# Inducción al desove, desarrollo embrionario y larval del corocoro rayao *Haemulon bonariense* Cuvier, 1830 (Pisces: Haemulidae)

Hatching induction, embryonic and larval development of grunt Haemulon bonariense Cuvier, 1830 (Pisces: Haemulidae)

### Alvaro Cuartas<sup>1</sup>, Jesús Rosas<sup>2</sup>, Aidé Velásquez<sup>1</sup> y Tomás Cabrera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Científicas. Universidad de Oriente Núcleo de Nueva Esparta, Apartado Postal 788, Porlamar, Venezuela rosas@ne.udo.edu.ve

**Resumen.**- Durante septiembre y octubre 2001 se realizó la inducción al desove con la hormona gonadotropina coriónica humana (GCH) de 61 ejemplares adultos de Haemulon bonariense (56% hembras y 44% machos), con un rango de longitud total de 240 a 320 mm y peso de 217 a 705 g. Se utilizaron las dosis hormonales de 3,00; 1,00 y 0,50 UI/g/pez para hembras y 1,50; 0,50 y 0,25 UI/g/pez para machos. Los ejemplares hembras produjeron desoves con las tres dosis empleadas, aunque sólo la de 0,50 UI/g/pez produjo ovocitos viables. Por su parte los machos sólo desovaron con la dosis 0,25 UI/g/pez. En ambos casos el desove se detectó transcurrido un periodo de 10 horas después de inyectados a 27 ± 1°C y salinidad de 38  $\pm$  1 ppm. Los huevos fertilizados son esféricos, flotantes, transparentes, con corion liso, no adhesivos, telolecitos con un diámetro promedio de 0,80 ± 0,05 mm y una gota de aceite de  $0.20 \pm 0.02$  mm de diámetro.

Se describió el desarrollo embrionario y larval. La primera división ocurrió a 0 h: 24 min, la blástula a 1 h: 56 min, la gástrula a 5 h: 7 min. La eclosión ocurrió a las 15 h: 19 min después de la fertilización. La longitud total promedio de las larvas recién eclosionadas fue 1,42 + 0,05 mm, con saco vitelino de  $0.94 \pm 0.10$  mm de longitud y 0.13 mm<sup>3</sup> de volumen. A las 48 horas midieron  $2,52 \pm 0,10$  mm, el saco vitelino fue reabsorbido completamente y se abrió la boca. A las 78 horas las larvas presentaron una longitud de  $2,32 \pm 0,14$  mm con las lentes ópticas pigmentadas. Se les suministró como alimento la microalga Tetraselmis chuii (40 X 10<sup>3</sup> cél. mL<sup>-1</sup>), la cual fue observada en su tracto digestivo; a partir de las 88 horas ocurrió una mortalidad gradual de las larvas. Se evidenció la efectividad de la inducción al desove con la hormona gonadotropina coriónica humana (GCH) aunque es necesario realizar un estudio sobre los requerimientos nutricionales de las larvas de Haemulon bonariense para establecer las bases de su larvicultura.

Palabras clave: Desarrollo embrionario y larval, *Haemulon bonariense*, inducción del desove, larva

**Abstract.-** During September and October 2001, hatching induction using Human Chorionic Gonadotropin hormone (HCG) was carried out in 61 Haemulon bonariense specimens (56% females and 44% males). The range of their total length was 240 to 320 mm and the range of weight was 217 to 705 g. The hormonal doses used were 3.00; 1.00 and 0.50 UI/g/fish for females and 1.50; 0.50 and 0.25 UI/g/fish for males. Females hatched out with all doses used, but viable oocytes were produced only with 0.50 UI/g/fish. On the other hand, males specimens hatched out only with 0.25 UI/g/fish. In both cases hatching took place ten hours after injection. The fertilized eggs are spherical, floating, transparent, with a smooth envelope, non adherent, telolecite, with an average diameter of  $0.80 \pm 0.05$  mm and a oil drop with an average diameter of  $0.20 \pm 0.02$  mm. The embryonic and larval development was described, observing the first cleavage at 0h: 24 min, the blastula at 1 h: 56 min, the gastrula at 5 h: 7 min. The hatching out started at 15 h: 19 min after fertilization at  $27.25 \pm 0.50$  °C. The larval total length was  $1.42 \pm 0.05$  mm, the vitelline sac total length was  $0.94 \pm 0.10$  mm and the volume was 0.13 mm<sup>3</sup>. At 48 hours, the larval total length was  $2.52 \pm 0.10$  mm, the vitelline sac was completely reabsorbed and the mouth opened. At 78 hours the larval total length was  $2.32 \pm 0.14$  mm, and pigmented optical lenses were observed. Tetraselmis chuii microalgae (40 X 10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>) was offered to the larvae and it was observed in their intestinal tract; a gradual larval mortality occurred from 88 hours. The hatching induction with Human Corionic Gonadotropin hormone (HCG) was effective although it is recommended nutritional studies on Haemulon bonariense larvae to establish the base for its larvae culture

Key words: Embryonic and larval development, hatching induction, *Haemulon bonariense*, larva

#### Introducción

La inducción al desove mediante el uso de hormonas luteinizantes (LHRH), gonadotropinas (GnRH) y sus análogos es muy usada en la reproducción de peces (Thalathiah *et al.* 1988), presentándose como una

alternativa de múltiples posibilidades para la obtención de alevines de peces (Cabrera *et al.* 1997), destinados al cultivo (Lavens & Sorgeloos 1996), con fines de repoblación (Lee 1997) o de estudio sobre descripción embrionaria y larval de importantes especies comerciales (Cabrera *et al.* 1997).

