BIBLIOTECA

I.P.N.

DONATIVO

SECRETARIA

DE

EDUCACION PUBLICA

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

PRIMERAS FASES DE VIDA DE LA SARDINA CRINUDA
Opisthonema libertate (Günther) (CLUPEIDAE).

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD
EN CIENCIAS MARINAS
PRESENTA

ELOISA MATUS NIVON

La Paz, B. C. S., Agosto 1994.

INDICE:	PAG .
RESUMEN -----	1
ABSTRACT -----	3
1. INTRODUCCION -----	6
2. ANTECEDENTES -----	6
2.1. Justificación -----	12
3. OBJETIVO -----	13
4. MATERIALES Y METODO -----	13
4.1. Obtención del material biológico -----	13
4.2. Selección de los huevos -----	14
4.3. Condiciones de cultivo -----	16
4.4. Alimentación -----	17
4.6. Obtencion de datos -----	18
5. RESULTADOS -----	28
5.1. El h_uevo -----	28
5.2. El eleuteroembrión -----	29
6.3. Morfometria -----	29
5.4. Cuentas merísticas -----	32
6.6. Desarrollo osteológico -----	36
5.5.1. Desarrollo de las aletas -----	36
6.6.1.1. Aleta embrionaria -----	36
5.5.1.2. Aletas pectorales -----	36
6.6.1.3. Aleta dorsal -----	36
5.5.1.4. Aleta caudal -----	36
5.5.1.5. Aleta anal -----	37
5.5.1.6. Aletas pélvicas -----	37
5.5.2. Esqueleto axial -----	38

6.6.3.	Desarrollo cefálico-----	38
6.6.4.	Aparato branquial -----	40
5.5.5	Placa hipúrica -----	42
5.6.	Pigmentación -----	46
6.7	Patrón de nado -----	62
5.7.1.	Eleuteroembrión -----	62
6.7.2.	Larvas en preflexión y flexión -----	62
6.7.3.	Larvas en postflexión -----	63
6.7.4.	Larvas en transformación -----	63
6.	ANALISIS -----	64
6.1.	Identificación -----	64
6.2.	Morfometría -----	67
6.3.	Cuentas merísticas -----	61
6.4.	Desarrollo osteológico -----	64
6.4.1.	Desarrollo cefálico -----	64
6.4.2.	Placa hipúrica -----	68
6.5	Pigmentación -----	69
6.6.	Patrón de nado -----	72
6.7.	Diferenciación con respecto a especies afines ---	73
7.	CONCLUSIONES -----	76
8.	SUGERENCIAS A PARA TRABAJO FUTURO -----	76
9.	BIBLIOGRAFIA -----	77
10	ANEXOS (CUADROS, GRAFICAS E ILUSTRACIONES)-----	89

GLOSARIO:

Aleta embrionaria.-es una membrana delicada y transparente de integumento, que se presenta desde la fase coriónica del periodo embrionario y sobre la cual se desarrollan los radios de las aletas medias (dorsal, caudal y anal).

Alimentación exógena.-la ingestión de alimento de la larva, haciendo uso de sus habilidades para capturarlo, después que se han agotado las reservas vitelinas.

Autólisis.-disolución o degradación del tejido de los organismos por la acción enzimática del propio organismo.

Basíbranquiales.-elementos medios del esqueleto branquial, sobre los cuales se articulan los arcos branquiales.

Basihial.-cartílago medio que forma la base de la "lengua", por lo que se le llama también cartílago lingual.

Cariológico (análisis).-estudio tendiente a conocer el número, tamaño y forma de los cromosomas de una especie.

Ceratobranquiales.-los huesos más largos de los arcos branquiales que se encuentran entre el epibranquial y el hipobranquial.

Crecimiento alométrico. -crecimiento desproporcional de alguna parte del cuerpo con respecto a otra. Puede ser positivo, negativo o no presentarse. Mide el cambio de la forma de un organismo o especie durante su desarrollo.

Eclosión. -la liberación del embrión al momento de salir del corion del huevo.

Ectopterigoides. -huesos localizados en la parte posterior del arco palatino en el paladar de los peces teleosteos.

Electroforético. -proceso electroquímico en el cual partículas coloidales o macromoléculas con una carga eléctrica neta migra en una solución bajo la influencia de una corriente eléctrica.

Eleuteroembrión. -etapa de embrión libre, cuando se ha liberado de su pared coriónica, pero que aún se nutre de sus reservas vitelinas.

Embrión coriónico. -toda la etapa embrionaria durante la cual el embrión está protegido por un corion; esto es desde que el óvulo es fecundado hasta que eclosiona y libera al embrión de la pared corionica.

Encogimiento antemortem. -reducción de la talla que se

registra en larvas moribundas, en el momento en que se están volviendo opacas instantes antes de morir.

Endocondral (osificación).-osificación que se desarrolla en la parte interna de la pieza cartilaginosa, una vez que se ha atrofiado el cartilago.

Endopterigoides.-huesos localizados en la parte media del arco palatino.

Fijador.-substancia o mezcla de sustancias químicas usadas para tratar organismos tanto para su preservación como para retener una similitud razonable de su apariencia de cuando estaban vivos.

Hipertrofia.-crecimiento de las células cartilagosas (condrocitos) con secreción de fosfatasa alcalina.

Hipurales.-piezas esqueléticas expandidas que se encuentran soportadas o fusionadas a las últimas vértebras que soportan a la aleta caudal.

Inóculo.-pequeña cantidad del cultivo de rotíferos que se ofreció como primer alimento a las larvas.

Melanóforos.-tipo especial de cromatóforo (célula de

pigmento), cuyo citoplasma es rico en melanina y puede dilatarse o contraerse por acción nerviosa u hormonal.

Merística.-pertenece al número de estructuras contables en relación a las partes de un organismo.

Mesénquima.-células del mesodermo de la que se derivan muchos tejidos como cartílago, hueso, las paredes de los vasos sanguíneos, etc.

Migración de pigmentos.-término comúnmente empleado para referirse al corrimiento de los melanóforos de algunos embriones de clupeidos que pasan de la región dorsal a la ventral.

Miómeros.-series de haces musculares alineados a lo largo del cuerpo y separados unos de otros por septos de tejido conectivo (mioseptos).

Morfometría.-serie de mediciones de las diferentes partes del cuerpo que en su conjunto describen la forma de un organismo para cualquier estadio de desarrollo o de su ciclo de vida.

Nauplio.-primer estadio larval de muchos grupos de crustáceos, como por ejemplo la Artemia salina.

Notocordio. -barra larga de células mesodérmicas dispuesta en sentido longitudinal en el embrión a manera de eje del cuerpo, alrededor de la cual se forman las vértebras.

Oscuro lunar .-las noches de los dos o tres días antes o después de la luna nueva.

Osmorregulación.-mecanismo fisiológico para mantener un nivel óptimo y constante de la actividad osmótica de un fluido dentro y alrededor de las células.

Osteológico (desarrollo).-cambios y formación de las estructuras esqueléticas a lo largo del desarrollo.

Palatinos.-huesos localizados en la parte anterior del arco palatino.

Pericondral (osificación).-osificación de la capa superficial (pericondrio) de la pieza cartilaginosa.

Período crítico.-etapa del desarrollo caracterizado por un incremento en la mortalidad, normalmente asociado al momento en que se cambia de alimentación endógena a alimentación exógena y al tiempo del que disponen las larvas para capturar su alimento antes de morir por inanición.

Pilórica (región).-constricción que se presenta en el aparato digestivo de las larvas y que representa la separación entre la parte esofágica y la Intestinal.

Saco vitelino.-extensión ventral en forma de bolsa que se ubica en la región que dará origen al intestino; en la que se almacena el vitelo durante las etapas de embrión y eleuteroembrión.

Trabecular (hueso).-hueso de consistencia Irregular con estructura porosa y células óseas dispuestas en haces.

Vitelo.-reserva alimenticia que le permite al embrión y eleuteroembrión sobrevivir durante el periodo de alimentación endógena.

RELACION DE CUADROS, GRAFICAS E ILUSTRACIONES.

CUADRO 1.-Morfometría de los huevos de O. libertate para cada estadio de desarrollo.

CUADRO 2.-Morfometría de las larvas con saco vitelino (2.29-4.68 mm LN)

CUADRO 3.-Morfometría de las larvas postabsorción del saco vitelino (3.70-22.63 mm LP)

CUADRO 4.-Ajuste a un modelo potencial para crecimiento alométrico en cada fase de desarrollo en larvas de Opisthonera libertate.

CUADRO 5.-Frecuencia y promedio del número de miembros totales en larvas de O. libertate.

CUADRO 6.-Distribución de miembros en relación a las aletas dorsal y anal en larvas de O. libertate.

CUADRO 7.-Distribución de vértebras en relación a otras partes del cuerpo en larvas transparentadas de O. libertate.

CUADRO 8.-Distribución de vértebras en relación a otras partes del cuerpo en Juveniles transparentados de campo de Opisthonera spp.

CUADRO 9.-Caracteres merísticos de larvas de Opisthonema libertate.

CUADRO 10.-Resumen de la secuencia del desarrollo de las aletas.

CUADRO 11.-Longitud mínima en que se observó el proceso de osificación de los hipurales 1 al 3 en organismos transparentados.

C U A D R O 12.-Desarrollo osteológico de la aleta caudal en larvas transparentadas.

C U A D R O 13.-Diámetro del corion, diámetro del vitelo y diámetro del glóbulo de aceite para tres especies del género *Opisthonera*.

C U A D R O 14.-Distribución de miómeros en relación a las partes del cuerpo para tres especies del género *Opisthonera*.

GRAFICAS 1A-F.-Relaciones morfométricas de la longitud patrón con diferentes partes del cuerpo en larvas postabsorción del saco vitelino.

GRAFICAS 2A-B.-Relaciones morfométricas de la longitud cefálica contra la longitud del hocico y el diámetro ocular en larvas postabsorción del saco vitelino.

GRAFICA 3.-Todas las relaciones morfométricas referidas a la longitud patrón en larvas postabsorción del saco vitelino.

GRAFICA 4.-Relaciones morfométricos referidos a la longitud cefálica en larvas postabsorción del saco vitelino.

FIGURA 1.-Localización del complejo lagunar Bahía Magdalena, Baja California Sur, México.

FIGURA 2A-C.-Mediciones practicadas en el huevo y la larva de *Opisthonera libertate*.

FIGURA 3A-C.-Huevo y eleuteroembrión de *O. libertate*. A: DC=1.65 mm; B: LN=2.47 mm y C: LN=4.17 mm.

FIGURA 1A-E.-Larvas de *O. libertate*. A: Preflexión LN=5.07 mm; B: Inicio de la flexión del notocordio LP=8.68 mm; C: Flexión concluida LP=12.09 mm; D y E: Transformación

LP=19,15 y 22.63 mm respectivamente.

FIGURAS 5A, 5B y 5C.-Incorporación de piezas esqueléticas en la aleta caudal: A: LN= 7.19 mm; B: LP=9.17 mm y C: LP=20.98 mm.

FIGURAS GA-C.-Aparato mandibular de una larva en el "síndrome de boca abierta", A: en vista lateral, B: vista dorsal y C: en vista ventral al terminar esa etapa.

FIGURAS 7A-D.-Osificación endocondral de los hipurales 1 y 2 en larvas de laboratorio.

FIGURAS 8A y B: Osificación endocondral en juveniles de campo de Opisthonema, y C: hocico de una larva de laboratorio durante el síndrome de "boca abierta".

PRIMERAS FASES DE VIDA DE LA SARDINA CRINUDA

Opisthonema libertate (Günther) (Clupeidae)

RESUMEN:

Se recolectaron huevos del clupeido Opisthonema libertate en Bahía Magdalena, Baja California Sur, durante la época de reproducción en julio y agosto de 1986, y las larvas fueron desarrolladas en laboratorio. La talla máxima alcanzada fué de 22.74 mm (LP) a los 30 días de edad y correspondió a un ejemplar en fase de transformación. Se hicieron también observaciones en una larva *de campo* (13.17 mm LP) y siete Juveniles (24.79 a 63.6 mm) de varias localidades del Pacífico Noroccidental de México. Se estudiaron los caracteres morfométricos, las cuentas merísticas, de pigmentación y de desarrollo osteológico, y se describen algunos aspectos del comportamiento natatorio del eleuteroembrión y las larvas.

Los ejemplares se clasificaron en seis fases de desarrollo: Huevo o embrión, eleuteroembrión, y larvas en fase de Preflexión, Flexión, Postflexión y Transformación. La morfometría de las larvas de las últimas cuatro fases permitió conocer el crecimiento alométrico a partir del inicio de la alimentación exógena.

