

Tesis de Licenciatura

Comportamiento reproductivo, desarrollo embrionario y larval de *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) (Perciformes, Cichlidae) en condiciones de laboratorio

Meijide, Fernando Javier

Tesis presentada para obtener el grado de Licenciado en
Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis de licenciatura de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Six-Year Bachelor's Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Meijide, Fernando Javier. (). Comportamiento reproductivo, desarrollo embrionario y larval de *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) (Perciformes, Cichlidae) en condiciones de laboratorio. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000551_Meijide

Cita tipo Chicago:

Meijide, Fernando Javier. "Comportamiento reproductivo, desarrollo embrionario y larval de *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) (Perciformes, Cichlidae) en condiciones de laboratorio". Tesis de Licenciado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires..

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000551_Meijide

EXACTAS

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

**COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO, DESARROLLO
EMBRIONARIO Y LARVAL DE *Cichlasoma dimerus*
(HECKEL, 1840) (PERCIFORMES, CICHLIDAE)
EN CONDICIONES DE LABORATORIO.**

Tesis para optar al grado de Licenciado en Ciencias Biológicas.



Autor: Fernando Javier Meijide.

Directora: Dra. Graciela Alicia Guerrero.

Laboratorio de Embriología Animal.

**Departamento de Ciencias Biológicas.
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.**

Universidad de Buenos Aires.

Nº 551

Noviembre de 1997.

AGRADECIMIENTOS

A Pau, mi gran amor, por su apoyo eterno e incondicional, sobre todo en los momentos difíciles, y por su invaluable asistencia en la realización y edición de este trabajo.

A mis padres y hermanos, por haberme apoyado afectiva y/o económicamente durante mis años de carrera.

A la Dra. Graciela Guerrero, por guiarme en el camino de la investigación científica, por su dedicación y sus invalables enseñanzas.

A la Dra. Cristina Maggese, por darme la posibilidad de ingresar al mundo de la ciencia.

A Juan Pablo, por el excelente trabajo fotográfico y por haberme aguantado en su laboratorio en tantas oportunidades.

A Faby, Mario, Ceci, Gracielita, Dante y Paula, por los consejos y el apoyo que me brindaron durante estos años.

A Daniel Roccatagliata, por haberme facilitado la cámara clara siempre que la necesité.

A Pablo y toda la gente del Laboratorio de Vasculares por prestarme la fotolupa.

A Pablo y Marta, por el estímulo que me brindaron en todo momento.

A Lara y Diego, Pablo y Carla, por ser grandes amigos que están allí siempre que los necesito.

A todo el resto de mis amigos que de una u otra forma tuvieron algo que ver con la realización de este trabajo.

A todos,

MUCHAS GRACIAS.

ÍNDICE

	página
Introducción	
Ubicación taxonómica de la especie	1
Familia Cichlidae	1
Género <i>Cichlasoma</i>	3
Comportamiento reproductivo y modalidades de cría	5
Características de los huevos y larvas	6
Antecedentes y objetivos	6
Materiales y métodos	8
Resultados y discusión	
Dimorfismo sexual de la especie	14
Comportamiento reproductivo	16
Desarrollo embrionario	31
Desarrollo larval	51
Cualidades de la especie como modelo de investigación	65
Conclusiones	67
Bibliografía	68

INTRODUCCIÓN

Ubicación taxonómica de la especie (según Nelson, 1994):

Subphylum Vertebrata

Superclase Gnathostomata

Clase Actinopterygii

Subclase Neopterygii

División Teleostei

Subdivisión Euteleostei

Superorden Acanthopterygii

Serie Percomorpha

Orden Perciformes

Suborden Labroidei

Familia Cichlidae

Género *Cichlasoma*

Cichlasoma dimerus (Heckel, 1840)

Familia Cichlidae:

La familia Cichlidae se halla presente en aguas dulces y salobres de Centro y Sudamérica, Indias Occidentales, África, Madagascar, Israel, Siria, Sri Lanka y áreas costeras de la India. Comprende 105 géneros y alrededor de 1300 especies, siendo por su tamaño la segunda familia del orden Perciformes (Nelson, 1994).

Como sucede en muchas familias, hay una gran variabilidad en la forma del cuerpo de las distintas especies. La mayoría de los cíclidos tienen un cuerpo moderadamente comprimido, similar al del género *Cichlasoma* que se muestra en la figura 1. Sin embargo, el cuerpo puede tener forma de disco y poseer aletas extremadamente altas, como en *Pterophyllum*, o tener aletas bajas, como en *Sympodusodon*; o incluso puede ser elongado, como sucede en el género *Crenicichla*.

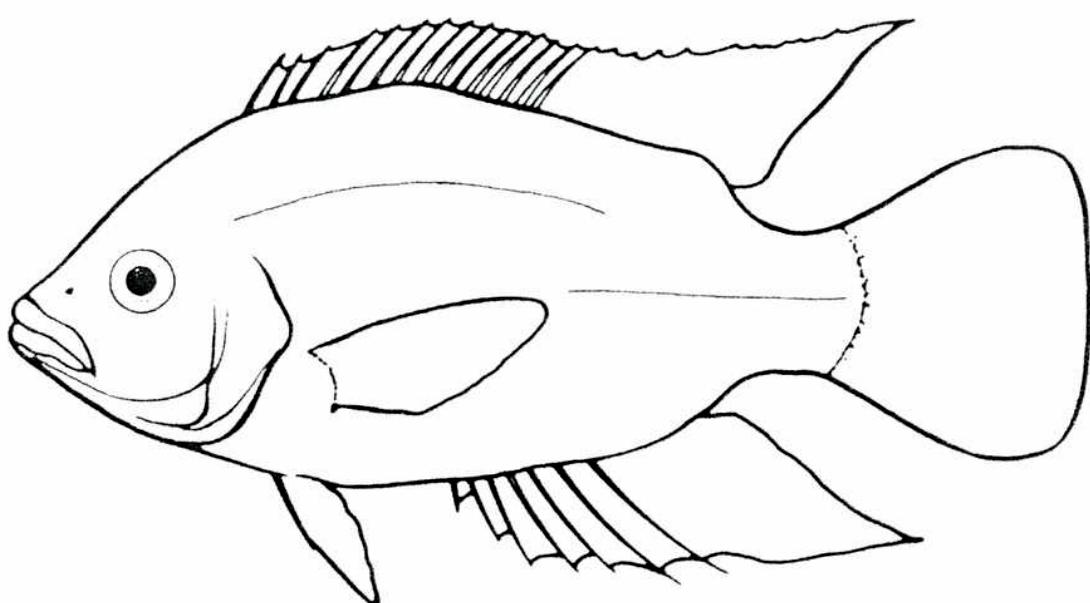


Figura 1: Ejemplar tipo del género *Cichlasoma*.

Los cíclidos se caracterizan por poseer narinas simples y la línea lateral interrumpida. El número de radios duros o espinosos de la aleta dorsal varía entre 7 y 25, mientras que el de radios blandos oscila entre 5 y 30. La aleta anal presenta entre 3 y 15 espinas (3 en la mayor parte de las especies) y de 5 a 30 radios blandos. El número de vértebras varía entre 24 y 42 (Ringuelet et al., 1967; Nelson, 1994).

Esta familia conforma un importante grupo de peces de acuario relativamente grandes y coloridos. Asimismo numerosas especies, especialmente las tilapias, son cultivadas en forma extensiva (Nelson, 1994).

Género *Cichlasoma*:

La distribución geográfica del género *Cichlasoma* comprende las cuencas de los ríos Orinoco, Amazonas, San Francisco, Paraguay, Paraná y Uruguay, hallándose también en ríos de Trinidad, Guayanas y en zonas costeras del noreste de Brasil, Río Grande do Sul y Uruguay. Las especies de este género se caracterizan por poseer escamas en la base de las aletas dorsal y anal. El patrón de pigmentación típico consiste en la presencia de una serie de bandas verticales oscuras sobre los flancos del cuerpo. La apariencia general de las especies del género *Cichlasoma* es similar al de las especies del género *Aequidens*, presentando ambos: una mancha circular en la base de la aleta caudal, otra mancha oscura sobre la mejilla, cercana a la órbita, y un diseño de manchas asimétrico en la aleta caudal. La longitud estandar de los ejemplares en la naturaleza raramente excede los 12 cm (Kullander, com. pers.).

Cichlasoma dimerus (figura 2) es una especie que se distribuye en las cuencas de los ríos Paraguay, parte inferior del Paraná alto, Paraná medio y Paraná inferior. Por lo general se la encuentra asociada a cuerpos de agua tributarios de estos ríos, como los esteros y bañados de la provincia de Corrientes. Estos ambientes son de aguas quietas y vegetadas, con profundidades que no superan los 3,5 m. Sin embargo, estos peces se ubican a no más de 1 m de profundidad, salvo cuando las temperaturas ambientales son muy elevadas o reducidas; en estos



3 cm

Figura 2: Macho adulto de *Cichlasoma dimerus*.

casos descienden a mayor profundidad en busca de aguas más frías o cálidas, respectivamente.

Comportamiento reproductivo y modalidades de cría:

Los cíclidos poseen hábitos de cría altamente organizados. El cuidado parental está muy desarrollado e incluye la protección de la progenie después de la eclosión. Generalmente ambos padres montan guardia, pero la hembra realiza la mayor parte del cuidado directo, mientras que el macho defiende el territorio o permanece en las cercanías hasta que las crías comienzan a nadar. A partir de ese momento ambos sexos cuidan de ellas (Baerends and Baerends-Van Roon, 1950; Balon, 1975).

Durante el período previo al desove tanto los machos como las hembras muestran un comportamiento característico, constituido por una serie de actividades: sacudidas, temblores, mordisqueos y deslizamientos. Greenberg et al. (1965) sugirieron que estas actividades tienen como finalidad el reconocimiento y sincronización entre los miembros de la pareja para llevar a cabo la puesta.

Pueden reconocerse dos formas generales de cuidado parental:

- i) **incubadores orales:** son usualmente polígamos y por lo general sólo la hembra porta los huevos y las larvas tempranas en la boca. La incubación oral es común en varios grupos de cíclidos africanos, pero sólo se conoce en unas pocas especies de Centro y Sudamérica.
- ii) **incubadores de sustrato:** generalmente son monógamos y ambos sexos suelen brindar cuidado a los huevos y larvas.

Algunas especies combinan ambos métodos; por ejemplo existen casos en los que los huevos son depositados y cuidados sobre un sustrato, y los jóvenes recién eclosionados son transportados en la boca de sus padres (Nelson, 1994).

Debido al tipo de incubación, la fecundidad de las hembras que incuban los huevos en la boca es de 3 a 6 veces menor que la de las hembras que desovan en sustrato. Comparativamente, éstas últimas ponen más huevos de menor tamaño (Balarin and Haller, 1982).

Balon (1975) realizó una clasificación ecológica basada en la modalidad de puesta y el comportamiento reproductivo que incluye a gran parte de las especies del género *Cichlasoma* en la categoría denominada guardianes, desovantes en nidos, litófilos. En estos casos, las hembras depositan sus huevos en una o varias capas sobre superficies limpias de rocas del sustrato. Previamente ambos padres cavan uno o más hoyos en el fondo, a los cuales transferirán la progenie con la boca después de la eclosión. En muchos casos es la hembra la que realiza la mayor parte de la incubación, mientras que el macho se dedica principalmente a cavar los hoyos. En las horas del crepúsculo, las larvas y juveniles son frecuentemente reunidas en estos huecos por sus padres.

Los padres no sólo proveen cuidado a sus crías, sino que también colaboran en el suministro de alimento. En algunas especies los padres desmenuzan hojas para sus alevinos; asimismo, cuando las crías de muchos cíclidos centroamericanos están hambrientas, comienzan a nutrirse del mucus del cuerpo de sus padres.

Características de los huevos y larvas:

Los huevos son siempre esféricos o elípticos y se adhieren firmemente al sustrato, gracias a la presencia de una sustancia mucosa que rodea al corion, o por medio de pedúnculos o estructuras filamentosas. El tamaño y el color de los huevos son muy variables.

Las larvas vitelinas de numerosas especies poseen glándulas adhesivas en la zonacefálica y baten sus colas rápidamente mientras están sujetas al sustrato. En muchas especies que construyen sus nidos en aguas lóticas, estas larvas tienen órganos respiratorios embrionarios moderadamente desarrollados; las que habitan cuerpos de agua léticos presentan, en cambio, un profuso desarrollo de vasos con función respiratoria sobre el saco vitelino y las aletas embrionarias (Balon, 1975).

Antecedentes y objetivos:

Existe una vasta la literatura referente al comportamiento reproductivo de los cíclidos, y la mayoría describe las modalidades de puesta y el cuidado parental. Sin

embargo, considerando el gran número de especies, su amplia distribución e importancia, resulta sorprendente que sea tan escasa la información descriptiva sobre el desarrollo ontogenético de las especies de esta familia (Richards and Leis, 1984).

El estudio del desarrollo embrionario y larval de los peces resulta de interés no sólo por su aporte al conocimiento de la biología de las diferentes especies, sino también para tener un modelo de comparación en aquellas investigaciones en las cuales se alteran los patrones normales del desarrollo. Asimismo es importante por su aplicación práctica que abarca desde la acuicultura hasta la biología pesquera. Por último, cabe mencionar que las larvas presentan a menudo patrones de pigmentación característicos, los cuales pueden ser utilizados para identificar las especies en un punto muy temprano del desarrollo. Los caracteres embrionarios y larvales pueden, además, ser útiles en el estudio de relaciones filogenéticas intrafamiliares (Richards and Leis, 1984; Britz, 1997).

Como trabajos precedentes sobre desarrollo temprano en la familia Cichlidae merecen citarse las observaciones realizadas por Cabrera Peña et al. (1988), Kuwamura y Mihigo (1988), Rodríguez et al. (1989), Murillo Sánchez (1990), Martínez-Palacios et al. (1993) y Murillo Sánchez y Cabrera Peña (1993).

Los objetivos de este trabajo de investigación son:

- ★ Estudiar el dimorfismo sexual de *Cichlasoma dimerus*.
- ★ Caracterizar el comportamiento reproductivo de la especie en condiciones de laboratorio.
- ★ Realizar una descripción detallada de las distintas etapas del desarrollo, desde la activación del oocito hasta la finalización del período larval.
- ★ Evaluar la aptitud de la especie como modelo para investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares adultos de *Cichlasoma dimerus* utilizados en este estudio fueron capturados en la localidad de Esteros del Riachuelo, provincia de Corrientes, Argentina (27° 25' S, 58° 15' O) (figura 3). Un total de 11 individuos fueron mantenidos en una pecera de 100 l, a una temperatura de 25 ± 0,5 °C y un fotoperíodo de 12:12 hs. Este acuario estaba provisto de aireación constante y equipado con un filtro externo. Asimismo se realizaron periódicamente recambios parciales de agua. Los peces fueron alimentados normalmente con gusanos *Tubifex* y alimento balanceado en pellets, y ocasionalmente con renacuajos.

La adaptación de los peces a las condiciones de laboratorio requirió poco más de un mes. A partir de entonces se comenzó a observar el establecimiento de territorios y la formación de parejas en el acuario comunitario. Las parejas formadas fueron aisladas en acuarios de 45 l, los cuales estaban acondicionados con una capa de grava y piedras de superficies lisas para que llevaran a cabo las puestas. Estos acuarios estaban separados por paneles opacos, de modo que cada pareja estaba visualmente asilada de las otras.

Los embriones y larvas fueron obtenidos a partir de 3 parejas. Una parte de la progenie custodiada por sus padres fue muestreada periódicamente. En todos los casos, hacia el duodécimo día de producirse el desove los alevinos fueron separados en acuarios de 10 l, en donde se prosiguió el desarrollo hasta la finalización del período larval. Las condiciones de luz y temperatura para las crías fueron las mismas que las de los adultos. Se les suministró alimento ad-libitum, que consistió en nauplii de *Artemia salina* durante los primeros estadios, complementado luego con alimento en escamas molido.

Se caracterizaron bajo microscopio óptico y estereoscópico los distintos estadios del desarrollo embrionario y larval de la especie, trabajando tanto sobre material vivo como recientemente fijado, en formol salino 4% o líquido de Bouin. Para dicha caracterización se tuvieron en cuenta rasgos fundamentales de importancia morfológica y/o funcional como ser: número de blastómeros, tipo de gastrulación, formación del tubo neural y sus derivados, número de somitos,



Figura 3: Ubicación geográfica del sitio de recolección de los ejemplares.

apertura de la boca, comienzo de la alimentación exógena, reabsorción del saco vitelino, desarrollo de las distintas aletas, aparición de las escamas, pigmentación.

Los estadios del desarrollo fueron documentados por medio de fotomicrografías y dibujos con cámara clara, registrándose asimismo la duración de cada uno de ellos. Para establecer los tiempos de desarrollo se consideró como hora cero el momento de inseminación.

La superficie externa del corion fue estudiada por medio de microscopía electrónica de barrido. Para ello, algunos huevos fueron fijados en glutaraldehido 3 % y posteriormente deshidratados mediante una serie ascendente de alcoholes. Finalmente fueron sometidos a punto crítico, montados en platina y metalizados.

Distintos estadios de embriones y larvas fueron incluídos en parafina y seccionados. Los cortes histológicos, de 8 μm de espesor, fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina o PAS-Hematoxilina (Martoja and Martoja-Pierson, 1970), observados y fotografiados bajo microscopio óptico. Asimismo se realizaron tinciones in toto de larvas vitelinas de acuerdo con la técnica de PAS propuesta por Peters and Berns (1982).

El progreso de la osificación fue estudiado empleando una modificación de las técnicas de transparentado y tinción diferencial propuestas por Taylor (1967), Potthoff (1984) y Taylor & Van Dyke (1985). Alcian blue y Alizarina roja fueron utilizados para teñir cartílago y hueso respectivamente.

Para cada una de las 3 parejas utilizadas en el estudio se registraron los siguientes parámetros: peso de cada ejemplar, número de puestas, intervalo de tiempo entre las mismas y número de oocitos por desove. Se determinaron la X y el DS de los dos últimos parámetros, para cada pareja. El número de oocitos se determinó contando los presentes en 1 cm^2 y extrapolando el valor obtenido a la superficie total cubierta por los mismos. Asimismo se determinaron los porcentajes de eclosión y supervivencia larval aproximada en los distintos desoves.

Con el objeto de establecer el dimorfismo sexual de la especie se observaron bajo lupa y se dibujaron las papillas genitales de los individuos integrantes de las parejas.

El comportamiento reproductivo de la especie fue observado y registrado tanto en el acuario general como en los individuales. En el presente estudio se emplea la terminología propuesta por Baerends and Baerends-Van Roon (1950) y

Polder (1971). A continuación, se describen brevemente las distintas actividades, las cuales son realizadas por machos y hembras de modo casi idéntico (Polder, 1971).

Movimientos para el cuidado del cuerpo:

Agitación de aletas: el pez realiza movimientos ondulatorios con las aletas pares e/o impares.