La aplicación de gonadotropinas de mamíferos, especialmente la GCH, ha sido utilizada con éxito para inducir la maduración final de los ovocitos, así como la ovulación y desove en muchas especies de peces marinos como *Diplectrum formosum*, *Paralabrax dewegeri* y *Lutjanus griseus* (Rosas *et al.* 1996).

La inducción al desove permite realizar la descripción embrionaria y el levante de larvas de un significativo número de especies para el área del Caribe (Cabrera *et al.* 1997; Rosas *et al.* 1998; Querales 2001; López 2002). En relación a la familia Haemulidae, se han estudiado aspectos biológicos, ecológicos, biométricos (Hoss *et al.* 1986) y sistemáticos (Fisher 1978). En Venezuela destacan los trabajos realizados en la determinación de cariotipos con el género *Haemulon* (Duran *et al.* 1990; Calderón 2001).

Haemulon bonariense se distribuye desde las Grandes Antillas hasta Brasil, siendo una de las especies más frecuente y abundante en los fondos someros blandos de la plataforma venezolana, los juveniles abundan en las lagunas de manglares de fondos fangosos y aguas turbias (Cervigón 1993). H. bonariense alcanza su talla de primera madurez sexual entre los 15 a 17 cm de longitud total (Courtenay 1961). No se conoce el desarrollo embrionario y larval en condiciones de laboratorio de H. bonariense aunque esta especie representa un renglón importante en las pesquerías artesanales del oriente venezolano.

La presente investigación tiene como objetivo la inducción al desove del corocoro rayao *Haemulon bonariense* mediante el tratamiento con hormona gonadotropina coriónica humana a fin de realizar su descripción embrionaria y larval que pudiera conducir a su cultivo a nivel piloto.

## Materiales y Métodos

Se recolectaron 61 ejemplares de *Haemulon bonariense* en aguas circundantes a la población de Boca del Río, Isla de Margarita, Venezuela. Los peces fueron colocados en estanques de fibrocemento de 0,5 m³ de capacidad, conteniendo 80% de su volumen, con flujo continuo de agua de mar filtrada a través de una batería de dos filtros de arena, a 27  $\pm$  1°C, pH 8, 10, oxígeno disuelto 6  $\pm$  1 mg/L y salinidad de 38  $\pm$  1 ppm.

La selección de los peces sexualmente maduros se realizó oprimiendo suavemente el abdomen, para observar los gametos liberados. Se midió el diámetro de los ovocitos y la gota de aceite. En machos se observó la actividad espermática. Los ejemplares sexualmente maduros, fueron inducidos al desove con la hormona gonadotropina coriónica humana, de la marca comercial PROFASI® de 5.000 Unidades Internacionales (UI), diluida en 10 ml de agua destilada. Se establecieron tres dosis hormonales (3,00; 1,00 y 0,50 UI/g/pez) para las hembras y (1,50; 0,50 y 0,25 UI/g/pez) para los machos, aplicándose mediante inyecciones intramusculares en la región dorsal, en la base de la tercera espina de la aleta dorsal (Harvey & Hoar 1980).

Los peces inyectados se colocaron en cuatro grupos a una relación de 1 hembra: 2 machos, en tanques de 1.500 L por duplicado, provistos de aireación y flujo de agua continuo. Un quinto grupo de peces como control, fueron inyectados con agua destilada y colocados a las mismas condiciones establecidas para los grupos tratados con hormonas.

Para realizar la descripción embrionaria se colocaron 500 huevos viables en un tanque de 50 L para observarlos periódicamente al microscopio. Se registró la temperatura del agua con un termómetro de 1°C de apreciación, el pH con un pHmetro, el oxígeno disuelto con un oxigenómetro y la salinidad con un refractómetro no compensado de 0,1 ppm de apreciación.

Las medidas del diámetro de los huevos y de la gota de aceite se realizaron con la ayuda de una lupa estereoscópica equipada con una escala micrométrica con un ocular de 10X. Los cambios y el tiempo de duración de cada estadio embrionario y larval fueron registrados con microfotografías utilizándose un microscopio con equipo fotográfico incorporado. La terminología utilizada para describir los diferentes estadios del desarrollo embrionario y larval se basó en criterios morfológicos según Hubss (1943).

A partir de la eclosión de las larvas se siguió su desarrollo, midiendo la longitud total (Lt), longitud del notocordio (Ln), la longitud y altura del saco vitelino (Lsv y Hsv respectivamente) y el diámetro de la gota de aceite (Dga) de 10 larvas, a intervalos de cuatro horas. Utilizando estos datos se calculó el volumen del saco vitelino de acuerdo a lo descrito por Heming & Buddington (1988). Una vez consumido el material de reserva, se suministró la microalga *Tetraselmis chuii* (40 x 10<sup>3</sup> cél. mL<sup>-1</sup>) y se continuó realizando las mediciones de la longitud total de las larvas hasta su muerte a las 88 horas.

Se realizó un análisis de regresión y correlación de acuerdo a lo descrito por Sokal & Rohlf (1981), entre la longitud del notocordio y la longitud total de la larva, así como entre la longitud total del saco vitelino y longitud total de la larva para observar su evolución en el tiempo.

### Resultados y Discusión

Durante septiembre y octubre 2001 se analizó un total de 61 ejemplares adultos de *Haemulon bonariense* (56% hembras y 44% machos). La longitud total mostró un rango en talla de 240 a 320 mm para hembras y de 215 a 304 mm para los machos. El peso de los ejemplares varió entre 217 a 705 g para hembras y entre 213 a 462 g para machos.

