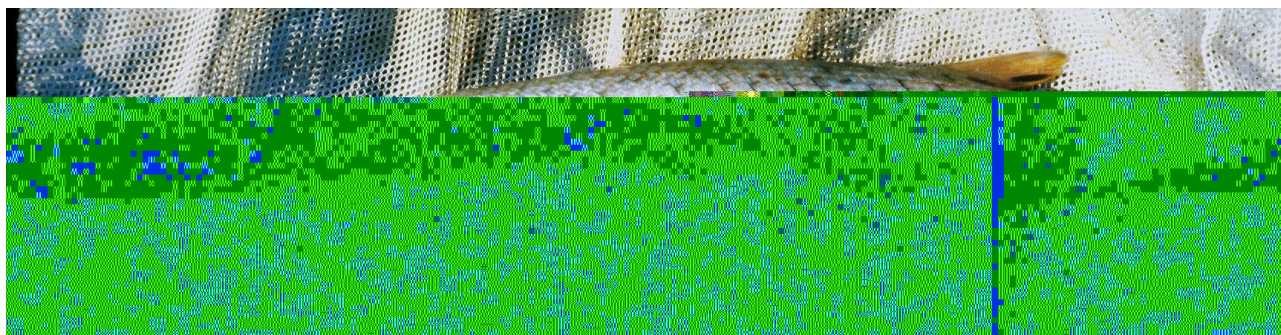
Lepisosteus oculatus / Catán pinto



Reconocimiento. Talla máxima total 819 mm. Hocico y rostro medianamente alargados, su anchura mínima 4.5 a 11 veces su longitud. Escamas en línea lateral 53-59 y predorsales 45-54. Branquiespinas totales 14-33. Cabeza y cuerpo con numerosos lunares y manchas oscuras. Adultos con placas óseas en la superficie ventral

del istmo. Es estrictamente dulceacuícola y no tolera salinidad, prefiriendo hábitats lénticos con vegetación enraizada y flotante. La mención de su presencia en San Luis Potosí y Veracruz (Espinosa-Pérez *et al.*, 1993) es inválida. Se agrega el Río San Fernando a su distribución natural (Contreras-Balderas *et al.*, 2004).

Lepisosteus osseus / Aguja



Reconocimiento: Hocico y rostro sumamente alargados, su anchura mínima 13 a 25 veces su longitud, de donde se deriva el nombre común de aguja. Escamas en línea lateral 57-63 y predorsales 47-55. Branquiespinas totales 14-33. Frecuentemente con lunares en la parte poste-

rior del cuerpo y aleta caudal. Adultos con palatinos sin dientes agrandados. Puede tolerar aguas con contenido salino enteramente marino, medio en el que es muy frecuente. Antiguamente llegaba hasta Valles, San Luis Potosí.

Atractosteus spatula / Catán



Reconocimiento. Talla máxima total 2,159 mm. Hocico y rostro anchos y cortos, con aspecto de caimán. Escamas en línea lateral 58-62 y predorsales 48-54. Branquiespinas totales 59-66. Adultos con palatinos provistos de dientes agrandados.

Puede tolerar aguas con contenido salino enteramente marino. La abundancia de este pez ha venido disminuyendo en los embalses del noreste de México, por lo que su estado actual de conservación es considerado vulnerable (Jelks *et al.*, 2008).

Atractosteus tropicus / Pejelagarto



Reconocimiento. Talla máxima total 1,000 mm. Hocico y rostro anchos y cortos, con aspecto de caimán. Escamas en línea lateral 51-56, y predorsales 43-48. Adultos con palatinos provistos de dientes agrandados. Todo el cuerpo con manchas grandes, irregulares. Es estrictamente dulceacuícola y no tolera salinidad.

Los datos anteriores y las fotografías deben orientar al lector en la identificación de los ejemplares que capture o vea. También puede examinar sus ejemplares y compararlos por medio de la clave de identificación que a continuación se ofrece, o consultar con expertos.

CLAVE ARTIFICIAL PARA IDENTIFICAR LAS ESPECIES DE LEPISOSTEIDAE MEXICANOS
(MODIFICADA de Suttkus, 1963)

- 1a. Número de total branquiespinas en el arco branquial más externo de 59 a 81. Huesos palatinos en adultos con series de dientes alargados (*Atractosteus*)..... 2
- 1b. Número total de branquiespinas en el arco branquial más externo de 14 a 33. Huesos palatinos en adultos sin dientes alargados (*Lepisosteus*)..... 3
- 2a. Escamas de la línea lateral de 58 a 62. Hileras de escamas diagonales entre la inserción de la aleta pélvica y origen dorsal 34 a 38*Atractosteus spatula*
- 2b. Escamas de la línea lateral de 51 a 56. Hileras de escamas diagonales entre la inserción de la de la aleta pélvica y origen dorsal 28 a 32*Atractosteus tropicus*
- 3a. Ancho mínimo del hocico 13 a 25.5 veces en su longitud en ejemplares mayores de 50 mm de longitud total..... *Lepisosteus osseus*
- 3b. Ancho mínimo del hocico 4.5 a 11 veces en su longitud en ejemplares mayores de 50 mm de longitud total.....*Lepisosteus oculatus*



CAPÍTULO 2

ECOLOGÍA DE LOS LEPISTÓTEOS

ROBERTO MENDOZA¹, CARLOS AGUILERA¹ Y JESÚS MONTEMAYOR¹

¹ Grupo Ecofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL

Particularidades de los lepisostéidos

Los lepisostéidos constituyen un grupo de peces muy particular, ya que la prevalencia de varias de sus características primitivas los separa del resto de los teleósteos. En relación con esto, Wiley (1976) establece que los lepisostéidos tienen al menos 27 caracteres únicos entre los actinopterigios, lo que permite corroborar la hipótesis de su origen monofilético como grupo. Suttkus

(1963) señala varios rasgos distintivos de los lepisostéidos que sin duda contribuyeron a su supervivencia durante millones de años, entre los que se encuentra su rígida cubierta protectora proporcionada por escamas rómbicas articuladas entre sí por sus bordes (Fig. 2.1). Este tipo de escamas, exclusivas de su género, son únicas entre los peces (*Lepisosteus* = escama osea).



Figura 2.1.-Vista de las escamas ganoideas de un catán.

La vejiga natatoria está altamente vascularizada y se encuentra conectada con la faringe por el ducto neumático, lo cual los habilita con la capacidad de respirar aire atmosférico. El cono arterial del corazón tiene ocho hileras transversales con 4 a 8 válvulas cada una, lo cual los dota de una capacidad cardíaca particular. Poseen vértebras completamente osificadas y opistocélicas, *i.e.* la cara posterior es convexa y la anterior cóncava, una conformación única entre los peces vivos, esto les permite realizar movimientos rápidos y precisos, indispensables en el momento de atacar a sus presas. En el intestino posterior se presentan reminiscencias de válvula espiral, lo cual aumenta su capacidad digestiva, convirtiéndolos en predadores eficaces.

Hábitat

A las poblaciones de *A. spatula* se les encuentra en las pozas de los grandes ríos y frecuentemente se les ha visto en aguas salobres o marinas a lo largo de la costa del Golfo de México (Goodyear, 1966; Wiley, 1978; Robinson y Buchanan, 1988). De hecho, esta especie es considerada por diferentes autores como la más tolerante a la salinidad de entre los lepisostéidos (Suttkus, 1963). Es capaz de vivir por períodos indeterminados de tiempo en agua totalmente marina, como quedó demostrado por un espécimen que se mantuvo durante varios años en un acuario marino de exhibición (Gilbert, 1992). Goodyear (1967) reportó que al catán se le encontraba en aguas con salinidades de hasta 25 ppt, mientras que Gunter (1945), registró esta especie en las costas de Texas a salinidades de 31 ppt. A diferencia de *L. oculatus* que tiende a ser encontrado principalmente asociado con la vegetación, tanto *A. spatula* como *L. osseus* se encuentran en hábitats acuáticos más abiertos. Ambas especies parecen preferir lugares profundos dentro de los cuerpos de agua en donde se les localiza. En el caso de *L. platyrhincus*, la escasez de registros en agua marina o salobre indica la poca tolerancia de esta especie a las condiciones salinas (Suttkus, 1963). De manera similar, tampoco se tienen registros de que *L. oculatus* (Suttkus, 1963), ni *A. tropicus* (Resendez y Salvadores, 1983) penetren en aguas salobres o lagunas costeras.

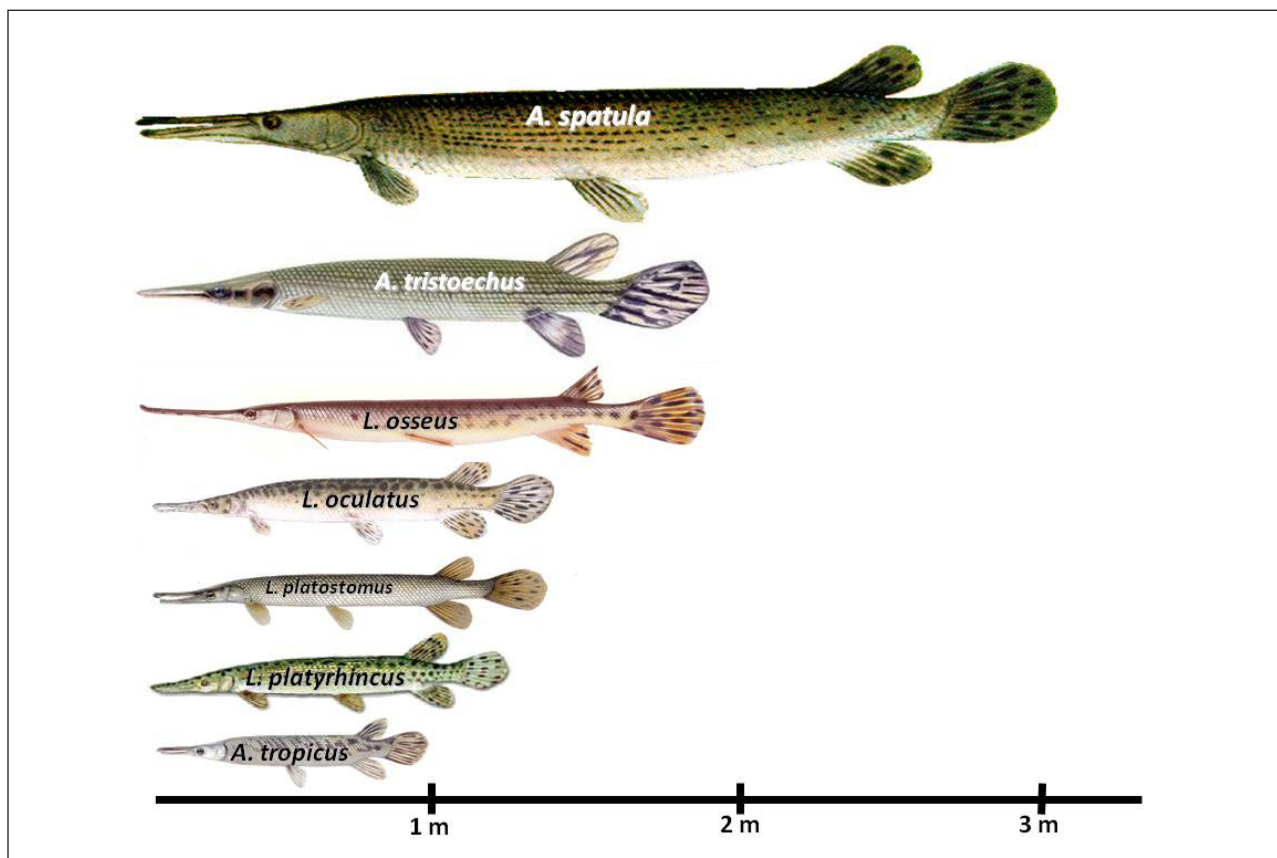


Figura 2.2.- Esquema comparativo de la talla de diferentes especies de lepisostéidos.

Crecimiento y alimentación

Los lepisostéidos se encuentran entre los peces con mayor velocidad de crecimiento (Netch y Witt, 1962) y se encuentran entre las especies

más grandes que habitan las aguas continentales. Dentro de los lepisostéidos, la especie que alcanza mayor tamaño es el catán *A. spatula* (Fig.

2.2). Para esta especie se han reportado tallas de hasta 304.8 cm de longitud total (TL) y casi 140 kg de peso (Suttkus, 1963; Carlander, 1969). Morales (1987), menciona que la tasa de crecimiento de *A. spatula* en cautiverio es 76 cm/año. *A. tristoechus* llega a alcanzar hasta 200 cm de largo (Leon *et al.*, 1978). Dentro de este género, contrasta la talla de *A. tropicus*, que es una especie relativamente pequeña. En efecto, la talla del pejelagarto varía de 37.7 a 90.5 cm y de 1.9 a 5 kg de peso (Chavez-Lomeli *et al.*, 1989), y en ocasiones llegan a la edad adulta en dos años, alcanzando 100 cm de longitud (Resendez y Salvadores, 1983). En este caso su precocidad para madurar parece limitar las tallas finales.

Netch y Witt (1962), en un experimento de crecimiento efectuado con *L. osseus*, señalan la extraordinaria tasa de crecimiento que exhibieron los individuos juveniles, llegando a crecer 6 veces más por día que otros peces. Este crecimiento, principalmente en longitud, lo atribuyen entre otros factores a la forma del cuerpo, argumentando que los peces más esbeltos tienden a alargarse más que los robustos, a la gran cantidad de alimento que pueden consumir (10% de su peso por día), manteniendo, sin embargo, una eficiente utilización del alimento con una tasa de conversión alimenticia de 2.34 y a su relativa inactividad, por lo que la energía estaría canalizada hacia el crecimiento.

Hábitos alimenticios

La escasez de organismos bentónicos encontrados en los contenidos estomacales y la abundancia de pelágicos (*e.g. Gambusia*), sugieren que su alimentación se realiza principalmente en la superficie (Echelle y Riggs, 1972). Se ha sugerido que este tipo de alimentación tiene cierta relación con su capacidad para respirar aire atmosférico, un proceso que ocurre con mayor frecuencia durante el verano, en las aguas poco profundas de los lagos.

Por otra parte, Holloway (1954), menciona que la alimentación de *L. platyrhincus* se lleva a cabo principalmente a la caída del sol o durante las noches, así como en los días nublados. Esto coincide con lo observado por Resendez y Salvadores (1983), quienes, en función del grado de digestión de los contenidos estomacales de *A. tropicus* y de la hora de captura, dedujeron que estos animales eran de hábitos nocturnos. De manera similar, Goodyear (1967), menciona que *L. osseus* es un predador activo en aguas abiertas, alimentándose preferentemente en la noche.

Se ha señalado que cuando se encuentran en grupo y alguno empieza a comer, el resto le sigue (Holloway, 1954). Esto podría ser indicativo de cierta jerarquía. Un aspecto interesante que se ha observado, es que cuando diferentes especies cohabitan en un mismo cuerpo de agua, ocupan

nichos ecológicos muy diferentes. Así, de acuerdo a observaciones de Goodyear (1967), el catán podría ser carroñero, mientras que otras especies (*L. osseus* y *L. oculatus*) serían exclusivamente predadores activos. Adicionalmente, tanto la talla de *A. spatula*, como el mayor tamaño de las especies que normalmente consume, en comparación con las que ingieren otras especies de lepisostéidos, lo excluyen como competidor de *L. osseus* y *L. oculatus*. Seidensticker (1987), observó que los catanes aprecian particularmente a aquellas especies mayores de 20 cm que se alimentan del bentos (*e.g.* bagres).

De manera general, los lepisostéidos se alimentan principalmente de peces y cangrejos o jaibas (Suttkus, 1963), aunque también se han encontrado restos de aves en sus contenidos estomacales (Raney, 1942) e inclusive basura (Goodyear, 1967). Aunque se han reportado las especies que estos peces consumen con mayor frecuencia, en los cuerpos de agua dulce en donde habitan (*Arius felis*, *Micropogon undulatus*, *Leiostomus xanthurus*, *Mugil cephalus*, *Menticirrhus sp.*, *Brevoortia patronus*, *Lagodon rhomboides*, *Symphurus plagiusa*, *Balistes sp.*, y de manera ocasional *Gallus domesticus*, y *Squilla empusa*), prácticamente se desconoce su dieta en ambientes salobres y marinos (Suttkus, 1963). En el caso del gallo, éste probablemente fue utilizado como carnada. Raney (1942) reportó que en el caso particular

del catán, éste eventualmente comía patos y pavos acuáticos (*Anhinga anhinga*), en Cuartex, Resaca, Texas. Gunter (1945), encontró restos de lisas en los intestinos de 50% de los especímenes en Texas. Mientras que el hecho de poder capturarlos utilizando peces muertos como carnada, ha orillado a diferentes autores a considerar que son carroñeros (Gunter, 1945; Suttkus, 1963; Seidensticker, 1987).

Preferencias alimenticias

Las preferencias alimenticias de los lepisostéidos parecen depender de varios factores, entre los que se cuentan la disponibilidad del alimento, la etapa de desarrollo y la especie. Así, *L. osseus*, *L. oculatus*, *L. platyrhincus* y *L. platostomus* en su etapa juvenil prefieren insectos, microcrustáceos y peces. A este respecto, se ha reportado que los juveniles de *L. osseus* pueden ser mantenidos exclusivamente con larvas de mosquito (Pearson *et al.*, 1979). Sin embargo, dentro de las especies anteriores, *L. osseus* muestra una mayor preferencia por los peces, con una marcada tendencia a incluir en su dieta un mayor porcentaje de peces a medida que crece (Holloway, 1954; Echelle y Riggs, 1972). Por otra parte, se ha observado que en los adultos de *A. tropicus*, los restos de peces, materia orgánica,

copépodos y restos de vegetales, constituyen los principales componentes alimenticios (Resendez y Salvadores, 1983). Sin embargo, en los juveniles, aunque el alimento principal sigue siendo los peces, los restos de insectos forman una parte importante de la dieta, difiriendo así de los hábitos de los adultos (Resendez y Salvadores, 1983). En menor proporción también se encontraron crustáceos decápodos (Chavez-Lomelí *et al.*, 1989). Esto indica que *A. tropicus* es un pez carnívoro especialmente en su etapa juvenil, sin embargo, poco a poco va aumentando la variedad de su dieta conforme crece, hasta incluir vegetales en ella cuando ya es adulto.

Los lepisostéidos comúnmente son considerados como un estorbo y como nocivos para las especies de peces que se capturan durante la pesca deportiva, y en particular dentro de los lepisostéidos, *A. spatula* tiene la peor reputación, aunque este aspecto ha sido objeto de controversias. En efecto, Toole (1971), muestra evidencias de un estudio realizado durante 5 años cuyos datos indican que tanto *A. spatula* como *L. osseus* y *L. oculatus*, son predadores de especies de forraje. De acuerdo a este autor, los tres lepisostéidos ingieren a las especies forrajeras en grandes porcentajes, sin embargo, esto se atribuye a hábitos alimenticios no selectivos que dependen sólo de la disponibilidad de alimento.

Sobre este propósito, Lagler (1942, citado por Holloway, 1954), señala que las poblaciones de lepisostéidos son mayores en donde se localizan poblaciones importantes de especies forrajeras. A este respecto, también se ha mencionado que debido a la distribución o al comportamiento de las especies forrajeras, éstas resultan más vulnerables que las especies de importancia deportiva (Echelle y Riggs, 1972). Por ejemplo, algunas de estas especies tienden a asociarse durante la noche en aguas poco profundas cerca de las orillas formando cardúmenes importantes, lo que las hace particularmente susceptibles a la predación por los lepisostéidos. Por el contrario, Netch (1964), indica que debido a los hábitos alimenticios de los lepisostéidos y la gran habilidad de las especies de peces de interés en la pesca deportiva para evitar la predación, existen pocas posibilidades de que las poblaciones de éstas se vean disminuidas. Aunado a esto, los estudios de diferentes autores indican que generalmente los contenidos estomacales de distintas especies de lepisostéidos (*L. oculatus*, *L. platyrhincus*, *L. osseus*) revelan que solo se alimentan de especies de interés para la pesca deportiva en un mínimo porcentaje y que en su lugar prefieren especies forrajeras (Dugas *et al.*, 1976; Crumpton, 1970) (Fig. 2.3), aún cuando algunas especies como la perca sean abundantes

en medio. Se ha señalado que el único daño para las especies deportivas sería el causado debido al consumo de las especies forrajeras, lo que reduciría el suplemento de alimento para las primeras (Dean, 1895). Por esta razón, se considera que los lepisostéidos son oportunistas en su alimentación, soportado por el hecho de que la inactividad que los caracteriza y por ende su carácter relativamente sedentario, indican que no van en busca de sus presas, sino que simplemente esperan a que se encuentren en las proximidades para atacarlas (Pearson *et al.*, 1979).



Figura 2.3. - Juvenil de catán ingiriendo especies forrajeras (Tomado de la página Aqualand Pets Plus).

Los hábitos omnívoros de los lepisostéidos aparecen desde la etapa larval, como lo demuestran las observaciones de Pearson *et al.*, (1979), quien menciona que las postlarvas de *L. osseus* pueden alimentarse indistintamente de microcrustáceos, larvas de insecto o larvas de peces, siendo la disponibilidad de cada una de las especies la que define su preferencia. Esta falta de selectividad en su alimentación queda de manifiesto al observar los objetos inusuales encontrados en los contenidos digestivos de diferentes especies. A este respecto, Crumpton (1970), menciona la ocurrencia de latas, anzuelos, huesos y plumas en el caso de *L. osseus*, mientras que Goodyear (1967) señala la presencia, no sólo de diferentes tipos de anzuelos, sino también de un pedazo de látigo, un carrete de acero inoxidable y el termostato de una máquina diesel.

Comportamiento predatorio

La estrategia de predación de los lepisostéidos ha sido descrita en particular para *L. osseus* (Suttkus, 1963; Netch, 1964). Esta especie normalmente no realiza movimientos innecesarios, permanece de preferencia inmóvil hasta que su presa se encuentra a su alcance y en ese momento, con un movimiento lateral muy rápido de la

cabeza atrapa súbitamente de un mordisco a la víctima. Generalmente, mantiene a su presa en el hocico durante varios minutos, hasta que su presa cesa de debatirse, posteriormente la voltea hasta que la cabeza apunta en dirección de su esófago y entonces procede a tragársela.

Vale la pena señalar que a pesar de los poderosos dientes con que se encuentran dotados los lepisostéidos (Fig. 2.4), en los contenidos estomacales prácticamente no se encuentran individuos en pedazos o mordidos, lo que sugiere que los dientes son utilizados principalmente para evitar que las presas escapen y el resto de la digestión queda a cargo de su eficaz sistema enzimático.

28



Figura 2.4.- Aspecto de la dentición de un ejemplar adulto de catán (Foto cortesía de Juan Ramón Armendariz).

Reproducción

Proporción Sexual

Los lepisostéidos presentan un comportamiento poco gregario, sin embargo durante la temporada de reproducción se les puede encontrar comúnmente formando grupos de decenas de individuos, habiéndose observado más de 20 individuos al mismo tiempo (Fig. 2.5) (Dean, 1895; Holloway, 1954; Alemán, 1987). Las hembras encabezan los grupos de reproductores, mientras que los machos avanzan detrás expulsando el esperma que fecundará los óvulos (Fig. 2.6.), los cuales son adherentes y se fijan a la vegetación sumergida (Contreras, 1987).



Figura 2.5 Hembra de catán seguida por varios machos. (Fotos de R. Landry de T. Baker Smith and Son, cortesía de Allyse Ferrara).



Figura 2.6.- Aspecto del inicio del cortejo reproductivo de *A. spatula*.

De manera general, se observa siempre un mayor número de machos que de hembras. Sobre este sesgo en la proporción, Suttkus (1963) menciona igualmente que cuando las hembras van a desovar se hacen acompañar de uno a cuatro machos. En el caso del pejelagarto, *A. tropicus*, se han reportado relaciones macho: hembra que van desde 0.82:1 (Chavez-Lomelí, 1989), pasando por proporciones de 1:1.2 (Resendez y Salvadores, 1983), 3:1 (Bejerano *et al.*, 1997), hasta proporciones de 5:1 (Gómez-Gómez, 1989; Pérez-Sánchez, 1995). Holloway (1954), reporta proporciones de 1:2 y de 1:1 machos por hembra para *L. platyrhincus* y señala proporciones que varían de 1:2 a 3:1 machos por hembra para *L. osseus*.

Sin embargo, las observaciones realizadas en el medio natural deben ser tomadas con cautela, ya que como lo señalan Netch y Witt (1962), existe una gran diferencia entre machos y hembras con respecto a longevidad y velocidad de crecimiento. Las hembras presentan una mayor velocidad de crecimiento y viven más tiempo que los machos. Así por ejemplo, en el caso de *L. osseus*, para el final del primer año los machos experimentan una gran mortalidad y están casi ausentes de la población. En contraste, en los registros se encuentran hembras de hasta 22 años. La diferencia en longevidad entre hembras y machos causa cambios drásticos en la proporción de sexos. Así, esta proporción a partir de muestras combinadas en el caso de *L. osseus* es de 1.2:1 machos por hembra, sin embargo esto es válido sólo cuando se trata de juveniles, ya que cuando se trata de organismos adultos, por causa de la longevidad, esta tasa se altera y la proporción cambia en sentido contrario.

La proporción sexual que se ha venido utilizando en el Centro Acuícola Tancol, localizado en Tamaulipas, durante la época reproductiva en cautiverio de los catanes (*A. spatula*) es de 2 machos por hembra (Morales, 1987). Por su parte, Rodríguez *et al.*, (1998), marcan una proporción de 10.5 machos por hembra en la presa Vicente Guerrero, también localizada en Tamaulipas. En cuanto a la edad, Ferrara (2001),

menciona la existencia de hembras de 52 años (estimación realizada en base a otolitos).

Comportamiento reproductivo

Dean (1895) describe el comportamiento reproductivo de *Lepisosteus* spp. en Black Lake, Carolina del Sur, indica que primeramente se les percibe en las regiones profundas del lago y posteriormente se les ve cerca de la orilla. Este autor menciona que es común ver cardúmenes con un número importante de individuos en la proximidad de las regiones de menor profundidad, en donde desovan. Al aproximarse a la orilla, los cardúmenes se fragmentan y se separan por grupos. Cada hembra se hace acompañar de 2 a 8 machos, los cuales nadan unos cerca de otros. El hocico de los machos, de color más claro, probablemente una coloración relacionada con la época reproductiva, presiona la región abdominal de la hembra. En este momento nadan con las aletas extendidas, y particularmente las dorsales y anales se encuentran erectas, de tal manera que estas últimas, junto con la caudal, son perceptibles desde lejos, mientras comienzan a entrar en aguas muy bajas (12.5 a 15 cm de profundidad). Posteriormente a su arribo, se presenta un período de quietud, el cual es seguido por movimientos hacia adelante, hacia

atrás y en círculos, cerca de la orilla, y minutos más tarde se presentan movimientos bruscos. Es en este momento que los huevos son expulsados y fertilizados, pudiéndose apreciar nubes de esperma en el agua. Este evento alterna con otro periodo de quietud de varios minutos el cual es seguido por movimientos circulares y una segunda ovoposición. El desove por lo general no ocurre durante las horas más calurosas del día (12:00 - 15:00), sino que se presenta a intervalos entre las 19:30 y 20:30 horas. Es probable que no todos los huevos sean depositados por la hembra durante un solo día.

Los desoves, en el caso del pejelagarto (Pérez-Sánchez, 1995) y del catán (Morales, 1987), ocurren durante la noche, llegando a prolongarse hasta el día siguiente. La gran concentración de individuos que se reúnen en las áreas de desove, se dispersa de inmediato a otras áreas después del evento reproductivo (Suttkus, 1963).

Un aspecto notable es la docilidad de los peces, ya que inclusive cuando se están apareando se les puede aproximar de muy cerca. Sin embargo, cuando se llega a capturar una hembra se produce una señal de alarma en la población, la cual es mucho más importante que si se capturan varios machos. En ningún caso se observaron evidencias de rivalidad entre los machos.

La resistencia de los adultos es remarcable. Así, Dean (1895), describe como pueden per-

manecer hasta dos horas activos fuera del agua, y aun proveer huevos y espermatozoides para la fertilización artificial.

Un comportamiento similar ha sido descrito por León *et al.*, (1978) en el caso de la reproducción en condiciones de cautiverio del manjuarí (*A. tristoechus*) y por Morales (1987) en el caso del catán (*A. spatula*). Sin embargo, vale la pena mencionar que en el primer caso, después de que los grupos de óvulos son fecundados, es necesario sacar a los machos del estanque, ya que se ha observado que comienzan a comerse los huevos.

Por otra parte, existen evidencias de que algunas de las especies realizan migraciones para desovar, como el caso de *L. osseus* (Netch y Witt, 1962).

Sustrato

Todos los lepisostéidos requieren de un sustrato para desovar (Bejarano *et al.*, 1997). Así, en el medio natural *L. osseus* deposita sus huevos sobre rocas o cubiertas de algas, mientras que *L. platostomus* deposita los huevos en pequeñas masas sobre pastos y algas. *L. oculatus*, por su parte, desova sobre vegetación muerta y cubiertas de

algas (Simon y Wallus, 1989). Se ha señalado que a pesar del carácter relativamente uniforme de la orilla de los lagos en donde se reproducen, existen ciertos lugares en los que prefieren desovar (Dean, 1895).

Considerando los aspectos anteriores, en la reproducción en cautiverio se recurre a la confección de “nidos”, en donde los animales colocan sus huevos (Fig.2.7). En el caso del manjuarí (*A. tristoechus*), se utilizan nidos de pino, ya que tienen menos posibilidad de encontrarse contaminadas con parásitos de los peces y resisten una gran cantidad de días bajo el agua sin descomponerse (León *et al.*, 1978). Frecuentemente se construyen nidos con ramas insertadas en trozos de malla, ya que así pueden ser trasladados a otros estanques y por otra parte ofrecen la facilidad de poder retirar los huevos muertos y los óvulos no fecundados para evitar la extensión de la saprolegniosis. En el caso del catán (*A. spatula*), previamente se colocan ramas de cauarina en los extremos y centro de los estanques, que servirán como sustrato para los huevecillos de naturaleza adherente (Morales, 1987). Para los desoves del pejelagarto (*A. tropicus*) se han ensayado diversos sustratos y actualmente se utiliza rafia (A. Álvarez, *comunicación personal*).



Figura 2.7.- Huevos de catán sobre ramas de *Casuarina sp.*

Toxicidad de los huevos

Existen evidencias que señalan que los huevos de los lepisostéidos son venenosos. A este respecto, Netch y Witt (1962), reportaron que la ingestión de los huevos de *A. spatula* fue suficiente para matar a 90 gallinas. Además mencionan que no se presenta ingestión voluntaria, por lo que es necesario forzar a los animales experimentales a comerlos. Ni perros, ni gatos, ni gallinas los ingieren voluntariamente. Los huevos resultan igualmente tóxicos para los ratones. Sin embargo, en todos los casos registrados, la toxicidad no afecta a los predadores naturales de las diferentes

especies de lepisostéidos, por lo que algunos peces pueden ingerirlos sin complicaciones, como es el caso del cíclido *Lepomis macrochirus* y de la carpa de río (*Carpoides carpio*).

Dentro de las diferentes especies de lepisostéidos, la huevo de *L. osseus*, *L. oculatus* y *A. spatula* es particularmente tóxica (Burns *et al.*, 1981). La huevo de las diferentes especies resultó en una mortalidad distinta sobre los ejemplares de langostino en los que se probó, en ensayos de inyección y alimentación experimental. Se observó 100% de mortalidad con la huevo de *A. spatula*, 77% con la de *L. osseus* y 38% con la de *L. oculatus*. Se sabe que la toxina actúa sobre el corazón produciendo bradicardia, un efecto inotrópico negativo relacionado con la interferencia de flujo de iones Ca^{++} en el músculo cardiaco.

Se ha postulado que la existencia de esta toxina tiene cierta relación con la ecología reproductiva de las especies de lepisostéidos. Así, por ejemplo, *L. oculatus* tiene huevos muy pequeños con matices verde-grisáceos que son desovados en áreas de densa vegetación, por lo que en función de éstas características es probable que no se requiera de un alto nivel de toxicidad. En cambio, las otras dos especies (*L. osseus* y *A. spatula*) desovan huevos cuya pigmentación es más aparente y esto se lleva a cabo en áreas más desprotegidas, lo que sugiere la necesidad de una mayor toxicidad. El hecho de que la hue-

va sea tóxica limita su utilización en la producción de caviar, como en el caso del esturión (Suttkus, 1963).

Temporada de reproducción

Los lepisostéidos desovan típicamente durante la primavera y principios del verano (Simon y Wallus, 1989). Durante este tiempo el desove tiene lugar de manera intermitente, por lo que se considera que sólo son 6 o 7 días efectivos durante la temporada (Dean, 1895).

Dentro de los casos más documentados se encuentra el del pejelagarto (*A. tropicus*), para el cual se ha observado, en el Río San Pedro, que de marzo a octubre una parte importante de la población de machos y hembras se encuentran en estado de madurez avanzado. En esta localidad se lograron localizar de manera aislada ejemplares maduros en diciembre y febrero. Esto sugiere un potencial de reproducción permanente, con un período de reproducción más intenso de abril a septiembre (Chávez-Lomelí, 1989). Igualmente, coincide con las observaciones de Gómez (1987) quien señala que la temporada de desove inicia en mayo y finaliza en septiembre. Dentro de este rango, Resendez y Salvadores (1983) mencionan que la maduración gonádica inicia en abril, y ya para junio se aprecian organismos maduros, a punto de desovar. El desove

ocurre en los meses de agosto y septiembre. En concordancia con lo anterior, Pérez-Sánchez (1995) señala que el pico de la temporada reproductiva de esta especie se presenta de junio a agosto.

En contraste con lo anterior, en el Lago Texoma, Oklahoma, se reporta un corto período de reproducción para *L. oculatus* y para *L. osseus*, que va de mediados de abril a finales de mayo, observándose pocos o ningún desove en las primeras semanas de junio (Echelle y Riggs, 1972). De cualquier manera el pico de desoves se sitúa en el mes de mayo y es precedido por una elevación en la temperatura del agua. Los desoves se han observado a temperaturas de 68 a 86 °F (20-30°C). Estas observaciones divergen de las de Holloway (1954), quien observó que la temporada reproductiva de *L. platyrhincus* comenzaba a principios de mayo y se prolongaba hacia finales de septiembre. Sin embargo se señala que el pico de desoves se sitúa en julio y agosto, y que sólo aquellos organismos que no alcanzaron a desovar en agosto lo hicieron en septiembre, mientras que los desoves de *L. osseus* se enmarcaban dentro de un periodo comprendido entre abril y julio.

La extensión de los períodos reproductivos parecería estar en relación con la latitud, y por supuesto con la temperatura. En este sentido, Suttkus (1963) menciona que el desove siempre se lleva a cabo en agua dulce durante un breve período de la mitad de mayo a la mitad de junio en la latitud

de Nueva York. Por su parte, Breder y Rosen (1966) reportan que el período de máxima actividad sexual de *L. platostomus* se presenta en julio.

Un dato que viene a confirmar la suposición anterior, es el emitido por Morales (1987), quien describe que los catanes (*A. spatula*) desovan cuando la temperatura promedio del agua se eleva por encima de los 27°C, misma que en la parte sur de Tamaulipas se alcanza en los meses de mayo a julio. Por otra parte, es notable la preferencia térmica de las especies, ya que en el caso del manjuarí (*A. tris-toechus*) en Cuba, la temporada de reproducción va de mayo-junio (León *et al.*, 1978) cuando se presentan temperaturas que oscilan entre los 24 y 30°C y al parecer la hora y la luminosidad no importan.

De acuerdo a Dean (1895), la temperatura del agua es el factor más determinante sobre la temporada de desove. La temperatura de las aguas menos profundas, donde el desove tiene lugar en Carolina del Sur, oscila entre los 66-70°F (19-21°C). Este mismo autor señala que la temperatura del aire en conjunto con fuertes vientos y lluvias, no tiene un efecto tan marcado sobre la temporada de reproducción. Sin embargo, existen argumentos que indican que la lluvia tiene efectivamente cierta repercusión sobre la temporada de desove. Así, se ha sugerido que es importante que crezca el nivel del agua en las zonas inundables, con el fin de que la maleza sirva como sustrato para los huevos adheribles. Igualmente, se ha pos-

tulado una cierta sincronía en relación con la aparición de zooplancton con las lluvias, esta producción se vería favorecida por el efecto de la putrefacción de los pastos, contribuyendo así a fertilizar el sistema. Esto sin duda aseguraría la viabilidad de las futuras larvas. A este respecto, Pérez-Sánchez (1995), menciona que la ocurrencia de los desoves depende de factores ambientales tales como la precipitación pluvial y la consecuente inundación de zonas aledañas a ríos y lagunas, lo que propicia el incremento de poblaciones planctónicas de cladóceros y copépodos. Así mismo, se ha postulado que la lluvia ayuda a liberar y a dispersar los huevos adheridos al sustrato, que de otra manera perecerían (Breder y Rosen, 1966). En el mismo sentido, Simon y Wallus (1989), señalan que la temporada de reproducción *L. osseus* y de *L. platostomus*, que va de abril a junio, coincide con las inundaciones estacionales en las zonas pantanosas, las cuales están consideradas como hábitats importantes para el desove, especialmente considerando la disminución concomitante de éstos hábitats y las poblaciones de estas especies.

Parásitos y enfermedades

Se ha observado que *A. spatula* llega a ser parasitado naturalmente por el tremátodo bucefálico *Rhipidocotyle lepisostei* en la bahía de Barataria, Louisiana (Hopkins, 1954), en el Río Rojo en

Oklahoma y en Galveston, Texas (Hopkins, 1967; Wardle, 1990). Presumiblemente, adquieren el parásito en la etapa de metacercaria a través de la ingestión de las lisas (*Mugil curema* y *Mugil cephalus*). Comparativamente, en *A. tropicus* se han encontrado más parásitos. Chavez-Lomelí *et al.*, (1989) encontraron nemátodos adheridos al mesenterio de la cavidad abdominal. Por otra parte, Caballero y Caballero (1975 citado por Resendez y Salvadores, 1983), describen un nuevo género y especie de tremátodo, *Neotropicotrema bychowsky*, pequeño parásito intestinal. En tanto que Resendez (1981 citado por Resendez y Salvadores, 1983) encontró entre los ectoparásitos que viven en la superficie del cuerpo de *A. tropicus*, un ectoparásito del género *Argulus* sp. (Crustáceo Branchiuro) en las axilas pélvicas. Además, se han registraron otros crustáceos como *Ergasilus* sp. a nivel de las branquias. Resendez y Salvadores (1983), reportan la ocurrencia de un cestodo, *Proteocephalus* sp. Igualmente, se encontró un nemátodo enquistado bajo las escamas perteneciente al género *Cystoopsis* sp. Otro nemátodo que apareció en forma de larva del tercer estadio en mesenterios, musculatura e intestino fue *Contractaecum* sp. (Resendez y Salvadores, 1983).

León *et al.*, (1978), reportan la incidencia de una enfermedad de origen bacteriano denominada “emblanquecimiento de la piel” en *A. tristoechus*, la cual surge en forma masiva durante la

captura y el traslado de los animales, llegando a provocar mortalidades masivas. Igualmente, menciona mortalidades de *A. tristoechus* por causa de Oodiniasis causada por *Oodinium*. Por otra parte, menciona la ocurrencia de parásitos del género *Argulus*, los cuales llegan a perforar la piel y como consecuencia se desarrollan procesos inflamatorios con hemorragias. Otro parásito reportado en el manjuarí es *Laernea*, éste ataca preferentemente a los alevines debilitándolos a causa de las heridas causadas.

Relación con el hombre

A pesar de que se han contado muchas anécdotas acerca de la ferocidad del catán, hasta el momento no existen hechos documentados de ataques



Figura 2.8.- Catán de 10 pies de longitud. Título original “Alligator Gar. Moon Lake, Mississippi. March 1910”. Tomado de la página de la Universidad de Evansville.

directos al hombre. La respuesta habitual cuando un catán es perturbado, es nadar hacia aguas más profundas. De acuerdo a Dean (1895), en el Sur de los Estados Unidos se crearon muchas leyendas sobre su supuesta ferocidad, con el fin de evitar que los esclavos que laboraban en los campos de algodón entraran en los ríos en donde habitaban los catanes y así pudieran escapar (Fig. 2.8). Su supuesta ferocidad se ha exacerbado al punto que según Rafinesque (1970) son capaces de matar un cocodrilo (Fig. 2.9).

En muchas áreas de Louisiana, *L. osseus* está considerado no sólo como un pez desagradable y predador, sino como destructivo, ya que a menudo las redes agalleras y de arrastre se encuentran dañadas en las aguas salobres. Debido a esto, muchos pescadores los mutilan antes de arrojarlos de nuevo al agua (Suttkus, 1963). Una frase de Forbes y Richardson (1920 citado por Netch y Witt, 1962) muestra la apreciación de estos peces, de acuerdo a estos autores “... son una molestia, resultan totalmente inútiles y destructivos en su relación con el hombre. De hecho tienen todos los vicios y ninguna de las virtudes de los peces predadores...”.

No obstante que se ha exhortado continuamente la erradicación de los lepisostéidos de sus hábitats naturales, aún queda por demostrar de manera clara, en qué medida su reducción resultaría en un aumento o disminución de las especies de interés comercial o deportivo (Holloway, 1954). En el caso particular del catán, debido a la gran talla que alcanza se les considera un excelente trofeo por lo que son pescados de manera consistente, siendo común que se establezcan concursos para exhibir el ejemplar más grande (Fig. 2.10).

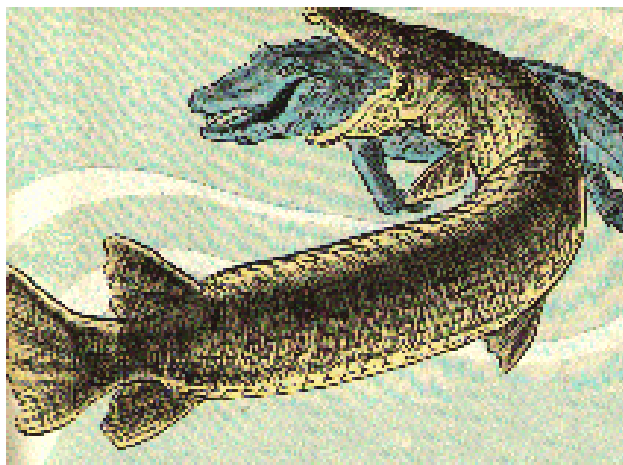


Figura 2.9.- Ilustración de un catán luchando con un cocodrilo.



Figura 2.10. Catan de 215 libras de peso y 8 pies de longitud. (Tomado de la página The Jump).

Una de las maneras en que más se han afectado las poblaciones de lepisostéidos, ha sido a través de la pesca deportiva (“*Gar fishing rodeos*”) (Fig. 2.11), la cual es popular en los estados de Louisiana, Arkansas, Mississippi (Suttkus, 1963). En los Estados Unidos existe una asociación que reúne a todos aquellos interesados en la pesca del catán *Gar Anglers’ Sporting Society*, la que se encar-

ga de dar detalles de las técnicas y artes de pesca necesarios para capturar diferentes lepisostéidos. Esto no se restringe a los E.U., ya actualmente es común ver propaganda relacionada con la pesca de lepisostéidos como uno de los atractivos turísticos de Costa Rica (http://www.sportfishingcr.net/costa_rica_alligator_gar_fishing.htm).

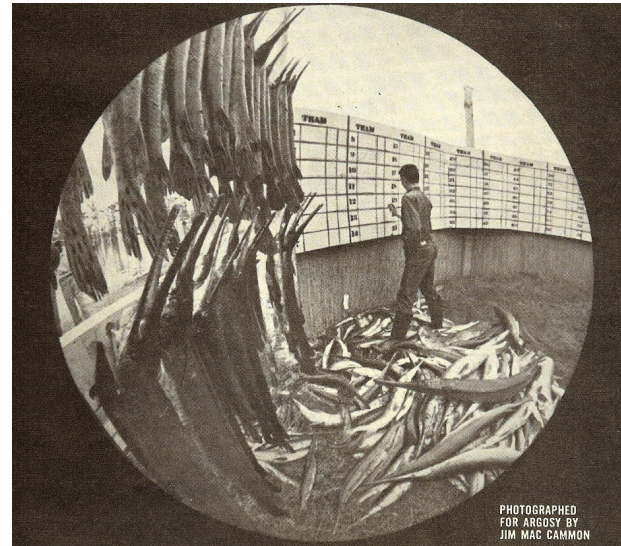


Figura 2.11. Rodeo de catanes en Louisiana (Tomado de The Golden Argosy, Junio, 1964).

Desde hace varios años se han venido describiendo diferentes métodos para capturarlos o simplemente matarlos, por ejemplo Holloway (1954), menciona diferentes técnicas de pesca

para capturar a los lepisostéidos y señala que se atrapan disparándoles cuando salen a la superficie, con electricidad, con senas, con redes agalleras, con anzuelos, etc. La moda es capturarlos con arco (Fig.2.12).



Fig.2.12.- Catanes capturados con arco (Tomado de la página bowfish Texas Adventures).

Destaca igualmente la facilidad para capturarlos o matarlos en grandes cantidades haciendo uso de rotenona.

Acuarismo

Debido a su status de peces prehistóricos, aunado a su atractivo estético como peces, los lepisostéidos son muy populares en el acuarismo. La mayor parte de los individuos que se comercializan son juveniles capturados en el medio ambiente natural y en raros casos son criados para ser vendidos a una mayor talla. Una ventaja adicional es que estos animales a pesar de su gran tamaño se adaptan al tamaño de los acuarios y no crecen más. Ciertas variedades de colores poco usuales, en especial de *A. spatula*, se cotizan en miles de dólares en el mercado asiático (Fig. 2.13). Igualmente, desde hace algunos años se comienzan a ver diferentes híbridos, llamados catanes-cocodrilo, que también alcanzan precios muy elevados (Fig. 2.14).

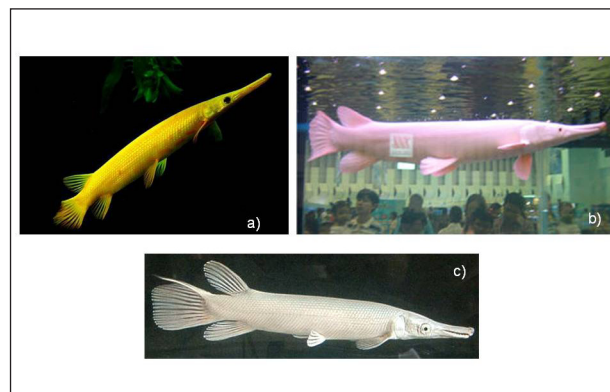


Figura 2.13.- Variedades de colores poco usuales de *A. spatula*. a) catán dorado, b) catán rosa, c) catán platino.

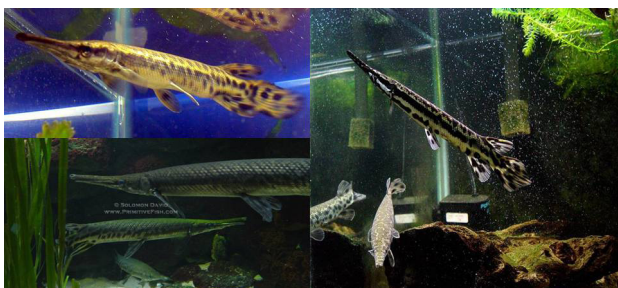


Figura 2.14.- Híbridos de lepisostéidos. a) *Lepisosteus platostomus* x *Atractosteus spatula*, b) *Lepisosteus osseus* x *Atractosteus spatula*, c) *Lepisosteus platyrhincus* o *L. oculatus* x *Atractosteus spatula* (Fotos de S. Davies, tomado de la página Primitive Fishes).

Importancia

En el caso particular de Centro, Sudamérica y el Caribe, los lepisostéidos se consideran de gran valor alimenticio, ocupando un lugar importante en la dieta de varias poblaciones (León *et al.*, 1978; Contreras, 1987; Morales, 1987) (Fig. 2.13). Igualmente, han tenido cierta importancia cultural, así, en Norte y Centroamérica, los indios utilizaban su piel como armadura y las escamas como ornamentos e instrumentos rituales y para fabricar cabezas de flechas (León *et al.*, 1978). Mientras que la piel se utilizaba para forrar las hojas de los arados. También se han venido utilizando tradicionalmente las escamas ganoideas y los huesos para confeccionar puntas de flecha, instrumentos rituales y ornamen-

tos (Suttkus, 1963). Actualmente las escamas son muy utilizadas en la joyería y para realizar artesanías (Fig. 2. 14.)



Figura 2.13.- Pesquería artesanal de lepisostéidos. (Foto cortesía de Ulises Hernández).

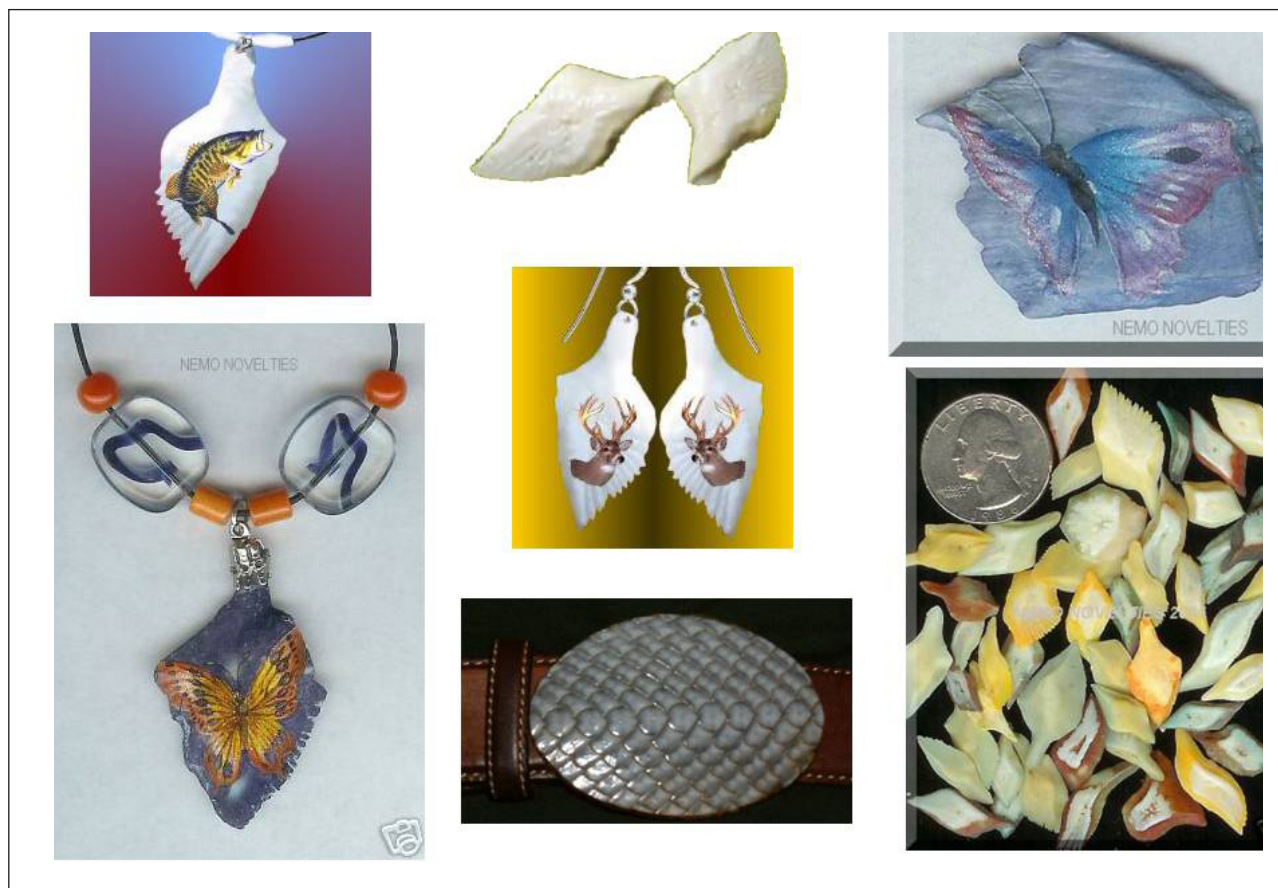


Figura 2.14.- Artesanías realizadas con escamas de catán.

Situación actual de las poblaciones de lepisostéidos

Debido a su capacidad fisiológica para respirar aire atmosférico, sus hábitos bentónicos y a que

los lepisostéidos se encuentran en el último eslabón de la cadena alimenticia, son potencialmente más susceptibles de sufrir de toxicidad aguda a través de la bioacumulación. Consecuentemente, ha sido necesario muestrear tejidos de los ejem-



plares capturados, para confirmar la aparición de toxinas a niveles que pudieran afectar adversamente la capacidad reproductiva o la supervivencia de los individuos (Orlando *et al.*, 2007; Aguilera *et al.*, 2008; Cruz *et al.*, 2009).

La pérdida de las poblaciones de catán dejaría sin duda una triste huella dentro de la crisis actual por la que pasa la biodiversidad, ya que los catanes se encuentran entre los sobrevivientes de la ictiofauna que precedió el impacto del asteroide de Yucatán, el cual llevó a la extinción de los dinosaurios. Desafortunadamente, se desconocen varios aspectos básicos de su biología con interés en la conservación o apenas han sido explorados. Las preferencias de hábitats específicos, hábitos reproductivos, localización y prevalencia de sitios de desove y alevinaje, y las dietas en ambientes salobres o marinos, se desconocen. Estos y otros aspectos de la biología deben ser entendidos si se desea determinar con mayor precisión el estatus de la especie. Por el momento, es incierto

el grado en el cual las poblaciones se encuentran amenazadas y el tipo de medidas específicas que se requieren para protegerlas.

Las áreas pantanosas en donde se les localiza han sido a menudo consideradas como indeseables, ya que contienen agua relativamente estancada y porque se consideran como un obstáculo para la navegación y la construcción de caminos. Recientemente, estas áreas se han venido rellenando para construir caminos y desarrollar zonas habitacionales, lo que ha arruinado de manera crítica sus zonas de desove. Consecuentemente, esta especie está potencialmente en un riesgo considerable de desaparecer en una gran parte del Golfo de México.

A partir de esta reflexión, se deriva la necesidad de realizar estudios prospectivos para determinar con precisión la abundancia de la especie en las aguas continentales aledañas al Golfo de México.







CAPÍTULO 3

ESTRATEGIA PARA LA DOMESTICACIÓN DEL CATÁN Y SU INCORPORACIÓN A LA ACUACULTURA

ROBERTO MENDOZA¹, CARLOS AGUILERA¹ Y JESÚS MONTEMAYOR¹

¹. Grupo Ecofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL

Introducción

Debido a que la acuicultura es una actividad con un importante componente tecnológico, esta debe ser apoyada con trabajos de investigación que propicien su competitividad y proporcionen otras alternativas de producción. De aquí, surge la necesidad de que la investigación proporcione acceso a datos prácticos de carácter comercial que permitan ampliar constantemen-

te el conocimiento y los medios técnicos disponibles. Por lo anterior, se requiere que las decisiones sobre los objetivos de investigación tomen en cuenta las opiniones de todos los participantes, y principalmente de la industria. Para esto, es indispensable profundizar en diferentes áreas que conlleven a un objetivo triple: primeramente, orientar la investigación y el desarrollo al estudio de nuevas especies, así como a la optimi-



zación de las condiciones técnicas de los sitios de acuicultura, esto permitiría a su vez que los acuicultores se beneficiasen de información y recursos necesarios para resolver problemas cotidianos que pudieran impactar de forma negativa su producción. Finalmente, los esfuerzos de investigación y desarrollo podrían desembocar en nuevos productos y tecnología de exportación (Mendoza y Aguilera, 1998).

Sin embargo, la acuicultura en México se ha venido desarrollando principalmente a partir de tecnologías importadas, que originalmente fueron diseñadas para especies exóticas (Figura 3.1).

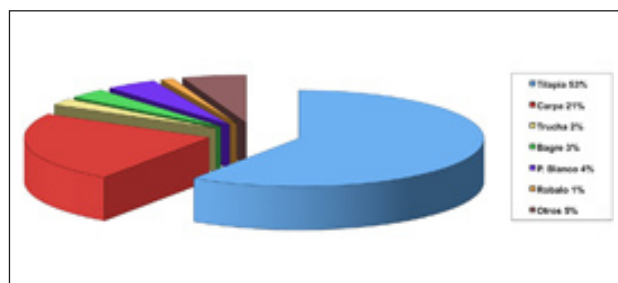


Figura 3.1.- Porcentaje de producción de las especies de peces cultivadas en México, según la Carta Nacional Pesquera.

Esto ha traído como consecuencia un retraso considerable en la adaptación de las técnicas de cultivo para las distintas especies sobre las cuales reposa la acuicultura nacional. A esto, se puede añadir

el alto costo que ha significado la sofisticación de este tipo de zootecnias, lo que ineludiblemente se ha traducido en el precio del producto final, destinado esencialmente a los mercados de exportación. Un ejemplo de lo anterior viene a ser reflejado en el hecho de que la investigación acuícola nacional haya sido orientada principalmente hacia el camarón, lo cual obviamente se deriva de la importancia económica que representa esta actividad. Así, de manera concomitante al desarrollo del cultivo de las distintas especies de camarón, las líneas de investigación prioritarias se han centrado básicamente sobre la nutrición y la sanidad acuícola, debido a que el alimento representa la mayor parte de los costos de operación de los cultivos, y por que hasta el momento la introducción sin control de larvas y reproductores de las mismas especies han venido diezmando año con año las distintas operaciones comerciales en torno al recurso camarón. Esto ha traído como resultado que la investigación hacia otras áreas y especies haya sido considerablemente reducida. Por consiguiente, resulta imperativo que se diversifique la investigación hacia la domesticación de las especies nativas, y en particular a su valorización. Esto será determinante para que las diferentes especies autóctonas, tanto marinas como de agua dulce, se vean beneficiadas en su desarrollo y uso en la acuicultura. De esta manera, mediante el fomento y fortalecimiento de los objetivos y programas de

diversificación de la actividad hacia otras especies, será posible coadyuvar a disminuir la presión sobre el recurso camarón (Alvarez-Torres *et al.*, 1996). Por otra parte, se evitaría el riesgo latente que representa la introducción de especies exóticas, así como la transfaunación de especies nativas.

Domesticación

La incorporación de nuevas especies a la acuicultura implica necesariamente su domesticación. Este proceso involucra, al menos, la capacidad de aquellos organismos de interés para vivir la mayor parte del ciclo de vida en condiciones artificiales e incluye además, adaptaciones genéticas al hacinamiento, manipulación y consumo de dietas artificiales. Normalmente también es de esperarse un mejoramiento genético, con la finalidad de alcanzar un mayor crecimiento, modificar la forma del cuerpo y disminuir los efectos producidos por el estrés (FAO/PNUMA, 1984).

Considerando este contexto, el presente capítulo está enfocado a la presentación de un esquema global de las principales estrategias o puntos críticos que surgen durante la domesticación de una especie, particularmente de aquellas especies nativas emergentes en la acuicultura. Al mismo tiempo, se expone la estrategia y

rutas críticas consideradas para el desarrollo del “Programa Catán”, el cual ha sido desarrollado por parte del Grupo Ecofisiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, en colaboración con diversas instituciones nacionales e internacionales.

Criterios de selección de especies para acuicultura

Como primera aproximación, se requiere definir la especie que se pretende domesticar tomando en cuenta aquellas características deseables que ésta debe tener para ser sometida al proceso de domesticación. El IFREMER, una institución pionera a nivel mundial en el desarrollo de tecnología para acuicultura, definió los siguientes criterios para la selección de especies de peces susceptibles de ser sometidas a cultivo (AQUACOP y Calvas, 1989):

- Facilidad o capacidad de reproducción y desove en cautiverio.
- Posibilidad de realizar el cultivo masivo de larvas.
- Adaptación y crecimiento con dietas artificiales
- Habilidad para crecer al ser mantenida en altas densidades.

Sin embargo, resulta difícil encontrar todas estas características en la mayoría de las especies que hasta ahora han sido seleccionadas para la acuicultura, y en muchas de las ocasiones los motivos para iniciar la domesticación de una especie han sido relacionados con aspectos de otra índole, tales como los económicos (valor comercial de la especie), socio-culturales (pesquerías tradicionales) y ecológicos (especies sobreexplotadas o en peligro de extinción).

Una vez que ha sido definida la especie, es necesario abordar las diferentes etapas o puntos críticos identificados para lograr la domesticación. A continuación se mencionan las principales estrategias de investigación que han sido adoptadas para llevar a cabo la domesticación de diferentes especies de peces, haciendo un especial énfasis en el Programa Catán.

Lotes de reproductores

Esta fase es primordial, ya que de ella depende la disponibilidad de larvas en cantidad suficiente, predecible y constante para asegurar el mantenimiento de la especie en condiciones de cautiverio.

La constitución de un lote de reproductores, particularmente en el caso de una especie en

proceso de domesticación, debe tener en cuenta su riqueza genética, ya que esta condición permitirá tener mayor posibilidad de selección de organismos con características adecuadas a las condiciones de cultivo (Figura 3.2).

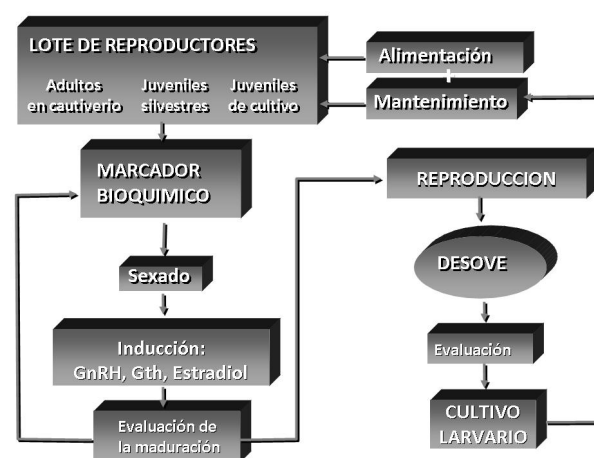


Figura 3.2.- Estrategia considerada para la formación de lotes de reproductores de catán.

A nivel nacional, al inicio del Programa Catán, únicamente existían en cautiverio alrededor de 30 adultos mantenidos en el Centro Acuicola Tancol de la entonces SEMARNAP en Tamaulipas (Figura 3.3), los cuales estaban inventariados y eran considerados como Patrimonio de la Nación.



Figura 3.3.- Instalaciones de la Granja Acuícola Tancol, en Tampico, Tamps.

Estos ejemplares fueron capturados y depositados en éste Centro por pescadores de la región a principios de los años 1980s, con la intención de restablecer las capturas que mostraban una fuerte disminución. Actualmente se desconoce su vida productiva media, sin embargo los ejemplares mantenidos en Centro Acuícola Tancol, a pesar de tener una edad media estimada de 15 años y una máxima de 35 años, no mostraban alteraciones reproductivas debidas a la edad. No obstante, considerando la longevidad de la especie, así como la dificultad de encontrar y capturar organismos silvestres durante cada temporada de desove para ser utilizados como eventuales reproductores, de la forma en que se realiza con otras especies (e.g. salmones), resalta la importancia de establecer y mantener lotes alternos de reproductores de ca-

tán, los cuales ayudarían no sólo a incrementar la producción de crías sino que facilitarían el manejo, reemplazo y cuidado de las características genéticas de la especie. Preferentemente, es recomendable que estos nuevos lotes sean establecidos en instituciones que tengan posibilidades de intercambio de organismos, asegurando así la continuidad del trabajo a largo plazo. Esta situación originó que nuestro programa dirigiera sus objetivos hacia el establecimiento de un lote de reproductores a partir de la captura eventual de juveniles silvestres. De manera paralela, se inició el mantenimiento de un lote de ejemplares juveniles obtenidos en el Laboratorio del grupo Ecofisiología de la UANL producto de la reproducción en cautiverio, con el fin de poder cerrar así el ciclo de vida en cautiverio del catán (Figura 3.4).

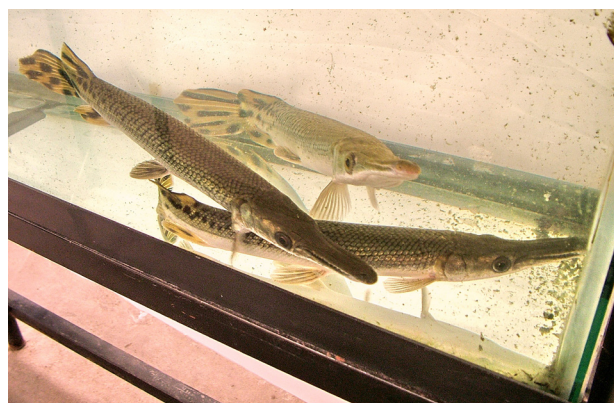


Figura 3.4.- Ejemplares de catán obtenidos mediante la reproducción en cautiverio

Obtención de desoves

Una vez constituido el lote de reproductores era necesario controlar la producción de crías, preferentemente en cualquier época del año, lo cual permitió utilizar mejor las instalaciones y controlar la existencia de los peces. En el caso del catán, a pesar de que su reproducción en cautiverio se había logrado desde 1982, el control reproductivo había sido abordado esencialmente por la vía de la zootecnia, restringiéndose a la identificación de

las condiciones ambientales sin ejercerse ningún otro tipo de control sobre su reproducción. Estos organismos se reproducen al ser colocados en estanques que simulan las zonas inundadas, en donde desovan de manera natural y esto se realiza únicamente durante una semana al año, coincidiendo con la época de reproducción en la naturaleza (Figura 3.5). Lo anterior evidentemente venía limitando enormemente la producción y disponibilidad de crías.



Figura 3.5.- Estanque de reproducción del catán en la Granja Acuícola “El Huasteco”.

Ante esta situación, y considerando que la maduración gonadal está regida por el sistema endócrino, la manipulación hormonal venía a representar la vía más directa para el desarrollo de una reserva de crías. Diferentes técnicas de inducción permiten estimular y sincronizar los desoves, extendiendo así la temporada de reproducción del catán. Su principio se basa en la activación a diferentes niveles del eje gonadotrópico que producen la inducción de la vitelogénesis, la maduración ovocitaria y la ovulación.

En la búsqueda de una estrategia simple, rápida y eficaz para inducir y controlar la reproducción de los catanes en cautiverio, se consideraron diferentes protocolos de inducción hormonal basados en la inyección de gonadotropinas y análogos sintéticos superactivos de factores liberadores de gonadotropinas (LH-RH) (Figura 3.6). Una de las técnicas más ampliamente difundidas es la utilización de Gonadotropina Coriónica Humana (hCG), la cual ha mostrado resultados positivos dentro de la temporada de reproducción en *Micropterus salmoides floridanus* (Mayes *et al.*, 1993); *Exos masquinongy* (Lin *et al.*, 1996); *Epinephelus striatus* (Head *et al.*, 1996); *Paralichthys dentatus* (Berlinsky *et al.*, 1997) y *Lutjanus analis* (Watanabe *et al.*, 1998b). La hipofización es otra herramienta para inducir el desove en peces. Aunque, resulta efectiva en la mayoría de los casos, esta técnica presenta algunas desventajas, ya que las hipófisis

generalmente son de diferente tamaño y el contenido de gonadotropinas puede ser variable (Yaron, 1995). La administración de factores liberadores de gonadotropinas produce una elevación en los niveles de gonadotropinas en los peces por incremento de su síntesis (Crim *et al.*, 1983), como ha sido observado en *Morone saxatilis* (Mylonas *et al.*, 1998). Igualmente repercuten sobre los niveles de andrógenos (Sower *et al.*, 1984) que pueden estar involucrados en el proceso de ovulación (Cierezko *et al.*, 1997). En algunas especies los mejores resultados se obtienen cuando los organismos se han sometido previamente a un régimen fototérmico especial como en *Heteropneustes fossilis* (Alok *et al.*, 1994); *Perca flavescens* (Cierezko *et al.*, 1997) y *Paralichthys dentatus* (Watanabe *et al.*, 1998a). En *Ictalurus punctatus* la utilización de LHRH y pimozido permiten mejorar la calidad de los desoves cuando se aplican a inicios de la temporada reproductiva (Silverstein *et al.*, 1999). De igual forma, la administración de implantes con los análogos de GnRH puede ser una alternativa para acelerar la maduración y obtener el desove como lo han reportado Mugnier *et al.*, (2000) en *Scophthalmus maximus*; Alok *et al.* (1994) en *Heteropneustes fossilis* quienes lograron la madurez de las hembras 4 meses antes de la temporada con tasas de eclosión entre 60-70%. Con este mismo método, Crim y Glebe (1984) obtuvieron un 30% de desoves 45 días antes de la temporada normal en *Salmo salar*.