Rascado: raspa la cabeza, los flancos del cuerpo o el abdomen contra un sustrato, durante un movimiento natatorio repentino.

Movimiento relacionados con el ataque y escape:

Despliegue frontal: se aproxima o encara a otro pez con los opérculos expandidos y la membrana branquiestega erecta.

Despliegue lateral: extiende todas las aletas medias y la membrana branquiestega mientras se ubica en frente o al costado del oponente.

Combate boca a boca: trata de sujetar la quijada del adversario. Aparentemente, el pez que logra tomar la mandíbula superior del oponente es el que tiene mayor chance de ganar la contienda. Habiéndose tomado firmemente uno al otro, empujan y tiran, batiendo la cola y las aletas pectorales. Se da principalmente entre los machos.

Comportamiento de prepuesta y desove:

Recolección de objetos: levanta objetos pequeños con la boca, los mastica brevemente y los vuelve a soltar.

Cavado: transporta la grava una pequeña distancia, tomándola con la boca y expulsándola, o empujándola hacia adelante con la boca abierta y las aletas pectorales.

Sacudido: en posición horizontal, sacude la cabeza y, a veces, la parte anterior del cuerpo, de izquierda a derecha.

Temblor: serie de rápidas sacudidas laterales del cuerpo durante las cuales el eje corporal está erecto.

Ramoneo: mordisquea repetidamente un sustrato mientras realiza movimientos natatorios compensatorios, generalmente con el cuerpo en posición casi horizontal.

Mordizqueo: yaciendo con la cabeza hacia abajo, desliza con ímpetu la mandíbula inferior sobre un sustrato, raspándolo con los dientes.

Deslizamiento rasante: movimiento de deslizamiento casi horizontal que comienza desde una posición justo sobre el sustrato y termina cuando las aletas pélvicas y el abdomen están en contacto con el mismo.

Pseudodesove: se desliza sobre el sustrato con las aletas pélvicas y el abdomen en contacto con el mismo, mientras realiza movimientos propulsivos de pequeña amplitud con la cola y las aletas pectorales. La parte anterior de la aleta dorsal está ligeramente extendida.

Desove: como el pseudodesove, pero con la parte anterior de la aleta dorsal replegada; las aletas pectorales son mantenidas hacia arriba mientras que las pélvicas y la papila genital son deslizadas sobre el sustrato.

Cuidado parental:

Ventilación: en posición horizontal, aproximadamente a 1 cm de la progenie, bate las aletas pectorales alternadamente y con gran amplitud, y ondula la aleta caudal con pequeña amplitud.

Congregación de crías: en posición horizontal, bate las aletas pélvicas varias veces en rápida sucesión. A menudo esta actividad comienza con un súbito movimiento locomotor, de pequeña amplitud, que pasa a través del cuerpo, y finaliza con un batido de la cola; paralelamente las aletas pectorales realizan movimientos compensatorios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dimorfismo sexual de la especie.

La distinción entre machos y hembras de *Cichlasoma dimerus* se basa comúnmente en caracteres observables a simple vista como ser el tamaño del individuo o la longitud de los últimos radios de la aleta dorsal. En este sentido, los machos son generalmente más grandes que las hembras y presentan los últimos radios dorsales alargados a modo de filamentos, que en ocasiones llegan hasta el final de la aleta caudal.

Sin embargo estos caracteres resultan ambiguos y poco confiables para distinguir los sexos. Por ejemplo, la hembra de unas de las parejas empleadas en este estudio no es mucho más chica que el macho correspondiente (ver tabla 1, pareja 2); asimismo, no siempre los machos presentan los últimos radios de la aleta dorsal elongados.

La observación bajo lupa de las papillas genitales de los individuos permite, en cambio, diferenciar los machos de las hembras con bastante facilidad. La presencia de dos pequeños lóbulos por delante de la desembocadura del sistema urogenital es característica de las hembras (fig. 4). Martínez-Palacios et al. (1993) han descripto un dimorfismo similar en *Cichlasoma urophthalmus*, otra especie del género presente en América Central.

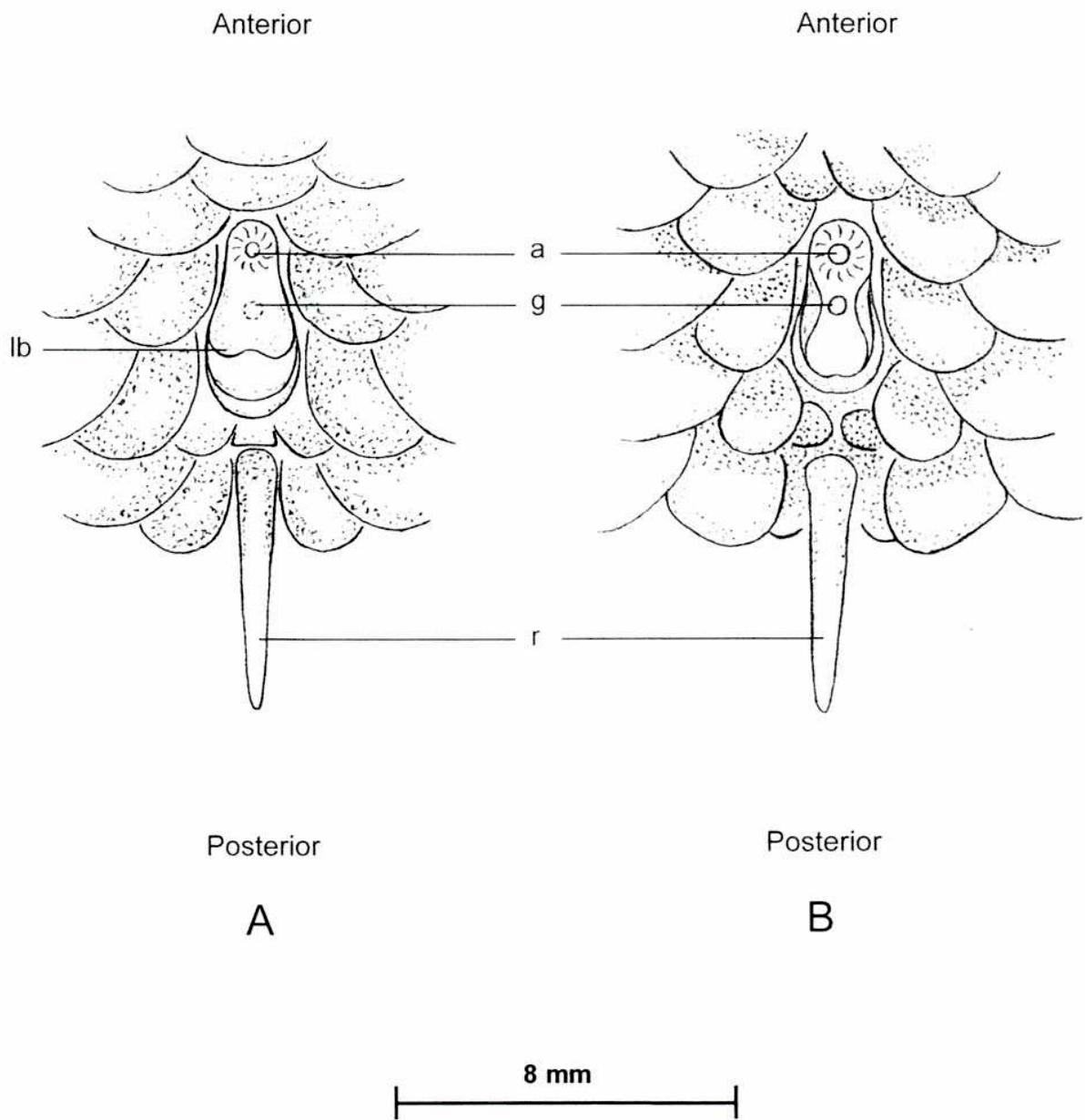


Figura 4: Dibujos de las papilas genitales de una hembra (A) y un macho (B) de *Cichlasoma dimerus*; a: ano, g: abertura del aparato urogenital, lb: lóbulos, r: primer radio de la aleta anal.

Comportamiento reproductivo

El comportamiento reproductivo de *Cichlasoma dimerus* coincide en líneas generales con el descripto por Polder (1971) para *Aequidens portalegrensis* (actualmente *Cichlasoma portalegrense*). Sin embargo, en el presente estudio se evidenciaron ciertas conductas de interés no descriptas anteriormente.

Formación de parejas en el acuario comunitario:

Un mes después de la transferencia de los peces al acuario comenzó a observarse cierta distribución espacial y el establecimiento de territorios. Los dueños de los territorios invertían parte de su tiempo realizando actividades agonísticas hacia otros peces. Uno de los machos, generalmente el de mayor porte, era dominante en la comunidad y perseguía a los otros repetidamente. Generalmente estos últimos adoptaban posturas en señal de sumisión. En ciertas ocasiones dos machos se disputaban el liderazgo practicando despliegues laterales y frontales, y combate boca a boca (fig. 5 y 6). Otras actividades realizadas por los individuos consistían en la inspección del sustrato, la recolección de objetos y el cavado en la grava. De tanto en tanto llevaban a cabo movimientos de cuidado del cuerpo.

Cada formación de pareja en esta comunidad parecía estar iniciada por un cambio interno en la hembra, que se expresaba en un incremento de la actividad general y un oscurecimiento de la parte ventral del cuerpo. Polder (1971) denominó a este fenómeno activación sexual (fig. 7 y 8). Al principio, gran parte de la actividad de dicha hembra tenía el carácter de comportamiento exploratorio. Generalmente conducía a un interés creciente en un sustrato particular. Se trataba casi siempre de una piedra que visitaba repetidamente y por períodos de tiempo cada vez mayores, y a la cual inspeccionaba y limpiaba con la boca (figura 9). Ante este comportamiento, uno de los machos de la comunidad, casi siempre el dominante, demostraba su interés y se aproximaba a dicho sector. A pesar de inicialmente rechazarse uno al otro, los enfrentamientos entre los futuros miembros de la pareja decrecían paulatinamente y finalmente desaparecían, mientras que su agresión



Figura 5: Machos en combate sujetándose de las bocas.



Figura 6: Machos practicando combate boca a boca.



Figura 7: Activación sexual de la hembra.



Figura 8: Activación sexual de la hembra. Notar el oscurecimiento de la parte ventral del cuerpo.



Figura 9: Hembra limpiando el sustrato sobre el cual desovará.



Figura 10: Pareja defendiendo el sitio de puesta frente a la presencia de otros individuos. Notar el despliegue de la membrana branquiestega de la hembra.

hacia el resto de los peces se incrementaba. Esto conducía a una defensa cooperativa del territorio contra los individuos que se aproximaban al área (fig. 10). Los miembros de la pareja dividían entonces su tiempo entre el comportamiento agresivo hacia los vecinos y las actividades de prepuesta: las sacudidas y temblores, el ramoneo sobre el sustrato seleccionado (fig. 11), el cavado (fig. 8 y 12), la toma de objetos (fig. 13) y los deslizamientos sobre el sustrato (fig. 14). Según Greenberg et al. (1965) estas conductas tienen como finalidad el reconocimiento y la sincronización entre los miembros de la pareja para llevar a cabo la puesta. El sustrato elegido conformaba el centro del territorio final de la pareja, el cual ocupaba una gran parte del volumen total del acuario. De este modo, los restantes individuos quedaban restringidos a un espacio bastante limitado.

Comportamiento de las parejas aisladas:

Una vez que los peces eran transferidos al acuario individual, comenzaban a moverse libremente en unos pocos minutos. Horas más tarde las actividades de prepuesta comenzaban a ser realizadas por ambos miembros de la pareja. Al principio este comportamiento ocurría durante cortos intervalos de tiempo distribuidos a lo largo del día, pero pronto se hacía más frecuente. Sacudidas y temblores eran mostrados durante la fase temprana del período de prepuesta; más tarde las actividades de cavado, mordisqueo, ramoneo y deslizamiento rasante eran realizadas. Durante la fase tardía del período de prepuesta el deslizamiento gradualmente daba lugar a la actividad de pseudodesove (figura 15), que finalmente terminaba en el desove.

Durante todo el periodo previo al desove se observó que, en alternancia con el resto de las actividades, los individuos realizaban despliegues de agresión hacia sus imágenes reflejadas sobre los vidrios del acuario.

Mecanismo de puesta:

Durante el desove, la hembra desliza su papila genital erecta sobre el sustrato y los oocitos son depositados en filas (fig. 16). Una vez que alcanzan el sustrato, son ligeramente presionados contra el mismo por el ovipositor y se



Figura 11: Hembra ramoneando el sustrato elegido para el desove.

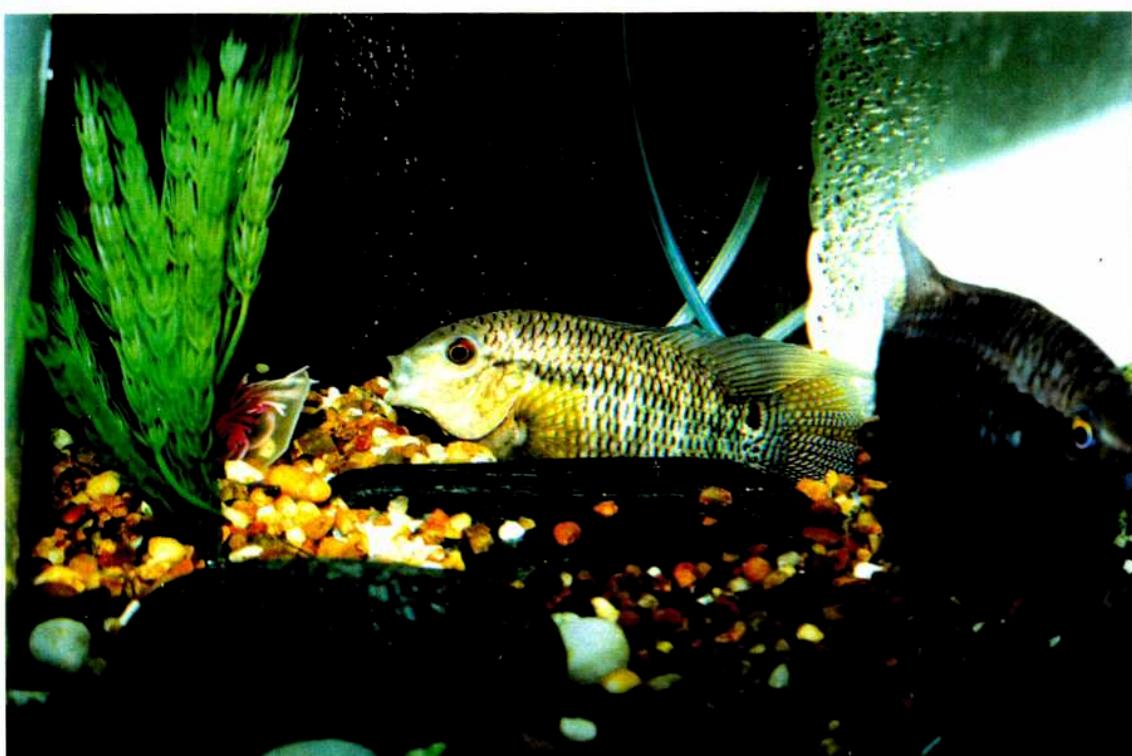


Figura 12: Macho cavando el hoyo al cuál serán transferidas las larvas luego de la eclosión.



Figura 13: Hembra recolectando piedras del fondo.



Figura 14: Hembra deslizándose sobre el sustrato elegido para la puesta.



Figura 15: Hembra realizando la actividad de pseudodesove.



Figura 16: Hembra desovando.

adhieren con su eje longitudinal paralelo al sustrato. El micropilo, situado en el polo animal, permanece entonces libre del sustrato. El número de oocitos depuesto en cada fila es bajo al principio, luego se incrementa, y decrece nuevamente hacia el final del desove. En las primeras filas, los oocitos son depositados unos cerca de otros, mientras que más tarde los mismos son ubicados sólo en los espacios vacíos que quedan entre los previamente adheridos. En ese momento se puede observar cómo el ovipositor registra el sustrato en busca de los lugares vacíos. La adhesión de los oocitos entre sí y al sustrato es lograda gracias a una capa de secreción mucosa que rodea al corion. Esta sustancia adhesiva es secretada por las células foliculares momentos antes del desove (Polder, 1971).

A medida que la hembra deposita los oocitos, el macho desliza su papila genital erecta sobre el sustrato cubierto por los mismos. De este modo la inseminación es realizada (fig. 17). Al final del proceso, que dura aproximadamente 1,5 horas, los huevos forman una monocapa uniforme sobre el sustrato (fig. 16).

Cuidado parental:

El desove es seguido por un período de cuidado parental, durante el cual el macho y la hembra protegen la progenie en cooperación. Para ello ventilan los huevos con sus aletas pectorales (fig. 18) y retiran aquellos que han sido atacados por hongos con la boca (fig. 19). Luego de producida la eclosión, las larvas son transferidas oralmente hacia un hoyo previamente cavado en la grava, y allí continúan siendo ventiladas por sus progenitores. Una vez que las crías comienzan a nadar libremente (fig. 20), son guiadas por sus padres, y, cada vez que se dispersan, son reunidas por los mismos tomándolas con la boca o mediante movimientos de sus aletas. Tarde o temprano los miembros de la pareja comienzan a realizar nuevamente las actividades de prepuesta y pueden volver a desovar, a pesar de la presencia de alevinos de la camada anterior.

Durante el cuidado parental, los progenitores se tornan sumamente agresivos y reaccionan con fiereza ante cualquier presencia extraña (por ej. la pipeta utilizada para retirar las muestras de embriones y larvas) (fig. 21).



Figura 17: Macho realizando la inseminación de los oocitos.



Figura 18: Hembra ventilando los huevos.



Figura 19: Hembra retirando los huevos afectados por fungosis.



Figura 20: Macho rodeado por alevinos que han comenzado a nadar libremente.



Figura 21: Hembra agrediendo a la pipeta utilizada para retirar las muestras.

Observaciones de interés:

Mientras estuvo presente en el acuario comunitario una pareja recientemente constituida no se observaron nuevas formaciones de las mismas. Por el contrario, al ser aislada la pareja existente, se producía una redistribución espacial de los individuos y una de las hembras comenzaba con las conductas que conducían al establecimiento de una nueva pareja. Es posible que la falta de espacio sea uno de los factores que impidan la coexistencia de más de una pareja a la vez en el acuario general.

Cuando un macho que había sido aislado junto con su pareja para llevar a cabo una puesta era reintroducido en el acuario general, inmediatamente era enfrentado por el macho dominante de la comunidad y comenzaban a desarrollar despliegues frontales y laterales, y sujetaciones boca a boca. En este caso la presencia del individuo extraño parece incentivar la conducta agresiva por parte del líder de la comunidad. En los casos en que se permitió la progresión de los enfrentamientos entre estos dos individuos se observó que finalmente uno de ellos imponía su supremacía y podía llegar a lesionar seriamente al otro ejemplar.

