

Indicadores del Desarrollo Morfofuncional durante la Ontogenia Inicial de Peces Teleósteos: una Revisión

Carlos Alberto Cuenca-Soria^{1,3}, José Luis Ortíz-Galindo¹, Dariel Tovar-Ramírez*⁴, Carlos Alfonso Álvarez-González², Rosa Isabel Ochoa-Báez¹,
Jesús Iván Murillo-Álvarez¹

¹ Instituto Politécnico Nacional CICIMAR, Av. Instituto Politécnico Nacional s/n, Col. Playa Palo de Sta. Rita, Apdo. Postal 592, La Paz B.C.S. 23096, México.

² Laboratorio de Acuicultura Tropical UJAT-DACBIOL. Carretera Villahermosa-Cárdenas km. 0.5, Villahermosa Tabasco 86139, México.

³ Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. UJAT-DAMR. Carretera Tenosique-Estapilla km 1, Tenosique, Tabasco 86901, México.

⁴ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Mar Bermejo No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Apdo. Postal 128; La Paz, BCS 23090, México e-mail: dtovar04@cibnor.mx

Resumen

Para optimizar los protocolos de alimentación en peces teleósteos cultivables, en los últimos 30 años, los estudios se han dirigido a optimizar el uso del alimento vivo, durante la primera alimentación en el periodo larvario, que es el más crítico del cultivo de peces, hasta su transformación al juvenil. No obstante que esto ha significado avances innegables en el cultivo de peces marinos y aún dulceacuícolas, los altos costos que implican el establecimiento de infraestructura para los cultivos secundarios, han menguado seriamente la rentabilidad de la acuicultura. Más aún, la calidad nutricional del alimento vivo no siempre es garantía de cubrir los requerimientos nutricionales de los organismos de cultivo. Los indicadores (del tipo morfofuncional, bioquímico, histoquímico, inmunológico, molecular, entre otros), que se han empleado hasta ahora en la investigación de la ontogenia inicial (embrión, larva y juvenil) de peces cultivados, son de importancia crucial, pues contribuyen a proporcionar un mayor número de elementos, que permitirán prescindir cada vez más del alimento vivo con el diseño de alimentos inertes, acordes con la fisiología y capacidad digestivas de los peces cultivados y que a la postre, redundará en hacer más rentable la actividad acuícola. La presente revisión pretende describir los cambios que se suscitan a nivel morfofuncional y a la par, explorar los indicadores que hasta ahora han sido validados como herramientas e incluso los potenciales, con el objeto de conocer el grado de maduración de la morfología y función digestivas, durante la ontogenia inicial de peces teleósteos de importancia comercial.

Palabras clave: Indicadores, desarrollo, morfofuncional, ontogenia, peces teleósteos

Abstract

In the last 30 years, the researching has been leading to the employing of the live food, to improve of feeding protocols in the fish hatcheries, towards the consolidation of those critical steps. Despite continue improving of the fed practices on marine and freshwater fish hatcheries, the big cost to produce live food, has been decrementing seriously the aquaculture profitability. Moreover, the nutritional quality of the live food not always is warranty to cover the nutritional demand of fish larvae. The morphological, biochemical, histochemical, immunological, molecular (between others) indicators that have been employed in the investigation of the early ontogeny (embryo, larvae, juvenile) on the researching of the morphological changes on fish farmers, have a crucial importance, since it have contributed to have more technical and scientist elements, to reduce the dependence of the live food in the hatcheries, according to the digestive physiology and capacity of the fish which, could improve the feeding protocols and the profitability. The aim of the present review was to describe the morphological and physiology changes concurrently used to explore the indicators that now have been validated as tools to know the level of morphofunctional development during the early ontogeny on teleost fishes of commercial importance.

Key words: Indicators, development, morphofunctional, ontogeny, teleost

1. Introducción

Cuenca *et al.*. 2013. Indicadores del Desarrollo Morfofuncional durante la Ontogenia Inicial de Peces Teleósteos: una Revisión. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Alvarez-González, C. (Eds), Contribuciones Recientes en Alimentación y Nutrición Acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp.376-404.

Hoy en día, la optimización de la calidad nutricional de los alimentos en peces teleósteos cultivables, ha dirigido la investigación hacia el empleo del alimento vivo, con miras a resolver la primera alimentación y a completar el periodo larvario hasta su transformación al juvenil, evento que se vuelve el más crítico del cultivo de peces y que son la limitante para cerrar ciclos de producción en especies potencialmente importantes, comercialmente hablando. No obstante que esto ha significado avances innegables en el cultivo de peces marinos y aún dulceacuícolas, los altos costos que implican el establecimiento de la infraestructura para los cultivos secundarios, han menguado seriamente la rentabilidad de la acuicultura. Excepto para la modalidad de engorde sobre jaulas flotantes, que ha tenido un repunte en la industria con diferentes especies a lo largo de todo el mundo dado que las pesquerías han alcanzado su límite máximo sostenible.

Por otro lado, la calidad nutricional del alimento vivo (fitoplancton y zooplancton), no siempre es garantía de cubrir los requerimientos nutricionales de los organismos de cultivo. Durante la producción masiva del alimento vivo se pueden enfrentar dificultades tales, como una provisión y calidad nutricional variables a lo largo de varios ciclos de producción (Sorgeloos, 1980; Watanabe *et al.*, 1983). Desde hace algunas décadas, los trabajos de investigación han intentado dilucidar la habilidad fisiológica propia del pez, para degradar los ingredientes presentes en la dieta, desde la óptica de su maquinaria enzimática, con resultados cada vez más alentadores (Kolkovski, 2001). De acuerdo con Rosenlund *et al.*, (1997), las dietas inertes ofrecen la oportunidad de introducir nutrientes no disponibles en el alimento vivo y nos permiten conocer la capacidad del organismo de digerir ingredientes en particular. Esto lo hemos observado con aquellas especies dulceacuícolas y marinas que al ser alimentadas con dietas inertes desde la apertura de la boca (p.e. la carpa, *Cyprinus carpio*, lubina Europea, *Dicentrarchus labrax*, dorada *Sparus aurata*) han generado un gran conocimiento no sólo de la fisiología digestiva, sino que también han permitido grandes avances en la generación de alimentos microparticulados de pequeño tamaño, apto para lograr destetar especies que generan larvas pequeñas.

La finalidad de tales estudios, que han revolucionado la arista desde donde se observan los procesos de ingestión, asimilación y digestión del alimento, que experimentan los peces

cultivados durante su ontogenia inicial, ha sido profundizar en el conocimiento de los acontecimientos morfológicos más relevantes a lo largo de este período crítico, a la par de los acontecimientos funcionales (puesto que la evidencia de laboratorio y de campo ha demostrado que la morfología y la función, no son eventos de naturaleza mutuamente excluyente). La secuencia de eventos que marcan la pauta de los cambios importantes, a través del desarrollo morfológico y funcional del tracto alimentario incipiente en los peces, son claros indicadores de que el proceso que inicia con la fecundación y con el desarrollo embrionario, culminarán finalmente en la maduración morfológico-estructural del sistema digestivo y con ello, la funcionalidad del mismo. Tales indicadores, que pueden ser reflejo inequívoco de la capacidad los peces de experimentar la transformación (el cambio del período larvario al juvenil), en un período relativamente corto de tiempo, han resultado en ser herramientas sumamente útiles, para comprender mejor el proceso de maduración de la función digestiva y con ello, la posibilidad invaluable de determinar el instante propicio y preciso, del cambio de régimen alimenticio (de alimento vivo al alimento inerte), y del comienzo de la transformación misma. Los indicadores, como señalan Gisbert *et al.* (2008), pueden ser igualmente, herramientas de diagnóstico de la condición nutricional de los peces cultivados. Los indicadores empleados hasta ahora en la investigación de la ontogenia inicial de peces de importancia comercial, han sido principalmente del tipo morfofuncional, bioquímico, histoquímico, inmunológico y molecular. Estos indicadores son de importancia crucial, pues contribuyen a proporcionar un mayor número de elementos, que permitirán prescindir cada vez más del alimento vivo con el diseño de alimentos inertes, acordes con la fisiología y capacidad digestivas de los peces cultivados y que a la postre, redundará significativamente, en hacer más rentable la actividad piscícola. La presente revisión pretende describir los cambios que se suscitan a nivel morfofuncional y explorar a la par, los indicadores que hasta ahora han sido validados como herramientas y aquellos reconocidos como potenciales, con el objeto de explorar el grado de desarrollo de la morfología y función digestiva, durante la ontogenia inicial (embrión, larva y juvenil) de peces teleósteos de importancia comercial.