Figura 3.6.- Inducción a la reproducción por medio de inyección de hormonas.

Cultivo larvario

Esta etapa generalmente representa uno de los principales cuellos de botella en la domesticación de peces para acuicultura. Esto originó inicialmente que el *Programa Catán* se enfocara a esta fase de la investigación, tomando en cuenta como punto medular la problemática inherente que representaba la alimentación de las larvas. En efecto, ante un suministro insuficiente de presas vivas, base de la alimentación de las larvas en sus primeras etapas, se había venido presentando un fuerte canibalismo (Figura 3.7), diferencias en tallas, crecimiento y la consecuente necesidad de liberar a las crías en un periodo

muy corto, quedando así interrumpido el ciclo de cultivo y reduciendo la posibilidad de su sobrevivencia.



Figura 3.7. Canibalismo entre crías de catán.

De esta manera, en el *Programa Catán* se planteó una ruta crítica basada en investigaciones multidisciplinarias que permitieran resaltar las particularidades que presenta el desarrollo larvario del catán, así como visualizar posibles alternativas para llevar a cabo el cultivo larvario de esta especie (Figura 3.8), lo que culminó en la producción masiva de larvas (Figura 3.9). En primera instancia, un estudio morfológico que permitiera distinguir las fases de desarrollo y de nutrición en las larvas, así como seleccionar in-

dicadores morfométricos de crecimiento. Por otra parte, se realizó un seguimiento histológico del desarrollo del tracto digestivo para establecer el tipo de alimento más adecuado a cada fase del desarrollo, e igualmente establecer índices de condición nutricional alternos. En paralelo, se realizó un estudio sobre la ontogénesis enzimática para determinar la eficiencia del

tracto digestivo para utilizar dietas artificiales. Finalmente, para ganar un mayor entendimiento sobre el metabolismo de las larvas y no depender únicamente de los parámetros anteriores, se desarrolló una técnica basada en ácidos nucleicos, que permitiría determinar el aprovechamiento nutricional de una manera más precisa.

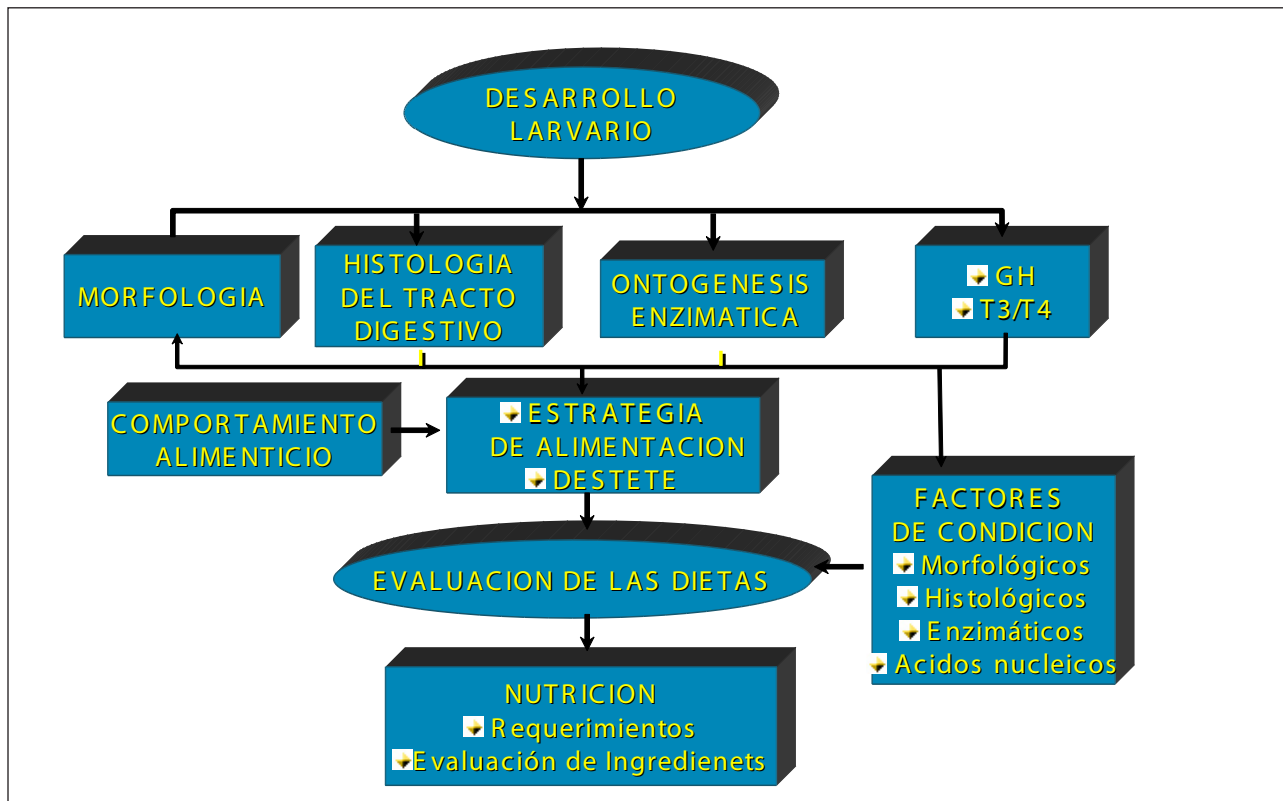


Figura 3.8. Ruta crítica elaborada para evaluar el desarrollo larvario del catán.



Figura 3.9.- Cultivo masivo de larvas de catán.

Por otra parte, se plantearon una serie de bioensayos en los que se aplicaron hormonas tiroideas y coricosteroides, para establecer el modo en que éstas regulan el desarrollo y la metamorfosis en las larvas de catán, así como evaluar la posibilidad de controlarlo mediante la administración de hormonas exógenas.

Adaptación y crecimiento con dietas artificiales de juveniles

Los trabajos de investigación señalados en el punto anterior han permitido llegar a solventar uno de los problemas prácticos más importantes en la producción de juveniles, como lo es el acondicionamiento alimenticio a las dietas artificiales. Este

avance ha resultado particularmente significativo, sobre todo al tomar en cuenta que el catán presenta fuertes hábitos depredadores, y por consiguiente resulta extremadamente difícil lograr que acepten las dietas artificiales (Figura 3.10). Sin embargo, los problemas analizados anteriormente para el cultivo del catán no comprenden la alimentación en etapas juveniles posteriores a un mes de eclosión, los cuales son de gran importancia para determinar la factibilidad que tendría el cultivo comercial del catán.



Figura 3.10.- Cría de catán consumiendo alimento formulado.

Por tal motivo, se consideró necesario determinar las tasas de crecimiento, conversión alimenticia y eficiencia proteica en catanes juveniles alimentados con una dieta comercial, elaborada para otros peces al no existir aún una definición

de las características específicas. Al realizar este ensayo con alimento para trucha con 50% de proteína se encontraron resultados muy interesantes. La Tasa de Crecimiento Específico obtenido para el catán fue en promedio 2.5 gr/día con un máximo de 3.184 gr/día, la cual es bastante buena si se compara con lo reportado para la trucha arcoiris de 1.19 gr/día, para la lobina negra (*Micropterus salmoides*) de 1.3 gr/día o para la tilapia (*Sarotherodon nilotica*) de 0.48 gr/día (Figura 3.11) (FAO ONU, 1965).

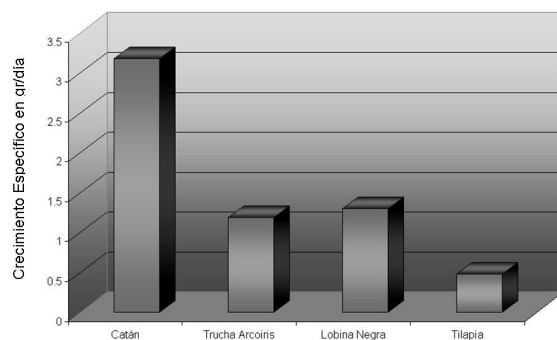


Figura 3.11.- Comparación de Tasas de Crecimiento Específico de diferentes especies.

Mientras que La Tasa de Conversión Alimenticia obtenida para el catán fue de 0.9 a 0.6, igualmente aceptable al compararlo con lo reportado para la trucha arcoiris de 1.67, para la lobina negra de 1.24, y para la tilapia de 1.92 (Winberg,

1971). Estos datos iniciales en el cultivo de juveniles de catán con dietas artificiales muestran ventajas sobre el cultivo de otras especies comerciales, considerando además que el catán tiene un mercado establecido en el Noreste de México.

Crecimiento para alcanzar la talla comercial

Los puntos centrales en esta fase del cultivo se refieren a aspectos de nutrición, debido principalmente al costo del alimento utilizado como base para alcanzar la talla comercial, por lo cual una gran parte de la investigación es orientada a la definición de los requerimientos nutricionales, así como a la búsqueda de ingredientes alternos que puedan ser utilizados en la formulación de las dietas. Al mismo tiempo deben ser analizadas las características de los sistemas de cultivo, considerando principalmente las densidades de siembra y cosechas selectivas, así como su relación con las necesidades en volumen de agua y área de cultivo. Esto con la finalidad de optimizar la inversión y el manejo de las instalaciones. Por otra parte, la talla comercial y por lo tanto la duración del ciclo de cultivo deben ser analizadas en función de aspectos de comercialización, tasa de crecimiento y costos de producción, de tal forma que en algunos casos es posible introducir al mercado un producto de acuicultura de menor

talla a la requerida por la ley para las capturas silvestres de la misma especie.

Para el caso del catán, considerando el avance en la domesticación a partir de la utilización de dietas artificiales en el cultivo larvario, en este momento se están realizando ensayos para optimizar las dietas destinadas a su utilización hasta la talla comercial a partir de la definición de los requerimientos de macronutrientes (proteína/energía) y de densidades de cultivo.

Sanidad en el cultivo

Debido a que durante mucho tiempo no había sido posible el mantenimiento de juveniles de catán en condiciones de cultivo, se desconocían los posibles agentes patógenos que pueden ocasionar problemas en esta etapa. Sin embargo, considerando que la tasa de sobrevivencia de los juveniles depende en gran parte del control de los agentes patógenos, se han venido contemplando las estrategias de investigación adoptadas en el caso de otras especies para solventar este tipo de problemas. Los trabajos realizados con otras especies han sido orientados a la selección de individuos más resistentes mediante pruebas de sensibilidad, así como a la producción de híbridos y triploides que presentan mayor resistencia a infecciones virales.

Consideraciones finales

Una vez abordados estos puntos críticos es necesario que, para el desarrollo de los cultivos comerciales, se tomen en cuenta los siguientes factores:

- Condiciones climáticas que permitan el rápido desarrollo de la especie y en base a esto una adecuada prospección de los sitios de cultivo.
- Diseño y construcción eficaces y funcionales de estructuras para el cultivo.
- Establecimiento de cultivos a escala experimental y demostración de la viabilidad de los cultivos a través de proyectos de demostración.
- Dominio y actualización continua de la técnica con miras a incrementar la producción.
- Condicionamiento del mercado en base a la definición del precio del producto y al impacto en los mercados locales y extranjeros.
- Establecimiento de especies libres de patógenos, con el desarrollo previo de herramientas de diagnóstico adecuadas.
- Expedición de un certificado de origen.
- Vinculación con las instancias gubernamentales para adecuar la legislación vigente, de manera que se facilite el desarrollo de los cultivos emergentes.
- Promoción de incentivos financieros para los inversionistas potenciales.



- Participación de las industrias, preferentemente mediante proyectos de riesgo compartido y con el desarrollo de diferentes insumos (alimento, equipo, etc.).
- Participación de centros de investigación y universidades para resolver los eventuales problemas que se identifiquen durante el escalamiento de los cultivos experimentales hacia la fase comercial, así como para brindar entrenamiento a técnicos y al personal encargado de las granjas.
- Control del desarrollo de los cultivos, de manera que se eviten problemas en y con el ecosistema.
- Integración de las instituciones gubernamentales y educativas con el sector privado para manejar y evaluar en conjunto los cultivos operacionales, así como para que, en función de los resultados, se fomente el desarrollo de los mismos.





CAPÍTULO 4

CULTIVO DE LARVAS Y JUVENILES DE CATÁN

CARLOS AGUILERA¹, ROBERTO MENDOZA¹, JESÚS MONTEMAYOR¹,
AGNÉS REVOL², LUCÍA CARREÓN³, Y JEAN HOLT⁴,

¹. Grupo Ecofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

². Facultad de Medicina, UANL.

³. Great Lakes Institute of Environmental Research-University of Windsor, Ontario.

⁴. The University of Texas at Austin Marine Science Institute.

Resumen

La adopción de una estrategia multidisciplinaria permitió resaltar las particularidades que presenta el desarrollo larvario del catán, así como desarrollar alternativas para llevar a cabo el cultivo de esta especie. Un estudio morfológico permitió distinguir las fases de desarrollo y de nutrición en las larvas, así como seleccionar indicadores morfométricos de crecimiento. Por

otra parte, mediante el seguimiento histológico del desarrollo del tracto digestivo se determinó que éste se encontraba completamente formado al iniciar la alimentación exógena, igualmente se logró observar el proceso de maduración, se categorizaron diferentes fases nutricionales y se desarrolló un índice de condición nutricional a base de la altura celular de los enterocitos. En paralelo, un estudio sobre la ontogénesis enzimática reveló que las estructuras del tracto digestivo eran funcionales al inicio de la alimenta-

ción exógena y que las larvas de catán tenían la capacidad digestiva para utilizar dietas artificiales desde la primera alimentación. Para ganar un mayor entendimiento sobre el metabolismo de las larvas y no depender únicamente de los parámetros anteriores, se desarrolló una técnica basada en la relación RNA/DNA que permitiría determinar el aprovechamiento nutricional de una manera más precisa. Por otra parte, fue posible establecer que las larvas de catán desarrollaban precozmente el eje tiroideo, el cual regula su desarrollo, y que la metamorfosis podía ser alterada mediante la administración de hormonas exógenas. Considerando la talla y la velocidad de crecimiento del catán, se aisló y secuenció el gen de la hormona de crecimiento con lo cual fue posible establecer los niveles de expresión y sus efectos en el desarrollo larval. Con estos resultados de respaldo, y con las observaciones de una serie de bioensayos de alimentación, fue posible establecer las principales características de las dietas artificiales que pueden ser utilizadas para el acondicionamiento y cultivo larvario del catán. Alimentos flotantes con partículas de 0.5 mm y con alto contenido de proteína (45-50%) pueden ser suministradas desde la primera alimentación. La adecuación del tamaño del alimento en periodos cortos (cada 5 días) resulta indispensable para mantener el crecimiento y reducir el canibalismo. Con la utilización de la es-

trategia de alimentación desarrollada, ha sido posible eliminar la dependencia del alimento vivo e incluso tener mayor sobrevivencia y crecimiento a los obtenidos con éste.

Introducción

Esta sección está dirigida a presentar la estrategia que ha sido desarrollada por el Laboratorio de Ecofisiología de la UANL, en colaboración con diferentes instituciones nacionales e internacionales como un esfuerzo para solventar algunos de los puntos críticos relacionados con la domesticación del catán, particularmente aquellos concernientes al cultivo larvario y al destete de las larvas con dietas artificiales.

Estos aspectos han sido a menudo relacionados y representan un cuello de botella en la domesticación de la mayoría de las especies. Es por esto que se ha mencionado que la utilización de dietas artificiales en el cultivo de las larvas de peces constituye la alternativa principal para evitar el uso de presas vivas, cuya producción es poco práctica y onerosa (Gatesoupe y Luquet, 1982). Sin embargo, después de más de dos décadas de formulación de microdietas para larvas de peces, sólo se han tenido éxitos limitados debido a problemas relacionados con la ingestión y la digestión de las dietas (Watanabe

y Kiron, 1994; Lazo, 2000). Como consecuencia en el caso de varias especies, más del 90 % de las larvas obtenidas durante la reproducción en cautiverio tienen que ser liberadas inmediatamente después de la eclosión. La principal razón para la utilización de esta estrategia es la dificultad para producir alimento vivo en cantidades adecuadas, con el fin de sostener un crecimiento larval sostenido y niveles de sobrevivencia aceptables (Rosch y Appelbaum, 1985).

Considerando este contexto, fue adoptada una aproximación multidisciplinaria dirigida al estudio de diferentes aspectos del desarrollo larvario del catán, incluyendo su morfología y su fisiología digestiva, como base para lograr la sustitución del alimento natural y establecer esquemas de alimentación basados en dietas artificiales.

Desarrollo larvario

Los peces presentan diferentes patrones de desarrollo, los cuales dependen de diversos factores, entre los que podemos mencionar el nivel evolutivo del grupo, el tamaño y cantidad de huevos producidos, así como el posible cuidado que los padres proporcionen a estos y a las crías, los hábitos alimenticios, las reservas de vitelo en el huevo y las adaptaciones que presenta la es-

pecie al medio y al alimento. Debido a la incidencia de tantos factores han surgido diferentes criterios para definir las fases del desarrollo de peces. Una diferencia notable estriba en las reservas energéticas de las larvas, así se ha estimado que los peces que tienen pocas reservas de vitelo después de la eclosión, presentan más dificultades para utilizar dietas artificiales, mientras que otros peces como las truchas y los esturiones, que presentan un saco vitelino con mayores reservas después de la eclosión, pueden utilizar dietas artificiales desde la primera alimentación (Baragi y Lovell, 1986; Gershonovich, 1991). Este aspecto es de suma importancia, ya que la sensibilidad de las larvas a la baja ingestión de alimento, especialmente después de la reabsorción del saco vitelino, puede influenciar de manera significativa en sus probabilidades de sobrevivencia. De aquí, que para definir el efecto de diferentes niveles de alimentación sea necesario desarrollar criterios para evaluar la condición larvaria y la incidencia de inanición (Mc Fadzen *et al.*, 1994). En relación con esto, el estudio de las características morfológicas provee herramientas simples y eficaces para detectar condiciones de cultivo no favorables durante el desarrollo larvario (Dettlaff *et al.*, 1993). Sin embargo, los pocos estudios disponibles sobre larvas de catán, se habían limitado a la descripción de algunas de sus etapas

tempranas de desarrollo. Por ejemplo, Dean (1895) condujo un estudio comparativo del desarrollo embrionario del catán con el esturión, mostrando que las características del catán eran intermediarias entre los holósteos y los teleósteos. Las características morfológicas de las primeras etapas larvianas fueron descritas igualmente para otros lepisostéidos como *L. osseous*, *L. platostomus* y *L. oculatus* (Netch y Witt, 1962; Pearson *et al.*, 1979; Yeager y Bryant, 1983; Simon y Wallus, 1989; Simon y Tyberghein, 1991). Sin embargo, las descripciones morfológicas y de pigmentación del catán fueron realizadas utilizando únicamente once especímenes entre diversos autores (Suttkus, 1963; May y Echelle, 1968; Echelle y Riggs, 1972; Moore *et al.*, 1973; Simon y Wallus, 1989).

A continuación se describe el desarrollo larvario y las tasas de crecimiento tanto para el catán como para el pejelagarto, destacando algunas características morfológicas que pueden ser utilizadas como indicadores de crecimiento y de

la condición nutricional durante las primeras etapas de su ciclo larvario (Aguilera, 1999; Aguilera *et al.*, 2002).

Comparación entre el desarrollo larvario del catán y del pejelagarto

Los huevos de catán son moderadamente grandes y las larvas se caracterizan por un periodo vitelino extendido, como consecuencia las larvas son relativamente grandes y están muy desarrolladas cuando empieza la alimentación exógena. Debido a que los huevos y las larvas con saco vitelino se adhieren a la vegetación, estas etapas son altamente susceptibles a la depredación (Figura 4.1). Sin embargo, los lepisostéidos han desarrollado un mecanismo de defensa incorporando sustancias cardiotóxicas en los huevos y dentro de la familia de los lepisostéidos, los catanes poseen los huevos más tóxicos (Netch y Witt, 1962; Burns *et al.*, 1981).



Figura 4.1.- Huevos y larvas de catán adheridas a la vegetación. Los huevos contienen una cubierta mucosa, mientras que las larvas con vitelo se sujetan mediante un disco suctorial.

Las etapas nutricionales para el catán y el pejelagarto pueden ser distinguidas de acuerdo a los criterios establecidos por Beccaria *et al.*, (1991). Bajo estos criterios, las larvas entre 6.8 y 13.5 mm de longitud total (TL) (1-4 días después de la eclosión – DE) pueden ser incluidas en la etapa lecitotrófica (Figura 4.2). En esta etapa las larvas permanecen adheridas a la vegetación y se alimentan únicamente a partir del vitelo, cuyas reservas todavía permanecen en el saco vitelino. Las larvas entre 12.5 y 22.5 mm TL (5-8 DDE) pueden ser incluidas en la etapa lecitotrófica

exotrófica al iniciar la etapa de alimentación exógena. Sin embargo, en este momento las larvas no alimentadas y aquellas que recibieron alimento, no muestran diferencias en el crecimiento debido a que las reservas vitelinas aún están presentes. Finalmente, la etapa exotrófica inicia en las larvas a partir de los 22 mm TL, lo que viene a ser constatado por las alteraciones morfológicas observadas en las larvas en inanición, lo que indica una dependencia total de la alimentación exógena.

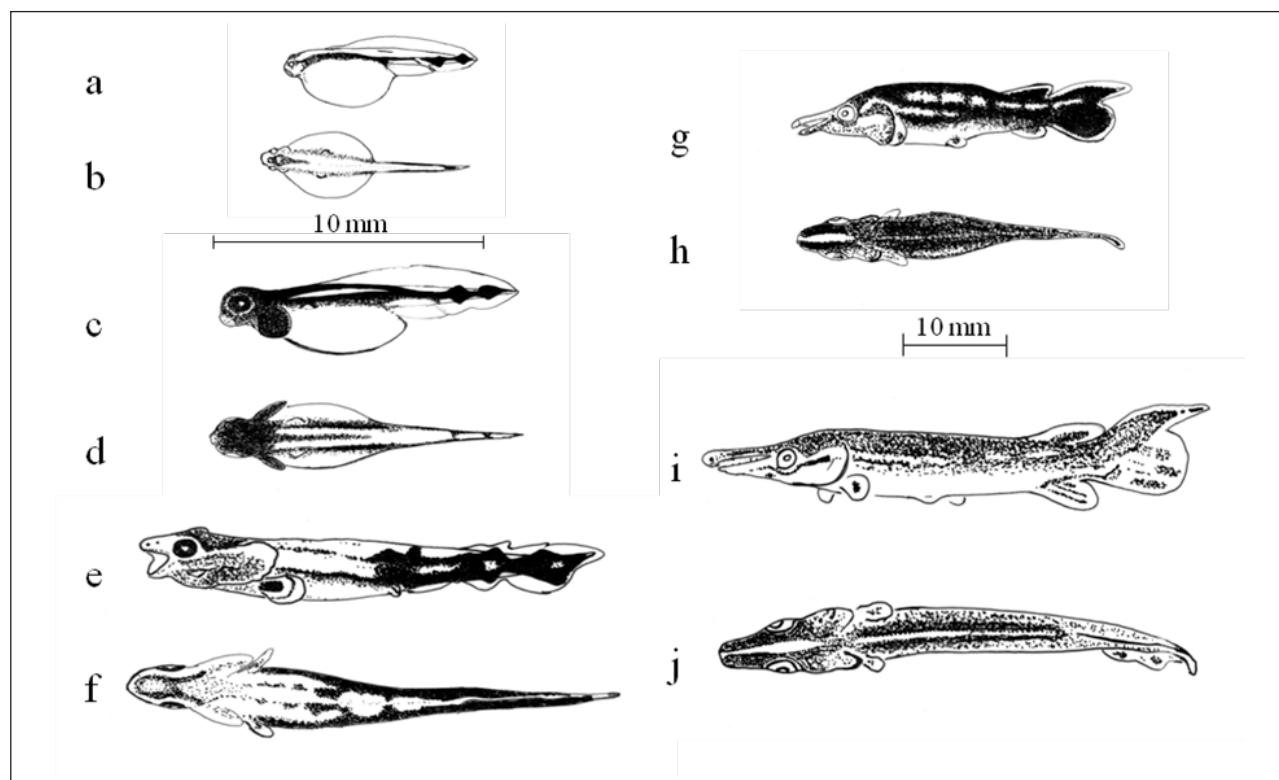


Figura 4. 2.- Morfología y pigmentación de larvas de catán durante el desarrollo larvario. Incisos a, b, c y d fase de alimentación lecitotrófica; e y f fase lecitoexotrófica; g, h, i y j fase exotrófica.

Formación del hocico

La formación del hocico puede ser utilizada como una característica distintiva entre el catán y el pejelagarto. En efecto, las larvas de catán pueden alcanzar una proporción entre la longi-

tud del hocico con respecto a la longitud total, similar a los adultos, a una talla y una edad mas precoz que el pejelagarto (Figura 4.3).

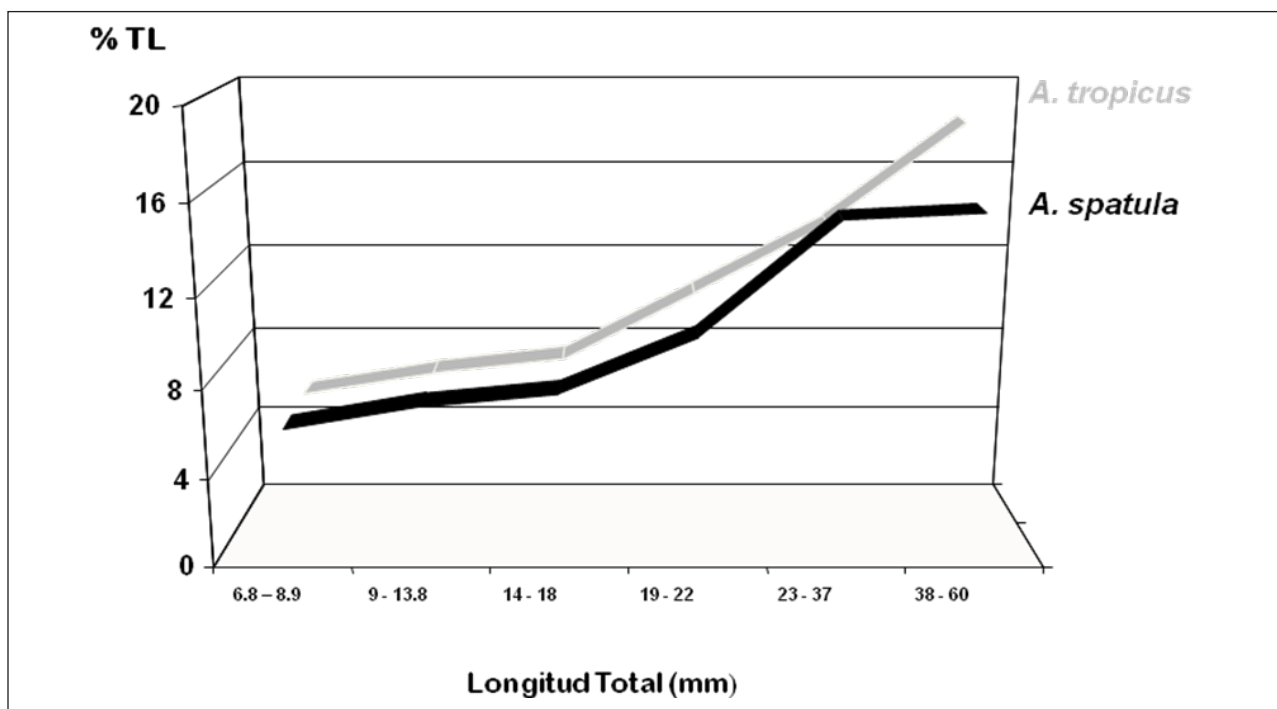


Figura 4. 3.- Formación del hocico durante el desarrollo larvario de catán (*A. spatula*) y pejelagarto (*A. tropicus*) en función de la longitud total de la larva (% TL).

Esto sugiere una metamorfosis más rápida en el catán y la posibilidad de experimentar cambios más tempranos en las larvas de catán relacionados con sus hábitos alimenticios (Figura 4.4). De la misma manera, este aspecto repercutiría en la incidencia del canibalismo, considerando que la talla de las presas está determinada por la talla del hocico y que la falta de alimento o el alimen-

to no adecuado (flotabilidad, textura, etc) pueden promover el canibalismo (Dabrowski y Bardaga, 1984; Hecht y Pienaar, 1993; Busch, 1996). Cambios similares relacionados con los hábitos alimenticios de juveniles de lepisostéidos fueron observados por Echelle y Rigs (1972), quienes reportaron en el caso de *L. osseus* un incremento en la frecuencia de peces en la dieta a

una menor talla (17-36 mm TL) que en *L. platostomus* y *L. oculatus*. En el mismo sentido, Pearson *et al.* (1979) encontraron que *L. osseus* iniciaba el consumo de peces de una manera precoz en su desarrollo (20-42 mm TL) a pesar de que este alimento no limitaba la ingestión de otras presas más disponibles, como por ejemplo cladóceros. Estos resultados indican que las larvas y juveniles de catán y otros lepisostéidos son oportunistas en su alimentación.

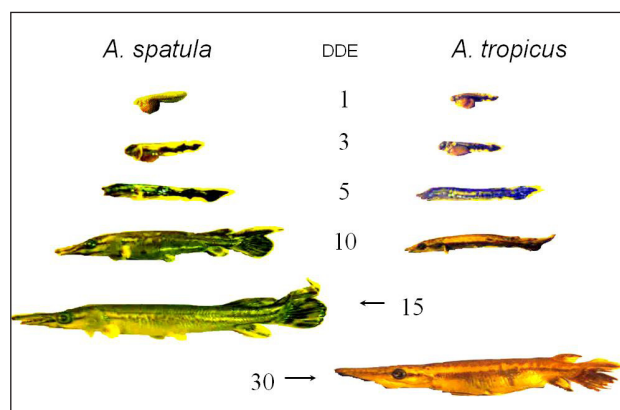


Figura 4.4.- Comparación del desarrollo entre larvas de catán (*A. spatula*) y pejelagarto (*A. tropicus*) en función de los días después de la eclosión (DDE).

garto vinieron a confirmar lo anteriormente expuesto, al indicar por una parte, que el desarrollo larval podía ser diferenciado utilizando principalmente la longitud del hocico, por lo que esta característica se reveló como el mejor indicador del crecimiento de las larvas de lepisostéidos. Por otra parte, la altura del pedúnculo caudal, el ancho del hocico y de la cabeza, así como la longitud preanal resultaron ser características morfométricas que permiten diferenciar a aquellas larvas bien alimentadas de las larvas en inanición, de tal manera que estas características podían ser utilizadas como índices para la evaluación de la condición nutricional en larvas de lepisostéidos (Figura 4.5). Adicionalmente, una pigmentación oscura generalizada en todo el cuerpo fue consistentemente observada en las larvas en inanición, tanto para el catán como para el pejelagarto, característica que en condiciones de cultivo masivo facilitaría la separación de individuos que no estuvieran bien alimentados.

Los resultados de un análisis discriminante Stepwise, considerando diferentes características morfométricas tanto del catán como del pejela-

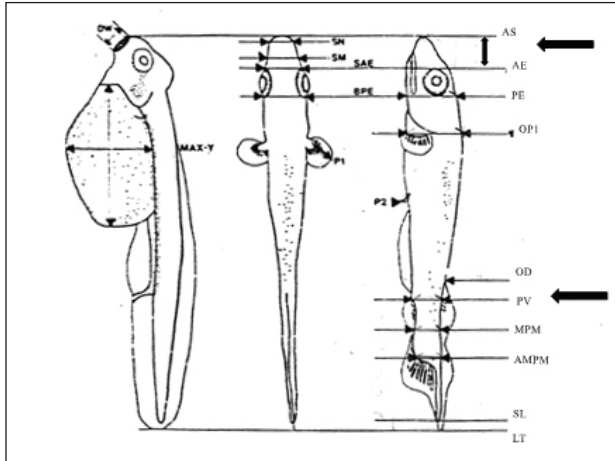


Figura 4.5.- Principales características morfométricas utilizadas para describir las larvas de lepisostéidos (Simon y Wallus, 1989). De acuerdo a un análisis estadístico la longitud del hocico (AS - AE) es el mejor indicador de crecimiento y la altura preanal (PV) es el mejor indicador de la condición nutricional.

Tasa de crecimiento

La tasa de crecimiento observada para el pejelagarto (1.0 mm/día) resultó ser ligeramente mayor que aquella reportada para las larvas de *L. osseus* (0.8 mm/día) y *L. oculatus* (0.83 mm/día) (Pearson *et al.*, 1979; Simon y Tyberghein, 1991). No obstante, la tasa de crecimiento más elevada se presenta en el caso de los catanes durante los primeros 10 días (1.55 mm/día). Esta tasa se incrementa de manera importante hacia los 10 días (5.6 mm/día), excediendo las tasas de creci-

miento de juveniles de otras especies como: *L. oculatus* (1.3 – 1.7 mm/día) y *L. osseus* (2.33-4.5 mm/día) (Netch y Witt, 1962; Echelle y Riggs, 1972; Simon y Wallus, 1989). Estos datos confirman que los lepisostéidos, y particularmente el catán, se encuentran dentro de los peces de agua dulce con mayores tasas de crecimiento (Netch y Witt, 1962) (Figura 4.6).

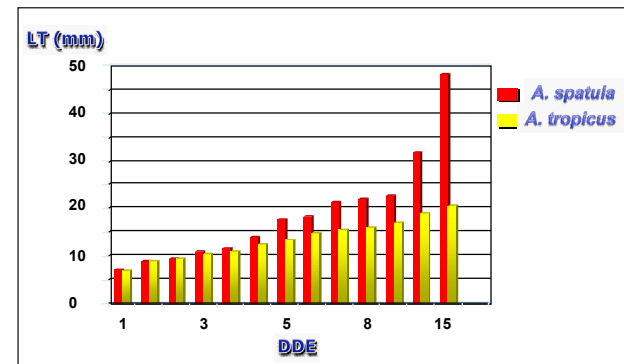


Figura 4.6.- Comparación del crecimiento entre larvas de catán (*A. spatula*) y pejelagarto (*A. tropicus*) en función de la longitud total (TL) y los días después de la eclosión (DDE).

Alimentación

Como se mencionó anteriormente, de manera similar a los salmónidos y a los esturiones, los lepisostéidos producen huevos grandes con una

considerable cantidad de vitelo con el cual pueden nutrir a sus larvas durante algunos días después de la eclosión, inclusive después de haber iniciado la alimentación exógena. Este periodo mixto de alimentación que en el catán va de los 5 a los 8 días después de la eclosión, permite una rápida adaptación al alimento disponible. Durante este periodo, el hocico aún no se ha desarrollado por completo, impidiendo que la

larva pueda ingerir presas de su mismo tamaño, por lo que el canibalismo no se presenta durante este tiempo (Figura 4.7). De hecho, la liberación de las larvas entre los 7 y 10 días después de la eclosión ha sido la práctica común hasta ahora, debido a que durante este periodo podían ser cultivados a altas densidades, sin mortalidades relacionadas con el canibalismo (Morales, 2000, comunicación personal).

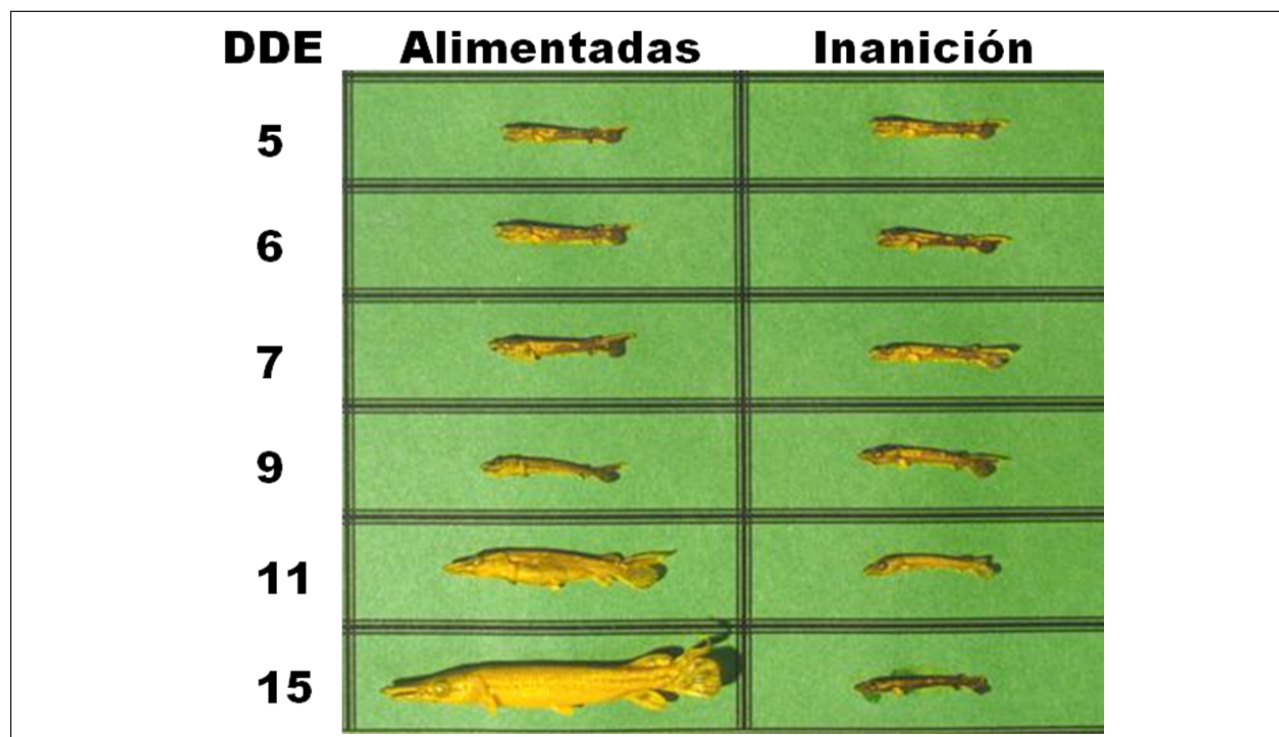


Figura 4. 7.- Comparación del crecimiento entre larvas de catán alimentadas y en inanición hasta el 15 DDE.



Lo anterior sugiere que el acondicionamiento al consumo de dietas artificiales debe realizarse durante este periodo, permitiendo a las larvas identificar las partículas de alimento artificial como la primera opción de alimento, lo que a su vez contribuiría a superar el comportamiento predatorio hacia las otras larvas en estadíos posteriores. De esta manera la disponibilidad y abundancia de alimento permitirán la sustitución gradual de las reservas vitelinas, aprovechando el comportamiento oportunista del catán (Holloway, 1954; Echelle y Riggs, 1972; Resendez y Salvadores, 1983; Chavez-Lomelí *et al.*, 1989) desde las primeras etapas larvales, como ha sido señalado por Pearson *et al.* (1979).

Debido a la elevada velocidad de crecimiento de las larvas, se requiere de un suministro continuo y abundante de alimento. Para esto es necesario que la larva ya tenga un sistema digestivo con la capacidad requerida para una rápida digestión y absorción del alimento. Por otra parte, el crecimiento es expresado particularmente en longitud, el cual a la vez es producto del acelerado desarrollo del hocico, sugiere, además de la metamorfosis a la forma del adulto, una adaptación para que las larvas puedan capturar presas cada vez más grandes, con el consecuente beneficio de obtener una mayor cantidad de alimento en un menor número de ingestas. Esto, al mismo tiempo, permite la reducción del gasto

de energía en la búsqueda y captura del alimento; energía que será canalizada hacia el crecimiento. Lo anterior se consolida por el hecho de que el incremento en longitud, producto de la formación del hocico, no se ve afectado en las larvas que son mantenidas en inanición, lo que indica que la formación del hocico es una prioridad metabólica para la sobrevivencia de la larva.

Control del desarrollo larvario.

Efecto de las hormonas tiroidianas

La naturaleza del efecto promotor del crecimiento de las hormonas tiroidianas en la metamorfosis de las larvas de peces incluye la inducción de cambios morfológicos en el tracto digestivo, intestino y páncreas, la estimulación del proceso de renovación del epitelio intestinal, el incremento de la capacidad de absorción de nutrientes y en general la aceleración del crecimiento (Dabrowski y Culver, 1991). De aquí, que estas hormonas puedan tener importantes aplicaciones en el crecimiento y desarrollo de larvas de peces producidas en laboratorio (Lam, 1980), lo cual es uno de los principales problemas en la producción de crías en acuicultura. A menudo se han reportado cantidades elevadas de tiroxina (T4) y triiodotironina (T3)



en el vitelo de huevos no fertilizados, aparentemente depositadas por el aporte materno. De esta manera, diferentes autores han argumentado que los procesos metamórficos y metabólicos en las larvas se llevan a cabo sólo gracias a la influencia de las hormonas tiroidianas de origen materno, las cuales adquieren las larvas a través del vitelo (Tagawa y Hiro, 1987; Kobuke *et al.*, 1987; Sullivan *et al.*, 1987; Brown *et al.*, 1987; Tagawa *et al.*, 1990). Igualmente, se han registrado incrementos en los niveles de hormonas

tiroidianas (HT) después de la absorción del vitelo, lo cual refleja una producción de hormonas por la larva a partir de la tiroides en desarrollo, por lo que es posible que el desarrollo de la larva pueda ser continuamente influenciado por las HT, primero de origen materno y posteriormente de origen larval (Brown *et al.*, 1987). Por otra parte, se presume que ciertos factores dietarios (*e.g.* cantidad y calidad de la proteína) pueden inhibir o estimular la acción de hormonas tiroidianas (Inui *et al.*, 1989).

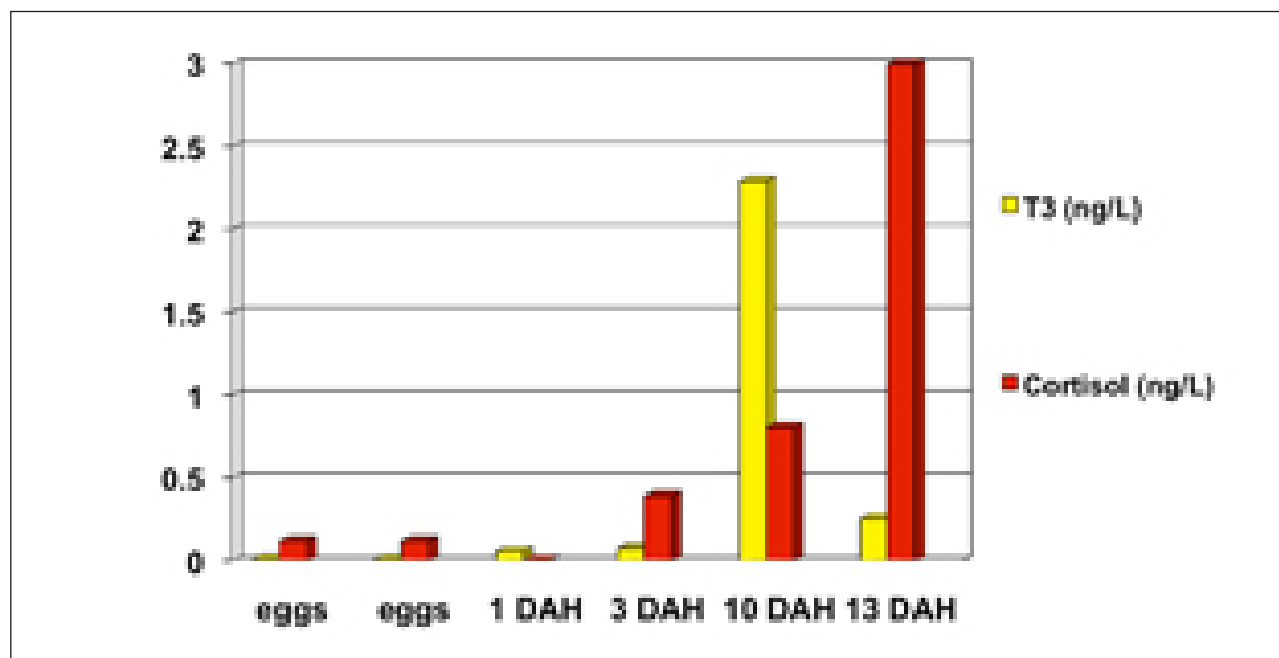


Figura 4.8.- Concentración de T3 y cortisol (ng/Larva) durante el desarrollo en larvas de catán.

En el caso de las larvas de catán, al determinar los niveles basales de T3 en huevos se encontró que los niveles de T3 en huevos recién desovados y antes de eclosionar eran bajos (0.0117 y 0.00995 ng/huevo, respectivamente), siendo constantes durante el desarrollo embrionario. Sin embargo, después de la eclosión los niveles de T3 comienzan a incrementarse, y a los 10 DDE esta hormona se eleva de manera dramática (2.22 ng/larva), para posteriormente disminuir a los 13 DDE (0.3 ng/larva) (Aguilera, 1999). Estos cambios en los niveles de T3 durante el desarrollo larvario concuerdan con los cambios morfológicos observados (Figura 4.8). En este sentido, es posible considerar que una de las etapas más críticas en el desarrollo larvario del catán coincide con el clímax metamórfico hacia la forma adulta, el cual se produce alrededor del décimo día después de la eclosión. Este periodo está enmarcado por el agotamiento de las reservas de vitelo en el octavo DDE y el inicio del crecimiento exponencial después del onceavo DDE. Por esta razón, el acondicionamiento a la alimentación exógena del 5 al 8

DDE, debe quedar bien establecido para que la larva pueda contar con las reservas energéticas suficientes para llevar a cabo la metamorfosis sin menoscabo de la condición nutricional. Considerando estos resultados, el aporte materno de hormonas tiroidianas sería mínimo y más bien los resultados apuntarían hacia el establecimiento precoz del eje tiroidiano en las larvas, el cual sería funcional en el momento de iniciar la alimentación exógena (5 DDE).

Considerando el uso y la importancia de las hormonas tiroidianas exógenas y glucocorticoides como reguladores potenciales del desarrollo de las larvas de lepisostéidos, se determinaron los efectos de la administración exógena de T3, T4, hidrocortisona y tiourea en larvas de catán (Mendoza *et al.*, 2001, 2002a). Las concentraciones de T3 fueron tres veces más elevadas en el grupo al cual se le suministró esta hormona al compararse con los otros grupos. Esto pudo ser resultado del suministro de T3 exógena, que se vino a adicionar a las elevadas concentraciones de T3 endógenas encontradas en los individuos de todos los grupos (Figura 4.9).

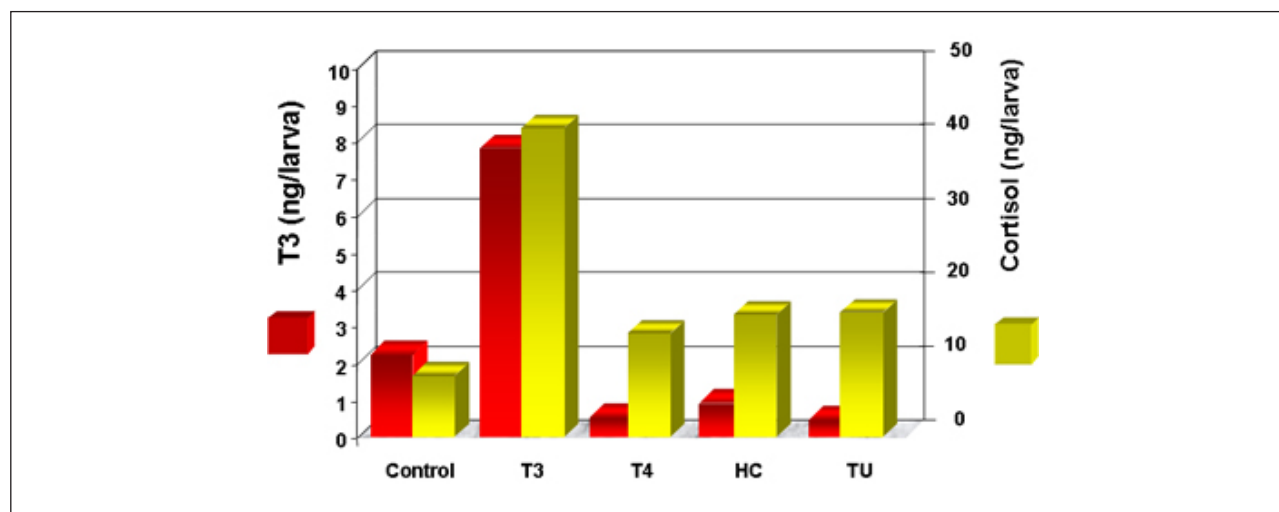


Figura 4.9.- Concentración de T3 y Cortisol (ng/larva) en larvas de catán sometidas a diferentes hormonas.

El efecto conjunto de altas concentraciones de T3 e hidrocortisona pudo haber sido responsable del menor peso, debido al metabolismo acelerado de las larvas y la energía invertida en una metamorfosis prematura. Igualmente, el exceso de estas hormonas pudo haber estado al origen de la menor sobrevivencia y las deformidades observadas en algunas de las larvas tratadas con T3. Contrariamente, altos valores de ganancia en peso y en longitud total fueron observados en el grupo tratado con tiourea, así como en el grupo control. Un hallazgo significativo fue que la longitud del hocico resultó significativamente reducida en el grupo expuesto a la tiourea, mientras que en el grupo expuesto a la T4 el

desarrollo del hocico se vio acelerado (Figura 4.10). Estos resultados muestran la factibilidad de alterar el desarrollo del hocico y presentan una nueva alternativa para el control del canibalismo bajo condiciones de cultivo, mediante el retardo en el crecimiento del hocico al exponer a las larvas a agentes anti-tiroidianos como la tiourea, sin afectar el crecimiento y la sobrevivencia. Por otra parte, el suministro de T4 proporcionaría una ventaja en aquellos organismos que se quisieran liberar para repoblar el medio natural, ya que su desarrollo precoz les ofrecería mayores posibilidades de sobrevivencia (Mendoza *et al.*, 2002a).

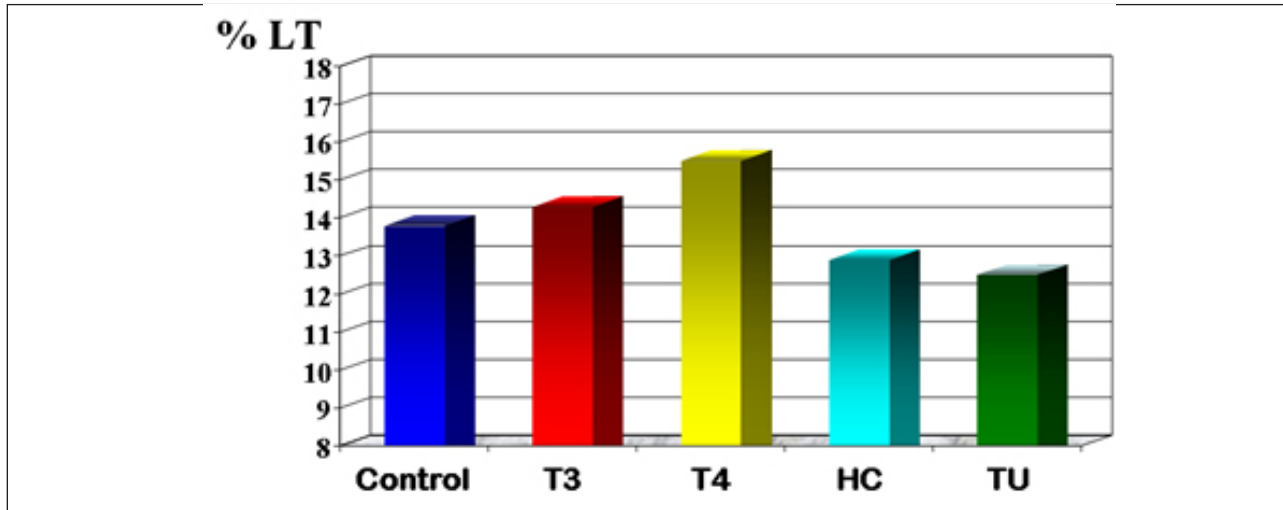


Figura 4.10.- Cambios en el tamaño del hocico expresados en función de la longitud total (%TL) en larvas de catán sometidas a diferentes hormonas.

Estudio histológico del desarrollo del tracto digestivo

Las larvas de peces teleósteos se pueden dividir en dos grandes grupos, basados en el grado de diferenciación que presenta el tracto digestivo al momento de la eclosión. Un grupo se caracteriza por presentar el tracto digestivo poco desarrollado y generalmente está formado por larvas provenientes de huevos pelágicos, mientras que otro grupo presenta un grado variable de diferenciación (*e.g.* boca abierta, hígado y páncreas diferenciado) y lo constituyen larvas provenientes de huevos demersales (Tanaka, 1969a).

Generalmente, después de la eclosión el canal alimenticio se presenta como un tubo recto histológicamente indiferenciado, el cual permanece sin cambios hasta que el saco vitelino y el glóbulo lipídico son absorbidos, es en este momento cuando en el intestino se pueden distinguir las secciones anterior, media y posterior (Grizzle y Curd, 1978; Govoni *et al.*, 1986; Ferraris y de la Cruz, 1987; Verreth *et al.*, 1992; Sarasquete *et al.*, 1995). Por el contrario, cuando los esturiones eclosionan, el tracto digestivo está representado por un saco vitelino intraembrionario endodérmico, el cual participa directamente en la formación del tubo digestivo, debido a un patrón de

división holoblástica, diferente a la mayoría de los peces y similar al de los anfibios (Buddington y Christofferson, 1985; Buddington y Doroshov, 1986; Gisbert *et al.*, 1998).

Al inicio de la alimentación, las larvas de los teleósteos pueden tener el tracto digestivo recto o presentar circunvoluciones. Durante este periodo, el epitelio intestinal se compone exclusivamente de células columnares absorptivas y se pueden apreciar gránulos de zimógenos en el tejido pancreático. A partir de este momento se presentan cambios muy rápidos en la morfología y existe una marcada semejanza con el sistema digestivo de aquellas especies que no desarrollan estómago (Tanaka, 1969b; Verreth *et al.*, 1992; Segner *et al.*, 1994; Kaji *et al.*, 1996). Por otra parte, se observa la aparición de numerosas vacuolas en la parte antero-media del intestino, como resultado de la absorción de lípidos provenientes del alimento consumido, y la forma-

ción de gránulos acidófilos en la parte posterior del intestino, producto de la acumulación de material proteico incorporado por pinocitosis (Tanaka, 1971; Tanaka 1972b; Sarasquete, 1995; Kaji *et al.*, 1996). Estas características perduran hasta el momento en que se diferencian las glándulas gástricas en el estómago (Watanabe, 1984; Walford y Lam, 1993). En el caso de los esturiones, al inicio de la alimentación exógena el tracto digestivo es similar al del adulto, presentando un alto grado de organización morfológica y funcional, ya que el estómago está diferenciado y las glándulas gástricas son funcionales (Buddington y Christofferson, 1985; Dabrowski, 1986; Buddington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995; Gisbert *et al.*, 1998). Estas características han permitido mantener a estas especies con un régimen a base de dietas artificiales desde la primera alimentación, evitando así la utilización de presas vivas (Dabrowski *et al.*, 1985).

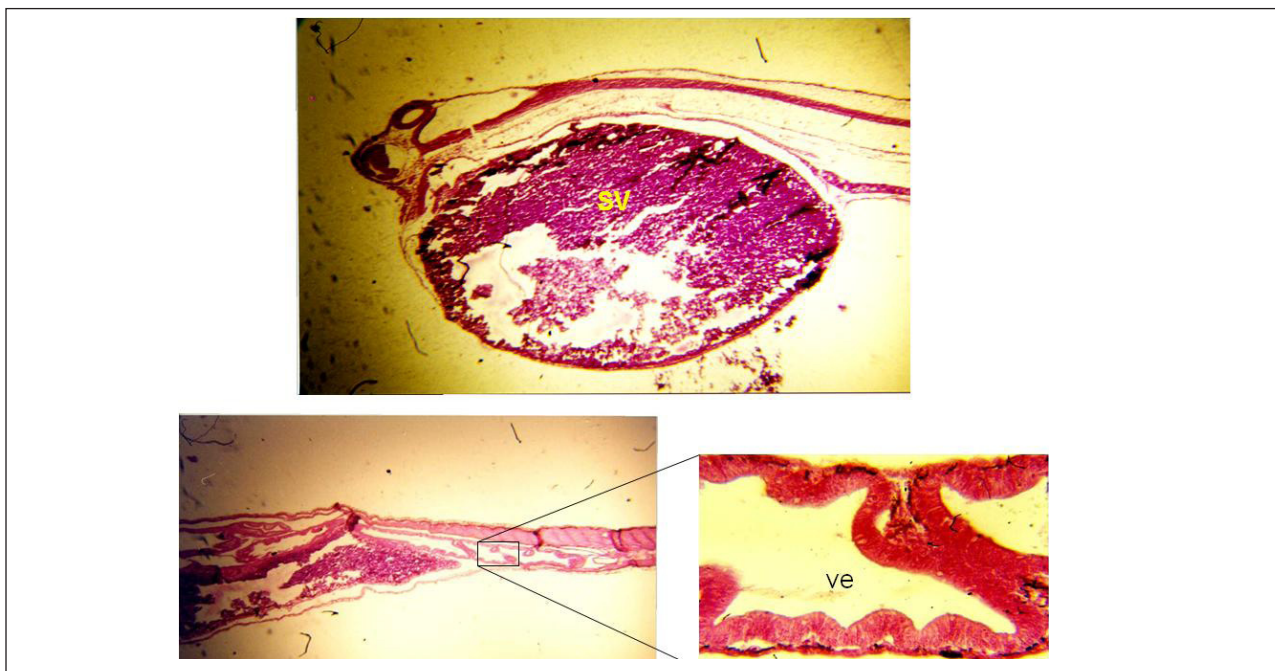


Figura 4.11.- Formación del tracto digestivo en larvas de catán de 1 DDE mostrando el saco vitelino (SV) y 3 DDE con el inicio de la formación de la válvula espiral (VE).

Considerando los argumentos previos, así como el hecho de que los lepisostéidos presentan un desarrollo embrionario con características intermedias entre los teleosteos y los esturiones (Dean, 1895), se analizaron las estructuras del tracto digestivo durante el desarrollo de las larvas de catán (Aguilera, 1999; Mendoza y Aguilera 2001; Mendoza *et al.*, 2002). Al momento de la eclosión el tracto digestivo se encuentra re-

presentado únicamente por una línea de células indiferenciadas sobre el saco vitelino (Figura 4.11). Sin embargo, la diferenciación se produce rápidamente y en el momento que inicia la alimentación exógena (5 DDE), ya es posible encontrar todas las estructuras características del tracto digestivo desarrollado, lo cual también coincide con el final de la etapa pre-larval (Figura 4.12).



Figura 4.12.- Formación del tracto digestivo en larvas de catán de 5 DDE mostrando el hígado (h), estómago anterior (ea), estómago posterior (ep), intestino anterior (ia) y válvula espiral (ve).

El grado de desarrollo que presenta el tracto digestivo al momento de iniciar la alimentación exógena los coloca, contrariamente a la mayoría de los teleósteos, dentro de un reducido grupo de especies como los esturiones y algunos salmónidos, los cuales presentan un estómago diferenciado en este momento (Buddington y Christofferson, 1985; Dabrowski, 1986; Buddington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995; Gisbert *et al.*, 1998).

Después de iniciada la alimentación exógena

se sigue observando un incremento en el tamaño de las células del tracto digestivo, lo que permite suponer que, durante este periodo, se produce un proceso de maduración del tracto digestivo (Figura 4.13). De esta forma, en el caso del catán la maduración del sistema digestivo estaría definida por cambios estructurales tales como el desarrollo de pliegues intestinales y el alargamiento en altura de los enterocitos y su contenido de organelos (Dabrowski, 1986).

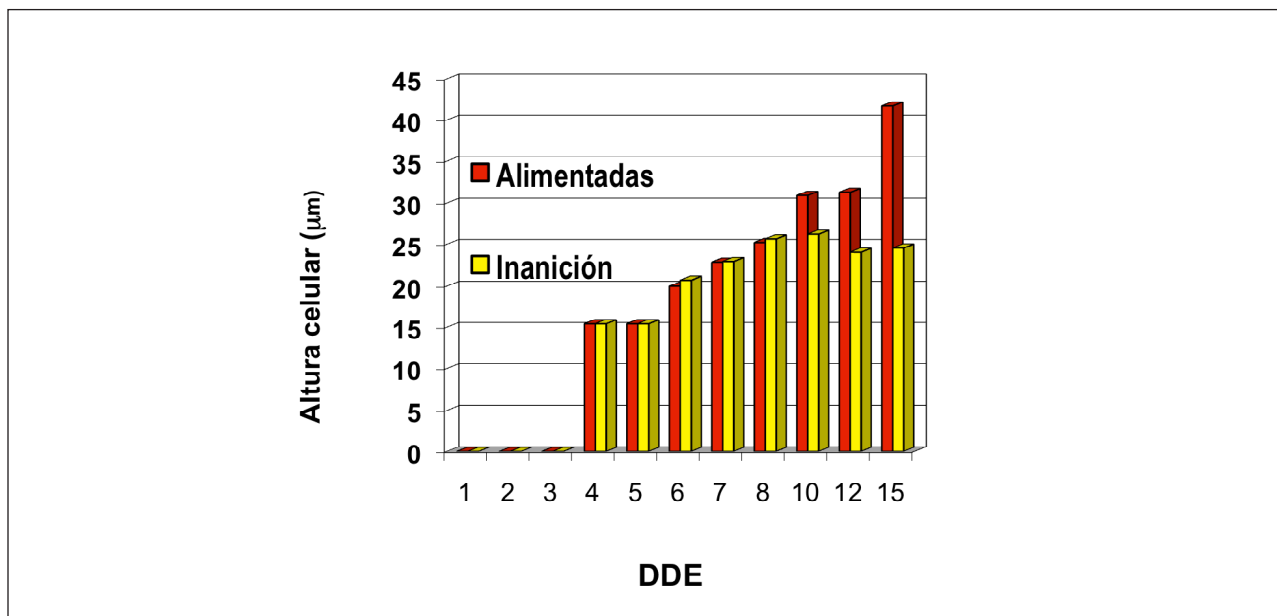


Figura 4.13.- Altura celular (mm) de los enterocitos en larvas de catán alimentadas (izquierda) y en inanición (derecha) durante el desarrollo.

Por otra parte, la existencia de reservas de vitelo en la cavidad corporal hasta el octavo DDE viene a confirmar los periodos de duración propuestos para las diferentes fases de nutrición en las larvas de catán. Es decir, de 1 a 4 DDE fase lecitotrófica; de 5 a 8 DDE fase lecitoxótrofica; de 9 DDE en adelante fase exótrofica. La existencia de estas reservas de vitelo contribuyen a explicar la ausencia de diferencias cualitativas y cuantitativas (altura de los enterocitos) entre las larvas alimentadas y en inanición

hasta la edad de 8 DDE. De hecho, una vez que estas reservas desaparecen, rápidamente (a 10 DDE) se pueden observar diferencias significativas en la altura de los enterocitos entre estos dos grupos, lo que hace de esta característica un instrumento valioso para la evaluación de dietas artificiales en el cultivo de larvas de catán (Hunter, 1976; Lasker, 1981; Theilacker y Watanabe, 1989; Oozeki *et al.*, 1989; McFadzen *et al.*, 1994; Theilacker y Porter, 1995). En contraste, para el 15 DDE las glándulas gástricas de las larvas en

inanición se observan poco desarrolladas o en degeneración al ser comparadas con aquellas de las larvas alimentadas. Por otra parte, los hepatocitos de las larvas en inanición contienen un

citoplasma condensado sin espacios intracelulares (áreas de glicógeno y de reserva de lípidos) y al mismo tiempo las fibras musculares se aprecian atrofiadas (Figura 4.14).

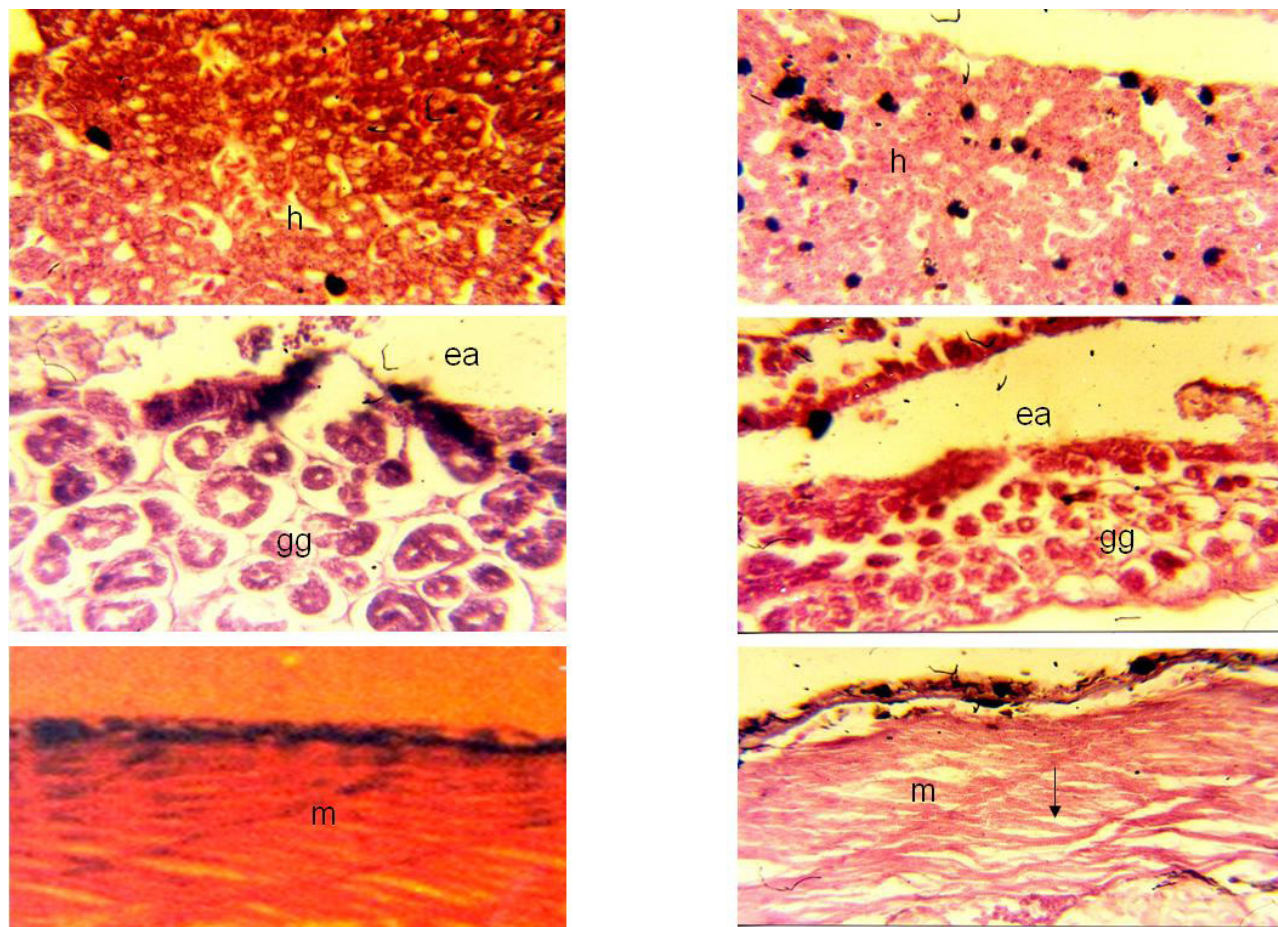


Figura 4.14.- Comparación histológica entre larvas de catán alimentadas (izquierda) y en inanición (derecha) mostrando el hígado (h), glándulas gástricas (gg) del estómago anterior (ea) y tejido muscular (m).

Sobre esta base, es posible establecer que el grado de desarrollo de las estructuras del tracto digestivo en las larvas de catán no representa un obstáculo para la utilización de dietas artificiales, por lo cual es factible alimentarlas con este tipo de dietas desde el inicio de la alimentación exógena, como sucede con algunos salmónidos y esturiones (Dabrowski *et al.*, 1985).