No siempre el fenómeno de activación sexual de la hembra va acompañado de un oscurecimiento de la parte ventral de su cuerpo. Lo que sí se observa en todos los casos es un aumento de su actividad general: la misma se muestra inquieta, desplazándose de un lugar al otro, en torno del sustrato elegido.

Si bien todas las conductas descriptas fueron en algún momento realizadas por machos y hembras, hay ciertas actividades que son llevadas a cabo por uno de los sexos preferentemente. Así, por ejemplo, es el macho quién se dedica en mayor medida a cavar el hoyo (fig. 8 y 12) al que serán posteriormente transferidas las larvas; mientras que la hembra realiza la mayor parte de la limpieza de la superficie elegida para el desove (fig. 9 y 11).

Momentos antes de la puesta la papila genital de la hembra es bien prominente, mientras que la del macho no es tan conspicua. Polder (1971)

diferencia las actividades de desove y pseudodesove básicamente por la disposición de la parte anterior de la aleta dorsal, la cual está ligeramente extendida durante la primera actividad y replegada durante la segunda. En el presente estudio, además de corroborarse estas descripciones, se observó otra diferencia de importancia: durante el pseudodesove la hembra desliza su papila genital erecta lentamente sobre el sustrato, sin liberar oocitos (fig. 15); al desovar, en cambio, va depositando los oocitos uno a uno (fig. 16). La actividad de pseudodesove parece tener entonces una función de reconocimiento del sustrato, previamente a la deposición de los oocitos.

Si una camada de alevinos era transferida a un acuario con una pareja sin crías, era inmediatamente adoptada por los nuevos padres y provista del cuidado habitual. En este sentido, la adopción de crías ya ha sido descripta para otras especies de cíclidos (Myrberg, 1966).

En varias ocasiones, una vez que las crías fueron retiradas del acuario individual y este último fue reacondicionado para un nuevo desove, se observaron conductas agresivas entre macho y hembra. En algunos casos, el enfrentamiento fue tan arduo que uno de los miembros de la pareja tuvo que ser retirado para prevenir lesiones de gravedad. Estas observaciones resultan llamativas ya que los cíclidos que incuban en sustrato son generalmente monógamos. Si bien se produce un cierto rechazo entre el macho y la hembra antes de formarse la pareja, resulta difícil aceptar que, al estar la misma ya constituida, esta agresión mutua debiera repetirse antes de un nuevo desove. Más extraño aún resulta el hecho de que, si los miembros de la pareja eran separados por un tabique transparente durante unos días, no volvían a agredirse al ser nuevamente reunidos, y comenzaban con las actividades de prepuesta al poco tiempo. Una posible explicación para este hecho es que los individuos no se reconozcan como pareja al ser (nuevamente) introducidos en el acuario reacondicionado. Sin embargo, la misma conducta se registró en ciertas ocasiones en las cuales únicamente se retiraron sus crías (sin realizar un cambio del agua de la pecera). En este caso, lo único que cabe pensar es que la pérdida de la progenie los altera y torna agresivos. Sea cual fuere la causa del rechazo entre los miembros de la pareja, estas observaciones hacen

dudar de la condición de monogamia en esta especie. Para establecer si estos peces son monógamos o no habría que hacer otros estudios del comportamiento posterior al desove. Por ejemplo, sería importante estudiar si el macho y la hembra se agredean y dejan de formar pareja después de retirarles sus crías en un acuario comunitario, es decir donde haya presencia de otros individuos de ambos sexos.

Desarrollo embrionario:

Oocito (0 hs): Los oocitos de *Cichlasoma dimerus* son telolecíticos y de forma ovalada. Sus dimensiones son $1,65 \pm 0,05$ mm de largo y $1,30 \pm 0,05$ mm de ancho (fig. 22 A). Presentan un corion consistente y liso, rodeado por una capa de secreción mucosa que permite la adhesión de los mismos al sustrato y entre ellos cuando son depositados. Esta sustancia es secretada por las células foliculares en el momento previo al desove (Polder, 1971)(fig. 23). El corion presenta en el polo animal un micropilo de forma infundibular, que atraviesa el espesor del mismo, con su porción más estrecha dirigida hacia el interior y su extremo más ancho hacia el exterior. Éste es el único punto a través del cual el espermatozoide puede alcanzar la membrana del oocito. El vitelo es brillante y está formado por numerosas plaquetas, firmemente empaquetadas. El mismo está rodeado por una capa de citoplasma muy delgada, subyacente a la membrana plasmática del oocito (fig. 22 A).

Básicamente, la estructura del micropilo consiste en una depresión más o menos cónica (vestíbulo)(fig. 24 A) que continúa con un canal que termina sobre la superficie del oocito. En los oocitos de *C. dimerus* el diámetro externo del micropilo es de $30 \mu\text{m}$ aproximadamente, mucho mayor que el tamaño de los espermatozoides (fig. 24 B). El canal se adelgaza progresivamente y su abertura sobre la membrana del oocito es apenas mayor que el diámetro de la cabeza del espermatozoide. Esto asegura que un solo espermatozoide contacte la membrana del oocito; evitando la polispermia. Existen evidencias de que la fecundación se ve facilitada por la presencia de elementos que atraen los espermatozoides a la región micropilar del corion (Suzuki, 1958). Es posible, entonces, que el micropilo no solo conforme una ruta de acceso al oocito, sino que también facilite la fecundación atrayendo los espermatozoides hacia la zona apropiada del corion (Dumont and Brummett, 1985).

El corion es en general proteico y conforma una envoltura protectora para el embrión en desarrollo. Externamente, su superficie presenta ligeras elevaciones separadas por surcos que posiblemente correspondan a las improntas de las zonas

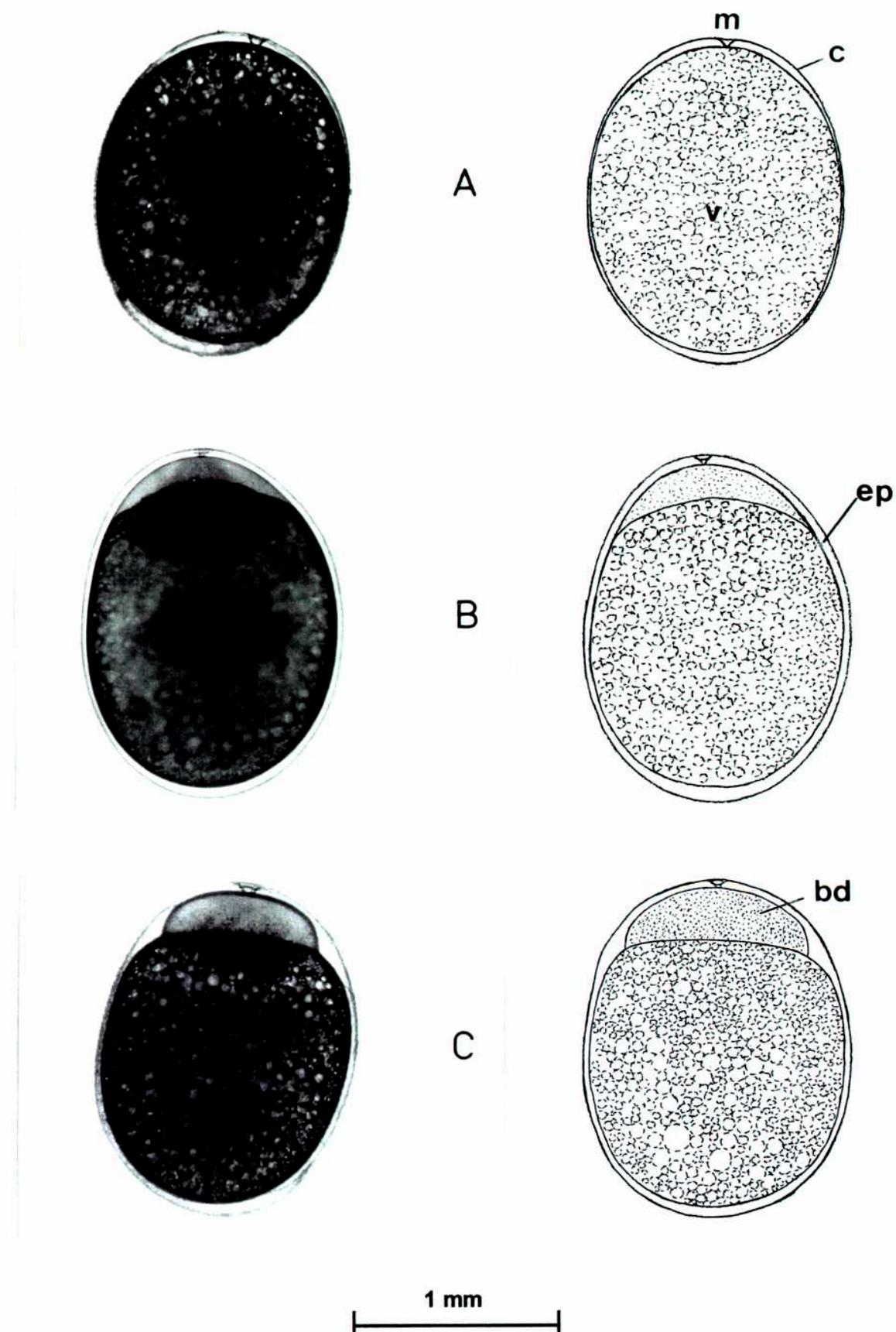


Figura 22: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de oocito (A), huevo (B) (observar la migración del citoplasma cortical) y blastodisco (C); bd: blastodisco, c: corion, ep: espacio perivitelino, m: micropilo, v: vitelo.

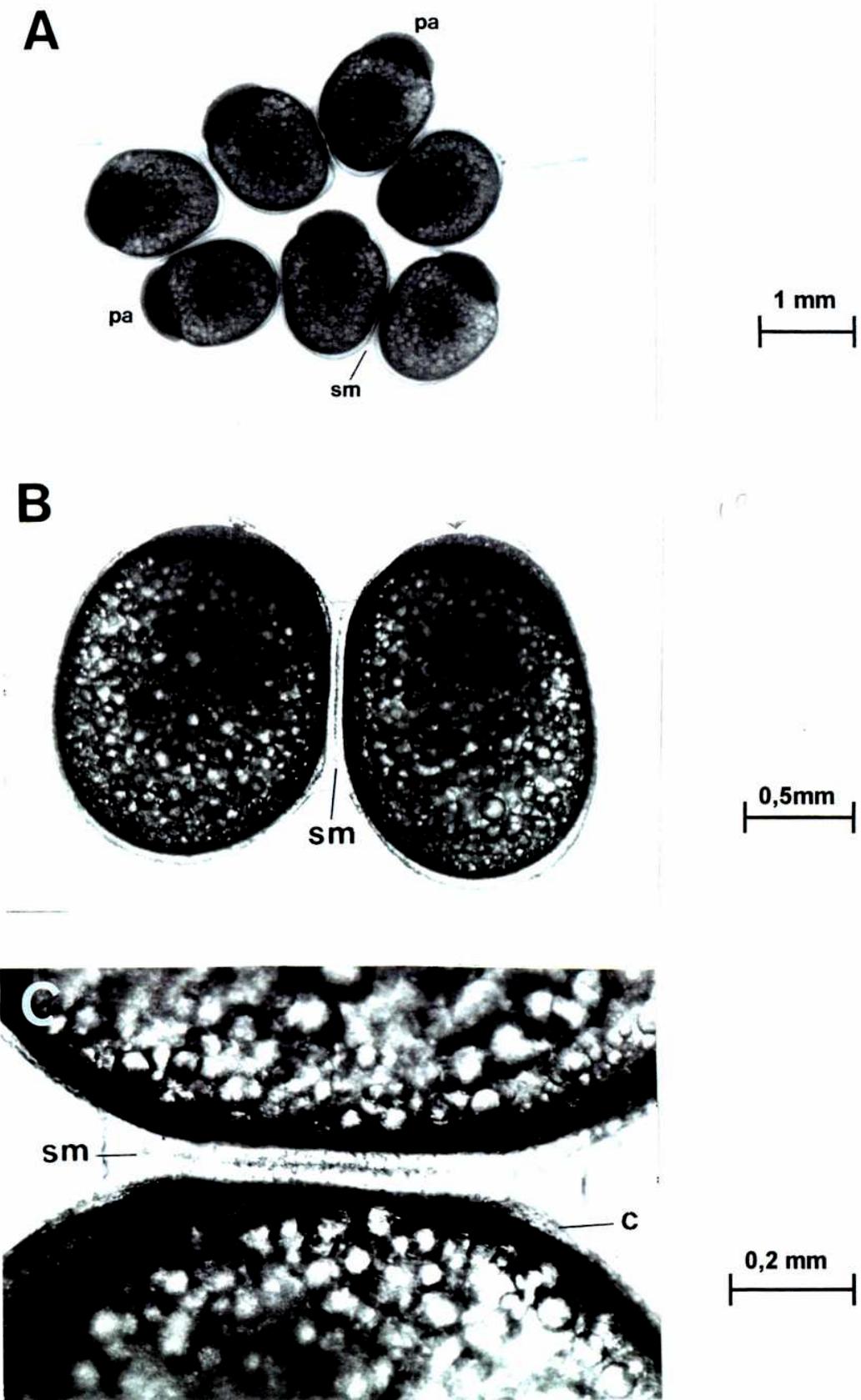


Figura 23: A: Conjunto de huevos adheridos por la secreción mucosa producida por las células foliculares. B y C: Detalle de la zona de contacto entre dos huevos; c: corion, pa: polo animal, sm: secreción mucosa.

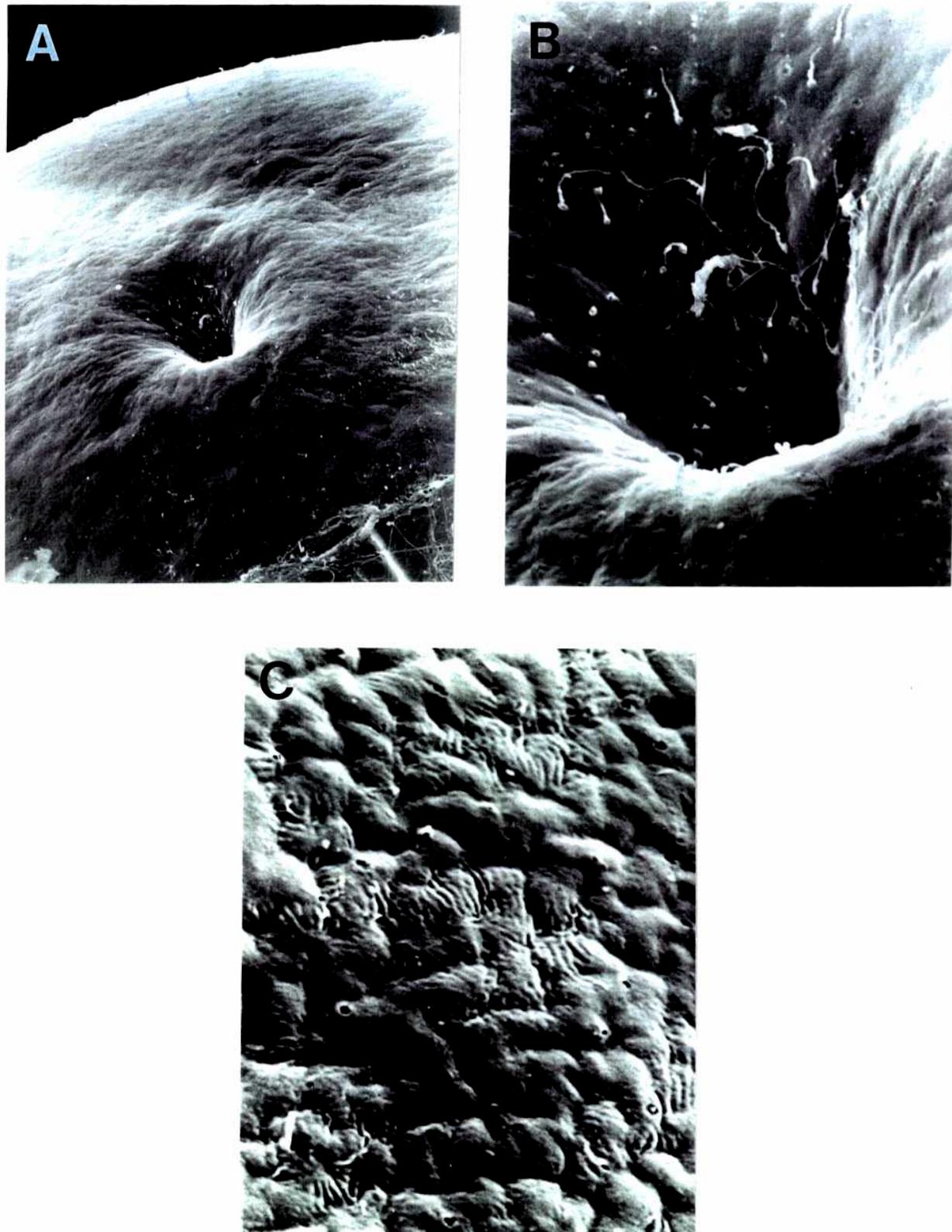


Figura 24: MEB. A: Micropilo del oocito de *Cichlasoma dimerus* (200 X). B: Detalle del micropilo con espermatozoides ingresando (450 X). C: Magnificación de la superficie externa del corion (3000 X).

de contacto entre las células foliculares (fig. 24 C).

Al observar los huevos de *C. dimerus* al microscopio óptico, con baja intensidad de luz, se hace evidente la presencia de unos filamentos delgados en la zona del polo animal. En esta región la capa de secreción mucosa que rodea al corion se interrumpe (fig. 25 A y B). En principio podría pensarse que estos filamentos constituyen estructuras de adhesión del huevo al sustrato. En este sentido, la existencia de fibras adhesivas que se ubican en determinadas zonas del corion ha sido comprobada en numerosas especies de teleósteos que depositan sus huevos en sustratos rocosos o vegetales (Balon, 1975; Britz, 1997; Dumont and Brummett, 1985). Sin embargo, los oocitos de esta especie se fijan con sus ejes longitudinales paralelos al sustrato, de modo que el micropilo y el polo animal no quedan en contacto con el mismo (fig. 23 A). Además, cabe destacar que estos filamentos son observados únicamente durante los primeros estadios de la segmentación (están presentes hasta el estadio de cuatro u ocho blastómeros aproximadamente). Por lo tanto resulta difícil pensar que estas fibras cumplan una función de adhesión. Lamentablemente, los estudios de microscopía electrónica realizados hasta el momento no han permitido observar con más detalle la estructura de estos filamentos. Nuevos estudios son necesarios para poder dilucidar la posible función de los mismos.