#### Inducción al desove

Los ejemplares hembras sexualmente maduras de H. bonariense produjeron desoves con las tres dosis de gonadotropina coriónica humana (GCH) empleadas en el ensayo, siendo la dosis de 0,50 UI/g/pez la que produjo productos sexuales viables transcurrido un periodo de 10 horas después de inyectados. Por su parte los machos sólo eyacularon con la dosis 0,25 UI/g/pez. Se ha determinado que un periodo de 10 horas para el desove, es relativamente corto en especies tropicales lo cual se asume se debe a la corta acción fisiológica de las hormonas a altas temperaturas ambientales (Alvarez-Lajonchere & Hernández-Molejon 2001). No se observó evidencias de reversión sexual o hermafroditismo, aunque es una especie gonocórica, característica compartida con la especie H. plumieri (Mota & Aragao 1973).

Las dosis de GCH utilizadas para la inducción al desove y ovulación en peces varía de una especie a otra, debido a la diferencia entre las moléculas de gonadotropinas (Alvarez-Lajonchere & Hernández-Mollejon 2001), atribuidas a las distancias filogenéticas entre organismos donantes y receptores (Harvey & Hoar 1980), siendo responsable el grado óptimo de desarrollo de los ovocitos (madurez), la respuesta específica de la especie tratada al factor placental y la dosificación correcta, para la obtención de resultados positivos en la fertilización (Manrique 1988; Rosas *et al.* 1996).

# Características de los huevos de *Haemulon bonariense*

Los huevos fértiles de H. bonariense son esféricos, pelágicos, con corion transparente sin proyecciones y totalmente liso, con vitelo uniforme, no coloreado y telolecitos, con un diámetro promedio de  $0.80 \pm 0.05$  mm y la presencia de una gota de aceite de  $0.20 \pm 0.02$  mm de diámetro (Fig. 1A) concordando con la descripción de huevos de especies marinas realizada por Blaxter (1988).

#### Fertilización

La fertilización de los huevos se produjo al transcurrir cinco minutos después del contacto entre los productos sexuales de los peces, inmediatamente se verificó una intensa actividad (diferentes procesos para que ocurra la división celular) en el material interno, sin incremento en el diámetro del óvulo (Zanuy 1975).

Seguidamente, se observó la separación entre el ooplasma y la membrana coriónica originándose el espacio perivitelino (Blaxter 1988). Querales (2001) menciona que esta separación es atribuida a los alveolos corticales, estructuras que liberan su contenido en este espacio, lo que impide la penetración de nuevos espermatozoides.

#### Etapa de división y formación del embrión

El tiempo de ocurrencia de cada división se presenta en la Tabla 1 y Fig. 1B, C, D, E, correspondiente a un promedio del 90% de los huevos fertilizados. La blástula se formó a 1 h: 56 min (Fig. 1F), la gastrulación (Fig. 2A) se inició a las 5 h: 7 min, después del engrosamiento del blastodisco. Los bordes del blastodisco rodean todo el vitelo quedando envuelto en una capa formada por periblasto, mesodermo y ectodermo (Balinsky 1978), antes del cierre del blastoporo se observó un tapón vitelino el cual se indica en la Fig. 2B.

Balinsky (1978) señala que en peces teleósteos se produce una reordenación de las células situadas en la profundidad del blastodisco, produciéndose su aumento en el espesor para formar el escudo embrionario donde se crearán los esbozos primarios de los órganos. Manrique (1988) y Querales (2001), refieren para la que familia Serranidae. la formación endomesodermo se debe a una invaginación significativa de la capa superficial del blastodermo. Transcurridas las 7 h: 4 min se observó la formación del esbozo de la banda embrionaria (Fig. 2C), indicando el final de la etapa de gastrulación.

A las 7 h: 15 min, la banda embrionaria se acentuó. A las 7 h: 26 min se inició la neurulación (Fig. 2D), se forman las cápsulas ópticas, la banda embrionaria se hace más ancha, coincidiendo con lo mencionado por Balinsky (1978) y Kimmel *et al.* (1995), para la formación de la placa neural en peces óseos. A las 9 h: 0 min se formó el embrión en el lado opuesto a la gota de aceite, la cual queda entre la cabeza y la cola del futuro embrión; se observó los primeros 6 somitos.

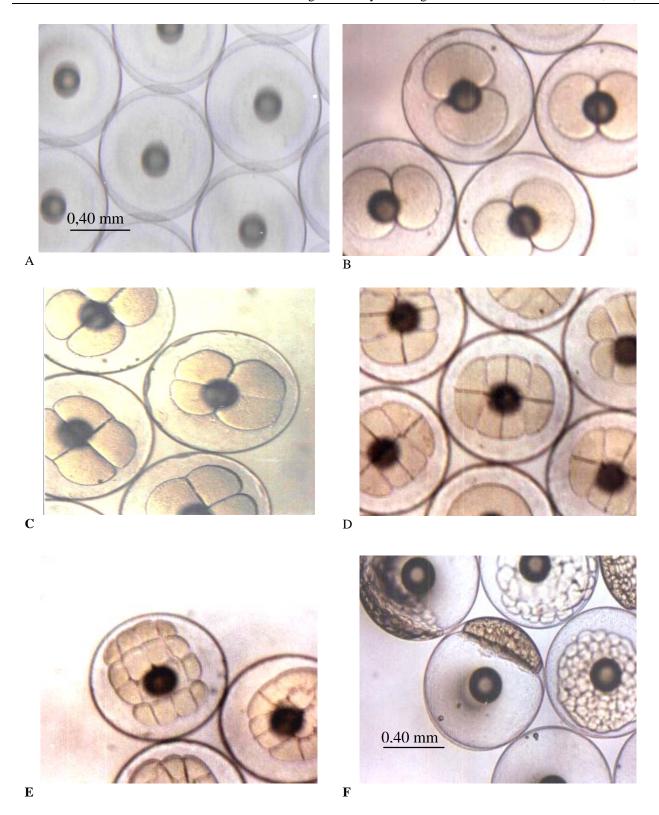


Figura 1
Desarrollo embrionario de *Haemulon bonariense*:

A) Huevo fertilizado; B) Primera división; C) Segunda división; D) Tercera división; E) Cuarta división; F) Blástula Embryonic development of *Haemulon bonariense*:

A) Fertilized egg; B) First cleavage; C) Second cleavage; D) Third cleavage; E) Fourth cleavage; F) Blastula stage

Tabla 1 Desarrollo embrionario y larval del corocoro rayao  $\it H.\ bonariense$  a 27  $\pm$  1°C

Embryonic and larval development of grunt H. bonariense at 27 + 1°C

	h: min Etapas de desarrollo desde la fecundación					
	0: 00 Fecundación					
	0: 24	Primera división				
	0: 30	Segunda división				
	0: 41	Tercera división				
	1: 04	Cuarta división				
	1: 14	Quinta división				
	1: 20	Sexta división				
	1: 28	Séptima división				
	1: 56	Blástula				
	5: 07	Gástrula				
	7: 26	Inicio de la neurulación, formación de cápsulas				
		ópticas				
	9: 00	Formación de embrión con 6 somitos				
	10: 50	Cápsulas ópticas definidas y vesícula Kupffer				
	11:00	Dos cromatóforos a nivel de las cápsulas				
		ópticas				
	12: 18	Cámaras ópticas con esbozos de las lentes				
		ópticas				
	15: 19	Inicio de la eclosión				
	h: min	Etapas de desarrollo después de la eclosión				
	0: 51	Cromatóforos en la parte media- posterior del				
		cuerpo de la larva				
	24: 0	Boca en formación, aletas pectorales casi				
		formadas, ojos más pigmentados				
	36: 0	Saco vitelino disminuido en 50% de su altura,				
		larvas resistentes a la manipulación				
	48: 0	Saco vitelino reabsorbido completamente,				
apertura de la boc		apertura de la boca				
		Apertura de ambos opérculos, se distinguen los				
		otolitos				
	88: 0	Se inicia una mortalidad progresiva por falta de				

Transcurridas 10 h: 50 min después de la fertilización, se observaron claramente las cápsulas ópticas (Fig. 2D) con la aparición de cromatóforos puntiformes a ambos lados del embrión y la vesícula de Kupffer (Fig. 2F), observaciones que concuerdan con Querales (2001) en *Paralabrax dewegeri* y López (2002) en *Diplectrum formosum*. A las 11 h: 0 min comenzó a desplegarse el vitelo de la membrana coriónica, se detallan un par de cromatóforos al nivel de las cápsulas ópticas y un tercer cromatóforo en la parte media terminal del notocordio; se observan los primeros latidos del corazón y el embrión se extiende en un 50% sobre la superficie del vitelo. A las 11 h: 20 min, se distinguen hasta 12 somitos y cromatóforos a lo largo de todo el cuerpo del embrión.

alimento apropiado

A las 11 h: 26 min se observó un total de 16 cromatóforos en la parte frontal del embrión y otros entre las divisiones de los somitos, aumentó el despliegue del vitelo de la membrana coriónica, las cápsulas ópticas son totalmente visibles y se observan 9 cromatóforos al final del notocordio. A las 12 h: 18 min

los somitos están formados a lo largo de todo el cuerpo del embrión, se aprecian los primeros movimientos del embrión y las cámaras óptica están mejor desarrolladas presentando el esbozo de las lentes ópticas.

A las 12 h: 40 min se observaron  $25 \pm 5$  somitos en el cuerpo del embrión. En ocasiones los cromatóforos se dispersan y en otras se agrupan, existiendo una ligera variación en su distribución, pero manteniéndose un patrón general de pigmentación entre las larvas. Idénticas observaciones fueron realizadas por Saksena & Richards (1975) en larvas de *Haemulon plumieri*; ellos sostienen que estas variaciones son atribuidas a la expansión o concentración individual de los melanóforos.

A las 13 h: 24 min se observó el despliegue del notocordio de la parte final de la futura aleta caudal, el embrión comienza a contraerse, incluso se arquea por cierto espacio de tiempo. A las 13 h: 52 min persisten los movimientos del embrión haciéndose más constantes; el corazón presenta un promedio de 94 latidos por minuto y algunos cromatóforos se distribuyen en la parte dorsal del cuerpo.

#### Desarrollo larval

A las 15 h: 19 min después de la fertilización eclosionan las larvas (Figs. 3A, B) con un promedio de longitud total de 1,42 + 0,10 mm (Tabla 2), estas rompen la membrana coriónica con la parte frontal impulsadas por la cola en un tiempo promedio de 2,45 segundos desde que se rompe el corion. El cuerpo de la larva es moderadamente alargado, la cabeza semi ovalada más angosta que el cuerpo lo cual fue observado en el 100% de las larvas. Conservando el carácter embrionario la larva presenta un prominente saco vitelino de forma elíptica con una longitud de 0,94 ± 0,10 mm, equivalente al 63,87% de la talla total de la larva y un volumen de 0,13 mm<sup>3</sup>. La gota de aceite se ubica en la parte anterior del saco vitelino con un diámetro de 0,20  $\pm$  0,02 mm (Tabla 2) y un volumen de 0,004 mm<sup>3</sup>. Se observaron hasta 12 miómeros.

Las larvas de H. bonariense recién eclosionadas (Figs. 3C, D) presentan ojos grandes y esféricos con un diámetro de  $0.20 \pm 0.04$  mm carentes de pigmentos con formación de las lentes ópticas; las cápsulas óticas son ovaladas y en su interior se aprecian dos pequeños otolitos. Las cápsulas olfatorias son elípticas y se encuentran situadas delante de los ojos. La boca se encuentra sin formar, el tubo digestivo es un poco alargado y delgado, presentando un ensanchamiento al final de la parte media anterior. El recto presenta forma cónica que termina en un ciego al final de la aleta embrionaria media ventral.