1.1 Tipos de ontogenia e indicadores

La ontogenia es toda la serie de cambios morfológicos y funcionales que experimentan los peces, a lo largo de su vida. El desarrollo exitoso del sistema digestivo es esencial para la supervivencia y el crecimiento de las larvas de peces, pues les permiten ser capaces de capturar, ingerir, digerir y absorber el alimento (Kjorsvik *et al.* 2004) al igual que los adultos de su especie. Aunque las larvas de peces pueden ser morfológicamente capaces de capturar elementos alimentarios al instante de su primera alimentación exógena (Segner *et al.* 1994; Bisbal y Bengtson, 1995), el sistema digestivo requiere una serie de cambios estructurales antes de ser totalmente funcional (Canino y Bailey, 1995). El esquema general de la secuencia de eventos durante la ontogenia de los peces teleósteos fue descrita en el trabajo de Govoni *et al.* (1986), donde propone que a partir de un intestino incipiente (primitivo), se derivan el intestino anterior, medio y posterior, producto de su segmentación en estas tres regiones. A su vez, el intestino anterior da origen al esófago y estómago, el intestino medio al intestino delgado y grueso, y el intestino posterior al recto y ano. Con lo que respecta a los tipos de ontogenia de peces teleósteos Balon (2002) establece tres tipos de ontogenia: indirecta, de transición y directa y propone que la ontogenia es un modelo jerárquico de la historia de vida de los peces. Por tanto, la ontogenia se puede desglosar en períodos secuenciales de embrión, larva, juvenil, adulto y senectud, y embrión, juvenil, adulto y senectud, para el caso de la ontogenia indirecta (nótese la ausencia del período de larva). Para el caso de la ontogenia de transición, el modelo propone los períodos embrión, alevín, juvenil, adulto y senectud (nótese el período alevín, una especie de vestigio larvario). Cada período se encuentra separado por fronteras naturales, y comprenden una secuencia de intervalos de organización en “saltos”, o estados “homeoréticos” denominados pasos (la unidad básica en la escala ontogénica), separados por umbrales estabilizados. Por consiguiente, el período es el más largo intervalo, separados uno de otro por umbrales. La fase la define como el siguiente intervalo en el cual, los períodos son divididos por unidades morfológicas, principalmente para propuestas de identificación, de menor significancia ontogénica. El paso es el intervalo natural más corto, separado por umbrales y el concepto de estadio, es un estado instantáneo de ontogenia. A continuación, se abordan aspectos de los tipos de ontogenia referidos.

1.1.1 Ontogenia indirecta

El primer período, el embrionario, es caracterizado por la alimentación endógena es decir, por la adquisición de nutrientes a partir de fuentes parentales (Balon, 1999). El tiempo desde la eclosión, hasta la pigmentación de los ojos representa presumiblemente el tiempo en el cual los embriones pueden nutrirse sólo de sus reservas vitelinas y no de fuentes exógenas (Houde, 1974). La alimentación endógena presenta un intervalo que tiende a ser muy estrecho de tiempo y un período larvario largo (dependiente de alimento exógeno), lo que hace a la larva sumamente vulnerable y proclive a altas mortalidades. Numerosas especies producen una fase de embrión libre con órganos y tejidos presumiblemente inmaduros al momento de la eclosión (Falk-Petersen, 2005). Sin embargo, los peces de ontogenia indirecta producen una gran cantidad de embriones y larvas, para compensar tal vulnerabilidad. Adicionalmente, las larvas, pueden ocupar numerosos nichos (plancton en teleósteos), por lo que no compiten por el alimento (Holcík, 1986). De acuerdo con (Gisbert *et al.* 2008), los embriones libres de peces generalmente eclosionan más prematuramente en su desarrollo, que en otros vertebrados, sugiriendo que las secuencias espacio-temporales en embriones libres de teleósteos son muy diferentes al de los vertebrados superiores. Consecuentemente, durante las primeras semanas de vida, una vez que concluye el periodo embrionario, las apterolarvas en peces sufren cambios morfo-estructurales y fisiológicos significativos hasta su paso a la pterolarva y el asentamiento del juvenil, así como la adquisición de características funcionales como los adultos de su especie, con excepción de la reproducción. Muchas investigaciones han sido conducidas en las últimas dos décadas para estudiar la habilidad digestiva y requerimientos nutricionales de larvas de peces y juveniles (Cahu y Zambonino-Infante, 2001). La organogénesis de enzimas digestivas y características de desarrollo del tracto digestivo han sido bien documentadas en varias especies, tales como *D. labrax* (Zambonino-Infante y Cahu, 1994), *Solea senegalensis* (Ribeiro *et al.* 1999a), *Sciaenops ocellatus* (Buchet *et al.* 2000) y *Salmo gairdneri* (*Oncorhynchus mykiss*) (Hoehne-Reitany Kjoersvik, 2004). Los indicadores morfofuncionales, bioquímicos y moleculares, se abordan siguiendo la ontogenia digestiva del modelo de Balon, (2002), acotando también en función de los hábitos alimentarios de las especies descritos por Rust (2002) y a los trabajos hasta ahora realizados en cada caso.

1.1.1.1 Peces *eurifagos* carnívoros

Desde el punto de vista morfológico y cuando ocurre la eclosión, la boca y ano están cerrados en algunas especies (Tanaka, 1969a; Govoni 1980). Esta y otras características más fueron observadas por Gisbert *et al.* (2004) en el lenguado *P. californicus*, además de que el tubo recto estaba cerrado (bucofaringe y ano no diferenciados). Entre los 1 y 2 días después de la eclosión (dde), la bucofaringe presenta rasgos morfohistológicos tales como algunas capas de células escamosas y pocas papilas gustativas. En estos días, el intestino es rudimentario, conformado por epitelio columnar ciliado simple. Durante la presencia del saco vitelino, la región posterior del intestino sufre una curvatura de 90° y se forma una válvula intestinal, dividiendo al intestino en dos regiones, el intestino prevalvular y el postvalvular. Ambas regiones presentan citoplasma basofílico y prominentes microvellosidades eosinofílicas (Gisbert *et al.* 2004). El intestino postvalvular está desprovisto de células caliciformes (Govoni, 1980), mientras tiene lugar la aparición de las glándulas gástricas (lo cual es un indicador de inmadurez digestiva). Sin embargo, es necesaria la actividad de ciertas enzimas para que tenga lugar la digestión en el embrión libre inmediatamente después de la eclosión. A este respecto, Alliot *et al.* (1977) detectaron tripsina y quimiotripsina (enzimas pancreáticas) por técnicas bioquímicas, inmediatamente después de la eclosión en *D. labrax*. García-Gasca *et al.* (2006) detectaron expresión del gen codificante para el tripsinógeno a partir de muestras de RNA de embriones (75 horas después de la fertilización (hdf) de *Sphoeroides annulatus*. Gisbert *et al.* (2004) indicaron que gránulos de zimógeno acidofílicos (precursoras de enzimas pancreáticas), fueron detectados en el páncreas exócrino al 1 dde, antes del inicio de la alimentación exógena, y su número se incrementa con el comienzo de la alimentación exógena en *P. californicus*. Lo anterior confirma la importancia de las secreciones pancreáticas para el desarrollo larvario durante el período agástrico (Ribeiro *et al.*, 1999b; Zambonino-Infante y Cahu, 2001). Durante el período larvario, el intestino prevalvular ha sido descrito también como el sitio principal del tracto digestivo para la digestión extracelular, debido a su pH alcalino y a la presencia de tripsina, secretada en el páncreas exócrino (Walford y Lam, 1993; Zambonino-Infante y Cahu, 2001). Poco después, tiene lugar la diferenciación del canal alimentario en bucofaringe, esófago, intestino pre y postvalvular y recto, coincidiendo con la primera alimentación exógena. Los autores refieren que esto ha sido observado para otras especies carnívoras como *S. senegalensis* (Ribeiro *et al.* 1999a) y *Limanda ferruginea* (Baglolle *et al.*