Ontogénesis de las enzimas digestivas

Los cambios que se presentan durante el desarrollo morfológico del tracto digestivo están acompañados necesariamente por cambios en su funcionamiento, principalmente en el tipo de enzimas digestivas producidas y en el nivel de actividad de las mismas. La falta de un equipamiento enzimático completo, al inicio de la alimentación exógena, ha sido una de las principales razones atribuidas a la dificultad de utilizar dietas artificiales por las larvas de peces. Al mismo tiempo, se ha encontrado una correlación entre el incremento de la actividad enzimática con el funcionamiento del estómago y la habilidad de digerir los alimentos artificiales (Alliot *et al.*, 1977; Lauff y Hofer, 1984; Buddington, 1985; Ueberschar, 1985; Person-Le Ruyet, 1989; Dabrowski y Culver, 1991; Moyano *et al.*, 1996).

En general se han definido tres etapas para completar una maduración total del sistema digestivo en peces. Primeramente, durante la etapa de alimentación endógena, se produce la diferenciación del tracto y se presenta una actividad enzimática incipiente. La segunda fase se inicia con la alimentación exógena, durante la cual el sistema digestivo no está completamente diferenciado y por ende la digestión es semejante a la de las especies sin estómago, caracterizadas por su baja capacidad digestiva, lo cual compensan por medio de la macro-pinocitosis de proteínas y su digestión intracelular.

Finalmente, existe una tercera fase que concuerda con la metamorfosis, durante la cual el sistema digestivo se completa y se presenta una actividad enzimática similar a la de juveniles (Buddington, 1985). En función de lo anterior, se considera que la diferenciación del sistema digestivo finaliza con la formación de glándulas gástricas funcionales en el estómago y este evento se encuentra estrechamente relacionado con la terminación del periodo larval (Verret y Van Tongeren, 1989; Person-Le Ruyet, 1989; Verret *et al.*, 1992; Walford y Lam, 1993; Moyano *et al.*, 1996).

Sin embargo, este patrón varía en algunas especies, así por ejemplo, en los esturiones cuando inicia la alimentación exógena ya están formadas las glándulas gástricas y la capacidad

proteolítica se asemeja al de los juveniles (Buddington, 1985; Buddington y Doroshov, 1986; Gawlicka *et al.*, 1995), esto les permite, al igual que a los salmónidos, ser mantenidos desde el primer alimento exclusivamente con dietas artificiales (Dabrowski *et al.*, 1985).

De esta forma, la maduración del tracto digestivo ha sido considerada como el mejor indicador para definir el tiempo apropiado para reemplazar el alimento vivo con dietas artificiales (Alliot *et al.*, 1977; Buddington, 1985; Ueberschar, 1985; Person-Le Ruyet, 1989; Dabrows-

ki y Culver, 1991; Moyano *et al.*, 1996).

La investigación concerniente a la ontogenia de las enzimas digestivas del catán (Aguilera, 1999, Ruiz, 2000, Mendoza *et al.*, 2000d; Mendoza *et al.*, 2002a) se resume a continuación:

La actividad proteolítica ácida se detecta desde el inicio de la alimentación exógena (5 DDE), antes de la completa absorción del saco vitelino. Mientras que las actividades de tipo tripsina, quimotripsina y aminopeptidasa se incrementan gradualmente del 2 al 9 DDE (Figura 4.15).

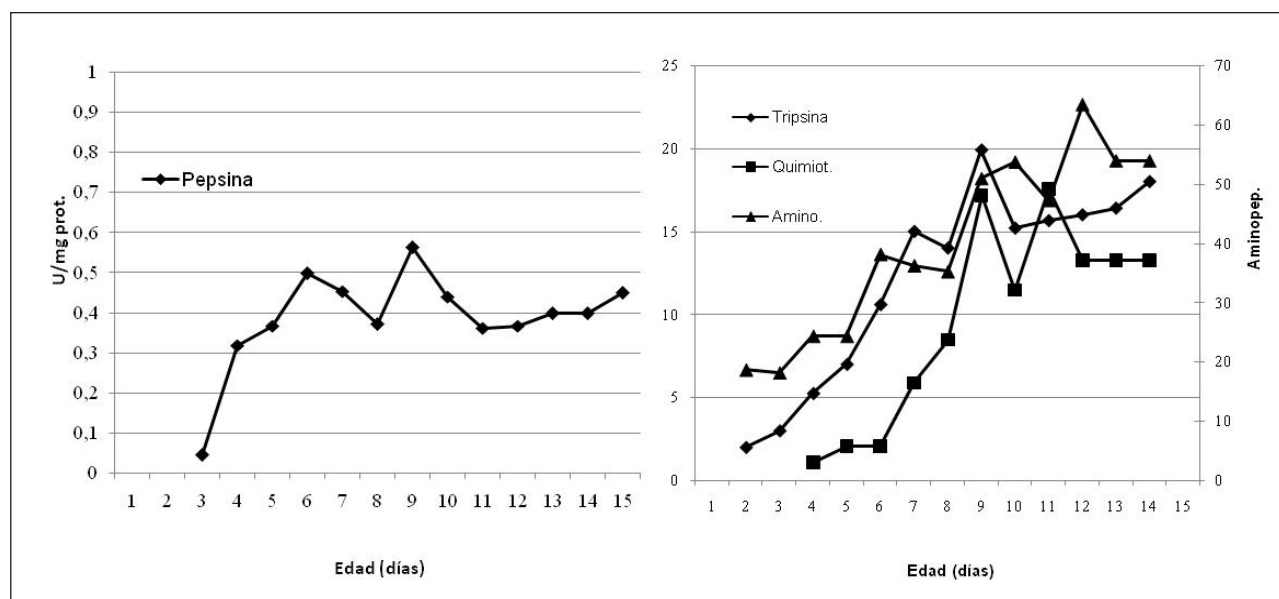


Figura 4.15.- Actividad proteolítica ácida tipo pepsina, y proteolítica alcalina tipo tripsina, quimotripsina y aminopeptidasa, durante el desarrollo de larvas de catán.

De manera particular, la actividad enzimática difiere según la región del tracto digestivo. Por ejemplo, la actividad de tipo tripsina y quimotripsina son mayores en el intestino anterior, mientras que la actividad de tipo aminopeptidasa es mayor en el intestino posterior. Esta activi-

dad enzimática digestiva, el peso molecular y el número de enzimas dentro de las regiones digestivas fue confirmada y caracterizada utilizando la técnica de sustrato gel electroforesis (Figura 4.16).

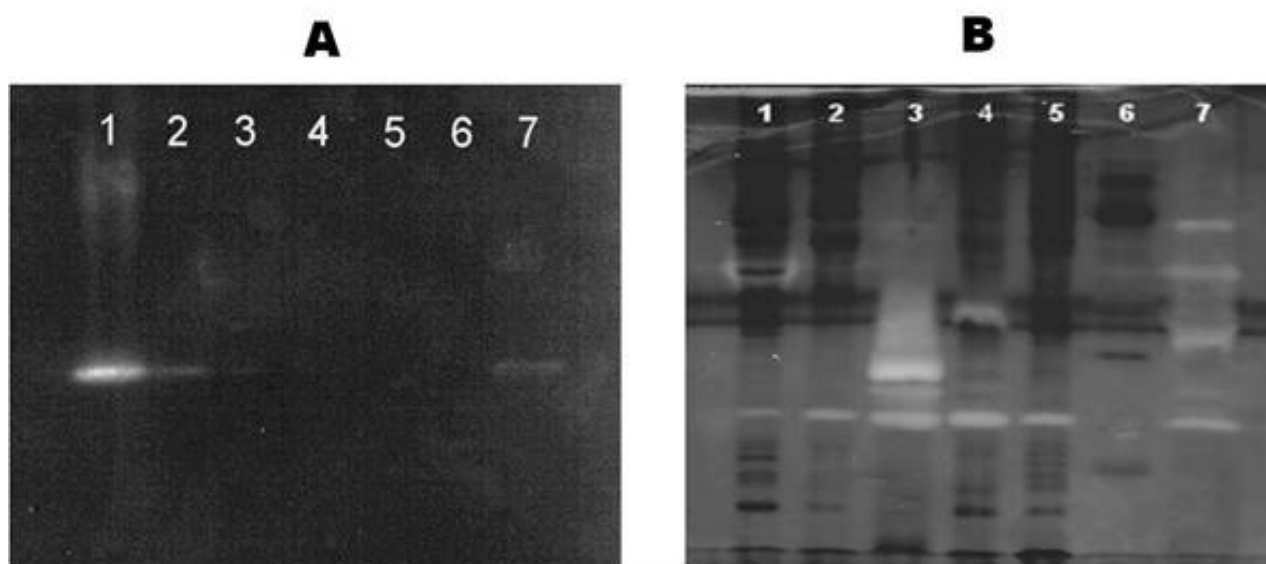


Figura 4.16.- Geles de electroforesis Sustrato-PAGE para determinar enzimas proteolíticas digestivas. Nativa-PAGE 11% incubado en hemoglobina para pepsina A; SDS-PAGE 12% incubado en caseína para proteasas alcalinas B. Juveniles: estómago 1; Intestino anterior 2; I. medio 3; I. posterior 4; ciegos pilóricos 5. Larvas de 1 y 5 DDE carriles 6 y 7.

Se detectaron importantes actividades de lipasa y fosfatasa ácida en larvas de 3-8 DDE, las cuales fueron relacionadas con la utilización de las reservas de vitelo. En contraste, se presentó un aumento en la actividad de fosfatasas alcalinas a los 8 DDE, lo que concuerda con la maduración de los enterocitos. La actividad tipo amilásica resultó muy baja a través de todo el desarrollo larval, lo que pudo ser debido a los hábitos carnívoros de las larvas de catán. En contraste, aquellos peces con hábitos herbívoros y omnívoros generalmente tienen altos niveles

de actividad amilásica (Vonk y Western, 1984; Munilla-Moran y Saborido, 1996). De esta forma, se puede afirmar que las larvas de catán poseen un tracto intestinal muy desarrollado al inicio de la alimentación exógena, caracterizado por un estómago funcional y la secreción de enzimas de tipo pepsina (Figura 4.17). Estas características son indicativas de una maduración digestiva precoz, de manera similar a las larvas de salmónidos y esturiones (Buddington, 1985; Buddington y Dorshov, 1986; Gawlicka, *et al.*, 1995).

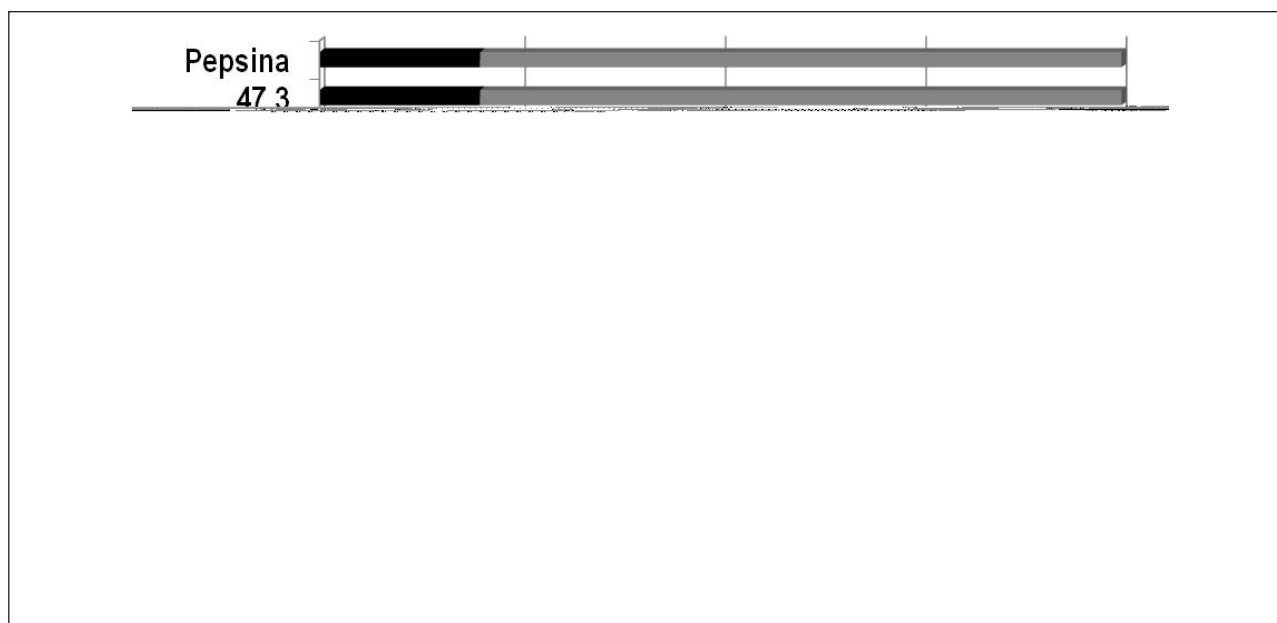


Figura 4.17.- Ontogenia de las principales enzimas digestivas durante el desarrollo de larvas de catán.

Posteriores trabajos sobre la ontogénesis de las enzimas digestivas en *A. tropicus* (Iracheta, 2006) y en *A. tristoechus* (Comabella *et al.*, 2006) han permitido establecer las semejanzas así como las diferencias en los procesos de maduración del tracto digestivo entre las larvas de estas tres especies de lepisostéidos (Mendoza *et al.*, 2008).

Para cada especie se han reportado siete diferentes bandas con actividad proteolítica, utilizando la técnica de sustrato gel electroforesis. En las larvas de catán (*A. spatula*) y pejelagarto (*A. tropicus*) fueron seis proteasas alcalinas y una ácida, mientras que en las larvas de manjuarí (*A. tristoechus*) 5 proteasas fueron alcalinas y dos ácidas (Tabla 4.1).

Enzima proteasa No.	Lepisosteido		
	<i>A. spatula</i>	<i>A. tristoechus</i>	<i>A. tropicus</i>
1	Alcalina: 18.8 kDa	Alcalina: 21.8 kDa	Alcalina: 25.2 kDa
2	Alcalina: 23.3 kDa	Alcalina: 28.4 kDa	Alcalina: 28.5 kDa
3	Alcalina: 26.8 kDa	Alcalina: 34.9 kDa	Alcalina: 37.2 kDa
4	Alcalina: 33.7 kDa	Alcalina: 41.4 kDa	Alcalina: 44.1 kDa
5	Alcalina: 36.4 kDa	Alcalina: 46.4 kDa	Alcalina: 53.1 kDa
6	Alcalina: 47.3 kDa	Ácida: Rf 0.71	Alcalina: 54.8 kDa
7	Ácida: 0.95 Rf	Ácida: Rf 0.88	Ácida: 0.95 Rf

Tabla 4.1.- Características de las proteasas digestivas encontradas en las larvas de las tres especies de lepisostéidos del género *Atractosteus*.

En general, para las tres especies se observó un orden de aparición de menor a mayor peso molecular de las proteasas alcalinas. En las larvas de catán se observa una aparición más rápida en las proteasas digestivas, ya que a los 5 DDE (inicio de alimentación exógena) se detectan cuatro proteasas alcalinas y la proteasa ácida, y para el 15 DDE aparecieron las dos restantes proteasas alcalinas. En el caso del manjuarí la aparición de las proteasas fue un poco más lenta ya que a los 5 DDE solo fue detectada una

proteasa ácida, a 7 y 8 DDE aparecen la segunda proteasa ácida y una proteasa alcalina respectivamente, y entre los 13 y 14 DDE aparecen las restantes cuatro proteasas alcalinas. Finalmente, las larvas de pejelagarto presentan una aparición más lenta de las proteasas digestivas ya que a 5 y 6 DDE se encontraron la primera proteasa ácida y alcalina respectivamente, a 13 DDE aparecen dos y a 19 DDE otras dos proteasas alcalinas y hasta los 34 DDE aparece la última proteasa alcalina detectada (Figura 4.18).

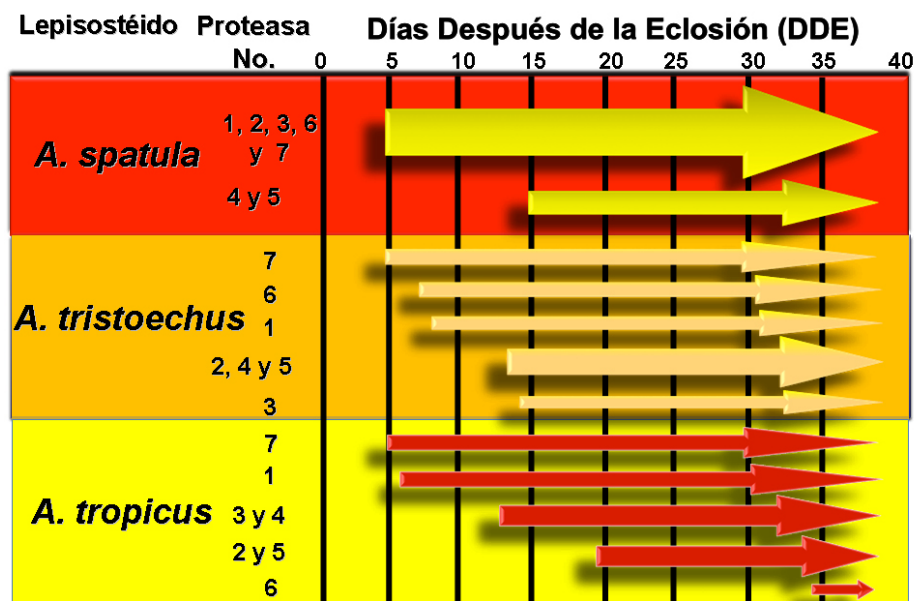


Figura 4.18.- Comparación de la ontogenia de proteasas digestivas entre las tres especies de lepisostéidos del género *Atractosteus*.

Las enzimas ácidas en las tres especies son inhibidas por pepstatina A, lo que indica que corresponden a proteasas aspárticas, particularmente de tipo pepsina. Todas aquellas bandas con actividad proteolítica alcalina pueden ser inhibidas por el SBTI, el cual es un inhibidor de serina proteasas. El PMSE, también un inhibidor de serina proteasas, produce inhibición en tres a cuatro bandas por especie. El patrón de inhibición al utilizar TLCK y TPCCK es de tres y dos bandas respectivamente por especie, estos son más específicos de serina proteasas actuando particularmente sobre la actividad de tipo tripsina y quimotripsina respectivamente. En el caso del EDTA produce inhibición solo a uno o dos bandas por especie y siendo este un compuesto quelante se presume una acción sobre metaloproteasas, pudiendo ser de tipo aminopeptidasa o carboxipeptidasa. En base a lo anterior, es posible considerar que la actividad proteolítica alcalina en larvas de lepisostéidos está dada principalmente por enzimas de tipo serina proteasas.

A pesar de ser especies muy cercanas se pueden observar claras diferencias en el proceso de maduración del tracto digestivo, lo cual necesariamente implica realizar adecuaciones en las estrategias de alimentación y cultivo larvario. La presencia de pepsina en las tres especies desde el inicio de la alimentación exógena (5 DDE) muestra un alto grado de desarrollo del tracto digestivo y hábitos fuertemente carnívoros. Al mismo

tiempo, esto permite utilizar dietas artificiales desde la primera alimentación, las cuales deben ser formuladas preferentemente con ingredientes proteicos más susceptibles a la digestión ácida. El incremento gradual en el número de proteasas alcalinas indican que la maduración final del tracto digestivo se da a nivel intestinal y tejidos asociados (páncreas), a diferencia de la mayoría de peces marinos estudiados donde el estómago es la última región en ser funcional. La ontogenia muestra una maduración más rápida en el caso del catán, seguido del manjuarí y finalmente el pejelagarto. Lo anterior puede ser relacionado con la tasa de crecimiento y la talla final que alcanza cada especie, en donde se presenta el mismo orden decreciente entre el catán, manjuarí y pejelagarto. Sin embargo, al final del desarrollo no se observan grandes diferencias en el número y tipo de enzimas proteolíticas, lo que sugiere que los juveniles de las tres especies tienen capacidades digestivas similares, lo cual permitiría utilizar alimentos artificiales con formulaciones semejantes para la etapa de crecimiento y engorda. Este tipo de técnicas proporcionan un indicio del tipo de enzimas presentes, sin embargo una clara caracterización del tipo de actividad requiere como primer paso la purificación de las diferentes enzimas, lo cual, en el caso del catán, se encuentra actualmente en proceso mediante técnicas de cromatografía. Lo anterior igualmente permitirá

buscar alimentos e ingredientes con mejor digestibilidad.

Teniendo en cuenta los resultados previos, puede ser concluido que el sistema digestivo en el caso del catán está altamente desarrollado al inicio de la alimentación exógena, particularmente comparado con otras especies. Esto indica la ausencia de limitación digestiva para alimentar a las larvas de catán con dietas artificiales desde la primera alimentación exógena.

La información generada a partir del aislamiento y purificación de las principales enzimas digestivas está siendo actualmente utilizada para desarrollar un sistema de digestibilidad *in vitro* que permita probar diferentes ingredientes alimenticios, lo que resultará en la formulación de dietas de bajo costo para el cultivo de larvas de catan.

Metabolismo de las larvas

Hormona de crecimiento (GH)

El catán presenta una sorprendente tasa de crecimiento desde los primeros estadios larvarios y a través de todo su ciclo de vida permitiendo que los adultos alcancen de 2-3 metros de longitud. Desafortunadamente, se conoce poco en lo concerniente a la fisiología de este sorprendente proceso. La hormona de crecimiento (GH) de los peces es

una hormona hipofisaria responsable del crecimiento lineal, sin embargo también puede ser expresada en tejidos extra-hipofisarios de los adultos y en embriones tempranos. Se sabe que la GH estimula el apetito (Pickford y Atz, 1957; Higgs *et al.*, 1975), la tasa de conversión alimenticia (Markert *et al.*, 1977), la movilización de lípidos (Sheridan, 1986), la retención del nitrógeno (Matty, 1962), la incorporación de aminoácidos a los tejidos (Cheema y Maty, 1978; Fauconneau *et al.*, 1996), así como la estimulación del metabolismo energético y proteico a nivel de todo el cuerpo (Medale *et al.*, 1988) y a nivel de los tejidos (Foster *et al.*, 1991). El efecto promotor de crecimiento por la administración exógena de GH en los peces ha sido bien establecido. Un gran número de estudios ha mostrado que la administración de GH de mamíferos aumenta la tasa de crecimiento de los peces (Pickford y Thompson, 1948; Komourdjian *et al.*, 1976; Adelman, 1977). Similarmente, un marcado incremento en la tasa de crecimiento, en el apetito y en la tasa de conversión alimenticia, ha sido reportado por diferentes autores utilizando GH bovina natural (Higgs *et al.*, 1975, 1976; Markert *et al.*, 1977).

Cook *et al.*, (1983) mostraron un aumento altamente significativo en la tasa de crecimiento de goldfish después de una inyección intraperitoneal de GH de carpa o de bovino, y Wagner y McKeown (1981) reportaron un incremento en

el tamaño del cuerpo y en el peso de juveniles de trucha inyectados con GH purificada de salmón. Las hormonas de crecimiento recombinantes tienen efectos similares en la promoción del crecimiento de las carpas (Xu *et al.*, 1991). Por otra parte, Agellon *et al.*, (1988) mostraron que la administración de GH recombinante de trucha resulta en una aceleración de la tasa de crecimiento de juveniles de trucha arcoiris, mientras que inyecciones de GH recombinante

bovina y de pollo, pudieron incrementar el crecimiento en juveniles de salmón del Pacífico (Gill *et al.*, 1985).

Dentro de este contexto, se llevó a cabo una investigación con la finalidad de obtener la secuencia codificante de la hormona de crecimiento de catán y de esta forma poder estudiar su expresión a lo largo del desarrollo larvario (Mendoza *et al.*, 2002 d, Revol *et al.*, 2006) (Figura 4.19).

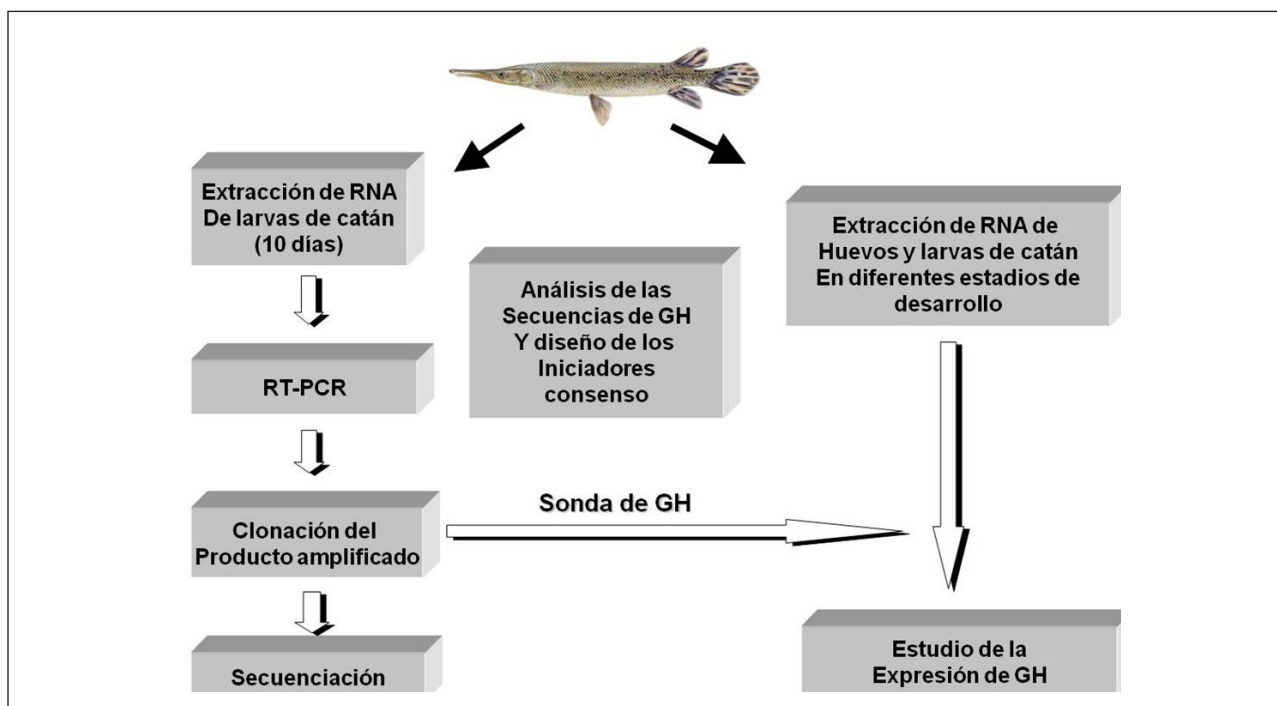


Figura 4.19.- Esquema del protocolo de investigación para aislar, secuenciar y medir los niveles de expresión del gen de la hormona de crecimiento (GH).

El DNA complementario que codifica para la GH se obtuvo por RT-PCR utilizando RNA extraído de cabezas de larvas de catán. Se diseñaron dos tipos de sondas sobre regiones conservadas, la primera permitiendo la amplificación teórica de toda la secuencia codificante, mien-

tras que la segunda fue localizada entre la región del segundo y quinto exón. A pesar de que las condiciones del PCR fueron estandarizadas con ambos tipos de oligonucleótidos, solamente el segundo permitió la amplificación de un fragmento de 491 pares de bases (Figura 4.20).

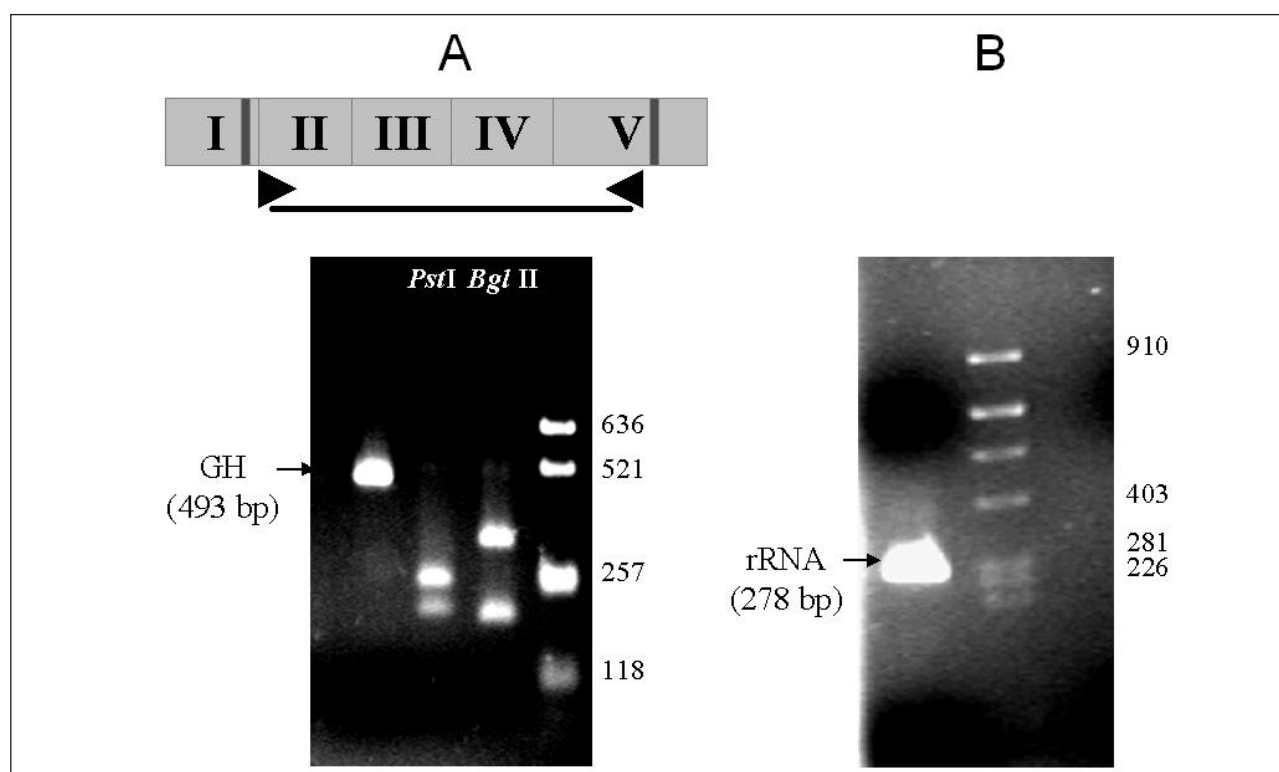


Figura 4.20.- Amplificación del cDNA y rRNA de la GH de catán. A- Reacción RT-PCR para amplificar la secuencia de la GH utilizando la sonda desarrollada. La barra gris indica la posición del primer y último codón de la secuencia. El producto amplificado fue designado BglII y PstI y analizados por electroforesis (agarosa 2%). B- Amplificación del fragmento de rRNA de catán.

Este producto de PCR fue clonado utilizando pBlueScript como vector y su secuencia de nucleótidos fue determinada a partir de tres clones independientes. El análisis del fragmento secuenciado confirmó que este correspondía al gen de la GH, compartiendo un 98% de similitud nucleotídica con la GH de *L. osseus* previamente reportada (Rubin *et al.*, 1996; GeneBank access number S82528). Sólo un cambio en un

aminoácido (Val /Ala) en el quinto exón fue observado entre las dos especies de lepisostéidos (Figura 4.21). Los pocos cambios residuales observados entre las GHs de los dos peces primitivos, que divergieron hace 180 millones de años, sostienen el hecho de que una evolución muy lenta de la GH se ha producido en estos peces, en contraste con el cambio evolutivo tan rápido que ha sido observado en los euteleosteos.

```

GH_de_catá -----CACCAATGCACTGATAAGAGCACAGCAC
GH_de_L.os GAAGTGGGAGCATTCCACTGTACAGCCTCTCCACCAATGCAGTGATAAGAGCACAGCAC
                *****
GH_de_catá CTCCACCAGCTTGGCGCTGATATTTACAAGATTTTGAGCGCACCTATGTGCCAGAAGAG
GH_de_L.os CTCCACCAGCTTGGCGCTGATATTTACAAGATTTTGAGCGCACCTACGTGCCAGAAGAG
                *****
GH_de_catá CAGAGACAGTCAAGCAAAAGTTCTCCATCTGCCATATGCTATTCTGAGTCCATTCTGCA
GH_de_L.os CAGAGACAGTCAAGCAAAAGTTCTCCATCCGCCATATGCTATTCTGAGTCCATTCTGCA
                *****
GH_de_catá CCCACTGGCAAAGATGAAGCTCAGCAGAGATCTGATGTGGAGCTGCTGAGATTCTCCCTG
GH_de_L.os CCCACTGGCAAAGACGAAGCTCAGCAGAGATCTGATGTGGAGCTGCTGAGATTCTCCCTG
                *****
GH_de_catá GCTCTCATCCAGTCTGGATCAGCCCTCTGCAGACTCTGAGCCGGGTGTTCTCCAACAGC
GH_de_L.os GCTCTCATCCAGTCTGGATCAGCCCTCTGCAGACTCTGAGCCGGGTGTTCTCCAACAGC
                *****
GH_de_catá CTAGTCTTGGCACTTCCGACAGGATCTTTGAGAAGCTGCAGGACCTTGAGCGGGGATC
GH_de_L.os CTAGTCTTGGCACTTCCGACAGGATCTTTGAGAAGCTGCAGGACCTTGAGCGGGGATC
                *****
GH_de_catá GTGACCCTCACAAGGGAAATTGATGAGGGAAGCCCCAGAATTGCAGCCTTCTGACTCTC
GH_de_L.os GTGACCCTCACAAGGGAAATTGATGAGGGAAGCCCCAGAATTGCAGCCTTCTGACTCTC
                *****
GH_de_catá ACGTATGAGAAGTTTGACACCAACCTGAGAAATGACGACGTTCTGATGAAAGAACTACGGG
GH_de_L.os ACGTATGAGAAGTTTGACACCAACCTGAGAAACGACGACGCTCTGATGAAAGAACTACGGG
                *****
                V-A
GH_de_catá CTTTtagcttgTTTCAAGAAAGACATGCTCAAAGTGGAGACTT-----
GH_de_L.os CTTTtagcttgTTTCAAGAAAGACATGCACAAAGTGGAGACTTATCTGAAAGTATGAAAG
                *****

```

Figura 4.21.- Secuencia parcial de la GH de catán obtenida en comparación con la secuencia reportada previamente para *L. osseus* (S82528). Se marcan las diferencias en nucleótidos así como el cambio en aminoácidos.

Utilizando hibridación múltiple (Multi-NPATM, Ambion), los transcritos de GH de catán fueron detectados y cuantificados utilizando una sonda de RNA ribosomal como control interno, en muestras de huevos y en diferentes estadios larvales. Los mRNAs fueron detectados en embriones y en diferentes etapas larvales. La expresión relativa de la GH a lo largo de las etapas larvales indica la existencia de una expresión sustancial de esta hormona en huevos no fertilizados, disminuyendo hacia el día tres después de la eclosión, para posteriormente incrementarse hacia los 5 a 7 DDE, correspondiendo esta etapa a la organogénesis. Hacia el 8 DDE la

expresión disminuye nuevamente y esto es coincidente con el tiempo en el cual las reservas vitelinas se agotan y se presenta el cambio hacia la alimentación exógena. Finalmente, la expresión aumenta de nuevo entre los 9 y 10 DDE, correspondiendo probablemente a la formación de la glándula pituitaria (Fig. 4.22). Estos cambios igualmente pueden ser relacionados por la interacción de la GH con otras hormonas como la T3 y el cortisol, las cuales en su conjunto regulan tanto el desarrollo como el crecimiento de las larvas y juveniles de catán (Fig. 4.23)

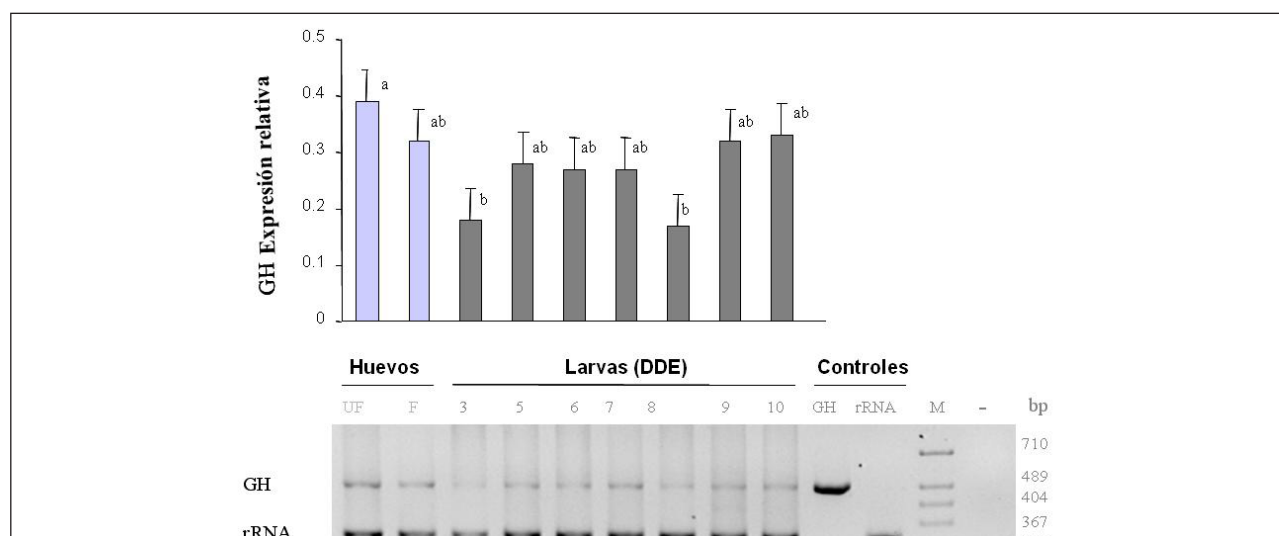


Figura 4.22.- Cantidades relativas de transcritos de GH durante el desarrollo larval del catán. RT-PCR Semi-cuantitativo en huevos no fertilizados (UF), huevos fertilizados (F) y larvas a diferentes DDE. Los productos de amplificación fueron analizados por densitometría en gel de agarosa 2%.

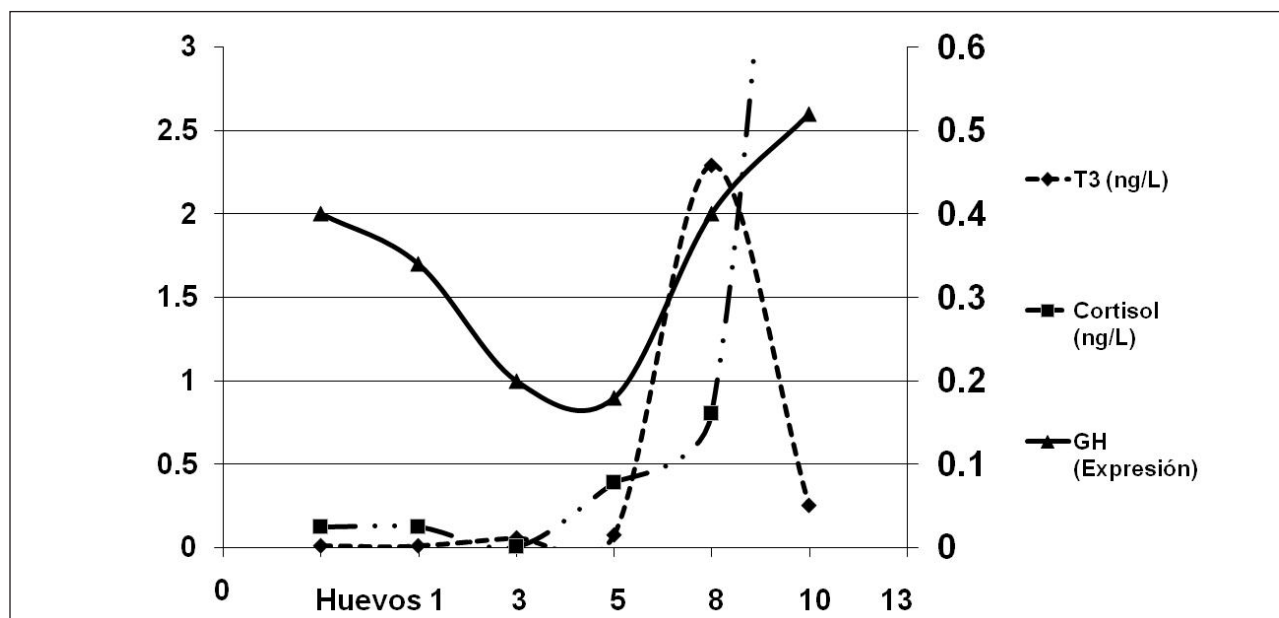


Figura 4.23.- Regulación del desarrollo y del crecimiento por las hormonas T3 y cortisol en eje izquierdo y hormona de crecimiento (GH) en eje derecho en huevos y larvas de diferentes DDE.

Estos resultados corroboran reportes previos sobre la expresión de la GH en etapas larvales tempranas de un euteleosteó (trucha arcoiris) y sugieren fuertemente que la GH puede jugar un papel importante durante la embriogénesis en los peces. Hasta fecha reciente el dogma era que la GH no tenía ningún papel en el crecimiento y desarrollo embrionario, pero los transcritos de GH han sido detectados en embriones de ratón en la etapa de mórula (Pantaleon *et al.*, 1997), en embriones de trucha arcoiris antes de la or-

ganogénesis de la pituitaria y aún en ovocitos maduros (Yang *et al.*, 1999). Adicionalmente, se ha observado que los receptores funcionales de la GH han sido expresados muy tempranamente en embriones de ratón (Pantaleón *et al.*, *op. cit.*), así como en blastocistos y en tejido fetal de cabra (Lacroix *et al.*, 1999). Estos datos en su conjunto sugieren un mayor rango de acción de la GH en el control del desarrollo temprano de los vertebrados.

La clonación de la GH y la elucidación de su papel durante las etapas larvales puede ciertamente contribuir a un mejor entendimiento de la fisiología larvaria del catán y consecuentemente podría facilitar el cultivo de las larvas y juveniles para llegar a su talla comercial. Con miras a la aplicación de la GH en el cultivo de peces, la futura dirección de nuestra investigación se va a focalizar en la síntesis de GH del catán por bioingeniería en microorganismos modificados para poder demostrar su efecto en la promoción de crecimiento, tomando como modelo el pejelagarto por ser una especie relacionada cuyo crecimiento es más lento, comparado contra el del catán, lo cual retarda su producción. Aún más, es evidente que los peces responden con un incremento de crecimiento al tratamiento con la mayoría de las GHs, pero no de todas. Por esta razón el gen de la GH o su cDNA ha atraído mucha atención sobre transgénesis en peces, ya sea como modelos de estudio así como para futuras aplicaciones en la acuicultura.

Índice de condición basado en ácidos nucleicos

Para estudiar el metabolismo, así como la condición nutricional de las larvas de peces, se han llevado a cabo diferentes aproximaciones, entre las que se encuentran gran variedad de indicadores morfológicos, histológicos o bioquímicos, con énfasis especial en aquellos que puedan reflejar el aprovechamiento de dietas compuestas o naturales (Ferron y Legget, 1994). Sin embargo, la necesidad de contar con indicadores confiables y sensibles a la condición nutricional y el crecimiento, ha conducido diferentes esfuerzos hacia el desarrollo de indicadores moleculares, particularmente con los ácidos nucleicos que juegan un papel importante en el crecimiento y en el desarrollo. Así, se ha mostrado que entre varios indicadores, la tasa entre el contenido total de RNA con el DNA (RNA/DNA) resulta un indicador muy útil para evaluar la condición nutricional de diferentes organismos acuáticos.

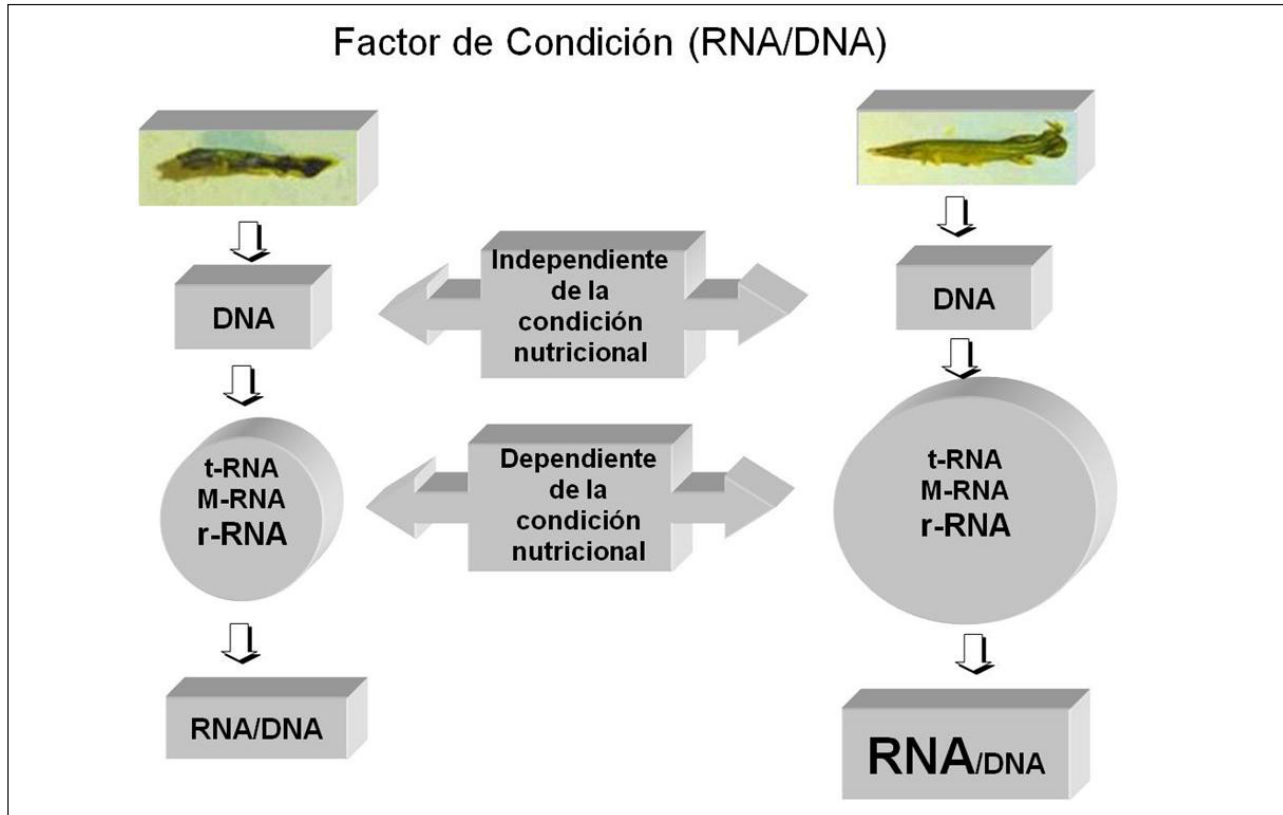


Figura 4.24.- Principio general en el que está basado el Factor de condición RNA/DNA para larvas de peces.

La racional de esta aproximación se basa en que la cantidad de DNA es virtualmente constante en los tejidos somáticos, de aquí que las concentraciones tisulares de DNA sean un reflejo del número de células. Mientras que la cantidad de RNA en la célula será directamente proporcio-

nal a la tasa de síntesis de proteínas que ocurra (Figura 4.24). De esta forma, la relación entre el contenido total de RNA y DNA representa un índice de la intensidad metabólica celular, por lo que ha sido utilizado para medir el potencial de crecimiento en larvas de peces (Clemmesen,

1996). La tasa RNA/DNA está basada en el hecho de que la transcripción dependiente de la síntesis de proteínas está positivamente correlacionada con la actividad ribosomal y con el aumento de los niveles celulares de RNA, mientras que el DNA total no sufre estos cambios, proporcionando un punto de referencia (Mommensen, 1998). Esto provee una excelente herramienta para confirmar la actividad de crecimiento de las larvas y juveniles y ha probado ser un indicador útil de la condición nutricional, como ha sido mostrado en diferentes estudios con larvas de peces (Westerman y Holt, 1988; Grant, 1996; Rooker, 1997; Buckley *et al.*, 1999; Fukuda *et al.*, 2001). La finalidad de utilizar un indicador molecular para medir la condición es predecir de manera confiable las probabilidades de sobrevivencia bajo regímenes alimenticios determinados.

Cuantificando los ácidos nucleicos totales en larvas de catán, de acuerdo al método de Westerman y Holt (1988), fue posible observar que mientras las larvas de catán alimentadas con presas o con dietas artificiales aumentaban en peso y en tamaño, las concentraciones de DNA y RNA se incrementaban igualmente. Esto resultó ser un indicio de la proliferación celular y un aumento paralelo en la cantidad total de RNA disponible para la síntesis de proteínas, que serían canalizadas para el crecimiento como había sido previamente reportado por otros autores (Houlihan,

1993; Mathers *et al.*, 1994). La tasa RNA/DNA mostró un aumento gradual hasta el día 13 DDE (esto es, 9 días después de iniciar la alimentación exógena) y de aquí en adelante permaneció constante, sugiriendo que el crecimiento como producto de una mayor síntesis proteica intracelular se estabilizaba en esta etapa y que las larvas continuaban creciendo con la misma intensidad metabólica (Figura 4.25). Estos datos concuerdan con las observaciones morfológicas que marcan el momento en que termina la metamorfosis, así como con el inicio de crecimiento exponencial, el decremento de los niveles de T3 y la estabilización de la altura celular de los enterocitos. Por el contrario, en aquellas larvas de catán privadas de alimento exógeno, la concentración de RNA, DNA y la tasa RNA/DNA fue muy baja durante los primeros días del desarrollo larval y posteriormente se mantuvo constante, pero con una tendencia a disminuir. Estas observaciones permitieron diferenciar fácilmente las larvas de catán en inanición de las larvas alimentadas, e incluso fue posible detectar diferencias en el contenido de ácidos nucleicos totales entre larvas alimentadas con diferentes dietas. Igualmente, esto fue posible confirmarlo por medio de otros índices (proteína / peso seco; proteína / DNA; RNA / proteína; DNA / peso seco; RNA / longitud total) (Mendoza *et al.*, 2002b, 2002c).

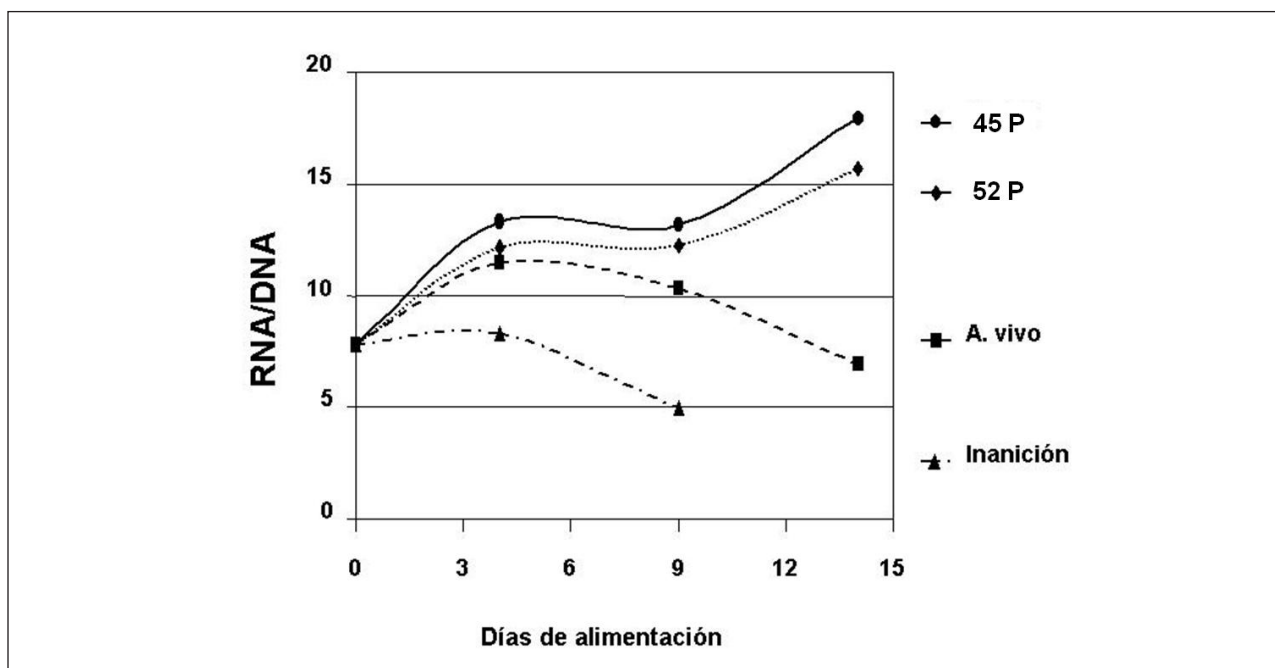


Figura 4.25.- Tasa RNA/DNA de larvas de catán alimentadas con diferentes dietas.

Aceptación y consumo de dietas artificiales

La utilización de dietas artificiales en el cultivo de larvas de peces conlleva varias ventajas, entre las cuales se encuentra la posibilidad de poder modificar la composición de la dieta y prepararla de acuerdo a los requerimientos nutricionales específicos de las larvas (Bromley, 1979). Aún más, representa una alternativa atractiva para eliminar el uso extendido de presas vivas (Duray y Bagaria-

no, 1984). Por estas razones, las dietas artificiales para el cultivo de larvas de peces tanto marinas como de agua dulce han sido extensivamente utilizadas. A este respecto, existen tres principales estrategias que se han adaptado para propiciar el consumo de dietas artificiales y evitar o reducir la necesidad de utilizar presas vivas. La primera estrategia es la conocida como acondicionamiento directo, el cual se refiere al suministro de dietas artificiales desde el inicio de la alimentación exó-

gena. La segunda es el acondicionamiento indirecto, la cual consiste en suministrar dietas artificiales después de un periodo de alimentar a las larvas con presas vivas. Finalmente, el acondicionamiento progresivo es la tercera estrategia e implica un reemplazo gradual de presas vivas por dietas artificiales (Person-Le Rouyet, 1989; Lazo, 2000). El acondicionamiento directo normalmente se lleva a cabo en larvas grandes, como en el caso de las carpas (Dabrowski *et al.*, 1978), salmónidos y esturiones (Dabrowski *et al.*, 1985), así como en soleidos (*Solea solea*) (Appelbaum, 1985). Sin embargo, varias desventajas han sido asociadas al uso de esta estrategia. Por ejemplo, la ocurrencia de escoliosis, lordosis y nado errático han sido reportadas en larvas de coregónidos (*Coregonus chupeaformis*) (Zitzow y Millard, 1988). Igualmente, la reducción de crecimiento y baja sobrevivencia han sido observados en larvas de esparidos (*Sparus aurata*) (Tandler y Kolkovski, 1991). Algunos de los problemas asociados con el uso de esta estrategia han sido atribuidos a la baja calidad de los huevos y las larvas (Dabrowski *et al.*, 1985), a las bajas tasas de ingestión (Kolkovski *et al.*, 1993), a deficiencias nutricionales de las dietas (Zitzow y Millard, 1988), o bien a una baja afinidad de las enzimas proteolíticas por los sustratos artificiales ofrecidos en las dietas, lo que provocaría una hidrólisis insuficiente de proteínas dietarias y una baja utilización alimenticia (Dabrowski y Culver,

1991; Tandler y Kolkovski, 1991; Kolkovski *et al.*, 1993).

El principio del acondicionamiento indirecto es que las larvas en la primera alimentación puedan adaptarse a atrapar e ingerir presas vivas y móviles de una manera más rápida que el alimento inerte, y una vez adaptadas, que puedan también capturar y aceptar el alimento inerte. El acondicionamiento indirecto, después de la alimentación de las larvas durante los primeros días con presas vivas, ha sido utilizado en larvas de turbot (*Scophthalmus maximus*), en donde se observó que el uso de cantidades limitadas de presas vivas era considerado importante para el exitoso acondicionamiento de larvas muy pequeñas. No obstante, comparativamente no resultaba tan importante en larvas grandes (Bromley, 1978). Un intento de acondicionamiento de larvas de *Chanos chanos*, alimentadas previamente con presas vivas, utilizando un cambio abrupto a dietas artificiales fue previamente evaluado pero con un éxito limitado. Sin embargo, los resultados se mejoraron cuando se adoptó un acondicionamiento progresivo (Durray y Bagariano, 1984). Utilizando esta estrategia ha sido posible desarrollar una secuencia gradual a partir de dietas vivas hasta la utilización de dietas artificiales en larvas de *Lates calcarifer*, permitiendo una reducción o evitando el canibalismo que se presenta cuando las presas

vivas son reemplazadas por dietas artificiales (Fuchs y Nedelec, 1990). De manera similar, una estrategia de acondicionamiento gradual ha sido exitosamente utilizada con larvas de *Dicentrarchus labrax* (Devresse *et al.*, 1991). Por otra parte, se ha observado que los periodos extendidos de alimentación con presas vivas posponen

e incrementan la dificultad para obtener el acondicionamiento, mientras que con periodos cortos de alimentación con presas vivas el acondicionamiento resulta mas fácil y las tasas de mortalidad son menores, aunque las tasas de crecimiento son inferiores (Appelbaum, 1985).

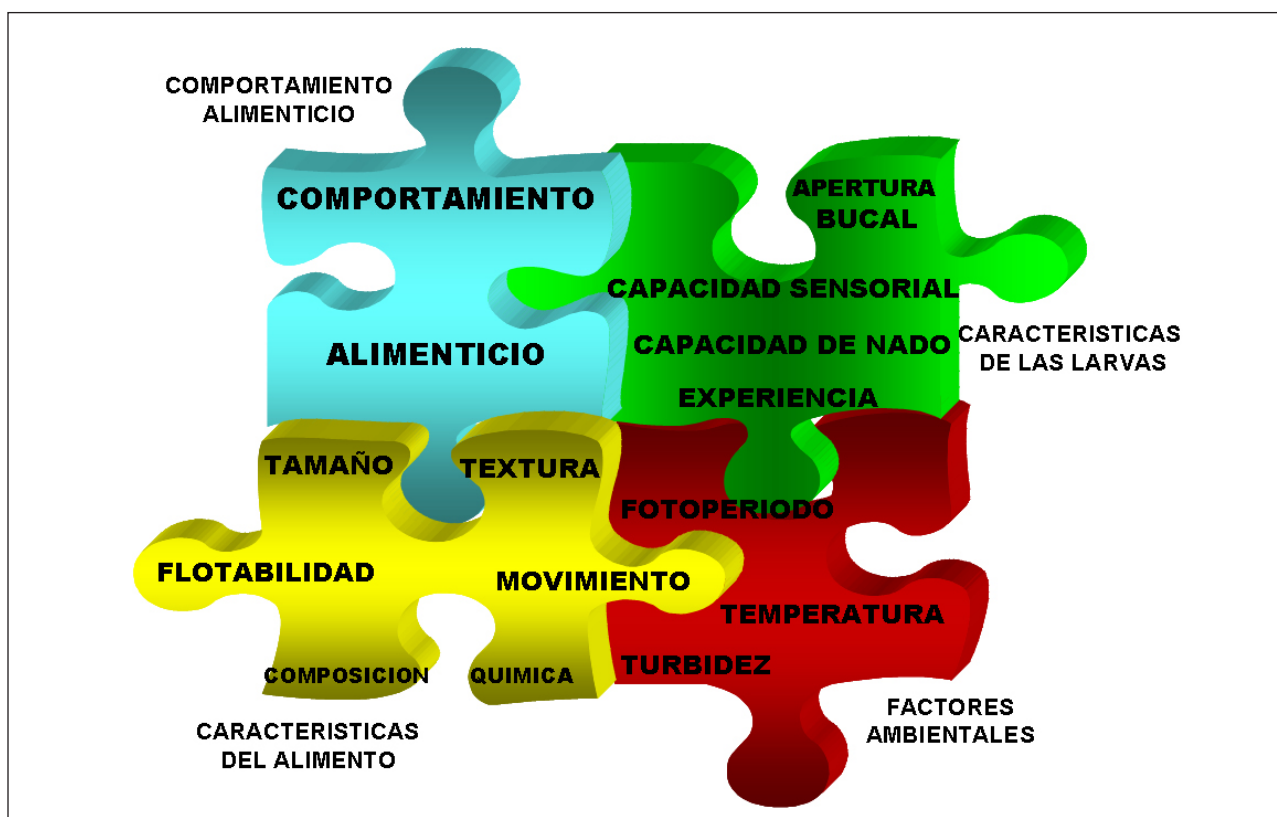


Figura 4.26.- Principales factores que influyen en la aceptación del alimento y que deben ser considerados para las estrategias de alimentación y destete en larvas de peces.

La elaboración de una dieta artificial implica considerar la variedad de requerimientos nutricionales de diferentes especies y de diferentes estadios de desarrollo, así como diferentes características fisicoquímicas de la dieta (textura, color, tamaño, densidad, palatabilidad, estabilidad, etc.). Por lo que varios experimentos preliminares de alimentación son requeridos antes de establecer las características más adecuadas para una dieta (Figura 4.26).

De esta forma, basados en los resultados obtenidos a través de la aproximación multidisciplinaria (morfología, estructura, fisiología y metabolismo) adoptada para el estudio del desarrollo larvario del catán, se puede asumir que no existe dificultad para lograr el acondicionamiento de las larvas de esta especie al consumo de dietas artificiales. Sin embargo, no existían reportes exitosos que confirmaran esta aseveración para cualquiera de los lepisostéidos relacionados con el catán (i.e. pejelagarto o manjuari). Por el contrario, la mayoría de los intentos de cultivo de larvas de estas especies habían fracasado, resultando en altas mortalidades (León *et al.*, 1978; García *et al.*, 1997; Morales, 2000, comunicación personal; Marquez, 2001 comunicación personal). Aún más, se habían obtenido resultados cuestionables en crecimiento cuando los juveniles de estas especies habían sido alimentados con

presas vivas (Maldonado, 1991). De aquí, que las dietas vivas fueran consideradas la única alternativa para el cultivo de las larvas de lepisostéidos, particularmente en el caso del pejelagarto (Rodríguez *et al.*, 1997; Hernández *et al.*, 1997; Hernández, 1999).

En el caso de las larvas del catán y del manjuari, los intentos de cultivo de los juveniles eran rápidamente interrumpidos, y estaban únicamente restringidos a la etapas larvales iniciales en donde el canibalismo no constituía todavía un problema (Morales, 2000, comunicación personal) (Figura 4.27). Los primeros intentos para cultivar las larvas de catán en nuestro laboratorio utilizando dietas artificiales se iniciaron en 1997, y hasta 1999 la mayor parte no fueron exitosos. En los ensayos llevados a cabo, las larvas de catán fueron alimentadas inicialmente con nauplios de *Artemia salina*, pero el cultivo terminaba a los quince días después de la eclosión (DDE) cuando las larvas alcanzaban un tamaño máximo de 50 mm, antes de que el suplemento de alimento pudiera tener efecto sobre el crecimiento y la sobrevivencia. Sin embargo, y a pesar de no haber alcanzado altas tasas de sobrevivencia ó de crecimiento, estos experimentos permitieron la identificación de características importantes de las dietas artificiales, así como de una posible estrategia para que las dietas pudieran ser acepta-



das (Aguilera, 1999). De esta forma, al siguiente año fue posible obtener los primeros resultados exitosos (Mendoza y Aguilera, 2000a; Mendoza *et al.*, 2000c). A continuación se presenta un resumen de los experimentos que se llevaron a cabo

para desarrollar una estrategia eficiente que permitió cultivar de manera adecuada las larvas de catán hasta su etapa juvenil, alimentadas exclusivamente con dietas artificiales.

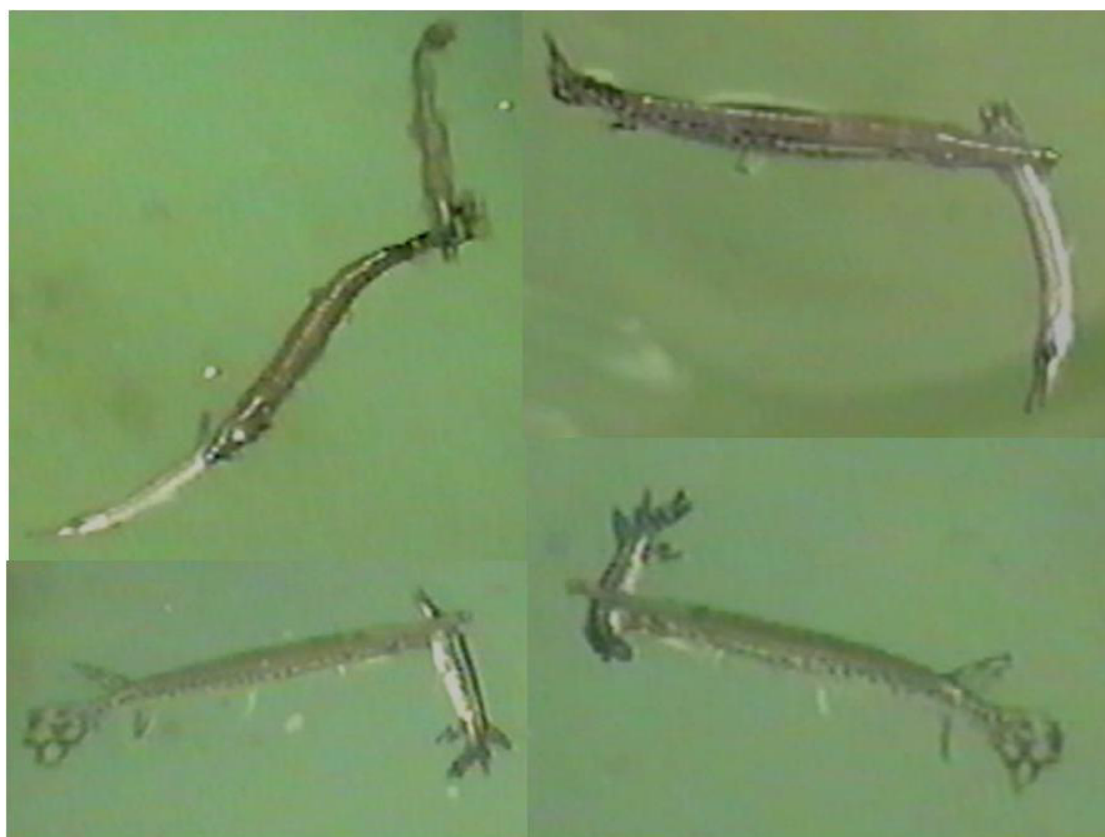


Figura 4.27.- Imágenes del canibalismo presente en el cultivo de larvas y juveniles de catán, el cual produce altas mortalidades.



Para determinar la aceptación de las larvas de catán a dietas artificiales se llevaron a cabo dos experimentos a diferentes tiempos, cada uno con su propio control. Todos los bioensayos se llevaron a cabo con larvas de tres días después de la eclosión (DDE) y fueron evaluados hasta los quince DDE.

En el primer experimento se probaron tres dietas diferentes, consistentes en: a) Nauplios de *Artemia salina* como control positivo; b) una dieta peletizada no flotante con partículas de 0.5, 0.75 y 1.2 mm de diámetro; c) Una combinación de nauplios de *Artemia* y la dieta peletizada en proporciones iguales. Para el segundo bioensayo, las dietas evaluadas fueron: a) Nauplios de *Artemia salina* como control positivo; b) una dieta peletizada no flotante con partículas de 0.5, 0.75 y 1.2 mm de diámetro; c) una dieta de microesferas extruídas con 50% de flotación y 50% de hundimiento lento, con partículas de 0.5, 0.75 y 1.2 mm de diámetro.

En ambos experimentos el tamaño de partículas de los alimentos artificiales se incrementó con la edad de las larvas y se fue adecuando conforme se incrementaba el tamaño del hocico, de la siguiente forma: pellets o microesferas de 0.5 mm para larvas de 5 a 8 DDE; pellets o microesferas de 0.75 mm para larvas de 9 a 13 DDE; pellets o microesferas de 1.2 mm para larvas de 11 a 15 DDE. Ambas dietas artificiales fueron

donadas por Purina S.A. de C.V. El peso inicial y la longitud total de las larvas fueron determinados al inicio de los experimentos. Los animales se secaron antes de ser pesados en un rango de exactitud de 0.01 g. Al inicio de los bioensayos de alimentación, las larvas fueron seleccionadas de acuerdo a su uniformidad en peso y talla determinada por una ANOVA de una vía. Las larvas con un peso medio inicial de 16.2 ± 1 mg y una longitud media inicial de 11.7 ± 0.5 mm fueron asignadas aleatoriamente a 20 tanques de fibra de vidrio de 45 litros provistos con un sistema de recirculación de agua dulce. Los tanques fueron continuamente oxigenados durante todo el experimento por un compresor de aire. Cada dieta evaluada fue suministrada a cuatro tanques que contenían 30 larvas de catán por tanque. Los nauplios de *Artemia* y las dietas artificiales fueron suministradas *ad libitum* tres veces al día. Al final de los experimentos se tomaron los pesos individuales y la longitud total de todas las larvas.