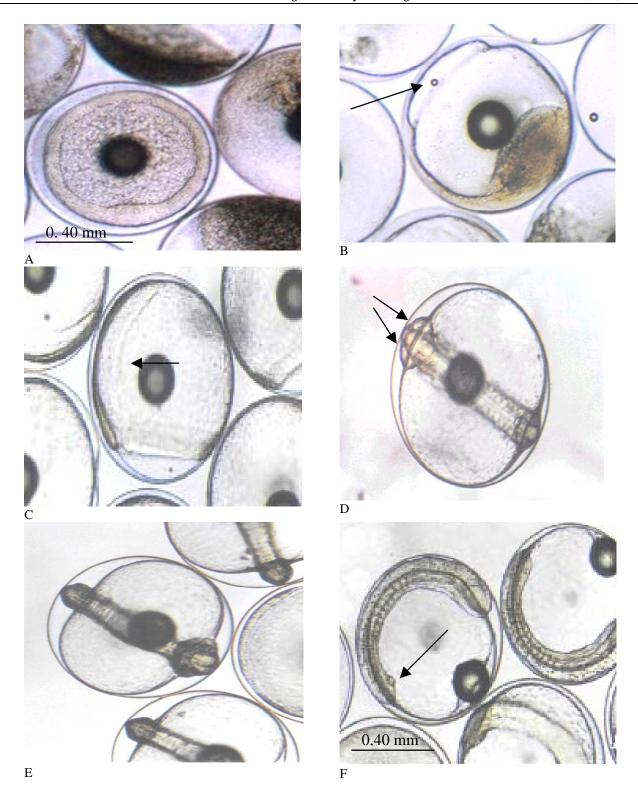


Figura 2
Desarrollo embrionario de *Haemulon bonariense*:

A) Gástrula temprana; B) Gástrula con tapón vitelino; C) Formación de banda embrionaria; D) Néurula con vesícula de Kupffer ; E) Gástrula avanzada; F) Pigmentación del embrión

Embryonic development of *Haemulon bonariense*:

A) Early gastrula; B) Gastrula with vitelline bung; C) Embryo band formation;

D) Neurula with Kupffer vesicle; E) Advanced gastrula; F) Pigmentation of embryo .

Tabla 2

Características morfométricas de *H. bonariense* después de la eclosión (± desviación estándar)

Lt=Longitud total, Ln =Longitud del notocordio, Lsv =Longitud del saco vitelino, Hsv=Altura del saco vitelino

Dga=Diámetro de la gota de aceite

Morphometric characteristics of *H. bonariense* after hatching (± SD) Lt=Total length, Ln=Notochord length, Lsv=Vitelline sac length, Hsv=Vitelline sac height, Dga= Oil drop diameter

Tiempo	Medidas expresadas en (mm)					
(Horas)	Lt	Ln	Lsv	Hsv	Dga	
0	$1,\!42\pm0,\!10$	$1,37 \pm 0,09$	$0,94 \pm 0,10$	$0,53 \pm 0,10$	$0,\!20\pm0,\!02$	
3	$1,69 \pm 0,13$	$1,\!40\pm0,\!14$	$0,89 \pm 0,10$	$0,50\pm0,10$	$0,20 \pm 0,03$	
6	$2,02 \pm 0,13$	$1,61 \pm 0,16$	$0,\!87\pm0,\!12$	$0,43 \pm 0,09$	$0,19\pm0,00$	
12	$2{,}10\pm0{,}16$	$1{,}77\pm0{,}13$	$0,73 \pm 0,06$	$0,38 \pm 0,10$	$0,\!19\pm0,\!01$	
18	$2,37 \pm 0,19$	$1,\!97\pm0,\!20$	$0,66 \pm 0,06$	$0.34 \pm 0.04$	$0,\!17\pm0,\!01$	
24	$2,45 \pm 0,09$	$2,06 \pm 0,08$	$0,58 \pm 0,09$	$0.34 \pm 0.07$	$0{,}16\pm0{,}01$	
30	$2,51 \pm 0,10$	$2,\!12\pm0,\!08$	$0,44 \pm 0,10$	$0,30 \pm 0,11$	$0,\!15\pm0,\!02$	
36	$2,44 \pm 0,04$	$2,02 \pm 0,09$	$0,35 \pm 0,05$	$0,23 \pm 0,03$	$0,14\pm0,02$	
42	$2,54 \pm 0,09$	$1,89 \pm 0,13$	$0,21 \pm 0,02$	$0,\!20\pm0,\!02$	$0,13 \pm 0,03$	
48	$2,52 \pm 0,10$	$1,\!66\pm0,\!10$			$0,\!12\pm0,\!01$	
52	$2,51\pm0,12$	$1,73 \pm 0,08$			$0,\!06\pm0,\!02$	
58	$2,36 \pm 0,16$	$1,59 \pm 0,16$			$0,\!06\pm0,\!02$	
68	$2,32 \pm 0,14$	$1,\!61\pm0,\!16$			$0,\!05\pm0,\!02$	
78	$2,32 \pm 0,14$	$1,\!61\pm0,\!16$			$0,\!05\pm0,\!01$	
88	$2,32 \pm 0,14$	$1,61 \pm 0,16$			$0,02 \pm 0,00$	

Las larvas de H. bonariense presentan una torso-lateral dendrítica pigmentación dispersa, observándose más intensa en cuatro bandas principales de cromatóforos (Fig. 3D). Una banda se encuentra ubicada por detrás de la cabeza marcando difusamente la separación entre la cabeza y el cuerpo de la larva, otra ubicada en el torso de la larva por encima de la parte media del saco vitelino, una tercera justo por encima del término del saco vitelino y una cuarta en la parte media de la región caudal, todo el patrón de pigmentación puede ser un elemento importante para la distinción entre las especies del género en esta etapa o fase de vida.