1997). A los 4 dde, un pliegue formado por células mucosas ciliadas, comienza a diferenciarse en la región terminal del esófago, a partir del intestino prealvular anterior en *P. californicus* (Gisbert *et al.* 2004). Alrededor de los 10 dde, el número de células caliciformes aumenta. Dichas células, secretan glicoproteínas y mucinas, las sustancias que componen la mucosa lubricante, a nivel de la bucofaringe anterior y en esófago, órgano en el que no se observaron cambios histológicos hasta la metamorfosis, como en *P. californicus*. A esta edad se logra apreciar también un diente canino en la parte posterior de esta cavidad y la mucosa del intestino es mayormente rectilínea con varios pliegues cortos. Las primeras células caliciformes, son visibles en ambas regiones del intestino. A los 13 dde, *S. annulatus* presenta un cambio prominente en la expresión de tripsinógeno (García-Gasca *et al.* 2006). Las células caliciformes se incrementan en número con la diferenciación de la mucosa intestinal, siendo más abundantes en el intestino prealvular. Histológicamente, estas células se tiñen de azul oscuro, lo cual se relaciona a la presencia de mezcla de glicoproteínas carboxiladas y sulfatadas y glicoproteínas neutrales. Entre los 19 y 23 dde, el plegamiento del intestino prealvular se incrementa, ocupando la mayor parte del lumen intestinal; en tanto que el intestino postalvular muestra pocos pliegues en una mucosa que se muestra rectilínea (Gisbert *et al.* 2004). Cuando *P. californicus* experimenta la migración del ojo (27-30 dde), coincide con la diferenciación de las glándulas gástricas y el decaimiento de los cuerpos supranucleares a nivel del intestino postalvular (Gisbert *et al.* (2004), indicando la presencia de absorción pinocítica y digestión proteolítica en el medio intracelular, mediante un proceso de cinco etapas: pinocitosis, transporte, acumulación, digestión y extinción (Watanabe, 1984a). En peces con ontogenia indirecta, la digestión intracelular es la predominante en el periodo larvario (Govoni, 1989), que después se volverá extracelular cuando tiene lugar la transformación del juvenil. La digestión intracelular compensa la digestión incompleta que se da a nivel del intestino medio primitivo, que va decayendo su aporte digestivo, a medida que tiene lugar la maduración del canal alimentario, sobre todo con la aparición de un estómago funcional, que posiblemente sea el indicador más trascendente, de la maduración digestiva en peces eurípagos carnívoros. A su vez, está ampliamente documentado que un indicador morfofuncional de la madurez plena del estómago, es la presencia de glándulas gástricas a nivel del estómago fúndico; en tanto que un indicador enzimático significativo, de la

madurez estomacal son los altos niveles de pepsina, precisamente secretada a partir de las glándulas gástricas. El acontecimiento de estos tres cambios son indicadores del umbral de un tracto digestivo en estado avanzado de madurez. Govoni *et al.*, (1986) señalaron que la presencia de inclusiones supranucleares y vacuolas son indicadores de un canal alimentario funcional. Por otro lado, García-Gasca *et al.* (2006) reportaron un sensible decremento de los niveles de mRNA codificante para el tripsinógeno mRNA, a partir de los 28 dde en *S. annulatus*, coincidiendo con el cambio de dieta de nauplios de *Artemia* a microdieta formulada. Darias *et al.* (2006) revelaron una expresión de tripsinógeno relativamente constante en el primer mes de vida de *Pagrus pagrus*, decreciendo hasta los 50 dde, sugiriéndose un papel secundario de tripsinógeno en la digestión proteínica. El mismo comportamiento sincrónico (de decaimiento de la actividad de tripsina como indicador de diferenciación estomacal) fue determinado en *Oplegnathus fasciatus* (He *et al.* 2011), aunque la disminución en la actividad de tripsina resultó más prematura (a partir de un pico a los 19 dde). Sin embargo, el cambio más notable de diferenciación del estómago y más aún, del comienzo del período juvenil; es el desarrollo de las glándulas gástricas, como anotan Pradhan *et al.* (2012). Tales cambios pueden ser indicadores útiles, que marcan la pauta del proceso de maduración digestiva.

1.1.1.2 Peces eurípagos omnívoros con énfasis en fuente alimentaria animal

A la fecha, pocos estudios sobre la dinámica ontogénica han sido llevados a cabo en peces eurípagos omnívoros con énfasis en fuente alimentaria animal. En su trabajo del desarrollo de enzimas digestivas en la ontogenia inicial de *Cichlasoma urophthalmus*, López-Ramírez *et al.* (2010) revelaron que la tripsina y la quimiotripsina muestran actividad antes de la eclosión. Esto también ha sido resaltado en el ciprínido *Labeo rohita* ya que a los 4 dde muestra actividad de enzimas como amilasa, proteasa, lipasa y fosfatasa alcalina (Mitra *et al.* 2008). La presencia de las enzimas digestivas más importantes ha sido demostrada al momento de la apertura de la boca en la dorada, *S. aurata* y el sargo, *Diplodus sargus* (Moyano *et al.* 1996; Cara *et al.* 2003). Siguiendo con *C. urophthalmus*, a los 13 dde, las larvas presentan fuerte actividad de varias enzimas digestivas, que han sido reportadas también para especies como *P. californicus* (Álvarez-González *et al.* 2006). Los resultados

de caracterización bioquímica, en larvas de *C. urophthalmus* indican que es justamente a los 13 dde, el mejor momento para sustituir el alimento vivo por alimento artificial, que coincide con un aumento visible de la actividad de las enzimas tripsina, quimiotripsina, aminopeptidasa, carboxipeptidasa y fosfatasas ácida y alcalina (López-Ramírez *et al.* 2010). La aminopeptidasa y fosfatasa alcalina son enzimas intestinales que participan en la digestión de pequeños péptidos y asimilación de nutrientes, respectivamente. Sus incrementos sostenidos a lo largo de la ontogenia inicial son indicadores de mejoramiento de la capacidad digestiva intestinal (Guerreiro *et al.* 2010). La tripsina ha sido reportada como la enzima más importante en la proteólisis alcalina en larvas de *P. maculofasciatus* (Álvarez-González *et al.* 2008); mientras que para *C. urophthalmus* la mayor actividad proteolítica, está representada por la quimiotripsina. Esto explica el por qué la quimiotripsina ha sido reportada como parte de la maquinaria enzimática de peces omnívoros con énfasis en fuente alimentaria animal y en herbívoros, más que tripsina que ha sido detectada en peces eurípagos carnívoros (Jonas *et al.* 1983). Por otra parte, los mismo autores sugirieron la presencia de tripsina, quimiotripsina, aminopeptidasa y catepsina (indicador de la proteólisis intracelular y por tanto de un tubo alimentario primitivo o inmaduro) antes de la eclosión (0 dde) y a los 3 dde, respectivamente. En larvas de otros peces omnívoros con énfasis en fuente alimentaria animal, *Pagellus erythrinus* y *C. urophthalmus*, la diferenciación del tracto digestivo tiene lugar en bucofaringe, esófago, un estómago presuntivo e intestino a los 3 dde (Micale *et al.* 2006), lo que los constituye como indicadores morfofuncionales y que además coincidieron con la primera alimentación exógena. A partir de estos hallazgos se deduce cierta capacidad funcional del tracto digestivo a esta edad. Los indicadores que pueden ser meritorios de cambios del inicio de la alimentación exógena en peces omnívoros con énfasis en fuente alimentaria animal, son incrementos de la actividad de la tripsina, y el inicio de la actividad de la quimiotripsina como indicador de un posible inicio de alimentación mixta (mezcla de suministros alimenticios endógenos con exógenos). La actividad enzimática por consiguiente, puede ser un indicador verosímil de la habilidad digestiva en peces omnívoros como la carpa común *Cyprinus carpio* variedad Jian, como aseveran Yan y Qiu-Zhou, (2006). A pesar de que la mayor parte de los estudios acerca de la ontogenia inicial en peces, han sido enfocados a especies carnívoras del Mar Mediterráneo y del Atlántico Norte, es posible resumir los

cambios relevantes utilizados como indicadores del grado de maduración en que se encuentra el pez, en la escala ontogénica. Yan y Qiu-Zhou, (2006) señalan que la función digestiva está correlacionada con el desarrollo intestinal en peces sin estómago como *C. carpio*, variedad Jian.

Finalmente en el trabajo de Micale *et al.* (2006) señalaron indicadores que son cruciales en el desarrollo larvario de *P. erythrinus* tales como: tiempo de apertura de la boca, absorción del saco vitelino, formación de las glándulas gástricas, acompañada de la secreción de la pepsina. La apertura de la boca, y por consiguiente, el comienzo de la alimentación exógena, determina la diferenciación regional del intestino en muchas especies de teleósteos (Iwai y Tanaka, 1968; Stroband *et al.* 1979; Stroband y Kroon, 1981; Boulhic y Gabaudan 1992; Sarasquete *et al.* 1995; Gisbert *et al.* 2004).

Una característica evidente en cuanto a los hábitos alimenticios de los peces omnívoros y carnívoros, es que consumen menos alimento por día que los peces herbívoros (Al-Hussaini, 1949; Kapoor *et al.*, 1976). La familia Atherinopsidae se caracteriza por tener un tracto digestivo corto y carecen de un estómago funcional (Horn *et al.*, 2006). Durante su ontogenia, los patrones enzimáticos coinciden con otras larvas de peces incluyendo aquellas que carecen de estómago. Existe un gran número de literatura que describe la biología de esta familia, que por su gran diversidad de hábitats posee hábitos alimenticios variados, encontramos zooplanctófagos, ictiófagos ocasionales, con énfasis a la carnivoría, pero también los hay omnívoros. Específicamente, el pescado blanco (*Chirostoma estor*) es un pez zooplanctófago, ocasionalmente piscívoro oportunista (Ross *et al.*, 2006), el cual posee actividad lipasa justo 1 día después de la eclosión y un pico importante de tripsina a las dos semanas después. Se ha reportado que los peces carnívoros poseen actividad lipasa más alta que los omnívoros o herbívoros la cual está correlacionada con la cantidad consumida de alimento por el pez (Chakrabarti *et al.*, 1995).