En el primer experimento, las larvas consistentemente rechazaban las dietas peletizadas, a pesar de la adición de atrayentes comerciales a base de betaina. Esto resultó en una sobrevivencia del 20% comparada con la sobrevivencia del 95% obtenido con las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* (Figura 4.28). En efecto, una baja tasa de ingestión de las dietas artificiales es

uno de los principales problemas en el acondicionamiento de larvas de peces (Kolkovski *et al.*, 1993) y este problema ha sido observado con más frecuencia en especies que tienen hábitos evidentemente carnívoros (Lovshin y Rushing, 1989).

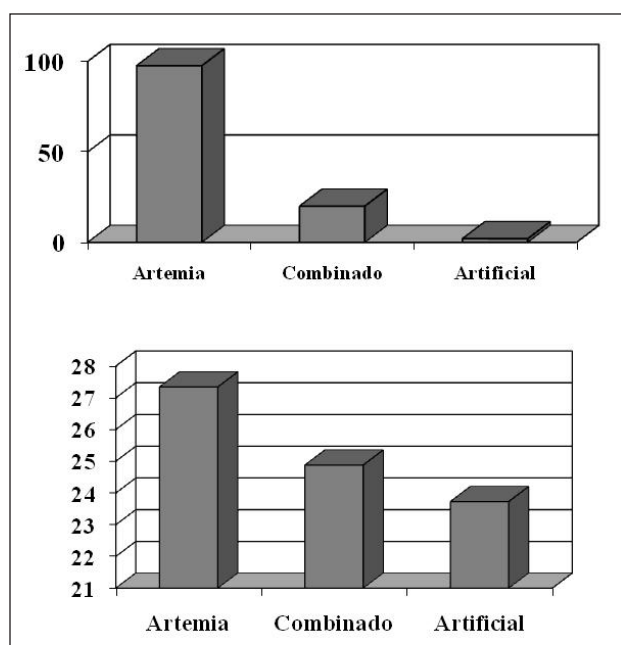


Figura 4.28.- Supervivencia y crecimiento en longitud en larvas de catán de 15 DDE en el primer ensayo de alimentación.

Otra posible explicación es el comportamiento alimenticio de las larvas de catán, ya que se observó que atrapan el alimento principalmente

en la superficie o a media agua y nunca en el fondo. Esta suposición está respaldada por la marcada abundancia de organismos pelágicos encontrados en el contenido estomacal de larvas y juveniles de lepisostéidos (Echelle y Riggs, 1972; Pearson *et al.*, 1979). Esto sugiere que la baja flotabilidad del alimento artificial contribuía a su poca disponibilidad en la columna de agua. Adicionalmente, no era posible mantener las dietas artificiales en la mitad de la columna de agua, aún con la ayuda de aireación suplementaria (Bromely, 1998). Y en el caso en que se introdujo aireación, esta producía turbulencia en los tanques, y las larvas de catán, que no son nadadoras activas, terminaban evitando tales áreas, independientemente de que hubieran o no partículas de alimento suspendido. Este comportamiento está posiblemente relacionado con el hábitat de los adultos de catán y los lugares en donde desovan. En general, las áreas de desove se restringen a zonas inundadas en la temporada de lluvia, las cuales no presentan corrientes o movimiento de agua (Pérez-Sánchez, 1995). Estas sugerencias fueron confirmadas en el segundo experimento en donde las larvas de catán consumieron rápidamente las micropartículas extruídas flotantes a las cuales se les agregó el mismo attractante comercial. En este caso, en un periodo experimental similar, la supervivencia se incrementó al 80% y no se detectaron dife-

rencias significativas con respecto al crecimiento en longitud al ser comparado con el grupo control alimentado con nauplios de *Artemia* (Figura 4.29).

El incremento en la atractabilidad de las dietas es crucial para un aumento en su ingestión y por consiguiente, en el éxito del cultivo larvario. En los experimentos previos observamos que una vez que las larvas se aproximan a las partículas de alimento, pueden permanecer cerca de éstas, e incluso entrar en contacto con ellas

antes de ingerirlas. Esto indica que las larvas probablemente utilizan la percepción química para reconocer el alimento potencial. A este respecto, observaciones de campo de algunos autores (Netch y Witt, 1962; Goodyear, 1967) revelan una alta actividad alimenticia durante las horas de la noche, lo que podría implicar que la identificación visual es limitada, particularmente en las condiciones de turbidez del agua en las zonas pantanosas.

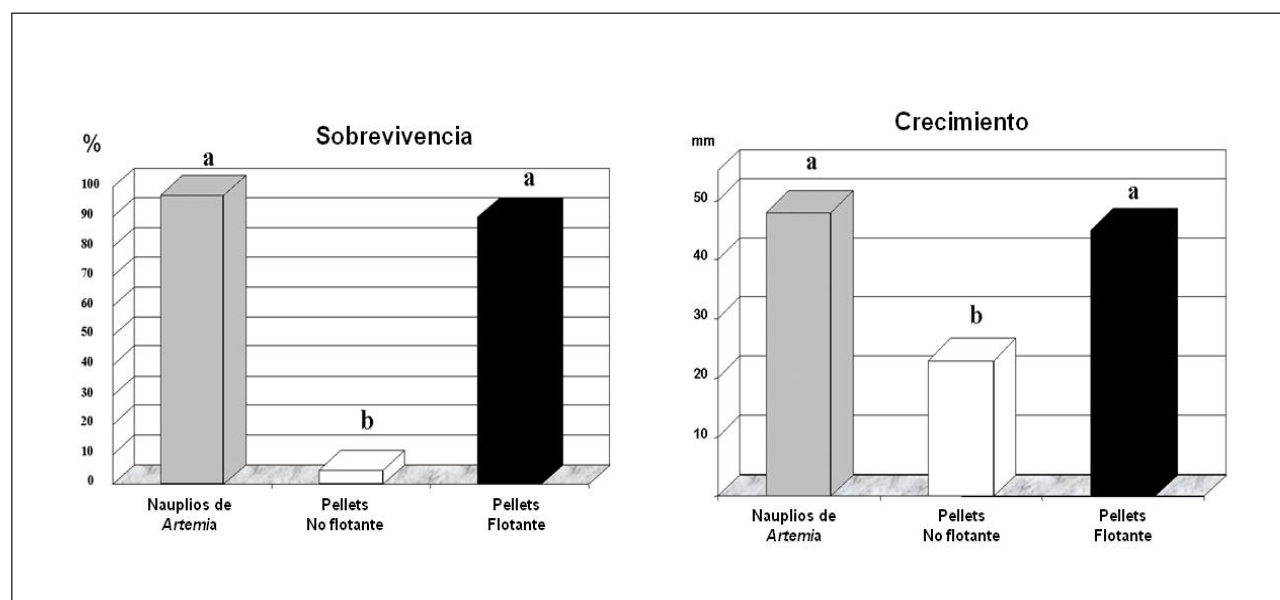


Figura 4.29.- Sobrevivencia y crecimiento en longitud en larvas de catán de 15 DDE utilizando nauplios de *Artemia salina* y alimentos artificiales con diferente flotabilidad.

De esta manera, se llevó a cabo un tercer bioensayo para determinar el aprovechamiento y la aceptación de las dietas artificiales por las larvas de catán (Mendoza *et al.*, 2002b; Mendoza y Aguilera, 2008; Mendoza *et al.*, 2008b). Se evaluaron cuatro tratamientos: a) alimento vivo (AV), consistente en nauplios de *Artemia*, como control positivo; b) Una dieta con 45% de proteína (45P), consistente en microesferas extruidas con 50% de flotación y 50% de hundimiento lento, constituidas por partículas de 0.5, 0.75 y 1.2 mm de diámetro; c) Una dieta extruida conteniendo 52% de proteína (52P), consistente en migajas de 0.3, 0.6 y 1.18 mm de diámetro con flotabilidad variable; d) un tratamiento control (TC) al cual no le fue ofrecido alimento (Figura

4.30). Larvas con un peso promedio inicial de 27.9 ± 2 mg y una longitud inicial promedio de 15.7 ± 0.4 mm fueron distribuidas aleatoriamente en 12 tanques de fibra de vidrio de 500 L, provistos de un sistema de recirculación de agua dulce en un sistema cerrado. Cada dieta de prueba fue evaluada por triplicado en tres tanques conteniendo cada uno 500 larvas de catán. Los nauplios de *Artemia* y las dietas artificiales fueron ofrecidos *ad libitum* en cuatro raciones diarias, iniciando con larvas de 5 DDE (primer día de alimentación - 1DA). El ajuste de la alimentación para los diferentes tamaños de partículas fue realizado al cuarto y al noveno día de alimentación (9DA). El experimento fue finalizado después de 14 DA.

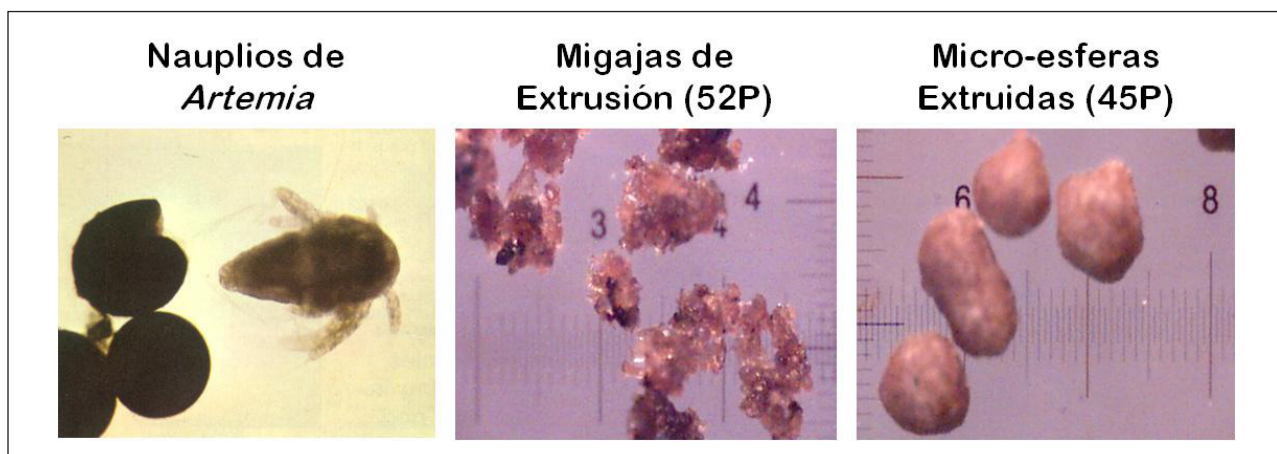


Figura 4.30.- Vista al microscopio de los alimentos utilizados en diferentes bioensayos con larvas de catán para determinar aceptación y crecimiento.

Las larvas en inanición no sobrevivieron más allá del noveno DA, mientras que en el resto de los tratamientos el canibalismo fue la principal causa de mortalidad tanto para larvas presas, como para las larvas predadoras que morían al no poder tragar la presa. El hecho de que el canibalismo ocurriera sólo en aquellos tratamientos donde se le ofreció alimento a las larvas, puede ser explicado por el rápido desarrollo del hocico por el alimento exógeno, asociado con un inadecuado suministro del alimento. Un mayor crecimiento fue evidente al cuarto DA, tanto para el tratamiento con ali-

mento vivo, así como para el tratamiento el alimentado con la dieta 45P. Al noveno DA se observaron mayores diferencias significativas en el crecimiento. Solo las larvas alimentadas con dietas artificiales (45P y 52P) continuaron el crecimiento hasta finalizar el bioensayo (Figura 4.31). La misma tendencia fue observada al determinar los índices morfométricos (ganancia en peso, longitud total, longitud del hocico, tasa de crecimiento específico, índice K de Fulton) y fue confirmada por índices moleculares (RNA/DNA, Proteína/DNA, RNA/Proteína).

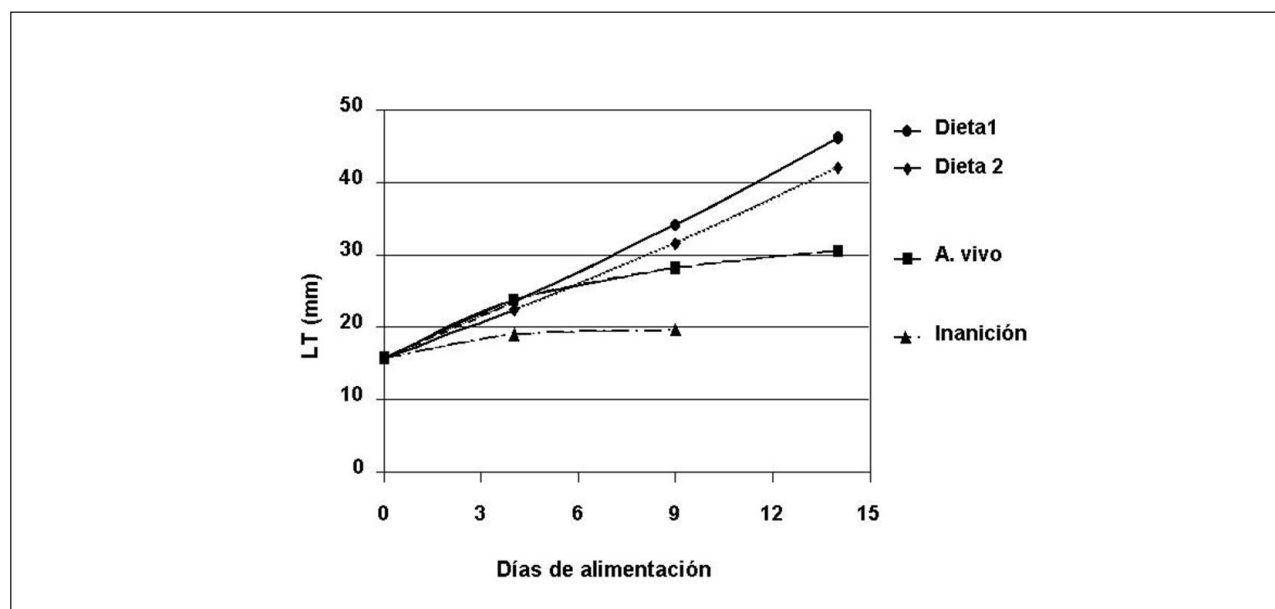


Figura 4.31.- Crecimiento en longitud total (LT) de larvas de catán alimentadas con diferentes dietas.

El mejor desempeño resultó en aquellos tratamientos en los cuales las larvas fueron alimentadas con dietas artificiales, contrastando con la mayoría de los estudios, donde el alimento vivo

usualmente resulta mejor al ser comparado con dietas artificiales (Person-Le Rouyet, 1989) (Figura 4.32).

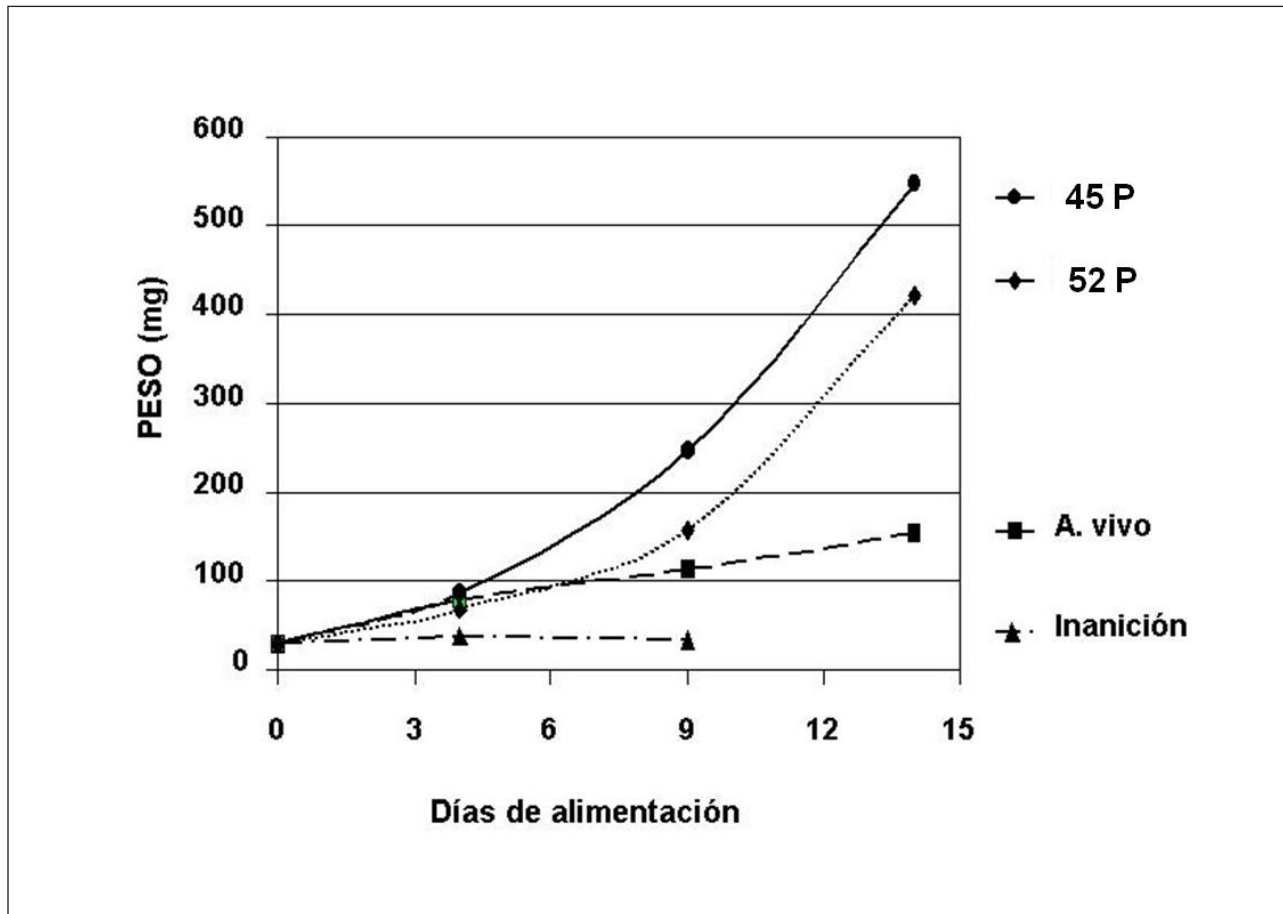


Figura 4.32.- Crecimiento ponderal (mg) de larvas de catán alimentadas con diferentes dietas.

El menor desempeño de las larvas alimentadas con presas vivas pudo ser debido al tamaño de las presas, las cuales se volvieron rápidamente inadecuadas (pequeñas) considerando el tamaño del hocico de las larvas. Esto puede ser explicado por la gran cantidad de energía gastada por las larvas durante la búsqueda y la captura de las presas, aún cuando estas eran altamente disponibles, significando que las larvas debían obtener

una recompensa energética menor que al ser alimentadas con dietas artificiales, considerando que el tamaño de las partículas era incrementado en el tiempo, y por ende con el tamaño del hocico (Figura 4.33). De manera similar, Hunter (1981) reportó que las larvas de pargo seleccionan el alimento por el tamaño y que las preferencias aumentan más rápidamente que el tamaño del alimento en los tanques de cultivo.

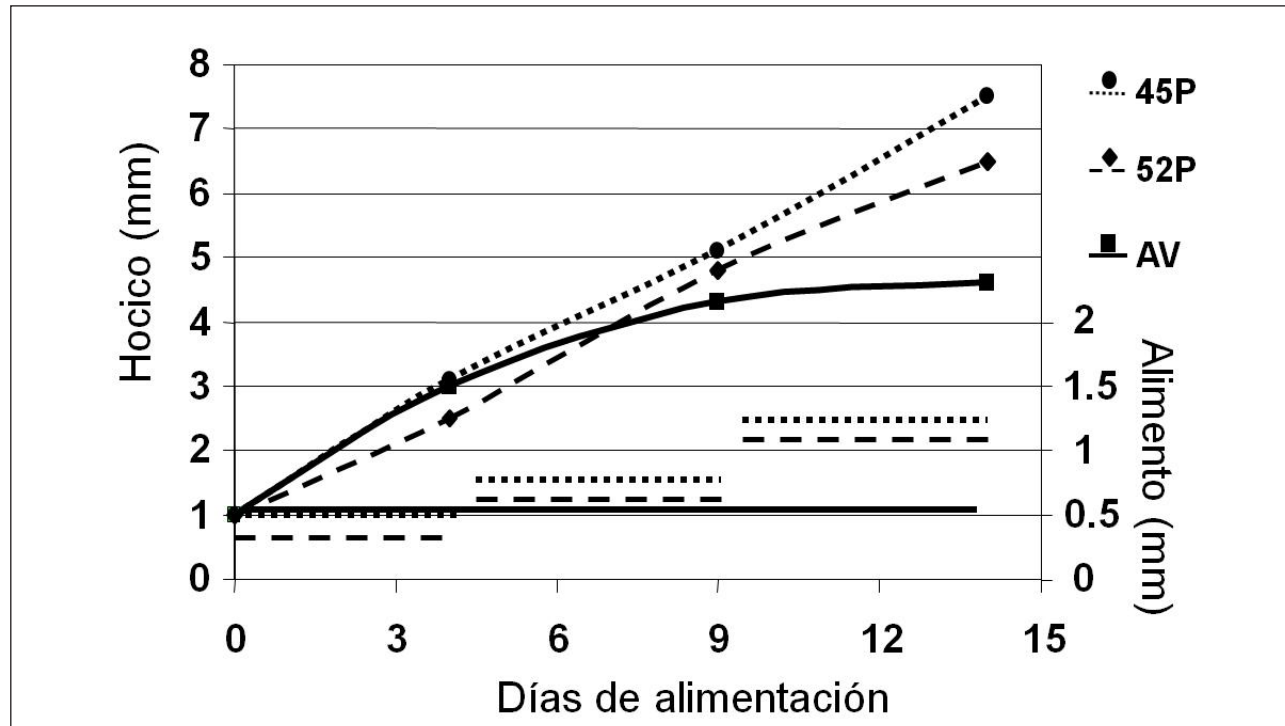


Figura 4.33 - Relación entre el incremento en el tamaño del hocico con el incremento de las partículas de los diferentes alimentos utilizados.

La utilización de alimento vivo en el cultivo de larvas de catán implicaría la producción continua y simultánea de grandes cantidades de presas vivas de diferente tamaño para satisfacer la creciente demanda, producto del rápido crecimiento de las larvas. En la práctica esto sería muy complicado y requeriría de instalaciones costosas y mucho trabajo, resultando en una estrategia impráctica.

Las diferencias en el desempeño de las dietas artificiales de 45 y 52% de proteína pueden ser atribuidas a su procesamiento. A este respecto, ha sido reportado que durante el proceso de manufactura de las dietas para obtener migajas (semejantes a la dieta 52P), las partículas individuales tienden a tener una forma irregular y cada partícula puede contener una composición diferente de ingredientes, lo que puede resultar en una alimentación selectiva por los peces y por lo tanto inadecuada desde un punto de vista nutricional (Marr, 1999). Adicionalmente, a pesar de la mayor flotabilidad de las dietas de las migajas (45 a 75%), estas resultaron menos disponibles para las larvas de catán, ya que tienden

a aglomerarse, perdiendo su forma y agrupándose en manchas o cúmulos de alimento en la superficie. En contraste, la dieta elaborada como microsferas (45P), a pesar de contar con una menor flotabilidad (50%), las partículas no pierden la forma, permanecen dispersas y pueden ser ingeridas individualmente por las larvas.

Los resultados de estos bioensayos muestran que es posible el cultivo exitoso de las larvas y juveniles de catán utilizando dietas artificiales (Figura 4.34). La estrategia de alimentación ha permitido producir juveniles de 30 cm en cuatro meses de cultivo. La investigación actual esta dirigida a la determinación de los requerimientos nutricionales de larvas y juveniles de catán. A través de estas investigaciones multidisciplinarias, determinamos que las dietas artificiales pueden ser utilizadas para reemplazar totalmente a las presas vivas (Figura 4.35). Estas investigaciones proveen la base para la producción masiva de las larvas de catán, las cuales pueden ser utilizadas para repoblación y para el cultivo comercial de la especie.

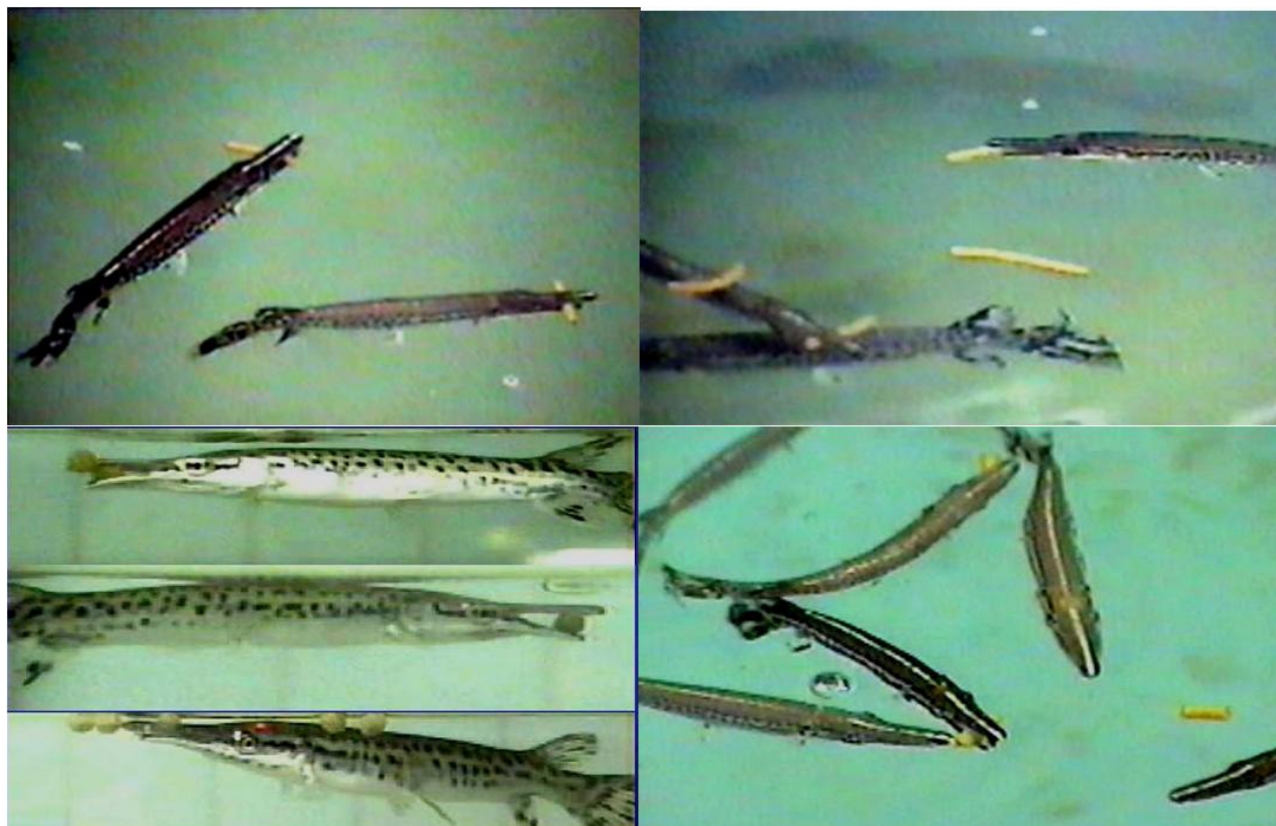


Figura 4.34 - Larvas y juveniles de catán consumiendo dietas artificiales, lo cual ha permitido continuar con el cultivo y producción de juveniles destinados a la repoblación, cultivo e investigación.

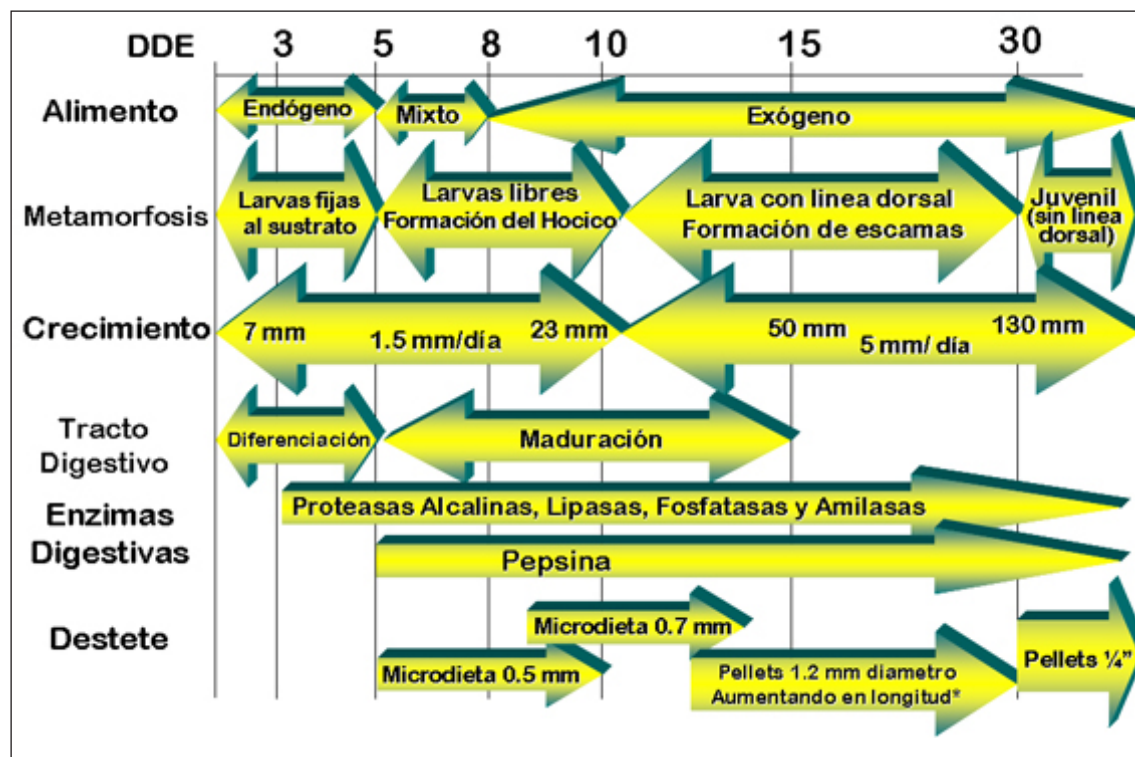


Figura 4.35 - Esquema general del desarrollo larval del catán a 28 °C y su relación con el destete utilizando dietas artificiales.

Una de las revelaciones más significativas es el hecho que las larvas de catán pueden crecer y desarrollarse después de la metamorfosis hasta juveniles, al ser alimentadas exclusivamente con dietas formuladas artificiales (Mendoza *et al.*, 2008). También fue demostrado que el difícil periodo de intensa labor de cultivo de alimentación con *Artemia*, podía ser eliminado sin pérdidas en términos de crecimiento y sobrevivencia. Debido al acelerado desarrollo del tracto digestivo, las larvas de catán pueden ser destetadas con dietas artificiales desde la primera semana, a condición de que el alimento sea de una calidad nutricional, tamaño y flotabilidad adecuada. También ha sido demostrado que estas características son requeridas para que las partículas puedan ser ingeridas. Este avance resulta particularmente significativo al tomar en cuenta que los lepisostéidos presentan fuertes hábitos depredadores, y por consiguiente resulta más difícil lograr que acepten las dietas artificiales. La estrategia de alimentación desarrollada en primera instancia para larvas de catán consiste en los siguientes pasos:

Las larvas que nadan libremente, 5 días después de la eclosión (DDE), son transferidas a canaletas anchas para su adecuada distribución en la superficie. La alimentación inicial (5 al 8 DDE) consiste en una combinación de una dieta particulada flotante de 0.5 mm de diámetro. De los 8 a los 10 DDE se realiza la sustitución por alimento artificial de 0.75 mm con las mismas características que el anterior.

Ya para el 11 a 15 DDE las larvas se encuentran bien acondicionadas a la dieta artificial que en este momento debe incrementarse el diámetro de la partícula de 1.2 mm.

Durante este periodo el crecimiento es muy acelerado, sobre todo después de 10 DDE, por lo cual constantemente es necesario adecuar la densidad de larvas por área de superficie. Al mismo tiempo se incrementa el suministro de alimento para aumentar el contacto entre la larva y las partículas, disminuyendo así las posibilidades de que se presente canibalismo. La sobrevivencia puede ser mayor al 90% hasta el 15 DDE. A partir de este momento se realiza un seguimiento del crecimiento para adecuar el tamaño de las partículas de alimento suministradas, así como para evitar diferencias en las tallas, ya que entre los 50 y 130 mm se presentan las mayores probabilidades de canibalismo. Una vez superada esta talla, disminuye el canibalismo de manera natural y puede continuar el cultivo mediante el suministro de alimento artificial.

Considerando la elevada velocidad de crecimiento y la consecuente necesidad de un incremento gradual en el suministro de alimento, así como la adecuación frecuente del tamaño de las partículas y la transferencia constante a diferentes unidades de cultivo, se requiere de un intenso y cuidadoso manejo, principalmente del 5 al 30 DDE en el cultivo de crías de catán. De aquí que el éxito dependa de la forma en que se realizan las actividades durante este periodo.



ROBERTO EDUARDO MENDOZA ALFARO • CARLOS JAVIER AGUILERA GONZÁLEZ • JESÚS MONTEMAYOR LEAL



109

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN





Foto cortesía de Juan Ramón Armendáriz.

CAPÍTULO 5

REPRODUCCIÓN EN CAUTIVERIO DEL CATÁN

ROBERTO MENDOZA¹, CARLOS AGUILERA¹, MARTÍN GONZÁLEZ¹,
JESÚS MONTEMAYOR¹, VERÓNICA CORTÉS¹, SUSANA VELA¹, ULISES
HERNÁNDEZ², OLGA SANTILLÁN¹ Y AGNÉS REVOL³

¹. Grupo Ecofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

². Departamento de Acuicultura UJAT.

³. Facultad de Medicina, UANL.

Resumen

Los trabajos que durante muchos años se realizaron en relación a la reproducción de esta especie eran incipientes ya que se habían limitado únicamente al mantenimiento de reproductores en cautiverio. Y aunque se lograban reproducir los animales durante su temporada natural de reproducción, no existía ningún control sobre este proceso, por lo que los resultados eran aleato-

rios. Dentro de los aspectos que habían venido impidiendo este objetivo se encuentran: su corta temporada reproductiva, la edad de los reproductores, y la imposibilidad de determinar su madurez sexual. No obstante, el principal problema es la dificultad para distinguir hembras de machos, lo que evitaba establecer una proporción adecuada de reproductores para lograr una fertilización óptima. Dentro de este

contexto, una parte de esta investigación estuvo dirigida a la determinación de la vitelogenina (VTG), molécula precursora del vitelo y característica de hembras en etapa reproductiva. La vitelogenina plasmática fue aislada y purificada por medio de cromatografía de filtración en gel, precipitación selectiva con y electro-elusión. Las moléculas purificadas fueron caracterizadas por su peso molecular y grupos prostéticos. Se generaron anticuerpos policlonales y se obtuvieron IgGs por medio de cromatografía en proteína "A". Con los antígenos y anticuerpos purificados se llevaron a cabo pruebas de reacción cruzada, lo que permitió el reconocimiento de hembras y machos; logrando con esto el establecimiento de proporciones adecuadas para la reproducción. Se probaron diferentes protocolos hormonales para la inducción de la maduración y el desove, siendo los factores liberadores de gonadotropinas los que dieron mejores resultados. Se desarrolló un ELISA competitivo, el cual fue sometido a pruebas de control de calidad. El inmunoensayo fue validado determinando concentraciones de VTG en plasma y mucus de hembras maduras y evaluando los protocolos hormonales. La cuantificación de VTG por ELISA constituye una alternativa práctica, confiable y rápida para identificar el género de los adultos de catán sin sacrificarlos y puede usarse como un marcador del progreso de la madurez sexual.

Identificación del sexo en lepisostéidos

Dimorfismo sexual en lepisostéidos

Se presenta un crecimiento diferencial entre machos y hembras, el cual se vuelve menos marcado con la edad, aunque no termina con la madurez. Los machos no sólo maduran a una menor talla que las hembras, sino que crecen menos que estas (Fig. 5.1). Esto se confirma en diferentes reportes concernientes al dimorfismo sexual de diferentes lepisostéidos (*L. platostomus*, *L. oculatus* y *L. platyrinchus*) (Suttkus, 1963).



Figura 5.1.- Catán macho cortejando a una hembra.

De manera específica, se ha reportado la presencia de dimorfismo en ciertas estructuras, *e.g.* en el tamaño del hocico en *L. oculatus* y *L. platyrinchus*; en ambos casos se ha observado que las hembras poseen un hocico más alargado que los machos (Suttkus, 1963; Hubbs y Lagler, 1942 citado por Leon *et al.*, 1978). De la misma manera, en el caso del manjuarí (*A. tristoechus*) se encontraron diferencias significativas en la relación de algunas medidas anatómicas entre hembras y machos. Las hembras lucen un vientre más dilatado debido al crecimiento de las gónadas e igualmente presentan una papila genital más inflamada y más coloreada que en el macho (Leon *et al.*, 1978). Este parece ser igualmente el caso del pejelagarto (G. Márquez comunicación personal). A este respecto, Bejerano *et al.*, (1997) señalan que las diferencias se acentúan cuando los organismos llegan a un estadio avanzado de maduración.

No obstante, al tratarse de peces inmaduros, éstos resultan muy difíciles de sexar, debido a la necesidad de que las gónadas se encuentren algo desarrolladas, ya que sólo el mayor tamaño y forma oval de los ovarios permite diferenciar a las hembras de los machos (Netch y Witt, 1962). Sin embargo, en el caso de la mayor parte de los lepisostéidos, esto sólo es posible después de varios años. A título de ejemplo, se indica que los machos de *L. osseus* maduran entre los 3 y 4 años, mientras

que las hembras maduran sólo después de los 6 años (Netch y Witt, *op cit.*). Algo similar ocurre en el caso del catán (*A. spatula*) (Morales, 1987). Y aún en lepisostéidos que maduran relativamente rápido como es el caso de *A. tropicus*, se tiene cierta dificultad para encontrar diferencias entre hembras y machos (Chávez-Lomelí, 1980). Para tratar de solventar este obstáculo se han propuesto modelos alométricos como una herramienta para el sexado de *A. tropicus* (Contreras y Marañón, 1991 citado por Pérez-Sánchez, 1995).

Anatomía de las gónadas

En ambos sexos las gónadas se encuentran localizadas en la región posterior de la cavidad abdominal, en posición dorsal con respecto a la vejiga natatoria, suspendidas por un mesorquio (Pérez-Sánchez y Páramo, 1998). Las hembras presentan una particularidad: las gónadas se encuentran desfasadas, *i.e.*, la derecha se encuentra situada de manera anterior a las aletas pélvicas y la izquierda en situación posterior a éstas. Los oviductos izquierdo y derecho se reúnen con los ductos urinarios correspondientes. Existe una pequeña cámara común formada por la unión de ambos ductos. De esta manera los productos de ambos sistemas salen a través de un sinus urogenital úni-

co (Suttkus, 1963).

Los ovarios son pequeños y translucidos en estadios tempranos, pero al avanzar la maduración se van haciendo fusiformes y su color va cambiando de acuerdo a la fase de desarrollo en que se encuentren. Los ovarios de hembras jóvenes adquieren una coloración rosa-amarillento correspondiente al color de los ovocitos y al ir madurando, en las etapas avanzadas, va a predominar el color verde olivo o verde grisáceo (Resendez y Salvadores, 1983; Pérez-Sánchez, 1995). Así, en las hembras, justo antes del desove son evidentes huevos de color verde (Netch y Witt, 1962). Los ovocitos maduros tienen un diámetro aproximado de 3mm y están cubiertos de una sustancia adhesiva.

El examen de los ovarios indica que la maduración se desarrolla de manera sincrónica en todas las regiones del ovario (Bejerano *et al.*, 1997). Sin embargo, como sucede con el esturión, en ocasiones una gran proporción de los huevos no se encuentran maduros (Dean, 1895). Por otra parte, el ovario izquierdo al ser más grande que el derecho, contiene un mayor número de huevos. (Netch y Witt, 1962).

Los testículos de los machos son blancuzcos y de menor tamaño que los ovarios. Son de tipo lobular, y la espermatogénesis ocurre igualmente de manera sincrónica. La forma de los testículos no

varía con la maduración, varían únicamente el tamaño y el color; siendo pequeños, amarillos y translucidos cuando están inmaduros y grandes, blancos y de apariencia cremosa cuando están completamente maduros (Pérez-Sánchez y Páramo, 1998).

Los ovarios de los peces poseen un epitelio germinal que se origina a partir de repliegues peritoneales, dando lugar a los folículos ováricos (Benítez, 1992). Por debajo de estos se encuentra la túnica albugínea que es una capa muy densa de tejido conectivo con músculos de fibra lisa y vasos sanguíneos. El tejido conjuntivo se incrementa alrededor de los vasos sanguíneos, condición que se mantiene a lo largo de la recrudescencia gonadal (Pérez y Páramo, 1998). Dentro de la estructura del ovario, inmersas en la pared conjuntiva de los repliegues peritoneales se encuentran las ovogonias, destinadas a convertirse en ovocitos a lo largo de la vida productiva de la hembra (Zanuy y Carrillo, 1987; Benítez, 1992), éstos forman el estroma ovárico, el cual contiene vasos sanguíneos y células somáticas (las foliculares) involucradas en el desarrollo del ovocito. La primera transformación se logra una vez que las ovogonias entran en la profase de la primera división meiótica, convirtiéndose así en ovocitos primarios (Zanuy y Carrillo, *op.cit.*). Los ovocitos posteriormente serán envueltos por células foliculares, constituyendo de esta

manera en la unidad estructural conocida como folículo. (Benítez, 1992).

Por otra parte, Pérez y Páramo (1998) señalan que en las hembras de pejelagarto (*A. tropicus*), una especie cercana al cátan, los ovarios se encuentran cubiertos por un mesovario, el cual se extiende de tal manera que forma un solo conducto gonádico que une a ambos ovarios, mediante largos oviductos que se localizan en la parte media de la gónada.

Vitelogénesis

Se ha demostrado que en los ovarios se realiza la síntesis de esteroides (17β -estradiol) esenciales para la vitelogénesis y progestágenos importantes para la maduración de los ovocitos ($17\alpha 20\beta$ -diO-HP) (Verreth *et al.*, 1987; Mommsen y Walsh, 1988).

El fenómeno de vitelogénesis se refiere a la síntesis hepática de vitelo y su incorporación dentro de los ovocitos, considerándose como uno de los mejores ejemplos de internalización celular por endocitosis de proteínas específicas (Rodríguez *et al.*, 1996). No obstante la síntesis de proteínas relacionadas con el vitelo también llega a ocurrir dentro del ovocito, proceso que se conoce como vitelogénesis endógena y si ocurre fuera se le de-

nomina vitelogénesis exógena. En general, se considera que la vitelogénesis endógena precede a la exógena. Sin embargo, muchas veces, dichas fases se superponen entre sí (Verreth *et al.*, 1987; Zanuy y Carrillo, 1987).

La vitelogénesis endógena parece estar asociada a la síntesis de las vesículas de vitelo, las cuales, en general, poseen mucopolisacaridos o glicoproteínas. Estas vesículas son las precursoras de los alvéolos corticales, estructuras que liberan su contenido en el espacio perivitelino en el momento de la fecundación del ovocito, como mecanismo para evitar la polispermia. Algunos autores consideran que la síntesis de lípidos puede ser también de carácter endógeno (Nagahama, 1983). Al término de esta síntesis, se observa la zona radiata con una apariencia estriada y se genera el desarrollo de la granulosa y la teca, al igual que la presencia de los gránulos vitelínicos.

Por otra parte, la incorporación del vitelo exógeno o vitelogénesis exógena, es la que realmente contribuye al importante crecimiento del ovocito y se encuentra bajo control hipofisiario. Durante esta etapa, se presenta una proliferación del retículo endoplasmático rugoso en la granulosa y la teca, el aparato de Golgi se observa mucho más extenso con inclusiones electro-densas, en el citoplasma se disipan gránulos de glucógeno y gotas de lípidos, y el núcleo y nucleolo aparecen hiper-

trofiados. El ovocito empieza a secuestrar por micropinocitosis mediada por receptores el material necesario para la formación de los gránulos de vitelo, los cuales, a medida que van migrando hacia el interior del ovoplasma, desplazan a las vesículas hacia la periferia (Ng e Idler, 1983; Benítez, 1992). El final de este proceso, está caracterizado por la migración y ruptura de la vesícula germinativa, proceso que tiene lugar antes de la ovulación.

Con estos eventos finaliza la vitelogénesis y se aproxima la maduración, donde los ovocitos post-vitelogénicos, aún en Profase-I, son fertilizables solo hasta completar la meiosis.

La meiosis se vuelve a bloquear en metafase-II, después sucede la ovulación y la expulsión del primer glóbulo polar se produce de manera simultánea con la fertilización.

Síntesis de Vitelogenina

La vitelogenina, es el principal precursor macromolecular de los constituyentes del vitelo, destinado a satisfacer las necesidades energéticas del embrión. Se trata de una proteína exclusivamente femenina que circula a nivel plasmático desde el inicio del crecimiento ovocitario hasta la maduración (Copeland y Thomas, 1988; Norberg y Haux, 1988; Kanungo *et al.*, 1990; Mañanós *et al.*, 1994,

Specker y Sulliang, 1994; Lancaster y Tyler, 1994; Lafleur, *et al.*, 1995).

La síntesis de la vitelogenina (Fig. 5.2) es estimulada por el aumento de los niveles de estrógenos provenientes de las células foliculares. Estos esteroides se dirigen al hígado, en donde después de entrar en contacto con receptores citoplasmáticos se translocan al núcleo para unirse con el elemento de respuesta hormonal (*HRE-hormone response element*) localizado en el DNA, lo que permitirá el inicio de la transcripción del gen de la VTG por el retículo endoplásmico. La molécula es subsecuentemente procesada por el aparato de Golgi (Yao y Crim, 1996), en donde es glicosilada antes de salir al torrente sanguíneo. Por esta vía se dirige al ovario para entrar de manera selectiva al interior del ovocito por vasos capilares localizados en la teca, y alrededor de la capa superior del ovocito (De Vlaming *et al.*, 1980; Copeland y Thomas, 1988; Kanungo *et al.*, 1990; Nuñez y Le, 1996; Rodríguez *et al.*, 1996), mediante un proceso de micropinocitosis mediado por receptores especializados (Ng y Idler, 1983; Zauny y Carrillo, 1987; Mommsen y Walsh, 1988; Lancaster y Tyler, 1994; LaFleur *et al.*, 1995), los cuales la reconocen específicamente uniéndose a la región en donde se encuentra el fósforo como grupo prostético de la molécula de VTG (Mommsen y Walsh, 1988).

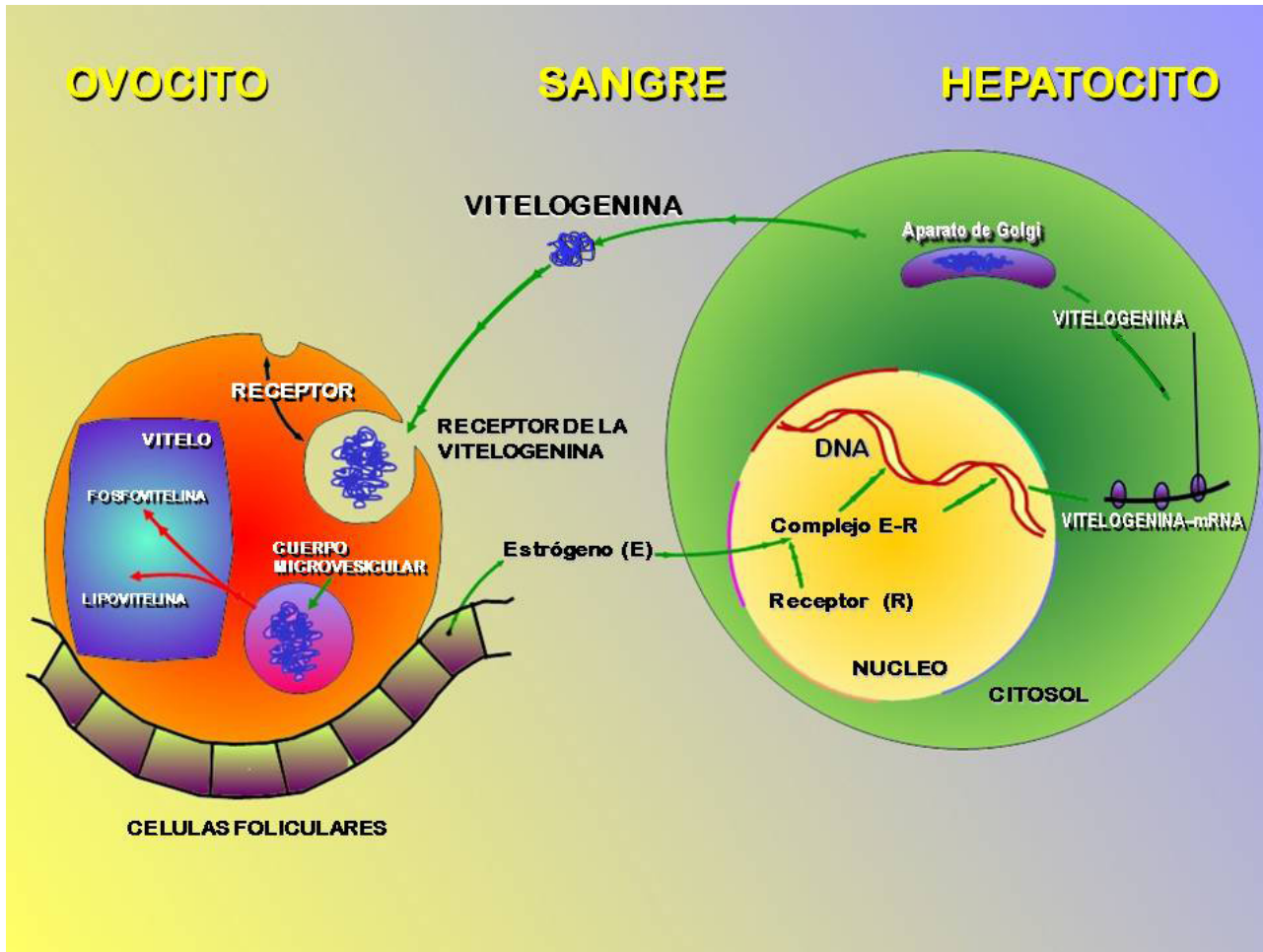


Figura 5.2.- Simplificación del sistema de retroalimentación entre el ovario e hígado durante la vitelogenénesis exógena. Bajo la influencia de las gonadotropinas, las células foliculares del ovocito liberan estrógenos dentro del torrente sanguíneo, los cuales entran a las células blanco (hepatocito) mediante difusión facilitada. Esta señal propicia la síntesis de la VTG que posteriormente será secuestrada del torrente sanguíneo por pinocitosis mediada por receptores en el ovocito, para su incorporación y consecuente crecimiento.

Una vez que la VTG es incorporada en el interior del ovocito se lleva a cabo el clivaje proteolipídico dando como resultado lipovitelinas y fosvitinas (Wiley *et al.*, 1979; Covens *et al.*, 1986; Riazi y Fremont, 1988; Tyler y Sumpter, 1990; Benítez, 1992; Kishida y Specker, 1994; Komatsu *et al.*, 1996). Los receptores de la VTG se pueden encontrar desde que los ovocitos están en previtelogénesis, y su número se incrementa para facilitar la incorporación de grandes cantidades de esta molécula, necesaria para llevar a cabo el crecimiento de los ovocitos del estado previtelogénico al vitelogénico (Chan, *et al.*, 1991). De aquí, que el control del mecanismo de expresión y modulación de los receptores de la VTG, sea un elemento clave durante el ciclo de vitelogénesis (Callard *et al.*, 1990; Lancaster y Tyler, 1994). Un aspecto de gran interés práctico es el hecho de que el clivaje que sufre la VTG no altera las propiedades antigénicas de la molécula transformada en vitelina (VTL). Por esta razón, ambas moléculas son inmunológicamente indistinguibles.

Características de la VTG

Una de las particularidades de la molécula de VTG es su alto peso molecular; producto de la asociación de las proteínas con lípidos, carbohidratos, fósforo y calcio, originados durante la vitelogénesis, por lo

que ha sido caracterizada como una lipoglicofosfocarotenoproteína propia de hembras en estado reproductivo (Hori *et al.*; 1979; De Vlaming *et al.*, 1980; Ho, 1987; Waagboe y Sandnes, 1988; Riazi y Fremont, 1988; Campbell y Idler, 1990; Tyler y Sumpter, 1990; Matsubara y Sawano, 1995; Nuñez *et al.*; 1996; Chang *et al.*, 1996; Komatsu *et al.*, 1996; Rodríguez *et al.*, 1996).

Se ha determinado, un rango de peso molecular para la VTG de diferentes especies de peces que varía entre los 130 y los 636 kDa. (Norberg y Haux, 1985; Copeland y Thomas, 1988; Tyler y Sumpter, 1990; Mañanós, *et al.*, 1994; Matsubara y Sawano, 1995; Johanning y Specker, 1995; Yao y Crim, 1996; Takemura y Teruya, 1997; Moscóni, *et al.*, 1998; Johansen *et al.*, 1999; Nishi *et al.*, 2002; Watts *et al.*, 2003).

El material lipídico que forma parte de la VTG, está compuesto principalmente de fosfolípidos (Mommensen y Idler, 1983), contribuyendo de esta manera al transporte y translocación de la molécula en el sistema circulatorio. Así mismo, esta molécula está asociada con otros grupos prostéticos tales como los carotenoides, cuyo papel multifuncional implica protección contra la luz, reserva energética y acción antioxidante. El contenido de fósforo, al igual que los carbohidratos es de suma importancia, no sólo por su rol energético, sino también para el reconocimiento de los receptores específicos durante su incorporación a los ovocitos (Opres-

ko, *et al.*, 1981; Mommsen and Walsh, 1988). Al igual que el peso molecular, esta composición varía dependiendo de las especies, y de la etapa de vitelogenénesis en que se encuentra el organismo.

De igual manera, la concentración de VTG plasmática dependerá de la especie. *Dicentrarchus labrax* y *Acipenser baeri*, son un ejemplo de estas variaciones, ya que ambas especies presentan niveles de vitelogenina que van de los 3 mg/ml a los 100 mg/ml, respectivamente, algunos meses antes del desove. Sin embargo, mientras que estos niveles llegan a disminuir hasta 1 mg/mL en *D. labrax*, durante el desove y unos días posteriores a este, en el caso de *A. baeri* sólo llegan a descender hasta 10 mg/mL (Cuissiet *et al.*, 1991; Mañanós, *et al.*, 1994).

Sexado de lepisostéidos

En acuicultura, la identificación del sexo es uno de los primeros y más importantes pasos para el establecimiento de un lote de reproductores, así como para la buena gestión de los cultivos. Con este fin se han desarrollado técnicas basadas principalmente en la evaluación del dimorfismo sexual de las especies de interés, lo cual requiere de la observación de las características distintivas de forma, color o aparición de ciertas estructuras en el cuerpo (Kucharczyk *et al.*, 1998). Sin embargo, dichas

técnicas de identificación presentan ciertos inconvenientes, ya que la aparición de estos caracteres puede estar condicionada a la temporada reproductiva, al desove o bien no presentarse en ningún momento. Lo anterior implica que la identificación del sexo tenga ciertas limitaciones o simplemente no pueda realizarse con facilidad, causando dificultades en el manejo de los lotes de reproductores. En este sentido, y como una alternativa para este problema se ha considerado el uso de métodos, llamados “invasivos”, que implican la extracción de tejido de la gónada para el reconocimiento de los tipos celulares presentes y al mismo tiempo para realizar la evaluación de la madurez de los gametos (Alvarez-Lajonchere *et al.*, 2001). Entre estas técnicas invasivas se pueden mencionar: la canulación, la punción ovárica y la cirugía. La primera consiste en introducir un tubo de calibre adecuado a través del poro genital del espécimen y conducirlo a través de los conductos hasta la gónada para extraer una muestra de tejido. Por otra parte, la punción ovárica requiere generalmente el uso de una jeringa con aguja de calibre adecuado; esta se introduce directamente en la cavidad peritoneal y en la posición correcta para alcanzar la gónada. Por último, la cirugía implica abrir la cavidad abdominal y extraer una porción de la gónada para ser evaluada.

Estos métodos han sido empleados con éxito en muchos grupos de peces, pero su aplicación re-

quiere que las especies presenten ciertas características anatómicas y de resistencia hacia la manipulación en función del método a emplear. En cuanto a las desventajas que presentan estas técnicas, se pueden mencionar el estrés excesivo y trauma ocasionados por la manipulación, además de que pueden propiciar daños temporales o permanentes en los tejidos debido a lesiones e infecciones oportunistas. En el último de los casos se recurre al sacri-

ficio, por ejemplo Ferrara e Irwin (2001) propusieron un método basado en la revisión del número de conductos gonádicos. De tal manera, que si se encuentra uno solo (el oviducto) se trata de una hembra, mientras que si se encuentran varios (los ductos espermáticos) se tratará de un macho (Fig.5.3). Sin embargo, este procedimiento requiere el sacrificio de los ejemplares lo cual es una limitante cuando los reproductores son escasos.



Figura 5.3.- Identificación de sexos en lepisostéidos en función del número de ductos de las gónadas (Fotos y esquema de Allyse Ferrara).

Métodos indirectos

Alternativamente, para la identificación del sexo se han empleado evaluaciones de diferentes sustancias presentes principalmente en la sangre y que son distintivas; o bien, presentan concentraciones diferenciales entre machos y hembras durante la maduración gonádica.

Dentro de estos componentes se pueden mencionar las hormonas esteroides (Chiba *et al.*, 1994; Matsubara *et al.*, 1995; Taranger *et al.*, 1998). Otro método se basa en el contenido de fósforo de la vitelogenina y su distribución limitada a las hembras vitelogénicas, por lo que pueden ser identificadas por la presencia en el plasma de una proteína ligada a fósforo en abundancia, la cual es detectada por su sensibilidad al álcali (Proteína Ligada al Fósforo Alcali-Inestable) (Craik y Harvey, 1984; Nagler *et al.*, 1987). Dentro de las desventajas de este método se encuentra el hecho de que al detectar fósforo en la muestra puede ser que no forme parte de la vitelogenina; además la cantidad de fósforo que contiene la vitelogenina varía considerablemente de una especie a otra, por lo que su concentración no se puede extrapolar a la concentración de vitelogenina sin conocer el contenido de fósforo de la misma. Por otra parte, para llevarlo a cabo se requieren de grandes cantidades de plasma para distinguir entre sexos en indivi-

duos inmaduros y en general es menos sensible que los métodos inmunológicos (Craik y Harvey, 1984; Rinchard *et al.*, 1997).

Existe igualmente un método basado en la determinación de la cantidad de calcio en plasma, que al igual que el fósforo está relacionado con la aparición de la vitelogenina en el torrente sanguíneo. Sin embargo, en algunas especies se ha demostrado que si bien existe una correlación positiva entre los niveles de calcio y vitelogenina, ésta sólo se presenta cuando hay una alta concentración de vitelogenina en la sangre, por lo que este método sólo puede ser usado para detectar los niveles de vitelogenina en las etapas avanzadas de la vitelogénesis (Nagler *et al.*, 1987; Tyler y Sumpter, 1990a). Ésta técnica es igualmente variable de especie a especie.

Por otra parte, los resultados de varios estudios indican que es posible identificar el sexo de ejemplares de lepisostéidos, mediante una reacción inmunológica entre la VTG plasmática y el suero anti-VTG producido a partir de la proteína purificada. Estas observaciones concuerdan con los reportes en *Oryzias latipes* (Hamazaki *et al.*, 1987); *Oreochromis niloticus* (Chan *et al.*, 1991); *Diodon holocanthus* (Fujita *et al.*, 1998); *Sardinops melanostictus* (Matsubara *et al.*, 1994); *Macrozoarces americanus*, *Cyclopterus lumpus*, *Gadus marhua* (Yao y Crim, 1996); *Mycteroperca microlepis*, *Ephinephelus striatus* y *E. guttatus* (Heppell y Sullivan, 1999).

Debido a la poca disponibilidad de adultos de catán, a la dificultad para hacerlos madurar y considerando el largo periodo requerido para que estos alcanzaran su primera madurez sexual (hasta seis años en el caso de las hembras), se iniciaron una serie de estudios dirigidos a la purificación de la VTG, la generación de anticuerpos a partir de la molécula purificada y el establecimiento de un inmunoensayo para su cuantificación, tomando como modelo al pejelagarto *A. tropicus*, una especie muy abundante y cuya madurez se alcanza en poco tiempo.

Purificación de la VTG en pejelagarto

La VTG fue inducida y aislada del plasma de machos tratados con el esteroide 17 β -estradiol (E2), como se ha realizado en otros teleósteos, en los cuales se ha observado que dicho estrógeno actúa sobre los hepatocitos desencadenando la síntesis de VTG y debido a la ausencia de ovarios, esta proteína tiende a acumularse en el plasma alcanzando concentraciones importantes (Khoo, 1979; de Vlaming *et al.*, 1980; Ng e Idler, 1983; Chan *et al.*, 1991; Matsubara y Sawano, 1995). Por otra parte, al realizar la inducción de VTG en machos se cuenta con la ventaja adicional de poder comparar el plasma de machos control con el de machos inducidos, permitiendo la fácil distinción de la molécula.

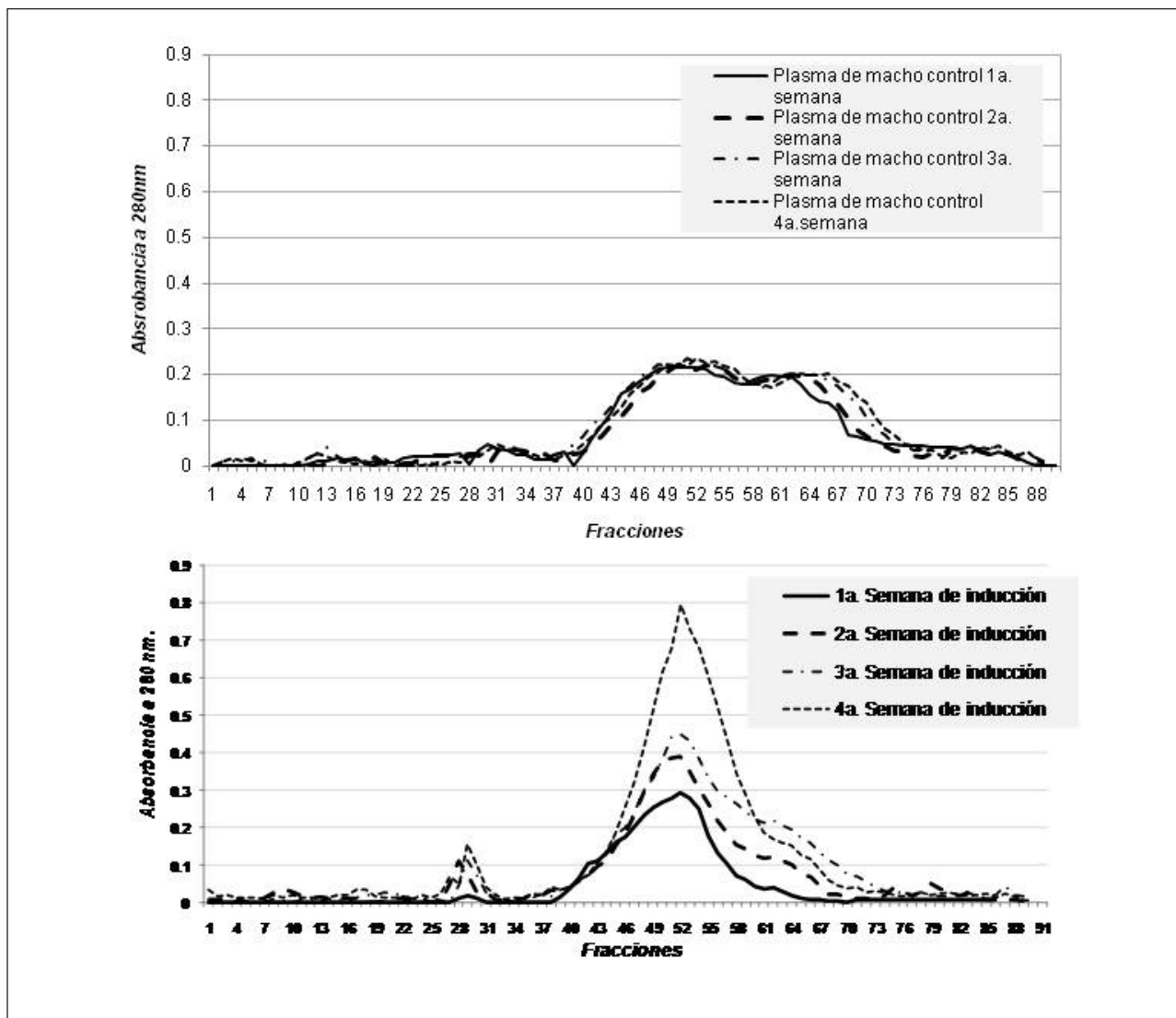


Figura 5.4.- Perfil de fracciones cromatográficas de filtración en gel de Sepharosa 6B de plasma de machos inducidos en diferentes semanas.

El hecho de que la inducción mediante E2 haya provocado la síntesis de VTG en los machos de *A. tropicus* pudo ser demostrada de diversas maneras. El suministro de E2 a ejemplares machos de *A. tropicus* provocó un incremento de un 36% en el contenido total de proteínas del plasma comparado con el grupo de ejemplares control. Un efecto similar se ha observado en machos de *Salmo gairdneri* (Flett y Leatherland, 1989) y *Dicentrarchus labrax* (Mañanós *et al.*, 1994), donde se ha demostrado que la síntesis de VTG inducida por inyecciones de E2 provoca el aumento del contenido total de proteínas del plasma de los ejemplares. Una gran proporción de estas proteínas de los machos de *A. tropicus* tratados fueron precipitables, por ser ricas en fósforo. En contraste, esto no fue observado en el plasma de los

ejemplares control, siendo consistente con lo mencionado por Wiley *et al.*, (1979); de Vlaming *et al.*, (1980); Komatsu *et al.*, (1996) quienes indican que debido al alto contenido de fósforo de la VTG, es posible separarla de las proteínas plasmáticas por precipitación con EDTA-MgCl₂.

La electroforesis SDS-PAGE de plasma de pejelagartos machos inyectados con E2 presentó una banda proteica distintiva correspondiente a 177 kDa que no se observaba en los ejemplares control. Esta banda corresponde a una posición relativa idéntica a la producida por una proteína abundante en el plasma de hembras de *A. tropicus* en estadios de madurez gonádica avanzados, lo cual coadyuva a garantizar que la proteína inducida por el esteroide suministrado es la VTG.

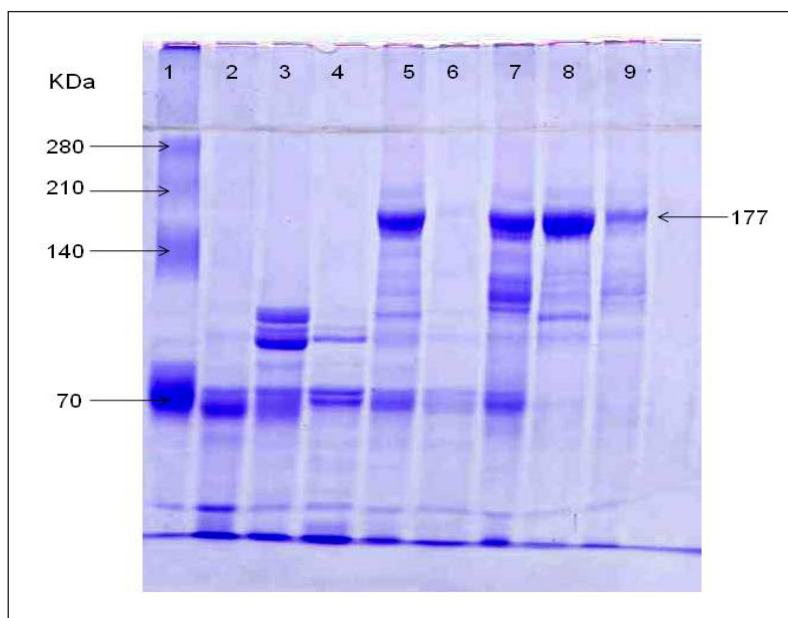


Figura 5.5.- SD-PAGE de plasma de ejemplares no tratados (2 y 6); tratados con Estradiol (5 y 7); precipitado de VTG (8); fracción de Sepharosa 6B (8) y marcador de peso molecular (1).