La aleta embrionaria media dorsal comienza a nivel del cerebro posterior y a partir de este punto se continúa casi paralelamente al notocordio, presentando una leve depresión al final del primer tercio de la longitud total, luego se ensancha para alcanzar su máxima altura a la mitad de la longitud total de la larva. La parte preanal de la aleta embrionaria media ventral equivale a la mitad de la región post-anal, aunque esta relación irá cambiando con la absorción del vitelo, no están formadas aún las aletas pectorales y pélvicas.

Las larvas presentan movimientos espasmódicos, intermitentes y no orientados con una tendencia general

en las primeras horas de nacidas de nadar en posición inclinada o en posición diagonal, con la cabeza en dirección hacia la superficie del agua, con el saco de vitelo hacia arriba, dejándose arrastrar pasivamente por las corrientes del sistema de aireación en los tanques.

A las 0 h: 51 min después de la eclosión, los cromatóforos se ubican en la parte media-posterior del cuerpo de la larva. Los movimientos del corazón son más persistentes con un ritmo de hasta 182 ± 10 latidos por minutos, existe un despliegue pronunciado del notocordio. A 1 h: 0 min de eclosionadas se distinguen claramente las cápsulas ópticas. A las 3 h: 0 min la longitud total de las larvas aumentó 0,27 mm, el saco vitelino redujo su volumen a 0,11 mm³, mientras que la gota de aceite mantiene su tamaño original. A las 6 h: 0 min de la eclosión, las larvas incrementaron su longitud total en 0,33 mm y el volumen del saco vitelino disminuyó a 0,08 mm³.

Transcurridas 12 h: 0 min de eclosionadas, la longitud total de las larvas aumentó 0,08 mm y el volumen del saco vitelino disminuyó 0,05 mm³. Las larvas producen movimientos ondulatorios de la cola, con reacción negativa a la luz y los cromatóforos (4 bandas pigmentarias) señalados anteriormente se observan como estriaciones del tejido epidérmico que van cubriendo el cuerpo de la larva.

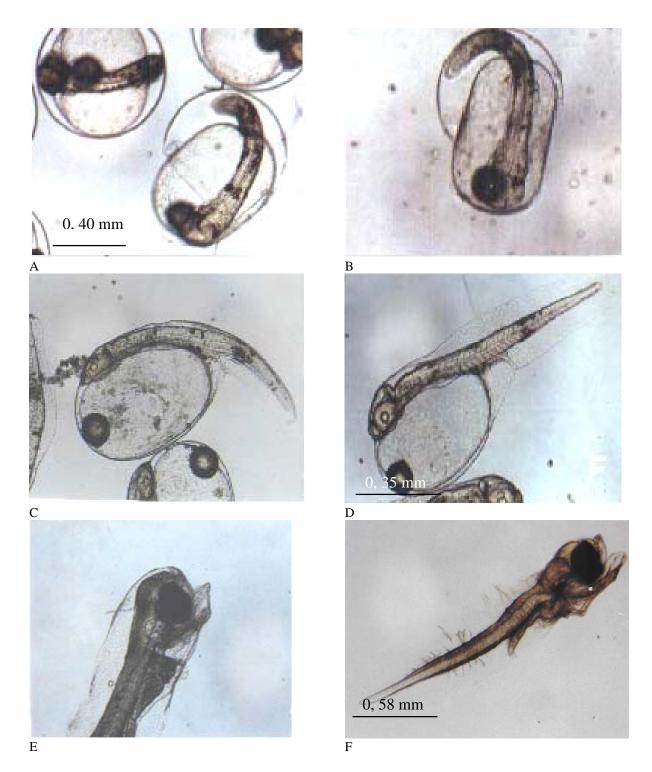


Figura 3

Desarrollo embrionario y larval de Haemulon bonariense:

A, B) Larva eclosionando; C, D) Larva recién eclosionada; E) Apertura de la boca; F) Larva a las 88 horas de eclosionada

Embrionic and larval development of Haemulon bonariense:

A, B) Larva hatching; C,D) Larva recently hatched E) Mouth opening; F) 88 hours old larva

A las 18 h: 0 min las larvas miden 2,37  $\pm$  0,19 mm (Tabla 2) y su comportamiento cambia, se agrupan nadando horizontalmente en los 20 cm superficiales de la columna de agua. El saco vitelino ha disminuido midiendo 0,66  $\pm$  0,06 mm (Tabla 2). Se observan los esbozos del estómago y el lóbulo donde se formarán las aletas pectorales.

A 2 h: 0 min de eclosionadas, las larvas alcanzan un tamaño promedio de  $2,45\pm0,09$  mm (Tabla 2). La boca se encuentra en proceso de formación, las aletas pectorales están casi formadas. La pigmentación es más intensa y los melanóforos se distribuyen irregularmente a lo largo del cuerpo. Los ojos van adquiriendo una pigmentación homogénea y se hacen iridiscentes a la luz, se distingue el primordio del estómago y el intestino. El saco vitelino ha disminuido considerablemente midiendo  $0,58\pm0,09$  mm (Tabla 2).

A las 36 horas de eclosionadas, el saco vitelino tiene una altura de  $0.23 \pm 0.03$  mm (Tabla 2). El lóbulo de las aletas pectorales se encuentra por encima de la gota de aceite.