En cuanto a las enzimas intestinales por su parte, la fosfatasa alcalina comienza a mostrar un incremento constante después del día 30; y a diferencia de lo que sucede en los peces marinos estudiados hasta la fecha y de naturaleza carnívora, la enzima citosólica leucina

alanina peptidasa, muestra valores ascendentes después del día 10 después de la eclosión (Toledo Cuevas *et al.*, 20011),

1.1.1.3 Peces eurípagos omnívoros con énfasis en fuente alimentaria vegetal

La eclosión en ciprínidos herbívoros como *Ctenopharyngodon idella*, deriva en organismos con desarrollo incompletos, ya que la diferenciación de órganos continúa durante el período postembrionario (Stroband y Dabrowsky, 1979), particularmente el tracto digestivo (Dabrowsky, 1984; Govoni, 1986). Por otro lado, cuando la tasas de crecimiento alcanzan hasta el 30% d⁻¹, (Bryant y Matty, 1980), la actividad enzimática digestiva alcanza valores extremadamente pronunciadas. La alimentación exógena comienza aún antes de la absorción del saco vitelino y en este período el tubo alimentario es corto y recto (Hofer, 1991), pudiendo llegar a medir un 50% de la longitud corporal (Stroband y Dabrowsky, 1979). El intestino larvario corto tiene capacidad de desdoblar y asimilar elementos fácilmente digeribles, principalmente componentes del zooplancton (Mark *et al.*, 1987). El intestino crece lentamente durante el período larvario (Hoffer y Nassin-Uddin, 1985) y el tiempo de tránsito intestinal, está positivamente correlacionado con la longitud relativa intestinal (Hoffer y Nassin-Uddin, 1985). El tiempo disponible para los procesos de digestión y absorción es gradualmente extendido, hasta que finalmente el pez es capaz de cambiar al período adulto (Hofer, 1991). Por consiguiente, tanto el tiempo de tránsito, como la longitud intestinal pueden ser considerados como elementos indicadores, de la madurez digestiva en ciprínidos, principalmente herbívoros. En otro orden de ideas, la actividad de enzimas digestivas es baja en el primer período de alimentación, aunque se incrementa durante el desarrollo larvario (Stroband y Dabrowsky, 1979). Las enzimas digestivas de las presas naturales del zooplancton, sobreviven al tubo digestivo del predador y logran contribuir en un mínimo a la actividad enzimática del hospedero (Hofer, 1991). Por otro lado, la actividad de tripsina en adultos es significativa en el intestino anterior y medio, no así en el posterior, donde la actividad de las enzimas prácticamente desaparece (Hofer *et al.* 1982). En larvas sin embargo, la hidrólisis continúa en el intestino posterior (Hofer, 1991). A este respecto, Guo-Liang *et al.* (2010) estudiaron la expresión molecular de tripsinógeno; así como la actividad específica de tripsina, a lo largo de la

ontogenia de *C. idella*, sugiriéndose una importante actividad de tripsina en larvas. La disminución de la actividad de esta enzima endoproteasa en el intestino posterior, conforme tiene lugar la ontogenia inicial, puede ser un buen indicador de desarrollo digestivo, al menos durante el período larvario. Por otra parte, *C. idella*, es un pez carente de estómago, lo cual implica que todo el proceso digestivo se efectúa a lo largo de su intestino (principalmente anterior y medio), el cual está diseñado para optimizar al máximo la digestión y asimilación de nutrientes. La maquinaria enzimática intestinal de *C. idella*, compuesta por proteasas, lipasas, celulasas y amilasas ha sido abordada por Das y Tripathi (1991), así como por Wu y Zhu (1994). A este respecto, Horn *et al.* (2006), detectaron una actividad prominente de amilasa y maltasa en *Atherinops affinis* (pez herbívoro estuarino), enzimas que degradan azúcares presentes en la dieta. A su vez, los peces herbívoros adultos deben su alta eficiencia digestiva a la enorme área superficial intestinal para los procesos digestivos y de asimilación, producto de un intestino sumamente elongado. Con relación a esto último, Horn *et al.* (2006) concluyeron que, presenta no solo un intestino más largo, sino también una superficie intestinal mayor en *A. affinis* que *Atherinopsis californiensis* y *Leuresthes tenuis*, peces omnívoro y carnívoro, respectivamente. No obstante, en peces sin estómago y por tanto con mecanismos de digestión estomacal ausente, es necesario recurrir en parte, a la digestión intracelular que comúnmente tiene lugar en estadios de la ontogenia inicial de peces teleósteos (hasta que ocurre la formación de las glándulas gástricas, indicadores de la diferenciación desarrollada de un estómago funcional). Liu *et al.* (2008) demostraron la presencia de catepsina D, principalmente involucrada en la digestión proteica de *C. idellus*, enzima indicadora de la digestión intracelular como la leucín alanín peptidasa (Zambonino-Infante y Cahu, 2001).

1.1.2 Ontogenia de transición

Durante el período embrionario, el vitelo en peces de ontogenia de transición es abundante y denso, lo que da las condiciones para el paso al período juvenil en un lapso de tiempo relativamente corto (al menos en comparación con los peces de ontogenia indirecta, de período larvario más largo). Las especies más representativas de este grupo son los peces de la familia Salmonidae, quienes producen grandes huevos demersales y alevines bien

desarrollados (Pavlov y Moksness, 1994). Los huevos de los salmónidos muestran que a las 6 h después de la fertilización tienen pequeños blastodiscos, estrechos espacios perivitelinos, mientras que los glóbulos de lípidos se sitúan alrededor del polo animal y se conectan a la región citoplasmática, en tanto que el embrión y la gota de aceite se encuentran dispuestos en la parte superior del vitelo (Pavlov y Moksness, 1994). Uno de los indicadores más emblemáticos en peces de este grupo, es la presencia de pepsina y tripsina, después de la eclosión de *S. gairdneri* (*O. mykiss*) (Dabrowsky, 1982). Rungruangsak-Torrissen *et al.* (2006), estudiaron la expresión de tripsina y quimiotripsina y su efecto en el crecimiento de *S. salar*, determinando que la primera ve afectada su actividad cuando se promueve el crecimiento, por factores externos (temperatura y la composición de la dieta); e internos (fase de vida), mientras que la actividad de la segunda aumenta en condiciones de limitación del crecimiento (ayuno). Por consiguiente, la actividad enzimática al menos en los salmónidos, es un indicador de la manera en que actúan e interactúan factores internos y externos del cultivo. En otro orden, técnicas histológicas e histoquímicas han revelado escasa acumulación de cuerpos de inclusión proteínicos a nivel de las células epiteliales del intestino medio larvario en salmónidos, haciendo de la digestión intracelular, menos importante en peces de ontogenia de transición, pues ya disponen de un estómago funcional, antes de la absorción del saco vitelino y al instante de la primera alimentación exógena, cuya función no será muy diferente del estómago del pez adulto (Govoni, 1986). Por consiguiente, el alevín (período exclusivo de peces de ontogenia de transición) presenta la mayor parte de las características de un juvenil poco después de la eclosión, puesto que también eclosiona como eleuteroembrión, lo que lo hace un vestigio de larva muy desarrollada. A este respecto, Sarieyyüpoğlu *et al.* (2000) reportaron el comienzo de la formación del estómago, a partir de la mucosa del esófago de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, a los 2 dde. Lo anterior ofrece ventajas al alevín, puesto que en este estado de escala ontogénica, presenta un tracto digestivo estructural y funcionalmente más avanzado en la eclosión, que con relación a los peces de ontogenia indirecta. En el salmón *Hucho taimen*, Guan *et al.* (2010), estudiaron los cambios morfológicos del sistema digestivo durante el desarrollo postembrionario. Encontraron a los 30 días postfertilización, que las aletas están formadas, las branquias están completamente formadas, se da la apertura de la boca y el tracto digestivo es un tubo recto compuesto de una capa de epitelio

columnar. Además, presenta un gran saco vitelino con un grupo celular hepático sobre el costado lateral del vitelo. Posteriormente a los 40 días postfertilización, se ha formado la cavidad orofaríngea, el esófago, el estómago tipo-U y el intestino. Más adelante, a los 50 días postfertilización, se ha absorbido el saco vitelino y el embrión libre es capaz de ingerir alimento del exterior, los órganos digestivos están aun en desarrollo inicial y tampoco se ha completado el desarrollo de los órganos glandulares, se aparece una elevación en el esófago, el estómago se divide en dos porciones: porción cardíaca, corpus gastricum y porción pilórica, aparecen las glándulas en el estómago, presenta un tipo de alimentación mixta, endógena y exógena. Finalmente, a los 60 días postfertilización, en el alevín se ha consumido completamente el vitelo, se observa el esfínter bien desarrollado y forma una porción cardíaca y una porción pilórica, con numerosas células globet en la porción cardíaca y un gran número de glándulas gástricas distribuidas en el estómago tipo-U, gran número de ciegos pilóricos en la porción pilórica, el hígado no se divide en mala, solo presenta tres pliegues en el extremo y tiene forma de hoja de maple, el páncreas es un órgano independiente. Su alimentación es totalmente exógena. A partir de este momento se considera que el tracto digestivo está completamente maduro.