El patrón de pigmentación cambió sustancialmente durante el desarrollo y con el tiempo de almacenamiento fué

afectado por la acción del fijador. También la morfometría puede afectarse por el encogimiento provocado por el fijador, especialmente durante las primeras fases cuando la osificación es incipiente y en organismos fijados ya después de muertos. Las cuentas merlsticas también difieren entre organismos fijados antes y después de morir porque el encogimiento no es simétrico para todo el cuerpo de la larva. El desarrollo osteológico es un proceso mucho más estable que los anteriores y parece *ser* distintivo de cada especie. En cuanto al comportamiento, si bién no es un caracter que nos permita identificar a las larvas, sí existe en la literatura forma de compararlas con otros clupeidos.

Los hipurales 1-3 mostraron dos etapas de osificación; la primera, una osificación pericondral, que culmina después de que ha iniciado la segunda etapa u osificación endocondral. Los tipos de huesos que se desarrollan en cada caso son distintos, ya que la osificación endocondral termina con la formación de hueso trabecular. Por las características de osificación en relación a talla en que aparecen en cada hipural, este fenómeno puede considerarse de valor taxonómico, ya que parece ser un caracter generalizado entre los Clupeidos y Engráulldos.

Alrededor de los 21 mm LP, se presentó una asincronía en el crecimiento de los huesos mandibulares, que no permitía a las larvas cerrar la boca durante dos o tres días. Esto a

su vez modificó también el patrón de nado, de alimentación y de respuesta de huida a estímulos externos, por lo que se plantea la hipótesis de la existencia de un segundo periodo crítico en estas tallas.

El patrón del desarrollo osteológico resultó ser la mejor herramienta para caracterizar larvas de 10 mm LP o mayores, especialmente por lo que se refiere al desarrollo de la placa hipúrica y la presencia de dientes efímeros en los basibranquiales, endopterigoides, ectopterigoides, basihiales y palatinos.

ABSTRACT :

Eggs of the clupeid fish Opisthonema libertate were collected in Bahía Magdalena, B.C.S. during the spawning peak of July and August 1986. These eggs were raised in Laboratory. The maximum size attained by the larvae was 22.74 mm SL at an age of 30 days (one transformed stage individual). The study material also included seven juveniles (24.79 to 66.6 mm SL) and a field larva (13.17 mm) from various localities.

Morphometric, meristic, pigmentation and osteological development characteristics were studied and some behavioural aspects of the eleuteroembryo and larvae were described.

Six development stages were selected: Egg or embryo, eleuteroembryo, preflexion, flexion, postflexion, and

transformation. In the last four stages (start of exogenous feeding), allometric growth was measured.

Two distinct ossification phases were observed in hypurals 1-3: a pericondral process lasting up to the second phase, the endochondral ossification. Different bone types develop in each case, since endochondral ossification produced trabecular bone. The appearance of these hypural characteristics, according to individual size, might be of taxonomic value, although it seems to be generalized among clupeids and engraulids.

At about 21 mm SL, a growth asynchrony occurred in the mandibular bones of the larvae, which were unable to shut their mouths for 2-3 days. The phenomenon also affected the swimming pattern, feeding, and reaction to external stimuli. This suggests a second critical period at this size. After these few days, the larvae were again able to shut their mouths and assume their previous behaviour.

On larvae of 10 mm SL or bigger, the ossification pattern was the best tool for their identification, especially for the hypuric plate development and ephemeral teeth on basibranchials, endopterygoids, ectopterygoids, basihyals and palatines.

1. INTRODUCCION:

En el Pacífico mexicano se reportan 14 géneros del suborden Clupeoidei con 33 especies (Whitehead, 1985; Whitehead *et al.* 1988), 17 de las cuales se distribuyen en las costas de Baja California Sur.

A partir de 1982 y hasta 1987 la Secretaría de Pesca reporta capturas promedio del orden de las 403000 toneladas anuales a nivel nacional, por ello ha llegado a ser el recurso pesquero más importante del país. A nivel de entidad federativa Baja California Sur ha ocupado tradicionalmente el tercer lugar en la producción y en 1987 contribuyó con 20147 toneladas; de estas, 11.1 % fue de sardina crinuda (Huato-Soberanis, com. pers.).

Sardinops caeraleas, Opisthonema libertate, O. mediterrastre, O bulleri, y Etrumeus teres forman parte de las capturas comerciales de sardina en Bahía Magdalena, Baja California Sur (B.C.S.), México.

Casas-Valdéz (1983) encontró que durante el período de 1972 a 1981 se obtuvieron 150000 toneladas de sardinas con un 19.27% de su composición constituida por sardina crinuda en Bahía Magdalena B.C.S.

Las sardinas monterrey y crinuda que ocupan el primer y segundo lugar respectivamente en la captura comercial de estas especies, presentan variaciones temporales asociadas a la temperatura superficial del agua. Dichas fluctuaciones

son opuestas, ya que cuando la temperatura es baja se eleva la captura de sardina monterrey y cuando sube se eleva la de crlnuda (Casas-Valdez, 1983).

La distribución y abundancia de peces pelágicos menores que forman cardúmen como los géneros Opisthonema, Sardinops, Engraulis mordax, Scomber japonicus etc., hace su captura muy eficiente, pero tiene grandes fluctuaciones anuales. Esto ha provocado el colapso de las poblaciones de varias de ellas. Por lo que en 1949 se empezó a buscar la forma de evaluación y regulación de las mismas, comenzando los estudios sobre huevos y larvas capturadas en cruceros oceanográficos, y actualmente se reconoce la importancia de la vulnerabilidad de los primeros estadios de desarrollo y su impacto en las variaciones del reclutamiento anual, por lo que se están usando en la evaluación de la biomasa reproductora y reclutamiento (Smith, 1984). Los trabajos de laboratorio iniciaron a mediados de los años 60 y fueron de vital importancia para la interpretación de los resultados de los trabajos de campo.

2. ANTECEDENTES:

El género Opisthonema Gill, se compone de cinco especies y una subespecie (Whitehead, 1985), éstas son: O. berlanaai Berry y Barret 1963, que es endémica de las Islas Galápagos en el Pacífico Oriental y tres especies más O.

libertate (Günther, 1867), O. bulleri (Regan, 1904) y O. medirastre Berry y Barret 1963, que comparten una amplia área de distribución entre Bahía Magdalena, B.C.S., México (incluyendo el Golfo de California) hasta Perú, la distribución se amplía más al norte hasta California para O. libertate y O. medirastre. O. oglinum (LeSueur, 1818), cuya distribución es el Atlántico oeste, desde el Golfo de Maine en Estados Unidos hasta Brasil; finalmente se considera a O. captivai Rivas (1972), como una subespecie de O. oglinum (Whitehead, 1986).

Como ya se indicó anteriormente, la sardina es en volúmen el recurso pesquero más importante de México, en 1986 contribuyó con el 34.8% de la producción pesquera nacional. La mayoría de los estudios que se han realizado hasta ahora se han referido finicamente a la sardina monterrey S. caeruleus, posiblemente porque es la más abundante y porque su distribución abarca la costa de California de Estados Unidos de Norteamérica, donde se han generado la mayor parte de los trabajos publicados hasta ahora.

Berry y Barrett (1963) reconocen en su trabajo clásico sobre la taxonomía del género Opisthonema (Gill), la existencia de tres especies en el Pacífico mexicano, que pueden diferenciarse relacionando el número de branquias en el ceratobranquial del primer arco branquial con la longitud patrón, así como el área geográfica de captura.

Estos autores ofrecen además, una serie de cuadros y gráficas de longitud patrón contra número de branquiopinas ceratobranquiales en las que se ha delimitado el área de la gráfica correspondiente a cada especie para diferentes zonas que van desde el noroeste de México hasta Perú. Sin embargo, los resultados referentes a la identificación, no siempre son satisfactorios, como se ha hecho notar en diversos trabajos, ya que pueden arrojar resultados diferentes si se usan las claves numéricas o los perfiles gráficos (Rodríguez-Sánchez, 1989) ya que no es posible identificar del 14.49 al 22.15 % en el primer y segundo caso respectivamente.

Rodríguez-Domínguez (1987), encontró diferencias entre los diagramas de dispersión de longitud patrón contra número de branquias ceratobranquiales en dos áreas cercanas a Mazatlán, Sinaloa, que corresponde a la misma zona geográfica (norte de México) según Berry y Barrett (1963). Los diagramas de este autor coincidieron más con los perfiles gráficos de Berry y Barrett (*op.cit.*) para Perú, Panamá y Costa Rica que con los del norte de México, por lo que él asigna especies en base a las agrupaciones de datos en sus propias gráficas y no a los resultados de estos autores.

Otras opciones para la identificación de estas especies la dan diferentes autores, Rodríguez-Sánchez (1989) propone un método tridimensional que utiliza el diagrama de disper-

sión de la relación entre el número de las branquispinas ceratobranquiales y la longitud del segmento ceratobranquial en función de la longitud patrón. Hedgecock et al. (1988) ofrece un método electroforético combinado con un análisis morfométrico multivariado. Ambos autores confirman la presencia de las tres especies.

Otros autores en cambio, cuestionan la presencia de las tres especies en Bahía Magdalena, B.C.S. México, López-Lemus (1986) atribuye sus diferencias solo a morfotipos de una misma especie; lo anterior lo hace basándose en un estudio electroforético realizado con sólo 20 alelosimas.

Más recientemente, en base a un análisis cariológico y electroforético de las proteínas musculares solubles Lagúnez-Moreno (1989) concluye en la existencia de una sola especie formada por dos razas correspondientes a O. libertate y O. medirrastre; en este análisis no se incluyó a O. bulleri por no haberse presentado en los muestreos realizados por la autora. Cabe señalar que el análisis cariológico arrojó igual número y tipo de cromosomas para ambas especies, pero al parecer es un patrón muy difundido entre todos los peces el de presentar 48 cromosomas, siendo la mayoría de éstos del tipo acrocéntrico. En todos los casos los organismos fueron Identificados usando las claves de Berry y Barrett (1963).

El problema taxonómico de estos peces incluso a nivel

de adultos, resta credibilidad a los trabajos cuando la identificación específica es incierta, y en muchos casos queda la impresión de asignarlos a O. libertate por ser la especie más abundante. Así tenemos que existen estudios sobre desarrollo gonadal, madurez, desove y fecundidad de O. libertate, aunque no se indica la forma en que se identificó a la especie (Páez-Barrera, 1976). En otro caso García-Gómez y Molina (1986) estudiaron la edad y crecimiento en sardina crinuda, y aunque no dicen de que especie se trata, podría ser O. libertate si se consideran la época y localidad de recolecta de acuerdo a los criterios que da Rodríguez-Domínguez (1987) para dicha especie. En otros trabajos (García-Coll, 1978), se ha identificado a la especie para el estudio de la edad y crecimiento; para la maduración gonadal y la biomasa reproductora en Bahía Magdalena, B.C.S. (Torres-Villegas et al., 1985), y la alimentación (Romero-Ibarra, 1988), indicándose en todos los casos que se trata de O. libertate.

Por otra parte, Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera (1985) hacen una primera descripción de las principales características que permiten la identificación del género Opisthonema y las comparan con las larvas de Sardinops sagax recolectadas en la costa occidental de Baja California Sur. Posteriormente Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera (1988) encontraron que las larvas del género Opisthonema presentan

diferencias en sus caracteres entre larvas recolectadas en diferentes localidades. Saldierna-Martínez et al. (1987) describe el huevo de O. libertate y compara sus principales características morfológicas, merísticas y de pigmentación con los de estadios de desarrollo equivalentes a los de Sardinops caerulea (SIC) establecidos por Ahlstrom (1943) y encuentra que las principales diferencias entre ambas especies corresponden al diámetro del corion, al diámetro del glóbulo de aceite y la relación entre estas variables. Matus-Nivón et al. (1989) describen tanto los huevos como las larvas de O. libertate desarrollados en laboratorio.

Hace algunas décadas la identificación de las primeras fases de vida de clupeldos del *Pacífico* mexicano, se había circunscrito a especies de aguas templadas como lo demuestran los trabajos sobre Sardinops caerulea (SIC) (Schofield, 1934; Ahlstrom, 1943; Miller, 1962). Para las especies tropicales y subtropicales, que se encuentran al sur de la corriente de California y Golfo de California, la escasez de información sobre huevos y larvas se pone de manifiesto en los estudios planctonológicos, observándose que la caracterización taxonómica de los clupeidos fue hasta hace poco a nivel de familia (e.g. Juárez y Funes-Rodríguez, 1981; Juárez, 1983), aunque Gil-Hernández (1982) hace un censo larvario de O. libertate en el Golfo de California y ofrece una descripción muy gruesa de las larvas.