A las 48 horas de eclosionadas, las larvas miden  $2.52 \pm 0.10$  mm (Tabla 2), el saco vitelino ha sido reabsorbido completamente. La larva posee la mandíbula inferior perfectamente formada y la capacidad de abrir la boca (Fig. 3E), lo cual la faculta para capturar el alimento. Las larvas muestran un patrón regular de nado alternando movimientos de la cola con periodos de pausa, posiblemente para capturar a sus presas. Según Bertram & Leggett (1994) cuando la larva abre la boca se le debe suministrar alimento adecuado ya que se inicia una etapa caracterizada por grandes mortalidades, denominada por algunos autores como fase crítica en larvas de peces; en esta experiencia se les suministró la microalga Tetraselmis chuii.

A las 58 horas de eclosionadas, las larvas presentan una longitud total de 2,36  $\pm$  0,16 mm (Tabla 2), se distinguen claramente el corazón, los otolitos, el sistema digestivo completo, la articulación de la mandíbula y la apertura de ambos opérculos. Las aletas pectorales presentan tres radios en ambos extremos y uno a nivel medio.

Cumplidas las 78 horas de eclosionadas, las larvas presentaron una longitud total de  $2.32 \pm 0.14$  mm (Tabla 2), con gran capacidad de natación dificultándose su captura; poseen las lentes ópticas completamente pigmentadas. Comienza la formación de las estructuras que dan sostén a las aletas caudal y dorsal. Las larvas presentan vestigios de la gota de aceite y microalgas ( $Tetraselmis\ chuii$ ) empaquetadas, sin digerir en sus intestinos.

A las 88 horas de eclosionadas, las larvas midieron  $2,32\pm0,14$  mm de longitud total (Fig. 3F) ocurriendo una mortalidad gradual de todas ellas, lo que puede ser atribuido a la falta de una dieta adecuada. Las larvas de H. bonariense son resistentes a la manipulación (recambios de agua de cultivo, muestreos) condición requerida en ensayos de larvicultura.

# Análisis de los datos morfométricos de las larvas de *H. bonariense*

Se determinó que existe correlación entre la longitud total de las larvas y la longitud total del notocordio ( $R^2$ = 0,84%) y entre la longitud total de la larva y la longitud total del saco vitelino ( $R^2$ = 0,78%), lo que Damas *et al.* (1978) y López (2002) señalan como consecuencia de la movilización de las reservas energéticas para el aumento en talla de la larva y la construcción de tejido y órganos.

A las 36 horas de eclosionadas, las larvas de *H. bonariense* presentaron un decrecimiento en la longitud total (Tabla 2 y Fig. 4) fenómeno mencionado por otros autores en larvas de peces como *Paralabrax dewegeri* (Querales 2001); *Sardinella aurita* (Balza *et al.* 2001) y *Diplectrum radiale* (López 2002), el cual se atribuye al proceso de movilización de reservas para la formación estructuras duras (huesos y cartílagos) que conforman la boca y el aparato oromandibular. Con respecto a la disminución en talla del notocordio (Tabla 2 y Fig. 4),

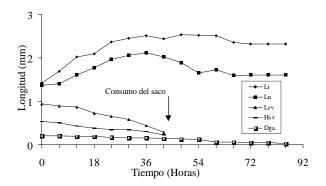


Figura 4
Crecimiento larval de Haemulon bonariense.
Longitud total (Lt), Longitud del notocordio (Ln),
Longitud y altura del saco vitelino (Lsv y Hsv) y diámetro
de la gota de aceite ( Dga) con respecto al tiempo

Larval growth of *Haemulon bonariense*. Total length (Lt), notochord length (Ln), length and height of vitelline sac (Lsv and Hsv) and drop oil diameter (Dga) with respect to time

se pudo observar que la formación de la caja cefálica y el aparato oromandibular hace que este se contraiga, proceso que se acelera con la formación de las mandíbulas. Después de las 52 horas de eclosionadas se observó en las larvas una detención en el crecimiento.

#### **Conclusiones**

Las hembras sexualmente maduras de *H. bonariense* produjeron desoves con las tres dosis de gonadotropina coriónica humana (GCH) empleadas en el ensayo siendo la dosis de 0,50 UI/g/pez la que produjo ovocitos viables en cambio los machos sólo produjeron productos sexuales viables con 0,25 UI/g/pez.

Los huevos fértiles de H. bonariense son esféricos, transparentes, lisos, pelágicos y con una sola gota de aceite. Presentan un diámetro promedio  $0.80 \pm 0.05$  mm con un diámetro promedio para la gota de aceite de  $0.20 \pm 0.02$ .

La fertilización de los huevos se produjo al transcurrir cinco minutos después del contacto entre los productos sexuales de los peces, a la temperatura de 27 ± 1°C, el desarrollo embrionario se completó en un tiempo de 15 horas y 18 minutos.

La eclosión de las larvas de *H. bonariense* ocurrió a las 15 h: 19 min después de la fertilización, su longitud total fue de  $1,42 \pm 0,10$  mm, longitud total del saco vitelino  $0,94 \pm 0,10$  mm y volumen de 0,13 mm<sup>3</sup>, mientras que el diámetro de la gota aceite, ubicada en la parte anterior del saco vitelino, midió  $0,20 \pm 0,02$  mm de diámetro con un volumen de 0,004 mm<sup>3</sup>.

La reabsorción completa del saco vitelino ocurrió 48 horas después de la eclosión, cuando las larvas alcanzaron una longitud total de  $2,52\pm0,10$  mm.

#### Literatura citada

- Álvarez- Lajonchere L & O G Hernández-Molejón. 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. The World Aquaculture Society, 424 pp. Baton Rouge, Alabama.
- **Balinsky B. 1978**. Introducción a la embriología, 664 pp. Ediciones Omega S.A. Barcelona, España.
- Balza M, M Gutierrez & B Marín. 2001. Descripción morfológica y crecimiento en los primeros estadios larvarios de la sardina Sardinella aurita (Valenciennes, 1847) (Pisces: Clupeidae). Boletín del Instituto Oceanográfico. Universidad de Oriente, Venezuela 40 (1-2): 91-101.