1.1.3 Ontogenia directa

Son pocos los estudios realizados concernientes a los cambios morfofuncionales en especies que obedecen al tipo de desarrollo por ontogenia directa (y más las susceptibles de cultivo). El desarrollo embrionario para este grupo, sigue la misma pauta general que para los peces teleósteos, aunque hay diferencias notables. Se ha demostrado que el pez lobo *Anarhichas lupus* presenta fertilización tipo interna (Pavlov, 1993) En algunas especies como *Xenomelaniris brasiliensis*, (un pez aterínido de aguas salobres, cuyo período embrionario dura 143 h aproximadamente, instante en que ocurre la eclosión), los ojos pueden estar bien pigmentados y además presenta los primeros esbozos de las aletas pectorales aún antes de que la eclosión tenga lugar (del Río *et al.* 2005), siendo éstos indicadores típicos de los peces de ontogenia directa. Por otro lado, las larvas de la mayoría de los peces marinos, no poseen la capacidad de alimentarse inmediatamente después de su eclosión, sino que dependen del saco vitelino (poco denso) hasta que sus ojos y boca son

funcionales. Por otra parte, al momento de la eclosión de *A. lupus* es un embrión libre con las características de un juvenil prematuro, que lo hace adaptarse inmediatamente al medio pelágico (Pavlov, 1994a). Al comienzo de la primera alimentación exógena, *A. lupus* se caracteriza por tener un alto grado morfológico, especialmente el sistema digestivo (Pavlov, 1994a), lo que confiere una mayor probabilidad de supervivencia, haciendo a estos peces mucho menos vulnerables en su ontogenia inicial. Hellberg y Bjerkås, (2005) sugieren que un incremento en la cantidad de lípidos en *A. lupus*, estuvo asociado a la maduración de células epiteliales en intestino. La capacidad de absorción de lípidos en intestino entonces, puede constituir un claro indicador de diferenciación intestinal durante la ontogenia en los peces de ontogenia directa, especialmente en el período larvario.

1.2 Indicadores morfofuncionales de maduración

De acuerdo con Ma *et al.* (2005), existen dos etapas que son consideradas de importancia capital en el proceso de maduración de la función digestiva en larvas de peces. Primero, la funcionalidad de la secreción pancreática y segundo, la formación del epitelio con las membranas de borde en cepillo del intestino. Estas fueron descritas en *D. labrax* (Cahu y Zambonino-Infante, 1995), en *S. senegalensis* (Ribeiro *et al.* 1999b) y *S. ocellatus* (Buchet *et al.* 2000, Lazo *et al.*, 2000). La transición del período larvario hasta su transformación a juvenil, implica también profundas modificaciones en estructuras y sistemas del organismo incluyendo, la diferenciación funcional de los órganos sensoriales, el sistema neuroendocrino y el locomotor, así como el sistema digestivo. A pesar de que estos procesos de cambio están completos para la mayoría de las especies, al instante de la primera alimentación exógena, ocurren cambios fisiológicos hasta la transformación a período juvenil, los cuales incluyen la reorganización del tronco muscular (diferenciación de fibras aeróbicas a anaeróbicas), diferenciación de las branquias (transición de respiración cutánea a branquial) y tejido esquelético, desarrollo de un estómago funcional y el establecimiento de la digestión ácida (Sarasquete *et al.* 1995; Segner *et al.* 1994; Ribeiro *et al.* 1999b; Ortíz-Delgado *et al.* 2006; Santamaría *et al.* 2004; Falk-Petersen, 2005; Zambonino *et al.* 2008). Estos últimos cambios mencionados, son indicadores de que el individuo se encuentra en condiciones de maduración digestiva suficiente para realizar de

manera más eficiente la ingesta, digestión y asimilación de los nutrientes. Como señala Gisbert *et al.* (2008), los indicadores (histológicos, son una herramienta útil y precisa para ayudar a la comprensión de los cambios trascendentales que ocurren durante la ontogenia inicial en peces teleósteos, con todo y sus limitaciones en el estudio de poblaciones silvestres. Por otro lado, el perfil de enzimas digestivas, es un indicador de la digestibilidad y utilización de los nutrientes (Mitra *et al.* 2008). Por ejemplo, se ha documentado que las larvas de peces omnívoros y herbívoros muestran alta actividad de pepsina, tripsina y amilasa. En tanto que en las larvas de peces carnívoros, se observa alta actividad de pepsina, tripsina, quimiotripsina y aminopeptidasa, con ínfima actividad de amilasa, salvo excepciones como *S. gairdneri*. La presencia o ausencia de actividad amilásica es un una herramienta útil como indicador del hábito alimentario de la especie, pero también es un buen indicador de maduración digestiva, pues se ha observado que su actividad es alta en estadios larvales tempranos de diversas especies, y disminuye cuando se logra la madurez morfofuncional (Zambonino-Infante *et al.* 1996). La alta actividad amilásica en larvas, se considera análogo a la actividad de la lactasa en períodos postnatales de mamíferos y ésta disminuye al lograrse una digestión similar a la de los adultos de la especie. Otro importante indicador de cambios estructurales y funcionales de las etapas de desarrollo de muchas especies, lo constituyen la relación entre la digestión extracelular, representada por enzimas del borde de cepillo (aminopeptidasa N, fosfatasa alcalina y maltasa), y la digestión intracelular mediada por las enzima citosólica (leucina alanina peptidasa). Mientras la actividad citosólica predomina durante los primeros días después de la eclosión, ésta va disminuyendo, a la vez que las enzimas del borde de cepillo aumentan en actividad junto con el desarrollo de éste, y el establecimiento de la mucosa intestinal. Desde un punto de vista funcional, la actividad digestiva es mediada por diversos factores, entre los cuales destacan los hormonales. Un indicador importante lo constituye la colecistoquinina (CCK), hormona que se produce en el intestino anterior y es responsable de la secreción enzimática proveniente del páncreas, de la liberación de la bilis, de la contracción intestinal y del llenado y vaciado intestinal (Liddle, 1997). A pesar de los pocos estudios en este tópico, se ha detectado CCK al 1 dde, en el lengudo japonés *Paralichthys olivaceus* (Kurokawa *et al.* 2000), en el atún *Thunnus thynnus* (Kamisaka *et al.* 2002) y el ayu *Plecoglossus altivelis* (Kamisaka *et al.* 2003), sin embargo la CCK no fue detectada en el tracto intestinal del

lenguado del Atlántico *H. hippoglossus* (Kamisaka *et al.* 2001; Rojas-García y Rønnestad, 2002), indicando que la aparición de esta hormona puede estar sujeta a cambios en los niveles de expresión producto de factores genéticos y/o nutricionales.

1.3. Indicadores moleculares

Hasta el momento existen pocos trabajo relacionados a la transcriptómica que comprende el desarrollo de los primeros días en peces; sin embargo, los estudios de genómica funcional han abarcado a un gran número de especies modelo y comerciales tanto marinas como dulceacuícolas, y éstos comprenden el estudio de diferentes aspectos de la fisiología del pez (Mazurais *et al.* , 2011). Podemos citar los estudios con el pez cebra, *Danio rerio* (Zeng y Gong, 2002), medaka, *Orzias latipes* (Kimura *et al.*, 2004); botete, Fugu rubripes (Clark *et al.*, 2003), bagre de canal *Ictalurus punctatus* (Ju *et al.*, 2000), salmón del Atlántico, *Salmo salar* (Hagen Larsen *et al.*, 2005); rodaballo, *Scophthalmus maximus*, (Pardo *et al.*, 2008), lubina Europea, *D. labrax*, (Darias *et al.*, 2008).

Cualquiera que sea la especie, los peces sufren cambios muy importantes a lo largo de sus primeras fases de vida, todos ellos regulados genéticamente, y éstos están representados por modificaciones morfológicos, por una diferenciación y proliferación celular, crecimiento y maduración de sus funciones hasta adquirir la forma de vida como los adultos de su especie. Como se ha descrito anteriormente, y a pesar de que existen peces de ontogenia indirecta, de transición y directa, los cambios después de la eclosión hasta llegar a un fenotipo definitivo, son drásticos y requieren de un alto grado de regulación en cada uno de los pasos requeridos en su maduración. Hasta hace poco tiempo, la mayoría de los estudios relacionados a los cambio ontológicos que suceden en el pez, habían sido estudiados usando algunos genes blanco en particular mediante RT-qPCR o hibridación *in situ*, sin embargo, a través de la generación de librerías de cDNA obtenidas por hibridación sustractiva (SSH) y posteriormente a través de los análisis de expresión masiva de genes (microarreglos, p.e.), se han podido complementar y elucidar los mecanismos relacionados a los cambios morfológicos, estructurales y funcionales relacionados al proceso digestivo en peces, mediante la descripción de las rutas metabólicas y procesos biológicos donde

interactúan los genes relacionados al metabolismo, crecimiento, diferenciación, absorción, transporte, entre otros, a través de la identificación de genes marcadores de los diversos procesos clave de los cambios ontogénicos que suceden en el pez.