2.1. Justificación.

En el complejo lagunar de Bahía Magdalena, B.C.S., se encuentra el complejo taxonómico formado por **O. libertate**, **O. medirraastre** y **O. bulleri**, especies estrechamente emparentadas y cuya caracterización taxonómica como se ha señalado anteriormente ha creado controversias en cuanto a la Identificación de las especies y la validez de las mismas. La identificación de las primeras fases de vida resulta aún más complicada, especialmente cuando se trata de localidades donde coexisten especies emparentadas, como son las zonas tropicales y subtropicales del mundo en las que además existe escasez de información, como es el caso del género **Opisthonema**.

La necesidad de garantizar la identificación de la especie, para aplicar evaluaciones de los recursos icticos por los métodos de producción de huevos y/o censos larvales (Saville, 1979; Stauffer y Plaquele, 1980) y por el método inverso de producción de huevos (Wolf y Smith, 1985); requiere de la identificación específica de las primeras fases de vida de las especies que se evalúan; lo anterior justifica plenamente el desarrollo de este tipo de estudios.

3. OBJETIVO:

Proporcionar una descripción suficientemente detallada del desarrollo de las primeras fases de vida de O. libertate, incluyendo morfometría, cuentas merísticas, pigmentación, así como realizar algunas observaciones del comportamiento y desarrollo osteológico de las larvas desarrolladas en laboratorio, que permita la correcta identificación de esta especie.

4. MATERIALES Y METODO:

4.1. Obtención del material biológico:

Los huevos de O. libertate se recolectaron en el Brea de Bahía Almejas (dentro de Bahía Magdalena) en las inmediaciones de Puerto Cortés, B.C.S. (Fig. 1), los días 12 de Julio y 13 de agosto de 1986 entre las 6:00 y 7:00 horas, mediante arrastres superficiales con una red de plancton cilíndrocónica de 0.7 m de diámetro y luz de malla de 606 micras.

En ambas ocasiones se buscó que las fechas de recolecta fueran cercanas a los "oscuros lunares" del verano, ya que se sabe que en esas fechas se intensifican los desoves en dicha localidad (Torres-Villegas, 1986).

La temperatura superficial del agua en el momento de la recolecta fue de 24°C el 12 de Julio y de 28°C el 13 de agosto y se mantuvo con variaciones $\approx \approx$ 5mlmas durante el

transporte (aproximadamente cuatro horas).

A pesar de que no se conoce con precisión el horario de desove, Torres Villegas et al. (1986) concluyen que se realiza durante la noche. Sin embargo, los muestreos se hicieron al amanecer (de 6:00 a 7:00 horas), ya que por experiencias previas, en esa Brea se observó que antes de esa hora las muestras vienen acompañadas de una gran cantidad de algas y restos vegetales por efecto de la marea, que hacen difícil el reconocimiento de los huevecillos y su manejo en el campo. Por otro lado, a horas tempranas es todavía posible encontrar un gran número de huevecillos que no han sido dispersados por las corrientes, además de traer un menor número de organismos acompañantes.

En el campo se hizo una separación preliminar del material recolectado tamizando las muestras a través de una malla de 1.0 mm; los huevos retenidos por el tamiz fueron transferidos en agua de la localidad y transportados en recipientes térmicamente aislados al laboratorio de Biología Experimental del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional en La Paz, B.C.S.

4.2. Selección de los huevos:

Durante la recolecta y el traslado siempre mueren algunos huevecillos y otros resultan dañados. Esto se detectó, por la observación directa de todos los huevos en

el estereomicroscopio, o bien porque los huevos muertos caen al tondo tomando un color blanco opaco, y los que han sido dañados van perdiendo su flotabilidad gradualmente hasta que mueren.

Debido a estas diferencias tué posible seleccionar sólo los huevos que se consideraron viables, es decir aquellos cuya flotabilidad les permitía permanecer en la capa superficial del agua. Posteriormente, y para facilitar la extracción de los mismos, se eliminó al plancton acompañante, especialmente crustáceos, mediante un "bago" de agua dulce de cinco a diez minutos y se transfirieron nuevamente a agua de mar; este proceso no daña a los huevos pero logra matar o aletargar a los organismos que por su movilidad mantienen en constante movimiento a los huevos, dificultando así su extracción, la cual se realiza con la ayuda de una pipeta Pasteur y un estereomicroscopio. En las dos muestras analizadas, se reconoció la presencia de dos estadios de desarrollo, escogiéndose la generación más joven para este trabajo, ya que por experiencias previas se puede suponer que la generación de huevos de más edad corresponda a un desove anterior.

Con la ayuda de un microscopio estereoscópico, se comprobó que los huevos utilizados se encontraban todos en el estadio VI de desarrollo, asignado de acuerdo al trabajo de Ahlstrom (1943) para Sardinops caerulea y posteriormente,

fueron distribuídos en acuarios con 80 litros de agua de mar a una densidad inicial de cinco huevos por litro.

4.3. Condiciones del cultivo:

La temperatura de desarrollo en el laboratorio fue de 24°C, la salinidad osciló entre 33 ± 3 ‰, y la aireación fué mínima.

No es conveniente manipular mucho los acuarios de crianza durante los primeros días, ya que esto aumenta la mortalidad. Los acuarios se acondicionaron desde un día anterior al muestreo, llenándolos con agua de mar filtrada a través de un tamiz de 36 micras, y con una mínima aireación para evitar turbulencias en las que podrían ser atrapados los organismos, ya que si bien en la etapa corionica están protegidos por el corion, éstos se vuelven muy frágiles a partir de la eclosión. También fué importante tener una buena calidad de agua, por lo que se les adicionaron microalgas (Nannochloropsis sp.) que sirven para oxigenar el agua, ya que el primer recambio se hizo una semana después de introducir los huevecillos. Los recambios de agua posteriores se hicieron cada vez más frecuentes y consistieron en sifonear el fondo de los acuarios para extraer los organismos muertos y la capa de microalgas que se va adhiriendo a las paredes y el fondo hasta extraer una tercera o cuarta parte del volumen total. En las primeras

fases de desarrollo las larvas son muy delicadas y se dejan llevar por las corrientes de agua, por lo que de manera accidental pueden ser extraídas fácilmente. Por ello los recambios se hicieron lentamente con mangueras de 5 mm de diámetro. De las larvas muertas que se fueron recogiendo en cada limpieza, se seleccionaron aquellas que tenían menor grado de degradación y fueron fijadas en formol al 4 % únicamente para observar las diferencias en el patrón de pigmentación.

4.4. Alimentación:

Las microalgas agregadas (Nannochloropsis sp.) sirven también para mantener la calidad nutricional del alimento, que se agregó como parte del acondicionamiento de los acuarios, el cual consistió en un inóculo inicial de 2 rotíferos (Brachionus plicatilis) por mililitro, ya que es necesario que el primer alimento sea vivo (Hunter, 1984), porque las larvas lo detectan por el movimiento. Esto da tiempo a que se establezca una población de rotíferos que las larvas podrán aprovechar al absorber el saco vitelina, es decir aproximadamente 42 horas después de la eclosión, además de la "limpieza" que pueden realizar ya que estos organismos también consumen bacterias. Posteriormente, la determinación de la cantidad de microalgas y rotíferos que había que agregar diariamente se hizo visualmente, pero

cuidando que fuera a saciedad.

Durante los primeros 18 días de vida las larvas dispusieron únicamente de rotíferos como alimento, después de esa edad fueron alimentadas también con nauplios de Artemia salina; mediante este procedimiento, a los 30 días de edad las larvas alcanzaron una longitud patrón máxima de 22.74 mm (longitud en fresco) sin haber alcanzado el periodo juvenil. Aunque dichas larvas se mantuvieron en los acuarios durante 20 días más, no fué posible observar la transformación a juvenil de ningún ejemplar, obsevándose que la longitud patrón tendia a estabilizarse en torno a los 23 mm. Por ello, la descripción únicamente incluye a los ejemplares desarrollados durante los primeros 30 días del experimento.

4.5. Obtención de datos:

La descripción de los huevos se logró a partir de las muestras obtenidas en ambos meses, mientras que la descripción de las larvas se basa sólo en el material obtenido en julio. A partir del momento de la recolecta se hicieron fijaciones en formol al 4% con una periodicidad aproximada de cada dos horas para los huevos y de un día para las larvas. De esta forma se pudo disponer de un total de 8500 huevos procedentes de las muestras de campo de julio y agosto, y de 67 huevos de las fijaciones efectuadas de los acuarios en el laboratorio. Para la fijación, en el caso de

fases de desarrollo las larvas son muy delicadas y se dejan llevar por las corrientes de agua, por lo que de manera accidental pueden ser extraídas fácilmente. Por ello los recambios se hicieron lentamente con mangueras de 5 mm de diámetro. De las larvas muertas que se fueron recogiendo en cada limpieza, se seleccionaron aquellas que tenían menor grado de degradación y fueron fijadas en formol al 4 % únicamente para observar las diferencias en el patrón de pigmentación.

4.4. Alimentación:

Las microalgas agregadas (Nannochloropsis sp.) sirven también para mantener la calidad nutricional del alimento, que se agregó como parte del acondicionamiento de los acuarios, el cual consistió en un inóculo inicial de 2 rotíferos (Brachionus plicatilis) por mililitro, ya que es necesario que el primer alimento sea vivo (Hunter, 1984), porque las larvas lo detectan por el movimiento. Esto da tiempo a que se establezca una población de rotíferos que las larvas podrán aprovechar al absorber el saco vitelino, es decir aproximadamente 42 horas después de la eclosión, además de la "limpieza" que pueden realizar ya que estos organismos también consumen bacterias. Posteriormente, la determinación de la cantidad de microalgas y rotíferos que había que agregar diariamente se hizo visualmente, pero

las larvas, éstas se extraían por succión del agua del acuario con una pipeta Pasteur o una manguera de 5 mm de diámetro en el caso de larvas jóvenes, y con vaso de precipitados en el caso de las grandes. Después de la extracción las larvas vivas se colocaban en cajas petri con quinaldina para anestesiarlas y fotografiarlas antes de ser fijadas; esto permitió una fijación de mejor calidad, ya que las larvas no quedan torcidas o curvadas.

En general todas las medidas corresponden a larvas fijadas en formol, pero cuando se incluyen mediciones de larvas vivas ó transparentadas y teñidas, se indica su procedencia, ya que las medidas suelen cambiar según el estado del material estudiado.

Los huevos fueron clasificados en fases de desarrollo, siguiendo los criterios establecidos por Ahlstrom (1943) para Sardinops caerulea (SIC). Se encontró que bajo este criterio los huevos pertenecían a los estadios VI al XI (este último antecede a la eclosión). Debido a la imposibilidad de medir todos los huevos, éstos fueron seleccionados aleatoriamente separando a los que servirían para la descripción de cada fase de desarrollo de acuerdo al material disponible; así se midieron 92 huevos de la recolecta de julio y 117 de la de agosto. Las mediciones efectuadas fueron: Diámetro del corion, diámetro del glóbulo de aceite y diámetro del vitelo medido en su parte media y

perpendicular al embrión (Fig. 2A). Estas mediciones se hicieron con la ayuda de un microscopio óptico con ocular micrométrico a cien aumentos.

Del total de larvas fijadas anestesiadas se seleccionaron aquellas en mejor estado de preservación para obtener la morfometría a lo largo de su desarrollo, y consistieron de 52 ejemplares entre los 2.36 mm de longitud notocordal y los 22.63 mm (22.74 mm en la larva viva) de longitud patrón. Las diferentes medidas corporales (Figs. 2B y 2C), se obtuvieron de acuerdo a la metodología propuesta por Moser y Ahlstrom (1970) y consistieron en las siguientes medidas:

-LT= Longitud Total: Distancia entre la punta del hocico hasta el margen de la aleta caudal, tomada sobre una línea recta (imaginaria) que corre sobre el eje del cuerpo.

-LN ó LP= Longitud Notocordal ó Longitud Patrón: La primera, es la distancia entre la punta del hocico y la punta distal del notocordio medida sobre el eje del cuerpo en el caso de larvas en las que no se haya empezado a flexionar el notocordio (Fig. 2B). La longitud patrón se mide a partir de que se inicia la flexión del notocordio (de los 6.25 mm en adelante), y se refiere a la distancia entre la punta del hocico y el margen posterior de la placa

hipúrica medida sobre el eje del cuerpo de la larva (Fig. 2C).

-LPa= Longitud Preanal: Distancia entre la punta del hocico y el ano, medida sobre el eje del cuerpo de la larva.

-LPd= Longitud Predorsal: Distancia entre la punta del hocico y el inicio de la aleta dorsal, medida sobre el eje del cuerpo de la larva.

-LH= Longitud del Hocico: Distancia entre la punta del hocico y el margen anterior del ojo.

-DOC= Diámetro Ocular. Diámetro del ojo medido sobre el eje del cuerpo.