Huevo y blastodisco (10 min – 1 h 25 min): Con la penetración del espermatozoide se forma el espacio perivitelino. El citoplasma cortical sufre un desplazamiento hacia el polo animal (fig. 22 B), donde está localizado el núcleo, dando lugar a una capa citoplasmática conspicua llamada blastodisco o disco germinal (fig. 22 C). El citoplasma del blastodisco es continuo con una delgada capa de citoplasma cortical que rodea al vitelo, denominada capa citoplasmática vitelina.

Segmentación:

La segmentación es típicamente meroblastica discoidal, involucrando únicamente al blastodisco. Las divisiones citoplasmáticas no llegan hasta el vitelo, de modo que los blastómeros, en sus regiones basales, permanecen interconectados por puentes citoplasmáticos (Kimmel et al., 1995).

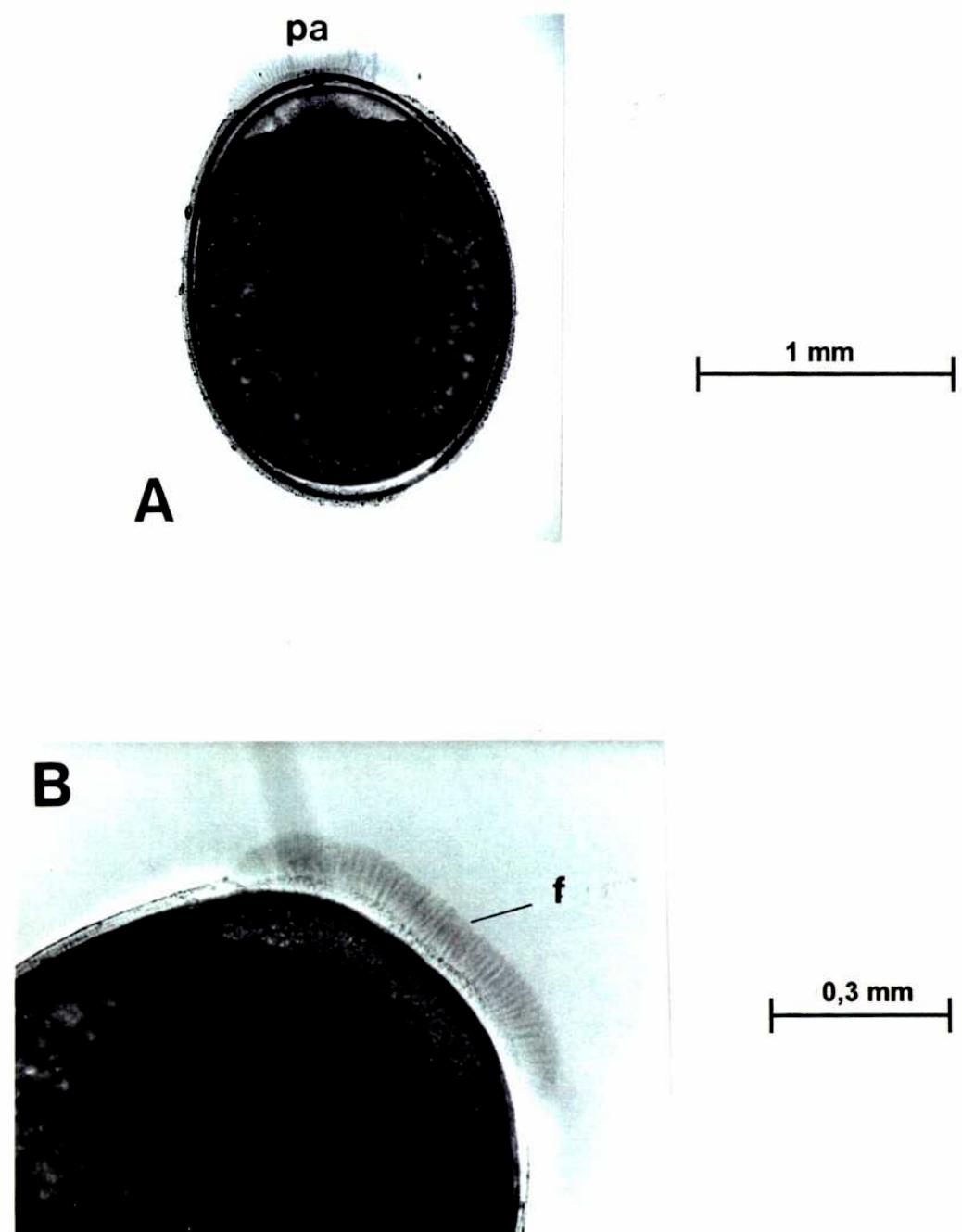


Figura 25: A: Filamentos del polo animal de un oocito fecundado. B: Magnificación de la zona del polo animal; f: filamentos, pa: polo animal.

2 blastómeros (1 h 45 min): El primer surco de segmentación es meridional; se origina en el polo animal y progresá rápidamente hacia el polo vegetativo, deteniéndose en el vitelo subyacente. Los dos blastómeros formados son de tamaño semejante (fig. 26 A).

Al igual que en los embriones del zebrafish, *Danio (Brachydanio) rerio* (Kimmel et al., 1995), los próximos cuatro clivajes ocurren en orientaciones bastante regulares de modo que, contando el número de blastómeros en vista lateral y observando la disposición de los mismos, es posible inferir el número total de células que componen el embrión en segmentación. Durante este período las células se dividen en forma aproximadamente sincrónica (fig. 27).

4 blastómeros (2 hs 05 min): El segundo plano de segmentación es meridional y perpendicular al primero, originándose cuatro blastómeros (fig. 26 B).

8 blastómeros (2 hs 45 min): A ambos lados del primer surco de segmentación, y paralelos al mismo, aparecen dos nuevos surcos, delimitando ocho blastómeros (fig. 26 C).

16 blastómeros (3 hs 30 min): Los surcos correspondientes a este ciclo se llevan a cabo a lo largo de dos planos de segmentación paralelos y a ambos lados del segundo, quedando definidos dieciséis blastómeros (fig. 28 A).

32 blastómeros (4 hs 20 min): Los surcos que determinan este estadio se producen normalmente a lo largo de cuatro planos paralelos que se ubican a derecha e izquierda de los surcos correspondientes a la tercera segmentación. Frecuentemente los blastómeros de este estadio se disponen en un ordenamiento 8 X 4. Sin embargo, los surcos pueden orientarse en forma oblicua y otros patrones regulares e irregulares, que involucren una o más células, pueden tener lugar (fig. 28 B).

64 blastómeros (4 hs 55 min): Los surcos correspondientes a este ciclo se producen en sentido latitudinal, de modo que en una vista desde el polo animal el conjunto de blastómeros luce similar al estadio de treinta y dos células, aunque los

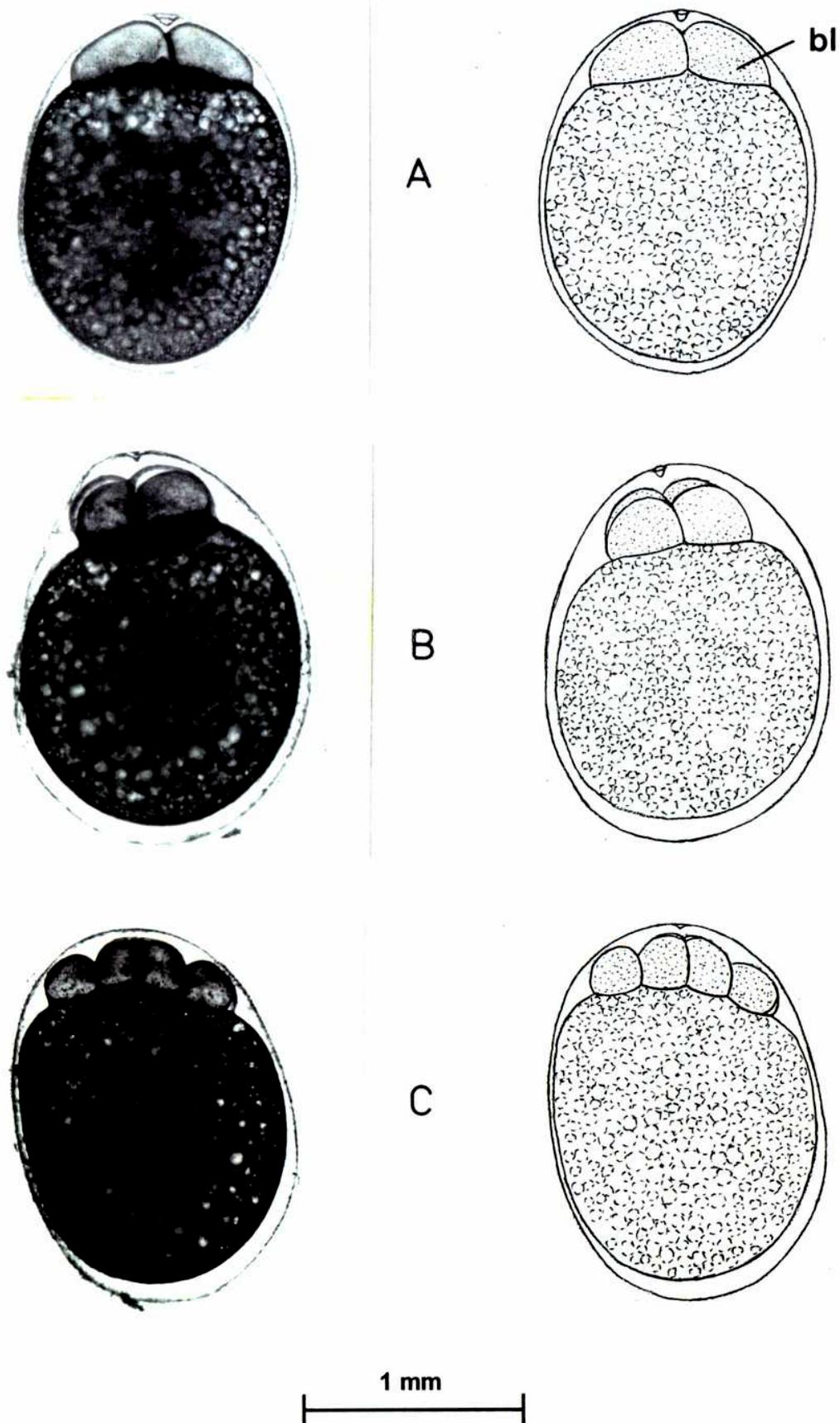


Figura 26: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de dos blastómeros (A), cuatro blastómeros (B) y ocho blastómeros (C); bl: blastómero.

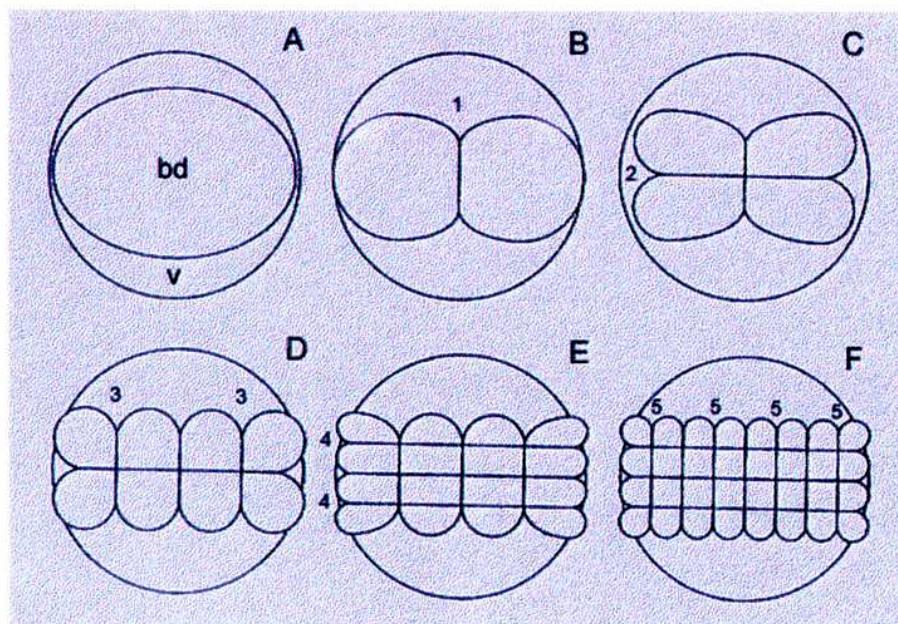


Figura 27: Esquema de una vista del polo animal mostrando los planos de las primeras cinco segmentaciones. En A el círculo externo representa el vitelo (v) y la elipse interna el blastodisco (bd). En B – F se muestran los sucesivos planos de división. (Tomado de Kimmel et al., 1995).

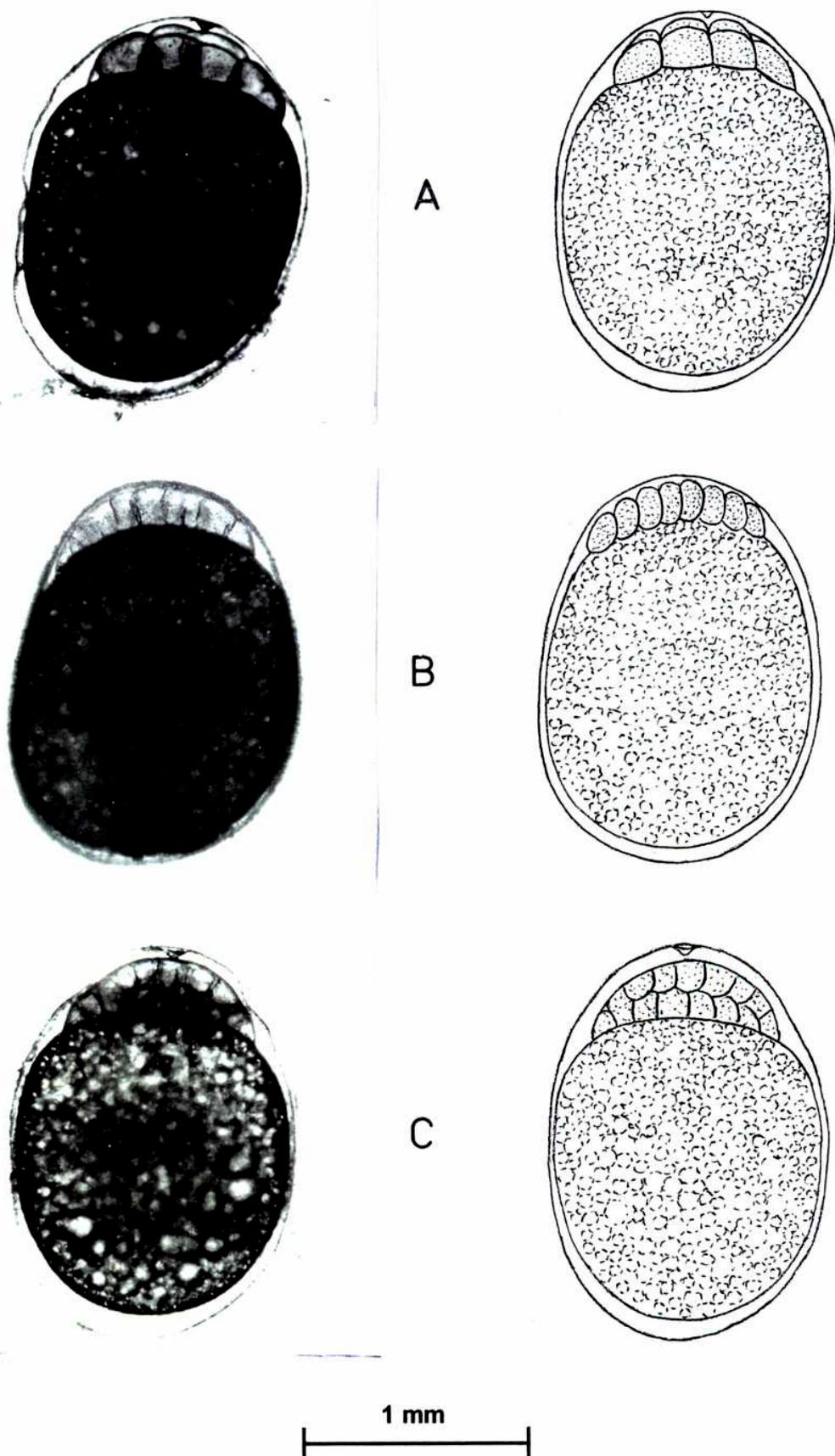


Figura 28: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de dieciseis blastómeros (A), treinta y dos blastómeros (B) y sesenta y cuatro blastómeros (C); bl: blastómero.

blastómeros son más pequeños. En una vista lateral el montículo de células se ve más alto. Por primera vez algunos de los blastómeros cubren completamente a otros (fig. 28 C).

Blastulación:

La **blastulación** se extiende desde el estadio de 128 blastómeros hasta el inicio de la gastrulación. La blástula consiste inicialmente en un blastodermo multicelular que forma una masa prominente sobre el vitelo; más tarde el mismo se aplana y extiende ocupando un área mayor. A medida que la segmentación prosigue se diferencian distintas zonas en el blastodermo. La capa más superficial de blastómeros, firmemente unidos unos a otros, se denomina capa envolvente, mientras que la capa basal sincial que yace sobre el vitelo se conoce como periblasto o capa sincial vitelina. Entre ambas se encuentra un conjunto de células más o menos sueltas denominadas blastómeros profundos. Los espacios intercelulares que quedan entre los mismos constituyen el blastocele.

El citoplasma del periblasto es continuo con la capa citoplasmática vitelina que rodea la masa de vitelo (Karp, 1981). El periblasto no contribuye directamente al desarrollo del embrión. En un principio tiene la forma de un anillo estrecho alrededor del margen del blastodermo, pero pronto se desliza bajo el mismo, formando un sincicio interno llamado capa sincial vitelina interna, que persiste durante la embriogénesis. Su posición entre las células embrionarias y las respectivas reservas nutritivas del vitelo sugiere que cumple una función de movilización de nutrientes. La región periférica del periblasto, denominada capa sincial vitelina externa, se ubica externamente al borde del blastodermo, en contacto con la capa envolvente, y parece constituir el motor principal para el movimiento de epibolia (Kimmel et al., 1995).

Blástula temprana (5 hs 30 min): En las blástulas tempranas puede observarse una constricción en la zona de contacto de la capa envolvente con el periblasto (fig. 29 A).

Blástula avanzada (7 hs 10 min): A medida que progresla la blastulación el eje animal-vegetativo de la blástula se acorta, al aplanarse el blastodermo.