Con el trabajo de Darías *et al.* (2008) se comenzaron a analizar simultáneamente, miles de genes (6,626) en la lubina Europea *D. labrax*, utilizando un microarreglo heterólogo de trucha arcoíris *O. mykiss*. A lo largo del desarrollo larvario, se sobreexpresaron 485 genes, los cuales estuvieron relacionados con la organogénesis (39 genes), rutas energéticas (29 genes), biosíntesis (67 genes) y digestión (5 genes).

Mediante la técnica de microarreglos, y la qPCR, se pudo determinar que durante la ontogenia molecular de la lubina Europea, el sistema digestivo sufre cambios importantes, por ejemplo la amilasa presenta niveles altos de expresión (7 días post eclosión) al inicio del periodo larvario y disminuye paulatinamente (17 días post eclosión) una vez que se alcanza la madurez. Por el contrario, la tripsina (digestión alcalina), aumenta constantemente (del día 7 al 17 post eclosión), y es reemplazada o complementada, por la expresión de la pepsina (digestión ácida) en el día 25 post eclosión; de la misma manera se observan niveles altos de expresión de su precursor, gastricsina (pepsinógeno) acompañado del desarrollo de las glándulas gástricas. Estas observaciones ya habían sido hechas previamente usando sustratos específicos para cada enzima así como la RT-PCR.

Uno de los factores importantes en la obtención de larvas de buena calidad es la nutrición. Previos estudios han demostrado que existe una cercana relación entre la nutrición de las primeras fases de vida del pez con el crecimiento y su desarrollo (Zambonino-Infante y Cahu, 2007). En este sentido, se ha estudiado la relación entre la expresión de la colecistoquinina (CCK) principal hormona reguladora de la digestión, el neuropéptido Y (NPY) y la hormona del crecimiento (GH) con diversos protocolos de nutrición (a) rotíferos, b) rotíferos+microalga, c) copépodos+rotíferos) en larvas del bacalao (*Gadus morhua*). En este trabajo se encontró que los transcritos involucrados en la regulación del apetito y digestión fueron expresados diferencialmente con cada uno de los protocolos de alimentación probados; se encontró también que los perfiles de expresión de algunas

enzimas (tripsina y amilasa) y hormonas digestivas (CCK) son similares y parcialmente demostradas con los niveles del NPY (Kortner *et al.*, 2011). Por lo que la combinación de estos indicadores moleculares que participan en la digestión, regulación del apetito, crecimiento y desarrollo se perfilan como buenos indicadores de dietas en las fases iniciales del desarrollo en peces (Kortner *et al.*, 2011).

2. Discusión

El conocimiento de la dinámica ontogénica en peces teleósteos, es fundamental para seleccionar los indicadores de los eventos cruciales del proceso de maduración digestiva, que pueden constituir un referente para el diseño de alimentos inertes, especialmente en los períodos iniciales de vida de las especies con valor comercial y de aquellas con potencial de cultivo. Es menester comprender los cambios morfofuncionales de manera integral, ya que muy pocos estudios hasta ahora, han profundizado en relacionar los indicadores abordados en la presente revisión, con el desarrollo morfofuncional del pez. Más aún, poco se ha hecho en establecer posibles sinergias entre los indicadores mencionados, que pudieran realizar una descripción más fidedigna de los cambios relevantes y distintivos, durante la ontogenia inicial en peces teleósteos. El predominio de un tipo de enzima dentro de la maquinaria enzimática de un pez (así como la de su expresión de genes u hormonas detonadoras de su actividad), pueden ser indicadores de importancia capital de maduración digestiva y por tanto, la composición del alimento que se pretende administrar, y el tiempo al menos aproximado, a lo largo de la ontogenia inicial de la especie objeto de estudio. Paralelamente, hoy en día las herramientas histológicas, bioquímicas, moleculares han sido ampliamente utilizadas, ya que son en extremo útiles pues también permiten un conocimiento más profundo y preciso de los tiempos en que tienen lugar los eventos relevantes a lo largo de la ontogenia inicial de peces teleósteos, pues la toma de muestras a lo largo de la serie ontogénica pueden registrar tales cambios, mediante la determinación de los cambios morfológicos y estructurales, la dinámica de la actividad enzimática, la detección de los genes responsables de la expresión molecular de enzimas digestivas en el tiempo, y de este modo complementar la información generada por otras técnicas. El destacar los tiempos más o menos exactos de la expresión enzimática, así como comprender

los procesos endócrinos, nerviosos y los factores luminales que regulan la digestión, pueden resultar ser los indicadores de los sucesos más importantes a lo largo de la histogénesis y organogénesis del canal alimentario, así como su funcionalidad.

No obstante la alta relevancia de los indicadores bioquímicos y moleculares, es necesario atender en primera instancia, la estructura (inherente a los indicadores morfológicos), antes que los aspectos funcionales de desarrollo del pez. Finalmente, es menester considerar más eventos bioquímicos, génicos, inmunológicos, endócrinos, hematológicos(entre otros), donde se involucren disciplinas complementarias como la genómica funcional, que permitan disponer de un mayor número de indicadores, hacia un mayor entendimiento del proceso de maduración digestiva de los peces teleósteos, sobre todo las especies con valor comercial y aquellas potenciales de cultivo.

Finalmente hay que hacer notar que no solamente es importante tener en cuenta una lista de marcadores moleculares funcionales o aquellos eventos involucrados en la organogénesis, para describir los cambios que suceden en la ontogenia inicial de los peces, sino que también es importante su correlación con aquellas factores externos que regulan la expresión de los genes responsable del fenotipo del organismo en cuestión. Uno de estos factores es la nutrición, y ésta es determinante en la regulación de enzimas y hormonas implicadas en cambios que son fundamentales para la obtención de juveniles de calidad.

3. Agradecimientos

Nuestro agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México, por el otorgamiento de la beca para el primer autor, con número de registro 1100006. A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, por el otorgamiento de la beca, mediante el de convenio DAMR-02 UJAT-PROFESOR/2010. Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas para la realización del presente trabajo.

4. Literatura citada

- Alliot, E., Pastoureaud, A., Trelleur, J., 1977. Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar (*Dicentrarchus labrax*), variations des proteinogrammes et des zymogrammes. Colloq. Int. Cent. Nat. Rech. Sci. 4, 85-91.
- Álvarez-González, C.A., Cervantes-Trujano, M., Tovar-Ramírez, D., Conklin, D.E., Nolasco, H., Gisbert, E., Piedrahita, R., 2006. Development of digestive enzymes in California halibut *Paralichthys californicus* larvae. Fish. Physiol. Biochem. 3, 83-93.
- Álvarez-González, C.A., Moyano-López, F.J., Civera-Cerecedo, R., Carrasco-Chávez, V., Ortiz-Galindo, J., Dumas, S., 2008. Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass (*Palabrax maculatofasciatus*). I. Biochemistry analysis. Fish. Physiol. Biochem. 34, 373-384.
- Baglolle, C.J., Murray, H.M., Goff, G.P. & Wright, G.M. 1997. Ontogeny of the digestive tract during larval development of yellowtail flounder: a light microscopic and mucous histochemical study. Journal of Fish Biology 51, 120-134.
- Balon, E.K., 1999. Alternative ways to become a juvenile or a definitive phenotype (and on some persisting linguistic offenses). Env. Biol. Fish. 56, 17-38.
- Balon, E.K., 2002. Epigenetic processes, when *natura non facit saltum* becomes a myth, and alternative ontogenies a mechanism of evolution. Env. Biol. Fishes 65, 1-35.
- Bergot, P. 1986. Elevage larvaire de la carpe commune (*Cyprinus carpio* L.): Alimentation artificielle. R. Billard at J. Marcel, Ed. Aquaculture of Cyprinids, INRA, Paris pp. 505.
- Bisbal, G.A. & Bengtson, D.A., 1995. Development of digestive tract in larval summer flounder. J. Fish Biol. 47, 277-291.
- Boulhic, M. & Gabaudan, J. 1992. Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of Dover sole, *Solea solea* L. Aquaculture 102, 373-396.
- Bryant, P.L. & Matty, A.J. 1980. Optimisation of Artemia feeding rate for carp larvae *Cyprinus carpio* L.). Aquaculture 21, 203-212.
- Buchet, V., Zambonino-Infante, J.L. & Cahu, C.L., 2000. Effect of lipid level in a compound diet on the development of red drum *Sciaenops ocellatus* larvae. Aquaculture 184, 339-347.
- Cahu, C.L. & Zambonino-Infante, J.L., 1995. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of weaning with different protein sources. Fish Physiol. Biochem. 14, 431-437.
- Cahu, C.L. & Zambonino-Infante, J.L., 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. Aquaculture 200, 161-180.
- Canino, M.F. & Bailey, K.M., 1995. Gut evacuation of walleye pollock larvae in response to feeding conditions. J. Fish. Biol. 46(3), 389-403.
- Cara, J.B., Moyano, F.J., Cárdenas, S., Fernández-Díaz, C., Yufera, M., 2003. Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. J. Fish. Biol. 63, 48-58.