-LC= Longitud Cefálica: Distancia entre la punta del hocico y el margen posterior de la cápsula óptica (antes de la formación del opérculo) (Fig. 2B), ó el margen posterior del opérculo sobre el eje del cuerpo de la larva (Fig. 2C).

-LPP= Longitud Prepélvica: Distancia entre la punta del hocico y la base de las aletas pélvicas, medida sobre el eje del cuerpo. Cuando la aleta aún no se forma, esta medida se toma como la distancia entre el hocico y la región pilórica (Fig. 2C), ya que se encontró que en esa posición se insertará la base de dicha aleta.

-AM= Altura Máxima: Altura del cuerpo al nivel de

la base de las aletas pectorales o los primordios de las mismas si aún no se han formado.

Las mediciones se hicieron a cien aumentos, con la ayuda de un microscópio óptico binocular equipado con un ocular micrométrico, hasta que las larvas alcanzaron los 13 mm; a partir de esta talla, dado el grosor y la longitud que fueron adquiriendo, las mediciones se hicieron con un microscopio estereoscópico con ocular micrométrico a 50 aumentos.

El estudio de las relaciones morfométricas después de la absorción del saco vitelino comprendió desde los 3.7 mm LN hasta los 22.63 mm LP, que corresponde a una larva en el proceso de transformación. Para realizar el análisis de los datos morfométricos, las larvas (postabsorción del saco vitelino) se agruparon en cuatro fases de desarrollo de acuerdo a sus cambios morfológicos y estructurales en base a la terminología propuesta por Kendall et al.(1984). 'Las relaciones morfométricas LP vs LT, LPA vs LP, LPd vs LP, LPP vs LP, LC vs LP, AM vs LP, LH vs LC y DOC vs LC se ajustaron a un modelo potencial de regresión de la media geométrica (GMR) (Ricker, 1984), a través del cual se puede inferir en que estructura del cuerpo o de la cabeza se presenta el crecimiento alométrico para cada fase de desarrollo.

* De ahora en adelante se hará referencia de las mediciones designándolas como sigue: LP= long. patrón; LT= Long. total; LC= long. cefálica; LPA= long. preanal; LPd= Long. predorsal; LH= Long. del hocico; LPP= Long. prepélvica;DOC= diám. ocular y AM= altura máxima.

En cuanto a las cuentas merísticas, se realizaron tanto cuentas de radios como de miómeros o vértebras y se registró la longitud de aparición de las aletas en 73 larvas, trece de las cuales fueron transparentadas y teñidas usando la técnica de Potthoff (1984) que permite teñir en forma diferencial el cartílago con azul de alcián y el hueso con alizarina roja. El material transparentado permitió hacer las cuentas de vértebras y observaciones precisas sobre la longitud en que se hacen presentes las aletas, así como contar los radios con exactitud. Asimismo, la transparentación y tinción facilitó el seguir: a) los procesos de osificación del complejo caudal, b) la formación del órgano epibranchial, c) la presencia de dientes efímeros en el basihial, basibranchial, palatinos, endopterigoides y ectopterigoides, y d) efectuar la cuenta precisa del número de branquispinas de cada elemento componente del primer arco branchial. Adicionalmente fueron transparentados siete juveniles (de 24.79 a 50.5 mm LP) y una larva (13.17 mm LP) de Opisthonema sp. recolectada en campo; los primeros fueron recolectados en junio de 1983 en la Bahía de La Paz, B.C.S.- (Lat. N 20° 15' 21", Long. W 110° 18' 54") y la larva en agosto de 1982 en la costa noroccidental de Baja California Sur (Lat. N25° 14'; Long. W112° 10'). Los juveniles no pudieron identificarse a nivel específico, ya que aunque estas tallas están incluidas en las claves de Berry y

Barrett (1963) para las tres especies de Opisthonema, las características solo son validas para la zona de Perú, Panamá, y Costa Rica, por lo que se consideró que no eran extrapolables. Sin embargo, estos **especímenes** permitieron hacer comparaciones entre el material biológico desarrollado en laboratorio y el desarrollado en su medio natural.

La información sobre la distribución de miómeros en relación a la posición de las aletas dorsal y anal, se dividió en clases de talla de 2 mm ya que las larvas crecen rapidamente. Se manejó este intervalo de tallas porque permite apreciar el inicio de la fase de transformación y no resultan demasiados intervalos; aunque se debe tener presente que el inicio de cada fase no siempre coincide con el inicio de cada intervalo de longitud. La cuenta de las vértebras se realizó en el material transparentado que presentó todas las vértebras bien definidas ó parcialmente osificadas.

La descripción del desarrollo osteológico, estuvo basada principalmente en el análisis de trece organismos de laboratorio transparentados y teñidos con la técnica de Potthoff (1984), cuyas tallas en fresco estuvieron comprendidas entre 7.19 mm LN y 22.74 mm LP. El organismo de menor talla se encontraba en la fase de flexión y el de mayor talla en la de transformación. También se hicieron algunas observaciones complementarias sobre la aleta caudal

en los juveniles de Opisthonema_{SDD}. Considerando que se usaron los mismos reactivos durante el proceso de transparentación, los criterios empleados para establecer el grado de osificación fueron el color y la intensidad que estas presentaron. La aparición de la pieza esquelética estuvo marcada por la tinción en color azul que indica la formación de cartílago y la osificación por los colores rosa o rojo. En el caso del esqueleto axial las observaciones se hicieron a partir de los 9.19 mm (LP) y del complejo de la aleta caudal a partir de los 7.19 mm, basados en 9 y 13 ejemplares transparentados respectivamente*. Los hipurales 1, 2 y 3 se compararon con más de diez especies de clupeidos y engráulidos transparentados disponibles en el laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR. Todos ellos presentaron el mismo patrón de osificación.

El estudio detallado del proceso de formación de los huesos cefálicos no se efectuó; sin embargo se hicieron un par de observaciones que resultan de interés y que se refieren a la presencia de dientes efímeros en el aparato mandibular y la actitud de permanecer con la boca abierta durante un largo periodo de tiempo, al cual en este trabajo se ha denominado "síndrome de la boca abierta".

Debido al gran parecido que el desarrollo del esqueleto

* De ahora en adelante se hará referencia al material transparentado y teñido con la técnica de Potthoff (1984) simplemente como material transparentado.

caudal de las larvas de Harenqula jaguana tiene con el de Opisthonema, se usó la terminología propuesta por Houde et al. (1974) para describir el desarrollo correspondiente a O. libertate.

La cuenta de los hipurales y de los radios caudales se hizo de la parte anterior a la posterior en ejemplares cuya flexión del notocordio no había concluido y de la parte ventral a la dorsal en ejemplares mayores. Por esta misma razón, las vértebras urales, preurales, espinas neurales y hemales están numeradas de la placa hipúrica hacia la cabeza cuando se habla del desarrollo osteológico de la aleta caudal (Figs. 5A, B Y C).

Ya que la pigmentación se desvanece con el tiempo por la acción del fijador, se obtuvieron fotografías en campo claro de tres huevos y 33 larvas vivas anestesiadas con quinaldina colocadas en posición lateral, de las cuales se seleccionaron las fotografías de un huevo y siete larvas en las cuales se basó la elaboración de los dibujos además de la observación directa de los organismos donde se puede observar el patrón de pigmentación.

En esta descripción la pigmentación del huevo y las dos primeras tallas (2.47 y 4.17 mm LN), así como los pigmentos internos, se representan con una intensidad exagerada con el fin de hacerlos más evidentes y facilitar su localización para fines de identificación. Todas las

larvas fotografiadas fueron medidas, por lo que las longitudes reportadas en los dibujos corresponden a larvas vivas, pero se proporciona una estimación del intervalo de tallas para larvas fijadas en formol en el que se espera que se encuentren las características morfométricas que aparecen en las ilustraciones.

Se hicieron también algunas fijaciones de larvas muertas dentro de los acuarios, escogiendo aquellas que por su condición física podrían ser recién muertas, e incluso se llevó a cabo la fijación de larvas moribundas, para hacer las observaciones sobre el efecto que el fijador tiene en las larvas como son: el encogimiento de los melanóforos y el cambio del patrón de pigmentación. Se hacen algunas comparaciones de pigmentación de las larvas muertas que fueron recogidas de los acuarios con la de las larvas fijadas anestesiadas.

Se describen las características más evidentes del comportamiento de las larvas durante el experimento, basadas en observaciones directas del patrón de nado, su reacción de huida a estímulos externos y su alimentación. Los estímulos que se aplicaron a las larvas fueron vibraciones a través de las paredes del acuario, y la corriente generada por un tubo de vidrio para la succión de las larvas que eran fijadas en formol. Se observó también la reacción de las larvas a estímulos lumínicos al encender una lámpara en el área de

acuarios durante las horas de oscuridad.

5. RESULTADOS:

5.1. El huevo:

El huevo de O. libertate es esférico, pelágico, de corion liso, amplio espacio perivitelino, vitelo segmentado y un glóbulo de aceite (Fig. 3A). Se observó que el patrón de desarrollo es similar al descrito por Ahlstrom (1943) para Sardinops caerulea (SIC); esto hizo posible la asignación de estadios a los huevos fijados, encontrándose que para julio y agosto los huevos más jóvenes correspondieron al estadio VI.

En 209 huevos medidos se encontró una diferencia significativa entre los diámetros promedio de los huevos de los dos muestreos, siendo mayor para el mes de julio (1.68 mm) mientras que para agosto fue de 1.60 mm, lo mismo se observa para el diámetro del vitelo que fue de 0.68 para julio y de 0.64 para agosto. En cambio el único carácter cuyo valor promedio no mostró diferencia significativa entre ambos meses fué el diámetro del glóbulo de aceite (0.12 mm) (Cuadro 1).

Tomando en cuenta la temperatura de desarrollo y el momento de la eclosión, es posible inferir que el tiempo de eclosión haya sido de 22 a 24 horas a una temperatura de 24°C para julio y que pudiera ser de 17 a 19 horas a una

temperatura de 28°C para agosto en caso que se hubiera seguido todo el desarrollo a esas temperaturas.

5.2. El eleuteroembrión:

Al momento de la eclosión del huevecillo el eleuteroembrión presentó una longitud notocordal (LN) promedio de 2.4 mm (Fig. 3B, Cuadro 2). Transcurridas 20 horas dichos organismos tienen una talla promedio de 3.9 mm (Fig. 3C) y alcanzan los 4.4 mm a las 42 horas (Fig. 4A). A esta edad, han absorbido el saco vitelino, presentan los ojos pigmentados, la boca es funcional y el ano está abierto, por lo que ya corresponden a larvas del inicio de la preflexión. Anteriormente a esto, el intestino es un tubo recto y liso, pero en el momento en que el ano se abre, se pueden distinguir dos porciones morfológicamente distintas de intestino (Fig. 4A): una región anterior y otra posterior que se encuentran unidas en la región pilórica, fácilmente reconocible por el estrangulamiento del intestino en esa parte.

Las primeras 20 horas son las de mayor crecimiento durante esta etapa de alimentación endógena, ya que crecieron el 74% del incremento total alcanzado (Cuadro 2).

5.3. Morfometría:

De acuerdo a la terminología propuesta por Kendall et al., (1984), las larvas postabsorción del saco vitelino, o

sea, de 3.70 a 22.63 mm LP (en esta especie) se agruparon en cuatro fases y sus diferentes longitudes corporales (Cuadros 3 y 4) se relacionaron mediante una regresión por medias geométricas para detectar los patrones de crecimiento alométrico (Ricker, 1984), obteniéndose los siguientes resultados para cada fase:

A) Preflexión.- A partir de la absorción del saco vitelino hasta antes de la flexión del notocordio, lo cual corresponde a larvas entre 3.7 y 6.24 mm LN. Se presentó alometría positiva en las relaciones de LN vs LT, LPa vs LN y LPp vs LN (Cuadro 4), es decir que el ano y la posición que ocuparán las aletas pélvicas se recorren hacia atrás (Fig. 4A).

B) Flexión.- Agrupa a los ejemplares en los que se encuentra en proceso la flexión del notocordio. En esta especie incluye larvas entre los 6.25 y los 8.73 mm (LN). En esta fase se presentó crecimiento alométrico positivo en la relación de AM vs LP (Fig. 4B), por lo que la larva se ve más robusta que en la fase anterior. También la relación LH vs LC presentó alometría positiva.

C) Postflexión.- Incluye a las larvas que habiendo completado la flexión del notocordio, aún presentan la distribución de miómeros de larvas

más jóvenes. Esta fase se presentó entre los 8.74 y los 16.96 mm. En cuanto a la alometría, son las relaciones de LP vs LT y de LC vs LP las que se incrementan y la de D0c vs LC la que decrece (alometría negativa) lo cual es característico de esta etapa. Estos cambios aunados a los de la fase anterior le dan a las larvas mayor desarrollo (Fig. 4C).