- **Bertram D F & W C Leggett. 1994.** Predation risk during the early history periods of fishes: separating the effects of size and age. Marine Ecology 109: 105 –114.
- Blaxter J. 1988. Pattern and variety in development. En: Hoar W & D Randall (eds). Fish Physiology. 11: 1-58. Parte A. Academic Press, Nueva York.
- Cabrera T, J Rosas & J Millán. 1997. Reproducción y desarrollo larvario del pargo dientón (*Lutjanus griseus* L. 1758) (Pisces: Lutjanidae) cultivado en cautiverio. Caribbean Journal of Science 33 (3-4): 239-245.
- Calderón C. 2001. Cariotipo de cinco especies del género Haemulon. Cuvier (Ostheichtyes) de la Isla de Margarita. Trabajo para Licenciado, 71 pp. Universidad de Oriente. Boca de Río, Venezuela.
- Cervigón F. 1966. Los peces marinos de Venezuela. Estación de Investigaciones Marinas de Margarita. Fundación la Salle de Ciencias Naturales 2: 1-949. Caracas, Venezuela.
- Cervigón F. 1993. Los Peces Marinos de Venezuela. Fundación Científica de Los Roques 2: 1-192 Caracas, Venezuela.
- Courtenay W. 1961. Western Atlantic fishes of the genus *Haemulon* (Haemulidae): Systematic; Status and Pigmentation. Bulletin of Marine Science of the Gulf and Caribbean 11 (1): 67-149.
- Damas T, M Borrero, N Millares & E González. 1978.
  Desarrollo embrionario y prelarval del caballerote (*Lutjanus griseus* Linné, 1758). Revista Cubana de Investigación Pesquera 3 (4): 11-37.
- Duran G, C García & A Laguarda. 1990. The karyotipe and "G" bands of *Haemulon aureolineatum*, Cuvier, 1829. (Pisces: Haemulidae) Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología 17 (2): 299 - 307.
- **Fisher W. 1978.** FAO. Species identifications sheets for fishery purpose. Western central Atlantic (Fishing area 31. IV), Rome, Italy. POMAD. Haem, 3.
- Harvey B & W Hoar. 1980. Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. International Development Research Center-Ts21, 48 pp. Canada.
- Heming T & R Buddington. 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. En: Hoar W S & D J Randall (eds). Fish Physiology. 11: 408-446. Parte A. Academic Press, Nueva York.
- Hoss D, D Peters & W Hettler Jr. 1986. Effects of lowered temperature on the survival and behaviour of juvenile French grunt (*Haemulon flavolineatum*). Bulletin of Marine Science 39 (1): 134 -138.
- **Hubbs C. 1943**. Terminology in the early stages of fishes. Copeia (4): 1 260.
- Kimmel C, W Ballard, S Kimmel, B Ullmann & T Schilling. 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. Developmental Dynamics 203: 253 310.

- **Lavens P & P Sorgeloos. 1996.** Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO: 319–357, Bélgica.
- Lee C. 1997. Marine finfish hatchery technology in the USA-status and future. En: Lee C S & A C Ostrowski. (eds). Current status of marine finfish larviculture in the United States. Aquaculture 200: 89 109.
- López P. 2002. Desarrollo embrionario y prelarval del bolo Diplectrum radiale (Qouy y Gainmard, 1824) (Pisces: Serranidae) a partir de la inducción a la autofecundación. Trabajo para Licenciado, 53 pp. Universidad de Oriente, Boca de Río, Venezuela.
- Manrique R. 1988. Inducción a la puesta, desarrollo embrionario y postlarval de la yuqueta, *Diplectrum formosum* (Linnaeus, 1766). Ms. Trabajo de postgrado en Ciencias Marinas, 98 pp. Cumaná, Venezuela.
- Mota M & L Aragao. 1973. Maturacao sexual da biquara,
   Haemulon plumieri Lacepede (Pisces: Pomadasydae).
   Arquivos de Ciencias do Mar 13 (2): 69 76.
- Querales D. 2001. Descripción del desarrollo embrionario y larval de *Paralabrax dewegeri* Metzelaar, 1919 (Pisces: Serranidae). Trabajo para Licenciado, 71 pp. Universidad de Oriente. Boca de Río, Venezuela.

- Rosas J, T Cabrera & J Millán. 1996. Inducción al desove de peces marinos utilizando hormona gonadotropina coriónica humana. En: Creswell R (ed) Proceedings of the 49<sup>th</sup> Gulf and Caribbean Fisheries Institute 46-51.
- Rosas J, T Cabrera & J Millán. 1998. Inducción al desove del pargo dientón *Lutjanus griseus* L., 1758 (Pisces: Lutjanidae) sexualmente maduro en cautiverio. Arquivos Ciencias Marinas Fortaleza 31 (1-2): 57-63.
- Saksena V & J Richards. 1975. Description of eggs and larvae of laboratory reared white Grunt, *Haemulon plumieri* (Lacepede) (Pisces: Pomadasydae). Bulletin of Marine Science 25 (4): 523 -53.
- **Sokal R & J Rohlf. 1981**. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica, 832 pp. H Blume Ediciones. Madrid, España.
- Thalathiah S, A Ahmad & M Zaini. 1988. Induced spawning techniques practiced at Batu Berendam, Melaka, Malaysia. Aquaculture 74: 363-368.
- **Zanuy S. 1975.** Desarrollo del huevo y estados larvarios de la cabrilla (*Paracentropristis cabrilla* L.). Investigaciones Pesqueras 39 (2): 473-489.