- Chakrabarti, I., Gani, M.A., Chaki, K.K., Sur, R., Misra, K.K., 1995. Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A, Physiology* 112, 167–177.
- Clark, M.S., Edwards, Y.J., Peterson, D., Clifton, S.W., Thompson, A.J., Sasaki, M., Suzuki, Y., Kikuchi, K., Watabe, S., Kawakami, K., Sugano, S., Elgar, G., and Johnson, S.L. 2003. Fugu ESTs: new resources for transcription analysis and genome annotation. *Genome Res.* 12: 2747-2753.
- Dabrowski, K., 1982. Proteolytic enzyme activity decline in starving fish alevins and larvae. *Env. Biol. Fish.* 7, 73-76.
- Dabrowski, K., 1984. The feeding of fish larvae: “present state of the art” and perspectives. *Reprod. Nutr. Dev.*, 24: 807-833.
- Dahl, J., Pettersson, E., Dannewitz, J., Jarvi, T., Lof, A.C., 2006. No difference in survival, growth and morphology between offspring of wild-born, hatchery and hybrid brown trout *Salmo trutta*. *Ecology of Freshwater Fisheries* 15, 388-397.
- Darias M. J., Zambonino, J. L., Hugot K, Cahu, C., Mazurais, D. 2008. Gene expression patterns during the larval development of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) by microarray analysis. *Marine Biotechnology*, 10(4), 416-428.
- Das, K.M. & Tripathi, S.D. 1991. Studies on the digestive enzymes of grass carp *Ctenopharyngodon idella* (VAL). *Aquaculture* 92, 21-32.
- Del Río, V., Rosas, J., Velásquez, A., Cabrera, T., 2005. Desarrollo embrionario-larval y tiempo de metamorfosis del pez tropical *Xenomelaniris brasiliensis* (Pisces: Atherinidae). *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.)* 53(4), 503-513.
- Falk-Petersen, I.B., 2005. Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 19: 397-412.
- García-Gasca, A., Galaviz, M.A., Gutiérrez, J.N., García-Ortega, A., 2006. Development of the digestive tract, trypsin activity and gene expression in eggs and larvae of the bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*. *Aquaculture* 251, 366-376.
- Gisbert, E., Piedrahita, R.H., Conklin, D.E., 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquaculture* 23, 455-470.
- Gisbert, E., Ortiz-Delgado, J.B., Sarasquete, C., 2008. Nutritional cellular biomarkers in early life stages of fish. *Histol. Histopathol.* 23, 1525-1539.
- Gorodilov, Y.N., 1996. Description of the early ontogeny of the Atlantic salmon, *Salmo salar*, with a novel system of interval (state) identification. *Environmental Biology of fishes* 47(2), 109-127. DOI: 10.1007/BF00005034.
- Govoni, J.J., 1980. Morphological, histological, and functional aspects of alimentary canal and associated organ development in larval *Leiosromus xanthurus*. *Rev. Can. Biol.* 39, 69-80.

- Govoni, J.J., Boehlert, G.W., Watanabe, Y., 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes* 16, 59-77.
- Guerreiro, I., de Vareilles, M., Pousão-Ferreira, P., Vera-Rodrigues, M.T.D., Ribeiro, L., 2010. Effect of age at weaning on digestive capacity of white seabream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture* 300, 194-205.
- Guan, H-h, Xu, Q-y, Zhi., B-j., Kuang, Y-y. Xu, W. & Yin, J-s. 2010. The post-embryonic development of digestive system and the demand of energy of Hucho taimen. *Agr. Sci. China* 9(2), 286-293.
- Guo-Liang, R., Yang, L., Ze-Xia, G., Huan-Ling, W., Wei-Min., 2010. Molecular characterization of trypsinogens and development of *trypsinogen* gene expression and tryptic activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and top mouth culter (*Culter alburnus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 155(1), 77-85.
- Falk-Petersen, I.B., 2005. Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. *Fish & Shellfish Immunology* 19, 397-412.
- Hagen-Larsen, H., Laerdahl, J.K., Panitz, F., Adzhubei, A., and Høyheim, B. 2005. An ESTbased approach for identifying genes expressed in the intestine and gills of pre-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Genomics*, 6: 171.
- He, T., Xiao Z., Liu, Q., Ma, D., Xu, S., Xiao, Y., Li, J., 2011. Ontogeny of the digestive tract and enzymes in rock bream *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel 1844) larvae. *Fish Physiol. Biochem* DOI 10.1007/s10695-011-9507-y.
- Hellberg, H. & Bjerkås, I. 2005. Intestinal epithelium in *Anarhichas lupus* L, with emphasis on cell renewal. *Journal of Fish Biology* 66, 1342-1356.
- Hoehne-Reitan, K. & Kjoersvik, E. 2004. Functional development of the liver and exocrine pancreas in teleost fish. *American Fisheries Society Symposium* 40, 47-83.
- Hofer, R., Via, D., Troppmair, J., Giussani, G., 1982. Differences in digestive enzymes between cyprinid and non-cyprinid fish, in: Marco De Marchi (Ed.). *Mem.Ist. Ital. Idrobiol.*, pp. 201-208.
- Hofer, R. & Nassin-Uddin, A. 1985. Digestive processes during the development of the roach (*Rutilus rutilus* L.). *J. Fish. Biol.* 26, 53-59.
- Hofer, R., 1991. *Cyprinid fishes, systematic, biology and exploitation*. Chapman and Hall, Fish and fisheries, pp. 413-421.
- Holcík, J., 1986. *The freshwater fishes of Europe*. AULA-Verlag, Wiesbaden. 1(1), pp.313.
- Horn, M. H., Gawlicka, A. K., German, D. P., 2006. Structure and function of the stomachless digestive system in three related species of New World silverside fishes (Atherinopsidae) representing herbivory, omnivory and carnivory. *Marine Biology* 149, 1237-1245.
- Houde, E., 1974. Effects of temperature and delayed feeding on growth and survival of larvae of three species of subtropical marine fishes. *Mar. Biol.* 26, 271-285.
- Jonas, E., Ragyansszk, M., Olah, J., Boross, L., 1983. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio*) fishes. *Aquaculture* 30, 145-154.

- Ju, Z., Karsi, A., Kocabas, A., Patterson, A., Li, P., Cao, D., Dunham, R., and Liu, Z. 2000. Transcriptome analysis of channel catfish (*Ictalurus punctatus*): genes and expression profile from the brain. *Gene*, 261(2): 373-382.
- Kamisaka, Y., Kurokawa, T., Suzuki, T., Tagawa, T., Tanaka, M., Totland, G.K., Rønnestad, I., 2001. Ontogeny of cholecystokinin producing cells in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 123, 31-37.
- Kamisaka, Y., Kaji, T.S., Masuma, N., Tezuka, T., Kurokawa, T., Suzuki, T., Totland, G.K., Rønnestad, I., Tagawa M., Tanaka, M., 2002. Ontogeny of cholecystokinin immunoreactive cells in the digestive tract of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, larvae. *Sarsia* 87, 258-262.
- Kamisaka, Y., Yamamoto, S., Kurokawa, T., Rønnestad, I., Totland, G.K., Tagawa, M., Tanaka, M., 2003. Distribution of cholecystokinin immunoreactive cells in the digestive tract of the larvae teleost ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 134(2), 116-121.
- Kawai, S. & Ikeda, S., 1973. Studies on digestive enzymes of fishes. III. Development of the digestive enzymes of the rainbow trout after hatching and the effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in the juvenile stage. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 39, 819-823.
- Kjørsvik, E., Pittman, K., Pavlov, D., 2004. From Fertilization to the End of Metamorphosis-Functional Development, in: E. Moksness, E. Kjørsvik and Y. Olsen (Eds.), *Culture of cold-water marine fish*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, pp. 204-278.
- Kolkovski, S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200: 181-201, 2001.
- Kortner, T.M., Overrein, I., Øie, G., Kjørsvik, E. and A. Arukwe. 2010. The influence of dietary constituents on the molecular ontogeny of digestive capability and effects on growth and appetite in Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*). *Aquaculture* ,315:114-120.
- Kurokawa, T., Suzuki, T., Andoh, T., 2000. Development of cholecystokinin and pancreatic polypeptide endocrine systems during the larval stage of japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 120, 8-16.
- Lazo, J.P., Dinis, M.T., Holt, G.J., Faulk, C., Arnold, R.A. 2000. Co-feeding microparticulate diets with algae: toward eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 188, 339-351.
- Liu, Z. Y., Wang, Z., Zhang, J., 2008. An acidic protease from the grass carp intestine *Ctenopharyngodon idellus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 149 (B), 83-90.
- López-Ramírez, G., Cuenca-Soria, C. A., Álvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Ortiz-Galindo J. L., Perales-García, N., Márquez-Couturier, G., Arias-Rodríguez, L., Indy, J.R., Contreras-Sánchez, W.M., Gisbert, E., Moyano, F.J., 2011. Development of digestive enzymes in larvae of Mayan cichlid *Cichlasoma urophthalmus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 37(1), 197-208.