Esto coincide con las observaciones de otros autores quienes señalan que al ser inducida la VTG en machos inyectados con E2, presenta un peso molecular equivalente al de la VTG que se produce en las hembras de forma natural (Waagboe y Sandnes, 1988; Carnevali y Belvedere, 1991; Mañanós *et al.*, 1994a, Matsubara *et al.*, 1994; Takemura y Teruya, 1997). El peso molecular de la VTG de pejelagarto calculado mediante SDS-PAGE es cercano al peso de la proteína mayori-

taria inducida por E2 identificada como vitelogenina en otras especies y calculado mediante esta misma técnica. En *Plectropomus leopardus* al igual que en *Dicentrarchus labrax* se determinó un peso de 180 kDa (Takemura y Teruya, 1997; Mañanós *et al.*, 1994b); en *Verasper moseri* el peso se situó entre 160 -180 kDa (Matsubara *et al.*, 1999); mientras que en *Mycteroperca microlepis* fue de 183 kDa (Heppell y Sullivan, 1999). En estos estudios también se señala que el peso mo-

lecular generalmente es mucho mayor al obtenido debido a que el SDS-PAGE provoca la disociación de la VTG en subunidades de menor peso molecular (Chan *et al.*, 1991).

Empleando la precipitación selectiva, previa a la purificación por cromatografía, se obtuvo un número más reducido de fracciones proteicas provenientes de las muestras tratadas con 17 β -estradiol de acuerdo a la absorbancia a 280

nm registrada después de la filtración en Sepharosa 6B (Fig.5.6, a y b) e intercambio de iones en DEAE Sephacel (Fig. Fig.5.6,c). Las fracciones cromatográficas de intercambio de iones se consideraron como las de mejor calidad debido a que en estas se observó el menor grado de contaminación por otras proteínas y la más baja degradación de la banda correspondiente a la VTG.

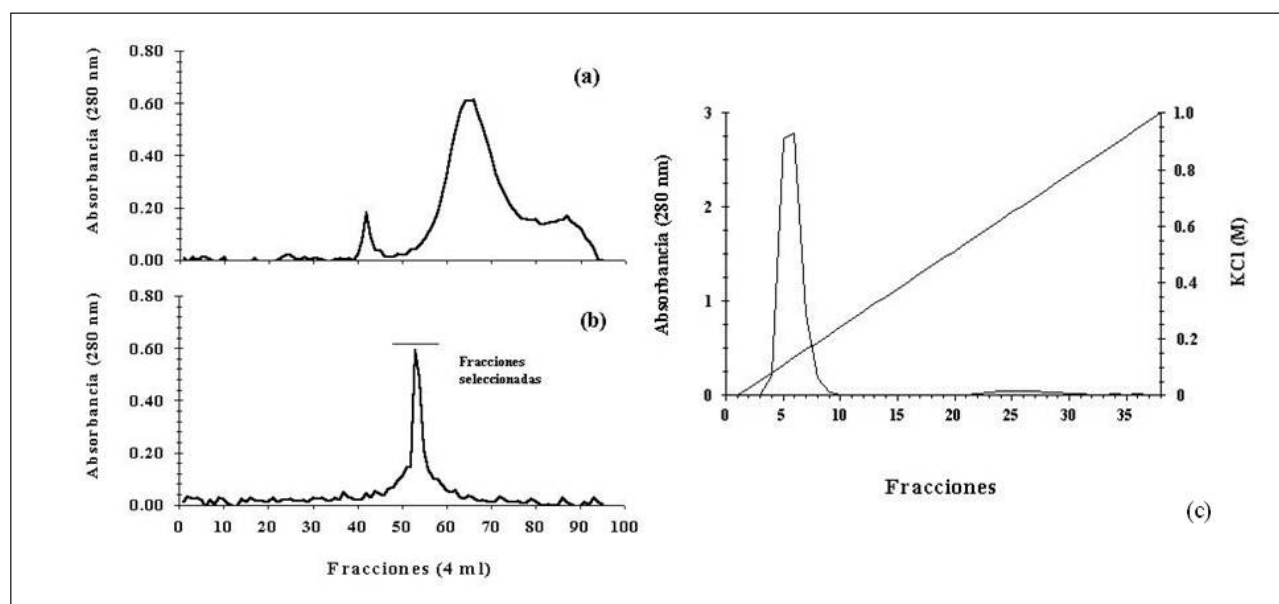


Figura 5.6.- Perfil de fracciones cromatográficas de filtración en gel de Sepharosa 6B de plasma de machos de *A. tropicus* tratados con 17 β -Estradiol; sin precipitar (a) y precipitados con EDTA-MgCl₂ (b).

Obtención y purificación de VTG de catán

Después de varios años y una vez que se logró disponer de ejemplares adultos de catán se obtuvo vitelogenina plasmática por medio de la inducción de machos con β -estradiol, siguiendo el protocolo usado anteriormente por Hernández (2002) en *A. tropicus*. Una dosis de 10 mg de β -estradiol/Kg de peso del pez a la semana, fue empleada, de acuerdo a lo sugerido por Norberg y Haux (1985) en *Salmo gairdneri* y en *Salmo trutta*, por Tyler y Sumpter (1990a) en *Cyprinus carpio* y por Schafhauser-Smith y Benfey (2002)

en *Salvelinus fontinalis*, durante dos semanas, obteniendo después del tratamiento, proteína suficiente para su purificación. Esto contrasta con tratamientos en especies similares (e.g. *A. tropicus*, 4 semanas) y distintas e.g. *Macrozoarces americanus* tratado con la misma dosis, Yao y Crim (1996) en la cual la aparición y el incremento de la concentración de VTG se manifestó hasta las tres semanas de tratamiento. En el catán, a las dos semanas de inducción, aparece una banda de alto peso molecular en la electroforesis de las proteínas plasmáticas (Fig. 5.7).

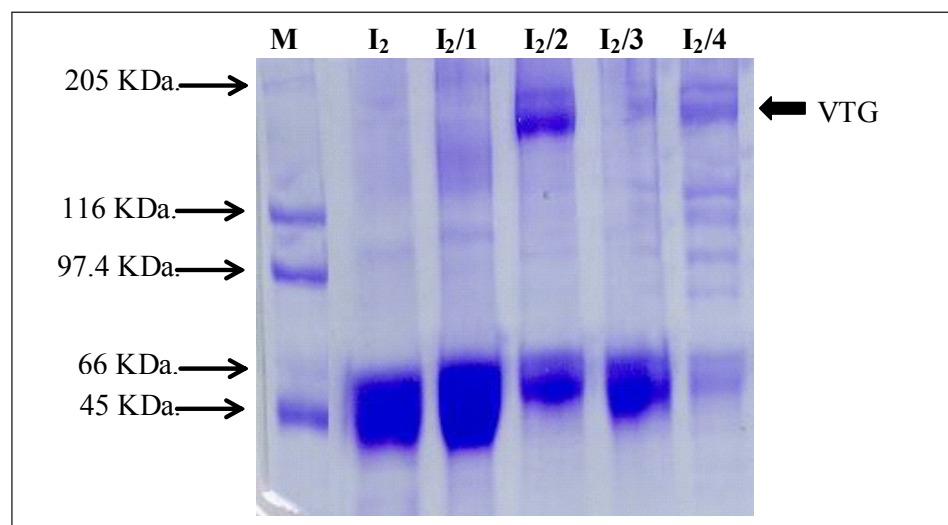


Figura 5.7.- SDS-PAGE al 6% mostrando las diferentes concentraciones de VTG en el plasma, durante la inducción. M, marcador de peso molecular; I, individuo inducido a diferentes semanas.

La purificación de la VTG, de diferentes especies de peces, se ha realizado combinando diferentes métodos. De acuerdo a la bibliografía, las combinaciones de métodos más utilizadas son, la precipitación selectiva y el intercambio de iones, así como la combinación de filtración en gel y el intercambio de iones. Sin embargo, la diferencia en los métodos y las combinaciones de los mismos, sugiere que la purificación depende no sólo de éstos, sino que también depende de la especie. Considerando las características de la VTG y VTL de los lepisostéidos, por ejemplo, su alto contenido de fósforo, en los estudios con catán se optó por combinar la fil-

tración en gel y la precipitación selectiva de la VTG.

Con una modificación al protocolo original de Wiley *et al.*, (1979) mediante la precipitación selectiva se obtuvo una banda de VTG libre de proteínas de bajo peso molecular (Fig. 5.8), sin embargo, una banda de mayor peso molecular que co-eluyó con la VTG en la cromatografía de exclusión (Fig. 5.9), se encontraba aún en el precipitado, por esta razón se implementó un tercer paso de purificación: electroforesis y electroelución de la banda (Fig. 5.10). Este procedimiento permitió obtener la banda de VTG pura y sin signos de degradación.

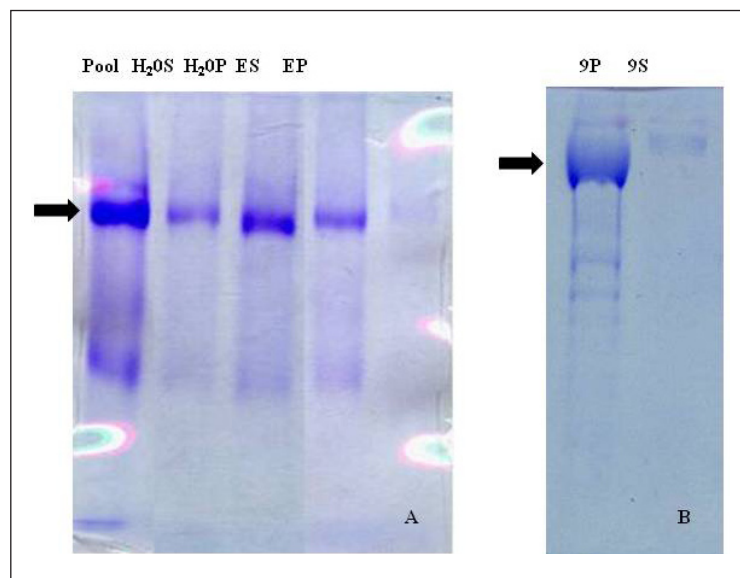
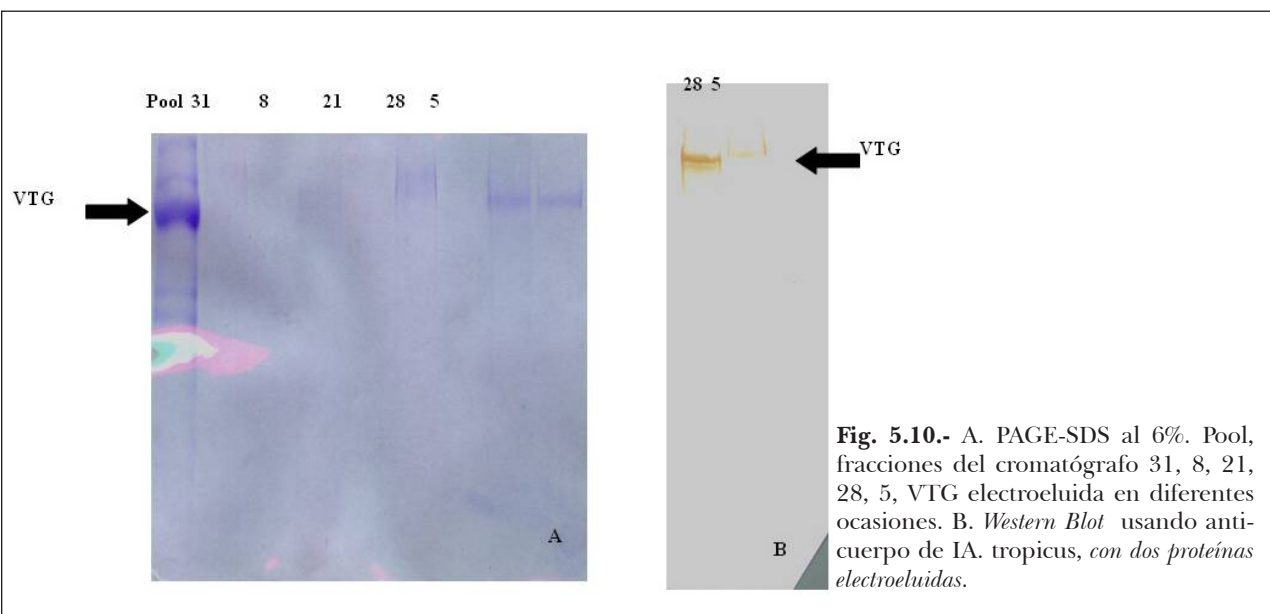
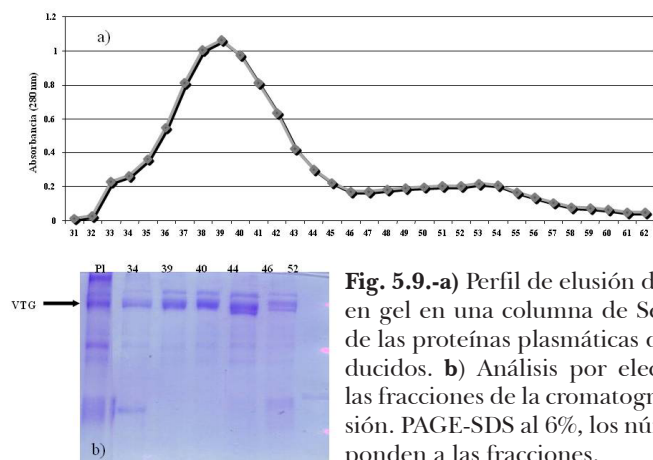


Fig. 5.8. Comparación de los resultados de la precipitación selectiva de la VTG mediante electroforesis en PAGE-SDS al 6% A. de acuerdo al método original, únicamente en EDTA y Mg^{2+} (ES, sobrenadante y EP, precipitado) y agregando 3 volúmenes de bH_2O (H_2O_5 , sobrenadante y H_2O_P , precipitado) B, resultado de la precipitación después de agregar 6 volúmenes más de bH_2O al sobrenadante (9P, precipitado y 9S, sobrenadante). Las flechas señalan la banda de VTG.



La presencia de dos bandas después del proceso de purificación, también fue reportada por Hernández (2002) quien, después de purificar con precipitación e intercambio de iones, encontró que la banda de VTG todavía estaba asociada a otra banda de un peso molecular similar. En el caso del catán se presentó un resultado similar al trabajar con la lipovitelina, donde Cortes (2003) encontró dos bandas, una de 167.57 KDa. y otra de 149.28 KDa., después de la purificación mediante precipitación, filtración en gel e intercambio de iones.

Purificación y especificidad de los anticuerpos anti-VTG de catán

El protocolo de inmunización permitió obtener

suero con un buen título de anticuerpos anti-VTG, exponiendo la inmunogenicidad de la VTG. Este resultado se puede explicar por su alto peso molecular y por el hecho de no presentar una contraparte homóloga en el conejo. La purificación de los anticuerpos se llevó a cabo por cromatografía de afinidad con proteína A (Fig.5.11). Con este procedimiento se lograron aislar las IgG del suero hiperinmune, y se eliminaron otros componentes del mismo. Los anticuerpos anti-VTG eluyeron de la columna con el buffer a pH ácido (Fig. 5.12), ya que de las fracciones obtenidas, sólo éstas reaccionaron con la VTG purificada. Adicionalmente, dichas fracciones reconocieron la banda de VTG en el plasma, por lo que éstas se clasificaron como anticuerpos anti-VTG purificados.

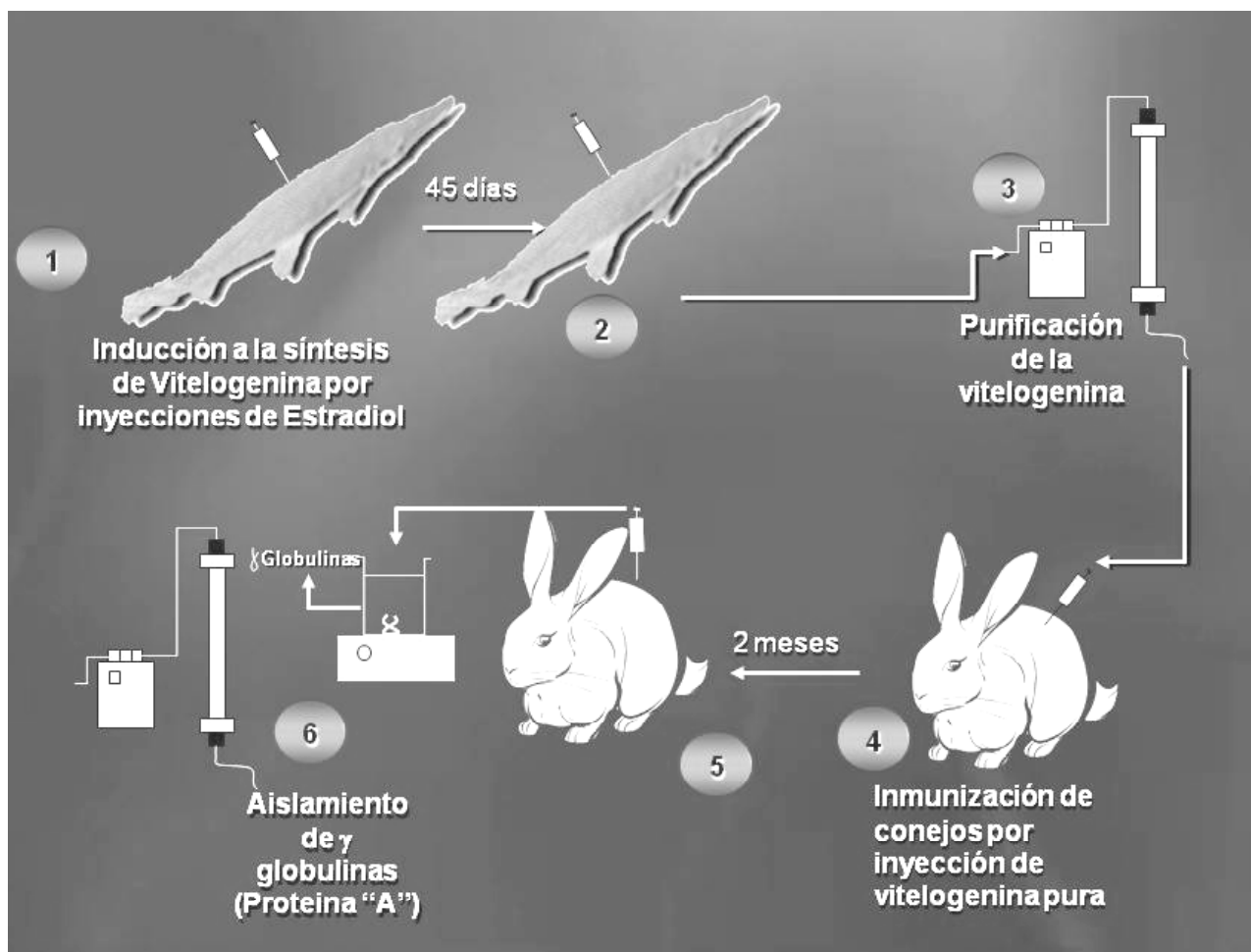


Figura 5.11.- Esquema mostrando la purificación de la VTG y la de los IgG anti-VTG.

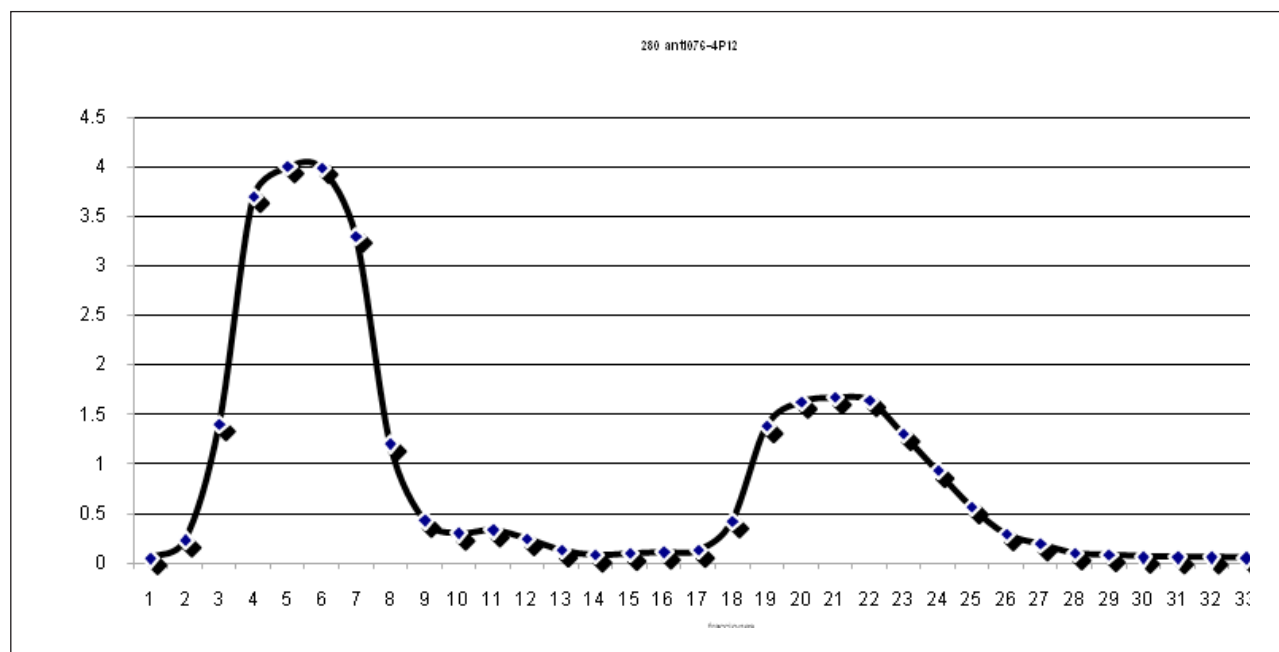


Figura 5.12.- Perfil de elución de los anticuerpos por cromatografía de afinidad (proteína A-Sepharosa), obtenido con buffer pH 3.

La especificidad de los anticuerpos se demostró al reconocer la banda de VTG purificada y la del plasma y particularmente al no producir reacción con el plasma de macho (Fig. 5.13). Así mismo, mediante una inmunodifusión doble, los anticuerpos anti-VTG reconocieron el estándar de VTG de *A. tropicus*, lo que se explica al ser esta última una especie estrechamente relacionada con el catán. Además, la calidad de los an-

ticuerpos desarrollados se comprobó al obtener una sola banda de precipitación en todas las pruebas de inmunodifusión doble, y al no observarse señal inespecífica con las proteínas plasmáticas de los machos, lo cual contrasta con los anticuerpos desarrollados para la VTG de *A. tropicus*, los cuales formaban dos bandas de precipitación y eventualmente presentaban reacciones cruzadas con los machos (Hernández, 2002).

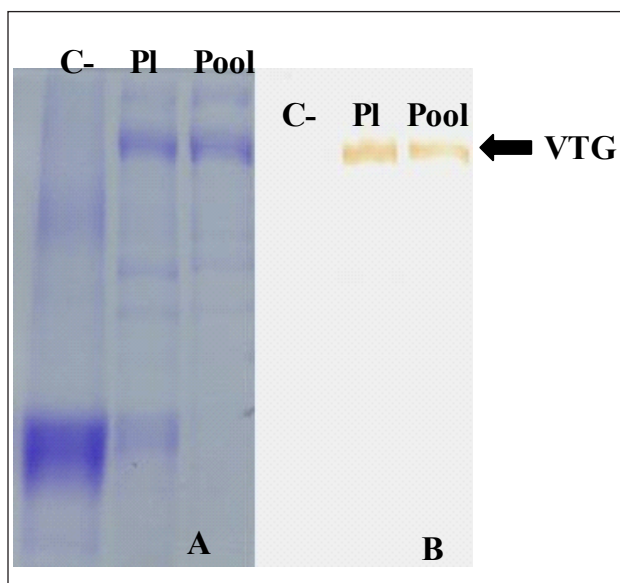


Figura 5.13. PAGE-SDS al 6% (A), Western Blot (B). C-, plasma de macho; PI, plasma inducido; Pool, fracciones del cromatógrafo.

Purificación de lipovitелina

Debido a que las cantidades de VTG plasmáticas son muy limitadas, por el escaso volumen de sangre que se puede recuperar de los individuos, la purificación de lipovitелina ovárica constituye una alternativa atractiva, consideran-

do el tamaño de las gónadas y la abundancia de esta proteína. En investigaciones anteriores, se habían utilizado una gran variedad de técnicas para la purificación de la lipovitелina ovárica de distintas especies de peces, adicionando una etapa de separación inicial de precipitación con EDTA-MgCl₂ (Wiley *et al.*, 1979; Norberg y Haux, 1988; Inaba *et al.*, 1997; Fujita *et al.*, 1998), para concentrar y asilar por completo la lipovitелina ovárica, del resto de los componentes del ovario. Esta técnica resulta particularmente eficaz cuando se presentan concentraciones elevadas de lipovitелina (Norberg y Haux, 1988). Así, fue posible la obtención de lipovitелina ovárica pura, en su conformación nativa, para la realización de una purificación más específica. Para la separación total de la lipovitелina ovárica de los otros componentes del ovario fue necesario utilizar una combinación de cromatografía de exclusión molecular e intercambio de iones (Fig. 5.14 y 5.15), de la misma manera que se efectuó en otras investigaciones, como es el caso de *Oncorhynchus mykiss* (Tyler y Lancaster, 1993), *Cyprinus carpio* (Tyler y Sumpster, 1990), *Dicentrarchus labrax* (Mañanós *et al.*, 1994).

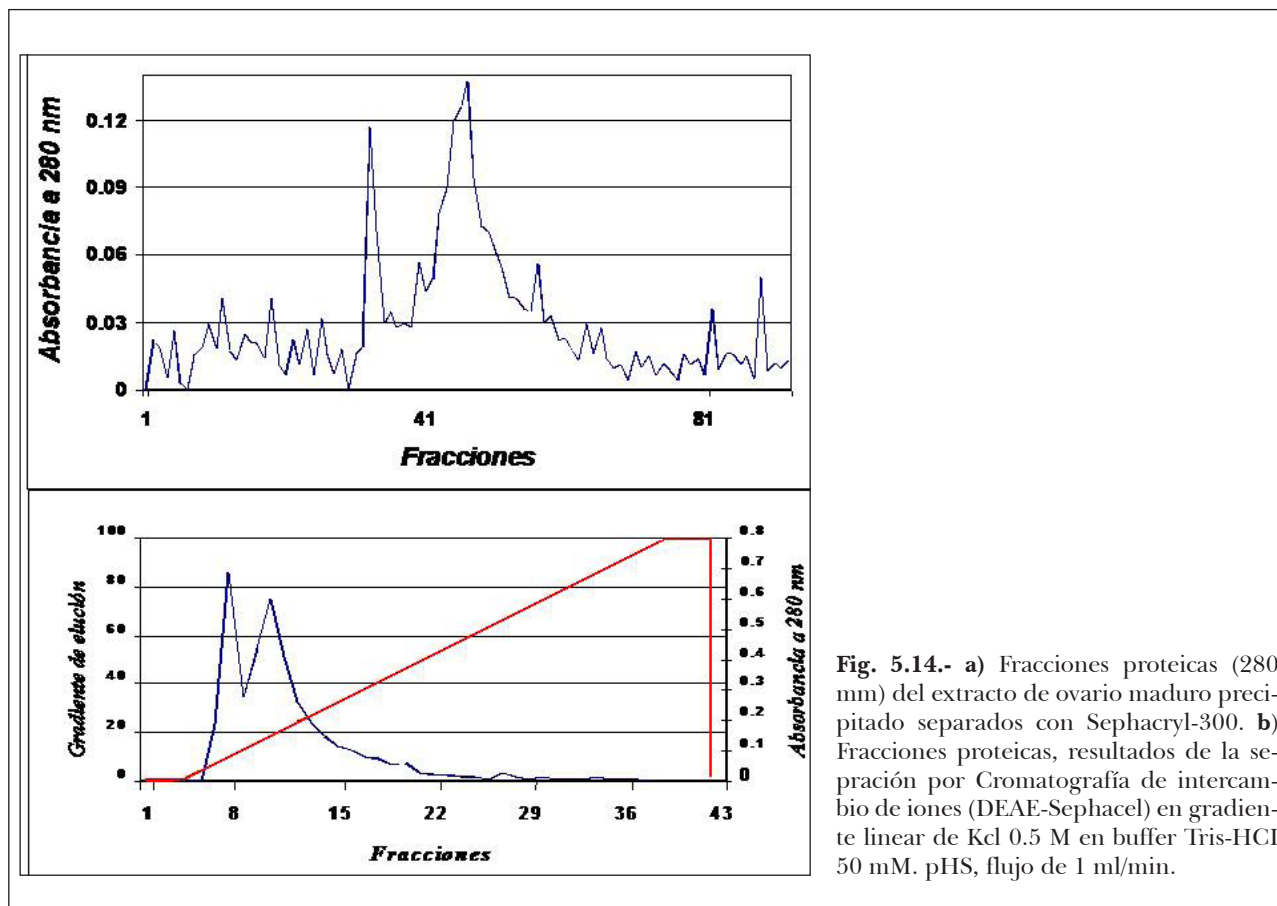


Fig. 5.14.- a) Fracciones proteicas (280 nm) del extracto de ovario maduro precipitado separados con Sephacryl-300. b) Fracciones proteicas, resultados de la separación por Cromatografía de intercambio de iones (DEAE-Sephacel) en gradiente lineal de KCl 0.5 M en buffer Tris-HCl 50 mM. pH 8, flujo de 1 ml/min.

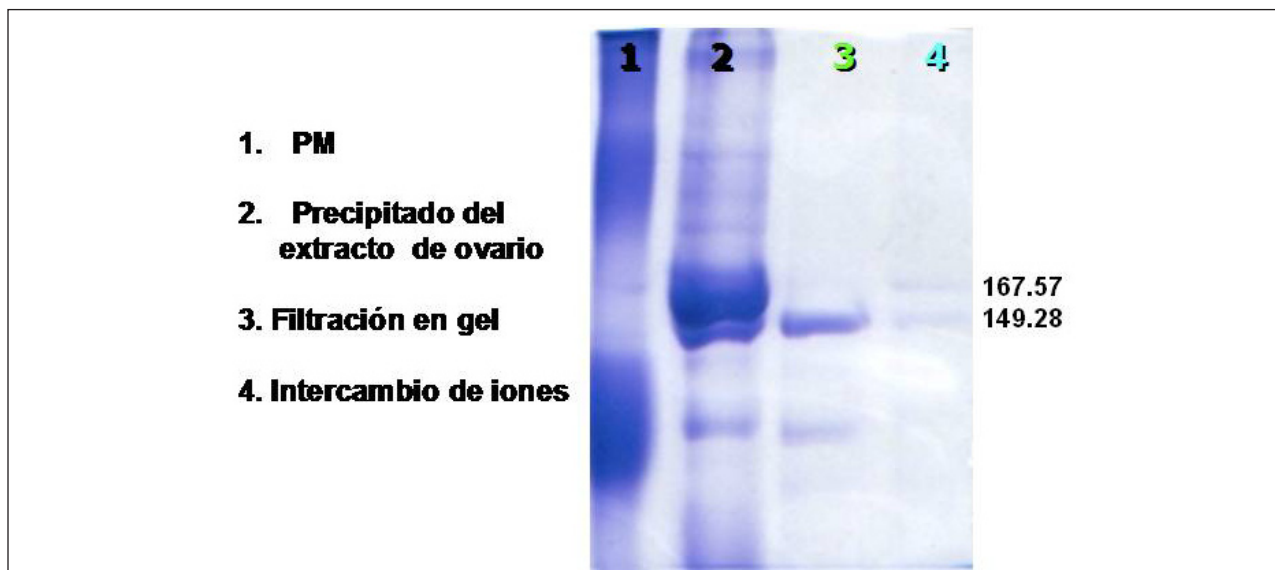


Figura 5.15.- Electroforesis en gel de poliacrilamida al 8% en condiciones desnaturalizantes. Kit del peso molecular (1), Precipitado del extracto de ovario maduro de *Atractosteus spatula* (2), Principal fracción de sephacryl-300 (3), Fracción de DEAE-Sephacel (4).

Estas técnicas de cromatografía ofrecen la ventaja de disponer de la molécula en fase líquida, lo que permite continuar con su ulterior purificación por medio de diferentes técnicas (cromatografía de afinidad, electroforesis, etc.) (Cortés, 2000). Entre los medios de filtración en gel que han producido mejores resultados para la purificación de la VTL y la VTG en peces se encuentra la Sepharosa- 6B (Copeland *et al.*, 1986; Copeland y Thomas, 1988; Tyler *et al.*, 1988; Tyler y Sumpter, 1990, Pelissero *et al.*,

1991, Tyler y Lancaster, 1993; Mañanós *et al.*, 1994). Sin embargo, el Sephacryl, un medio que presenta características similares a la Sepharosa, presenta mejor estabilidad química a diferentes amortiguadores en un mayor rango de pH y soporta una presión más elevada, lo que permite procesar una mayor cantidad de muestras en un menor tiempo (Cortés, 2000). Este medio también ha sido utilizado exitosamente en la purificación de la VTG y la VTL de *Diodon holocanthus* (Fujita *et al.*, 1998).

Cuantificación de VTG

Como se mencionó anteriormente, para la cuantificación de la vitelogenina se ha empleado los métodos llamados indirectos, en los cuales se toma como referencia la cantidad de alguna molécula relacionada con la vitelogenina para extrapolarla a la cantidad de esta última; también se emplean métodos directos como la electroforesis o los inmunoensayos, en los cuales se producen anticuerpos específicos para la vitelogenina o la lipovitelina y se realizan pruebas tanto de detección como de cuantificación.

Electroforesis

La purificación, como se mostró anteriormente, así como la identificación del peso molecular y de los grupos prostéticos (fósforo, carbohidratos y carotenoides) de la molécula de VTG hizo posible identificar a una banda característica de las hembras, lo que permitió discernir el sexo de los reproductores mantenidos durante varios años en cautiverio en el Centro Acuícola Tancol (Fig.16)

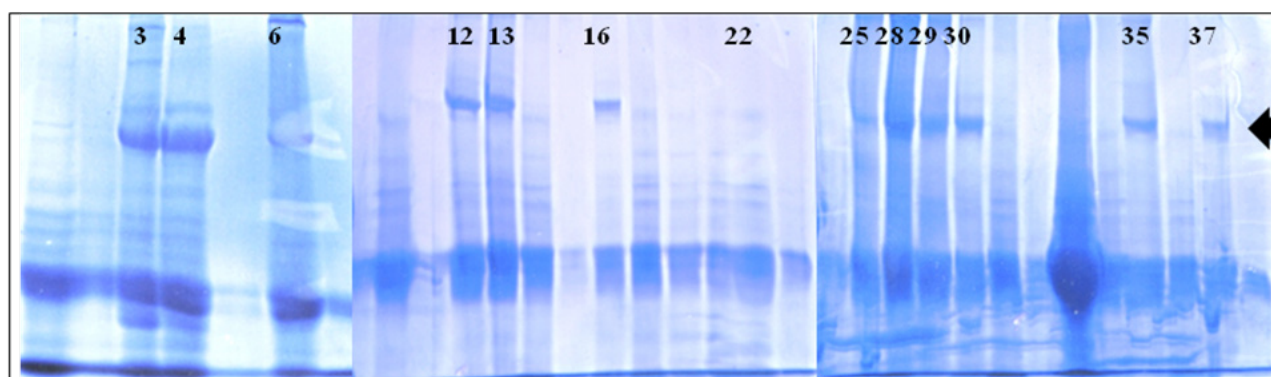


Figura 5.16.- Sexado del lote de reproductores de *Atractosteus spatula* del Centro Acuícola Tancol, mediante la técnica de electroforesis, en donde se identificó a las hembras por la banda característica de VTG

Inmunoensayos

La Inmunodifusión Radial Simple o SRID, por sus siglas en inglés, es un método cuantitativo ampliamente aplicado al estudio de anticuerpos y a la detección y cuantificación de antígenos solubles. En éste, uno de los componentes del sistema antígeno-anticuerpo (generalmente el anticuerpo) es incorporado en un gel de agarosa en su fase líquida, para posteriormente dejarlo

solidificar en una superficie horizontal nivelada. Las moléculas en solución son puestas en pozos hechos en el gel una vez que está sólido, y se difunden radialmente combinándose con el anticuerpo o antígeno complementario, dando lugar a una precipitación en forma de anillo, después de un determinado tiempo la difusión cesa. Las áreas cubiertas por la inmunoprecipitación son examinadas ya sea directamente o después de una tinción (Fig. 17).

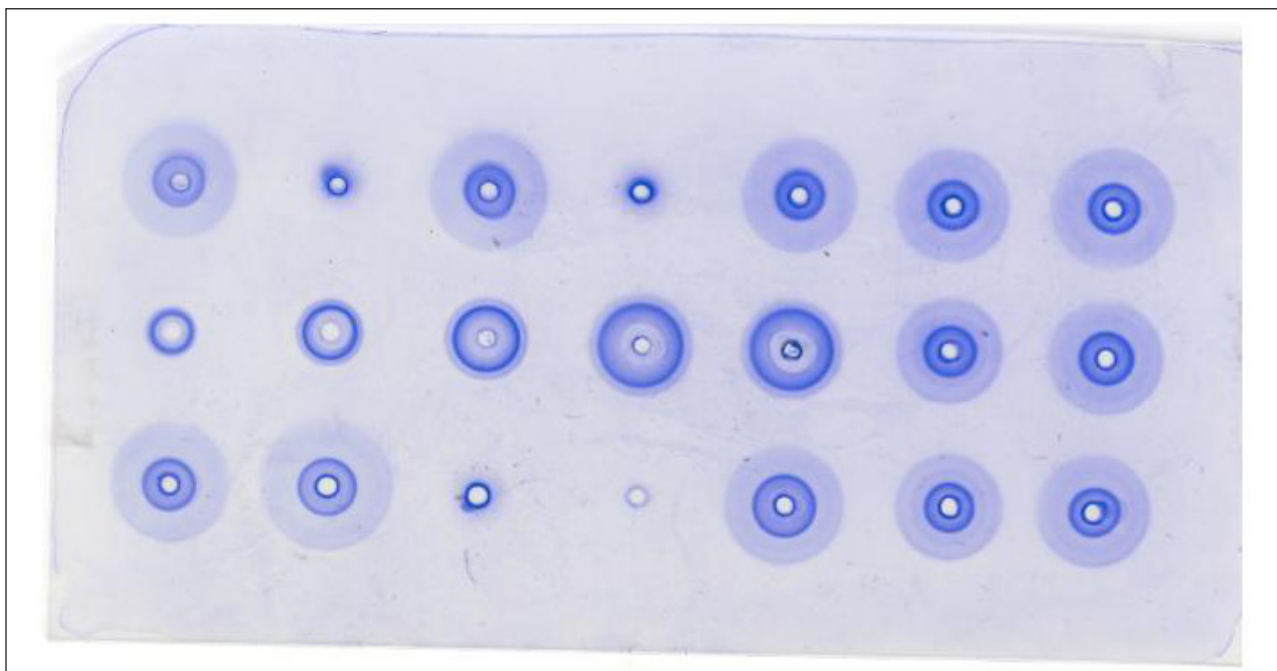


Fig. 5.17.-Cuantificación de VTG por medio de la técnica de inmunodifusión radial simple (Simple Radial Immunodiffusion -SRID).

El diámetro de dicho anillo se relaciona con la cantidad de antígeno o anticuerpo en solución (Clausen, 1988; Catty y Raykundalia, 1989). Este método se ha utilizado para medir los niveles de vitelogenina en diferentes especies de peces (Hiramatsu *et al.*, 1997; Fujita *et al.*, 1998; Hoque *et al.*, 1998; Shimizu *et al.*, 2000) incluyendo *A. tropicus*, especie relacionada con el catán (Hernández, 2002).

El sexado de los organismos se ha realizado igualmente en ejemplares de catán mediante

pruebas cruzadas, utilizando un anticuerpo anti-VTG para *Atractosteus tropicus* (Cortes, 2003). De acuerdo a Laine (1992) Estas pruebas se llevan a cabo en placas de agarosa de baja electroendosmosis en la que se perforan una serie de pozos en los se incluyen diferentes diluciones del plasma. Las placas son incubadas en una cámara húmeda durante 24 horas y posteriormente, se lavan en una solución salina con el fin de retirar las proteínas que no precipitaron (Fig. 5.18)

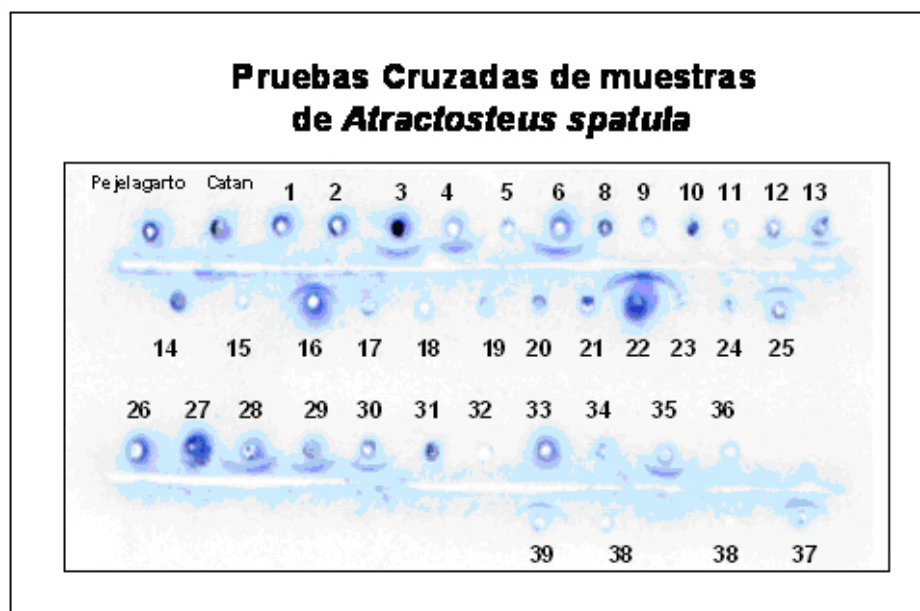


Figura 5.18.- Sexado del lote de reproductores de *Atractosteus spatula* del Centro Acuícola Tamcol, mediante la técnica de pruebas cruzadas. A las hembras fueron identificadas por medio de los arcos de precipitación con el antisuero Anti-VTG.

Otro método que se ha utilizado para cuantificar la vitelogenina en peces (*e.g. Salmo gairdneri*) (Maitre *et al.*, 1985), es el de Rocket Immunoelectroforesis (RIE), el cual fue desarrollado por la combinación de los principios de electroforesis e inmunoprecipitación y permite la estimación de una concentración de antígeno por la reacción con un anticuerpo específico. El antígeno es aplicado en pozos hechos en el gel, que contiene el anticuerpo específico inmovilizado, y es obligado a migrar por una corriente eléctrica a través del agar, resultando en picos de precipitación (*rockets*), cuya área es proporcional a la concentración del antígeno (Clausen, 1988; Catty y Raykundalia, 1989).

El Radioinmunoensayo (RIA) también ha sido utilizado para cuantificar diferentes moléculas, logrando medir la cantidad de un antígeno utilizando un isótopo radioactivo con el cual se marca el antígeno o el anticuerpo complementario, lo que permite no sólo detectar su presencia, sino cuantificarlo. Este método es muy utilizado debido a su sensibilidad (Copeland *et al.*, 1986; Copeland y Thomas, 1988; Norberg y Haux, 1988; Benfey *et al.*, 1989; Tyler y Sumpter, 1990b).

El ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) es un inmunoensayo basado en el mismo principio que el RIA, con la diferencia de que en el primero se utiliza una enzima para marcar el antígeno o el anticuerpo. Las ventajas con respecto

al RIA es que los materiales no son peligrosos y tienen un mayor tiempo de vida-anaquel. Otra consideración es el costo, que en el RIA es mucho más sofisticado comparado con el ELISA en cuanto a instrumentación necesaria para cuantificar la radioactividad, esto sin tomar en cuenta los desechos radioactivos que resultan (Clark y Engvall, 1987; Specker y Anderson, 1994). Otra de las ventajas, es que las enzimas usadas para marcar los anticuerpos o los antígenos dan un color típico y son fácilmente detectables (Clausen, 1988). Adicionalmente, en este método se utilizan cantidades mínimas, tanto de los reactivos como de los anticuerpos y muestras a ensayar. Existen diferentes tipos de ELISA, que en general se clasifican como ensayos Competitivos y No Competitivos, la diferencia entre ellos depende de que el antígeno a medir compita por un número limitado de sitios de unión, o si sólo es puesto a reaccionar con un exceso de anticuerpo y el excedente de la reacción antígeno-anticuerpo es medido en un segundo paso (Clark y Engvall, 1987; Specker y Anderson, 1994).

ELISA competitivo

En este tipo de ELISA, una cantidad conocida del antígeno es adsorbido en una microplaca. Posteriormente, una cantidad conocida de anti-

cuerpo, marcado o no con una enzima, y una cantidad variable del antígeno (presente en muestras o como parte de una curva estándar) son incubados en la microplaca. Este método se considera competitivo ya que el anticuerpo se une al antígeno en solución o al antígeno inmovilizado dependiendo de las cantidades de antígeno presente en la muestra o en la curva. Así, con altos niveles presentes en la solución, la mayoría de los anticuerpos se unirán al antígeno en solución y sólo una mínima cantidad se unirá a la microplaca. Después de un lavado apropiado, el sustrato de la enzima es añadido y el cambio de color es usado para cuantificar la cantidad de anticuerpo capturado por el antígeno de la microplaca. La concentración de anticuerpo será inversamente proporcional al antígeno en solución (Fig. 5.19). La ventaja que ofrece es su sencillez (implica pocos pasos), es capaz de medir pequeños y grandes antígenos, además de que requiere pequeñas cantidades de anticuerpo y si el anticuerpo está marcado sólo necesita de éste para el ensayo (Clark y Engvall, 1987; Clausen, 1988; Specker y Anderson, 1994). Para este método, existen dos variantes; la primera en “equilibrio”, en la que el anticuerpo y el antígeno se incuban en la microplaca directamente; y la segunda en “no equilibrio”, en la que se lleva a cabo un paso de pre-incubación del anti-

cuerpo y del antígeno en solución en tubos *eppendorf*, después de la cual el producto de esta reacción es incubado en la microplaca continuando con el procedimiento normal.

ELISA no competitivo

En el ELISA tipo “Sándwich”, el anticuerpo primario es adherido a la microplaca; el antígeno (curva estándar o muestras) es incubado en los pozos para ser capturado por la capa de anticuerpo primario en cantidades proporcionales a las presentes en la solución. Después de un lavado apropiado, para remover el exceso de antígeno no adherido, un anticuerpo secundario marcado es incubado en la microplaca. Después de una serie de lavados, el sustrato para la enzima es añadido y el grado del cambio de color es cuantificado. La cantidad de señal generada en el ensayo es proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra. Esta variante de ELISA ofrece una alta sensibilidad debido al uso de dos anticuerpos diferentes, sin embargo, solo puede ser realizado con grandes antígenos multivalentes con múltiples epítopes (Clark y Engvall, 1987; Clausen, 1988; Specker y Anderson, 1994).

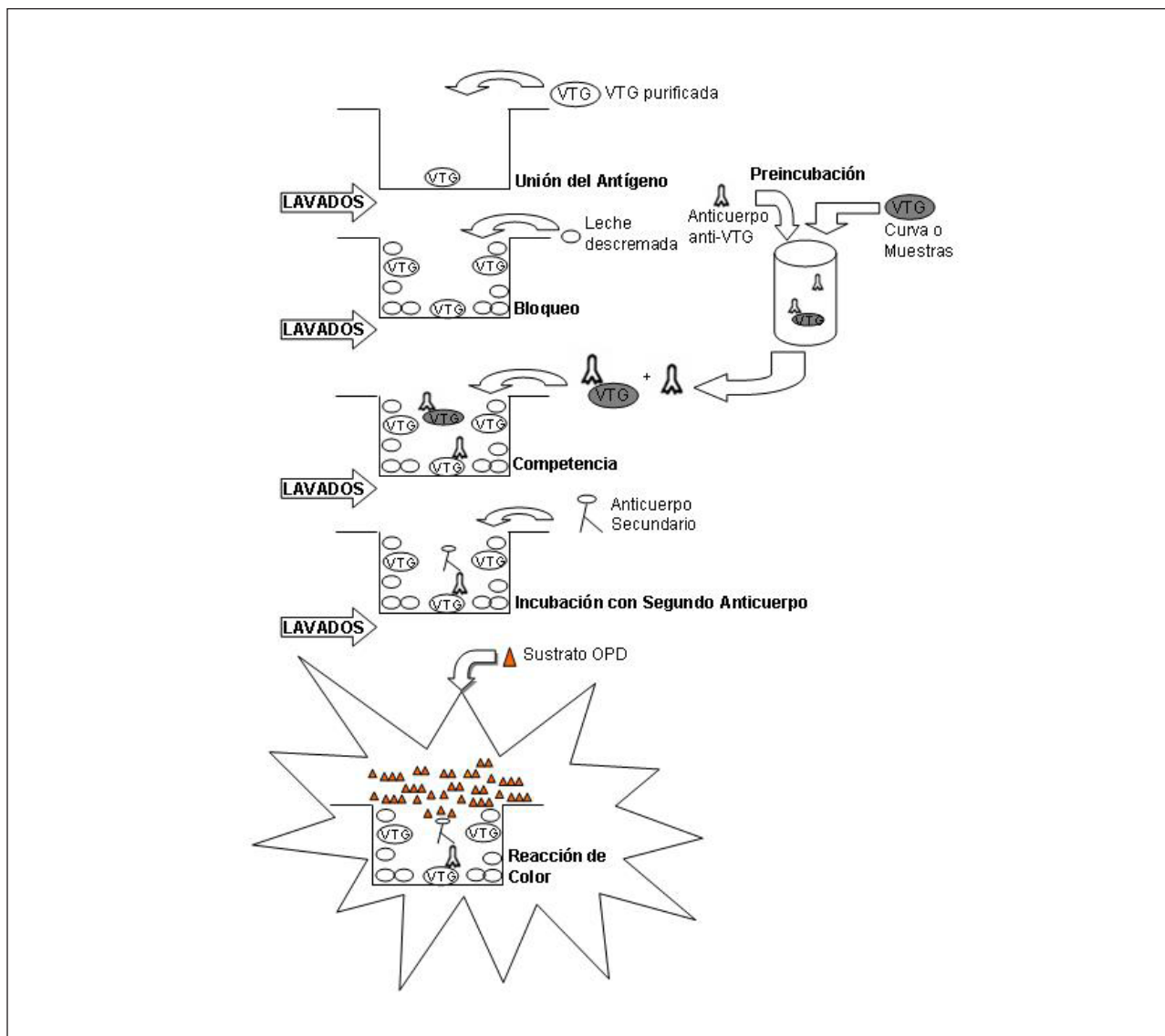


Figura 5.19.- Esquema del ELISA competitivo utilizado para cuantificar la VTG del catán.

ELISA VTG de catán

Varias investigaciones se han realizado para desarrollar inmunoensayos tipo ELISA para cuantificar la VTG en diferentes especies de peces. El ELISA desarrollado para el catán fue competitivo, utilizando anticuerpos policlonales contra la VTG de *A. spatula* y un segundo anticuerpo conjugado con peroxidasa. En la estandarización del

ensayo se buscaron las concentraciones de los reactivos con las que se obtuvieran entre 1 y 2 unidades de densidad óptica. Así, finalmente, la competencia por el anticuerpo (8.5 ng/100 μ l) se realizó entre la VTG unida a la placa (100 ng por pozo) y la contenida en la curva estándar (1.5 – 300 ng/100 μ l) (Fig5.20) y en las muestras de plasma o mucus (diluidas 1:100, 500, 1,000, 5,000, 10,000 o 20,000).

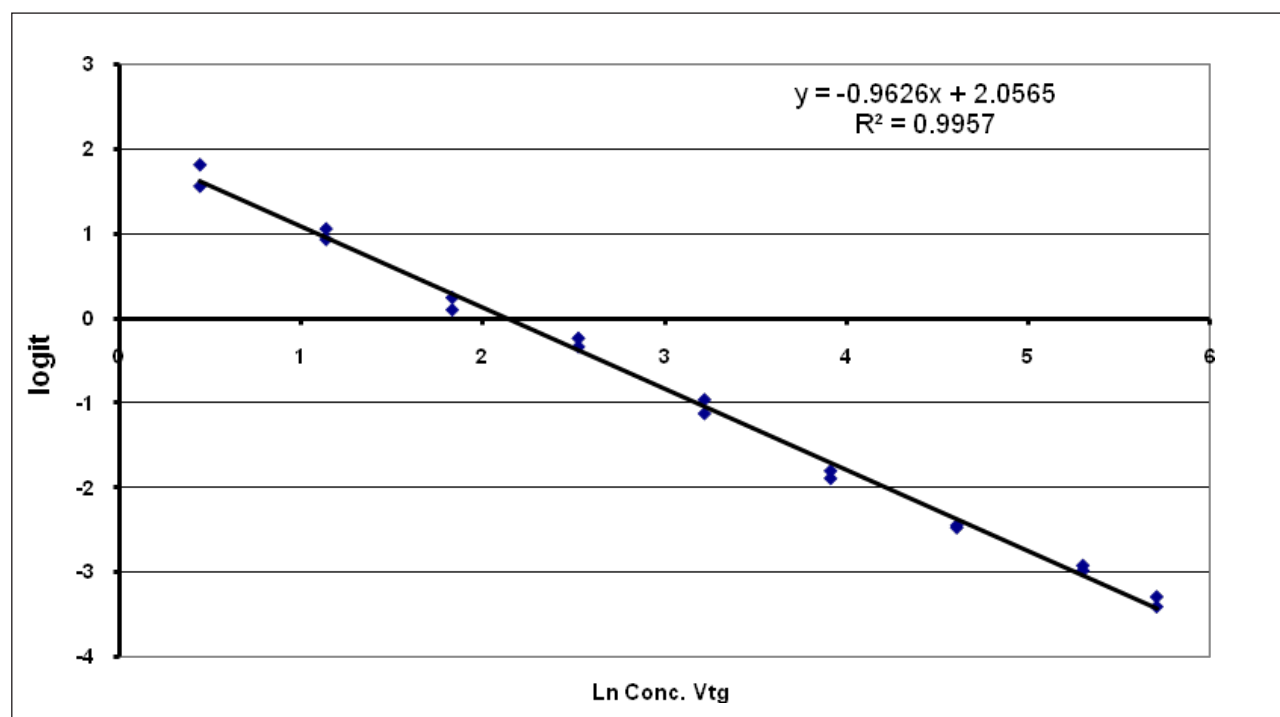


Figura 5.20- Regresión de la curva de 300 a 1.5 ng de VTG.

La especificidad del ensayo fue demostrada, por la falta de reacción del anticuerpo con el plasma de machos, lo que quiere decir que los anticuerpos no reaccionan con otra proteína que no sea la VTG. También se demostró que los anticuerpos reconocen a la proteína encontrada en el plasma y en el mucus al igual que a la proteína purificada (Nuñez *et al.*, 1989; Cuisset *et al.*, 1991; Kishida *et al.*, 1992; Mendoza *et al.*, 1993; Bon *et al.*, 1997; Susca *et al.*, 2001). Estos resultados fueron confirmados con pruebas de *Western Blot*. Además, en el ELISA, se demostró que tampoco hubo reacción con proteína alguna de las muestras de una especie (*Chirostoma estor*) no relacionada con el catán. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, el anticuerpo que se obtuvo reconoce la proteína en *A. tropicus*, por lo que cabe esperar que este ensayo pueda detectar niveles de VTG en el pejelagarto y posiblemente en otros lepisostéidos.

La sensibilidad del ensayo, concentración de VTG que dio un 87.9% ($n = 6$) de unión, fue de 1.5 ng/pozo (15 ng/ml) (Tabla 5.1). Este valor es igual o similar al reportado por varios autores (Cuisset *et al.* 1991; Nuñez *et al.*, 1989; Kishida *et al.*, 1992; Bon *et al.*, 1997; Heppell y Sullivan, 1999; Susca *et al.*, 2001; Schafhauser-Smith y Benfey, 2002). Aunque otros autores han reportado una sensibilidad mayor, como Mendoza *et al.*, (1993) con una sensibilidad de 2.3 ng/ml y Mañanós *et al.*, (1994b) con 1 ng/ml. Sin embargo, algu-

nos de los autores han encontrado que la sensibilidad en sus ensayos es suficiente para medir las concentraciones de VTG de acuerdo a los niveles que encontraron para la especie. Así, Cuisset *et al.*, (1991), reportaron que los niveles mínimos de VTG encontrados en hembras al inicio de la vitelogénesis fueron de 160 $\mu\text{g/ml}$ en *Acipenser baeri*, mientras que Nuñez *et al.* (1989), consideraron suficiente la sensibilidad alcanzada, ya que la concentración mínima de VTG que encontraron para *Solea vulgaris* fue de 100 $\mu\text{g/ml}$ en hembras en el periodo de reposo. No obstante se pueden encontrar diferencias importantes dentro de la misma especie, así por ejemplo Bon *et al.* (1997) en un ensayo para la VTG de *Oncorhynchus mykiss*, encontraron que el nivel de VTG en hembras inmaduras era de 65 $\mu\text{g/ml}$, mientras que en hembras juveniles un año o más antes de su primera ovulación el nivel era de 1 $\mu\text{g/ml}$. Para el catán no hay cantidades reportadas acerca de los niveles de VTG en las hembras. Sin embargo, Hernández (2002) reportó para *A. tropicus* una concentración menor de 1.3 mg/ml de VTG en machos, de 1.4 a 2.9 mg/ml para hembras en el proceso de vitelogénesis y mayor de 3 mg/ml para hembras maduras. En nuestro ensayo la sensibilidad alcanzada permitiría detectar un porcentaje de $0.2 \times 10^{-4} \%$ de VTG en comparación a las proteínas totales. Por lo cual la prueba desarrollada se considera suficientemente sensible.

Rango de Linearidad	R2 0.9942-0.9964 (n = 6)
Límite de detección	1.5 ng (da 87.9% de unión)
Coefficiente de Variación Inter-ensayo	22% (n = 57)
Coefficiente de Variación Intra-ensayo	18% (n = 46)
Recuperación	Con plasma de macho 87% Con plasma inducido 99%

Tabla 5.1-. Características del ELISA.

La variación inter-ensayo (22%) que se obtuvo fue alta comparada con la obtenida por otros autores (Nuñez *et al.*, 1989; Cuisset *et al.*, 1991; Kishida *et al.*, 1992; Mendoza *et al.*, 1993; Bon *et al.*, 1997), sin embargo es similar (24%) a la obtenida por Hennies *et al.*, (2003) que, en un ensayo con *Cyprinus carpio*, en éste los autores explican que la variación se debió a la degradación de la VTG. En nuestro caso cabría esperar que la variación se deba a la misma causa, ya que se usaron las mismas muestras en los diferentes ensayos, por lo que tuvieron que ser sometidas a varios ciclos de congelación y descongelación.

Además, en base al resultado obtenido del análisis de cuatro curvas estándar, donde se encontró que no había diferencias significativas entre ellas, se puede decir que la reproducibilidad del ensayo es buena. La variabilidad intra-ensayo fue de 18%,

valor similar al obtenido por algunos autores (Cuisset *et al.*, 1991; Kishida *et al.*, 1992). La recuperación fue de alrededor de 100% cuando se ensayó con plasma de un ejemplar inducido, sin embargo al mezclar la VTG con el plasma del control, se encontró que la recuperación bajaba a 87%. Lo que se podría explicar por la interacción de la VTG con otras proteínas plasmáticas que podrían secuestrar o interferir con la la proteína y evitar su unión a los anticuerpos.

Formación de lotes de reproductores

Debido a la afectación de las existencias de las poblaciones de catán, y tomando en cuenta los escasos ejemplares adultos existentes, considerados como patrimonio de la Nación, resultaba difícil realizar estudios directos con estos organismos por lo cual era inminente la necesidad de constituir un lote de reproductores a partir de la captura eventual de juveniles silvestres y del cultivo de crías obtenidas en el laboratorio. El manejo y zootecnia de este lote giró en torno a la adecuación de distintos parámetros físico-químicos y biológicos, con miras a incrementar su capacidad reproductiva, lo que al mismo tiempo permitiría disponer de organismos en cantidad suficiente para realizar diversos ensayos de inducción hormonal.

El desarrollo del cultivo de nuevas especies para consumo humano o para repoblamiento generalmente implica la creación y el mantenimiento de stocks de reproductores en cautiverio. Sin embargo, la constitución de un lote de reproductores, particularmente en el caso de una especie en proceso de domesticación, debe tener en cuenta su riqueza genética, ya que esta condición permitirá tener mayores posibilidades de selección de organismos con características adecuadas a las condiciones de cultivo.

La finalidad de la formación de un lote de reproductores es múltiple, así se han venido constituyendo lotes de reproductores con fines exclusivos de mejoramiento genético, para la constitución de bancos de germoplasma en el caso de especies amenazadas o en peligro de extinción, o simplemente para facilitar el manejo de los mismos y poder programar la producción en el caso de las operaciones comerciales en las que la metodología ha permitido cerrar el ciclo de cultivo para evitar la dependencia de reproductores silvestres.

Aspectos genéticos

Desde el punto de vista de lo genético se justifica para mejorar el desempeño de la especie bajo cultivo, por medio de selección, retrocruza u otro

tipo de manipulaciones (Chevassus, 1989). En muchas ocasiones los stocks se forman a partir de una sola población de organismos, por ejemplo en el caso de requerir cierta garantía sanitaria (ausencia de, o resistencia a diversos patógenos), o bien para resguardar determinada población de enfermedades presentes en el medio con miras a repoblar posteriormente. Finalmente también se recurre a individuos de una población particular por el hecho de mostrar rendimientos excepcionales en la naturaleza.

Por otra parte, en diversas ocasiones se ha optado por integrar un stock de reproductores a partir de individuos de diversas poblaciones con la finalidad de incrementar la variabilidad genética intra-poblacional. Esta práctica se apoya en los siguientes argumentos:

En el corto plazo se puede observar cierta relación entre la variabilidad genética del stock y su desempeño en el cultivo. Esta relación aunque no es sistemática, se presenta a menudo en acuicultura. Por ejemplo, se puede citar la relación entre heterocigocidad y la tasa de crecimiento en poblaciones de trucha (Ferguson *et al.*, 1985).

En el largo plazo la capacidad de respuesta de una población a una perturbación ambiental esta clásicamente ligada a su nivel de variabilidad genética. Así, la domesticación, con o sin selección adicional de ciertos rasgos, constituye

una importante prueba de adaptación, cuyo resultado final dependerá parcialmente de la diversidad genética inicial de la población.

Especies amenazadas o en peligro

La necesidad de conservar los recursos genéticos de los peces ha sido una prioridad para los científicos relacionados con las pesquerías y para los acuicultores desde hace tiempo, especialmente en lo relativo a la sobre-explotación de las poblaciones naturales, a los efectos de las alteraciones a gran escala de los sistemas fluviales y a la domesticación de las especies a través de la acuicultura. El Simposio Mundial de la FAO sobre el Cultivo de Peces en Estanques de Aguas Tropicales (Roma, 1966) dio énfasis a la importancia de la selección genética y de la hibridación en el mejoramiento de las variedades de peces utilizadas para cultivo e hizo notar los problemas de la excesiva endogamia en las carpas cultivadas. La necesidad de un sistema internacional para la designación de líneas y stocks fue entonces reconocida. En 1971, la FAO estableció un grupo de trabajo *ad hoc* sobre los recursos genéticos de los peces, que recapituló los progresos logrados en la selección genética en la cría de peces, identificó áreas de prioridad para la investigación e hizo varias recomen-

daciones para la conservación de los recursos genéticos. Se hicieron sugerencias sobre la urgente necesidad de encontrar métodos para lograr lo anterior, sobre la preparación de un catálogo de los recursos genéticos en peligro de extinción de uso potencial en la acuicultura y sobre la conveniencia de emprender una colecta de especies silvestres de uso potencial. La Conferencia Técnica de la FAO sobre la Acuicultura, efectuada en Kyoto, Japón, del 26 de mayo al 2 de junio de 1976, reafirmó la necesidad de mantener la diversidad genética de los stocks propagados artificialmente, haciendo notar que la transferencia indiscriminada de peces y moluscos en algunos casos había tenido efectos adversos sobre las poblaciones autóctonas e invitó a incrementar la investigación sobre la genética de los peces, ya que existía una seria falta de información sobre este tema, lo que dificultaba la formulación de programas de selección de cría. Por otra parte, la estabilidad de los sistemas ecológicos y el mantenimiento de la diversidad biológica (taxonómica) es un valor universalmente reconocido aunque a menudo se dé mayor prioridad a las consideraciones sociales y económicas. Un método importante para mantener la estabilidad y la diversidad es el mantenimiento de la adaptación de las especies, particularmente de los consumidores dominantes de altos niveles tróficos. La escasez o extinción de tales especies constitu-

ye una pérdida de recursos genéticos y representa un peligro para la integridad de los ecosistemas.

Considerando este contexto, resulta crucial retener tanta variación genética como sea posible para tener oportunidad de restaurar poblaciones de especies en peligro de extinción (Hendrick *et al.*, 1999). En efecto, muchas especies enfrentan una gran variedad de factores que amenazan a sus poblaciones con la extinción, y aún cuando estas amenazas se ven mitigadas, su persistencia en el largo plazo va a depender en gran parte de lograr evitar la degradación genética como resultado de una eventual depresión genética. De aquí la necesidad de incluir organismos silvestres para incrementar la variabilidad genética.

Manejo del lote de reproductores

La constitución de un lote de reproductores representa una gran ventaja, particularmente por que permite tratar de manera diferente a los juveniles que se prepararan como adultos reproductores del resto de la población que será destinada al cultivo. Esto implica proveer condiciones adecuadas no sólo de densidad, sino de alimentación e inclusive de suministro de hormonas. Por otra parte, se les puede dar un trato distinto

a los machos de las hembras, lo cual es sumamente importante ya que las hembras requieren más cuidado y una dieta especial, debido a que de su fisiología dependerá la formación de las reservas del embrión y por ende la sobrevivencia de las larvas (Badger, 2004). Al mismo tiempo, en su conjunto, a los reproductores mantenidos en cautiverio se les debe proveer con una dieta que no sólo resulte adecuada para satisfacer sus demandas metabólicas, sino para prepararlos para el proceso reproductivo.

Efectos negativos de la domesticación

En el caso del catán se observaron diferencias en el desempeño de los juveniles mantenidos en la granja en estanquería rústica con respecto a aquellos mantenidos en el Laboratorio de Ecofisiología (Fig. 5.21). Tal diferencia no se puede explicar únicamente en base al origen de los organismos, ya que independientemente de ser silvestres o cultivados los juveniles mantenidos en la granja tuvieron un mayor incremento ponderal y maduraron con más frecuencia. Las causas probables son el alimento, ya que a pesar de tratarse en ambos casos de calamar y pescado frescos, el origen de estos difirió. A este respecto, existen antecedentes que señalan que en el caso particular de los moluscos, y especialmente

el calamar, debido a su capacidad de bioacumulación de nutrientes, su composición química a nivel corporal se vería reflejada de acuerdo al área en donde habitan y por ende en donde son capturados (Mendoza *et al.*, 1997). A esto cabe agregar un elemento fundamental que es la pro-

ductividad primaria. En efecto, son del conocimiento común las bondades del zoo y fitoplancton con respecto al aporte de elementos esenciales para el proceso de maduración, como son ácidos grasos esenciales y hormonas (Gallardo *et al.*, 2006).



Figura 5.21.- Catanes juveniles obtenidos y criados en el Laboratorio de Ecofisiología de la UANL.