D) Transformación. - En esta fase se agrupa a todas las larvas que han iniciado la serie de cambios merísticas que culminarán en la configuración del juvenil, e incluyó ejemplares de 16.97 a 22.63 mm (LP). Esta fase se caracterizó por no presentar ningún cambio significativo en su morfometría lo cual significó un crecimiento isométrico. Los cambios más importantes se manifestaron, en un mayor grado de desarrollo de las estructuras que se han venido modificando en las fases anteriores. Sin embargo hay una ligera tendencia a presentar una alometría negativa en cuanto a las longitudes preanal, predorsal, prepélvica y cefálica con respecto a la longitud patrón a medida que van adquiriendo la morfometría del juvenil (Fig. 4D y 4E), especialmente entre las últimas tallas logradas en el laboratorio y

las de los juveniles de campo.

Posterior a las tallas alcanzadas en laboratorio, se dan cambios importantes para llegar a la morfometría del adulto. Se graficaron también diferentes longitudes del cuerpo en relación a la Longitud Patrón (LP) de 37 larvas (Gráficas 1A-F) y en relación a la Longitud Cefálica (Gráficas 2A y B). En las gráficas 3 y 4 se resúmen las anteriores.

5.4. Cuentas merísticas:

El adulto de O. libertate presenta cuentas de 45 a 48 vértebras, lo cual se considera un caracter estable durante toda su vida. La fórmula de las aletas son: D:iiii 13-14, A:ii-iii 18-19, C:10+9, P₁:i 16 y P₂:i 7 (Whitehead, 1985). Otras estructuras como el número de branquispinas se incrementa continuamente con la longitud, siendo un caracter específico.

Existe igual número de vértebras y miómeros totales en un mismo pez, independientemente de que en la especie o el género pueda existir alguna variación. Esto permite que se puedan hacer cuentas de miómeros cuando no es posible hacerlos de vértebras, las que se hacen evidentes en O. libertate a partir de los 18.85 mm (talla en fresco) (cuadro 6) y en los cinco juveniles (recolectados en campo) (cuadro 7) .

Se contó el número total de miómeros en 62 larvas fijadas con formol al 4%, 37 larvas vivas anestesiadas con quinaldina y el conteo de vértebras en 12 larvas transparentadas (Cuadro 5). Se encontró que varió de 45 a 40 miómeros o vértebras; el grado de dificultad para realizar la cuenta varió en cada caso, y por ello tanto la moda como la media varían en dependencia del tipo de material utilizado.

La migración del ano y las aletas, y la incorporación de radios en las mismas, modificaron continuamente la distribución de miómeros. Esto se hizo particularmente evidente en el intervalo de 15.91 a 17.9 mm (cuadro 6), que correspondió al inicio de la fase de transformación, en la cual, se observa un cambio brusco de tres miómeros preanales, que pasan de ser 37 a 34 como consecuencia del corrimiento del ano hacia adelante a un ritmo mayor que lo observado para los intervalos anteriores y posteriores. En la misma fase de transformación el inicio de la aleta dorsal pasa del miómero 24 al 20, debido principalmente a la migración de la aleta, aunque también podría darse la incorporación (poco probable a estas tallas) de algún radio en la parte anterior de la misma.

En todas las tallas obtenidas en el laboratorio se encontraron de cinco a ocho miómeros entre el fin de la aleta dorsal y el ano (Cuadro 6). El hecho de que dicho

intervalo parezca ser válido para todas las larvas aunque no para los juveniles, sin ser afectado por el proceso de transformación, es resultado de que tanto la aleta dorsal como el tubo digestivo realizan su migración hacia la parte anterior al mismo ritmo, al menos hasta los 22.63 mm LP (22.74 mm en fresco).

Al comparar las cuentas de vértebras predorsales en ejemplares transparentados entre larvas grandes de laboratorio y juveniles de campo (Cuadros 7 y 8), se puede observar que para las larvas no se completó el corrimiento de las aletas, por lo que no alcanzaron las cuentas estables que presentan los juveniles.

Después de los 22.63 mm LP parece modificarse la correspondencia entre el desplazamiento de la aleta dorsal hacia adelante y el tubo digestivo que se había observado en ejemplares menores, por lo que el número de vértebras postdorsales-preanales, que ocurre en las larvas es de cinco a ocho, y será de ocho a nueve en los juveniles.

En la larva de campo de Opisthonema sp. que media 13.17 mm, se efectuaron todas estas cuentas y se observó que los resultados se ajustan bien a los de larvas de talla similar desarrolladas en el laboratorio, ya que se presentaron 37 **miómeros** preanales, 10 postanales, 25 predorsales y siete entre el final de la aleta dorsal y el ano.

5.5. Desarrollo osteológico.

5.5.1. Desarrollo de las aletas:

El desarrollo de las aletas se estudió en ejemplares transparentados, que fueron medidos anestesiados, por ello todas las tallas que se dan a continuación, corresponden a LP en vivo, a menos que se indique otra cosa.

Los cuadros 9 y 10 presentan un resumen del proceso de formación de las aletas observado en las larvas de O. libertate desarrolladas en laboratorio. Las discontinuidades observadas en el cuadro 10, son resultado de la cuenta efectuada sobre el material fijado, mismas que son menos exactas que los que se hacen en material transparentado.

5.5.1.1. Aleta embrionaria:

El eleuteroembrión presentó el pliegue de la aleta continuo; comenzando en la parte dorsal justo donde se establece el primer miómero y se continúa ventralmente hasta el vitelo dando la vuelta al mismo sin más interrupción que la hendidura anal (Fig. 3B). Este pliegue de la aleta embrionaria desaparece totalmente a los 15 mm, cuando las aletas dorsal, anal y caudal están perfectamente delineadas (Fig. 4C).

5.5.1.2. Aletas pectorales:

A las 36 horas después de la eclosión las larvas presentaron el muñón de las aletas pectorales, que consiste en un pliegue sin ningún tipo de esqueleto óseo o cartilagi-

noso, siendo de hecho las aletas que presentan la osificación de radios más tardíamente (Fig. 3C). La aparición de radios se inició después de los 18.85 mm, presentándose cuentas de 10 radios en los ejemplares de 20.83 y 20.98 mm y de 14 a los 22.74 mm (máxima talla alcanzada en el laboratorio), aunque de éstos los inferiores aún eran muy tenues y todavía existía espacio en el abanico que forma la aleta para la incorporación de un mayor número de radios (Cuadro 9); un juvenil de campo de 50.5 mm presentó 16.

5.5.1.3. Aleta dorsal:

El primordio de la aleta dorsal, se empieza a hacer presente como un reborde carnosos, que está incluido en el pliegue de la aleta embrionaria entre los 5.1 y 6.1 mm LN (organismos fijados), presenta únicamente los cartílagos de los dos últimos pterigioforos, y es de hecho, la primera aleta en presentar cartílago. Los cartílagos de los radios se observan entre los 7.0 y los 7.3 mm (LP) y el complemento total de la aleta se alcanza a más tardar a los 16.8 mm (18 a 19 radios totales). En la larva de campo (13.17 mm) se contaron 14 radios.

5.5.1.4. Aleta caudal:

Los primeros radios principales de la aleta caudal aparecen a los 7.19 mm, encontrándose totalmente formados entre los 9.19 y 11.2 mm, mientras que los radios secundarios aparecen hasta los 10.69 mm y a los 22.74 aún no se ha

alcanzado el total de radios definitivos. Una descripción más detallada de esta aleta se presenta más adelante cuando se habla de su osificación. La larva de campo (13.17 mm LP) presentó 18 radios principales en esta aleta.

5.5.1.5. Aleta anal:

El primordio de la aleta anal aparece a los 9.19 mm, presentando los cartílagos de los dos últimos pterigioforos. El primer radio se hace presente a los 10.2 mm y la aleta está totalmente formada a los 16.8 mm. Un aspecto interesante es que una larva mayor a esta talla presentó un menor número de radios de los esperados (22.74 mm), lo cual fué consecuencia de la fusión interna de un par de pterigioforos, provocando que no se formaran los radios correspondientes y en tal caso se tuvo una cuenta más baja. La larva de campo (13.17 mm) presentó 13 radios anales.

5.5.1.6. Aletas pélvicas:

El soporte de las aletas pélvicas, aparece como cartílago a los 18.85 mm; a los 20.83 mm la aleta presentó siete radios osificados y se alcanzan hasta ocho (i,7) entre los 20.98 y 22.74 mm LP.

Al igual que para la distribución de miómeros, los valores en las aletas de la larva del campo (13.17 mm LP) son iguales a los obtenidos con el material de laboratorio: 14 radios dorsales, 13 anales y 18 radios principales en la aleta caudal.

Las larvas de laboratorio alcanzaron las cuentas de radios de las aletas pélvicas correspondientes a los juveniles.

5.5.2. Esqueleto axial:

A los 9.19 mm LP se presenta en la parte distal el cartílago de la tercera y cuarta espina neural y de una tercera espina henal (se cuentan hacia la parte proximal), mientras que a los 13.17 mm se presentan los cartílagos de 21 espinas neurales y 21 hemales, y a los 18.85 ya existen 46 neurales, 31 hemales y se ha formado la primera costilla, la cual se encuentra asociada a la tercera vértebra precaudal. En esta última longitud se observa también que el grado de osificación es mayor en las vértebras cercanas a la placa hipúrica. Cuando la larva alcanza 20.83 mm se han formado 23 costillas cartilaginosas. A los 20.98 mm se presentan centros de osificación en 24 de las 46 espinas neurales posteriores (incluyendo una supernumeraria) y 22 hemales, de las cuales las dos últimas están casi totalmente osificadas y finalmente, a los 22.7 mm se observaron 24 costillas como en el adulto.

5.5.3. Desarrollo cefálico:

a) Presencia de dientes efímeros:

Se presentaron dientes efímeros en el basihial, basibranquial, palatino, ectopterigoide y endopterigoide de

las larvas de O. libertate, los primeros dientes de este tipo se observaron sobre los endopterigoides de una larva de 20.83 mm LP (uno y dos dientes por lado). A los 22.74 se presentaron también dos dientes en los basibranquiales y cuatro en un juvenil de 27.81 mm.

b) Síndrome de la boca abierta:

Se observó que durante el desarrollo cefálico de las larvas entre 19 y 21 mm LP (talla en vivo), pasan por un estado que las obliga a permanecer con la boca abierta durante más o menos dos días.

El material transparentado con que se contó dentro del intervalo de longitud mencionado, sugiere que la causa de la "boca abierta" es el desarrollo asincrónico de los huesos relacionados con el aparato mandibular, en particular la cabeza del palatino, que llega hasta la altura de la cabeza del vómer y pudiera ser un impedimento mecánico para que el maxilar se retraiga (Fig 6A, B y C). Estas larvas, vistas de perfil presentan también una protuberancia sobre el hocico (Fotog. 2C, larva de 20.98 mm LP), como consecuencia del crecimiento del hueso frontal, el cual se presenta desde los 18.85 mm, y se "corrige" al haber superado esta etapa (Fig. 6C). Durante todo el tiempo que las larvas permanecen con la boca abierta, es posible observar un notable cambio en su comportamiento, el cual se explica más adelante.

5.5.4. Aparato branquial:

Para este estudio, las tallas de 7.19 a 22.74, están referidas a longitud patrón en fresco medidas antes de ser transparentadas, mientras que las tallas mayores corresponden a juveniles de campo medidos fijados en formol y luego transparentados.

Los ceratobranquiales son los primeros elementos en desarrollarse en el aparato branquial, detectándose como bastones cartilagosos y pequeños desde los 7.19 mm. A los 22.74 mm, ninguno de los elementos del primer arco branquial había iniciado su osificación, a excepción de las branquispinas.

Con respecto al primer arco branquial, las larvas presentan siete primordios de branquispinas en el ceratobranquial a los 13.17 mm, talla a la cual se detectaron por primera vez (Cuadro 9). A los 18.85 mm ya existen 12 branquispinas en ese segmento y ya aparecieron dos en el epibranquial y una en el hipobranquial. El número de branquispinas en el ceratobranquial permaneció constante entre los 18.85 mm y los 22.74 mm, mientras que el epibranquial presentó nueve y el hipobranquial ocho; en tanto que, las branquispinas modificaron considerablemente su tamaño, llegando a medir 0.59 mm a los 22.74 mm (LP).

En cuanto a los organismos de campo, la larva recolectada de 13.17 mm presentó en el primer arco branquial seis

tubérculos de branquispinas sobre el ceratobranquial. Dos de los ejemplares recolectados en la Bahía de La Paz (24.79 y 27.91 mm), presentaban 17 branquispinas en el ceratobranquial, 15 en el epibranguial y 12 en el hipobranquial. En estos ejemplares el primer arco branquial se encontraba osificado, salvo las uniones entre los segmentos que son cartilagosos.