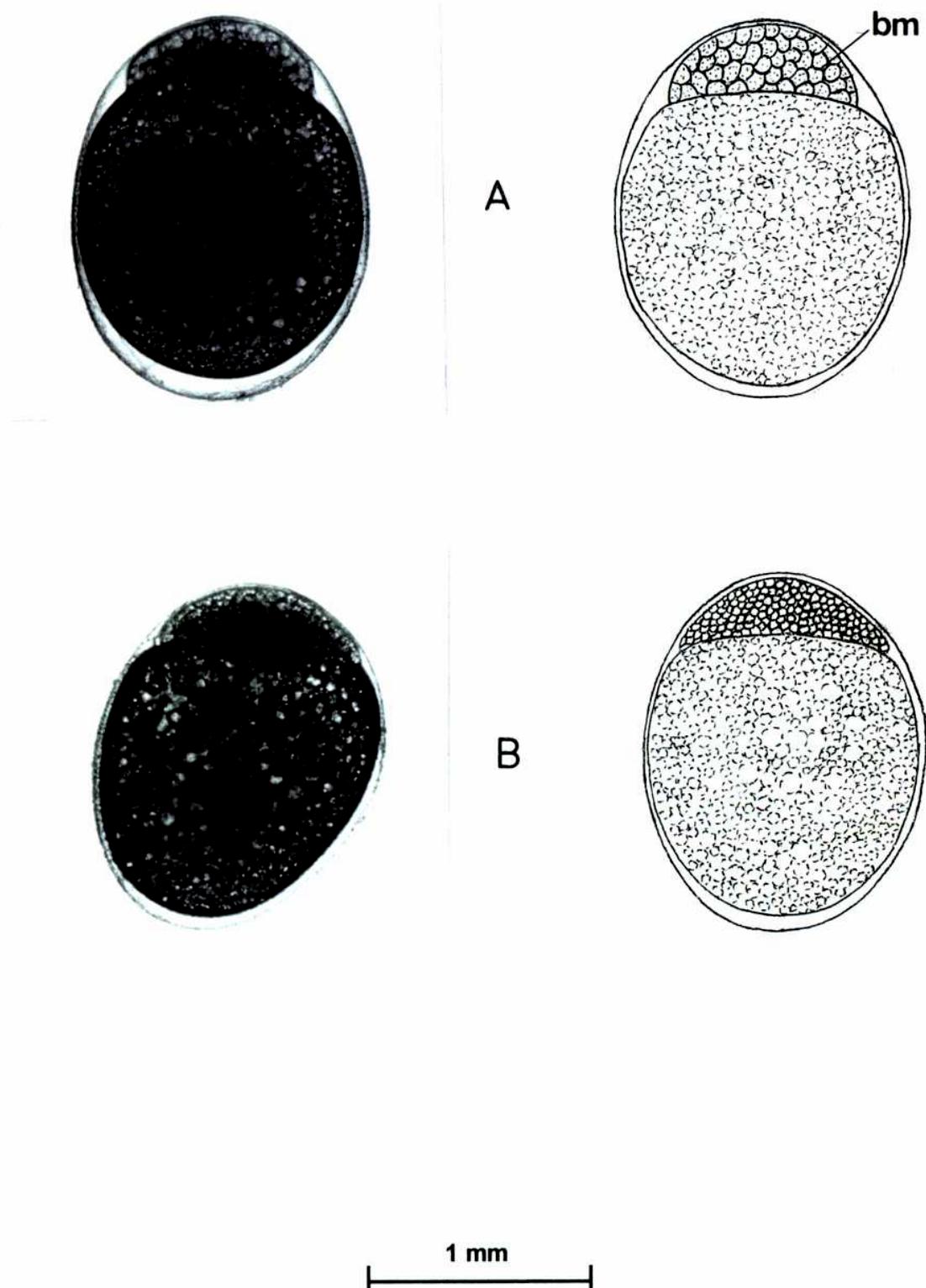


Figura 29: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de blástula temprana (A) y blástula avanzada (B); bm: blastodermo.

Asimismo, la constricción antes mencionada va disminuyendo hasta que finalmente desaparece (fig. 29 B).

Gastrulación:

La **gastrulación** está caracterizada por un movimiento de epibolia y el reordenamiento de los blastómeros profundos. Durante la epibolia, el blastodermo, con el periblasto sincial como su borde de avance, se desliza progresivamente hacia el polo vegetativo, cubriendo el vitelo.

Anillo germinal (15 hs 30 min): Como consecuencia de estos movimientos morfogenéticos, la parte central del blastodermo se hace más angosta, mientras que el borde adquiere mayor espesor, constituyendo el anillo germinal. El blastodermo, que antes estaba constituido por un montículo de células apiladas, pasa ahora a tener la una forma de copa invertida de espesor uniforme que yace sobre el vitelo (fig. 30 A).

La masa vitelina cambia de forma al mismo tiempo que se produce el movimiento de epibolia. La capa sincial vitelina interna adquiere una forma de cúpula, orientada hacia el polo animal. Este rápido cambio en la zona de interfase entre el blastodermo y el vitelo constituye un indicio de que el movimiento de epibolia ha comenzado (Kimmel, 1995). A medida que el vitelo se aboveda hacia el polo animal, ocupa la región que simultáneamente van dejando vacante los blastómeros profundos en movimiento (fig. 30 A).

Conforme prosigue la epibolia, la capa sincial vitelina externa avanza sobre el vitelo, arrastrando tras ella a gran parte del blastodermo. Paralelamente, la capa envolvente se va haciendo más delgada, hasta formar una monocapa epitelial, difícil de observar.

Escudo embrionario (16 hs 20 min): En la zona del anillo germinal que corresponde a la futura región dorso-caudal del embrión se produce una acumulación local de células profundas por movimientos de convergencia, constituyendo el llamado escudo embrionario. El grado de avance del blastodermo al momento de formarse el mismo es variable en las distintas especies de teleósteos

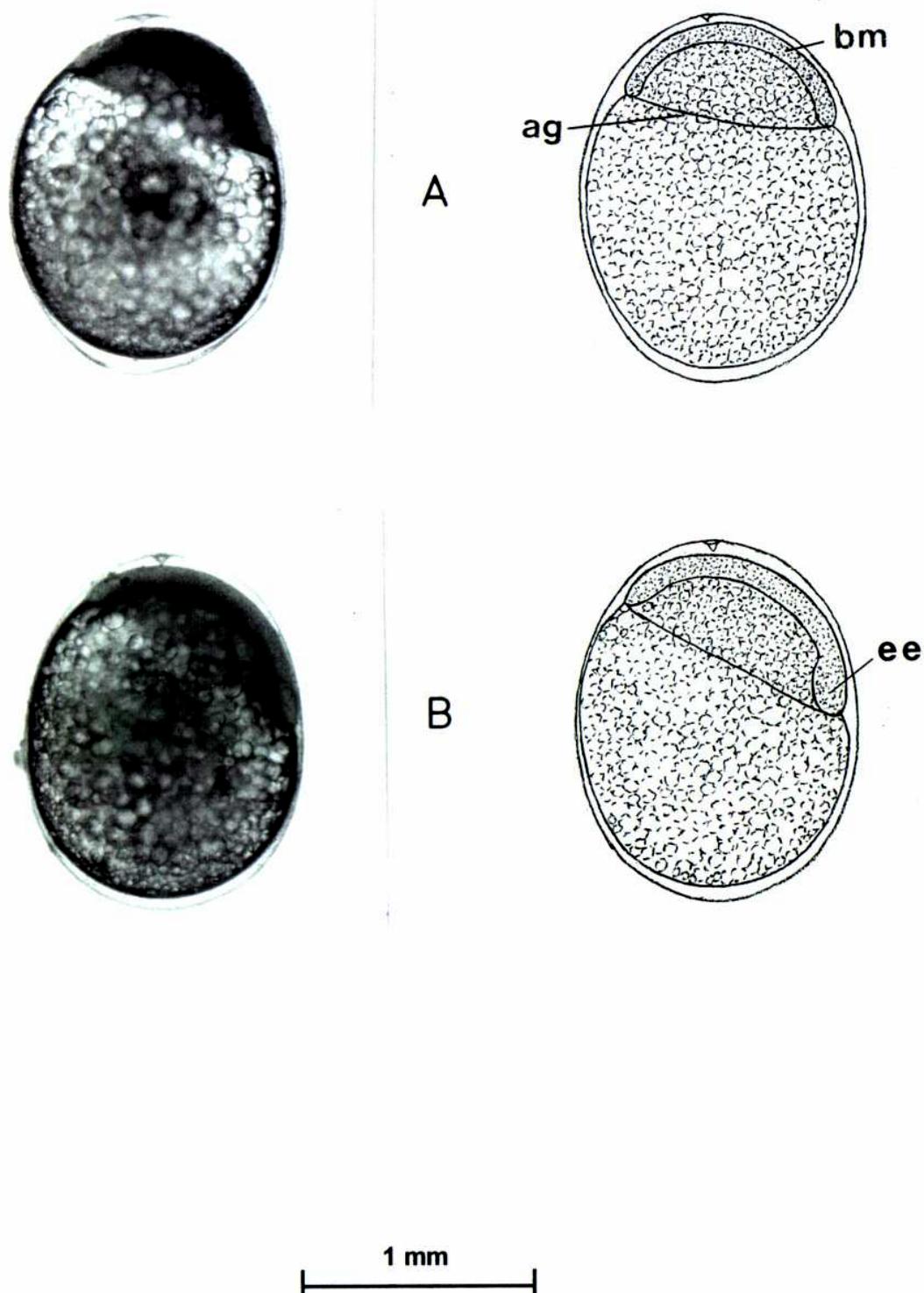


Figura 30: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de anillo germinal (A) y escudo embrionario (B); ag: anillo germinal, bm: blastodermo, ee: escudo embrionario.

(Matkovic et al., 1985). En *C. dimerus* sólo un 30 % del vitelo está cubierto cuando el escudo se origina (fig. 30 B).

El escudo embrionario comienza a elongarse hacia el polo animal. La región anterior del mismo formará la zona cefálica del embrión, y la más superficial, la zona dorsal, quedando así definidos los ejes antero-posterior y dorso-ventral.

A partir de esta etapa, en el embrión en crecimiento se van diferenciando progresivamente dos capas. La superior, denominada epiblasto, originará el ectodermo del embrión; la inferior, conocida como hipoblasto, formará el mesodermo y endodermo. Es decir que hasta este momento no se han diferenciado las tres capas germinales; sólo dos están presentes. Hasta ahora se desconoce como se generan el meso y endodermo a partir del hipoblasto (Kimmel et al., 1995).

Evacuación (18 hs): Las células profundas abandonan la región del polo animal por movimientos de epibolia y convergencia hacia zona donde se ubica el embrión en desarrollo, dejando un sector vacío llamado zona de evacuación (Ballard, 1981) (fig. 31 A).

Mitad de la epibolia (20 hs): El blastodermo, que en un principio había avanzado en forma más pronunciada en la región del escudo embrionario, comienza ahora a hacerlo en la zona opuesta, cubriendo un 50 % del vitelo (fig. 31 B).

Epibolia avanzada y tapón vitelino (21 hs – 22 hs 20 min): El movimiento de epibolia prosigue, y la porción de vitelo que sobresale cuando éste está por culminar constituye el llamado tapón vitelino (fig. 32 A y B).

La zona anterior del hipoblasto axial se diferencia en la placa precordal y la posterior a ella formará la notocorda. La parte anterior del epiblasto axial se engrosa, dando origen a la placa neural, la cual representa el esbozo del sistema nervioso central (Kimmel et al., 1995).

Brote caudal (22 hs 40 min): El proceso de epibolia culmina cuando el blastodermo ha cubierto completamente el vitelo. Momentos antes, dorsalmente al

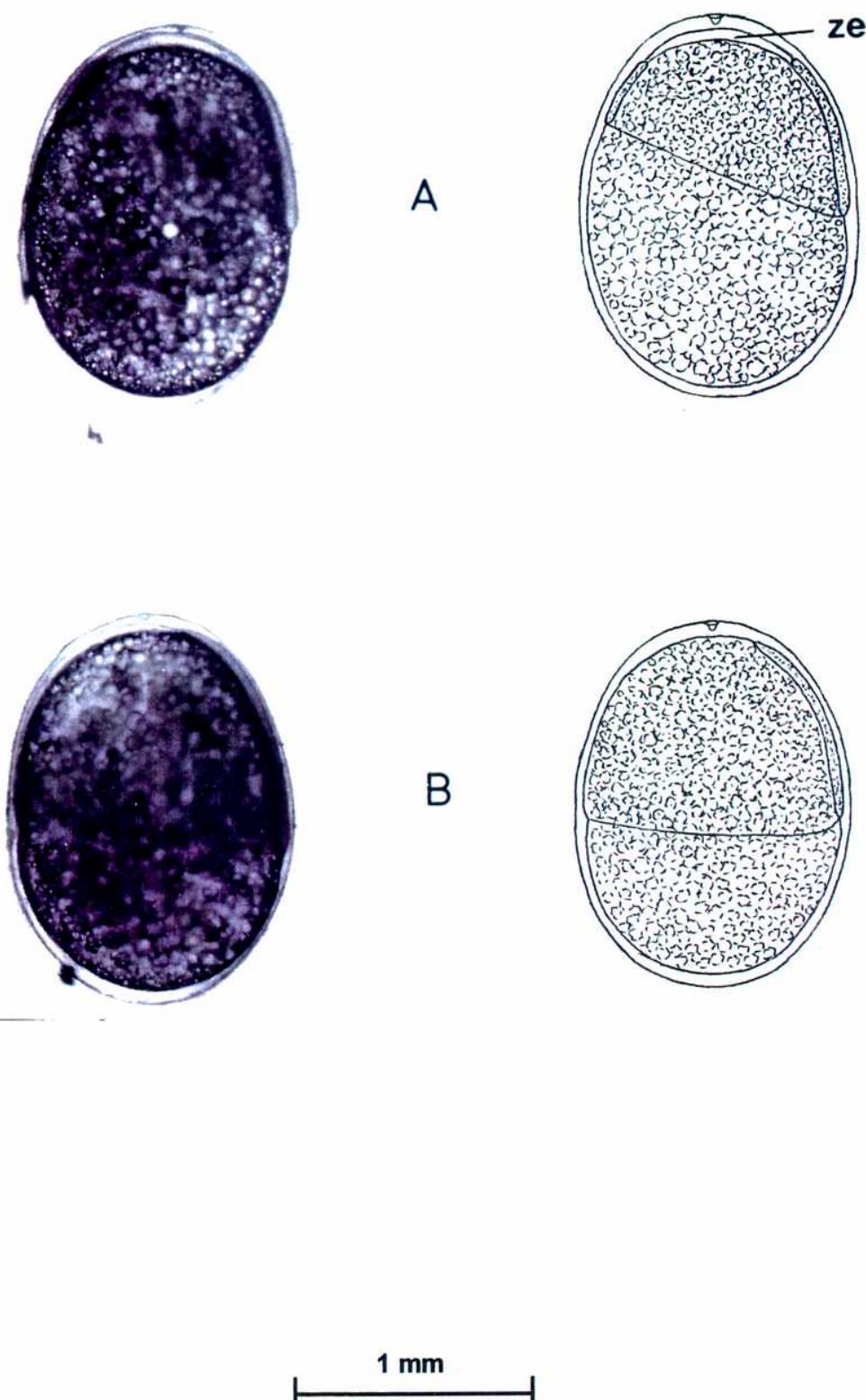


Figura 31: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de evacuación (A) y mitad de la epibolia (B); ze: zona de evacuación.

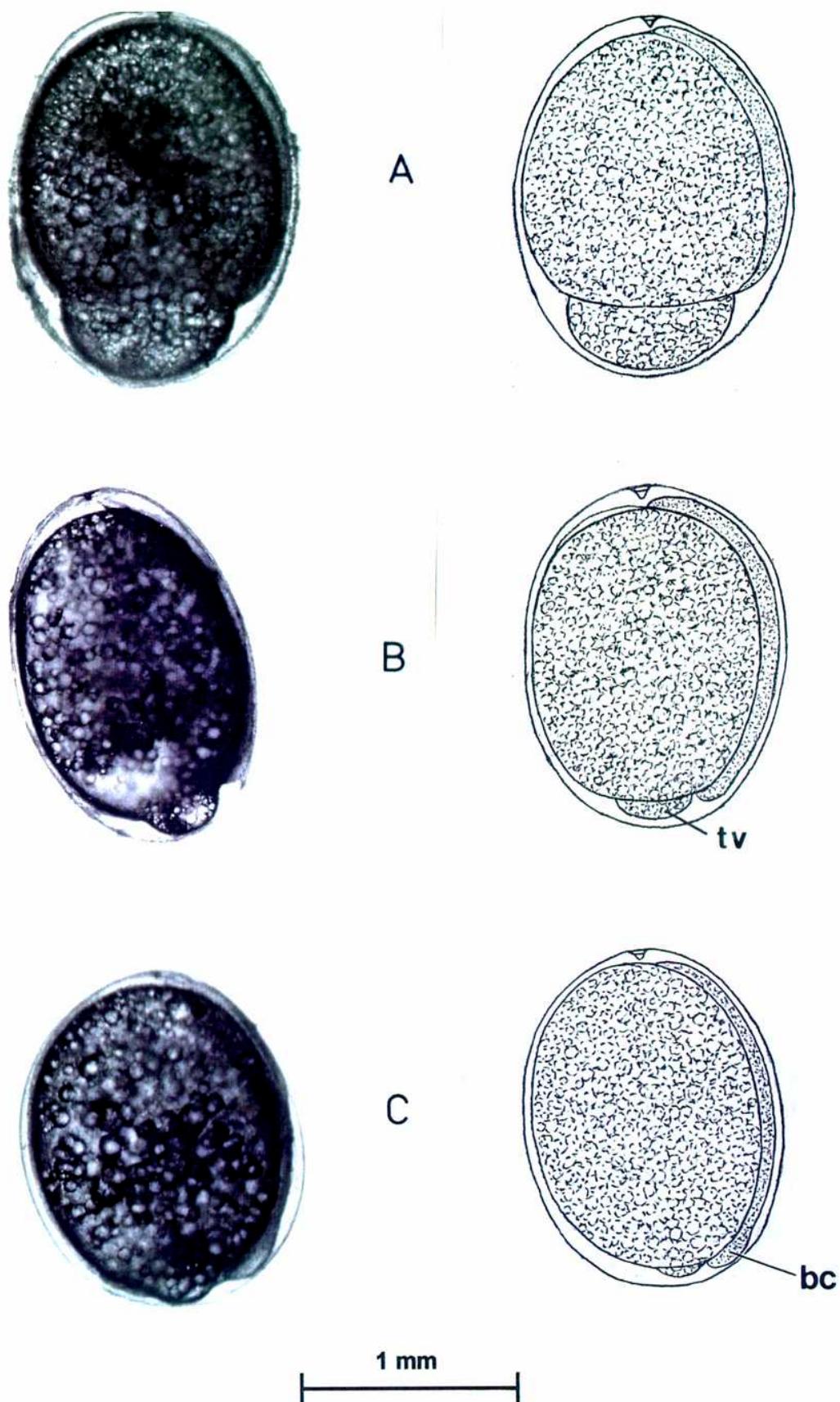


Figura 32: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de epibolia avanzada (A), tapón vitelino (B) y brote caudal (C); bc: brote caudal, tv: tapón vitelino.

sitio de cierre del tapón vitelino, en el extremo caudal del embrión se desarrolla una protuberancia conocida como brote caudal (fig. 32 C).