Otra posible causa es la estructura de los tanques. Los catanes al ser organismos que permanecen inmóviles en fango, posiblemente no encontraron condiciones adecuadas en los tanques de concreto del laboratorio para su óptimo crecimiento. Finalmente, no se puede descartar la densidad, la cual por el tamaño de los estanques siempre fue menor que en el caso de la granja.

En el mismo sentido, existen asimismo, argumentos en contra de la formación de lotes de reproductores en cautiverio. Así, se ha considerado que los peces cultivados en condiciones de cautiverio son particularmente susceptibles a desarrollar deformidades (Brown y Nuñez, 1998). Una de las razones es el incremento en la supervivencia de los individuos poco adaptados, física o comportamentalmente, los que estarían sujetos a enfermedades o predación bajo condiciones normales (Sinderman, 1988). Igualmente, algunas deformidades suelen notarse en cautiverio debido a la inestabilidad inherente de los sistemas artificiales en donde se llevan a cabo los cultivos (Wolters, 1993). Los sistemas de cultivo artificiales pueden exponer a las larvas en desarrollo a una variedad de condiciones ambientales subóptimas, muchas de las cuales están asociadas con la inducción de deformidades. Esto a pesar de que en la mayor parte de los laboratorios de larvicultura están diseñados para replicar las condiciones del medio ambiente natural, no obstan-

te la mayor parte de los parámetros está basada en ensayo y error o en suposiciones de los requerimientos físicos de la especie en particular. De tal manera que en la mayoría de las operaciones comerciales se trata de mantener condiciones físico-químicas constantes, cuando en realidad se requiere de regímenes variables, similares a los registrados en la naturaleza, para que se lleve a cabo un desarrollo adecuado (Sicard, 2007). Así, por ejemplo algunas larvas pelágicas llevan a cabo migraciones diurnas a profundidades considerables en la naturaleza (John y Kloppman, 1989), con la consecuente exposición a un aumento de la presión hidrostática indispensable para su desarrollo (Siebenaller, 1984). Por esta razón, el cultivo del halibut del Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) se lleva a cabo en silos de varios metros de profundidad en Noruega y Canadá.

Aún en sistemas de cultivo optimizados y presumiblemente bien balanceados pueden emerger problemas de deformidad después de varias generaciones si se ve comprometida la diversidad genotípica. Debido a la alta tasa de fecundidad de la mayor parte de las especies los cultivos reposan en solo un pequeño número de reproductores con características atractivas. Esto a menudo resulta en una carga o depresión genética (*inbreeding load* ó *inbreeding depression*). Esto implica la reducción de la variabilidad genética dentro

de una población al disminuir la heterocigocidad, ya sea por un aumento en la probabilidad de compartir genes parentales o a la pérdida de alelos a partir de una deriva génica aleatoria. Esto a su vez trae como consecuencia una reducción del valor fenotípico medio de uno o más rasgos con respecto a la capacidad de adaptación (Wang *et al.*, 2001). La depresión genética es a menudo más severa en rasgos relacionados con la adaptación que tienen muchos *loci* con efectos genéticos no aditivos. Típicamente, la supervivencia de los embriones y el desarrollo temprano son los más afectados (Keller y Waller, 2002), no obstante la depresión genética también afecta rasgos que se expresan más tarde como la longevidad (Oosterhout *et al.*, 2000).

La domesticación puede redundar en varias características que hacen no sólo diferentes a los peces criados en cautiverio, sino que en ocasiones incluso se tornan menos aptos para sobrevivir en la naturaleza, lo cual puede ser crítico si se vislumbran programas de repoblación. Por ejemplo, aquellos peces cultivados en altas densidades tendrán una relación edad/talla diferente a la de los silvestres, haciendo difícil o poco probable su reproducción con estos. Los peces cultivados también pueden diferir en el color o en la forma con los silvestres debido a factores nutrimentales y por lo general aquellos peces cultivados en con-

diciones artificiales serán incapaces de reconocer o evitar a sus predadores o competidores.

Los efectos de la domesticación pueden igualmente repercutir a nivel comportamental. Así por ejemplo aquellos peces a los que se les adiestra para obtener su alimento a voluntad a partir de alimentadores automáticos, se espera que estén menos adaptados para buscar alimento en la naturaleza.

Por otra parte, la ventaja de contar con una variabilidad suficiente desde el origen significa no tener que reintroducir continuamente individuos de esa población. Así, por ejemplo en el caso del turbot *Scophthalmus maximus*, varios individuos han tenido que ser introducidos repetidamente de Europa hacia China debido a la pérdida de “buenas” características (*e.g.* calidad de la carne, tasa de crecimiento) después de dos generaciones mantenidas en cautiverio, y la manifestación de “malas” características (*e.g.* maduración temprana y albinismo) (Liu *et al.*, 2003).

Inducción a la madurez sexual

A pesar de la existencia de algunas descripciones sobre la reproducción de los lepisostéidos, se conoce muy poco acerca de los aspectos básicos sobre los hábitos reproductivos de *A. spatula* (Bre-



der y Rosen, 1966). Hasta el momento, el cúmulo más importante de información acerca de los aspectos reproductivos de los catanes corresponde a las observaciones realizadas en el medio natural por diversos autores de los EEUU sobre varias de las especies de la familia y a los estudios realizados sobre el pejelagarto en Tabasco.

La inducción a la maduración sexual se puede lograr mediante dos tipos de estímulos: medioambientales y hormonales. La vía medioambiental permite la obtención de crías de mayor calidad, una mínima manipulación de los progenitores, bajas mortalidades y la independencia de inductores químicos (Bejerano *et al.*, 1997). Sin embargo requiere de una infraestructura especial para regular factores tales como el fotoperiodo y la temperatura, además de la necesidad de proporcionar una alimentación especial a los reproductores. Por otra parte, la inducción por medio de la manipulación hormonal ofrece múltiples ventajas, dentro de las cuales destacan la posibilidad de extender el ciclo reproductivo más allá de la temporada natu-

ral de reproducción, lo que repercute invariablemente sobre la producción de crías, permitiendo incrementar la flexibilidad para la programación de la producción de larvas sin necesidad de emprender modificaciones ambientales onerosas.

En efecto, debido a su facilidad de utilización y rápida respuesta, muchos investigadores han optado por la aplicación de diversos estímulos hormonales (Fig. 5.22), entre los que se encuentran: antiestrógenos (Citrato de Clomifeno, Tamoxifeno); antagonistas de la Dopamina (Pimozido), los cuales actúan a nivel del hipotálamo. También se han utilizado los GnRH (factores liberadores de gonadotropinas) y sus análogos (GnRH-a), que actúan a nivel de pituitaria; así mismo, se han utilizado estrógenos (17- β -estradiol) para inducir a la vitelogénesis. A nivel gonadal se han utilizado extractos de pituitaria de peces, para estimular la terminación de la vitelogénesis; progestágenos para inducir la maduración final del ovocito y prostaglandinas (PGF₂) para la inducción a la ovulación.



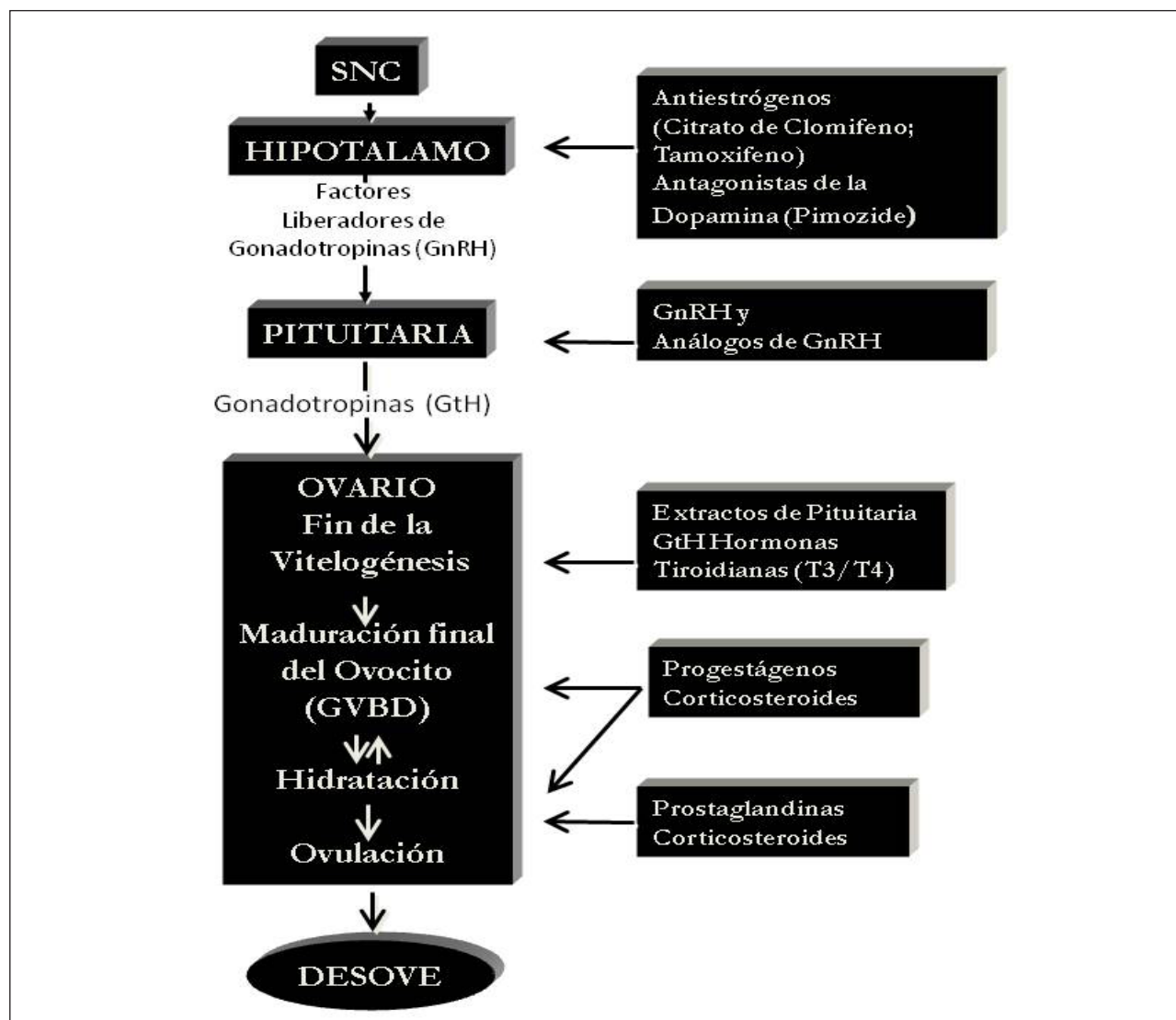


Figura 5.22. Diagrama esquemático describiendo las posibilidades de control hormonal en diferentes etapas de proceso reproductivo de las hembras de los peces.

Control medioambiental de la reproducción

Como en muchos vertebrados, los procesos reproductivos están controlados por ritmos biológicos endógenos, coordinados por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, el cual está influenciado por factores ambientales determinantes, como son la calidad del agua, disponibilidad de alimento y predación. Igualmente, existen otro tipo de factores que resultan condicionantes y dentro de estos se pueden considerar: el fotoperiodo, la temperatura y sus cambios direccionales, disponibilidad de substratos para el desove, feromonas, etc. (Redding y Patiño, 1993). Sin embargo, también algunos factores pueden actuar como estresores inhibiendo el proceso reproductivo (Reddy *et al.*, 1998).

Dentro del esquema general de integración de estos factores, los estímulos ambientales son inicialmente detectados por receptores localizados en los órganos sensoriales como los ojos, órganos olfatorios y glándula pineal; donde posteriormente, son interpretados por el sistema nervioso central en señales fisiológicas (hormonas) que provocan una respuesta en algún tejido específico del cuerpo (Patiño, 1997).

Control hormonal de la reproducción

El proceso reproductivo está regulado por las secreciones hormonales del hipotálamo y la hipófisis. Ésta última se encarga en particular de sintetizar y exportar las gonadotropinas (GtH), las cuales son hormonas estrechamente relacionadas con la reproducción de las hembras durante la vitelogénesis, maduración, ovulación y secreción de esteroides (Zanuy y Carrillo, 1987; Nagahama, *et al.*, 1993; Silverstein, *et al.*, 1999). La producción de la GtH por la hipófisis está controlada por sistemas de retroalimentación negativa y positiva relacionados con los niveles de secreción de la hormona, así como de sus activadores e inhibidores (Crim *et al.*, 1983).

La importancia de la hipófisis como mediadora del proceso reproductivo ha quedado de manifiesto en experimentos en los cuales al realizar la ablación de esta glándula, se produce regresión de las gónadas, decremento de la gametogénesis e inhibición de la esteroidogénesis al nivel de la gónada. Igualmente, numerosos estudios han correlacionado el incremento en la concentración de las GtH en las gónadas y la hipófisis con el desarrollo gonadal, maduración en hembras y machos, así como en el desove de muchas especies de peces. Dentro de este contexto, destaca el hecho de que en un gran número de espe-

cies, al ser tratadas con moléculas emparentadas con las gonadotropinas (GtH-like), se promueve el proceso reproductivo, particularmente durante periodos en los que los peces están reprimidos por los factores ambientales que pueden inclusive llevarlos al desove. De igual forma, las gónadas participan activamente en la maduración sexual de los peces, así tenemos que los testículos y ovarios son capaces de sintetizar una gran variedad de esteroides, los cuales regulan diversas funciones, incluyendo la gametogénesis, las actividades secretorias del hipotálamo y la hipófisis, la expresión de caracteres sexuales secundarios y la conducta (Fostier *et al.*, 1983).

Existe cierta controversia acerca de la influencia de las gonadotropinas (GtH) sobre la previtelogénesis, ya sea *per se* o a través de su influencia sobre la esteroideogénesis ovárica (Verreth, *et al.*, 1987). Sin embargo, está bien claro que la vitelogénesis es totalmente dependiente de la secreción gonadotropa de la hipófisis (Ng y Idler, 1983; Peter, 1983; Lam, 1985; Zanuy y Carrillo, 1987; Sherwood, 1987).

Actualmente, se ha aceptado la existencia de dos gonadotropinas hipofisiarias con distintas funciones en los teleósteos (Peter, 1993; Powell, *et al.*, 1993). Los dos tipos de GtH se conocen como GtH-I y GtH-II, denominadas así tanto por sus características estructurales, como por su modo de acción (Swanson, 1991 en Patiño, 1997). La

GtH-I es estructural y funcionalmente comparable a la hormona folículo estimulante (FSH) de los mamíferos y se destaca por presentar niveles de concentración predominantes en la hipófisis y sangre de los peces que presentan un crecimiento acelerado de las gónadas y gametogénesis activa. En contraste la GtH-II, al igual que la hormona leutinizante (LH) es predominante, principalmente, durante la maduración final de las gónadas y el desove. La acción de ambas hormonas está mediada por receptores ubicados en la membrana de los ovocitos (Redding y Patiño, 1993). A estas hormonas también se les denominan como GtH vitelogénica y GtH madurativa (Zanuy y Carrillo, 1987). La hormona madurativa, estimula la esteroidogénesis folicular y la hormona vitelogénica permite la entrada de la VTG al interior del ovocito (Zanuy y Carrillo, 1985). Sin embargo, la presencia de la hormona madurativa también es necesaria para que se inicien los procesos vitelogénicos (Verreth, *et al.*, 1987).

Los factores liberadores de gonadotropinas (GnRH) de origen hipotalámico, tienen como principal función la estimulación de la síntesis y liberación de gonadotropinas (Nagahama, 1987), mientras que los factores inhibidores (GnRIF), actúan a nivel de la pituitaria, bloqueando la liberación espontánea de las gonadotropinas (Peter, 1983). Estas moléculas están compuestas por una cadena de 10 aminoácidos (Peter, 1983; Zohar,

1998); y hasta el momento existen varias formas que han sido identificadas en peces, como la [Trp7,Leu8]-GnRH de salmón o sGnRH y la [His5,Trp7,Leu8]-GnRH de pollo o cGnRH (Yaron, 1995).

En el ovario, la teca y la granulosa son los principales centros de producción de esteroides y sus productos son: 17β -estradiol, estrona, 17α , 20β , 21-trihidroxi-4-pregnen-3-ona y además todos los esteroides producidos por el testículo, dependiendo de la especie y estado de desarrollo (Fostier *et al.*, 1983). Los esteroides tanto en machos como en hembras se pueden conjugar en glucoronoides o con metabolitos inactivos, de tal manera que pueden estar disponibles para su reactivación, aunque se cree que pueden tener una función como feromonas en la comunicación previa y durante el cortejo reproductivo y el desove (Redding y Patiño, 1993).

Cuando los niveles adecuados de GtH son alcanzados, la vesícula germinativa migra hacia la periferia y las células de la teca y granulosa del folículo son estimuladas para secretar un esteroide (17α 20β dihidroxiprogesterona) (Maturative Inducing Steroid -MIS-) el cual induce la maduración ovocitaria y sus eventos asociados (Nagahama, 1987).

Por otra parte, los antiestrógenos (citrate de clomifeno, tamoxifeno), antagonistas de la dopamina (pimozido) y los análogos GnRH pueden

estimular la secreción de GtH y la ovulación en peces mediante una retroalimentación negativa. Mientras que los corticosteroides, inducen la maduración y la ovulación, siendo el cortisol, la cortisona y la corticosterona los más comúnmente utilizados. La acción de estas hormonas se puede incrementar mediante la inyección de GtH y de extractos de pituitaria (Lam, 1985). Finalmente, las prostaglandinas pueden ser utilizadas como mediadores de la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación (Lam, 1985).

Por otra parte, en el caso de los machos, las células de Leydig son los sitios de mayor síntesis de andrógenos en el testículo, sin embargo las células de Sertoli y otros tipos celulares parecen también tener una función esteroidogénica importante. La mayor parte de los andrógenos producidos en el tejido testicular varía en cada especie y en función de la etapa de desarrollo, pero en general se han detectado: testosterona, 11-ketotestosterona y androstenediona (Fostier *et al.*, 1983), aunque en algunas especies el testículo también pueden producir progesterona, 17α -hidroxi-4-pregnen-3-ona, 17α , 20β -dihidroxi-4-pregnen-3-ona, 11-progesterona y pequeñas cantidades de estrógenos (Barry *et al.*, 1993 en Redding y Patiño, 1993).

El efecto de los esteroides es muy diverso y está mediado por la interacción con receptores de alta afinidad localizados en el citoplasma o

en la cromatina nuclear de las células blanco que al interactuar con estos cambian las tasas transcripcionales de genes específicos, induciendo la respuesta a nivel de la célula (Redding y Patiño, 1993).

Inducción a la maduración sexual en lepisostéidos

Dentro de los escasos estudios que se han llevado a cabo para la inducción a la madurez sexual y desove de los lepisostéidos, vale la pena mencionar los realizados por León *et al.*, (1978) con el manjuarí (*A. tristoechus*). Estos autores reportan la ausencia de eficacia de extractos hipofisarios de carpa, así como de un protocolo en el que se utilizaron en conjunto gonadotropina coriónica humana (GCH) e hipófisis de carpa (150 UI de GCH y al día siguiente 100 UI y 6 mg de hipófisis de carpa/hembra de 1,500 g). Sin embargo, lograron tener éxito al ensayar inducciones tanto en machos como en hembras con hipófisis de manjuarí (hembras de 3 - 3.5 kg inyectadas con 6 mg de hipófisis y machos de 1.6 - 2 kg con 4.5 mg), los organismos fueron inyectados 35 días después, nuevamente con 3mg (hembras y machos). En este caso, se seleccionaron los animales por el abultamiento del

abdomen y por su papila genital más coloreada y pronunciada. Se obtuvieron desoves con un alto porcentaje de eclosión (más de 85%). No obstante, se reporta igualmente un intento fallido de inducción, el cual se atribuye una mala calidad de la hipófisis, ya que esta llevaba años almacenada.

Por otra parte, Pérez-Sánchez (1995) llevó a cabo ensayos de inducción con pejelagarto utilizando dos concentraciones de GCH (2500 y 3500 UI por kg de peso). La dosis fue fraccionada, administrándola en 10 aplicaciones, una cada 48 hrs., vía intraperitoneal. La GCH tuvo un efecto positivo sobre los machos, los cuales alcanzaron un estadio de desarrollo más avanzado con respecto al control. Sin embargo, las dosis usadas no fueron suficientes para llevar a los organismos hasta la espermiación. Por otra parte, el efecto de la hormona se vio reducido o anulado de acuerdo a las condiciones como pudo ser constatado en organismos sacrificados 30 días después de la última inyección. Esto se confirmó por las observaciones de Bejerano *et al.*, (1997), quienes señalaron que la inducción debía llevarse a cabo durante la temporada de desove natural para asegurar las mejores condiciones ambientales. La maduración y el desove pudieron ser inducidos con OvaprimTM a razón de 0.5 mL/kg de hembra, y los machos no requi-



rieron ser inyectados. Muchos de los esfuerzos en el caso de la reproducción del pejelagarto se han dirigido a simular las condiciones de las áreas naturales de desove para de esta manera provocar la reproducción de la especie en cautiverio (Contreras *et al.*, 1989). Para este efecto se habilitó una zona pantanosa que presentaba vegetación típica de las zonas de desove. Esto permitió la obtención de desoves viables, demostrando así que los reproductores introducidos respondieron en poco tiempo a los estímulos del medio. Actualmente la vegetación sumergida ha sido sustituida por sustratos artificiales más manejables como la rafia y los estanques han sido reemplazados por pequeños tanques de 1 a 2 m³ aprovechando el reducido tamaño de los progenitores.

Finalmente, para el caso del catán, sólo se habían reportado inducciones exitosas con ejemplares de *A. spatula* utilizando GCH (Colunga-Almazan, 1996), sin embargo las crías obtenidas no se desarrollaron bien y se desconoce si esto fue por cuestiones de manejo o bien por la calidad de las mismas.

Como se puede observar, los trabajos que se habían realizado hasta ese momento en relación a la reproducción del catán habían sido incipientes, limitándose únicamente al mantenimiento de reproductores en cautiverio, razón

por la cual la obtención de crías se había venido restringiendo a una sola semana durante el año, lo cual evidentemente representaba un cuello de botella para su cultivo. De aquí, surgió la necesidad de ejercer un mayor control sobre la reproducción de los adultos, y considerando que la maduración gonadal está regida por el sistema endócrino, la manipulación hormonal venía a representar la vía más directa para el desarrollo de una reserva de crías.

Los primeros intentos de inducción con el lote de reproductores recién constituido con juveniles silvestres, en Julio del 2003, resultaron infructuosos. Esto muy probablemente fue debido a la edad de los reproductores. En efecto, el promedio de edad de los juveniles que se prepararon como reproductores era en ese momento de 3 años, lo cual contrasta ampliamente con el promedio de edad de las hembras del Centro Acuícola Tancol que en ese mismo periodo era de aproximadamente 15 años, con algunas de las hembras entre la población de hasta treinta y cinco años, con las cuales se habían alcanzado producciones de hasta 400,000 larvas en una temporada natural. En este sentido, y a pesar de la carencia de datos para el catán en particular, existen reportes para otros lepisostéidos (*L. osseus*) que, basados en observaciones del medio natural, señalan que la edad en la que se obser-



van las primeras señales reproductivas de los machos es de 3 a 4 años, mientras que las hembras maduran hasta los 6 años (Netch y Witt, 1962). Por otra parte, existen registros de hembras en el medio natural de hasta 52 años, aunque se desconoce su viabilidad reproductiva (Ferrara, 2001). De la misma manera, se puede interpretar la carencia de efecto de los tratamientos aplicados a los jóvenes reproductores obtenidos de crías de cultivo en las instalaciones de la UANL/FCB en el 2003 y 2004. Aunque en este caso, se vino a sumar el efecto de las bajas temperaturas en esos años en Monterrey (21-22°C) y el reducido espacio en el que fueron mantenidos. Lo anterior contribuye a explicar el éxito que se obtuvo en otro bioensayo llevado a cabo en Octubre del 2003 en la Granja el Huasteco, Tamaulipas, el cual se realizó con ejemplares de aproximadamente 10 años (una hembra de 18 Kg y 1.25 m de longitud y machos con un peso promedio de 8.5 Kg y 1.12 m) que fueron capturadas en el Estado de San Luis Potosí. De la misma manera, se puede explicar el éxito de la inducción obtenida en la misma fecha en el Centro Acuícola Tancol.

El éxito de estas inducciones fuera de temporada es remarcable, particularmente por que en el mes de Octubre del 2003 se alcanzaron apenas 21°C en el Centro Acuícola Tancol y 23°C en la Granja el Huasteco. Esto es notable, ya que de

acuerdo a lo que actualmente se conoce, los lepisostéidos desovan típicamente durante la primavera y principios del verano (Simon y Wallus, 1989). Durante este tiempo el desove tiene lugar de manera intermitente, por lo que se considera que solo son 6 o 7 días efectivos durante la temporada (Dean, 1895).

El éxito obtenido en los desoves subsecuentes inducidos con los nuevos lotes de reproductores formados (Junio, 2005, Mayo, 2006) se explica por las mismas razones: edad de los reproductores, alimentación, densidad de los reproductores y particularmente eficacia de las hormonas utilizadas. Sobre estos bioensayos vale la pena mencionar lo incipiente del desove y la ausencia de fertilización de uno inducido en Julio 2006. Esto indica que la cercanía de la inducción del desove precedente (Mayo, 2006), no permitió la regeneración de las gónadas de los reproductores en tan breve tiempo. Por otra parte, se presentó cierta variación en los porcentajes de eclosión, lo que se puede explicar en función de la variabilidad de las edades y tallas de los reproductores, ya que para la constitución de los lotes de reproductores se incluyeron tanto organismos cultivados como silvestres, y la edad de estos últimos es incierta. Igualmente, no se deben descartar las consecuencias de la manipulación excesiva durante la aplicación de las diversas inyecciones. A esto se pue-

de agregar el factor genético, el cual se discute en otro capítulo.

El éxito reproductivo logrado es sin duda producto de las hormonas utilizadas, ya que se pudo notar que tanto los testigos inyectados con suero fisiológico como los no inyectados nunca lograron desovar. Dentro de este contexto, las hormonas que mejor resultado dieron fueron la fórmula comercial Ovaprim y los factores liberadores de gonadotropinas (GnR).

La eficacia probada del Ovaprim ha sido demostrada en diversas especies (Pandey *et al.*, 1998; Cheah *et al.*, 2000; Kather Haniffa and Sridhar, 2002) y su actividad se explica en base a su composición. En efecto, a la gran potencia de los análogos sintéticos de factores liberadores de gonadotropinas, se viene a sumar el enorme efecto del domperidone, un eficaz bloqueador de dopamina, hormona que al no poder bloquear la síntesis y liberación de los factores liberadores endógenos, permitiría que estos fluyan internamente sumándose a los suministrados en la misma preparación (Nandeeshia *et al.*, 1990, Goudie *et al.*, 1992).

Adicionalmente, cabe señalar que la dosis suministrada (0.5 ml/Kg de masa corporal) cae dentro del rango promedio reportado por otros autores 0.3 ml/kg y 0.6 ml/kg (Nandeeshia *et al.*, 1993; Francis, 1996; Haniffa *et al.*, 2000). Sin em-

bargo, el análogo sintético utilizado (Des-Ala6-LHRHa) se reveló eficaz aún comparado con el Ovaprim, como se pudo constatar en un bioensayo llevado a cabo en el Centro Acuícola Tancol en el 2003.

A este respecto, cabe mencionar que se han aislado varias formas de GnRH en peces: sGnRh del salmón *Onchorhynchus keta* (Sherwood *et al.*, 1983), 1GnRh I y la 1GnRH II de la lamprea *Petromyzon marinus* (Sherwood *et al.*, 1986), cfGnRH del pez gato *Clarias macrocephalus*, dfGnRH de *Squalus acanthias* (Lovejoy, Fischer, y Ngamvongchon 1992), sbGnRH de la brema *Sparus aurata* (Powell, Reska-Skinner, y Prakash 1994), pjGnRH del pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Montaner, Park, y Fischer 2001), de *Coregonus cupleaformis* (Adams, Vickers, y Warby 2002) y en pleuronectiformes que es muy similar al de la brema y el salmón (Weltzien *et al.*, 2004). En general, las hormonas liberadoras hipotalámicas de peces óseos son deca péptidos y la secuencia de los aminoácidos es muy parecida entre ellos y a los de otros vertebrados (tiburones, reptiles y aves y difieren con anfibios y mamíferos). Algunos autores mencionan que es debido a que estas hormonas tienen una actividad biológica similar (Breton *et al.*, 1984; Breton, Weil, y Jalabert 1972; Eckert, Randal, y Augustine G. 1989), lo que indica que existe poca especificidad por parte de éstas. Se

han sintetizado análogos estructurales de estas hormonas liberadoras con un efecto mucho más potente que las originales (análogos superactivos).

La selección del Des-Ala6-LHRHa en particular se estableció en el modelo fisiológico experimental basado en el pejelagarto (*A. tropicus*) (Hernández-Vidal, 2002). La carencia de desoves en los organismos de los grupos control valida ampliamente estos resultados.

La efectividad de estos análogos de GnRH ha sido demostrada en varias especies ya que una sola dosis de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de LHRH ha permitido obtener hasta un 92% de eficiencia en la ovulación en *Microgogonias undulatus* (Gwo *et al.*, 1993). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Brzuska y Adamek (1999) en *Silurus glanis* quienes obtuvieron una eficiencia de ovulación del 100% al administrar 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Des-Gly10-LHRHa combinada con 10mg/kg de pimizido y del 80% con Ovaprim (0.33 mL/kg). Una ventaja adicional es que generalmente sólo se requiere una dosis con respecto a otros métodos como la hipofisación o el uso de GCH, la cual además a través de su uso repetido provoca resistencia antigénica. Estos últimos métodos, generalmente requieren más de una inyección (Drori *et al.*, 1994; Kucharczyk *et al.*, 1997;) incrementando el manejo de ejemplares y el esfuerzo cuando son grupos numerosos de reproductores; o bien, sólo son efectivos cuando los ovocitos han iniciado madura-

ción (Weber *et al.*, 2000).

No obstante, la aplicación de estimuladores de desove no siempre produce resultados satisfactorios, así por ejemplo, Silverstein *et al.*, (1999) observaron que la tasa de fertilización en *Ictalurus punctatus* fue ligeramente mayor cuando al aplicar LHRH, comparada con el control, aunque estadísticamente no hubo diferencias significativas. Por otro lado, Ako *et al.*, (1994) encontraron que en *Chanos chanos* la inducción con el análogo Des-Gly10-LHRHa produjo una respuesta contraria, ya que las tasas de eclosión de 37.3% fueron inferiores a las de los desoves naturales (> 91%). Algo similar ocurrió en el caso de *Salmo trutta* en donde al acelerar el desove administrando análogos se redujo substancialmente la tasa de fertilización, debido probablemente a que los ovocitos fueron ovulados sin completar la maduración (Mylonas *et al.*, 1992).

Considerando lo anterior, la temporada de desoves de *A. spatula* en cautiverio puede ampliarse a casi seis meses (Mayo-Octubre) mediante el uso conjunto de niveles de VTG y de las inyecciones de los análogos superactivos. Esto ha permitido obtener crías de buena calidad con alta supervivencia durante fases fuera de la temporada reproductiva en las que no ocurre el desove de forma natural.

En la Tabla 5.2. se presenta un resumen de los ensayos de inducción en diferentes especies de lepisostéidos (Mendoza *et al.*, 2008).

Tabla 5.2.- Hormonas homólogas y heterólogas utilizadas para inducir la maduración y desove en especies de *Atractosteus*.

HORMONAS		ESPECIES		
	<i>Atractosteus spatula</i>	<i>Atractosteus tristoechus</i>	<i>Atractosteus tropicus</i>	
Gonadotropinas Heterólogas	Gonadotropina Coriónica Humana (+) pero con baja sobrevivencia (Colunga, 1996) SG100 (-) (González, 2007)*	Gonadotropina Coriónica Humana (-) Hipófisis de carpa (-) (León et al., 1978).	Gonadotropina Coriónica Humana (-) (Pejerano et al., 1997) (-) Pérez-Sánchez, 1995) Se registro maduración gonadal pero no espermiación.	
Gonadotropinas Homólogas		(+) Después de 35 días (León et al., 1978).		
17 β -Estradiol			(-) (Hernández, 2002)	
Ovaprim ^{MR}	(+) fuera de la temporada regular de desove, de abril a agosto (González, 2007)		(-) (Pérez-Sánchez, 1995) (+) (Hernández, 2002)	
Des-Gly10-LHRHe	(+) (Hernández, 2007)		(+) Hernández, 2002	
D-Ala ⁶ -LHREa	(+) fuera de la temporada regular de desove, Octubre (González, 2007)	LHRHa (+) Comabella et al., 2006	(+) (Hernández, 2002) (+) (Hernández y Contreras, 2005)	
Implantes	Ovaprim ^{MR} (-) (González, 2007)		GnRH α (+) (Hernández et al., 2007)	

El signo mas (+) indica resultados positivos en la inducción a la maduración y desove.

El signo de menos (-) indica resultados negativos en la inducción a la maduración y al desove.

* Las inducciones reportadas por González (2007) se realizaron del 2003 al 2006.

* Las inducciones reportadas por León et al., (1978) fueron realizadas de 1971 a 1973.

* Las inducciones reportadas por Pérez-Sánchez (1995) fueron realizadas de 1994 a 1995.



CAPÍTULO 6

EFFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN EN LA FISIOLÓGÍA DEL CATÁN

JULIO CRUZ¹, CARLOS AGUILERA¹ Y ROBERTO MENDOZA¹,

¹. Grupo Ecofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

Introducción

La República Mexicana cuenta con aproximadamente 11,592.77 km de litoral, y 1,567,300 hectáreas están cubiertas por estuarios, correspondiendo 892,800 ha en el Pacífico y 674,500 ha en el Golfo de México (INEGI, 1984; Contreras, 1993). Dentro de los océanos y mares del país, el Golfo de México destaca por su gran productividad (Gore, 1992). Datos recientes muestran que las

escorrentías de los ríos y la mezcla de agua provocada por el viento son dos de los principales factores ambientales que afectan la productividad de las poblaciones de peces en las áreas tropicales y subtropicales tales como el Golfo de México (Lloret *et al.*, 2006). Al mismo tiempo, el Golfo de México es una de las principales regiones productoras de petróleo del mundo, lo que en repetidas ocasiones ha generado consecuencias am-

bientales negativas debido al vertido de los desechos de esta industria (Hanna & Blough, 2000), así como por el resultado de sus actividades secundarias principalmente la refinación, el transporte y el almacenamiento.

La productividad biológica de las zonas costeras es compartida con actividades de la industria petrolera en algunas regiones del mundo; tal es el caso de México, donde la producción de petróleo en la plataforma continental alcanza volúmenes considerables (San Martín, 2006). Por ello, las pesquerías del área han estado sujetas a una contaminación crónica, así como a derrames de petróleo intermitentes por muchos años. Los ecosistemas acuáticos del interior de México igualmente se han visto continuamente afectados por diversos contaminantes producidos por actividades humanas, tales como la agricultura y procesos industriales, por lo cual algunos compuestos químicos como pesticidas organoclorados, organofosforados y metales pesados, se han registrado en cuerpos de agua dulce (Volke y Velasco, 2002).

En muchas regiones de México, y Estados Unidos, el catán representa un importante recurso pesquero y alimenticio, además de ser utilizado en la pesca deportiva (Mendoza *et al.*, 2008). Debido a sus hábitos alimenticios como depredadores y carroñeros, ayuda a mantener el balance

ecológico en los ecosistemas que habita. Es importante resaltar que el catán es una especie pan-crónica, que ha sobrevivido con pocos cambios a través de millones de años, lo que significa que posee características de resistencia y adaptabilidad a diversas condiciones ambientales, lo cual puede ser aprovechado para ser utilizada como especie monitora de contaminación ambiental, tanto en ecosistemas de agua dulce como de agua salobre (Aguilera *et al.*, 2010).

Contaminantes como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), bifénilos policlorinados (BPCs), plaguicidas organofosforados, carbamatos y otros compuestos con características de disruptores endócrinos (compuestos capaces de causar una disrupción del sistema de control endócrino reproductivo en organismos acuáticos o terrestres) han sido localizados en muchos ecosistemas acuáticos nacionales como producto de las actividades urbanas, agrícolas e industriales. Este tipo de compuestos pueden ser absorbidos por los organismos acuáticos de forma directa a través de las branquias o piel, por ingestión de partículas suspendidas o al consumir alimento contaminado en una cadena trófica (biomagnificación) (Corbella, 1998). Las moléculas que constituyen estos compuestos son altamente lipofílicas, por lo que pueden penetrar fácilmente las células. Los efectos iniciales de los xenobióticos (compuestos

externos que alteran la fisiología de los organismos) al entrar al organismo se producen al interaccionar con moléculas endógenas y pueden ser divididos en tres grupos: a) los xenobióticos pertenecientes al primer grupo son compuestos hidrófobos y pueden ser secuestrados y neutralizados en la fracción lipídica o grasa de los organismos acuáticos o terrestres; b) los xenobióticos del segundo grupo, pueden unirse específicamente a algunas moléculas celulares, por ejemplo el DDT se puede unir a los receptores estrogénicos y producir efectos feminizantes en juveniles y machos (Harrison *et al.*, 1995; Kupfer, 1995; Gimeno *et al.*, 1996); c) en el tercer grupo, los xenobióticos pueden interactuar con enzimas de detoxificación o biotransformación. Estas enzimas habitualmente metabolizan los contaminantes convirtiéndolos en compuestos hidrofílicos no reactivos, los que son más fáciles de excretar, o bien pueden convertirlos en metabolitos reactivos, los que pueden ser más tóxicos que los compuestos originales (Hayes *et al.*, 2005).

Con la finalidad de evaluar los efectos que tienen los contaminantes en los organismos se utilizan indicadores biológicos, los cuales se definen como medidas de fluidos corporales, células, tejidos u otras variables bióticas que indican la presencia y magnitud de una respuesta ocasionada por un estresor. Los sistemas bioquímicos y gené-

uticos de homeostasis en peces pueden variar en cuestión de minutos u horas en respuesta al estímulo de un estresor, por lo tanto, estos indicadores poseen una alta relevancia toxicológica. De aquí, que las tecnologías genómicas y proteómicas hayan adquirido un gran interés para los toxicólogos ambientales, debido al gran potencial que tienen para identificar los modos de acción de los xenobióticos, así como herramientas en la evaluación del riesgo para los ecosistemas acuáticos (Corbella, 1998; San Martín, 2006). Por otra parte, los métodos inmunológicos son procedimientos que pueden utilizarse como herramientas analíticas, métodos cualitativos de *screening* (para detectar presencia o ausencia de xenobióticos), o como procedimientos cuantitativos fiables. La especificidad de la interacción antígeno-anticuerpo provee una técnica altamente sensible. Estas características le confieren a los métodos inmunológicos una gran ventaja al ser utilizados en la evaluación de bioindicadores de contaminación en organismos acuáticos (Romano, 1999). Considerando lo anterior, es evidente la necesidad de realizar estudios para evaluar técnicas bioquímicas, genéticas e inmunológicas, que permitan detectar e incluso predecir los efectos de diversos contaminantes en la fauna y flora de los sistemas lagunares costeros y de agua dulce locales.

Especies centinela para el monitoreo ambiental

Los peces presentan la mayor diversidad dentro de los vertebrados, por lo cual varias de las especies cumplen con los requisitos para ser utilizadas como centinelas en el análisis de bioindicadores. Las especies son seleccionadas principalmente por su fácil cultivo, relevancia ecológica y ocasionalmente por su importancia económica. Sin embargo, un rango mucho menor de especies ha sido empleada en análisis de toxicidad durante sus ciclos de vida completos o parciales, porque los disruptores endócrinos ocasionan principalmente efectos subletales a largo plazo y en menor medida efectos agudos (Ankley y Johnson, 2004). Algunas especies como la trucha arcoiris no han sido utilizadas para análisis durante el ciclo de vida completo o parcial, debido al tiempo que tardan en alcanzar su madurez y a su gran tamaño. En contraste, peces pequeños de agua dulce tales como el pez cebra (*Danio rerio*) o el medaka (*Oryzias latipes*), ofrecen ventajas prácticas para realizar experimentos a nivel de laboratorio. Sin embargo, su biología es muy diferente a la de especies silvestres, las que a menudo poseen ciclos de vida y tiempos de maduración sexual más largos. Los disruptores endócrinos pueden mostrar efectos moleculares idénticos en dos especies, pero debido a las particularidades anatómicas y fisiológicas de cada especie los efectos fisiológi-

cos, morfológicos o respuestas biológicas serán necesariamente diferentes. Por ejemplo, los xenoestrógenos pueden inducir la síntesis de vitelogenina en los peces cebra (*Danio rerio*) y medaka (*Oryzias latipes*), y llegan a ocasionar la formación de organismos intersexuados en medaka pero no en los peces cebra (Gray *et al.*, 1998; Örn *et al.*, 2003; Seki *et al.*, 2002; van der Ven *et al.*, 2003). De forma similar la exposición a etinilestradiol en la sardina de cabeza plana (*Pimephales promelas*) genera efectos diferentes a los observados en los peces cebra (*Danio rerio*), así en éstos últimos resulta en la inhibición hasta en un 100% de la reproducción ocasionada por una inhibición del desarrollo testicular (Fenske *et al.*, 2004), mientras que en la sardina de cabeza plana el efecto resultante es la feminización completa (Länge *et al.*, 2001).

Igualmente, la extrapolación de los efectos cualitativos de xenobióticos entre especies de peces es un problema, de la misma manera que la extrapolación de los efectos cuantitativos de diferentes concentraciones. Las especies de peces responden a diferentes dosis de estimulación, lo cual refleja diferencias en su fisiología básica (sensibilidad de sus receptores y capacidad de síntesis), por ejemplo, la trucha arcoiris puede producir cientos de miligramos de vitelogenina en respuesta a la exposición a un compuesto estrogénico, mientras que la carpa sólo produce

cientos de microgramos al ser expuesta a la misma dosis de estrogénico (Tyler *et al.*, 1998). Considerando este contexto resulta importante conocer el efecto de diversos xenobióticos en la fisiología de especies silvestres con ciclos reproductivos largos, que permitan un mejor entendimiento de sus diversas interacciones.

Biological Indicators of Watershed Health

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY

Search: © All EPA © This Area [Go]

You are here: EPA Home » Biological Indicators of Watershed Health » Indicator Species » Fish » Sunfish

Gars (Lepisosteidae)

With a toothy maw and slender body, gars communicate "predator". This family is represented by just two genera and five species in the United States, including one of America's largest fishes, the freshwater alligator gar, which can reach up to nine feet in length and weigh nearly 300 pounds! This gigantic predator is known to feed on fish, crabs, turtles, ducks and even small mammals.

Family Level Identifiers (see Fig. 1):

- Body elongate.
- Covered with diamond-shaped (ganoid) scales.
- Long and narrow snout.
- Dorsal and anal fin set posteriorly.
- More - [tips about genus identification](#).

Habitat:

Gars prefer sluggish or still waters with good clarity and submersed vegetation. They are perhaps most common in large rivers (sluggish reaches), wetlands, oxbow lakes and coastal marshes.

Pollution Tolerance:

Table 1. Tolerance designations for selected gar species.

Species Name	Common Name	Pollution Tolerance		Habitat Disturbance	
		P	M	H	D
<i>Lepisosteus oculatus</i>	Spotted Gar	M		MT	
<i>Lepisosteus osseus</i>	Longnose Gar	M		T	
<i>Lepisosteus platostomus</i>	Shortnose Gar	M		MT	
<i>Lepisosteus platyrhincus</i>	Florida Gar	M		NR	
<i>Lepisosteus spatula</i>	Alligator Gar	M		MT	

Key:

Pollution Tolerance	Habitat Disturbance
T = Tolerant	T = Tolerant
M = Intermediate	MT = Moderately Tolerant
I = Intolerant	MI = Moderately Intolerant
NR = No ranking	I = Intolerant
	NR = No ranking

Figura 6.1. Tolerancia de especies de lepisostéidos a la contaminación. (Página de la U. S. Environmental Protection Agency).

Características del catán como especie centinela

El catán presenta varias características fisiológicas y comportamentales que lo hacen un excelente candidato a especie centinela, entre ellas destacan:

1. **Es una especie nativa:** El rango de distribu-

ción del catán abarca desde los ríos Ohio y Missouri en Norte América, hasta la Laguna de Tamiahua en México y su distribución se expande a los estados de Nuevo León, Coahuila, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz (Morales, 1987). Al ser una especie nativa su utilización como especie monitorea de contaminación ambiental en cuerpos de agua de estas zonas, no representa ningún riesgo al realizar bioensayos *in situ*, y se encuentra adaptado a la calidad de los cuerpos de agua de la región.

2. **Características eurihalinas:** Es una especie que se adapta bien tanto a cuerpos de agua dulce como de agua salada y puede tolerar aguas con contenido salino enteramente marino (Santillan, 2005), lo cual le confiere un alto potencial para ser utilizada en los distintos ecosistemas acuáticos, que van desde ríos de agua dulce hasta lagunas con alta salinidad.

3. **Posición trófica:** Los hábitos alimenticios como depredadores y carroñeros en conjunto con el tamaño que alcanzan los adultos posicionan al catán en los niveles más altos de la cadena alimenticia de los ecosistemas acuáticos donde se encuentra (Morales, 1987; Santillan, 2005). Esto significa que esta especie no sólo tiene una exposición directa a los contaminantes en el medio acuático o en los sedimentos, sino que adicionalmente, la exposición a los contaminantes se da por procesos de bioacumulación a través de la

red trófica. Este tipo de exposición, por medio de la cual se incrementan considerablemente los niveles de los contaminantes, tiende a provocar un mayor riesgo toxicológico para las especies (Corbella, 1998). Adicionalmente, los hábitos carnívoros y carroñeros del catán pueden ser aprovechados para realizar bioensayos de laboratorio o campo en los que pueden ser alimentados con organismos (vivos o muertos) tomados de los sitios en evaluación, para así medir la respuesta de bioindicadores, lo que permitiría conocer riesgos toxicológicos similares para otras especies ictiófagas (*e.g.* aves y mamíferos, incluido el hombre), que no están expuestos de manera continua a los contaminantes en el agua o sedimentos.

4. ***Se produce en condiciones controladas:*** El Grupo Ecofisiología de la UANL ha desarrollado la tecnología necesaria para el cultivo del catán. Después de más de diez años de investigación se ha logrado estandarizar una metodología para la reproducción y el cultivo larvario de esta especie con lo cual la obtención de crías de catán en condiciones controladas permite en primera instancia contar con organismos de diferentes edades y tallas que pueden ser utilizados para programas de repoblación y/o acuicultura, pero que alternativamente podrían igualmente ser destinados para estudios de monitoreo ambiental, particularmente en aquellos sitios en los que se plantea

iniciar programas de repoblación o acuicultura, permitiendo una mayor certidumbre de éxito al descartar efectos por contaminantes en los organismos depositados. Actualmente, existen instalaciones adecuadas para la reproducción controlada de la especie en diversas instituciones públicas y privadas de México, además de aquellas que igualmente se están desarrollando en Estados Unidos.

5. ***Especie pancrónica:*** La gran mayoría de los vertebrados y algunos invertebrados poseen un sistema de destoxificación, constituido por la superfamilia del sistema citocromo P450 (CYP450), que facilita la eliminación de compuestos extraños, al involucrar sistemas enzimáticos diferentes, encargados de ejecutar reacciones de hidroxilación y conjugación (San Martín, 2006). Los primeros registros del sistema detoxificante del citocromo P450 (CYP) fueron encontrados en bacterias y en vertebrados ancestrales de hace más de 550 millones de años. Sin embargo, los CYP responsables de la transformación de los xenobióticos pudieron haber aparecido en los peces primitivos hace 450 millones de años (Nebert *et al.*, 1989; Nebert *et al.*, 1991). La teoría sobre la evolución de los CYPs, supone que las plantas desarrollaron la capacidad de sintetizar tóxicos en sus tejidos, para evitar ser ingeridas por los animales, por lo tanto los animales se adaptaron desarrollando el sistema de CYPs para degradar la

mayoría de las toxinas ingeridas. El evento de la duplicación que originó la divergencia de CYP1A1 y CYP1A2 en los mamíferos de un solo gen CYP1A ancestral se ha sugerido que ocurrió hace menos de 250 millones de años, etapa geológica en la cual aparecieron los lepisostéidos. Por lo tanto, el catán al ser una especie pancrónica, y con pocos cambios evolutivos, sus sistemas enzimáticos de CYPs serían más simples o diferentes en comparación con otras especies. De la misma forma, otras enzimas y proteínas utilizadas como bioindicadores pueden tener respuestas diferentes a las reportadas en otros peces, lo cual ayudaría a entender un poco más el funcionamiento de los sistemas de respuesta y de detoxificación de contaminantes en peces y vertebrados superiores.

Bioindicadores bioquímicos de contaminación

Las respuestas de algunas enzimas que metabolizan xenobióticos en peces han mostrado su uso potencial como bioindicadores para monitorear niveles tóxicos de contaminantes ambientales. La enzima Ethoxiresorufin O-deetilasa (EROD), una monooxigenasa citocromo específica dependiente de P450, ha sido utilizada como un bioindicador que responde particularmente a contaminación por HAPs (Payne *et al.*, 1987).

Otra clase de enzimas utilizadas como bioindicadores son las esterasas (Labrot *et al.*, 1996). Estas enzimas son sensibles a la inhibición por pesticidas organofosforados y carbamatos e incluyen a las colinesterasas (ChEs) y carboxilesterasas (CaEs). Entre las ChEs utilizadas destacan la acetilcolinesterasa (AChE) y butirilcolinesterasa (BChE). La inhibición de la actividad de ChEs ha sido asociada con la exposición a insecticidas organofosforados, carbamatos y otros xenobióticos neurotóxicos (Habig y Di Giulio, 1991). Por otra parte, las CaEs representan un grupo heterogéneo de isoenzimas que pueden catalizar la hidrólisis de un amplio rango de ésteres, tioésteres y amidas xenobióticos (Huang *et al.*, 1996), e igualmente son inhibidas por xenobióticos neurotóxicos (Wheelock *et al.*, 2005). En un estudio para evaluar la actividad de las esterasas en el catán manchado (*L. oculatus*) como bioindicadores de contaminantes múltiples, en la región baja del Río Mississippi, se observó una disminución significativa de la actividad enzimática de AChE y BChE en organismos de zonas contaminadas con hidrocarburos clorinados tales como hexaclorobenzeno, hexaclorobutadieno y metales pesados (Huang *et al.*, 1997). La glutatión-S-transferasa (GST) representa uno de los mayores grupos de enzimas detoxificantes presentes en la fase II de la biotransformación (Perera, 2000), esta enzima cataliza la conjugación del glutatión (GSH) a una variedad de sustratos y es capaz de

convertir xenobióticos hidrofóbicos en compuestos hidrofílicos que pueden ser excretados a través de la orina (Ketterer y Taylor, 1990; Armstrong, 1997; González del Pliego, 2009). La enzima se encuentra en prácticamente todas las células eucariotas y pudo haber evolucionado para proveer protección al organismo contra las sustancias tóxicas presentes en la comida y el ambiente (Nebert *et al.*, 1996). La superóxido dismutasa (SOD) cataliza la destrucción de radicales libres del oxígeno, protege a las células metabolizadoras de oxígeno contra los efectos dañinos de los radicales superóxido libres (Petkau *et al.*, 1975; Fridovich, 1972; Lavelle *et al.*, 1973; Paschen y Weser, 1973; González del Pliego, 2009). La SOD está ampliamente distribuida en la naturaleza; Gregory *et al.*, (1974) mencionan que está presente en todas las células metabolizadoras de oxígeno y Hewitt y Morris (1975) la han encontrado en bacterias anaeróbicas. Las actividades enzimáticas de catalasa, glutatión-S-transferasa (GST) y el nivel de malondialdeído (MDA) en tilapias (*Oreochromis niloticus*) expuestas a los pesticidas 2,4-D y azinfosmetil no fueron afectadas por la exposición. Sin embargo, las actividades de glucosa-6-fosfato dehidrogenasa (G6PD) y glutatión reductasa (GR) se incrementaron significativamente. Adicionalmente, la actividad de glutatión peroxidasa (GPx) se incrementó en los tratamientos individuales, mientras que decreció al combinar estos pesticidas. 2,4-D no afectó

la actividad de superóxido dismutasa (SOD), pero hubo un decremento en el tratamiento con azinfosmetil. El tratamiento combinado de los pesticidas ejerció un efecto sinérgico en la actividad SOD y tuvo un efecto antagonístico en actividades G6PD, GPx y GR. Estos resultados demostraron que la tilapia resiste el estrés oxidativo a través de mecanismos antioxidantes e impidiendo incrementos en la peroxidación de lípidos (Oruç y Üner, 2000).

En un estudio para evaluar la presencia de compuestos organoclorados en 3 lagos de Louisiana (el lago Providence, el lago Bruin, y el lago St. John), en el cual se tomaron muestras de varias especies, se encontraron residuos de 13 diferentes compuestos organoclorados. Las importantes concentraciones de muchos de estos compuestos a través de las redes tróficas mostraron que los lagos actúan como recipientes, acumulando los residuos generados por las actividades agrícolas cercanas a los mismos. El DDT, y sus metabolitos TDE, y DDMU, además de toxafenos, y otros PCBs fueron los principales compuestos de organoclorados detectados. Particularmente interesante fue la clara biomagnificación de los residuos, registrándose los más altos valores en organismos consumidores terciarios tales como el catán manchado *L. oculatus*, *Butorides striatus* y *Micropterus salmoides* (Niethammer *et al.*, 1984). Al mismo tiempo, en muestras de peces

del lago Chicot (Arkansas) se encontraron DDT, metabolitos de DDT y heptacloro, en concentraciones significativamente más altas en la misma especie (*L. oculatus*) y el bagre *Ictalurus natalis*, en comparación con las otras especies examinadas (Cooper y Knight, 1987). Igualmente, en un estudio en el cual se analizaron sedimentos y muestras de 8 especies de peces del refugio de vida silvestre Yazoo National, Mississippi, se encontró una acumulación de 12 pesticidas organocloro-

dos en la mayoría de los peces, superior a los sedimentos muestreados y la biomagnificación de los pesticidas fue evidente de los sedimentos al pez mosquito (*Gambusia affinis*) y de estos al catán manchado (Ford y Hill, 1991). Por otra parte, en muestras analizadas de catanes silvestres de Tamaulipas y Nuevo León para pesticidas organoclorados, sólo ha sido posible detectar en niveles importantes el DDE, de hasta 5.7 mg/kg, el cual es un derivado del DDT (García *et al.*, 2009).



Figura 6.2. Biomarcadores bioquímicos de contaminación.

Se han registrado lesiones en el hígado de tres especies de Lepisostéidos (*L. osseus*, *L. oculatus* y *L. platostomus*) provenientes de áreas contaminadas por hidrocarburos del Río Mississippi. Los cortes histológicos de hígado en estos organismos mostraron abundante melanización y centros de macrófagos, pancreatitis y proliferaciones ductales en el páncreas exócrino. Otras lesiones observadas fueron parasitismo, inflamación, y necrosis multifocal. Mientras que un análisis pigmentario de los centros de melanomacrófagos (MMC) en *L. oculatus* indicó un incremento en los niveles de hierro hepatocelular, y los grandes MMC pudieron ser debidos a cuerpos cargados de contaminantes (Hartley *et al.*, 1996). Al mismo tiempo, en la región baja del río Mississippi contaminada con hidrocarburos como hexaclorobenzeno, hexaclorobutadieno y metales pesados, se observó una disminución significativa de la ac-

tividad enzimática de estererasas (AChE y BChE) en hígado y cerebro de *L. oculatus* (Huang *et al.*, 1997). Igualmente, en catanes manchados (*L. oculatus*) de un sitio contaminado con petróleo en Louisiana (Bayou Trepagnier) se observaron lesiones histológicas en las gónadas, caracterizadas por quistes multiloculares con líquido en los ductos espermáticos y quisteadenomas ováricos, mientras que en peces provenientes de un sitio cercano libre de contaminación (Bayou Traverse) no fueron observadas estas lesiones (Thiyagaram, 2000). Por otra parte, en muestras analizadas de catanes silvestres de Tamaulipas y Nuevo León para hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) ha sido posible detectar diversos compuestos de este tipo y aunque los niveles encontrados no son muy elevados, los resultados muestran que igualmente estos compuestos se pueden acumular en los catanes (Figura 3) (García *et al.*, 2009).

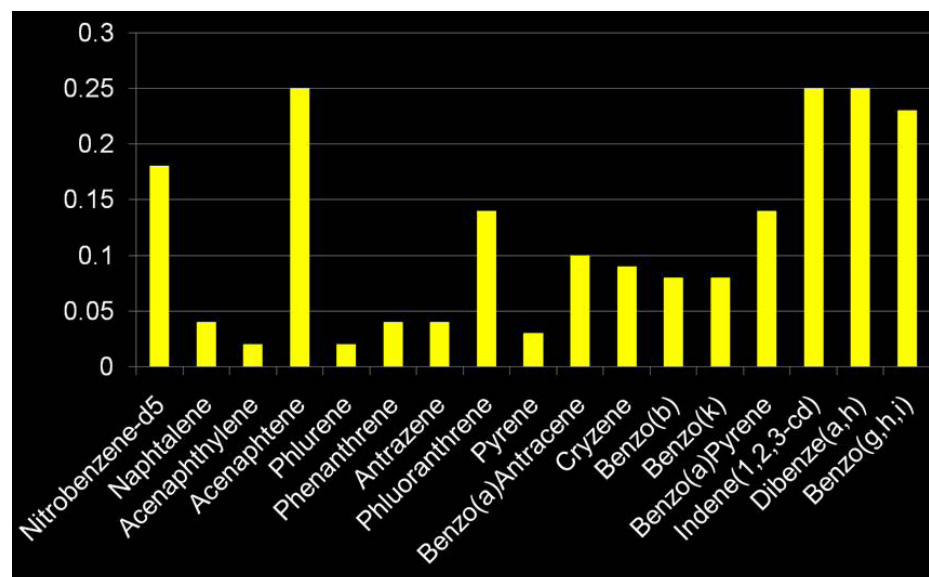


Figura 6.3. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) encontrados en carne de catanes silvestres de Tamaulipas y Nuevo León.

Vitelogenina en peces como respuesta a contaminantes.- Existen fuertes evidencias de la presencia de compuestos sintéticos o naturales que tienen el potencial de actuar como disruptores endocrinos al alterar la fisiología de los organismos. Estos compuestos pueden actuar como antagonistas o agonistas de los andrógenos y estrógenos así como de las hormonas tiroideas. Entre las principales fuentes de estos disruptores endocrinos se pueden señalar las descargas urbanas e industriales. Igualmente, se considera que estos

compuestos se encuentran ampliamente distribuidos debido a que son muy persistentes y pueden acumularse por biomagnificación, lo que significa un riesgo tanto para los organismos silvestres como para el hombre. Particularmente, el uso de la VTG como bioindicador de disruptores estrogénicos y antiestrogénicos ha mostrado grandes ventajas tanto a nivel de laboratorio como de campo (Jobling *et al.*, 1998; Sumpter and Jobling, 1995). Al ser la VTG una molécula normalmente sintetizada en respuesta a estróge-

nos endógenos presentes solamente en hembras maduras, su presencia en juveniles o machos es un claro indicio de la exposición a estrógenos exógenos. Las características más útiles de la VTG son su especificidad a estrógenos, la sensibilidad y la magnitud de respuesta de los peces que pueden incrementar sus niveles plasmáticos hasta en millones de veces, pasando de nanogramos hasta miligramos por mililitro su concentración plasmática (Santillán, 2005).

El uso de la VTG como biomarcador de compuestos estrogénicos en el catán actualmente es posible gracias a estudios previos que permitieron identificar, caracterizar y purificar tanto la vitelina ovárica como la vitelogenina plasmática del catán y pejelagarto (Hernández, 2002; Vela, 2003; Cortes, 2003). Igualmente han sido estandarizados métodos inmunológicos (ELISA competitivo) que permiten cuantificar VTG de catán en hígado, plasma, branquias o mucus, obteniendo de esta forma una herramienta bioquímica, precisa, sensible y que puede ser no invasiva (Santillán 2005, Mendoza *et al.*, 2008). Un procedimiento similar para detectar VTG de otro lepisostéido ha sido utilizado para detectar alteraciones en el ciclo reproductivo en poblaciones silvestres de *L. platyrhincus* (Orlando *et al.*, 2007).

Prácticamente no existen estudios sobre efectos de contaminantes u otros compuestos con propiedades estrogénicas en lepisostéidos. Lo

anterior se puede atribuir a los escasos estudios sobre biología de la reproducción en este tipo de peces. Un aspecto que ha dificultado este tipo de estudios es la falta de dimorfismo sexual, los ciclos de vida y edades de maduración muy largos en algunas especies, como el catán, y en algunos casos las escasas poblaciones. No obstante, existen algunos estudios como el efectuado en el catán de Florida (*L. platyrhincus*) en el que se evaluó la concentración de cortisol, 17 β -estradiol y testosterona en plasma como respuesta al estrés causado por contaminantes. Aunque no se lograron encontrar diferencias en la concentración de todas las hormonas entre hembras colectadas en sitios contaminados y libres de contaminación, los machos colectados en el sitio contaminado presentaron valores más bajos de 17 β -estradiol, en comparación con los machos de un sitio no contaminado (Orlando *et al.*, 2002).

Efectos fisiológicos de los contaminantes en el catán

El Laboratorio de Ecofisiología ha emprendido una serie de estudios con la finalidad de entender los efectos que los contaminantes provocan en la fisiología del catán, y al mismo tiempo poder utilizar esta especie como centinela para evaluar la contaminación acuática. El esquema me-

todoológico general consistió en utilizar ejemplares de catán producidos en cautiverio y su exposición a contaminantes por tres métodos diferentes: a) En primer término se realizó una exposición directa, por medio de la cual los compuestos fueron administrados mediante una inyección intraperitoneal a una dosis de 50 mg/Kg de peso y después de un lapso de 48 horas se obtuvieron muestras de diferentes tejidos para cuantificar los bioindicadores seleccionados; b) un segundo método de exposición consistió en incorporar los contaminantes a través del medio, es decir en el agua del tanque de cultivo, para lo cual los organismos fueron colocados en contenedores plásticos de 40 litros, recubiertos con bolsas de polietileno, donde fue incluido el contaminante, previamente disuelto en dimetil-sulfóxido (DMSO), y después de un lapso de 72 horas se obtuvieron muestras de diferentes tejidos para cuantificar los bioindicadores seleccionados; c) finalmente, se utilizó la incorporación de contaminantes a través del alimento (biomagnificación), para lo cual se inyectaron peces forrajeros, obtenidos de acuicultura, con los contaminantes a una dosis de 50 mg/Kg para posteriormente ser suministrados como alimento a catanes durante 28 días, periodo después del cual se obtuvieron muestras de tejidos para ser analizadas. Hasta el momento se han investigado los efectos de un pesticida organofosforado (diazinon), un hidro-

carburo policíclico aromático (β -naftoflavona) y un compuesto estrogénico (17β -estradiol. Mientras que los bioindicadores evaluados ante estos compuestos fueron tres enzimas esterasas (AChE, BChE y CaE), las enzimas de detoxificación glutatión-S-transferasa (GST) y fosfatasas alcalinas (ALP), la enzima de respuesta a estrés oxidativo superóxido dismutasa (SOD) y finalmente la síntesis de VTG fue utilizada como bioindicador de respuesta estrogénica en juveniles de catán. Los principales resultados obtenidos hasta el momento son presentados a continuación en función de tipo de contaminante.

Efectos de pesticidas

En cuanto a los efectos fisiológicos del pesticida organofosforado diazinon en el catán, Aguilera *et al.*, (2010) observaron que la exposición directa en catanes de 6 meses produce un claro efecto neurotóxico al inhibir la actividad de enzimas esterasas (AChE, BChE, CaE). No obstante, se observó un incremento de actividad de fosfatasas alcalinas que puede atribuirse a síntesis de fosfatasas en respuesta a la alta concentración de fosfatos producto del pesticida organofosforado, como un mecanismo alterno de detoxificación. Igualmente, se observó un efecto inhibitorio de la glutatión-S-transferasa especialmente en los

catanes más jóvenes (6 meses). Se conoce que la liberación de radicales libres ocasiona una inhibición en la actividad de GST por lo cual se puede suponer que el diazinon está causando una liberación de radicales libres en los catanes; tal observación coincide con el hecho de que la actividad de SOD se incrementó cuando los catanes fueron expuestos al diazinon y la SOD es una enzima cuya función es transmutar los radicales superóxido, que son un tipo de radical libre en oxígeno molecular (Figura 6.4).

Cuando el diazinon fue suministrado directamente o a través del alimento a catanes de 1 y 2 años se siguió observando claramente el efecto neurotóxico del pesticida con la consecuente inhibición de las esterasas (AChE, BChE, CaE). Sin embargo, en organismos de esta edad ya no se observa el efecto inhibitorio en la GST, y se observa una mayor actividad de fosfatasas alcalinas, lo que sugiere la presencia de un sistema de detoxificación más completo. Igualmente disminuye la respuesta de la SOD, indicando un menor

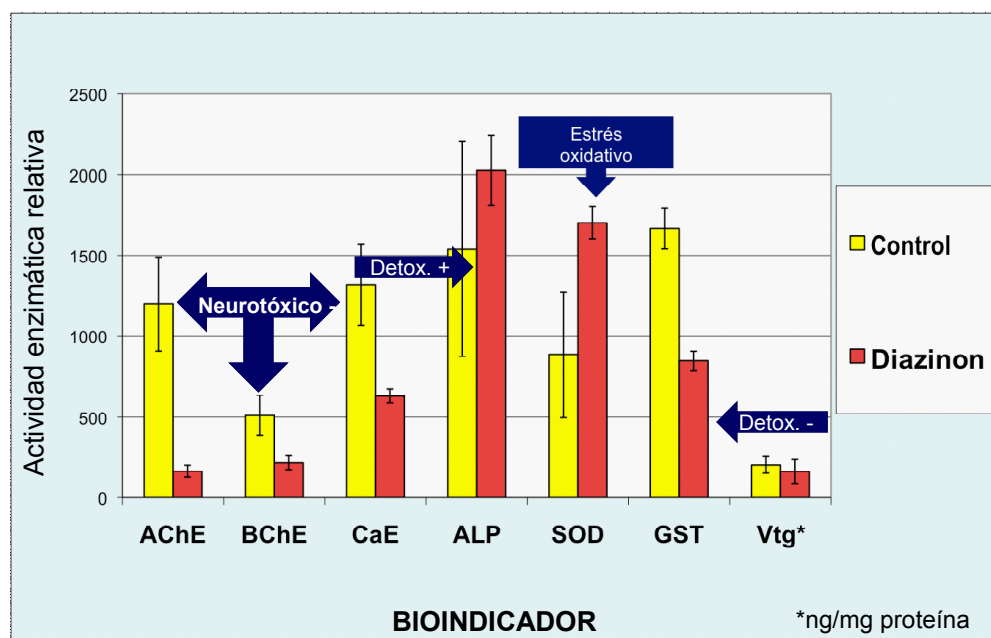


Figura 6.4.- Respuesta de bioindicadores bioquímicos en catanes de seis meses expuestos por inyección intraperitoneal al pesticida organofosforado diazinon.

riesgo de estrés oxidativo de pesticida organofosforado en catanes de 1 y 2 años de edad (Figura 6.5). Estos resultados evidencian que los pesticidas provocan fuertes efectos neurotóxicos en los catanes independientemente de la edad de los organismos, aunque las consecuencias son más importantes en catanes juveniles. Por otra parte, queda de manifiesto que estos pueden ser incorporados en el organismo cuando estos contaminantes están presentes en el medio acuático o los

sedimentos, o bien cuando estos son concentrados a través de la red trófica por biomagnificación. Lo anterior implica que las fuentes de exposición son múltiples y que las poblaciones de catán afectadas por estos contaminantes podrían sufrir una mayor mortalidad no sólo por la toxicidad de estos compuestos, sino también al verse afectada su capacidad de respuesta para capturar sus presas o para huir de sus depredadores.