El cuarto epibranguial aparece como una estructura cartilaginosa a los 13.17 mm, distinguiéndose morfológicamente del tercer epibranguial que tiene forma de bastón. Posteriormente, a los 18.85 mm ya aparece el órgano epibranguial como un cartílago compacto, que esta adosado a las caras dorsales del cuarto epibranguial, observándose por primera vez el forámen característico de la estructura completa.

A los 22.74 mm el órgano epibranguial comienza a desarrollar las prolongaciones y aguzamientos que le dan la forma que presenta en el adulto, pero no presenta aún el lúmen característico del género, aunque se observan cinco branquiespinas en la cara posterior del cuarto epibranguial: el ejemplar de 20.83 mm tenía tres tuberculos de estas branquispinas y el de 20.98 mm tenía cuatro.

La larva de campo de 13.17 mm, en este caso sí mostró diferencias a la de talla similar de laboratorio, ya que no presentó indicios de la aparición del cuarto epibranguial.

En los juveniles recolectados en campo se observó que el cuarto epibranguial osificado empieza a adquirir la forma de tubo arrollado continuo acorde a la descripción de Miller (1969). A los 24.79 mm (juvenil menor de campo) el órgano epibranguial presenta 10 branquispinas externas y 8 en el lúmen.

5.5.5. Placa **hipúrica**:

La formación de cartílago que precede a la osificación, no se observó para todas las estructuras del esqueleto caudal (Cuadro 12); tal es el caso de los uroneurales 2 y 3 que se detectaron por primera vez como estructuras delgadas óseas que siguieron creciendo y engrosando; es probable que en estos casos la transición de cartílago a hueso sea muy rápida. En el caso de las vértebras **urales** y **preurales** nunca se observó la coloración azul que revela la presencia de cartílago.

La osificación se inicia generalmente en la parte central de la estructura cartilaginosa y se extiende hacia la periferia, lo cual es notorio en los hipurales.

En el caso de los hipurales 1, 2 y 3 se presentó una osificación en dos etapas: la primera, se presenta como una capa superficial de osificación o pericondral, en la parte central de la pieza cartilaginosa, observándose como una tenue coloración rosa desde el centro y crece hacia la periferia. Posteriormente y antes de que termine la primera

etapa; inicia la segunda, con la formación de un núcleo nuevo de cartílago en el centro de la pieza (Fig. 7A). Al crecer, en el centro de este último núcleo se forma a su vez un segundo núcleo de osificación, sólo que en esta ocasión se presenta en la parte interna de la estructura (osificación endocondral). Lo anterior hace ver al hipural como con círculos relativamente concéntricos de hueso-cartílago-hueso-cartílago (Fig. 8A). A medida que continúa el proceso, el "anillo" exterior de cartílago queda marginado a la periferia, mientras que el "anillo" interior continúa agrandándose y acercándose cada vez más al "anillo" exterior, por lo que la capa delgada de hueso pericondral que hay entre ellos se va estrechando hasta desaparecer; al mismo tiempo el segundo núcleo de osificación (endocondral) crece y en su interior ocurre la formación de hueso irregular que invade la mayor parte del hipural (Fig 8B). El proceso descrito se encuentra resumido en el cuadro 11.

El esqueleto caudal típico de los Clupeoidei (Whitehead, 1985) así como en el caso del género Opisthonema (Whitehead, com. pers.) presenta el hipural-1 libre , pero esto se observó a partir de los 21 mm LP, ya que en larvas menores a esta talla el hipural se encuentra estrechamente unido a la vértebra ural-1 (Figs. 7A y 7B).

El detalle del desarrollo osteológico de la aleta caudal, se presenta en el cuadro 12, donde se muestran las

tallas en que aparecen las piezas esqueléticas, así como el inicio y el final de su osificación. Observaciones complementarias indican que a los 7.19 mm el notocordio sobresale mucho de los hipurales y su flexión es de 10 grados (con relación al eje del cuerpo) (Fig. 5A), el hipural-3 es poco visible y los cinco radios están asociados a los hipurales 1 al 3 (3+2).

La flexión del notocordio es de 30 grados desde los 7.39 a los 8.65 mm y más o menos de 45 grados a los 9.19 (Fig. 5B) mm. A ésta última talla es posible observar el uroneural-1, que es apenas una estructura delgada superpuesta al notocordio y que por su posición resulta difícil de observar. El sexto hipural no se ha formado, aunque ya se presenta el radio correspondiente. Estas larvas presentan todos los radios principales formados con la siguiente distribución: El primer radio entre la hemal y el parahipural, el segundo asociado al parahipural, el hipural-1 con seis y el hipural-2 con uno, lo cual hace un total de nueve radios en la parte inferior de la aleta. De los hipurales restantes, el tercer hipural está asociado a cuatro radios, el cuarto a tres, el quinto a dos y el sexto a uno, haciendo un total de 10 radios superiores.

La asociación de los radios principales con los hipurales, el parahipural y la espina hemal, tienen ligeras variaciones; su posición está influenciada por el grado de

distensión de la aleta, por ello aquí se reporta la generalidad que se observó en todas las larvas transparentadas para el caso en que la aleta está "relajada".

Los radios principales centrales (radio 8, 9, 10 y 11) forman una guilla pequeña casi en su base a los 18.85 mm (Fig. 7B) y los dos centrales (el noveno y el décimo) inician su proyección hacia el interior de la placa hipúrica (Fig. 7C), hasta juntarse con las crestas que se forman en la cara superior del hipural-2 y cara inferior del hipural-3 a partir de los 20.98 mm (Fig. 7D). El parahipural también forma una cresta ósea a los 18.85 mm.

En cuanto a los radios secundarios, el primero aparece a los 10.69 mm y está asociado a la primera espina hemal, la aparición del resto de ellos es sumamente rápida y a los 13.17 mm un radio dorsal y uno ventral ya están osificados (Fig. 7A), mientras que a los 20.98 mm se han osificado siete de los ocho radios dorsales y los cinco ventrales. La osificación del total de los radios secundarios se alcanzó a los 22.55 mm.

La larva de 20.83 mm LP presenta el arco neural modificado y su espina casi totalmente osificados (Fig. 7C) y las 46 espinas neurales con dos núcleos de osificación, localizados cada uno en la parte central de ambos brazos del arco neural.

Se presentó una espina neural supernumeraria asentada

en la vértebra preural-2 de la larva de 20.98 mm, talla a la cual los márgenes próximalos de los hipurales 2 al 6 se han osificado (Fig. 7D).

La osificación fué total para todos los uroneurales, para las vértebras Urales, preurales y para todos los radios y fué casi total para todos los hipurales, para el parahipural, la espina hemal y el arco neural modificado al finalizar el experimento (22.74 mm LP), entonces la flexión del notocordio es de casi 50 grados.

5.6. Pigmentación:

El patrón de pigmentación suele ser **mucho** menos evidente en larvas fijadas que en larvas vivas. Estas últimas son casi transparentes y permiten una mejor observación de los pigmentos internos, los cuales pueden ser imperceptibles en larvas recolectadas y fijadas en el campo.

Al revisar el material fijado, es importante señalar que la intensidad de la pigmentación puede variar por la acción del fijador, como consecuencia de la contracción de los melanóforos, de tal forma que la pigmentación no será tan notoria como la ilustrada, sino que se apreciará como una serie de puntos dispersos.

La pigmentación aparece en el huevo a partir del estadio VIII como pequeños puntos que se distribuyen en dos hileras paralelas en ambos lados de la pared dorsal del

embrión y en algunos puntos de la región cefálica posteriores a las cápsulas ópticas que se extienden hasta donde comienza el pliegue de la aleta, sin presentar un arreglo definido, (Fig. 3A). Este esquema se mantiene en eleuteroembriones recién eclosionados (Fig. 3B), pero se pierde poco después (4.17 mm LN) cuando los pigmentos migran hacia la parte ventral y aparecen un par de pigmentos ventrales en forma de guiones alineados uno tras otro posteriores al ano (Fig. 3C).

Entre los 4.17 y 5.07 mm (LN) se pigmentan los ojos y se observa un pigmento ventral en la región cefálica a la altura del cleitro; hacia la parte posterior se presentan un par de guiones ventrales, uno a cada lado sobre la región faríngea. Un poco más atrás, se presentan dos hileras laterales de guiones que corren sobre la cara dorsal del intestino anterior y finalizan en la región pilórica. A esta altura comienzan otras dos hileras de pigmentos en guiones, que se encuentran muy cercanas una de la otra y se localizan sobre toda la parte ventral del intestino posterior. En la parte final del intestino, donde este se separa del resto del cuerpo y se flexiona hacia el ano, se presenta un pigmento en su parte dorsal de forma estrellada. Finalmente se siguen presentando los dos pigmentos en guiones posteriores al ano (Fig. 4A).

La larva de 8.68 mm (LP) presenta dos guiones seguidos

en la región cefálica ventral inmediatamente antes del cleitro, además se manifiesta otra hilera de pigmentos estrellados que se forman desde la parte final del intestino y llegan a la región pilórica, de los cuales solo los dos más cercanos al ano son claramente visibles, ya que los restantes quedan en la parte interna entre el intestino posterior y la masa muscular. De los guiones posteriores al ano, uno se localiza en la región en que se está formando la placa hipúrica (Fig. 4B).

En la larva de 12.09 mm (LP) aparecen dos pigmentos estrellados en la pared interna de cada una de las cápsulas óticas y un pigmento grande en la parte inferior anterior al cleitro. Sobre el cleitro, arriba de la inserción de la aleta pectoral se presenta un pigmento en guión que corre sobre él. En la parte dorsal donde finaliza la región cefálica se encuentra un pigmento estrellado. La serie de pigmentos estrellados que comienza arriba del ano y que corre por encima del intestino posterior, ya ha alcanzado la parte media del intestino anterior. Hacia la parte anterior, a partir de la región pilórica estos pigmentos pueden verse como semicírculos si se les observa en posición lateral. Sobre la parte dorsal del pedúnculo caudal se presenta un pigmento estrellado y otro sobre la placa hipúrica; sobre la base de la aleta caudal se presenta una pigmentación difusa que le confiere color oscuro a la base de los radios. La

pigmentación ventral posterior del ano adquiere una apariencia estrellada. A partir de esta talla se hacen evidentes pigmentos amarillos sobre gran parte de la región cefálica y región caudal, los cuales solo se aprecian en organismos de fijación reciente (Fig. 4C).

La larva de 19.15 mm (LP) presenta pigmentos estrellados en la parte dorsal de la región cefálica, también una pequeña hilera de pigmentos estrellados en la parte inferior del ojo y en la región opercular (Fig. 4D). En el cuerpo aparecen una hilera interna de pigmentos en guiones a todo lo largo del costado de la larva por arriba de la línea media del cuerpo. Se presentan pigmentos estrellados en la base de las aletas dorsal y anal y sobre la placa hupúrica y radios caudales dorsales.

Finalmente, la larva de 22.63 mm (LP) (Fig. 4E) presenta pequeños pigmentos estrellados en la punta del hocico, que bordean el premaxilar y el maxilar; en la parte anterior del hocico se presentan dos hileras cortas paralelas que llegan casi hasta la región frontal; otros pigmentos similares se encuentran en toda la parte ventral del dentario excepto en una estrecha franja central; existe también este tipo de pigmentos sobre el opérculo y en la parte dorsal de la cabeza, principalmente en el área entre los ojos y sobre las cápsulas óticas en un arreglo ligeramente lateral y más o menos simétrico, concentrándose en la

región nuchal. A partir de aquí y hasta el pedúnculo caudal, se observan dos hileras paralelas de pigmentos estrellados muy cercanas una de la otra, casi sobre la línea media dorsal resaltando en ambos lados de la aleta dorsal. Ligeramente abajo de estas hileras hay una banda discontinua de pigmentos estrellados subsuperficiales paralela a las anteriores y aparentemente es la que las origina, ya que, en tallas ligeramente menores se presentan más pigmentos internos y menos externos, pero conforme las larvas crecen, esta situación se invierte y se presentan más pigmentos externos que internos, lo que sugiere un posible afloramiento de pigmentos internos. Existe una banda de pigmentos sobre la parte inferior de los radios de la aleta dorsal ligeramente arriba de las hileras de pigmentos anteriormente descritas y en los costados de la larva por arriba de la línea media del cuerpo, desde el fin de la cabeza hasta la placa hipúrica. Por otra parte, la hilera de pigmentos internos estrellados que se presenta desde tallas menores entre el intestino anterior y el tronco, se ha disgregado y multiplicado en número, distribuyéndose en toda la pared interna de la cavidad torácica, incluyendo la región ocupada por la vejiga gaseosa, lo cual es debido a que a partir de esta talla el intestino anterior se vuelve interno por el invaginación muscular por los costados. Este proceso comienza a observarse en el intestino posterior, provocando

que los pigmentos intestinales dorsales sean menos evidentes, presentandose algunos pigmentos estrellados sobre los costados del intestino debajo de la musculatura que lo va cubriendo.