Anteriormente al brote caudal la placa neural se engrosa a lo largo del embrión; la parte anterior dará origen al encéfalo y la posterior contribuirá a la formación de la médula espinal.

Metamerización:

Los somitos se desarrollan secuencialmente y al mismo tiempo los rudimentos de los órganos primarios se hacen visibles. El brote caudal se va haciendo más prominente y el embrión se elonga progresivamente.

La longitud del embrión no sufre grandes cambios hasta el estadio de 15 somitos. A partir de entonces la misma se incrementa rápidamente al crecer la cola alrededor del saco vitelino, en dirección a la cabeza.

6 somitos (28 hs): En el estadio de 6 somitos aparecen los esbozos de las vesículas ópticas (fig. 33 A).

Los somitos se desarrollan en sentido antero-posterior a partir del hipoblasto paraxial. Gran parte de las células internas de cada somito dan origen a los respectivos miótomas. Éstos conservan la disposición metamérica de los somitos, quedando separados por mioseptos transversos (tejido conectivo). Un segundo derivado de los somitos es el esclerótomo, el cual está ubicado en la vecindad de la notocorda y dará origen al cartílago vertebral. El tercer derivado es el dermáutomo, que se ubica entre el miótomo y el ectodermo, originando la dermis.

La neurulación se lleva a cabo por medio de un proceso de cavitación. Primeramente, a partir de la placa neural, se forma un primordio intermedio sin lumen denominado varilla neural; más tarde ésta se ahueca originando el tubo neural (Kimmel et al., 1995).

15 somitos (33 hs): Cuando el embrión posee 15 somitos se observa la presencia de los placodes ópticos. Éstos se ubican a ambos lados del rombencéfalo (fig. 33 B).

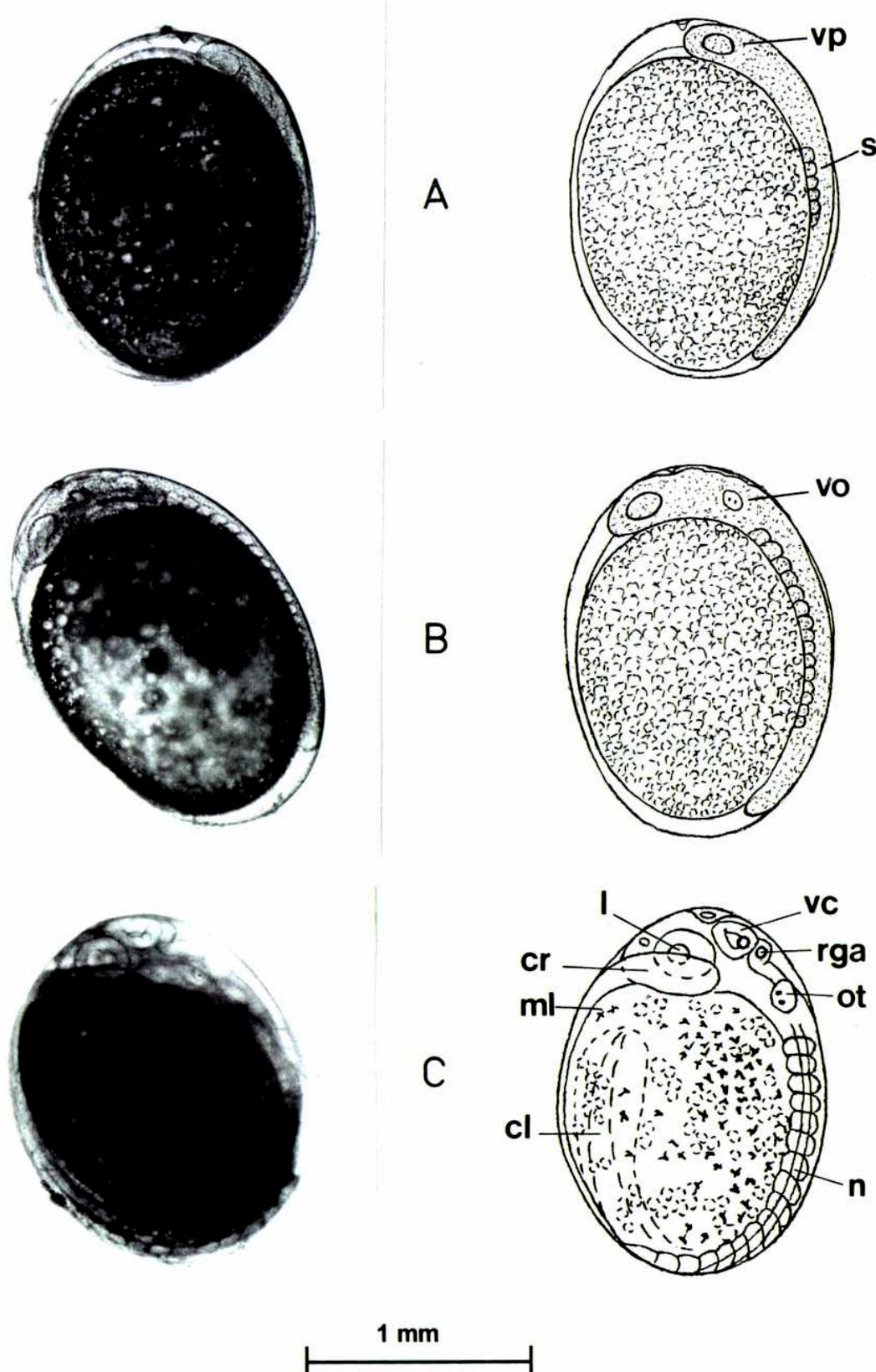


Figura 33: Fotomicrografías y dibujos con cámara clara de los estadios de seis somitos (A), quince somitos (B) y embrión preeclosión (C); cl: cola, cr: corazón, l: lente, ml: melanóforos, n: notocorda, ot: otolitos, rga: rudimento de las glándulas adhesivas, s: somitos, vc: vesícula cerebral, vo: vesícula ótica, vp: vesícula óptica. (En el dibujo no están representados los somitos de la cola).

Embrión pre-eclosión (52hs): Cuando el momento de la eclosión se aproxima el embrión presenta contracciones musculares marcadas. La cola está bien extendida y se ha separado del saco vitelino. El corazón, ya formado y latente, se ubica debajo de la cabeza, ligeramente desplazado hacia el lado izquierdo y el flujo sanguíneo es notorio. En el interior de los ojos se evidencian las lentes. Asimismo pueden observarse las vesículas cerebrales y las vesículas óticas conteniendo los otolitos. En la zona límite del mesencéfalo con el rombencéfalo aparecen los rudimentos de las glándulas adhesivas y sobre la superficie del saco vitelino se distinguen los primeros melanóforos dendríticos (fig. 33 C).

En el momento de la eclosión el corion es ablandado y adelgazado por dentro por acción de las enzimas de la eclosión liberadas por el embrión. Los movimientos musculares de este último provocan la ruptura del corion, iniciándose el periodo larval.

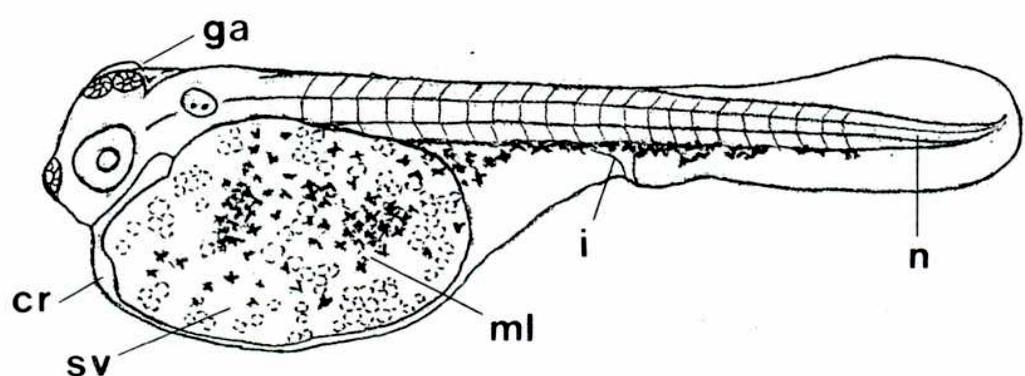
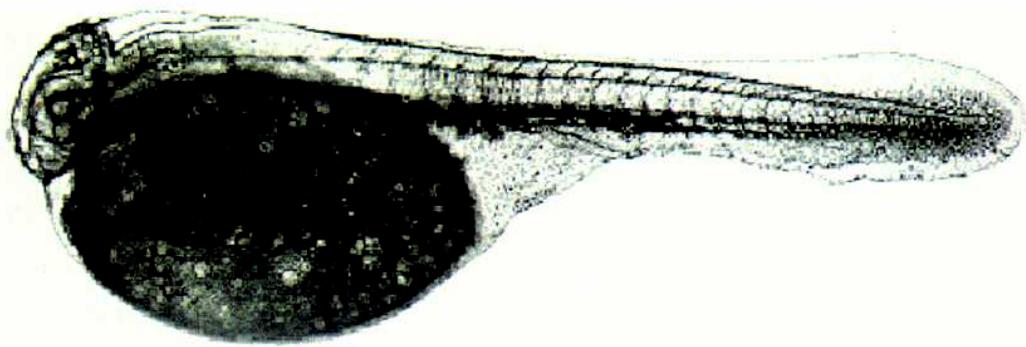
Desarrollo larval:

Larva posteclosión (54 hs): Al producirse la eclosión de los huevos, las larvas son trasladadas por sus padres hacia un hoyo previamente cavado en la grava. Estas larvas poseen tres pares de glándulas adhesivas sobre la cabeza, dos frontales y uno nasal, que les permiten la adhesión al sustrato. La boca aún no está formada, y el intestino es delgado y casi recto. El extremo de la notocorda está ligeramente flexionado. Ninguna de las aletas se ha diferenciado aun. Los melanóforos se ubican en forma dispersa sobre el saco vitelino oblongo y comienzan a extenderse sobre la zona de unión del tronco con la aleta embrionaria. Los pigmentos retinales pueden estar presentes pero los ojos son aun translúcidos (fig. 34).

Larva vitelina (82 hs): La boca no se ha abierto todavía. Se diferencian las aletas pectorales, las cuales poseen inicialmente forma de discos. Los arcos branquiales comienzan a esbozarse. El corazón es bien notorio y sobre el saco vitelino y las aletas embrionarias se observa una abundante irrigación. La pigmentación ha aumentado sobre el saco vitelino y la región ventral del tronco. Los pigmentos de los ojos se han concentrado y por lo tanto éstos se ven opacos. Las glándulas adhesivas son más conspicuas (fig. 35).

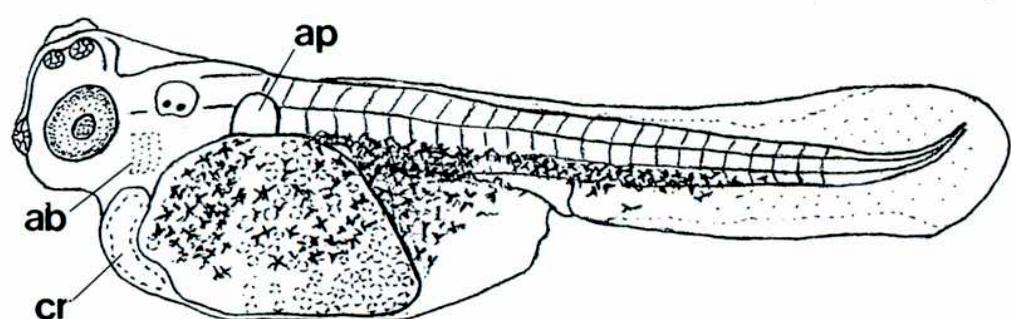
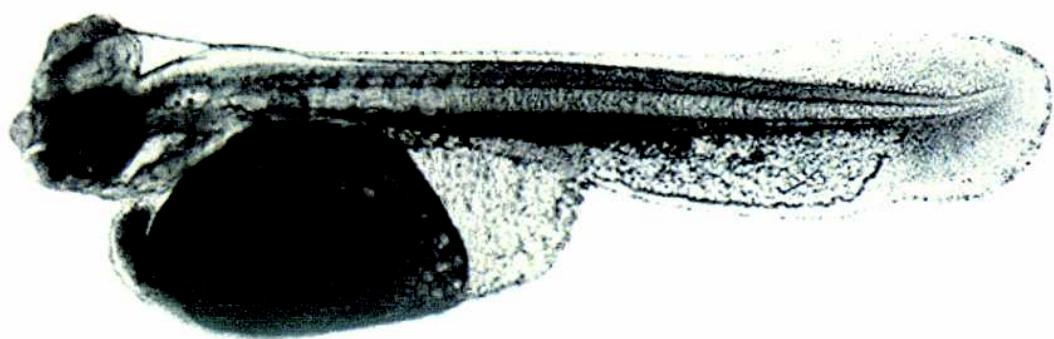
Larva con apertura de la boca (4 días): Hacia el cuarto día se abre la boca y las quijadas son móviles. Las larvas no nadan aún libremente, sino que realizan movimientos ondulatorios de la región caudal mientras siguen sujetas al sustrato por medio de sus ventosas cefálicas. El saco vitelino se reduce en tamaño al ser consumido paulatinamente. Comienzan a formarse los radios de la aleta caudal y la flexión de la notocorda es más marcada. Los melanóforos se extienden sobre la cabeza y parte dorsal del tronco (fig. 36).

La presencia de tres pares de glándulas adhesivas en la cabeza es un rasgo característico de los cíclidos, especialmente de aquellas especies que incuban en sustrato (Peters and Berns, 1982).



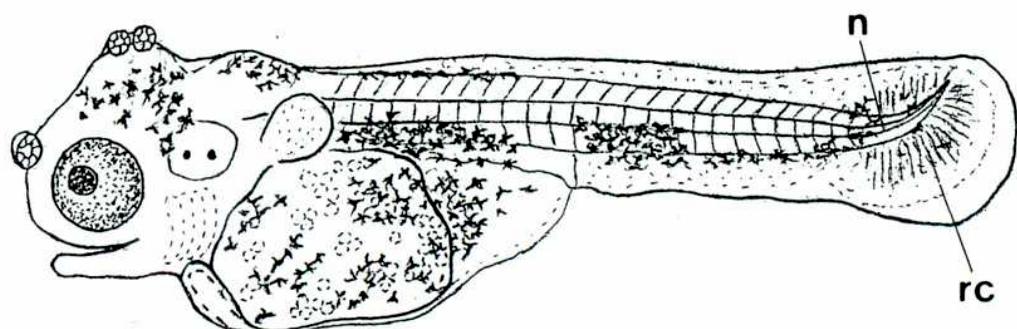
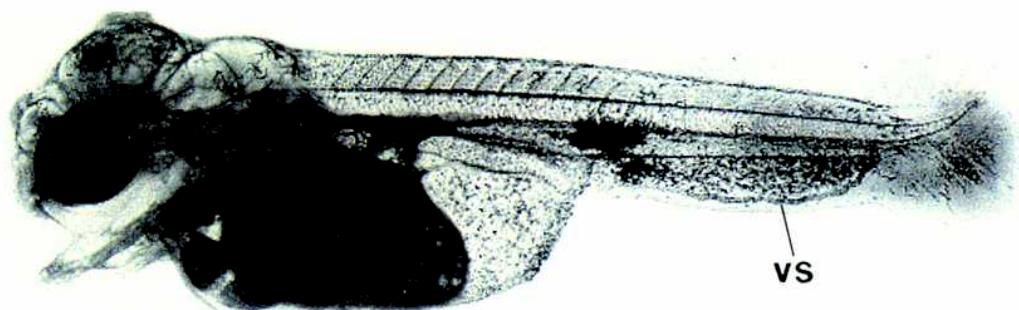
1 mm

Figura 34: Fotomicrografía y dibujo con cámara clara del estadio de larva posteclosión; cr: corazón, ga: glándulas adhesivas, i: intestino, ml: melanóforos, n: notocorda, sv: saco vitelino.



1 mm

Figura 35: Fotomicrografía y dibujo con cámara clara del estadio de larva vitelina; ab: arcos branquiales, ap: aleta pectoral, cr: corazón, vs: vasos sanguíneos.



1 mm

Figura 36: Fotomicrografía y dibujo con cámara clara del estadio de larva con boca abierta; n: notocorda, rc: radios de la aleta caudal, vs: vasos sanguíneos.

Al realizar una tinción in toto mediante la técnica de PAS se observa que las glándulas cementantes son particularmente PAS positivas, lo cual indica la naturaleza de la sustancia adhesiva que secretan (mucopolisacáridos) (fig. 37 A). En un corte histológico puede observarse que son órganos cupuliformes cuyas células aparecen cargadas de secreción mucosa (fig. 37 B y C). La microscopía electrónica de barrido (MEB) revela asimismo la estructura y posición características de estos órganos larvales transitorios (fig. 38).

Peters and Berns (1982) investigaron estos órganos por medio de tinciones con el reactivo de PAS y MEB. En todas las especies estudiadas observaron la presencia de tres pares de glándulas con ubicaciones similares sobre la regióncefálica.

Las glándulas adhesivas de los cíclidos poseen una única abertura central a través de la cual la sustancia adhesiva es liberada. Gracias a ellas las larvas se mantienen agregadas en el nido hasta que comienzan a nadar libremente. Esta función ha sido perdida evolutivamente con la transición de la incubación en sustrato a la incubación oral, de modo que en los cíclidos que incuban sus huevos en la boca sólo se han encontrado vestigios de estos órganos (Peters and Berns, 1982).

Larva de natación libre (6 días): A los 6 días las larvas comienzan a nadar libremente. La vejiga natatoria, de forma ovalada, se hace visible en virtud de su elevada refringencia. Las glándulas adhesivas, que venían regresionando, terminan por desprenderse. Aparecen los primordios de los radios en las aletas pectorales y los radios caudales están más desarrollados. Las aletas dorsal y anal muestran una diferenciación incipiente pero no se observan radios; consisten, más bien en membranas delgadas y transparentes. Las branquias presentan un desarrollo avanzado. A las pocas horas de iniciada la natación libre comienzan a alimentarse exógenamente. Sin embargo, el saco vitelino no está totalmente consumido, de modo que existe un periodo de alimentación mixta (se combinan las provisiones de alimento endógena y exógena). Los pigmentos están densamente distribuidos sobre la cavidad abdominal y zonas definidas del tronco; la cabeza está cubierta por melanóforos gruesos y esféricos (fig. 39).