- Ma, H., Cahu, C., Zambonino, J., Yu, H., Duan, Q., Le Gall, M.M., Mai, K., 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture* 245(1-4), 239-248.
- Mark, W., Hofer, R., Wieser, W., 1987. Diet spectra and resource partitioning in the larvae and juveniles of three species and six cohorts of cyprinids from a subalpine lake. *Oecologia* 71, 388-396.
- Micale, V., Garaffo, M., Genovese, L., Spedicato, M.T., Muglia U., 2006. The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common Pandora *Pagellus erythrinus* L. *Aquaculture* 251, 354-365.
- Mitra, G., Mukhopadhyay, P.K., Ayyappan, S., 2008. Modulation of digestive enzyme activities during ontogeny of *Labeo rohita* larvae fed ascorbic acid enriched zooplankton. *Comparative Biochemistry and Physiology* 149(A), 341-350.
- Moyano, F.J., Diaz, M., Alarcón, F.J., Sarasquete, M.C., 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiol. Biochem.* 15, 121-130.
- Ortiz-Delgado, J. B., Ruane, N. M., Pousão-Ferreira, P., Dinis, M. T., Sarasquete, C., 2006. Thyroid gland development in Senegales sole, *Solea senegalensis* (Kaup 1858) during early life stages: a histochemical and immunohistochemical approach. *Aquaculture* 260, 536-561.
- Pardo, B.G., Fernández, C., Millán, A., Bouza, C., Vázquez-López, A., Vera, M., AlvarezDios, J.A., Calaza, M., Gómez-Tato, A., Vázquez, M., Cabaleiro, S., Magariños, B., Lemos, M.L., Leiro, J.M., and Martínez, P. 2008. Expressed sequence tags (ESTs) from immune tissues of turbot (*Scophthalmus maximus*) challenged with pathogens. *BMC Vet. Res.* 4: 37.
- Pavlov, D.A., 1993. Fertilization in wolffish, *Anarhichas lupus*: external or internal?. *Voprosy Ikhtiologii* 33(5), 664-670.
- Pavlov, D.A., 1994a. Maturation and artificial fertilization of the eggs of captive common wolffish *Anarhichas lupus* L. from the White Sea. *Aquaculture Research* 25:891-902
- Pavlov, D.A. & Moksness, E. 1994. Reproductive biology, early ontogeny, and effect of temperature on development in wolffish: comparison with salmon. *Aquaculture International* 2, 133-153.
- Pradhan, P. K.; Jena, J. K.; Mitra, G.; Sood, N.; Gisbert, E., 2012: Ontogeny of the digestive tract in butter catfish *Ompok bimaculatus* (Bloch) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* DOI: 10.1007/s10695-012-9655-8.
- Ribeiro, L., Sarasquete, C., Dinis, M.T., 1999a. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup 1858) larvae. *Aquaculture* 171, 293-308.
- Ribeiro, L., Zambonino-Infante, J.L., Cahu, C., Dinis, M.T., 1999b. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture* 179, 465-473.
- Rojas-García, C.R., Rønnestad, I., 2002. Cholecystokinin and tryptic activity in the gut of developing Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): evidence for participation in the regulation of protein digestion. *J. Fish Biol.* 61, 973-986.

- Rosenlund, G., Stoss, J., Talbot, C., 1997. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diet. *Aquaculture* 155, 183-191.
- Ross, L.G., Martínez-Palacios, C.A, Aguilar Valdez, Ma. del C., Beveridge, M.C.M. and Chávez Sánchez, Ma. C. 2006. Determination of feeding mode in fish: the importance of using structural and functional feeding studies in conjunction with gut analysis in a selective zooplanktivore *Chirostoma estor estor* Jordan 1880. *Journal of Fish Biology*. 68: 1782-1794.
- Rungruangsak-Torrissen, K., Moss, R., Andresen, L. H., Berg, A., Waagbø R., 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 32, 7-23.
- Rust, M. B. Nutritional physiology. In: Halver, J. E. & Hardy, R. W. (Eds.). *Fish Nutrition*, 3rd. Ed., pp. 367-452.
- Santamaría, C.A., Marín-de Mateo, M., Traveset, R., Sala, R., Grau, A., Pastor, E., Sarasquete, C., Crespo, S., 2004. Larval organogenesis in common dentex, *Dentex dentex* L. (Sparidae): histological and histochemical aspects. *Aquaculture* 237, 207-228.
- Sarasquete, M.C., Polo, A., Yufera, M., 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture* (130), 79-92.
- Sarieyyüpoğlu, M., Girgin, A., Köprücü, S., 2000. Histological study in the digestive tract on larval development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Ealbaum, 1972). *Turk. J. Zool.* 24, 199-205.
- Segner, H., Storch, V., Reinecke, M., Kloas, W., Hanke, W., 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot *Scophthalmus maximus*. *Mar. Biol.* 119, 471-486.
- Sorgeloos, P., 1980. The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture, in: Persoone, G., Sorgeloos, P., Ž. Roels, O., Jaspers, E. (Eds.). *The brine shrimp Artemia. Ecology, culturing and use in aquaculture*, vol. 3. Universal Press, Wetteren, pp. 25-46.
- Stroband, H.W.J. & Dabrowski, K.R. 1979. Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in freshwater fish larvae, in: M. Fontaine (ed.) *La Nutrition des Poissons*, CNERNA, Paris, pp. 355-376.
- Stroband, H.W.J., Meer, H.V.D., Timmermans, L.P.M., 1979. Regional functional differentiation in the gut of the grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Histochemistry* 64, 235-249.
- Tanaka, M., 1969a. Studies on the structure and function of the digestive system of teleost larvae development of the digestive system during prelarval stage. *Jap. J. Ichthyol.* 16, 1-9.
- Toledo-Cuevas, E. M., Moyano López, F. J., Tovar-Ramírez, D., Strüssmann, C. A., Álvarez-González, C. A., Martínez-Chávez, C. C. and Martínez-Palacios, C. A. 2011. Development of digestive biochemistry in the initial stages of three cultured Atherinopsids. *Aquaculture Research*, 42: 776-786.
- Yan, L. & Qiu-Zhou, X. 2006. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture* 256, 389-394.
- Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S., 1983. Nutritional value of live organism used in Japan for mass propagation for fish: A review. *Aquaculture* 34, 115-143.

- Watanabe, Y., 1984a. An ultrastructural study of intracellular digestion of horseradish peroxidase by the rectal epithelium cells in larvae of a freshwater cottid fish *Cortus nozawae*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 50, 409-416.
- Wu, T.T. & Zhu, X.M. 1994. Study on the activity of digestive enzymes in mandarin fish, black carp, grass carp, common carp, crucian carp and silver carp. J. Fish. Sci. China (in Chinese) 12, 10-17.
- Zambonino-Infante, J.L. & Cahu, C.L. 1994. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiol. Biochem. 12, 399-408.
- Zambonino-Infante, J.L., Cahu, C.L. Peres, A., Quazuguel, P., Le Gall, M.M., 1996. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed different *Artemia* rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive functions. Aquaculture 139: 129-138.
- Zambonino-Infante, J. L. & Cahu, C.L. 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 130(4), 477-487.
- Zambonino J. L. & Cahu C. 2007. Dietary modulation of some digestive enzymes and Metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. *Aquaculture*, 268(1-4), 98-105
- Zambonino-Infante, J., Gisbert, E., Sarasquete, C., Navarro, I., Gutiérrez, J., Cahu, C. L., 2008. Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae, in: Cyrino, J.E.O., Bureau, D., Kapoor C. (Eds.), Feeding and Digestive Functions of Fish. B.G. Science Publishers, Inc, Enfield, pp. 277-344.
- Zeng, S. & Gong, Z.Y. 2002. Expressed sequence tag analysis of expression profiles of zebrafish testis and ovary. Gene, 294(1-2): 45-53.