Es importante señalar que se observó que la incorporación del intestino a la cavidad interna es consecuencia del avance de la capa muscular sobre sus costados; el proceso es mas avanzado en la parte anterior, por lo que a los 22.55 mm (LP) esa porción del intestino estaba casi totalmente incorporada a la cavidad torácica, mientras que en la parte posterior solo estaba cubierta la mitad superior. Los juveniles de campo presentan todo el tracto digestivo interno.

Las larvas fijadas postmortem o moribundas presentaron desde dos a cinco pigmentos ventrales postanales constreñidos en forma de puntos similares a las reportadas por Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera, 1988 para el mismo género en el Golfo de California, que corresponden a los dos guiones que presentan las larvas fijadas anestesiadas cuando los melanóforos están "expandidos". Además presentaron todos o la mayoría de los pigmentos estrellados se observan constreñidos en forma de puntos aislados.

5.7. Patrón de nado:

5.7.1. Eleuteroembrión:

Las larvas con saco vitelino no tienen necesidad de conseguir alimento y carecen de estructuras para la natación salvo por la aleta embrionaria, por ello presentan una baja motilidad y flotabilidad pasiva, de ahí que permanecen suspendidas con la cabeza hacia abajo en la columna de agua la mayor parte del tiempo.

Conforme crecen van adquiriendo mayor motilidad y empiezan a presentar una mayor reacción de huída a estímulos externos.

Los estímulos mecánicos son detectados por medio de los neuromastos que las larvas presentan a todo lo largo de su cuerpo y las reacciones de huída consistieron en movimientos verticales rápidos hacia abajo.

Las larvas observadas también tuvieron respuesta similar con estímulos luminosos a pesar de tener escasa pigmentación en los ojos. En algunos casos la respuesta puede ser tan brusca que las larvas chocan una y otra vez con el piso del acuario provocándose lesiones graves que pueden provocar su muerte.

5.7.2. Larvas en preflexión y flexión:

En estas etapas, donde comienza la formación de las aletas dorsal y caudal, presentan un movimiento lento serpenteante para nadar y otro más brusco para atrapar su

alimento. La larva se pliega horizontalmente como una letra "S", se detiene en esa posición un instante y se despliega bruscamente como un resorte para alcanzar a su presa. Durante estas etapas alcanzan mayor dominio de la natación horizontal y se mueven continuamente durante las horas de luz. Durante la noche permanecen quietas y suspendidas con la cabeza hacia abajo, en la parte superior y media de la columna de agua.

5.7.3. Larva8 en postflexión:

En esta etapa (8.74-16.96 mm) las larvas se desplazan con movimientos tanto verticales como horizontales, más directos y rápidos, ya sea por reacción de huida, o búsqueda y captura de su alimento.

5.7.4. Larvas en transformación:

Hasta los 19 mm las larvas tienen un comportamiento similar a la fase anterior, pero entre los 20 y 21 mm (LP), (cuando las larvas presentaron el fenómeno de "boca abierta"), la natación se vuelve más lenta, se presenta poca o casi nula reacción a estímulos externos. La natación es únicamente horizontal y superficial. Cabe hacer mención al hecho de que no se tiene la certeza absoluta de que lo anterior se haya presentado en todas las larvas. Después de los 21 mm la boca y la natación vuelve a ser similar a la fase anterior.

6. ANALISIS:

6.1. Identificación:

No existen claves para la identificación de huevos ni larvas a nivel específico para las especies del Pacífico del género Opisthonema, por lo que los ejemplares se identificaron a nivel genérico hasta que en las larvas fué posible contar sin lugar a dudas, el número total de miómeros correspondiente y a nivel específico relacionando la presencia de huevos a la actividad reproductiva de las especies reportadas en la zona de recolecta de los huevos, lo cual se explica ampliamente a continuación. ✓

Debido al tamaño de los ejemplares que se obtuvieron, no es posible asignar especie mediante el uso de las claves de Berry y Barrett (1963), sin embargo, se dispone de información relativa al comportamiento reproductivo de los adultos del género en la localidad de la cual proceden los huevos recolectados; en este sentido, la información más relevante utilizada fué:

-Estudios realizados por Torres-Villegas et al. (1985), indican que O. libertate presentó actividad reproductiva en el complejo lagunar de Bahía Magdalena-Bahía Almejas desde marzo a octubre, con una mayor intensidad en el periodo julio-septiembre entre 1982 y 1984, y que aparentemente por el fenómeno de "El Niño" durante 1983 se amplía el periodo

de mayor intensidad de julio a octubre.

-Este mismo tipo de estudios realizados durante 1985, indican que en este año la temporada de reproducción se restringió a julio y agosto (Torres-Villegas y Perezgómez, 1988).

-La presencia de O. medirastre y O. bulleri en esa localidad parece ser incidental, al grado de que entre ambas no superan el 1% de la captura comercial, o de los muestreos biológicos a bordo de los barcos, que ahí se realizaron rutinariamente de 1982 a 1985 (Torres-Villegas, com. pers.).

-Con su método tridimensional, Rodríguez-Sánchez (1989) identifica casi un 80 % como O. libertate del total de la captura de este género en la misma área de estudio entre 1983 a 1987; evidentemente, es mucho más abundante que las dos especies restantes.

-Rodríguez-Sánchez (op. cit.) concluye en la posibilidad de un aislamiento reproductor temporal (prezigótico) entre O. libertate y O. medirastre, especies más emparentadas. Mientras que mecanismos pre y postzigóticos podrían darse entre O. libertate y O. bulleri.

-De acuerdo a este último autor, O. libertate desova en julio, y no existe solapamiento con el pico de reproducción de O. medirastre y O. bulleri.

-En el área adyacente a Mazatlán, Sinaloa, Rodríguez-Domínguez (1987) encuentra solapamiento en la reproducción de O. libertate y O. bulleri que es en verano entre junio y agosto, y los adultos de estas especies son fácilmente diferenciables, mientras que O. medirastre desova en invierno.

-Cabe recordar que los huevos que se desarrollaron fueron seleccionados, de tal forma que todos pertenecieran a un mismo estadio de desarrollo (presumiblemente de un mismo desove poblacional) con la intención de eliminar dentro de lo posible la mezcla de especies.

Por todo lo anterior, parece sólida la suposición de que el material estudiado corresponda a O. libertate. Es importante mencionar además, que el manejo de la información sobre el comportamiento reproductivo de los adultos, ha sido muy utilizado para ayudar en la asignación de especies en las primeras fases de vida, en otros lugares donde el número de especies emparentadas es elevado (Houde y Fore, 1973, Bensam, 1981).

6.2. Morfometría:

Con el fin de resumir las características que pueden ser distintivas de los huevos de Opisthonema libertate se reunieron los datos de julio y agosto y se compararon con los datos disponibles de huevos del mismo género (Opisthonema spp. y Opisthonema oglinum) en el cuadro 13.

Daoulas y Economou (1985) encuentran que para Sardina pilchardus el tamaño de los huevos esta influido inversamente por la temperatura y directamente por la biomasa planctónica, pero intervienen también factores como la latitud y el tamaño de las hembras desovantes entre otros; alguno o la combinación de varios de estos factores pueden quizá explicar la diferencia encontrada de un mes a otro en el tamaño de los huevos de O. libertate, aunque actualmente aún no se conozca el efecto de esos factores.

Las mediciones del diámetro del córion, diámetro del vitelo y diámetro del glóbulo de aceite de los huevos de O. libertate realizados durante este trabajo no difirieron significativamente de los valores obtenidos con los de huevos de campo de Opisthonema spp. (Saldierna-Martínez et al., 1987) de la misma área de estudio durante el verano de 1983. En cambio, la sardina crinuda del Atlántico O. oglinum (Richard8 et al., 1974) presenta huevos de menor tamaño (1.10 a 1.28 mm), pero sus intervalos de diámetro del vitelo y diámetro del glóbulo de aceite quedan incluidos en los

intervalos de O. libertate, como puede inferirse a partir de los datos reportados en este trabajo para embriones avanzados (cuadro 13). La media del diámetro del glóbulo de aceite de O. oglinum es mayor pese a que sean más pequeños. En esta especie Houde y Fore (1973), proporcionan valores de 1.08-1.31 mm para diámetro de corion, que son más amplios e incluyen a los de Richards et al. (1974), aunque con la misma media, el mismo intervalo de diámetro de glóbulo de aceite, pero muy diferente intervalo para diámetro de vitelo (0.72-0.88 mm, $x=0.80$ mm), por lo que cambian las proporciones morfométricas del huevo.

La morfometría de la misma especie puede variar entre las larvas de laboratorio y campo de la misma talla. Blaxter (1971, 1976) reporta diferencias entre larvas de campo y laboratorio de Clupea harengus y Engraulis mordax, y señala por primera vez la observación del encogimiento que sufren las larvas previo a la muerte (larvas moribundas), y un encogimiento extra por la acción del fijador. Las larvas de campo sufren daño mecánico y abrasión con la red de plancton y el plancton acompañante, especialmente al extraer la red del agua y se acumula la muestra hacia el colector mediante un chorro de agua (Farris, 1963, Ahlstrom, 1976 y Hay, 1981). Sin embargo, años más tarde Theilacker (1980) encuentra que en Engraulis mordax: 1) Las larvas de arrastres presentaron mayor encogimiento antemortem que las

fijadas en laboratorio, 2) El encogimiento es mayor a mayor tiempo de arrastre de la red, 3) Hay mayor encogimiento antemortem a tallas menores, 4) El encogimiento por la acción de la formalina es constante e independiente de la talla, y es menor que el encogimiento previo a la muerte en ambos casos, y 5) A mayor desarrollo osteológico (tallas grandes) el encogimiento se vuelve similar en laboratorio y de arrastres. Por lo que esta autora concluye que las diferencias morfométricas entre larvas de campo y laboratorio se deben más bien al manejo que se haga de ellas antes de la fijación que al ambiente en que se desarrollaron, y que en una muestra de plancton el intervalo de encogimiento es mas variable porque depende del tiempo real que cada larva tiene de haber sido capturada por la red.

El encogimiento antemortem puede deberse a la pérdida de fluído, provocado a su vez por la pérdida de la capacidad osmoregulatoria, lo cual sucede cuando se elimina la capa de mucus que recubre el cuerpo; esto explica que las larvas capturadas en campo por arrastres de plancton, pierdan más fácilmente su mucus y presenten mayor encogimiento (Theilacker, 1980) y por la autólisis y digestión de los tejidos por sus propias enzimas que desnaturalizan las proteínas, cambiando el color y provocando el encogimiento en larvas moribundas (Theilacker, 1978). En otro trabajo más reciente Johnson et al. (1986) no encontró diferencias morfométricas

entre dos grupos de especimenes de Alosa sapidissima desarrollados en laboratorio y otros recolectados en campo, cuyas tallas fluctuaron entre los 19.3 a 29.7 mm y 19.4 a 27.2 mm LP respectivamente.

La transformación se define como la fase en la cual las larvas experimentan una serie de cambios bruscos, sea en términos morfométricos, merísticas y/o anatómicos, que culminan en la morfología externa e interna del juvenil; la duración de esta etapa varía de acuerdo a la especie, y en muchos casos es tan prolongada que dificulta su apreciación. En O. libertate resultó ser bastante visible y se inició a partir de los 16.97 mm LP, sin haberse alcanzado la etapa juvenil en el laboratorio.

Entre los 22.63 que fué la última talla de laboratorio (22.74 mm en fresco) y 24.79 mm LP (juvenil más pequeño de campo), faltaban por modificarse varios caracteres morfométricos y merísticas para llegar al período juvenil, lo cual podría indicar de alguna manera, que en ese intervalo se presenta una fuerte migración de la aleta dorsal, que se recorre cinco miómeros hacia adelante. Entre estas tallas el número de radios se considera constante, ya que si bien se pudo incorporar un radio más en la parte anterior de la aleta, los primeros tres radios incluyendo al anteriormente mencionado, están soportados por un solo pterigióforo y se cuentan como uno. En el desarrollo de O. oglinum, la fase de

transformación se dá entre los 15 y los 25 mm LP (Richards et al., 1974).