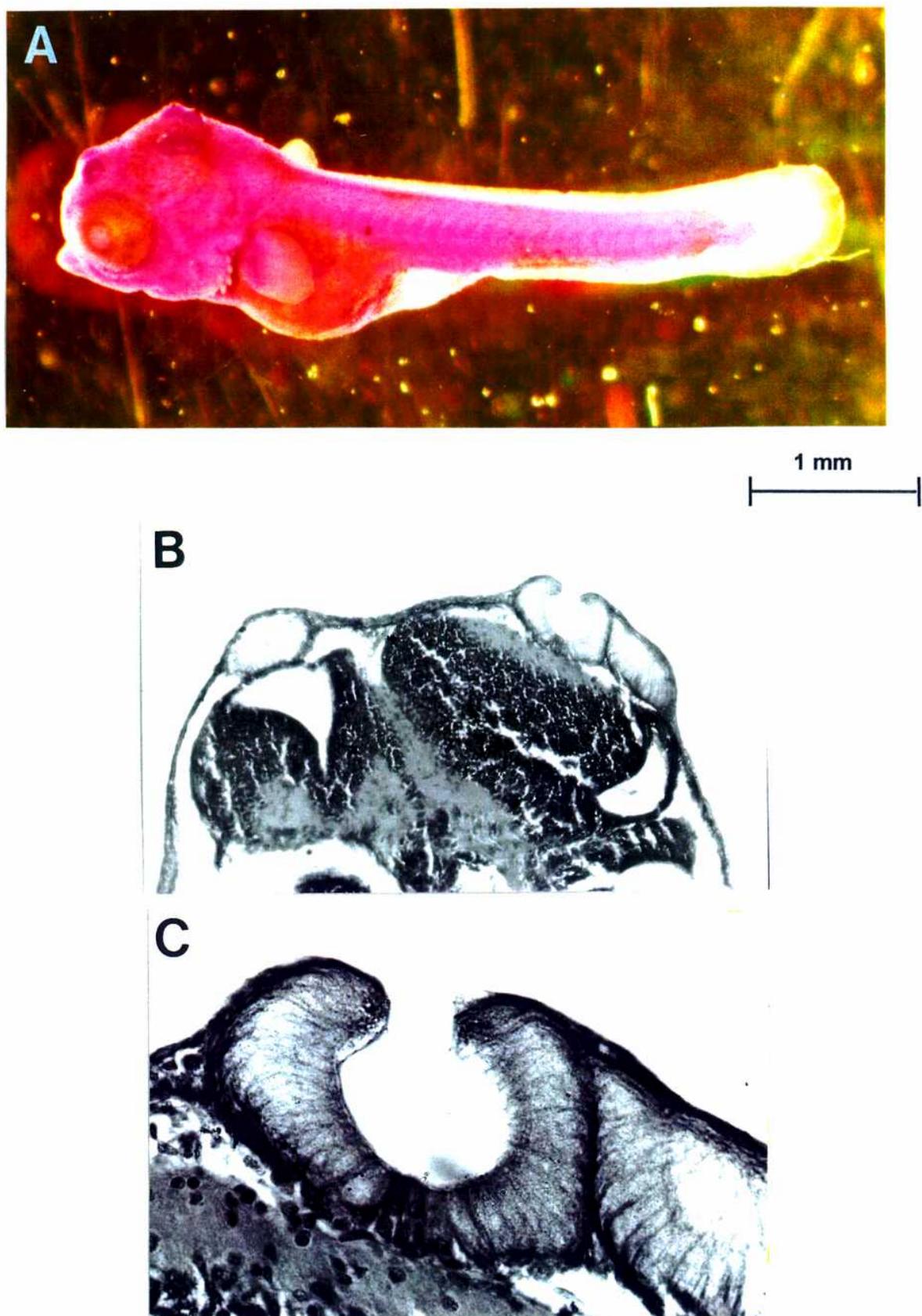


Figura 37: A: Tinción in toto de una larva vitelina avanzada mediante la técnica de PAS. Observar que las glándulas adhesivas son particularmente PAS positivas. B: Corte histológico mostrando la parte anterior de la larva (160 X). C: Detalle de una de las glándulas frontales en corte transversal (600 X).

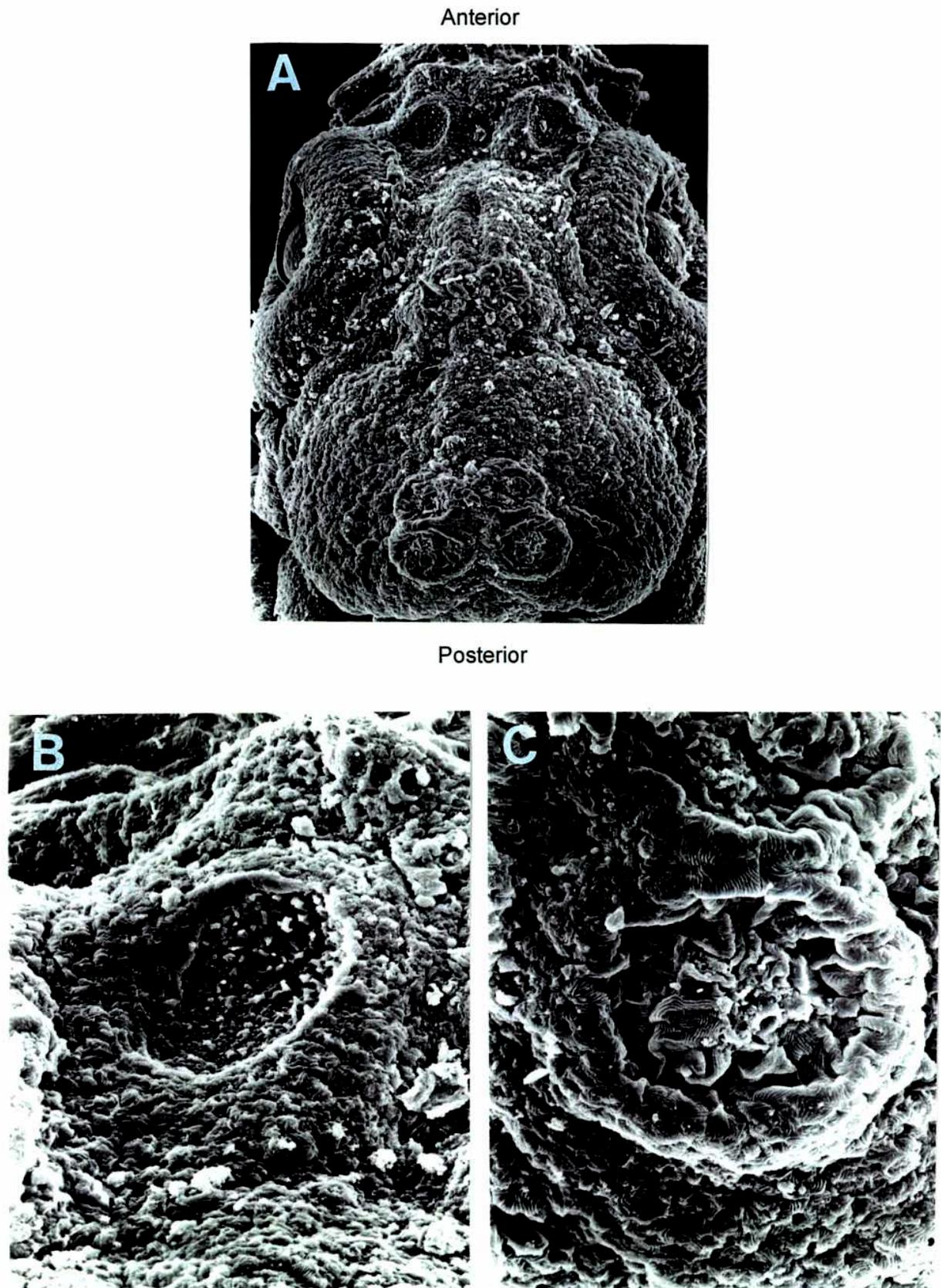


Figura 38: MEB. A: Vista dorsal de la cabeza de una larva mostrando los tres pares de glándulas adhesivas (150 X). B: Detalle de la glándula anterior izquierda (700 X). C: Detalle de la glándula posterior derecha (700 X).

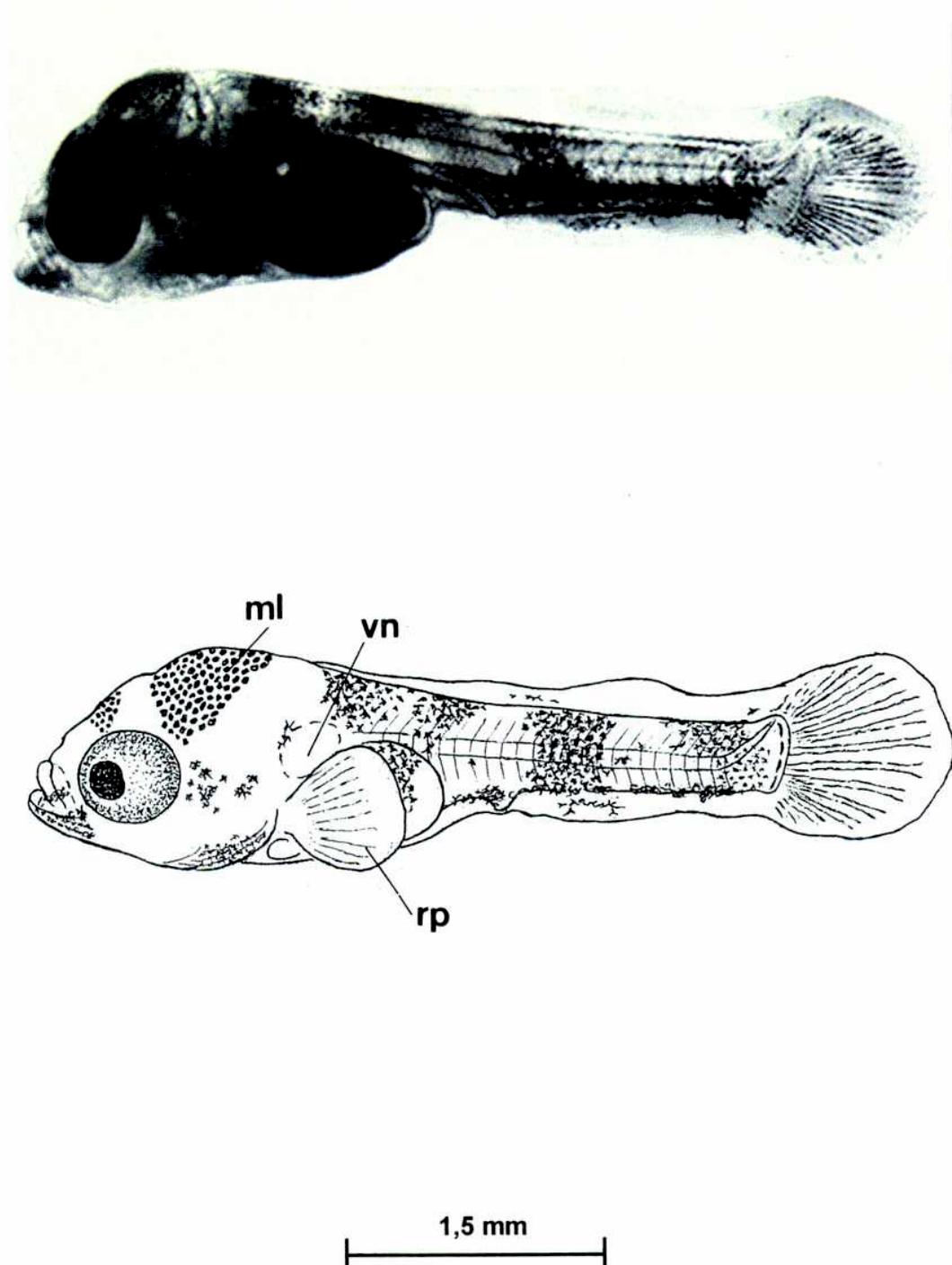


Figura 39: Fotomicrografía y dibujo con cámara clara del estadio de larva de natación libre; ml: melanóforos, rp: esbozo de los radios pectorales, vn: vejiga natatoria.

Larva con desarrollo de aletas impares (14 días): Los radios de las aletas dorsal y anal comienzan a diferenciarse simultáneamente. Los primeros artejos se hacen visibles en la aleta caudal. Las branquias están completamente formadas y el intestino, que inicialmente era recto, comienza a enrollarse. El vitelo ha sido totalmente consumido y la pigmentación cubre gran parte del tronco y de la cabeza (fig. 40).

Prejuvenil (26 días): Las aletas pélvicas, que son las últimas en formarse, se han diferenciado, mientras que las aletas pectorales, dorsal y anal presentan sus radios bien definidos. Los melanóforos aumentan en número sobre la cabeza y las zonas dorsal y laterales del cuerpo. El patrón de pigmentación se va asemejando progresivamente al de los adultos (fig. 41).

Juvenil (42 días): Todas las aletas han completado su desarrollo y el complemento de radios de los adultos es alcanzado. Las aletas dorsal y anal están bastante pigmentadas. Las escamas, que habían aparecido hacia el día 36, cubren ahora la mayor parte del cuerpo. Las narinas son claramente observables. El cuerpo está casi completamente cubierto por melanóforos. La forma del cuerpo y el patrón de pigmentación son semejantes a los de los adultos (fig. 42) y la mayor parte del esqueleto está osificada (fig. 43).

El desarrollo larval de *Cichlasoma dimerus* coincide en líneas generales con los descriptos para otras especies del género (ver Cabrera Peña et al., 1988; Murillo Sánchez, 1988; Rodríguez et al., 1989; Martínez-Palacios et al., 1993) y de la familia (Kuwamura and Mihigo, 1988; Murillo Sánchez y Cabrera Peña, 1993). Si bien los tiempos de desarrollo pueden variar según el hábitat de la especie, la secuencia de aparición de los distintos órganos es prácticamente idéntica en todas ellas.

En la fig. 44 se representan en la escala temporal algunos de los eventos más importantes del desarrollo ontogenético temprano de *C. dimerus*.

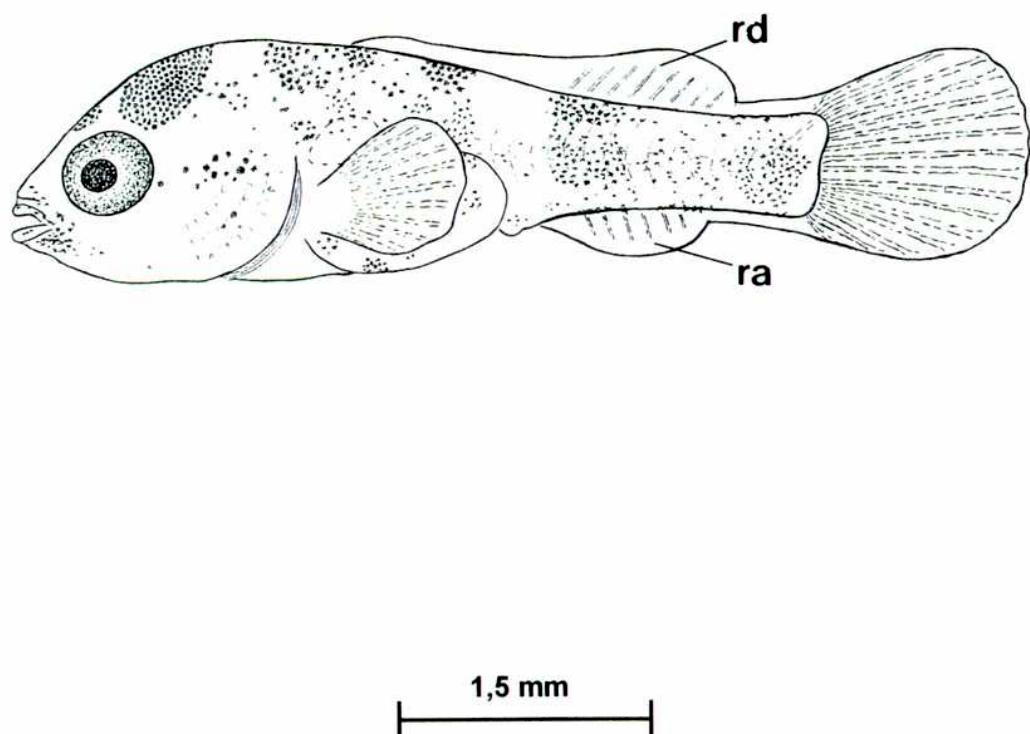
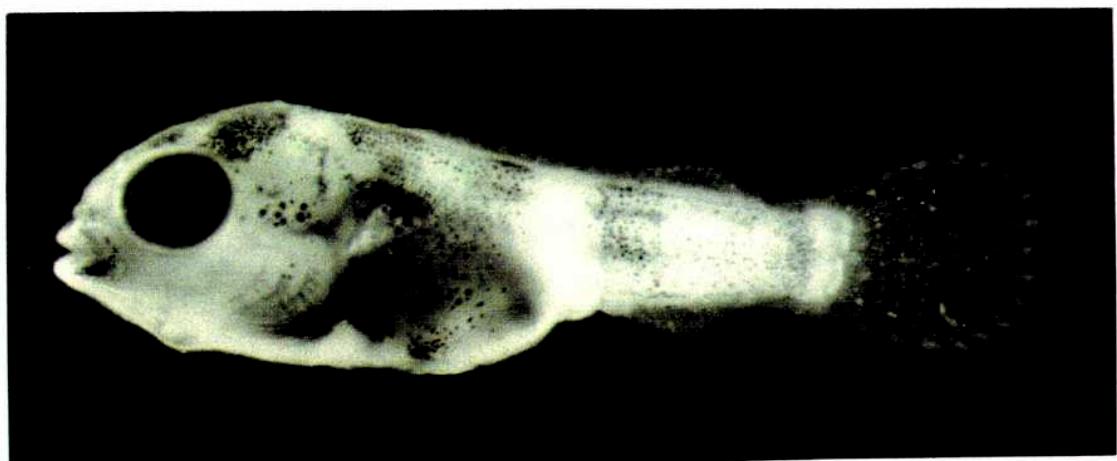
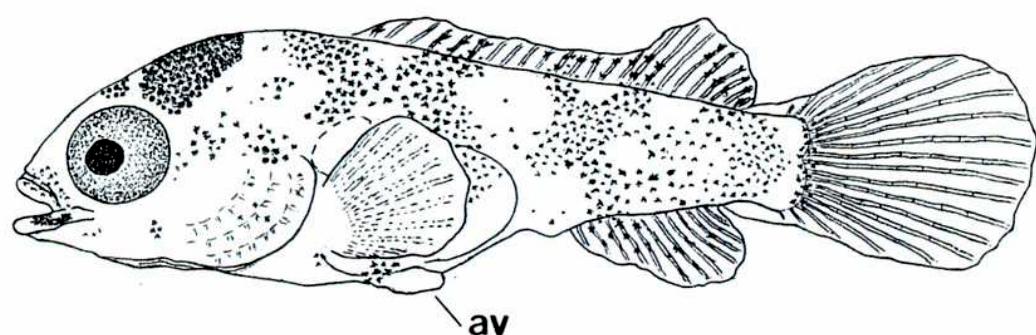
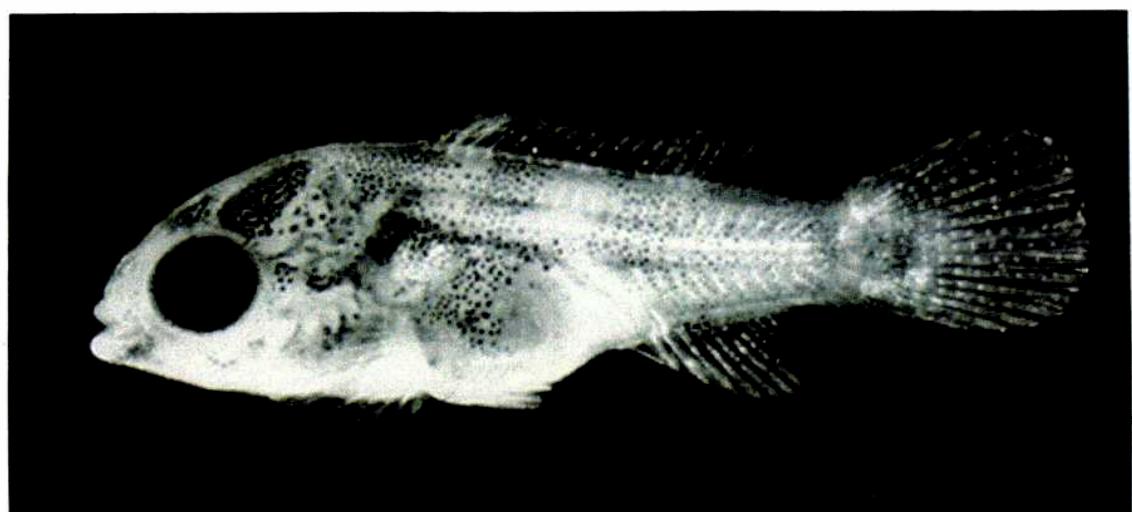


Figura 40: Fotomicrografía y dibujo con cámara clara del estadio de larva con desarrollo de aletas impares; ra: radios de la aleta anal, rd: radios de la aleta dorsal.