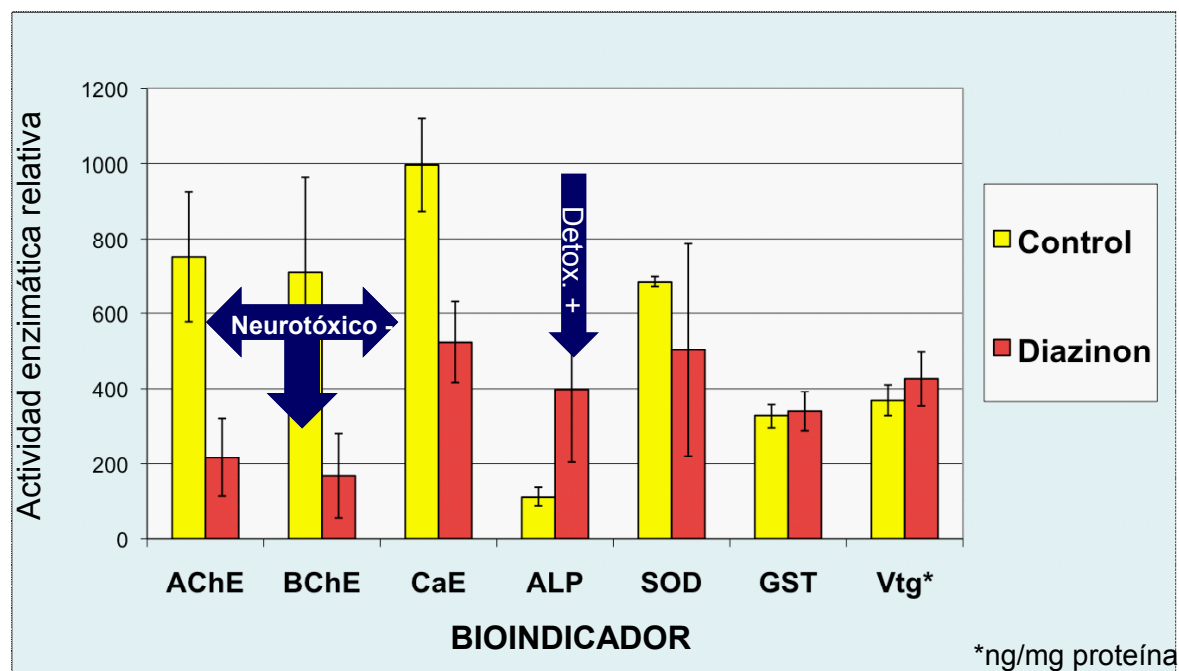


Figura 6.5.- Respuesta de bioindicadores bioquímicos en catanes de 1 año expuestos al pesticida organofosforado diazinon a través del alimento.

Efectos de hidrocarburos

Al exponer directamente juveniles de catán de 6 meses a un hidrocarburo (β -naftoflavona), se pudo observar un efecto neurotóxico a través de la inhibición de 2 de las 3 esterasas analizadas (AChE y CaE). Igualmente, se registró una inhibición de la enzima GST del sistema de detoxificación y una respuesta del sistema enzimático, contra el estrés oxidativo representado por un incremento de la actividad enzimática de la SOD

(Figura 6.6). Se conoce que la liberación de radicales libres ocasiona una inhibición en la actividad de GST, por lo cual estos resultados indican una aparente liberación de radicales libres en los catanes, y como ya se mencionó anteriormente tal observación coincide con el hecho de que la actividad de SOD se incrementó cuando los catanes fueron expuestos a la β -naftoflavona y la SOD es una enzima cuya función es transmutar los radicales superóxido que son un tipo de radical libre en oxígeno molecular.

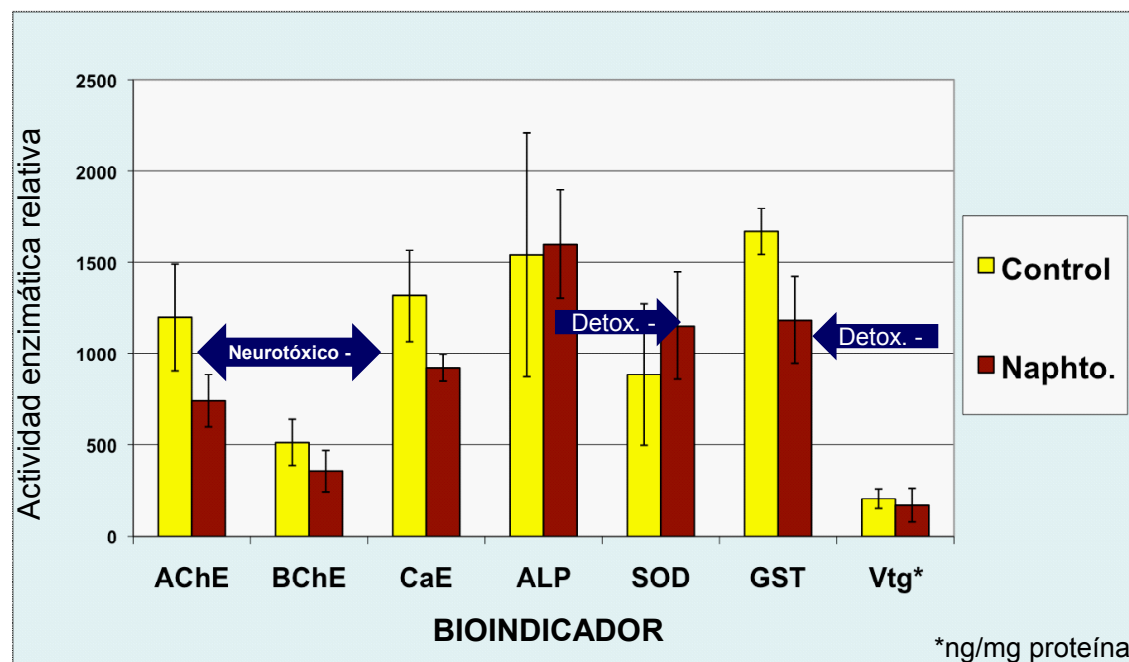


Figura 6.6.- Respuesta de bioindicadores bioquímicos en catanes de seis meses expuestos por inyección intraperitoneal al HAP β -naftoflavona.

En organismos de 1 ó 2 años expuestos al hidrocarburo directamente o a través del agua ya no se observa el efecto neurotóxico, al no registrarse inhibición de las enzimas esterasas. Esto puede ser debido a una mayor resistencia a estos contaminantes obtenida con la edad. Sin embargo, perdura el efecto inhibitorio en la GST, el cual se extiende a otra enzima de detoxificación, la fosfatasa alcalina (ALP), así como a la SOD del sistema enzimático contra estrés oxidativo (Figura 6.7). Lo cual hace suponer que este contaminante no es metabolizado adecuadamente por

este tipo de enzimas en el catán y por lo tanto podría tener efectos más severos en los tejidos y órganos donde son procesados y/o almacenados estos compuestos (e.g. hígado).

Efectos de compuestos estrogénicos (Disruptores endocrinos)

En los experimentos realizados en el laboratorio, utilizando estradiol como compuesto estrogénico se encontraron los siguientes resultados. En pri-

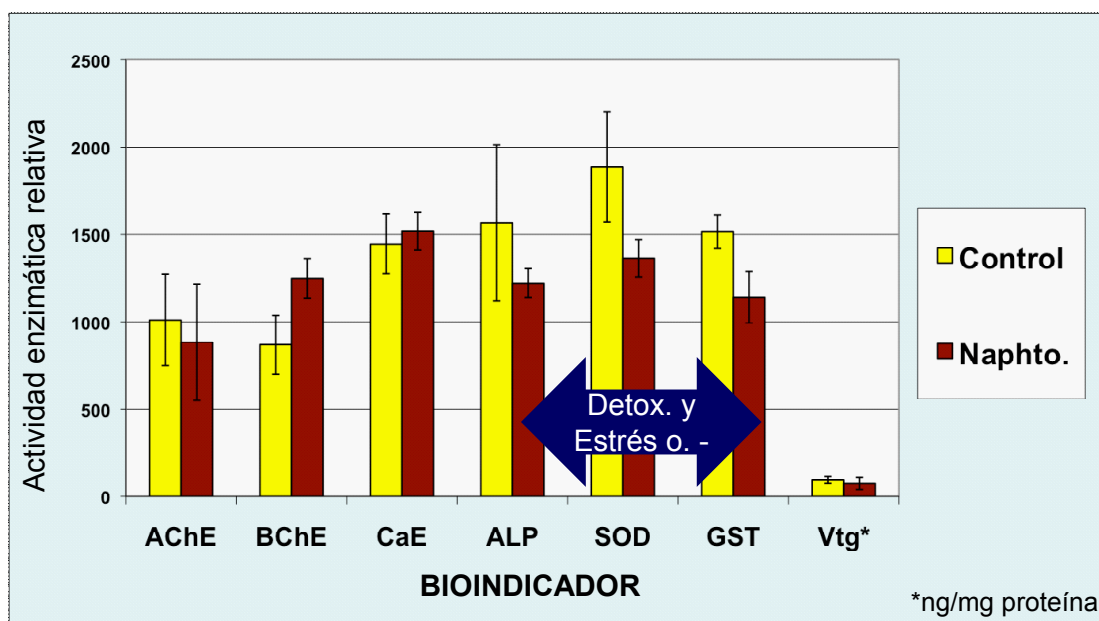


Figura 6.7.- Respuesta de bioindicadores bioquímicos en catanes de 2 años expuestos por inyección intraperitoneal al HAP β -naftoflavona

mer término, a partir de la exposición directa de catanes de 6 meses al estradiol fue posible detectar una respuesta feminizante, expresada por un marcado incremento en la concentración de vitelogenina (VTG) en los diferentes tejidos analizados (plasma, hígado, branquias y mucus). Esto resulta particularmente interesante, considerando que los catanes de esta edad no cuentan con la condición fisiológica para expresar los efectos de hormonas sexuales ya que se considera que la maduración de los machos inicia después del tercer año, mientras que en las hembras se da después del quinto año (Morales, 1987). Por otra parte, tam-

bién se detectó un efecto neurotóxico del estradiol, al provocar inhibición de las esterasas (AChE, BChE, CaE), una inhibición de la actividad enzimática de la GST y un incremento de la SOD del sistema enzimático de estrés oxidativo (Figura 6.8). Este patrón es similar al observado en catanes de 6 meses expuestos tanto al pesticida como al hidrocarburo, lo que puede confirmar que hasta esta edad los catanes no cuentan con un sistema de detoxificación maduro, particularmente considerando que en hembras adultas el estradiol sería un compuesto endógeno que cuenta con un sistema para metabolizarlo.

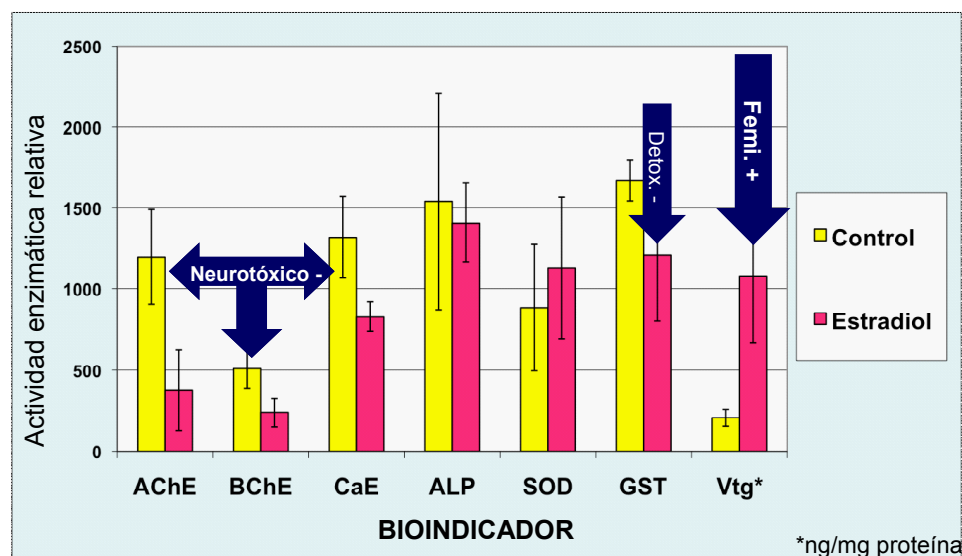


Figura 6.8.- Respuesta de bioindicadores bioquímicos en catanes de 6 meses expuestos por inyección intraperitoneal al compuesto estrogénico 17β -estradiol.

En organismos de 1 y 2 años expuestos directamente al estradiol se siguió observando claramente el efecto feminizante de este compuesto como lo revela el incremento en la concentración de VTG. Por otra parte, se perdió el efecto neu-

rotóxico al no detectarse inhibición de las esterasas. No obstante se siguió observando cierta inhibición de la actividad GST, lo que podría indicar la existencia de deficiencias para metabolizar este compuesto (Figura 6.9).

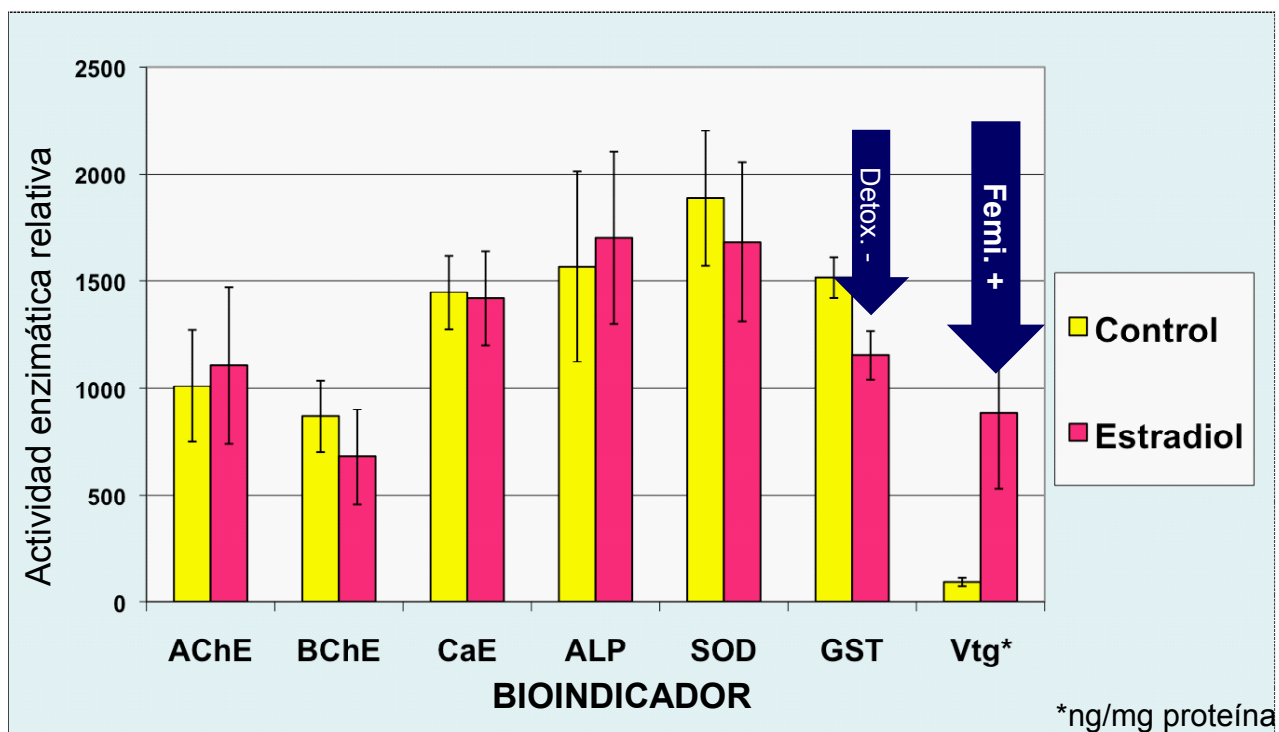


Figura 6.9.- Respuesta de bioindicadores bioquímicos en catanes de 2 años expuestos por inyección intraperitoneal al compuesto estrogénico 17 β -estradiol.

Cuando el estradiol fue administrado disuelto en el agua o a través del alimento, el efecto feminizante fue aun más marcado, llegando los niveles de VTG hepática a 2,000 y más de 4,000 ng/mg de proteína, respectivamente en catanes de 1 año (Figura 6.10). Lo que indica que los compuestos estrogénicos incorporados particularmente a través de la cadena alimenticia aun en bajas concentraciones, pueden ejercer una fuerte

respuesta feminizante en los catanes. Por otra parte, los efectos inhibitorios en las enzimas de detoxificación no fueron observados, lo que pudo deberse a que la velocidad de incorporación del compuesto era más lenta, dando tiempo a que este fuera captado por los receptores estrogénicos de los hepatocitos y de esta manera no existieran excedentes libres con efectos tóxicos.

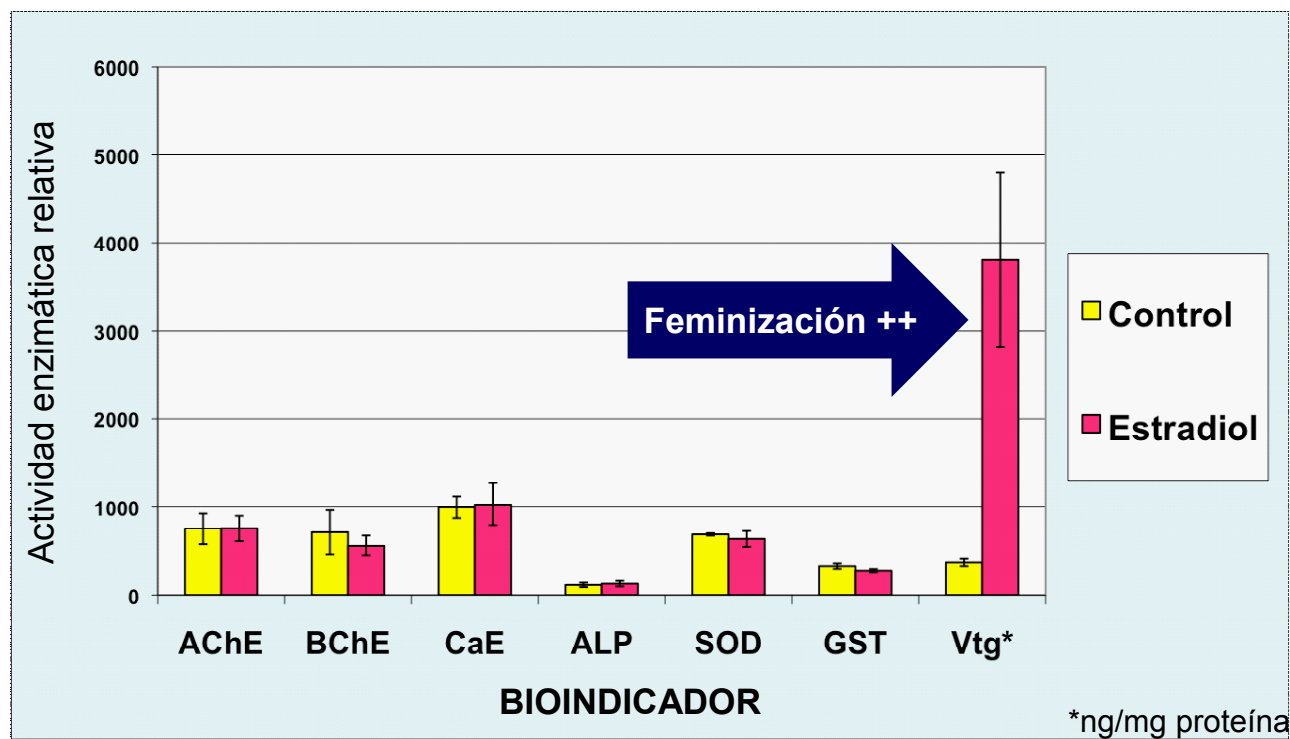


Figura 6.10.- Respuesta de bioindicadores bioquímicos en catanes de 1 año expuestos al compuesto estrogénico 17 β -estradiol a través del alimento.

Efectos de metales pesados

En los estudios en los que se ha determinado presencia de metales pesados en lepisostéidos se ha observado un claro efecto de bioacumulación, como el observado con compuestos clorinados (BPCs). En el catán de Florida (*L. platyrhincus*) varios autores han encontrado los mayores niveles de metales pesados al compararlos con otras especies de la misma zona (Royals y Lange, 1995; Orlando *et al.*, 2002; Burger *et al.*, 2004). Igualmente, Ruelas-Inzunza *et al.*, (2007 y 2009) han reportado que las mayores concentraciones de plomo y mercurio en peces provenientes de estuario del Río Coatzacoalcos en Veracruz, corresponden al lepisostéido identificado por ellos como *L. osseus*. Sin embargo, esta localidad no se encuentra dentro del área de distribución reconocida para esta especie, por lo que probablemente se trate de otro lepisostéido como el catán (*A. spatula*) o pejelagarto (*A. tropicus*) cuya distribución sí podría incluir esta localidad. En cuanto a la concentración de metales en catanes silvestres de Tamaulipas, y Nuevo León, se han observado niveles importantes de plomo y cadmio, de 0.2 y 0.1 ppm respectivamente, los cuales son comparables con los límites permitidos para estos metales por el *Codex Alimentarius* Internacional. En cuanto al arsénico y el mercurio, estos estuvieron por debajo del límite de detección en

las muestras analizadas y con las técnicas utilizadas (García *et al.*, 2009).

Por otra parte, en siguientes ensayos se determinará la respuesta de biomarcadores en catanes expuestos a metales. Con lo cual se completarían los principales grupos de contaminantes evaluados sobre el catán.

Discusión y conclusiones

A partir de estos resultados se puede concluir que en general los contaminantes (pesticidas, hidrocarburos y estrogénicos) pueden producir efectos neurotóxicos en las etapas iniciales del desarrollo del catán, al menos hasta los primeros seis meses de vida. Lo anterior en base al marcado efecto inhibitorio de los tres tipos de enzimas esterasas evaluadas, las cuales han sido ampliamente utilizadas por más de 30 años como indicadoras de exposición a compuestos neurotóxicos como los pesticidas organofosforados y carbamatos (Thompson, 1999; Küster, 2005; Whitehead *et al.*, 2005; Wheelock *et al.*, 2008). Estos efectos fueron particularmente claros cuando los catanes estuvieron expuestos al pesticida diazinon, incluso observándose nados erráticos y mortalidad en los catanes de seis meses expuestos directamente, así como en catanes de 1 año con el pesticida administrado a través del alimento.

Otro resultado que vale la pena remarcar es el incremento de actividad de fosfatasa alcalina (ALP) en catanes expuestos al diazinon, lo cual puede ser atribuido a un incremento en la síntesis de este tipo de enzimas con la finalidad de metabolizar este compuesto y reducir el daño celular y fisiológico en el organismo. Mecanismos como este han sido descritos en insectos y han sido asociados al incremento en la resistencia a estos pesticidas organofosforados (Scott, 1999; Srinivas *et al.*, 2006). De aquí, es posible inferir daños en las poblaciones de catán de cuencas cercanas a zonas agrícolas que utilizan pesticidas en grandes cantidades, los cuales pueden ser acarreados por lixiviación y acumulados a través de la red trófica hasta consumidores finales como los catanes, en los cuales se puede potenciar su efecto por el consumo continuo de estos compuestos en el alimento y por su exposición permanente en el sedimento y agua.

En el caso de los efectos producidos por el hidrocarburo β -naftoflavona es importante resaltar la respuesta de algunos bioindicadores, particularmente la inhibición observada en la actividad de la GST. Cabe señalar que en otros peces expuestos a hidrocarburos, generalmente la respuesta de esta enzima se da como un incremento en la actividad, lo cual es explicado dado que la mayoría de los compuestos que ingresan a los organismos sufren procesos de transformación para

ser eliminados en un período de tiempo corto. Esta transformación está dada principalmente por el sistema enzimático del citocromo P450 (CYP), mediante reacciones de oxidación-reducción (Fase I) en la cual los compuestos incrementan su polaridad lo que permite que éstos sean conjugados con el glutatión por acción de la GST, sulfato, aminoácidos ó ácido glucoronido (Fase II) y posteriormente estos conjugados más solubles en agua pueden ser excretados más fácilmente por la bilis, orina ó a través de las branquias de los peces (Clarke *et al.*, 1991; Nimno, 1987; San Martín, 2006). Investigaciones extensivas han establecido que HPAs y BPCs son capaces de inducir estos sistemas de detoxificación particularmente a través del CYP1A a través de receptores hidrocarburo aril y generando la síntesis de la enzima EROD que sería la encargada de las reacciones de la Fase I (Goksoyr, 1995; San Martín, 2006). Sin embargo, hasta el momento no existen antecedentes, ni evidencias de que este sistema enzimático de transformación este presente en los lepisostéidos. De hecho, este sistema enzimático no ha sido posible detectarlo en los catanes utilizados en los experimentos de esta investigación, ya sea utilizando técnicas moleculares mediante la expresión de mRNA del CYP1A con sondas probadas en peces tilapia (Zapata *et al.*, 2002), mediante técnicas inmunológicas con anticuerpos contra proteínas del CYP1A de un

laboratorio comercial (Rabbit Anti-Fish CYP1A Peptide Polyclonal antibody, CP-226, BIOSENSE^{MR}), o bien mediante la cuantificación de la actividad enzimática EROD por el método de Klotz *et al.*, (1984). Esto podría implicar que no se generarían los productos de transformación de la Fase I, los cuales normalmente serían el sustrato para las enzimas de la Fase II como la GST. Sin embargo, lo anterior no implica que no exista en el catán un sistema de detoxificación contra estos u otros xenobioticos a partir del citocromo P450,

sobre todo considerando que se han identificado más de 5000 genes y pseudogenes que codifican para enzimas que catalizan la Fase I del metabolismo oxidativo de una gran variedad de compuestos (Goldstone *et al.*, 2006), además de las posibles limitaciones en las metodologías utilizadas (*e.g.* diseño de sondas genéticas [primers], reactividad de los anticuerpos, especificidad del sustrato enzimático). Por lo cual, es necesario continuar investigando las respuestas y sistemas de detoxificación que están presentes en los catanes.

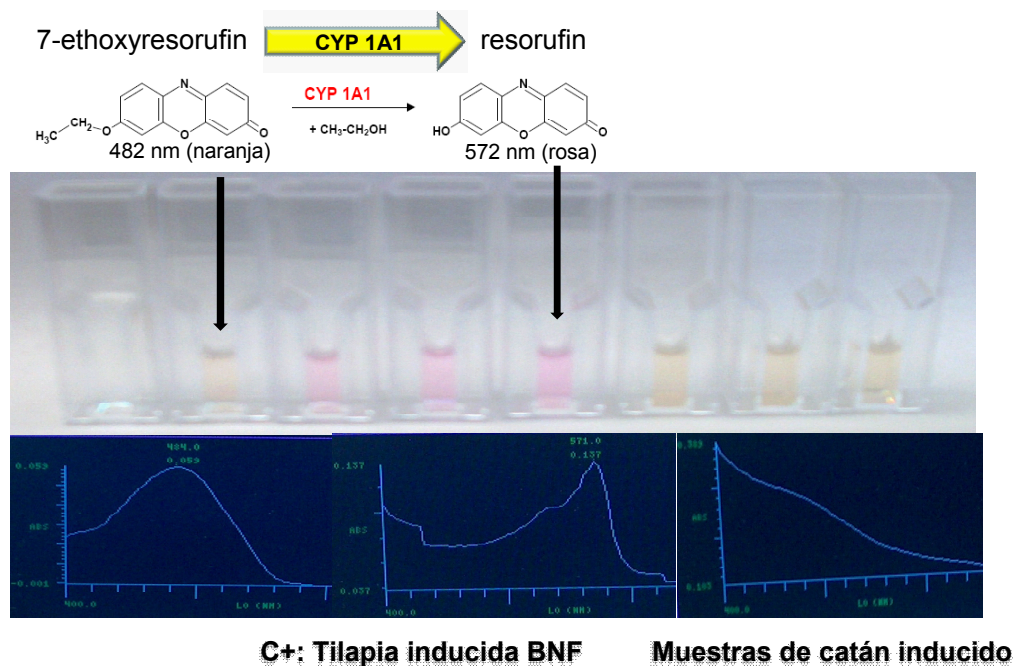


Figura 6.11. Ensayo espectrofotométrico para actividad EROD.

Por otra parte, la glutatión peroxidasa, la glutatión reductasa, así como la GST están involucradas en el ciclo redox del glutatión, estableciendo el balance de radicales glutatión oxidados y reducidos, el cual es utilizado como parte del sistema de defensa contra radicales libres (Townsend & Tapiero 2003). Por lo cual una explicación posible al resultado observado en la GST podría estar más relacionada con una respuesta del sistema de defensa antioxidante en lugar de un sistema de detoxificación como el descrito para otros peces. De hecho, en los casos que observamos reducción de actividad enzimática de la GST, al mismo tiempo se da un incremento en la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD), la cual es reconocida como una de las más importantes del sistema para eliminación de radicales libres en el sistema enzimático de defensa primaria contra daño oxidativo. Por lo cual, podemos considerar, que en el caso del catán la respuesta primaria contra contaminantes de tipo HAPs, sería a partir de los sistemas de defensa antioxidante. En este sentido es importante resaltar que los lepisostéidos conservan la capacidad de sintetizar vitamina C (Dabrowski y Moreau, 2005), la cual también es una molécula importante dentro del mecanismo no enzimático de protección de daño oxidativo.

En cuanto a los efectos feminizantes del estradiol sobre juveniles de catán, los resultados mues-

tran claramente que los catanes pueden ser fácilmente afectados por disruptores endócrinos de tipo estrogénico, particularmente si estos compuestos son persistentes y se bioacumulan a través de la red trófica. Esto resulta sin duda alguna detrimental para las poblaciones silvestres de catán, sobre todo si se considera lo observado con los derivados del DDT encontrados en la carne de catán analizada para pesticidas organoclorados y los antecedentes estrogénicos reportados de estos compuestos. No obstante, los efectos e implicaciones de la exposición a este tipo de contaminantes son muy difíciles de observar a nivel de poblaciones en el caso del catán debido a su largo ciclo de vida, lo mermado de las poblaciones y las dificultades técnicas que implica una investigación a este nivel. Sin embargo, este hecho no debe soslayar la importancia de los resultados encontrados, dada la extensa información y evidencia en otras especies de los efectos que tienen los disruptores endócrinos en los organismos.

Finalmente, considerando la sensibilidad de los biomarcadores bioquímicos en el catán podemos considerar que esta especie puede ser utilizada como centinela de contaminación utilizando juveniles producidos de acuicultura. Sobre todo, considerando que en esta especie es posible realizar ensayos en los cuales se pueden utilizar organismos silvestres abundantes como alimen-



to, particularmente aquellas exóticas o invasoras presentes en el sitio de interés. Con lo anterior, es posible determinar no sólo que los contaminantes están presentes en el medio, sino además que

estos se están incorporando a los organismos y por lo tanto que existe un riesgo toxicológico mayor para otros organismos de interés, incluido el hombre.





LITERATURA CITADA

- Adams, B., E.D. Vickers, C. Warby, M. Park, W.H. Fischer, A. Grey Craig, J.E. Rivier y N. M. Sherwood. 2002. Three Forms of Gonadotropin-Releasing Hormone, Including a Novel Form, in a Basal Salmonid, *Coregonus clupeaformis*. *Biology of Reproduction*, 67: 232-239
- Adelman, A. 1977. Effect of bovine growth hormone on the growth of carp (*Cyprinus carpio*) and the influences of temperature and photoperiod. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 34: 509-515.
- Agellon, L.B., C.J. Emery, J.M. Jones, S.L. Davies, A.D. Dingle y T.T.Chen. 1988. Promotion of rapid growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by a recombinant fish growth hormone. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45: 146-151.
- Aguilera, C. 1999. Bases fisiológicas del desarrollo de larvas de catán (*Atractosteus spatula*) y perspectivas para su cultivo. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. Monterrey, N. L., pp.186.
- Aguilera, C., Cruz, J. and Mendoza, R. 2010. Physiological Response of Alligator Gar (*Atractosteus spatula*) to Pollution. Joint Meeting of the International Network for Lepisosteid Fish Research and Management and the Southern Division of the American Fisheries Society Alligator Gar Technical Committee 25 – 28 May 2010 NICHOLLS STATE UNIVERSITY THIBODAUX, LOUISIANA 70310, USA.
- Aguilera, C., J. Cruz and R. Mendoza. 2008. Biomarkers screening in alligator gar to assess the impact of pollution. 2008 *Alligator Gar Working Group Meeting*. Thibodaux, Louisiana, USA. 21-22 Febrero 2008.
- Aguilera, C., R. Mendoza, G. Rodríguez y G. Márquez. 2002. Morphological description of alligator gar and tropical gar larvae, with an emphasis on growth indicators. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 131: 899-909.
- Ako, H., C. Tamaru y C. Lee. 1994. Chemical and physical differences in milkfish (*Chanos chanos*) eggs from natural and hormonally induced spawns. *Aquaculture*, 127: 157-167.

- Alemán, L. y W. Contreras. 1987. Algunas consideraciones ecológicas sobre el pejelagarto *Lepisosteus tropicus* y sus hábitos alimenticios. *Resúmenes IX Congreso Nacional de Zoología*. Universidad. Juárez Autónoma de Tabasco. 1:127.
- Alliot, E., A. Pastoureaud y J. Trellu. 1977. Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar (*Dicentrarchus labrax*). Variations des proteinogrammes et des zymogrammes. *Actes de Colloques du C.N.E.X.O.*, 4: 85-91.
- Alok, D., T. Krishnan., G. Talwar y L. Garg. 1993. Induced spawning of catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), using D-Lys6 salmon gonadotropin-releasing hormonal analog. *Aquaculture*, 115: 159-167.
- Alvarez-Lajonchère, L., D. Guerrero-Tortolero y J.C. Pérez-Urbiola. 2001. Validation of an ovarian biopsy method in sea bass, *Centropomus medius* Günther. *Aquaculture Research*, 32: 379-384.
- Alvarez-Torres, P., F. Soto, S. Avilés, C. Díaz y L. Treviño. 1996. Panorama de la investigación y su repercusión sobre la producción acuícola en México. In: *Memorias del III Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Cruz- Suarez, D. Rique y R. Mendoza Editores. Monterrey, N.L. pp: 3- 20.
- Ankley, G.T. y Johnson, R.D. 2004. Small fish models for identifying and assessing the effects of endocrine-disrupting chemicals. *Inter Lab Anim Res J* 45:467-481.
- Appelbaum, S. 1985. Rearing of the dover sole, *Solea solea* (L), through its larval stages using artificial diets. *Aquaculture*, 49: 209-221.
- AQUACOP y J. Calvas. 1990. State of the art of IFREMER in tropical aquaculture. In: *Advances in tropical Aquaculture, Aquacop-IFREMER, Actes de Colloque* 9, pp 625-642.
- Armstrong, R. N. 1997. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferase. *Chemical Research in Toxicology*. 10: 2-18.
- Badger, A. 2004. The effects of nutrition on reproduction in the Eastern rainbowfish *Melanotaenia splendida splendida*. M.S. Dissertation, School of Marine Biology and Aquaculture, James Cook University. pp 119.
- Baragi, V. y R. Lovell. 1986. Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larval development. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115, 478-484.
- Bejerano, G., G. Marquez y S. Páramo. 1997. Propuesta metodológica para la inducción al desove del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. Memoria de la Semana de divulgación y video científico 1997. Secretaría de Servicios Académicos. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Pp 80-83.
- Benfey, T., M. Donaldson y T. Owen. 1989. An Homologous Radioimmunoassay for Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) Vitellogenin, with General Applicability to Other Pacific Salmonids. *General and Comparative Endocrinology*, 75: 78-82.
- Benitez, J. 1992. Estructura histológica de la gónada de los teleósteos. *Temas actuales sobre reproducción de teleósteos.*, Rodríguez, M. (ed), SEPESCA-UAM, México. pp 13-22.
- Berlinsky, D., W. King, R. Hodson y C.V. SULLIVAN. 1997. Hormone induced spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(1): 79-86.
- Bon, E., U. Barbe, J. Nuñez, B. Cuisset, C. Pelissero, J. Sumpster y F. Le Menn. 1997. Plasma Vitellogenin Levels During the Annual Reproductive Cycle of the Female Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Establishment and Validation of an ELISA. *Comp. Biochem. Physiol.*, 117B(1): 75-84.
- Breder, C. y D.E. Rosen (1966). Modes of reproduction in fishes. *The American Museum of Natural History*. Natural History Press, Garden City, New York. pp. 68-69.
- Breton, B., C. Weil, B. Jalabert y R. Billard. 1972 Reciprocal activity of hypothalamic factors of rams (*Ovis aries*) and of teleostean fishes on the secretion in vitro of gonadotropic hormones c-HG and LH, respectively,

- by carp and ram hypophyses. *Sciences naturelles*, 274(17): 2530-2533.
- Bromley, P. 1978. The weaning of hatchery reared turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) on a dry diet. *Aquaculture*, 13: 339-345.
- Brown, C y M. Nuñez. 1998. Disorders of development. In: CAB INTERNATIONAL (eds. J.F. Leatherland and P.T.K. Woo), *Fish Diseases and Disorders*. Vol. 2. Non Infectious Disorders. pp 1-17.
- Brown, C., C. Sullivan, H. Bern y W. Dickhoff. 1987. Occurrence of thyroid hormones in early developmental stages of teleost fish. *American Fisheries Society Symposium*, 2: 144-150.
- Brzuska, E y J. Adamek. 1999. Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: stimulation of ovulation using LHRH-a, Ovaprim and carp pituitary extract. *Aquaculture Research*, 30: 59-64.
- Buckley, L., E. Caldarone y T. Ong. 1999. RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. *Hydrobiologia*, 401: 265-277.
- Buddington, R. y S. Dorshov. 1986. Development of digestive secretions in white sturgeon juveniles (*Acipenser transmontanus*) *Comp. Biochem. Physiol.*, 83A: 233-238, 344.
- Buddington, R.K. 1985. Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development. *Journal of Fish Biology*, 26: 715-723.
- Buddington, R.K. y P. Chrstofferson. 1985. Digestive and feeding characteristics of the chondrosteans. In: North american sturgeons: biology and aquaculture potential, (ed. by F.P. Binkowski and S.I. Doroshov), DR W. Junk Publishers, 31-41. Kluwer Academic Publishers Group, Boston.
- Burger, J., Orlando, E. F., Gochfeld, M., Binczik, G. A., and Guillette, L. J. Jr. 2004. Metal Levels in Tissues of Florida Gar (*Lepisosteus platyrhincus*), from Lake Okeechobee. *Journal online of Environmental Monitoring and Assessment*, Volume 90, Numbers 1-3, January 2004, 187-201 pp.
- Burns, T.A., D. Stalling y W. Goodger. 1981. Gar ichthyotoxin, its effect on crayfish, with notes on bluegill sunfish. *The Southwestern Naturalist*, 25(4): 513-515.
- Busch, A. 1996. Transition from endogenous to exogenous nutrition: larval size parameters determining the start of external feeding and size of prey ingested by ruegen spring herring *Clupea harengus*. *Marine Ecology Progress Series*, 130: 39-46.
- Callard, I., D. Riley y L. Pérez. 1990. Vertebrate Vitellogenesis: Molecular Model for Multihormonal Control of Gene Regulation. *Progress in Comparative Endocrinology*, 343-348.
- Campbell, C. y D. Idler. 1980. Characterization of an estradiol-induced protein from rainbow trout serum as vitellogenin by the composition and radioimmunological crossreactivity to ovarian yolk fractions. *Biology Reproductive*, 22: 605-617.
- Carlander, K.D. (1969) *Handbook of freshwater fishery biology*. Vol. 1. Iowa State University Press, Ames. 752 pp.
- Carnevali, O. y P. Belvedere. 1991. Comparative studies of Fish, Amphibian and Reptilian Vitellogenins. *The journal of Experimental Zoology*, 259:18-25.
- Catty, D. y C. Raykundalia. 1989. Gel Immunodiffusion, *Immunoelectrophoresis and Immunostaining Methods*. In: Chapter 6. Antibodies Volume I. A Practical Approach. David Catty Ed. pp. 203.
- Chan, S., C. Tân, M. Pang y T. Lam. 1991. Vitellogenin purification and development of assay for vitellogenin receptor in oocyte membranes of the tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1766). *The Journal of Experimental Zoology*, 257: 96-109.
- Chang, C., E. Lau, B. Lin y S. Jeng. 1996. Characterization of vitellogenin induced by estradiol 17- β in protandrus black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15(1): 11-19.
- Chavez-Lomeli, M., E. Matthews y M. Pérez-Vega (1989). *Biología de los peces del río San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura*. INIREB FUCID, Xalapa, Veracruz, Mex. 19- 27.

- Cheah, M. y C. Lee. 2000. Induced Ovulation of the Australian Eel-tailed Catfish *Neosilurus ater* (Perugia) with Ovaprim. *Asian Fisheries Science*, 13: 87-96.
- Cheema, I. y A. Maty. 1978. Increased uptake of L-leucine-¹⁴C in the skeletal muscle of rainbow trout, *Salmo gairdneri* after administration of growth hormone. *Pak. J. Zool.*, 10: 119-123.
- Chevassus, B. 1989. Constitution of aquacultural stocks: genetic aspects. In: *Advances in Tropical Aquaculture*. Tahiti, Feb. 20-March 4, 1989. AQUACOP. IFREMER. Actes de Colloque 9. pp. 569-592.
- Chiba, H., K. Iwatsuki, K. Hayami, A. Hara y K. Yamauchi. 1994. Changes in serum steroid hormones and vitellogenin levels in cultured female European eels *Anguilla anguilla* during artificial induced ovarian development. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(4): 553-559.
- Ciereszko, R., K. Dabrowski., A. Ciereszko., J. Ebeling y S. Ottobre. 1997. Effects of temperature and photoperiod on reproduction of female yellow perch *Perca flavescens*: Plasma concentrations of steroid hormones. Spontaneous and induced ovulation, and quality of eggs. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(4): 344-356.
- Clark, B. y E. Engvall. 1987. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Theoretical and Practical Aspects*. In: *Enzyme-Immunoassay*. Edward T. Maggio ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp. 167-179.
- Clarke, D.J., George, S.G., Burchell, B. 1991. Glucuronidation in fish. *Aquat. Toxicol* 20: 35-56.
- Clausen J. 1988. *Immunochemical Techniques for the Identification and Estimation of Macromolecules*. 3rd. Edition, Volume 1, Part 3 of series *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*. pp 181-213.
- Clemmesen, C. 1996. Importance and limits of RNA/DNA ratios as a measure of nutritional condition in fish larvae. In: *Survival strategies in early life stages of marine resources* (ed. by Watanabe, Y., Yamashita, Y. and Oozeki, Y.) Proceedings of an International Workshop, Yokohama, Japan, 11-14 October 1994. AA. Balkema, Rotterdam, the Netherlands, pp. 67-82.
- Comabella, Y., R. Mendoza, C. Aguilera, O. Carrillo, A. Hurtado y T. García-Galano. 2006. Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar (*Atractosteus tristoechus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 32(2): 147-157.
- Contreras-Balderas, S., M.L. Lozano-Vilano, M.E. García-Ramírez, F. García-de-León y D. Gutiérrez-Tirado. 2004. *Peces y aguas continentales del Estado de Tamaulipas, México*. En: M. L. Lozano-Vilano, & A. J. Contreras-Balderas, (Comps.). Homenaje al Dr. Andrés Reséndez-Medina. Universidad A. de Nuevo Leon, Depto. Publ.
- Contreras, F. 1993. Ecosistemas Costeros Mexicanos. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalápa, Primera edición, 415 p.
- Contreras, S. 1987. Aspectos reproductivos y desarrollo embrionario del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* (Gill), en el estado de Tabasco. Resúmenes IX Cong. Nal. Zoología, Villahermosa Tabasco, México.
- Contreras, W, G. Márquez y J. García. 1989. Habilitación de zonas pantanosas para el semicultivo del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* una propuesta para el manejo del ecosistema. En: Primer Seminario sobre Acuicultura PEMEX-UJAT en el estado de Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. pp 15-19.
- Cook, H., A. Cook y R. Peter. 1983. Ultrastructural immuno-chemistry of growth hormone cells in the goldfish pituitary gland. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 50: 348-353.
- Cooper, C. M. y Knight, S. S. 1987. Residual pesticides in fishes from Lake Chicot, Arkansas, Proc. Arkansas Acad. Sci. (1987) 41 26-8.
- Copeland, P. y P. Thomas. 1988. The measurement of plasma vitellogenin levels in a marine teleost, the spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*), by

- homologous radioimmunoassay. *Comp. Biochem. Physiol.*, 91B: 17-23.
- Copeland, P., J. Sumpter, T. Walker y M. Croft. 1986. Vitellogenin Levels in Male and Female Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Richardson) at Various Stages of the Reproductive Cycle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 83B(2): 487-493.
- Corbella, R. 1998. Contaminantes orgánicos en tres especies de *Patella* de la costa de la isla de Fuerteventura, Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Química, Facultad de Química, Universidad de la Laguna, España, 3-9 pp.
- Cortés, V. 2000. Purificación y caracterización de la vitelogenina plasmáticas y vitelina ováricas del cangrejo de río *Procambarus clarkii* (GIRARD, 1852) (Crustacea decapoda). Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma de Nuevo León. 64 pp.
- Cortés, V. 2003. Purificación y Caracterización de la Lipovitelina Ovárica de Ejemplares Adultos de *Atractosteus spatula*. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, 58 pp.
- Covens, M., L. Covens, F. Ollevier y De Loof. 1986. A comparative study of some properties of vitellogenin (Vg) and yolk proteins in a number of freshwater and marine teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 88B: 75-80.
- Craik, J. y S. Harvey. 1984. A Biochemical Method for Distinguishing Between Sexes of Fishes by Presence of Yolk Protein in the Blood. *Journal of Fish Biology*, 25: 293-303.
- Crim, L., D. Evans y B. Vickery. 1983. Manipulation of seasonal reproductive cycle of the Landlocked Atlantic salmon *Salmo salar* by LHRH analogues administered at various stages of gonadal development. *Canadian Journal of fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 61-67.
- Crim, W. y B. Glebe. 1984. Advancement and synchrony of ovulation in Atlantic salmon with pelleted LHRH analog. *Aquaculture*, 43: 47-56.
- Crumpton, J. 1980. Food Habits of Longnose Gar (*Lepisosteus Osseus*) and Florida Gar (*Lepisosteus platyrhincus*) Collected from Five Central, Florida Lakes. *Fish Management Specialist Florida Game and Fresh Water Fish Commission Fisheries Research Laboratory Eustis, Florida*. 24: 419-425.
- Cruz, J., C. Aguilera, R. Mendoza y J. Montemayor. 2009. Evaluación del catán (*Atractosteus spatula*) como especie centinela de contaminación. *56th Annual Meeting of The Southwestern Association of Naturalists*. Monterey, México 23-25 de Abril 2009.
- Cuisset B, C. Pelissero, F. Le Menn y J. Núñez-Rodríguez. 1991. ELISA for Siberian Sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) Vitellogenin. In: *Acipenser*. P. Williot Ed. Cemagref Publ. pp. 107-111.
- Dabrowski, K. and Moreau, R. (2005). Biosynthesis of ascorbic acid by extant actinopterygians, *Journal of Fish Biology*, Volume 57, Issue 3, 733-745.
- Dabrowski, K. y D. Culver. 1991. The physiology of larval fish, digestive tract and formulation of starter diets. *Aquaculture Magazine*, March/April: 49-61.
- Dabrowski, K. y R. Bardega. 1984. Mouth size and predicted food size preferences of larvae of three cyprinid fish species. *Aquaculture*, 40: 41-46.
- Dabrowski, K., S. Kaushik y B. Fauconneau. 1985. Rearing of sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) larvae I. Feeding Trial. *Aquaculture*, 47: 185-192.
- Dabrowski, K.R. 1986. Ontogenical aspects of nutritional requirements in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 85A(4): 639-655.
- De Vlaming, L.V., S. Wiley, G. Delahanty y R. Wallace. 1980. Goldfish (*Carassius auratus*) vitellogenin: induction, isolation, properties and relationship to yolk proteins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 67B: 613-623.
- Dean, B. 1895. The early development of gar-pike and sturgeon. *Journal of Morphology*, 11(1): 1-53.
- Denslow & Sepúlveda. 2007. Ecotoxicological effects of endocrine disrupting compounds on fish reproduction, in: P.J. Babin et al (eds.), *The Fish*

- Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications, 255–322.
- Dettlaff, T.A., A. Ginsburg y O. Schmalhausen. 1993. Development of prelarvae. In: *Sturgeon Fishes, Developmental Biology and Aquaculture*. Pp. 155-221 Springer-Verlag Ed., Berlin, Germany.
- Devresse, B, P. Candrea y P. Sorgeloos. 1991. A new artificial diet for the early weaning of seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. In: Larvi 91 - Fish and crustacean larviculture symposium, *European Aquaculture Society, Special Publication*, 15: 178-182.
- Drori, S., M. Ofir, B. Levavi-Sivan y Z. Yaron. 1994. Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide: analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture*, 119: 393-407.
- Dugas, C.N., M. Konikoff y M.F. Trahan. 1976. Stomach Contents of Bowfin (*Amia calva*) and Spotted Gar (*Lepisosteus oculatus*) Taken in Henderson Lake, Louisiana. *Louisiana Academy of Sciences*, 39: 28-34.
- Duray, M. y T. Bagarinao. 1984. Weaning of hatchery-bred milkfish larvae from live food to artificial diets. *Aquaculture*, 325-332.
- Echelle, A. y C. Riggs. 1972. Aspects of the early life history of gars (*Lepisosteus*) in Lake Taxoma. *Transactions of the American Fisheries Society*, 101: 106-112.
- Eckert, R., D. Randall y G. Augustine. 1988. *Animal Physiology, Mechanisms and adaptations*. W.H Freeman and Company, NY.
- Espinosa-Pérez, H., M.T. Gaspar-Dillanes y P. Fuentes-Mata. 1993. *Listados faunísticos de México*. III. Los peces dulceacuícolas mexicanos. Publ. Universidad Nacional Autónoma de México.
- FAO/PNUMA. 1984. Conservación de los recursos genéticos de los peces: Problemas y recomendaciones. *Informe de la consulta de expertos sobre los recursos genéticos de los peces*. FAO. Doc. Tec. Pesca, (217): 42p.
- Fauconneau, B., M. Mady y P. LeBail. 1996. Effect of growth hormone on muscle protein synthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol. Biochem.*, 15(1): 49-56.
- Fenske, M. y Segner, H. 2004. Aromatase modulation alters gonadal differentiation in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat. Toxicol.* 67:105-126.
- Ferguson, M. 1990. Heterozygosity and growth of rainbow trout reared at two rations. *Biol J Linn Soc.*, 40: 215–227.
- Ferrara A. y E. Irwin. 2001. A standardized procedure for internal sex identification in Lepisosteidae. *North American Journal of Fisheries Management* 21(4): 956-961.
- Ferraris, R.P., J. Tan y M. De La Cruz. 1987. Development of digestive tract of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): histology and histochemistry. *Aquaculture*, 61: 241-257.
- Ferron, A. y W. Leggett. 1994. An appraisal of condition measures for marine fish larvae. *Advances in Marine Biology*, 30: 217-303.
- Ferrara, A.M. 2001 Life-History strategy of Lepisosteidae: implications for the conservation and management of alligator gar. PhD. Dissertation, Department of Fisheries and Allied Aquaculture. Auburn University. Auburn, Alabama. Pp: 126.
- Flett, P. y J. Leatherland. 1989. Dose-related effects of 17 β -oestradiol (E2) on liver weight, plasma E2, protein, calcium and thyroid hormone levels, and measurement of the binding of thyroid hormones to vitellogenin in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of fish Biology*, 34: 515-527.
- Ford, W. M. y Hill, E. P. 1991. Organochlorine pesticides in soil sediments and aquatic animals in the Upper Steele Bayou Watershed of Mississippi. *Environ. Contam. Toxicol.* (1991), 20(2), 161-7.
- Foster, A.R., D. Houlihan, C. Gray, F. Medale, B. Fauconneau, S. Kaushik y P. LeBail. 1991. The effects of ovine growth hormone on protein turnover in rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 81: 111-120.
- Fostier, A, B. Jalabert, R. Billard, B. Breton y Y. Zohar. 1983.

- The Gonadal Steroids. In: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (editors). *Fish Physiology*, Vol. IXA. Academic Press, New York, N.Y. pp. 277-372.
- Francis, T. 1996. Studies on the effect of pituitary hormones and feeds on the reproduction of *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Tesis de Doctorado. Tamil Nadu Veterinary and Animal Sciences University, Madras, India. pp 205.
- Fridovich, I. 1972. Superoxide Radical and Superoxide Dismutase. *Accounts of Chemical Research*. 5, 321.
- Fuchs, J. y G. Fedelec. 1990. Larvae rearing and weaning of seabass, *Lates calcarifer* (Block), on experimental compounded diets. *Advances in Tropical Aquaculture*, Actes de Colloque 9 pp. 677- 697.
- Fujita, T., A. Takemura y K. Takano. 1998. Immunochemical detection of precursors proteins yolk and vitelline envelope, and their annual changes in the blood of *Diodon holocanthus*. *Journal of Fish Biology*, 52: 1229-1240.
- Fukuda, M., H. Sako, T. Shigeta y R. Shibata. 2001. Relationship between grow and biochemical indices in laboratory-reared juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), and its application to wild fish. *Marine Biology*, 138: 47-55.
- Gallardo W., A. Hagiwara, K. Hara y K. Soyano. 2006. Growth hormone-like substance in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Fisheries Science*, 72(4): 781-786.
- García, G., Aguilera, C., Mendoza, R. & Nuñez, A. 2009. Determinación de contaminantes en carne de catán de Nuevo León y Tamaulipas. 44° Congreso Mexicano de Química y 28° Congreso Nacional de Educación Química. Puebla, México, 26 – 30 de Septiembre 2009.
- García, J., G. Márquez y S. Páramo. 1997. Utilización de alimento fresco y artificial en la sustitución de alimento vivo para la cría de larvas y postlarvas del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. In: *Memorias de la Semana de Divulgación y Video Científico 1997*, Secretaría de servicios académicos Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, pp. 61-64.
- Gatsoupe, F. y P. Luquet. 1982. Weaning of the sole (*Solea solea*) before metamorphosis. *Aquaculture*, 26: 359-368.
- Gawlicka, A., S. Teh, S. Hung, D. Hinton y J. De La Noue. 1995. Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. *Fish Physiology and Biochemistry*, 14: 357-371.
- Gilbert, C.R. (1992) Alligator Gar, *Atractosteus spatula*. Pp. 129-133 in: Rare and endangered biota of Florida. Vol. 2. Fishes, C. R. Gilbert, (ed.), University Presses of Florida, Gainesville. 247 pp.
- Gill, J., J. Sumpter, E. Donaldson, H. Dye, L. Souza, T. Berg, J. Wypych y K. Langley. 1985. Recombinant chicken and bovine growth hormones accelerate growth in aquacultured juvenile Pacific salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Biotechnology*, 3: 643-646.
- Gimeno, S., Gerritsen. A., Bowmer, T. and Komen H. 1996. Feminization of male carp. *Nature* 384, 221-222.
- Gisbert, E., A. Rodríguez, F. Castelló-Orvay y P. Williot. 1998. A histological study of the development of the digestive tract of siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early ontogeny. *Aquaculture*, 167: 195-209.
- Goksoyr, A. 1995. Use of cytochrome P450 1A (CYP1A) in fish as a biomarker of aquatic pollution. *Arch. Toxicol. Suppl.* 17: 80-85.
- Goldstone, H. M. H., Stegeman, J. J. 2006. A Revised Evolutionary History of the CYP1A Subfamily: Gene Duplication, Gene Conversion, and Positive Selection, *J. Mol. Evol.* (2006) 62: 708-717.
- Gomez-Gomez, M. 1989. Reproducción del pejelagarto en estanquería rústica. *Primer seminario sobre Acuicultura PEMEX-UJAT en el Estado de Tabasco*. Villahermosa, Tabasco. Marzo, 1989. Pp.13-14.
- González del Pliego, P. 2009. Evaluación de bioindicadores enzimáticos de estrés y contaminación en especies del género *Sceloporus* (Familia: Phrynosomatidae), en sitios con distintos impactos antropogénicos, Tesis de licenciatura, Centro universitario de

- ciencias biológicas y agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México, 8 p.
- Goodyear, C.P. 1966. Distribution of Gars on the Mississippi Coast. *Mississippi Academy of Sciences*, 12: 188-192.
- Goodyear, C.P. 1967. Feeding Habits of Three Species of Gars, *Lepisosteus*, along the Mississippi Gulf Coast. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 96: 297-300.
- Gore, R.H. 1992. General Facts about the Gulf of Mexico. Available from: <http://www.gulfbase.org/facts.php>
- Goudie C., B. Simco, K. Davis y N. Parker. 1992. Reproductive performance of pigmented and albino female channel catfish induced to spawn with hCG or Ovaprim. *Journal of the World Aquaculture Society*, 23(2): 138-145.
- Govoni, J., W. George y Y. Watanabe. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes*, 16(1-3): 59-77.
- Grant, G.C. 1996. RNA-DNA ratios in white muscle tissue biopsies reflect recent growth rates of adult brown trout. *Journal of Fish Biology*, 48: 1223-1230.
- Gray, E., Ostby, J., Wolf, C., Lambright, C. y Kelce, W. 1998. The value of mechanistic studies in laboratory animals for the prediction of reproductive effects in wildlife: endocrine effects on mammalian sexual differentiation. *Environ. Toxicol. Chem.* 17:109-118.
- Gregory, E., Goscin, S., and Fridovich, I. 1974. Superoxide Dismutase and Oxygen Toxicity in a Eukaryote. *Journal of Applied Bacteriology*, 117: 456.
- Greshanovich, A.D. 1991. Lipid mobilization during early development of sturgeons. Ed. *Acipenser*, Cemagref Publ. pp. 41-51. P. Williot, Ed. *Acipenser*, Cemagref Pub., Moscow.
- Grizzle, J. y M. Curd. 1978. Posthatching histological development of the digestive system and swim bladder of logperch, *Percina caprodes*. *Copeia*, 3: 448-455.
- Gunter, G. 1945. Studies on marine fishes of Texas. *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Tex.* 1(1):1-190.
- Gwo, J., S. Strawn y C. Arnold. 1993. Induced ovulation in atlantic croaker (Scianidae) using hCG and LHRH analog: a preliminary study. *Theriogenology*, 39: 353-361.
- Habig, C., Di Giulio, R. T. 1991. Biochemical characteristics of cholinesterases in aquatic organisms. In: Mineau P (ed) *Cholinesterase-inhibiting insecticides*, Elsevier, Amsterdam, p 20-33.
- Haniffa, M., R. Merlin y T. Francis. 2000. Induced spawning of the striped murrel *Channa striatus* using pituitary extracts, human chorionic gonadotropin, luteinizing hormone releasing hormone analogue and ovaprim. *Acta Ichth. Piscat.*, 30: 53-60.
- Hanna, S and H. Blough, 2000. Improving Federal Fisheries Management in the Gulf of Mexico Region. 1st ed. New Orleans, Louisiana.: The H. John Heinz III Center for Science, Economics and the Environment, p. 34.
- Harrison , P.T.C., Humfrey, C.D.N., Litchfield, M., Peakal, D. y Schuker, L.K. 1995. IEH Assessment of Environmental Oestrogens: Consequences to Human Health and wildlife. Page Bros, Norwich, UK, p. 107.
- Hartley, W. R., Thiyagarajah, A. y Treinies, A. M. 1996. Liver lesions in the gar fish (Lepisosteidae) as biomarkers of exposure, *Marine Environmental Research* Vol. 42, No. 1-4, 217-221 pp.
- Hayes, J., Flanagan J. and Jowsey, I. 2005. Glutathione transferases, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005. 45:51-88.
- Head, D., W. Watanabe, S. Ellis y E. ELLIS. 1996. Hormone induced multiple spawning of captive Nassau grouper broodstock. *The Progressive Fish Culturist*, 58: 65-69.
- Hecht, T. y A. Peinar. 1993. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24(2): 246-261.
- Hennies, M., M. Wiesmann, B. Allner y H. Sauerwein. 2003. Vitellogenin in carp (*Cyprinus carpio*) and perch (*Perca fluviatilis*): Purification, Characterization and Development of an ELISA for the Detection

- of Estrogenic Effects. *The Science of the Total Environment*, 309: 93-103.
- Heppell, S. y C. Sullivan. 1999. Gag (*Mycteroperca microlepis*) Vitellogenin: Purification, Characterization and Use for Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) of Female Maturity in Three Species of Grouper. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20: 361-374.
- Hernández, U. 1999. Punto crítico de no-retorno en larvas de pejelagarto *Atractosteus spatula* (Gill, 1863). Tesis de Licenciatura Inédita. División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco 1997. pp. 46.
- Hernández, U. 2002. Identificación del Sexo y Evaluación de la Inducción Hormonal en el Pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, 84 p.
- Hernández, U., G. Marquez, S. Páramo, S. Félix y S. Hernández. 1997. Valor nutritivo de nauplios de *Artemia spp.* y uso en la larvicultura del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. In: Memorias de la Semana de Investigación y Divulgación Científica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco 1997. pp. 65-68.
- Hewitt, J. and Morris, J. 1975. Superoxide Dismutase in Some Obligately Anaerobic Bacteria. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 50: 315.
- Higgs, D., E. Donaldson, H. Dye y J. McBride. 1975. A preliminary investigation of the effect of bovine growth hormone on growth and muscle composition of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen Comp. Endocrinol.*, 27: 240-253.
- Higgs, D., E. Donaldson, H. Dye y J. McBride. 1976. Influence of bovine growth hormone and L-thyroxine on growth, muscle composition and histological structure of the gonads, thyroid, pancreas and pituitary of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Board Ca.*, 33, 1585-1603.
- Hiramatsu, N., M. Shimizu, H. Fukada, M. Kitamura, K. Ura, H. Fuda y A. Hara. 1997. Transition of Serum Vitellogenin Cycle in Sakhalin Taimen (*Hucho perryi*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 118C (2): 149-157.
- Ho, S.M. 1987. Endocrinology of Vitellogenesis. In: *Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles*. Norris, D.O. and Jones, R.E. (eds.) Plenum Press, N. Y., 145-169 pp.
- Holloway, A. 1954. Notes on the life history and management of the shortnose and longnose gars in Florida waters. *Journal of Wildlife Management*, 18(4): 440-449.
- Hopkins, S.H. 1954. The American species of trematode confused with *Bucephalus* (*Bucephalopsis*) *haimeanus*. *Parasitology*, 44: 353-370.
- Hopkins, S.H. 1967 *Rhipidocotyle lepisostei* Hopkins, 1954, in gars caught in freshwater. *Journal of Parasitology*, 53: 491.
- Hoque, M., A. Takemura y K. Takano. 1998. Annual Changes in Oocyte Development and Serum Vitellogenin Level in the Rabbitfish *Siganus canaliculatus* (Park) in Okinawa, Southern Japan. *Fisheries Science*, 64(1): 44-51.
- Hori, S., T. Kodama y K. Kanahashi. 1979. Induction of vitellogenin synthesis in goldfish by massive doses of androgens. *General and Comparative Endocrinology*, 37: 306-320.
- Houlihan, D., E. Mathers y A. Foster. 1993. Biochemical correlates of growth rate in fish. In: *Fish Ecophysiology* (ed. by J. Cliff and B. Jensen) pp. 45-71. Chapman and Hall, London. pp.421.
- Huang, T. L., Obih P. O., Jaiswal R., Hartley W. R. y Thiyagarajah A. 1997. Evaluation of liver and brain esterases in the spotted gar fish (*Lepisosteus oculatus*) as biomarkers of effect in the lower Mississippi river basin, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58 :688-695.
- Huang, T. L., Shiotsuki, T., Uematsu, T., Borhan, B., Li, Q. X., Hammock, B. D. 1996. Structure-activity relationships for substrates and inhibitors of mammalian liver microsomal carboxylesterases. *Pharm Res* 13: 1493-1498.
- Hunter, J.R. 1981. Feeding Ecology and Predation of

- Marine Fish Larvae. In: *Marine Fish Larvae* (ed. By Lasker, R.), pp. 34-59. Washington Sea Grant Program Publisher.
- Inaba, K., C. Corazon, F. Buerano, F. Natividad y M. Masaaki. 1997. Degradation of Vitellogenins by 170 kDa Trypsin-Like Protease the plasma of the Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 118B: 85-90.
- INEGI, 1984. Geografía en informática, Dirección General de Geografía, Marzo 26 de 1984.
- Inui, Y., M. Tagawa, S. Miwa y T. Hirano. 1989. Effects of bovine TSH on the tissue thyroxine level and metamorphosis in prometamorphic flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology*, 74: 406-410.
- Iracheta, I. 2006. Determinación de las principales enzimas digestivas y efectos de diferentes regimenes alimenticios en larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Tesis Inédita. Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. pp. 63.
- Jelks, H., S.J. Walsh, N.M. Burkhead, S. Contreras-Balderas, E. Díaz-Pardo, D.A. Hendrickson, J. Lyons, N.E. Mandrak, F. McCormick, J.S. Nelson, S.P. Platania, B.A. Porter, C.B. Renaud, J.J. Schmitter-Soto, E.B. Taylor y M.L. Warren. 2008. Conservation status of imperiled North American freshwater and diadromous fishes. *Fisheries*, 33(8): 372-402.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C.R., Brighty, G., Sumpter, J.P. 1998. Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ Sci Technol* 32:2498-2506.
- Johanning, K.M. y J.L. Specker. 1995. Characterization of yolk proteins during oocyte development of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 112B(2): 177-189.
- John, H. y M. Cloppman. 1989. Ontogenetic changes in the vertical distribution of larval *Mauolicus muelleri*. *Archiv for Fischereiwissenschaft*, 39: 79-93.
- Johnsen, H., H. Tveiten, N. Willassen y A. Arnesen. 1999. Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) vitellogenin: development and validation of enzyme-linked immunosorbent assay. *Comparative Biochemistry and Physiology, PartB: Biochemistry & Molecular Biology*, 124 (3): 355-362.
- Kaji, T., M. Tanaka, Y. Takahashi, M. Oka y N. Ishibashi. 1996. Preliminary observations on development of pacific bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Scombridae) larvae reared in the laboratory, with special reference to the digestive system. *Mar. Freshwater Res.*, 4: 261-269.
- Kanungo, J., T. Petrino y R. Wallace. 1990. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. VI. Establishment and verification of conditions for vitellogenin incorporation by oocytes in vitro. *The Journal of Experimental Zoology*, 254: 313-321.
- Kather, M. y S. Sridhar. 2002. Induced spawning of spotted murrel (*Channa punctatus*) and catfish (*Heteropneustes fossilis*) using human chorionic gonadotropin and synthetic hormone (ovaprim). *Veterinarski Arhiv*, 72 (1): 51-56.
- Keller, L. y D. Waller. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *TRENDS in Ecology & Evolution*, 17(5): 230-241.
- Ketterer, B. and Taylor, J. B. 1990. Glutathione transferases. In: Ruckpaul, K. and Rein, H. (eds). Principles, mechanisms and biological consequences of induction. Akademie Verlag, Berlin, 244-277.
- Klotz, A. V., J. J. Stegeman, and C. Walsh. 2004. An alternative 7-ethoxyresorufin O-Deethylase activity assay: a continuous visible spectrophotometric method for measurement of cytochrome P-450 monooxygenase activity. *Anal. Biochem.* 140:138-145.
- Khoo, K. 1979. The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in goldfish ovaries. *Canadian Journal of Zoology*, 57: 617-626.
- Kishida, M. y J. Specker. 1994. Vitellogenin in tilapia (*Oreochromis mossambicus*): Induction of two forms by estradiol, quantification in the plasma, and characterization in plasma and mucus. *Fish Physiology and Biochemistry*, 12: 171-182.
- Kishida, M., T. Anderson y J. Specker. 1992. Induction by