2 mm

Figura 41: Fotomicrografía y dibujo con cámara clara del estadio de prejuvenil; av: aletas ventrales o pélvicas.

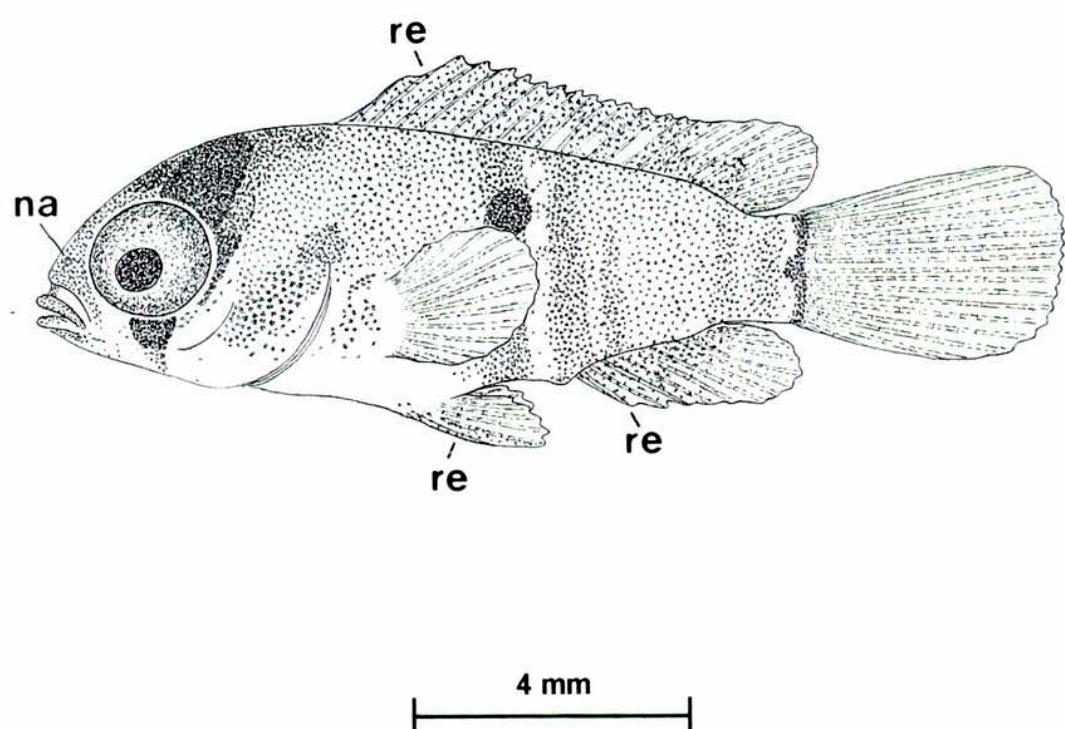


Figura 42: Fotomicrografía y dibujo con cámara clara del estadio de juvenil; na: narina, re: radios espinosos. (En el dibujo no están representadas las escamas).

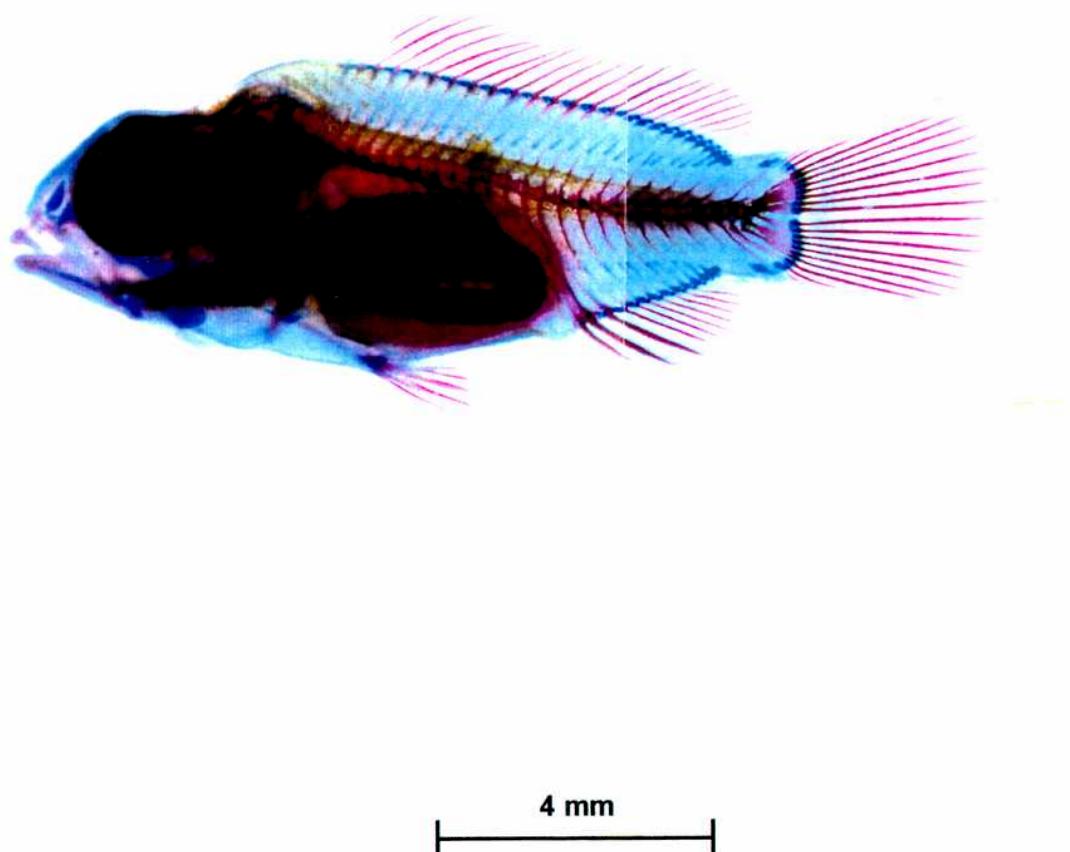


Figura 43: Fotomicrografía de un juvenil de *C. dimerus* transparentado y teñido con Alcian blue y Alizarina roja. El color rojo indica las partes osificadas del esqueleto y el azul las cartilaginosas.

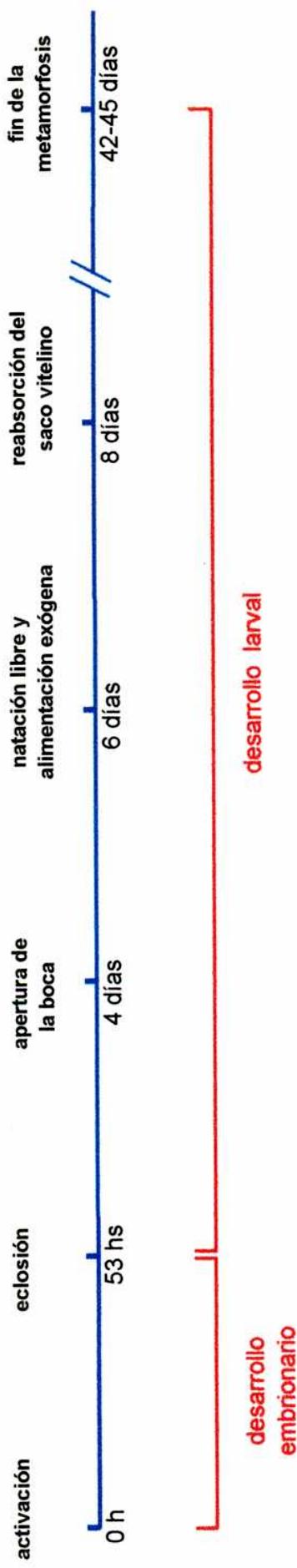


Figura 44: Escala temporal en donde se representan eventos de importancia en el desarrollo temprano de *Cichlasoma dimerus*.

Cualidades de la especie como modelo de investigación

En la tabla 1 se resumen las características de las parejas utilizadas en el estudio y de sus respectivos desoves. Los valores presentados al final de la tabla representan promedios para las 3 parejas en las condiciones de estudio empleadas.

En todos los desoves el número de embriones que eclosionaron fue muy elevado, mientras que el porcentaje de supervivencia de los individuos hasta el estadio juvenil alcanzó valores aproximados al 30%. El factor que parece influir en mayor medida en la supervivencia larval es la frecuencia de alimentación.

Cichlasoma dimerus es una especie que presenta numerosas ventajas como modelo de investigación.

En primer lugar, se adapta rápidamente al cautiverio y, por el tamaño que alcanzan los individuos adultos, no son necesarios grandes volúmenes de agua para su manutención.

Posee un período reproductivo muy amplio, durante el cuál las hembras realizan numerosos desoves en forma ininterrumpida. El número de huevos por puesta es asimismo elevado. En las condiciones de estudio empleadas, las hembras liberaron, en promedio, unos 2000 oocitos cada 25 días. Esta cualidad hace que estos peces sean especialmente útiles para estudios del desarrollo temprano, ya que la provisión de huevos está asegurada durante gran parte del año.

Por último, esta especie es atractiva para realizar estudios comportamentales en condiciones de laboratorio.

Pareja	Sexo	Ejemplares			Nº de puestas	Período que abarcaron (días)	Intervalo entre puestas (días) ($X \pm DS$)	Nº de oocitos por desove ($X \pm DS$)
		Peso (g)	L T (cm)	L S (cm)				
1	M	96,46	16	12	13	273 (14/08-14/05)	23 ± 7	1.919 ± 191
	H	44,15	12,5	10				
2	M	96,1	16	12	8	176 (25/11-20/05)	25 ± 10	2.398 ± 432
	H	75,69	14	10,5				
3	M	115,8	16,5	13	5	158 (19/12-26/05)	39 ± 6	1.972 ± 347
	H	39,84	12,5	9,5				
							26 ± 10	2.074 ± 366

TABLA 1. Características de las parejas utilizadas en el estudio y de sus respectivos desoves.
M: macho, H: hembra, LT: largo total, LS: largo estandar.

CONCLUSIONES

Ciclohasoma dimerus es una excelente especie para trabajar en el laboratorio, debido a su fácil adaptación al cautiverio y a sus notables cualidades reproductivas: gran número de desoves con elevada frecuencia, importante número de crías por puesta y aceptable supervivencia de las mismas, sobre todo si se las alimenta con la periodicidad adecuada.

El dimorfismo sexual de la especie se determina bastante fácilmente al observar bajo lupa las papilas genitales de los individuos adultos. Cabe destacar que la distinción entre machos y hembras en forma inequívoca es importante para los estudios de diferenciación sexual y las experiencias de triploidización que se están llevando a cabo en el laboratorio de Embriología Animal.

El patrón de comportamiento observado es el típico de una especie que incuba sus huevos en un sustrato y coincide en líneas generales con el descripto para otros cíclidos con la misma modalidad de reproducción. Sin embargo, en el presente estudio se registraron ciertas conductas de interés, no descriptas anteriormente.

El desarrollo ontogenético es típico de una especie con huevo telolecítico. Como característica sobresaliente la larva presenta tres pares de glándulas adhesivas, dos frontales y uno nasal, cuyos esbozos aparecen antes de la eclosión y que les permiten adherirse al sustrato hasta el momento en que comienzan a nadar libremente. Es posible que en la naturaleza la función de las mismas sea mantener a las larvas reunidas en un sitio, facilitando así el cuidado parental.

Los resultados obtenidos en esta investigación nos permitirán continuar con los estudios ya iniciados sobre la triploidización de esta especie, pudiendo constatar las anormalidades y los posibles cambios en la velocidad de desarrollo de los individuos $3n$.

BIBLIOGRAFÍA

- Baerends, G. P. y Baerends-Van Roon, J. M. 1950. An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. Behaviour, suppl. I, 242 pp.
- Balarin, J. D. y Haller, R. D. 1982. The intensive culture of tilapia in tanks, raceways and cages. En: Recent advances in aquaculture, V. I (J. F. Muir y R. J. Roberts, eds.), Croom Helm, London, pp. 265-355.
- Ballard, W. W. 1981. Morphogenetic movements and fate maps of vertebrates. Am. Zool., 21: 391-399.
- Balon, E. K. 1975. Reproductive guilds of fishes: A proposal and definition. J. Fish Res. Board Can., 32: 821-864.
- Britz, R. 1997. Egg surface structure and larval cement glands in Nandid and Badid fishes with remarks on phylogeny and biogeography. American Museum Novitates, 3195, 17 pp.
- Cabrera Peña, J., Murillo Sanchez, R. y Jamett, M. M. 1988. Desarrollo embrionario, larval y del alevín de *Cichlasoma dovii* (Günther, 1864) (Pisces: Cichlidae). Rev. Biol. Trop., (2B): 417-422.
- Dumont, J. N. y Brummett, A. R. 1985. Egg envelopes in vertebrates. En: Developmental Biology, V. I, Oogenesis (L. W. Browder, ed.), Plenum Press, New York, pp. 235-288.
- Greenberg, B., Zijlstra, J. J. y Baerends, G. P. 1965. A quantitative description of the behavior changes during the reproductive cycle of the cichlid fish *Aequidens portalegrensis* (Hensel). Proc. Kon. Ned. Akad. V. Wet., Ser C 68: 135-149.
- Karp, G. y Berril, N. J. 1981. Development. 2nd edition. Mc Graw-Hill Book Company, 692 pp.
- Kimmel, Ch. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B. y Schilling, T. F. 1995. Stages of embryonic development of the Zebrafish. Developmental Dynamics, 203: 253-310.
- Kuwamura, T. y Mihigo, N. K. 1988. Early ontogeny of a substrate-brooding cichlid, *Boulengerochromis microlepis*, compared with mouthbrooding species in Lake Tanganyika. Physiol. Ecol. Japan, 25: 19-25.

- Martinez-Palacios, C. A.; Chavez-Sanchez, C. y Olvera-Novoa, M. A. 1993. The potential for culture of the American Cichlidae with emphasis on *Cichlasoma urophthalmus*. En: Recent advances in aquaculture, V. IV (J. F. Muir y R. J. Roberts, eds.), Blackwell Scientific Publications, London, pp. 193-232.
- Martoja, R. y Martoja-Pierson, M. 1970. Técnicas de histología animal. Ed. Toray-Masson, Barcelona, 350 pp.
- Matkovic, M.; Cussac, V. E.; Cukier, M.; Guerrero, G. A. y Maggese, M. C. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae). I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis Temprana. Rev. Brasil. Biol., 45 (1/2): 39-50.
- Murillo Sánchez, R. E. 1990. Desarrollo larval de *Cichlasoma sp.* (Pisces: Cichlidae) cultivados en laboratorio. Brenesia, 33: 1-13.
- Murillo Sánchez, R. E. y Cabrera Peña, J. 1993. Desarrollo embrionario, larval y del alevín de *Herotilapia multispinosa* (Günther 1868)(Pisces: Cichlidae). En: Actas del Simposio de Investigación Acuícola (Acuacultura y Pesca) en Centroamérica, Heredia, Costa Rica (J. Günther y K. Klein, eds.), pp. 11-17.
- Myrberg, A. A. 1966. Parental recognition of young in cichlid fishes. Anim. Behav., 14: 565-571.
- Nelson, J. S. 1994. Fishes of the world. 3rd edition. John Wiley & Sons, New York, 600 pp.
- Peters, von H. M. y Berns, S. 1982. Die Maullbrutpflege der Cichliden. Untersuchungen zur Evolution eines Verhaltensmusters.. Z. Zool. Syst. Evolut.-forsch, 20: 18-52.
- Polder, J. J. W. 1971. On gonads and reproductive behavior in the cichlid fish *Aequidens portalegrensis* (Hensel). Netherlands Journal of Zoology, 21(3): 265-365.
- Potthoff, T. 1984. Clearing and staining techniques. En: Ontogeny and systematics of fishes (H. G. Moser, W Richards, D. M. Cohen, M. P. Fahay, A. W. Kendall, P. y S. H. Richardson, eds.). American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Spec. Publ. No. 1, Allen Press, Lawrence, pp. 35-37.

- Richards, W. J. y Leis, J. M. 1984. Labroidei: Development and relationships. En: Ontogeny and systematics of fishes (H. G. Moser, W Richards, D. M. Cohen, M. P. Fahay, A. W. Kendall, P. y S. H. Richardson, eds.). American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Spec. Publ. No. 1, Allen Press, Lawrence, pp. 542-547.
- Ringuelet, R. A.; Aramburu, R. H. y Alonso de Aramburu, A. 1967. Los peces argentinos de agua dulce. Com. Inv. Cient. La Plata, Pcia. de Buenos Aires, 602 pp.
- Rodríguez, J. A., Alpírez, O. y Murillo, R. 1989. Desarrollo larval de *Cichlasoma managuense* (Pisces: Cichlidae) en condiciones de laboratorio. Brenesia, 31: 11-20.
- Suzuki, R. 1958. Sperm activation and aggregation during fertilization in some fishes. Embryologia, 4: 93-102.
- Taylor, W. R. 1967. An enzyme method of clearing and staining small vertebrates. Proc. U. S. National Museum, 122 (3596): 1-17.
- Taylor, W. R. y Van Dyke, G. C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. Cybium 9 (2): 107-119.