- Estradiol of Vitellogenin in Striped Bass (*Morone saxatilis*): Characterization and Quantification in Plasma and Mucus. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 88: 29-39.
- Kobuke, L., J. Specker y H. Berni. 1987. Thyroxine content of eggs and larvae of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *J. Exp. Zool.*, 248: 168-176.
- Kolkovski, S., A. Tändler, G. Kissil y A. Gertler. 1993. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 12(3): 203-209.
- Komatsu, M., W. Matsumoto y S. Hayashi. 1996. Protease activity appeared after trypsin treatment of the purified vitellogenin from *Anguilla japonica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 113B(3): 561-571.
- Komourdjian, M., R. Saunders y J. Fenwick. 1976. The effect of porcine somatotropin on growth and survival in seawater of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Zool.*, 54: 531-535.
- Kucharczyk, D., R. Kujawa, M. Luczynsky, J. Glogowski, I. Babiak y E. Wyszormirska. 1997. Induced spawning in bream *Abramis brama* (L.), using carp and bream pituitary extract and hCG. *Aquaculture Research*, 28: 139-144.
- Kupfer, D. 1995. Metabolism of xenobiotic proestrogens and estrogens by cytochrome P450. In "Molecular Aspects of Oxidative Drug Metabolizing Enzymes: Their significance in Environmental toxicology, chemical carcinogenesis and health" (Eds. E. Aronow et al.) Springer Verlag 470-489 pp.
- Küster, E. 2005. Cholin- and carboxylesterase activities in developing zebrafish embryos (*Danio rerio*) and their potential use for insecticide hazard assessment, *Aquatic Toxicology*, Volume 75, Issue 1, 5 October 2005, 76-85 pp.
- Labrot, F. D., Ribera, M., Saint Denis y Narbonne, J. F. 1996. In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contaminants: lipid peroxidation, acetylcholinesterase, catalase and glutathione peroxidase activities in three nonmammalian species. *Biomarkers* 1:21-28.
- Lacroix, M., E. Devinoy, S. Cassy, J. Servely, M. Vidaud y G. Kann. 1999. Expression of growth hormone and its receptor in the placental and feto-maternal environment during early pregnancy in sheep. *Endocrinology*, 140(12): 5587-97.
- LaFleur, G., B. Byrne, J. Kanungo, L. Nelson, R. Greenberg y R. Wallace. 1995. *Fundulus heteroclitus* vitellogenin: the deduced primary structure of a piscine precursor to noncrystalline, liquid-phase yolk protein. *Journal of Molecular Evolution*, 41: 505-521.
- Lam, T.J. 1980. Tyroxine enhances larval development and survival in (Tilapia) *Sarotherodon mossambicus* Rupell. *Aquaculture*, 21: 287-291.
- Lam, T.J. 1985. Induced spawning in fish. *Reproduction and culture of milkfish*. Oceanic Institute, Hawaii and Tungkang Marine Laboratory, Taiwan., Lee, C. S. and Lio, I. C. (eds.), 14-56.
- Lancaster, P. y C. Tyler. 1994. Developmental expression and modulation of the vitellogenin receptor in ovarian follicles of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *The Journal of Experimental Zoology*, 269: 458-466.
- Länge, R., Hutchinson, T.H., Croudace, C.P., Siegmund, F., Schweinfurth, H. y Hampe, P. 2001. Effects of the synthetic estrogen 17 α -ethinyloestradiol on the life-cycle of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ. Toxicol. Chem.* 20:1216-1227.
- Lauf, M. y R. Hoffer. 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*, 37: 335-346.
- Lavelle, F., Michelson, A., and Dimitrijevic, L. 1973. Biological Protection by Superoxide Dismutase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 55: 350.
- Lazo, J. 2000. Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. In: *Avances en nutrición acuícola* V. Memorias del 5^o

- Simposium Internacional de Nutrición acuícola (ed. by Cruz- Suárez, L. E., Ricque-Marie, O., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M. A. y Civera-Cerecedo, R.), pp. 300-312. 19-22 Noviembre, 200. Mérida, Yuc., México.
- León, L., R. Aguiar y Hernández. 1978. Estudio sobre la biología y el cultivo artificial del manjuari (*Atractosteus tristoechus*) Bloch y Schmeider. *Ministerio de la Industria Pesquera, Dirección Ramal de Acuicultura*, Investigación No. 85, Cuba. Pp. 1-35.
- Lin, F., A. Ciereszko y K. Dabrowski. 1996. Sperm production and cryopreservation in muskellunge after carp pituitary extract and human chorionic gonadotropin injection. *The Progressive Fish Culturist*, 58: 32-37.
- Liu, S., F. Wang, M. Yang, J. Wang, J. Yang y Z. Huang. 2003. Investigation and study on the alien species in aquaculture in Shandong Province. *Marine Fisheries Research*, 24(3): 66-71.
- Lloret J., G. Wegner, J. Lleonart, K. I. Stergiou, J. M. Fromentin, B. Mackenzie, U. Damm and P. Drakopoulos, 2006. Variability of physical factors relevant to fisheries production in the Mediterranean Sea, North Sea and Baltic Sea. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 22 ((1-4)), p. 73-82.
- Lovejoy, D., W. Fischer, S. Ngamvongchon, A. Craig, C. Nahorniak, R. Peter, J. Rivier y N. Sherwood. 1992. Distinct sequence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in dogfish brain provides insight into GnRH evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 15; 89(14): 6373-6377.
- Lovshin, L. y H. Rushing. 1989. Acceptance by largemouth bass fingerlings of pelleted feeds with a gustatory additive. *The Progressive Fish-Culturist*, 51: 73-78.
- Maitre, J., C. Le Guellec, S. Derrien, M. Tenniswood y Y. Valotaire. 1985. Measurement of Vitellogenin from Rainbow Trout by Rocket Immunoelectrophoresis: Application to the kinetic Analysis of Estrogen Stimulation in the Male. *Can. J. Biochem. Cell Biol.* 63: 982-987.
- Maldonado, E. 1991. Aprovechamiento de peces forrajeros en la alimentación de *Atractosteus tropicus* (Gill) en jaulas flotantes en el Estado de Tabasco, Mexico. *Universidad y Ciencia*, 8(15), 77-90.
- Mañanós, E., J. Nuñez, S. Zanuy, M. Carrill y Le Menn. 1994a. Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) vitellogenin. II- Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Comp. Biochem. Physiol.*, 107B(2): 217-223.
- Mañanós, E., S. Zanuy, Le Menn, M. Carrillo y J. Nuñez. 1994b. Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) vitellogenin. I- Induction, purification and partial characterization. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107B(2): 205-216.
- Markert, J.R., D. Higgs, H. Dye y D. MacQuarrie. 1977. Influence of bovine growth hormone on growth rate, appetite, and food conversion of yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed two diets of different composition. *Can. J. Zool.*, 55: 74-83.
- Marr, C. 1999. Improving efficiency in starter feeds. *Aqua Feed*, 4: 18-20.
- Mathers, E.M., D. Houlihan y L. Burren. 1994. RNA, DNA and protein concentrations in fed and starved herring *Clupea harengus* larvae. *Mar Ecol. Prog. Ser.*, 107: 223-231.
- Matsubara, T, T. Wada y A. Hara. 1994. Purification and establishment of ELISA for vitellogenin of Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 109B(4): 545-555.
- Matsubara, T. y K. Sawano. 1995. Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). *The Journal of Experimental Zoology*, 272: 34-45.
- Matsubara, T., N. Ohkubo, T. Andoh, C. Sullivan y A. Hara. 1999. Two forms of Vitellogenin, yielding two distinct Lipovitellins, play different roles during oocyte maturation and early development of Barfin Flounder, *Verasper moseri*, a marine teleost that spawns pelagic eggs. *Developmental Biology*, 213: 18-

- 32.
- Matsubara, T., S. Honda, T. Wada, K. Soyano y A. Hara. 1995. Seasonal changes in serum vitellogenin and estradiol 17- β related to sexual maturation in rearing female Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. *Bull. Hokkaido Natl. Fish. Res. Inst.*, 59: 19-29.
- Matty, A.J. 1962. Effects of mammalian growth hormone on *Cottus scorpius* blood. *Nature* (London). 195: 506-507.
- May, E. y A. Echelle. 1968. Young-of-year alligator gar in Lake Taxoma, Oklahoma. *Copeia*, 3: 629- 630.
- Mayes, K., P. Rosenblum y T. Brandt. 1993. Raceway spawning of Florida largemouth bass: effects of acclimatation time and hormone treatment on spawning success. *The Progressive Fish-Culturist*, 55(1): 1-8.
- McFadzen, I., D. Lowe y S. Coombs. 1994. Histological changes in starved turbot larvae (*Schophthalmus maximus*) quantified by digital image analysis. *Journal of Fish Biology*, 44: 255-262.
- Medale, F., B. Fauconneau y S. Kaushick. 1988. Effect of GH administration on energy metabolism in rainbow trout. In: *Energy Transformation in Cells and Organisms* (ed. by W. Wieser and E. Gnaiger), pp. 240. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Mendoza, A., S. Páramo, W. Contreras y G. Márquez. 1993. Alternativas de desarrollo piscícola para el manejo de áreas inundadas. *Tabasco: Realidad y Perspectivas*. Tomo III. Economía y Desarrollo. Gobierno del Estado de Tabasco. Editorial Porrua. pp. 263-303.
- Mendoza, R. y C. Aguilera. 1998. Acuicultura: El contexto educacional y de la investigación en México y Canadá. In: *Estudios Canadienses en México*. R. Reboloso y R. Mendoza Editores. Monterrey, N.L. pp. 147-166.
- Mendoza, R. y C. Aguilera. 2001. Bases Fisiológicas del desarrollo de larvas de *Atractosteus spatula* y perspectivas para su cultivo. *Ciencia-UANL*, 4(2): 161-166.
- Mendoza, R. y C. Aguilera. 2008. Estrategias de alimentación para el cultivo de larvas de catán (*Atractosteus spatula*). *CIENCIA UANL*, 11(4): 366-376.
- Mendoza, R., A. Revol, C. Fauvel, J. Patrois y J. Guillaume. 1997. Influence of squid extracts on the triggering of secondary vitellogenesis in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 3: 55-63.
- Mendoza, R., Aguilera, C. and Ferrara, A. (2008). Gar biology and culture: status and prospects, *Aquaculture Research*, 2008, 39, 748-763.
- Mendoza, R., C. Aguilera y A. Ferrara. 2008a. Gar Biology and Culture: status and prospects. *Aquaculture Research*, 39: 748-763.
- Mendoza, R., C. Aguilera y J. Montemayor. 2001. Effects of thyroid hormones and glucocorticoids on alligator gar *Atractosteus spatula* larval development. *World Aquaculture Society*. Orlando, Florida, USA. Page 434.
- Mendoza, R., C. Aguilera y L. Carreón. 2002c. Acidos nucleicos para evaluar la condición de larvas de peces. *Ciencia-UANL*, 5(2): 211-217.
- Mendoza, R., C. Aguilera, G. Rodríguez y G. Márquez. 2000c. Estrategias para la domesticación de especies en acuicultura: El catán (*Atractosteus spatula*). In: *Redes Nacionales de Investigación en Acuicultura*, Memorias de la V Reunion (ed. by Alvarez Torres, Ramírez-Flores, Torres- Rodríguez y Mora-Cervantes), pp. 95-102. Instituto Nacional de Pesca-SEMARNAP. Distrito Federal, México.
- Mendoza, R., C. Aguilera, G. Rodríguez, M. González y R. Castro. 2002a. Morphophysiological studies on alligator gar (*Atractosteus spatula*) larval development as a basis for their culture and repopulation of their natural habitats. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12: 133-142.
- Mendoza, R., C. Aguilera, J. Montemayor, G. Rodríguez, y G. Márquez. 2000a. Biología de los lepisostéidos y estudios orientados hacia la recuperación de las poblaciones naturales del catán (*Atractosteus spatula*) (Lacepède, 1803). In: *Redes nacionales de investigación*

- en acuicultura*, Memorias de la IV Reunión P. (ed. by Álvarez, Guzmán, M., Contreras, S. y Silva, A.), pp. 103-120. SEMARNAP, Instituto Nacional de la Pesca. Distrito Federal, México.
- Mendoza, R., C. Aguilera, L. Carreon, J. Montemayor y M. González. 2008b. Weaning of Alligator Gar (*Atractosteus spatula*) larvae to artificial diets. *Aquaculture Nutrition*, 14: 223-231.
- Mendoza, R., C. Aguilera, L. Carreón, J. Montemayor y M. González. 2002b. Early weaning of alligator gar *Atractosteus spatula* larvae. *Aquaculture 2002*, WAS. San Diego, California, Enero 27-30 2002. Page 214.
- Mendoza, R., C. Aguilera, V. Ruiz, F. García-Carreño, H. Nolasco, J. Montemayor y G. Rodríguez. 2000d. Enzyme ontogenetic larval development of the alligator gar *Atractosteus spatula* in México: Perspectives for its culture. *World Aquaculture Society*. New Orleans, USA. Feb, 2000. page 219.
- Mendoza, R., M. Garza-Rodríguez, V. Hernández-Montenegro, C. Aguilera, H. Barrera Saldaña y A. Revol. 2002d. Cloning of the growth hormone cDNA of alligator gar *Atractosteus spatula* and its expression along larvae stages. *World Aquaculture Society*. San Diego, California USA. January, 2002. Page 213.
- Miller, R., W.L. Minckley y S.M. Norris. 2005. *Freshwater fishes of México*. The University of Chicago Press, Chicago. 490 pp.
- Mommsen, T. 1998. Growth and Metabolism. In: *The Physiology of Fishes*. (ed. by D.H., Evans). CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 65-97.
- Mommsen, T. y P. Walsh. 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. In: *Fish Physiology*. Hoar, W. S. and D. J. Randall Eds. Academic Press, London. XIA: 347-406.
- Montaner, A., M. Park, H. Wolfgang, A. Fischer, G. Craig, P. Chang, G. Somoza, E. Rivier y M. Sherwood. 2001. Primary Structure of a Novel Gonadotropin-Releasing Hormone in the Brain of a Teleost, Pejerrey. *Endocrinology*, 142(4): 1453-1460.
- Moore, G., M. Trautman y M. Curd, 1973. Description of postlarval gar (*Lepisosteus spatula* Lacepede, Lepisosteidae), with a list of associated species from the Red River, Choctaw County, Oklahoma. *The Southwest Naturalist*, 18: 343-344.
- Morales, G. 1987. Reproducción y desarrollo embriológico del catán (*Lepisosteus spatula* Lacepede) Primeros resultados. Secretaría de Pesca. Manual Técnico para el Aprovechamiento de Existencias Silvestres. pp 41-70.
- Mosconi, G., O. Carnevali, R. Carletta, M. Nabissi y A. Polzonetti-Magni. 1998. Gilthead seabream (*Sparus aurata*) vitellogenin: purification, partial characterization, and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *General and Comparative Endocrinology*, 110(3): 252-261.
- Moyano, F., M. Diaz, F. Alarcon y M. Sarasquete. 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 15(2): 121-130.
- Mugnier, C., M. Guennoc., E. Lebegue., A. Fostier y B. Breton. 2000. Induction and synchronisation of spawning in cultivated turbot *Scophthalmus maximus* L. broodstock by implantation of sustained-release GnRH-a pellet. *Aquaculture*, 181: 241-255.
- Munilla-Moran, R. y F. Saborido. 1996. Digestive enzymes in marine species I. Proteinases activities in gut from red fish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 113B: 395- 402. 384
- Mylonas, C., J. Hinshaw y C. Sullivan. 1992. GnRH-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. *Aquaculture*, 106: 379-392.
- Mylonas, C., Y. Zohar., C. Woods., P. Thomas y R. Schul. 1998. Hormone profiles of captive striped bass *Morone saxatilis* during spermiation and long term enhancement of milt production. *Journal of World Aquaculture Society*, 29(4): 379-392.

- Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. In: W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson (editors). *Fish Physiology*, Vol. IXA. Academic Press, New York, N.Y. pp. 223-275.
- Nagahama, Y. 1987. Endocrine control of oocyte maturation. *Hormones and reproduction in fishes, amphibian and reptiles*. Norris D. O. and Jones R. E. (eds.) Plenum Press, N.Y., 171-203.
- Nagahama, Y., M. Yoshikuni, M. Yamashita, N. Sakai y M. Tanaka. 1993. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation on fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 11(1-6): 3.14.
- Nagler, J., R. Tyler y J.P. Sumpster. 1994. Ovarian follicles of rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) cultured within lamellae survive well, and sequester and process vitellogenin. *The Journal of Experimental Zoology*, 269: 45-52.
- Nandeesh, M., K. Rao, R. Jayanna, N. Parker, T. Varghese, P. Keshavanath y H. Shetty. 1990. Induced spawning of Indian major carps through single application of Ovaprim-C. In: The Second Fisheries Forum. (Eds. Hirano, R. and Hanyu, I.) Asian Fisheries Society, Manila, Phillippines. 991 pp.
- Nandheesha, M., G. Bhadrswamy, J. Patil, T. Varghese, K. Sharma y P. Keshavanath. 1993. Preliminary results on induced spawning of pond-raised maser. *Tor khudree. J. Aqu. Trop.* 8: 55-60.
- Nebert, D.W., McKinnon, R.A. and Puga, A. 1996. Human drug metabolizing enzyme polymorphisms effects on risk of toxicity and cancer DNA. *The Journal of Cell Biology*. 15: 273-280.
- Nebert, D.W., Nelson, D.R., Coon, M.J., Estabrook, R.W., Feyereisen, R., Fujii-Kuriyama, Y., Gonzalez, F., Guengerich, F.P., Gunsalus, I.C., Jonson, E.F., Loper, J.C., Sato, R., Waterman, M.R., Waxman, D.J. 1991. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, and nomenclature. *DNA Cell Biol.* 10: 1-14
- Nebert, D.W., Nelson, D.R., Feyereisen, R. 1989. Evolution of the cytochrome P450 genes. *Xenobiotica* 19: 1149-1160.
- Nelson, J.S. 2006. *Fishes of the world*. 4a. edición. John Wiley and sons, Inc. New York. 624 pp.
- Netch, M. 1964 Food and feeding habits of longnose gar in Central Missouri. In: The 18th Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners, Florida, pp: 506-511.
- Netch, M. y A. Witt. 1962. Contributions to life history of the longnosegar (*Lepisosteus osseus*) in Missyri. Missouri Wildlife Research Unit: U.S. Fish and Service. 251-262.
- Ng, T.B. y D. Idler. 1983. Yolk Formation and Differentiation in Teleost Fishes. In: *Fish Physiology IXA. Reproduction Part. A: Endocrine Tissues and Hormones*. W.S. Hoar; D.J. Randall y E.M. Donaldson (Eds.). Academic Press Inc., London. p. 373-404.
- Niethammer, K. R., White, D. H., Baskett, T. S. y Sayre, M. W. 1984. Presence and biomagnification of organochlorine chemical residues in Oxbow Lakes of northeastern Louisiana, Environ. Contam. Toxicol. (1984), 13(1), 63-74.
- Nimno, I.A. 1987. The glutathione S-transferases of fish. *Fish Physiol. Biochem.* 3: 163-172.
- Nishi, K., M. Chikae, Y. Hatano, H. Mizukami, M. Yamashita, R. Sakakibara y E. Tamiya. 2002. Development and application of monoclonal antibody-based sandwich ELISA for quantification of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) vitellogenin. *Comparative Biochemistry Physiology*, 132C(2): 161-169.
- Norberg, B. y C. Haux. 1985. Induction, isolation and characterization of the lipid content of plasma vitellogenin from two Salmo species: Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and sea trout (*Salmo trutta*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 81B(4): 869-876.
- Norberg, B. y C. Haux. 1988. An Homologous Radioimmunoassay for Brown Trout (*Salmo trutta*) Vitellogenin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 5(2): 59-68.
- Nuñez-Rodríguez, J., O. Kah, M. Geffard y F. Le Menn.

1989. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Sole (*Solea vulgaris*) Vitellogenin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 92B(4): 741-746.
- Nuñez, J., E. Bon y F. Le Menn. 1996. Vitellogenin receptors during vitellogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *The Journal of Experimental Zoology*, 274: 163-170.
- Oosterhout, C., W. Zijlstra, M. Heuven y P. Brakefield. 2000. Inbreeding depression and genetic load in laboratory metapopulations of the butterfly *Bicyclus anynana*. *Evolution*, 54: 56-64.
- Oozeki, Y., T. Ishii y R. Hirano. 1989. Histological study of the effects of starvation on reared and wildcaught larval stone flounder *Kareius bicoloratus*. *Mar. Biol.*, 100: 269-275.
- Opresko, L., H. Wiley y R. Wallace. 1981. Receptor-mediated binding and internalization of vitellogenin by *Xenopus* oocytes. *J. Cell Biol.*, 91: 218a.
- Orlando, E. F., Binczik, G. A., Kroll, K. J. y Guilette, L. J. 2002. The contaminant-associated stress response and its relationship to plasma stress and sex steroid concentrations in the Florida gar, *Lepisosteus platyrhincus*, Environmental Sciences (Tokyo, Japan) (2002), 9(4), 329-342.
- Orlando, E., G. Binczik, N. Denslow y L. Gillette. 2007. Reproductive seasonality of the female Florida gar, *Lepisosteus platyrhincus*. *General and Comparative Endocrinology*, 151: 318-324.
- Örn, S., Holbeck, H., Madsen, T.H., Norrgren, L. y Petersen, G.I. 2003. Gonad development and vitellogenin production in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to ethinylestradiol and methyltestosterone. *Aquat. Toxicol.* 65:397-411.
- Oruç, E. Ö. and Üner, N. 2000. Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 127 (2000) 291-296.
- Pandey, A., R. Patiyal, J. Upadhyay, M. Tyagi y P. Mahanta. 1998. Induced spawning of the endangered golden mahseer, *Tor putitora*, with ovaprim at the state fish farm near Dehradun. *Indian Journal of Fisheries*, 45(4): 457-459.
- Pantaleon, M., E. Whiteside, M. Harvey, R. Barnard, M. Waters y P. Kaye. 1997. Functional growth hormone (GH) receptors and GH are expressed by preimplantation mouse embryos: a role for GH in early embryogenesis? *Proc Natl Acad Sci USA.*, 94(10): 5125-30.
- Paschen, W., and Weser, U. 1973. Singlet Oxygen Decontaminating Activity of Erythrocyte (Superoxide Dismutase). *Biochimica et Biophysica Acta.* 327: 217.
- Patiño, R. 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *The progressive fish-culturist*, 59: 118-128.
- Payne, J. F., Rahimtula, A. D. y Porter, E. L. 1987. Review and perspective on the use of mixed-function oxygenase enzymes in biological monitoring. *Comp Biochem Physiol* 86C: 233-245.
- Pearson, W., G. Thomas y A. Clark. 1979. Early piscivory and timing of the critical period in postlarval longnose gar at mile 571 of the Ohio River. *Transactions of the Kentucky Academy of Science*, 40(3-4): 122-128.
- Pelissero, C., B. Bennetau, P. Babin, F. Le Men y J. Dunogues. 1991. The estrogenic activity of certain phytoestrogens in the siberian sturgeon *Acipenser baeri*. *Journal Steroid Biochemical Molecular*, 38: 293-299.
- Perera, F. P. 2000. Molecular epidemiology: on the path to prevention. *Journal of the Natural Cancer Institute*. 92: 602-612.
- Pérez-Sánchez, E. 1995. Efecto de la gonadotropina coriónica humana (GCH) en la maduración gonádica del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) Gill 1823, en condiciones de laboratorio. Tesis de licenciatura Inédita, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas, 28 pp.
- Pérez-Sánchez, E. y S. Páramo. 1998. Estudio histológico de las gónadas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*

- (Lepisosteiformes: Lepisosteidae). *Universidad y Ciencia*, 14(27): 69-82.
- Person-Le Rouyet, J. 1990. Early weaning of fish larvae onto microdiets: constraints and perspectives. In: *Advances in tropical Aquaculture, Aquacop-IFREMER, Actes de Colloque 9*, pp 625-642.
- Peter, R. 1983. The brain and neurohormones in teleosts reproduction. In: W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson (editors). *Fish Physiology*, Vol. IXA. Academic Press, New York, N.Y. pp. 97-136.
- Petkau, A., Chelack, W., Pleskach, S., Meeker, B., and Brady, C. 1975. Radioprotection of Mice by Superoxide Dismutase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 65: 886.
- Pickford, G.E. y E. Thompson. 1948. The effects of purified mammalian growth hormone on the killfish *Fundulus heteroclitus* (Linn). *J. Exp. Zool.*, 109: 367-383.
- Pickford, G.E. y J. Atz. 1957. *The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes*, pp. 1-91. New York Zoological Society, New York.
- Powell, F, S. Reska-Skinner, M. Prakash, W. Fischer, M. Park, J. Rivie., A. Craig, G. Mackie y N. Sherwood. 1994. Two new forms of gonadotropin-releasing hormone in a protochordate and the evolutionary implications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996 September 17; 93(19): 10461-10464.
- Powell, F, Y. Zohar, A. Elizaur, M. Park, H. Fischer, G. Craig, E. River, A. Lovejoy y N. Sherwood. 1993. Three forms of gonadotropin - releasing hormone characterized from the brain of one species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 91: 12081-12085.
- Raney, E.C. 1942 Alligator gar feeds upon birds in Texas. *Copeia*, (1): 50.
- Redding, M.J. y R. Patiño. 1993. *Reproductive Physiology*. In D. H. Evans (Editor). *The Physiology of Fishes* Chapter 16. CRC Press, Boca Ratón Florida.
- Reddy, P., R. Renaud y J. Leatherland. 1998. Effect of cortisol and triiodothyronine on ovarian steroidogenesis in vitro in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* at two different stages of oocyte maturation. 1998. In J. Trant, Y. Zohar, A. Place and D. Mackinlay (Editors). *International Congress on the biology of fish*. Baltimore MD, July 26-30 pp. 95-99.
- Resendez, A. y M. Salvadores. 1983. Contribución al conocimiento de la biología del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* (Gill) y la tenguayaca *Petenia splendida* Gunther, del Estado de Tabasco. *Biotica*, 8(4): 413-426.
- Revol, A., M. Garza, V. Hernandez, C. Aguilera, H. Barrera y R. Mendoza. 2005. Cloning of the growth hormone cDNA of alligator gar *Atractosteus spatula* and its expression along larvae development. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 140(4): 423-429.
- Riazi, A. y L. Fremont. 1988. Serum vitellogenin and yolk proteolipid complex composition in relation to ovarian growth in rainbow trout *Salmo gairdneri*, (RICH). *Comparative Biochemical Physiology*, 89B: 525-529.
- Robison, H.W. y T.M. Buchanan. 1988. *Fishes of Arkansas*. University of Arkansas Press, Fayetteville. 536 pp.
- Rodríguez, F., G. Marquez y S. Paramo. 1997. Evaluación del uso de cladóceros y nauplios de *Artemia* en la alimentación de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. In: *Memorias de la Semana de Investigación y Divulgación Científica*. pp. 72-75. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco 1997.
- Rodríguez, J., A. Banda, L. Gonzalez, J. Herrera y F. Garcia. 1998. Evaluación biológicopesquera del catán (*Atractosteus spatula*) en la presa Vicente Guerrero. V Congreso Nacional de Ictiología, Tuxpan, Ver. pp 182-183.
- Rodríguez, N., E. Bon y F. Le Menn. 1996. Vitellogenin receptors during vitellogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Zool.*, 274: 163-170.
- Romano, L. 1999. Bioindicadores de contaminación acuática en peces, <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/html/art701/bioindica.htm>, *Revista AquaTIC* No.7, 1-8 pp.

- Rooker, J. 1997. Early life history of Red drum (*Sciaenops ocellatus*) in subtropical seagrass meadows: patterns of condition, growth, and mortality. Ph.D. Dissertation. Faculty of the Graduate School of the University of Texas at Austin. Pp. 191.
- Rosch, R y S. Appelbaum. 1985. Experiments on the suitability of dry food for larvae of *Coregonus lavaretus* L. *Aquaculture*, 48: 291-302.
- Royals, H. E., y Lange, T. R. 1995. Mercury in fishes of the everglades, Florida Game and Freshwater Fish Commission, Eustis, FL, USA, Book of Abstracts, 210th ACS National Meeting, Chicago, IL, August 20-24 (1995).
- Rubin, D.A., J. Youson, L. Marra y R. Dores. 1996. Cloning of a gar (*Lepisosteus osseus*) GH cDNA: trends in actinopterygian GH structure. *J. Mol. Endocrinol.*, 16(1): 73-80.
- Ruelas-Inzunza, J., Gárate-Viera, Y., Páez-Ozuna, F. 2007. Lead in clams and fish of dietary importance from Coatzacoalcos estuary (Gulf of Mexico), an industrialized tropical region, *Bull Environ Contam Toxicol* (2007), 79:508-513.
- Ruelas-Inzunza, J., Páez-Osuna, F., Zamora-Arellano, N., Amezcua-Martínez, F., Bojórquez-Leyva, H. 2009. Mercury in Biota and Surficial Sediments from Coatzacoalcos Estuary, Gulf of Mexico: Distribution and Seasonal Variation, *Water Air Soil Pollut* (2009) 197: 165-174.
- Ruiz, V. 2000. Caracterización bioquímica de las principales enzimas digestivas del catán (*Atractosteus spatula*). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. Monterrey, N. L., 76 pp.
- San Martín, P. 2006. Ocurrencia de hidrocarburos en 2 lagunas costeras norveracruzanas y expresión del gen CYP1A1 hepático de tilapia (*Oreochromis niloticus*) como bioindicador de contaminación acuática. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 1-85 pp.
- Santillán, A. 2005. Establecimiento de un ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para cuantificar la vitelogenina del catán (*Atractosteus spatula*), tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, 4 p.
- Sarasquete, M.C., A. Polo y M. Yufera. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 130: 79-92.
- Schalhauser-Smith, D. y T. Benfey. 2002. The purification and development of a quantitative enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the measurement of vitellogenin in diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24(4): 287-298.
- Scott, J. G. 1999. Cytochromes P450 and insecticide resistance, *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29 (1999): 757-777.
- Segner, H., V. Stroh, M. Reinecke, W. Kloas y W. Hanke. 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. *Marine Biology*, 119: 471-486.
- Seidensticker, E.P. 1987. Food selection of alligator gar and longnose gar in Texas reservoir. *Proc. Annu. Conf. SEAFWA* 100-104.
- Seki, M., Yokota, H., Matsubara, H., Tsuruda, Y., Maeda, M. y Tadokoro, H. et al. 2002. Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.* 21:1692-1698.
- Sheridan, M.A. 1986. Effects of thyroxine, cortisol, growth hormone and prolactin on lipid metabolism of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 64: 220-238.
- Sherwood, N. 1987. Gonadotropin-releasing hormones in fish. In: Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Norris, D. and R. Jones (Eds.). Plenum Press, New York. 613.
- Sherwood, N., L. Eiden, M. Brownstein, J. Spiess y W. Vale. 1983. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80:

- 2794-2798.
- Shimizu, M., H. Fukada, T. Fujita, N. Hiramatsu y A. Hara. 2000. Serum Levels of Precursors to Vitelline Envelope Proteins (choriogenins) in Sakhalin Taimen after Treatment with Oestrogen and During Oocyte Growth. *Journal of Fish Biology*, 57: 170-181.
- Sicard, M.T. 2007. Efecto de la oscilación térmica en la fisiología de la almeja mano de León (*Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835). Tesis de doctorado Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, 185pp.
- Siebenaller, J.F. 1984. Analysis of the biochemical consequences of ontogenic vertical migration in a deep-living teleost fish. *Physiological Zoology*, 57: 598-608.
- Silverstein, T., G. Bosworth y W. Wolter. 1999. Evaluation of dual injection of LHRH and the dopamine receptor antagonist pimozide in cage spawning of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *J. World Aquacul. Soc.*, 30(2): 263-268.
- Simon, T. y R. Wallus. 1989. Contributions to the early life histories of gar (Actynopterygii: Lepisosteidae) in the Ohio and Tennessee river basins with emphasis on larval development. *Trans. Ky. Acad. Sci.*, 50(1-2): 59-74.
- Simon, T.P. y E.J. Tyberghein. 1991. Contributions to the early life history of the spotted gar, *Lepisosteus oculatus* Winchell, from Hatchet Creek, Alabama. *Transactions of the Kentucky Academy of Science*, 52(3-4): 124-131.
- Sindermann, C.J. 1988. Skeletal deformities in striped bass. In: Sindermann, C.J. and Lightner, D.V. (eds) Disease Diagnosis and control in North American Marine Aquaculture. Elsevier, Amsterdam, pp. 370-372.
- Sower, A.S., R.N. Iwamoto, W.W. Dickhoff y A. Gorbman. 1984. Ovulatory and steroidal response in coho salmon and steel trout following administration of salmon gonadotropin and D-Ala6, des Gly10 gonadotropin releasing hormone ethylamide (GnRH_a). *Aquaculture*, 43: 35-46.
- Specker, J. y T. Anderson. 1994. Developing an ELISA for a Model Protein- Vitellogenin. In: Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, Vol. 3. Chapter 48. Hochachka and Mommsen Eds. p. 567 – 578.
- Specker, J.L. y C. Sulliang. 1994. Vitellogenesis in fish: status and perspectives. *Perspectives in Comparative Endocrinology*, 304-315.
- Srinivas, R., Jayalakshmi, S. K., Sreeramulu, K., Sherman, N. E., and Rao, J. 2006. Purification and characterization of an esterase isozyme involved in hydrolysis of organophosphorus compounds from an insecticide resistant pest, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, Volume 1760, Issue 3, March 2006, 310-317 pp.
- Sumpter, J.P., and Jobling, S. 1995. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ Health Perspect* 103(suppl 7):173-178.
- Susca, V., A. Corriero, C. Bridges y G. De Metro. 2001. Study of the Sexual Maturity of Female Bluefin Tuna: Purification and Partial Characterization of Vitellogenin and its use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Fish Biology*, 58: 815-831.
- Suttkus, R.D. 1963. Order Lepisosteii. In: Fishes of the Western North Atlantic. Part three, Soft-rayed fishes (ed. by H. B. Bigelow) pp. 61-88. Yale University Memoir Sears Foundation for Marine Research, New Haven, Connecticut.
- Takemura, A. y K. Teruya. 1997. Purification and partial characterization of the vitellogenin of coral trout *Plectropomus leopardus*. *Bulletin of Marine Science*, 61(3): 791-800.
- Takemura, A. y M. Oka. 1998. Immunochemical sexing of living yellow tuna, *Thunnus albacares* (Bonnatere), using a vitellogenin like protein. *Aquaculture Research*, 29: 245-249.
- Tanaka, M. 1969a. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae I. Development

- of the digestive system during prelarval stage. *Japanese Journal of Ichthyology*, 16(1): 1-8.
- Tanaka, M. 1969b. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae II. Characteristic of the digestive system in larvae at the stage of first feeding. *Japanese Journal of Ichthyology*, 16(2): 41-49.
- Tanaka, M. 1971. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae III. Development of the digestive system during postlarval stage. *Japanese Journal of Ichthyology*, 18(4): 164-173.
- Tanaka, M. 1972. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae V. Epithelial changes in the posterior gut and protein ingestion. *Japanese Journal of Ichthyology*, 19(3): 172-180.
- Tandler, A. y S. Kolkovski. 1991. Rates of ingestion and digestibility as limiting factors in the successful use of microdiets in *Sparus aurata* larval rearing. European Aquaculture Society, Special Publication No. 15, Gent, Belgium. pp. 169-171.
- Taranger, G., C. Haux, S. Stefansson, B. Björnsson, B. Walther y T. Hansen. 1998. Abrupt changes in photoperiod affect age at maturity, timing of ovulation and plasma testosterone and oestradiol 17- β profiles in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture*, 162: 85-98.
- Theilacker, G. y S. Porter. 1995. Condition of larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the western Gulf of Alaska assessed with histological and shrinkage indices. *Fish. Bull.*, 93: 333-344.
- Theilacker, G. y Y. Watanabe. 1989. Midgut cell height defines nutritional status of laboratory raised larval northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.*, 87(3): 457-469.
- Thiyagarajah, Anderson, M. B., y Hartley, W. R. 2000. Gonadal cysts in spotted gar (*Lepisosteus oculatus*) from Bayou Trepagnier, Louisiana, USA, Marine Environmental Research (2000), 50(1-5), 279-282.
- Thompson, H. M. 1999. Esterases as Markers of Exposure to Organophosphates and Carbamates, *Ecotoxicology* 8, 369-384.
- Thornton, J.W. 2007. What Can We Do About Endocrine-Disrupting Chemicals?, in: *Endocrine-Disrupting Chemicals: From Basic Research to Clinical Practice*.
- Toole, J.E. (1971) Food Study of the Bowfin and Gars in Eastern Texas. *Texas Parks and Wildlife Department*, 6: 1-15.
- Townsend, D. T., K. Tapiero, H. (2003). "The importance of glutathione in human disease." *Biomedicine&Pharmacotherapy* 57: 145- 155.
- Tyler C.R. y J.P. Sumpter. 1990b. The Development of a Radioimmunoassay for Carp, *Cyprinus carpio*, Vitellogenin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8(2): 129-140.
- Tyler C.R. y P. Lancaster. 1993. Isolation and characterization of the receptor for vitellogenin from follicles of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal Comparative Physiology B.*, 163: 225-233.
- Tyler, C.R. y J.P. Sumpter. 1990a. The Purification and Partial Characterization of Carp, *Cyprinus carpio*, Vitellogenin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8(2): 111-120.
- Tyler, C.R., J.P. Sumpter y N. Bromage. 1988. In vivo ovarian uptake and processing of vitellogenin in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *The Journal of Experimental Zoology*, 246: 171-179.
- Tyler, C.R., Jobling, S. y Sumpter, J.P. 1998. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Crit. Rev. Toxicol.* 28:319-361.
- Ueberschär, B.F. 1985. Experiments on the development of proteolytic enzyme activity in turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) International Council for the Exploration of the Sea. pp. 1-10.
- van der Ven, L.T.M., Wester, P.W. y Vos, J.G. 2003. Histopathology as a tool for the evaluation of endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22:908-913.
- Vela, S. 2003. Fisiología reproductiva de los lepisostéidos: estudio de la vitelogénesis secundaria, Tesis de

- Maestría en Ciencias en Recursos alimenticios y producción acuícola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 1-50 pp.
- Verreth, J.A. y T. Van Tongeren. 1989. Weaning time in *Clarias gariepinus* (Burchell) larvae. *Aquaculture*, 83: 81-88.
- Verreth, J.A., E. Torreel, E. Spazier, A. Van Der Sluiszen, J. Rombout, R. Booms y H. Segner. 1992. The development of a functional digestive system in the african catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). *Journal of the World Aquaculture Society*, 23 (4): 286-298.
- Verreth, J.A., M. Carrillo, S. Zanuay y E.A. Huisman. 1987. Aquaculture research in Latin America. The Latin American seminar on Aquaculture, International Foundation for Science, Stockholm, Sweden, in Lima, Peru, 45-77.
- Volke, S.T., Velasco, T.J. (2002). Tecnología de remediación para suelos contaminados. INE-SEMARNAT, 64 p.
- Vonk, H.J. y J. Western. 1984. Factors influencing enzymatic digestion. In: Comparative Biochemistry and Physiology of Enzymatic digestion. Academic Press, pp 448-491.
- Waagboe, R. y K. Sandnes. 1988. Determination of Vitellogenin in Serum of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) by High-Performance Gel Permeation Chromatography. *Journal of Chromatography*, 427: 138-143.
- Wagner, C.F., y B.A. McKeown. 1981. The purification, partial characterization and bioassay of growth hormone from two species of Pacific salmon. In: B. Lofts and W.N. Holmes (editors), Current trends in Comparative Endocrinology. Proc. 9th Symp. Comp. Endocrinol. Hong Kong, p. 211.
- Walford, J. y T.J. Lam. 1993. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. *Aquaculture*, 109: 187-205.
- Wang, S.J., J. Hard y F. Utter. 2001. Salmonid inbreeding: a review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 11(4): 301-319.
- Wardle, W.J. 1990. Experimental Verification of the Metacercarial Stage of *Rhipidocotyle lepisostei* (Trematoda: Bucephalidae) with Notes on the Natural Occurrence of Its Adult Stage in Gars in Texas and Virginia. *J. Parasitol.*, 76(2): 293-295.
- Watanabe, T. y V. Kiron. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, 124: 223-251.
- Watanabe, W., E. Ellis y S. Ellis. 1998a. Progress in controlled maturation and spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus* broodstock. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(4): 293-404.
- Watanabe, W., E. Ellis, S.C. Ellis, J. Chavez., C. Mandrefi, R. Hagood., M. Sparsis y S. Arneson. 1998. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*. A new candidate marine fish species for aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(2): 176-187.
- Watanabe, Y. 1984. Morphological and functional changes in rectal epithelium cells of pond smelt during postembryonic development. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50(5): 805-814.
- Watts, M., N. Pankhurst, A. Pryce y B. Sun. 2003. Vitellogenin Inosulation, purification and antigenic cross-reactivity in three teleost species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 134B(3): 467-476.
- Weber, G.M., W. King, R. Clark, R. Hodson y C. Sullivan. 2000. Morphophysiological predictors of ovulatory success in captive striped bass *Morone saxatilis*. *Aquaculture*, 188: 133-146.
- Weltzien, F.A., E. Andersson, Ø. Andersen, K. Shalchian-Tabrizi y B. Norberg. 2004. The brain-pituitary-gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (Pleuronectiformes). *Comp Biochem Physiol [A] Mol Integr Physiol*, 137: 447-477.
- Westerman, M.E. y G.J. Holt. 1988. The RNA-DNA ratios: measurement of nucleic acids in larval *Sciaenops ocellatus*. *Contributions to Marine Sciences*, 30: 117-124.
- Wheelock, C. E., Eder, K. J., Werner, I., Huang, H., Jones, P. D., Brammell, B. F., Elskus, A. A. y Hammock, B. D. 2005. Individual variability in esterase activity and

- CYP1A levels in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) exposed to esfenvalerate and chlorpyrifos, *Aquat Toxicol*, Aug 30; 74(2):172-92.
- Wheelock, C. E., Phillips, B. M., Anderson, B. S., Miller, J. L., Miller, M. J., and Hammock, B. D. 2008. Applications of Carboxylesterase Activity in Environmental Monitoring and Toxicity Identification Evaluations (TIEs), D. M. Whitacre (ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2008, 117-160 pp.
- Whitehead, A., Anderson, S. L., Ramirez, A, Wilson, B. W. 2005. Cholinesterases in aquatic biomonitoring: assay optimization and species-specific characterization for a California native fish, *Ecotoxicology*. 2005 Aug.; 14(6):597-606.
- Wiley, E. 1976. The phylogeny and biogeography of fossil and recent gars (Actinopterygii: Lepisosteidae). *Misc. Publ. Mus. Nat. Hist. Univ. Kansas*, 64: 1-111.
- Wiley, E. 1978. *Atractosteus spatula* (Lacepede, 1803). In: W. Fischer (ed.), *FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Central Atlantic (fishery area 31). Vol III*. Rome, Italy.
- Wiley, H., L. Opresko y R. Wallace. 1979. New Methods for the Purification of Vertebrate Vitellogenin. *Analytical Biochemistry*, (97): 145-152.
- Winberg, G.G. 1971. *Methods for the estimation of production of aquatic animals*. Academic Press, London, 167 pp.
- Wolters, W. 1993. Channel catfish breeding and selection program: constraints and future prospects. In: Main. K and Reynolds, E (eds) *selective Breeding of Fishes in the United States and Asia*, The Oceanic Institute, Makakapuu point Hawaii, USA 267 pp.
- Xu, K., Y. Wei, L. Guo y Z. Zhu. 1991. The effects of growth enhancement of human growth hormone gene transfer and human growth hormone administration on crussian carp (*Carasius auratus gibelio* Bloch). *Acta Hydrobiol. Sin.*, 15: 31-34.
- Yang, B., M. Green y T. Chen. 1999. Early Embryonic Expression of the growth hormone family Protein Genes in the Developing Rainbow Trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Mol Reprod. Dev.*, 53(2): 127-34.
- Yao, Z. y L. Crim. 1996. A Biochemical Characterization of Vitellogenin Isolated from the Marine Fish Ocean Pout (*Macrozoarces americanus* L.), Lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) and Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 113B(2): 247-253.
- Yaron, Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129: 49-73.
- Yeager, B.L. y R.T. Bryant. 1983. Larvae of the longnose gar, *Lepisosteus osseus*, from the Little River in Tennessee. *Journal of the Tennessee Academy of Science*, 58(1-2): 20-22.
- Zanuy, S. y M. Carrillo. 1987. La reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. *Reproducción en Acuicultura*. 1-56.
- Zapata-Pérez, O., Gold-Bouchot, G., Ortega, A., López, T., Albores, A. (2002) Effect of pyrene on hepatic cytochrome P450 1A (CYP1A) expression in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Arch Environ Contam Toxicol* 42:477-485.
- Zitzow, R.E. y J. Millard. 1988. Survival and growth of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) larvae fed only formulated diets. *Aquaculture*, 69: 105-113.
- Zohar, Y. 1998. Gonadotropin Releasing hormones: why do fish need multiple forms? 1998. In: J. Trant, Y. Zohar, A. Place and D. Mackinlay (Editors). *International Congress on the biology of fish*. Baltimore MD, July 26-30 pp.



ANEXO 1

EL CATÁN COMO RECURSO ALIMENTICIO

Este capítulo consiste en una recopilación de algunas preparaciones y recetas utilizadas para cocinar este tipo de peces. Éstas contienen, tanto recetas de México, como de Estados Unidos y Centroamérica, incluyendo por lo tanto algunas desarrolladas para el pejelagarto.

Los textos han sido tomados íntegros de diferentes fuentes, y sólo en caso de estar en idioma inglés han sido traducidos al español, intentando ser lo más fieles posible al texto original.

SARDINAS Y CATÁN

Las sardinas y los catanes pueden hacer una buena combinación y aunque este platillo no es muy común, la mayoría de las personas no lo piensan dos veces antes de consumirlos.

Pueden ser un poco difíciles de limpiar y cocinar, sin embargo, vale la pena, ya que los sabores individuales y distintivos de cada uno pueden significar un cambio agradable e interesante de los filetes de pescado tradicionales. Las sar-



dinas tienen un rico sabor y su textura es aceitosa mientras que el catán es ligero.

Preparación:

Catán: Simplemente remueva el estomago, corte la cabeza y frote debajo del agua para quitar las escamas. Es posible remover los huesos pero a la mayoría de las personas no les incomoda. Si tiene la opción, vaya por el catán más delgado y brillante en vez del más sólido, debido a que la carne será mucho más suave. El pez deberá ser secado antes de cocinarlo.

Sardinias: Son peces muy suaves y deben ser adquiridos o comprados en fresco ya que no se congelan bien. Al igual que el catán, quite el estómago, cabeza y escamas y lávelos bien. Otra vez, probablemente no vale el esfuerzo de remover los huesos. Seque bien con toallas de papel.

Cocinar

Existen dos maneras en que recomendaría cocinar estos pescados.

Asado a la parrilla: Unte cada pez con aceite de oliva, coloque un poco de sal y pimienta y después póngalos en una parrilla precalentada por cerca de cuatro minutos. Dé vuelta a cada pescado y cocine el otro lado por cuatro minutos. En el caso de las sardinias, la piel empezará a ampollarse y se tornará café cuando esté cocinada. Añádales perejil cortado.

Frito: Coloque los pescados ya secos en una bolsa de plástico que contenga algunas cucharadas de harina, sazone ligeramente con sal y pimienta. Infle la bolsa soplando en ella, cierre la bolsa y sacúdala hasta que todos los pescados estén cubiertos ligeramente con la harina. Derrita un poco de mantequilla o aceite de oliva en un sartén y después cocine rápidamente desde medio hasta alto calor, dando vuelta una vez. Sólo tomará un minuto o dos de cada lado. Sirvalo inmediatamente.



CATÁN AL APIO

Ingredientes:

3 libras de catán
 Papas irlandesas peladas, ½ kilo
 4 ajos cortados
 1 cebolla grande cortada
 ½ manojo de cebollitas verdes
 2 tallos de apio cortados
 Pimienta al gusto
 Sal al gusto
 Aceite de cocina

Hervir las papas. Colocar encima del catán las cebollas, las cebollitas verdes, el apio y las papas. Mezclar todos los ingredientes con pimienta y sal. Tenga listo un sartén caliente con aceite de cocina (llene con el aceite para que éste cubra la mitad del pescado). Coloque el pescado en el aceite y cocine hasta que comience a agarrar un color dorado, después voltee el pescado y cocine el otro lado. Finalmente, colóquelo en toallas de papel para quitar el exceso de aceite.
 Producción: 5-6 porciones

CATÁN FRITO

Prepare el catán quitándole la piel y destripándolo, para facilitar el proceso enrolle el área de la tripa con una varilla o una botella, pele la espina dorsal y corte los huesos de la costilla con un cuchillo delgado y fino.



Ingredientes:

Harina
Huevo
Estragón seco
Pan molido

Cubra todo el filete con la harina. Sumerja en huevo batido el filete con una buena pizca de estragón seco, después coloque el pan molido. Fría en aceite por 15 minutos.

ALBÓNDIGAS DE CATÁN**Ingredientes:**

2 libras de catán
1 c. de cebollas verdes cortadas
1 libra de papas cortadas, peladas y hervidas
Dos medios de cebolla blanca cortada
1/4 c. de condimento criollo
1/4 c. de harina de uso múltiple
Harina de maíz

Hierva las papas y muele el catán primero. Mezcle los 6 ingredientes en una vasija. Enrolle la mezcla en bolas del tamaño de una pelota de golf. Coloque las bolas en la harina de maíz y

ruédelas para que queden completamente cubiertas. Coloque las bolas en el sartén (precalentado a 375°C) y fríalas hasta que se vea un color dorado o hasta que floten. Sírvalas como aperitivos o a lado de la comida principal.

CATÁN DESMENUZADO**Ingredientes:**

Catán
Miel
Huevo
Ajo
Harina
Pan molido
Aceite de cacahuete
Sal y pimienta

Quite la piel, cabeza y destripe al catán, asegurándose que esté realmente limpio. Hierva ligeramente el agua, añada una pizca de sal y agregue un diente de ajo. Quítele los huesos al catán y deje la cola. Colóqueles harina y después cúbralo ligeramente con el huevo batido, al cual previamente ya le habrá agregado un poco de pimienta. Cúbralo con pan molido (existen variedades de pan molido con limón, picoso, etc.). Fría en aceite de cacahuete caliente.

NUGGETS

Limpie el catán. La mayoría de las personas utiliza solamente la cola, pero el resto de la carne también es buena. La mejor carne viene de los catanes de 30 cm a 1m.

La misma receta sirve para cocinar tanto bagre como catán:

Corte la carne en nuggets. Ajuste a dos pulgadas (5 cm).

Marínela para sazonar: Si usted está cocinando grandes cantidades, puede agregar los líquidos mientras condimenta con el resto de los ingredientes.

Marinar: En una vasija grande o sartén (lo suficientemente grande para marinar una buena porción de carne) mezcle juntos:

- Una cerveza
- 1-2 tazas de leche
- Salsa picante de Louisiana (Salsa Cajun)– la cantidad variará dependiendo de cuánta cerveza se ha vertido. Puede hacer lotes diferentes dependiendo de la cantidad de salsa que quiere que contenga cada porción.
- Sal y pimienta

Coloque los nuggets en el líquido y métalos en el refrigerador para que marinen por lo menos $\frac{1}{4}$ de hora

Caliente profundamente una cacerola con aceite

Empanizar: Coloque los ingredientes en una bolsa de papel grande de color café o una bolsa de plástico. Círrrela y sacúdala para mezclar los ingredientes.

- Harina – una taza de harina trigo y $\frac{1}{2}$ de harina de maíz, dependiendo de cuánta carne tiene que cubrir. Quizás tendrá que agregar en la bolsa varios lotes.
- Condimento – sazonar al gusto.
- Sal y pimienta

Tome los nuggets del marinado y métalos en la bolsa, sacuda hasta cubrirlos.

Después de haberlos cubierto, colóquelos en aceite caliente. Cocine hasta que tomen un color café dorado – deberá tomar un minuto – después remuévalos del aceite y drene el aceite con toallas de papel.

Coloque algunas papas cocidas al horno o fritas junto a los nuggets.



ROBERTO EDUARDO MENDOZA ALFARO • CARLOS JAVIER AGUILERA GONZÁLEZ • JESÚS MONTEMAYOR LEAL



217

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



SUSHI RICE ROLLS

El sushi está basado en pescado crudo y arroz. Muchas variedades de peces, tales como atún crudo y el catán, son convenientes, pero deben de estar frescos. Usualmente, se incorporan diferentes ingredientes, tales como arroz con vinagre, algas marinas y el wasabi. Los camarones cocidos, aguacate, pepino, zanahorias (cortados en tiras muy finas) también son bienvenidos en el sushi. Fácil de hacer, el sushi es realmente saludable, nutritivo y refrescante durante los días calurosos de verano.

Ingredientes:

3 ½ tazas de de arroz
 4 tazas de agua
 5 cucharadas soperas del vinagre de arroz
 5 cucharadas soperas de azúcar blanca (o 2 de miel)
 3 cucharadas soperas para té de sal
 Sartén con una tapa que cierre bien
 Algas (hojas)
 Wasabi
 Una pequeña cantidad de aguacate o pepino, cortado en tiras
 Una pequeña cantidad de atún crudo, catán, etc. (100 g) cortado en tiras

Método:

Lave el arroz en un colador y permita drenar por 45-60 minutos. Mezcle el vinagre de arroz, azúcar y sal en un pequeño sartén que no sea de aluminio y caliente suavemente, revuelva hasta que el azúcar y la sal se hayan disuelto. Permita enfriar. Coloque el arroz y el agua en un sartén y tápelo. Hiérvalo al alto calor por dos minutos. Reduzca el calor levemente y hierva por otros cinco minutos más, después reduzca el calor a un punto bajo y cocine suavemente por 15 minutos, o hasta que toda el agua haya sido absorbida. Remueva la cacerola de calor, quite la tapa y déjela así por 15 minutos. Coloque y separe el arroz en un plato grande y extiéndalo, separando los granos. Agregue lentamente el vinagre y mezcle hasta que el arroz este lo suficientemente humedecido, sin que llegue a estar mojado.

Para realizar los rollos de sushi, ponga una hoja de alga en la mesa, separe una capa de arroz, agregue el wasabi y coloque encima el catán crudo, las tiras de pepino y el aguacate. Ruede firmemente, asegure los extremos mojando el borde del alga y corte en longitudes cortas (de 1-2 cm de largo). Coloque las rebanadas en un plato pequeño y sírvalo con una salsa a base de 1 ½ cucharada de jengibre cortado (fresco) con ¼ de taza de salsa de soya.



CATÁN CON ALMEJA CATARINA

Ingredientes:

60 catanes aproximadamente de 150-180g cada uno
1.25 kg de almejas
25 L de crema doblemente pura
Jugo de dos limones
5 manojos de flor de Jamaica finamente cortados
5 L de caldo de pescado
2 botellas de chardonnay
2 L de crema

Método

Remueva los huesos del catán abriendo desde arriba, antes de destripar. Remueva todos los huesos, pero deje la cabeza y la cola. Haga la crema batida haciendo puré las almejas en un procesador de alimentos y después sobre hielo, mezclando la crema, pedacito por pedacito. Coloque la crema en el catán para crear de nuevo la forma original. Cueza al vapor por cerca de 7-9 minutos, dependiendo del tamaño, a 95 grados.

Haga una reducción al caldo con chardonnay, cerca de $\frac{1}{4}$ de la cantidad original; después agregue la crema y reduzca otra vez la salsa densa. En el último momento agregue la flor de Jamaica cortada y hierva a fuego lento hasta que la flor de Jamaica cambie de color. Remueva inmediatamente y sívalo con papas hervidas.

GAR D'OEUUVRES

1 catán (90 cm o más)

Sal, pimienta roja y negra al gusto

Agua hirviendo

½ taza de mantequilla o margarina, derretidas.

Corte el catán desde las branquias hasta la cola y abra la parte posterior de la caja torácica, ex-

poniendo la espina dorsal. Utilizando un cuchillo fino, remueva la tira de filete blanco sin hueso de cada lado de la espina dorsal. Un catán de 90 cm producirá una pieza cerca de ¾ pulgadas de diámetro y 60 cm de largo. Lave la carne y corte pedazos de una pulgada. Sazone con sal y pimienta. Cocine en agua hirviendo durante 5 minutos. Sumerja los pedazos de pescado en mantequilla derretida. 3 ó 4 porciones.



RECETAS: PESCADO - CATÁN CON POLENTA

Ingredientes			
Cantidad	Unidades	Ingrediente	Comentario
		Aceite de oliva	Para freír
		Harina	Para cubrir
		Pimienta	Para sazonar con la harina, negra molida recientemente
1	taza	Polenta	Variedad gruesa
2		huevos	Ligeramente batidos
500	gramos	Catán	Completo

Método

Cubra el catán en la harina para sazonar, sacuda ligeramente para quitar cualquier exceso de harina. Sumerja el catán en el huevo y después presione al pescado firmemente en la polenta hasta que quede completamente cubierto. Caliente el suficiente aceite para cubrir el fondo del sartén y llévelo hasta un calor medio. Agregue el pescado y cocine hasta que la corteza tome un color café dorado y el catán este opaco.

CATÁN ASADO A LA PARRILLA

Ingredientes:

1.3 kg del catán completo
 Un limón partido
 125 ml de aceite de oliva
 Jugo de un limón





2 dientes de ajo, triturados
2 cucharadas de perejil (hoja-plana) cortado en trozos pequeños
Sal y pimienta negra molida, pedazos de limón al gusto.

Limpie y quite las escamas del pescado. Frote las cavidades con la mitad de un limón para condimentar la carne. Perfore la carne sólo sobre la cola e inserte los picos (si usted trata de perforar la carne con los picos, ésta podría romperse). Mezcle el aceite con el jugo de limón, ajo, perejil, y sal y pimienta al gusto en un tazón. Unte el pescado con la mezcla de aceite y cocine lentamente en la parrilla durante 15 minutos, girándolo frecuentemente y cepillándolo con la mezcla. Alternativamente cocine bajo la parrilla. Sirva caliente con los pedacitos de limón.

TORTAS DE CATÁN

Para remover los filetes, utilice unas pinzas (especiales para trozar carne) para cortar longitudinalmente hacia abajo, siguiendo la línea central del catán. Utilice un cuchillo para separar la piel de la carne y después corra su cuchillo a lo largo de la espina dorsal para pelar los filetes.

Una vez que los filetes son liberados, enjuá-

guelos, si usted lo desea, marínelos con su condimento favorito.

Ingredientes:

4 libras de carne de catán, cortada
5 papas, hervidas y trituradas
6 cebollas verdes, cortadas
1 cebolla grande, cortada
½ de pimienta verde cortada en pedacitos
2 huevos batidos
¼ de cucharada de té de salsa picosa
1 cucharada sopera de sal
1 cucharada sopera de té de pimienta negra molida
1 taza de harina
¼ taza de aceite de canola

Mezcle los ingredientes y corte los filetes en pedazos de 10 cm de ancho y 5 cm de grueso. Prepare las tortas en harina, después fríalas en aceite caliente hasta que obtengan un color café.



GARFISH COURTBOUILLION

Ingredientes (porciones 4-6):

2 cucharadas de aceite vegetal
 4-5 dientes grandes de ajo cortado
 1 taza de cebollas cortadas
 1 cucharada sopera de perejil fresco cortado
 1 cucharada sopera de de apio fresco u hojas frescas del apio
 1 cucharada sopera de chile morrón freco
 1 kg de catán, corte primero en filetes y luego en pequeños cubos
 2 tazas de caldo de pescado, o una botella de jugo de almeja
 Cerca de medio kilo de tomates cortados gruesamente
 1 cucharada sopera de tomillo seco
 2 hojas completas de laurel
 ¼ cucharada sopera de pimienta de Jamaica
 ¼ cucharada sopera de azafrán desmenuzado en hilos o ¼ cucharada sopera de azafrán picado
 ¼ cucharada sopera de pimienta molida o al gusto
 1 cucharada sopera de sal o al gusto
 4-6 tazas de arroz blanco cocinado

Preparación: Coloque 2 cucharadas soperas de aceite en un sartén grande de hierro. Empiece a calentar y después agregue el ajo, cebolla, perejil, apio y el chile morrón. Revuelva el “mirepoix” (mezcla de vegetales) sobre el calor medio hasta que las cebollas esten translúcidas.

Agregue los cubos de catán al sartén, tape y cocine a fuego bajo por 5 minutos (Nota: si no está usando un sartén de hierro que retenga el calor, deberá cocinar a un calor medio). Agregue el caldo de pescado, tomates, tomillo, las hojas de laurel, la pimienta de Jamaica, azafrán y la pimienta. Si usted prefiere un Courtbouillon ligero, puede omitir el agregar la pimienta en este punto y agregarla después junto con la sal. Lleve todos estos ingredientes a hervir a fuego lento y cocine lentamente y revuelva regularmente. Reduzca el líquido a 2 tazas y cubra ligeramente una cuchara. Cheque si desea agregar más sal o pimienta. Remueva las hojas de laurel y sirva en recipientes individuales sobre el arroz.

PEJELAGARTO A LA MEXICANA

Ingredientes:

1 pejelagarto asado
 4 jitomates grandes
 1 cebolla
 Chiles verdes al gusto
 Aceite de oliva
 Sal y pimienta
 Preparación

Se desmenuza el pejelagarto con tenedor; aparte se pica el jitomate, la cebolla y los chiles y se fríen en el aceite bien caliente. Una vez acitronados, se agrega el pejelagarto y se condimenta con sal y pimienta. Se deja cocinar a fuego lento para que se sazone. Se sirve en tacos.

PEJELAGARTO EN CHIRMOL

Ingredientes:

1 pejelagarto asado
 ¼ de semillas de calabaza
 1 tortilla
 ¼ kg. de masa
 2 pimientos morrón
 1 cebolla
 1 rama de epazote
 1 ajo
 hojas de epazote
 2 jitomates rebanados

Preparación:

Se limpia el pejelagarto, se le quita la piel y se corta en trozos. Se vuelve a asar para que quede bien dorado. Aparte se tuestan las semillas de calabaza y la tortilla; se fríen los chiles y se asa la cebolla. Cuando todo está cocinado, se muele junto con el ajo la masa y un poco de agua, y se cuele.

Se cocina a fuego lento y cuando empieza a hervir, se le agrega la rama de epazote y los trozos de pejelagarto. Se retira del fuego, y se sirve adornando el plato con los chiles dulces, el epazote y los jitomates rebanados.



TAMALES DE PEJELAGARTO

Ingredientes:

2 kilos de maíz
1 kilo de pejelagarto asado
1 kilo de manteca
¼ de tomate
1 cebolla
1 chile güero
1 rama de epazote
aceite
hojas de plátano
sal

Preparación:

Se desmenuza el pejelagarto. Se acitrona la cebolla picada en aceite, se le agrega tomate y el pejelagarto con chile picado y epazote. Se mezcla la masa con agua y manteca; se pone al fuego, revolviendo constantemente y se deja hervir hasta que tenga una consistencia espesa. Se asan las hojas de plátano, se vierte una cucharada de masa y el pejelagarto guisado y se envuelven. Se colocan los tamales en una vaporera durante una hora a que se cocinen.



ÍNDICE

PRÓLOGO • 7

INTRODUCCIÓN • 9

CAPÍTULO 1

**SISTEMÁTICA Y DISTRIBUCIÓN DE CATANES, PEJELAGARTOS
Y AGUJAS (FAMILIA LEPISOSTEIDAE) EN MÉXICO • 11**

Taxonomía • **12**

Lepisosteus oculatus • **15**

Lepisosteus osseus • **16**

Atractosteus spatula • **17**

Atractosteus tropicus • **18**

Clave artificial para identificar las especies de *Lepisosteidae* mexicanos • **19**

CAPÍTULO 2

ECOLOGÍA DE LOS LEPISOSTÉIDOS • 21

Particularidades de los lepisostéidos • **21**

Hábitat • **22**

- Crecimiento y alimentación • 23
- Hábitos alimenticios • 24
- Preferencias alimenticias • 25
- Comportamiento predatorio • 27
- Reproducción • 268
- Proporción sexual • 28
- Comportamiento reproductivo • 30
- Sustrato • 31
- Toxicidad de los huevos • 32
- Temporada de reproducción • 33
- Parásitos y enfermedades • 34
- Relación con el hombre • 35
- Acuarismo • 38
- Importancia • 39
- Situación actual de las poblaciones de lepisostéidos • 40

CAPÍTULO 3

ESTRATEGIA PARA LA DOMESTICACIÓN DEL CATÁN Y SU INCORPORACIÓN A LA ACUACULTURA • 43

- Introducción • 43
- Domesticación • 45
- Lotes de reproductores • 46
- Obtención de desoves • 48
- Cultivo larvario • 50
- Adaptación y crecimiento con dietas artificiales de juveniles • 52
- Crecimiento para alcanzar la talla comercial • 53
- Sanidad en el cultivo • 54
- Consideraciones finales • 54

CAPÍTULO 4

CULTIVO DE LARVAS Y JUVENILES DE CATÁN • 57

- Resumen • 57
- Introducción • 58
- Desarrollo larvario • 59
- Comparación entre el desarrollo larvario del catán y del pejelagarto • 60
- Formación del hocico • 62
- Tasa de crecimiento • 65
- Alimentación • 65
- Control del desarrollo larvario • 67
- Efecto de las hormonas tiroideas • 67
- Estudio histológico del desarrollo del tracto digestivo • 71
- Ontogénesis de las enzimas digestivas • 77
- Metabolismo de las larvas • 84
- Hormona de crecimiento (GH) • 84
- Índice de condición basado en ácidos nucleicos • 90
- Aceptación y consumo de dietas artificiales • 93

CAPÍTULO 5

REPRODUCCIÓN EN CAUTIVERIO DEL CATÁN • 111

- Resumen • 21
- Identificación del sexo en lepisostéidos • 112
- Dimorfismo sexual en lepisostéidos • 112
- Anatomía de las gónadas • 113
- Vitelogénesis • 115
- Síntesis de vitelogenina • 116
- Características de la VTG • 118
- Sexado de lepisostéidos • 119

- Métodos indirectos • **121**
- Purificación de la VTG en pejelagarto • **122**
- Obtención y purificación de VTG de catán • **127**
- Purificación y especificidad de los anticuerpos anti-VTG de catán • **130**
- Purificación de lipovitelina • **133**
- Cuantificación de VTG • **136**
- Electroforesis • **136**
- Inmunoensayos • **137**
- ELISA competitivo • **139**
- ELISA no competitivo • **140**
- ELISA VTG de catán • **142**
- Formación de lotes de reproductores • **144**
- Aspectos genéticos • **145**
- Especies amenazadas o en peligro • **146**
- Manejo del lote de reproductores • **147**
- Efectos negativos de la domesticación • **147**
- Inducción a la madurez sexual • **150**
- Control medioambiental de la reproducción • **153**
- Control hormonal de la reproducción • **153**
- Inducción a la maduración sexual en lepisostéidos • **156**

CAPÍTULO 6

EFFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN EN LA FISIOLÓGÍA DEL CATÁN • 163

- Introducción • **163**
- Especies centinela para el monitoreo ambiental • **166**
- Características del catán como especie centinela • **167**
- Bioindicadores bioquímicos de contaminación • **169**
- Efectos fisiológicos de los contaminantes en el catán • **174**

- Efectos de pesticidas • **175**
- Efectos de hidrocarburos • **178**
- Efectos de compuestos estrogénicos (Disruptores endocrinos) • **179**
- Efectos de metales pesados • **183**
- Discusión y conclusiones • **183**

LITERATURA CITADA • 189

ANEXO 1 / EL CATÁN COMO RECURSO ALIMENTICIO • 211

- Sardinas y catán • **211**
- Catán al apio • **214**
- Catán frito • **214**
- Albóndigas de catán • **215**
- Catán desmenuzado • **215**
- Nuggets • **216**
- Sushi Rice Rolls • **218**
- Catán con almeja catarina • **220**
- Gar D'Oeuvres • **221**
- Receta: pescado - catán con potentilla • **222**
- Catán asado a la parrilla • **222**
- Tortas de catán • **223**
- Garfish courtbouillion • **224**
- Pejelagarto a la mexicana • **225**
- Pejelagarti en chirmol • **225**
- Tamales de pejelagarto • **227**





Diseño gráfico de portada
Sergio Alberto Luna Peña
y Francisco Javier Galván Castillo

Formato electrónico
Francisco Javier Galván Castillo

Cuidado de la edición
Los autores

Fotografía de la portada
Tania López Aguilera



*Biología, ecología y avances en el cultivo de
catán Atractosteus spatula* de Roberto
Eduardo Mendoza Alfaro, Carlos Javier
Aguilera González y Jesús Montemayor
Leal, se terminó de imprimir en el mes
de agosto del 2010, en los talleres de la
Imprenta universitaria. En su edición se
utilizaron tipos NewBaskerville de 30,
24, 20, 18, 14, 12, 11, 10, 9 y 8 puntos.
Tiraje: 1 000 ejemplares.