6.3. Cuentas **merísticas**:

Con los datos reportados por otros autores para la distribución de miómeros para larvas de Opisthonema spp. (Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera, 1985) y de O. oqlinum (Houde y Fore, 1973 y Richards et al., 1974) se ha elaborado el cuadro 14. Las variaciones en el número de miómeros predorsales y preanales en las tres especies tienen la misma tendencia a disminuir durante la etapa larval, más notoriamente durante la transformación. Los miómeros postdorsales-preanales tienden a disminuir para O. libertate, O. oqlinum y Opisthonema spp., pero antes del inicio de la transformación las cuentas son menores (de cinco a ocho) para las especies del Pacífico O. libertate y Opisthonema spp. (Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera, 1985), mientras que fué de ocho a diez para O. oqlinum (Richards et al., 1974). Después de la transformación las cuentas se igualan de cinco a siete en todos los casos. Esto ha sido interpretado por diversos autores como un corrimiento hacia la parte anterior de las aletas dorsal y anal. Es posible que la mayor **variabilidad** que muestran los valores de Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera (1985), se deban en gran medida a alteraciones morfológicas como consecuencia del maltrato de las

larvas por el arrastre de plancton del que obtuvieron su material, ya que Theilacker (1980) demuestra que la **diferencia** en el grado de osificación entre la cabeza y las otras partes del cuerpo, hacen que el encogimiento **antemortem** no guarde las mismas proporciones morfométricas que las que presentan **las** larvas vivas, ya que la cabeza se osifica primero y por lo tanto se encoge menos.

Las cuentas más confiables fueron las realizadas en especímenes transparentados. Desafortunadamente, estas cuentas de vértebras solo pueden hacerse a partir de los 18.85 mm, porque es la talla a la cual todas las vértebras se encuentran teñidas. Existe una tendencia a subestimar en promedio en una unidad el número de miómeros (o vértebras) en el material fijado, debido principalmente al encogimiento producido por el formol. Para las larvas menores de 5 mm, sean vivas o fijadas, las cuentas son muy difíciles de realizar de cualquier forma, ya que los miómeros postanales suelen estar tan juntos que resulta difícil contarlos.

El número de **miómeros** en especímenes vivos de **O. libertate** a partir de 18.85 mm y vértebras contadas en los mismos ejemplares después de ser transparentados y teñidos, indicó que hay una correspondencia cuando se trata de cuentas de miómeros totales, como sería de esperarse; pero no sucede lo mismo con las cuentas parciales (miómeros predorsales, preanales, etc.), debido al desfaseamiento

provocado por el ángulo que forman los miómeros sobre la línea lateral al nivel de la columna vertebral, encontrándose que variaron en una o dos unidades en relación a las vértebras.

Para larvas menores de 10.3 mm se observa que Opisthonema spp. (Fúnes-Rodríguez y Esquivel-Herrera, 1985) tiene un número mayor de miómeros predorsales y preanales que O. libertate, mientras que para el segundo intervalo (10.30-15.71) sus valores presentan mayor variabilidad e incluyen en ambos casos a los valores observados para O. libertate, es decir que para tallas menores a 16 mm el corrimiento de las aletas es mayor para Opisthonema spp., pero la posición final del inicio de estas puede situarse en miómeros anteriores o posteriores en comparación a O. libertate. Para tallas de 16 a 24 mm en O. oalinum se presentan larvas con las aletas aún en posición posterior en relación a O. libertate.

Con respecto al número de miómeros postdorsales-preanales y considerando el valor taxonómico que se le ha otorgado a esta característica en la separación de géneros y posiblemente de especies de clupeidos (Richards et al., 1974), se encontró que para las larvas menores de 16 mm existe mucha diferencia entre O. oalinum y las descripciones de las especies del Pacífico, ya que siempre presenta un número mayor de estos miómeros.

Con respecto al número total de miómeros, O. libertate, y Opisthonema spp., presentan de 45 a 48, mientras que O. oglinum presenta de 45 a 49. Inexplicablemente, Richards et al. (1974) en su trabajo sobre O. wlinum presentan resultados diferentes entre el cuadro de cuentas merísticas y la clave que proponen para identificar las larvas de clupeidos del Golfo de México (Houde y Fore, 1973), aunque no aclaran las fechas ni horas de recolecta o si se trata de las mismas muestras.

6.4. Desarrollo osteológico:

En general, puede decirse que el patrón de formación de aletas es tardío en relación al reportado para O. oglinum (Richards et al., op. cit.) que inicia la formación de radios a tallas menores.

6.4.1. Desarrollo cefálico:

Durante la etapa de "boca abierta" la mandíbula permanece distendida (abierta), no obstante que su articulación es funcional. Existe una relación aparente entre el crecimiento del hueso frontal y este fenómeno, 0 con el crecimiento de los huesos mandibulares (angular y dentario), ya que desde la aparición del cartílago del frontal (18.85 mm LP) y durante toda esta etapa el perfil del hocico de las larvas cambió notablemente; sin embargo, ésta es una pieza esquelética que se encuentra sobre el paladar de la larva y

no parece ser la razón que impida el cierre de la boca; en las larvas mayores a 21 mm LP y que han superado esta **fase**, se observa que el perfil de la cabeza de la larva es llano, y que no presentan ninguna protuberancia. La larva de 20.98 mm era una larva típica de "boca abierta", en ella se observa que el perfil de la cabeza presenta una marcada curvatura (Fig. 8C). La cabeza del palatino, en cambio, había crecido bastante y se alojaba a la altura del vomer entre el etmoide y la parte superior de la maxila, **provocando** con ello que la maxila choque con el palatino y no pueda retraerse. La asociación entre el síndrome de la "boca abierta" y el fenómeno conductual que presentaron estas larvas sugiere que existe una relación causa-efecto entre ellos. Si este patrón de conducta se presenta en la naturaleza cabría plantear la hipótesis de que esta fase de desarrollo larval puede representar un período crítico de la sobrevivencia de la especie, ya que la conducta observada sugiere que estas larvas son relativamente **más vulnerables** a la depredación por su **escaza** motilidad (como se explica posteriormente en el capítulo de patrón de nado); es importante señalar que el **fenómeno** fue bastante generalizado, aunque no **se** tiene la certeza de que **todas** las larvas que superaron los 21 mm pasaron por él.

Se considera que el único factor de la metodología de manutención que pudo haber provocado el fenómeno de "boca

abierta" sería la introducción accidental de quistes de *artemia* en las narinas de las larvas, ya que se pudo observar que un ejemplar de 21 mm, típico de la fase de "boca abierta", presentaba uno de tales quistes en la narina izquierda. De acuerdo a las observaciones las narinas empiezan a definirse a los 15 mm y están perfectamente formadas entre los 19 y 20 mm, podría inferirse que es precisamente en el intervalo de 19 a 21 mm cuando el tamaño de las narinas y la poca experiencia de las larvas en evitar los quistes de Artemia las hace más sensibles a estos accidentes, si bien las larvas se encontraban en presencia de *artemia* desde los 15 mm, lo que en este caso se traduce en ocho días de experiencia previa antes de que se manifestara el fenómeno acotado.

Scherer (1973) reporta la recolecta de dos ejemplares de Alosa sapidissima que mostraban lo que él llamó una anormalidad semejante a la aquí descrita, sin embargo, la talla del ejemplar ilustrado por ese autor es considerablemente mayor (41 mm LT) al intervalo de tallas en que se presentó el fenómeno en las larvas estudiadas, lo que sugiere que en el caso de los ejemplares de A. sapidissima si podría tratarse de una anormalidad, mientras que para Opisthonema libertate puede ser parte del desarrollo normal de la especie, como parecería indicarlo el hecho de que superaron esa etapa y prosiguieron su desarrollo.

Por otro lado, la explicación postulada por Swan (1968) (citado por Scherer, 1973) en el sentido de que el fenómeno observado en Salmo trutta podría ser consecuencia de la ingestión de una burbuja, no parece ser válida para el caso de la especie que nos ocupa.

Una estructura de interés relacionada con el aparato branquial es el órgano epibranguial, mismo del que Miller (1969) describió su estructura en varios géneros de clupeidos y en las especies del género Opisthonema descritas hasta esa fecha, este autor le atribuyó importancia sistemática y por ende taxonómica a la configuración del órgano epibranguial con la del cuarto epibranguial que lo soporta, aunque añade que no es posible distinguir por medio de ellos a las especies de un mismo género. Por ello, se incluyó información referente a O. libertate, debido a la importancia que tiene el aparato branquial en la taxonomía de este género en el Pacífico oriental.

En comparación a lo reportado por Richards et al. (1974) para O. oglinum, se aprecia que la formación de las branquispinas externas son relativamente tardías en O. libertate, así como la osificación del cuarto epibranguial. Sin embargo la formación del lumen y el desarrollo de las branquispinas en su interior parece darse en tallas menores en los juveniles de O. libertate que en O. oglinum.

Richards et al. (1974) reportan la presencia de dientes

efímeros sobre el basiial de larvas de O. oglinum entre los 12 y 17.1 mm LP, lo mismo que Houde et al. (1974) para larvas de Harengula jaquana de 15.6 a 16.6 mm. En el caso de O. libertate, los dientes se presentaron a partir de los 20.83 mm LP, y han desaparecido en un juvenil de campo de 100 mm LP.

6.4.2. Placa **hipúrica**:

Haciendo observaciones sobre material transparentado y teñido (Potthoff, 1984) de larvas y juveniles de las familias Clupeidae, Engraulididae, Sciaenidae, Gerreidae, Ehippididae, Soleidae, Paralichthyidae y Serranidae, permiten apreciar que solo los clupeidos y engráulidos mostraron la osificación en dos etapas, pericondral y endocondral; que siempre **está** asociada a los hipurales 1-3, y que en algunos casos se observó también en los huesos cuadrado y angular. Pero más importante es aún el hecho de que la talla y la secuencia en que se presenta este fenómeno es diferente pero a la vez muy constante en cada hipural y varía de una especie a otra, por lo **que** se puede considerar un **caracter** de valor taxonómico.

La osificación de estos hipurales difiere de la osificación del resto de las piezas esqueléticas en que se dá por capas, en la siguiente forma: después de la aparición del hipural (cartílago en azul), comienza la osificación

pericondral (superficial), la cual se extiende superficialmente en una capa delgada (color rosa a rojo tenue); posteriormente, el cartílago interior se hipertrofia formándose una calcificación preliminar o "provisional" que permite que dicho cartílago sea invadido por mesénquima vascular (nuevamente el centro en color azul), el cual degrada ó disuelve el cartílago interior produciendo canales de paredes irregulares, y por último se desarrollan los osteoblastos en una capa sobre el cartílago interior remanente, iniciándose la depositación de hueso trabecular (centro de color rojo).

6.5. Pigmentación:

Al identificar organismos recolectados en campo, se recomienda que se considere que los patrones de pigmentación presentados aquí, corresponden a organismos vivos. Por ello, deben hacerse observaciones de otras características que puedan determinar si algún ejemplar es comparable a alguna de las tallas ilustradas.

A pesar de ser éste el primer **caracter** que se considera rutinariamente en la identificación de las larvas, se pudo observar que los pigmentos van desapareciendo paulatinamente después de un tiempo de fijación. Los pigmentos amarillos de los costados de la cabeza, por ejemplo desaparecen a los dos o tres meses, ya sea en formol o alcohol, el resto permanece

por más tiempo, pero la persona que identifica debe saber donde buscarlos para encontrarlos cuando los ejemplares ya tienen mucho tiempo fijados.

El patrón de pigmentación de una misma larva puede variar aparentemente, de acuerdo al grado de distendimiento de sus melanóforos. Se observó que en larvas vivas anestesiadas, estos se encuentran bien distendidos, pero cuando la larva se somete a tensión antes de ser fijada, es posible observar como el patrón de pigmentación se va transformando, como consecuencia de la retracción de los melanóforos, haciendo que una gran mancha o un pigmento en guión se vea como puntos aislados alineados uno tras otro. Este es el caso, por ejemplo, de los pigmentos del borde de los opérculos, de los pigmentos largos de la parte inferior de la cabeza, y es especialmente notorio en el caso de los dos guiones ventrales postanales que se transforman en cinco o seis pequeños puntos oscuros, donde cada guion estaba formado por dos o tres de estos puntos distendidos. Este patrón de pigmentación lo comparten en su generalidad las larvas que fueron recogidas muertas del fondo de los acuarios y fijadas posteriormente, aunque algunas presentaron patrones intermedios. Lo anterior hace ver la posibilidad de errores de identificación, especialmente de ejemplares provenientes de campo, en donde no se tiene la certeza del tiempo real entre la captura y la fijación, ni si la

larva llega viva o muerta al fijador.

Con respecto a los pigmentos amarillos no se dice nada de su presencia en las otras especies, Lo más probable es que aunque hayan existido, la pigmentación se haya descrito cuando éstos ya habían desaparecido por la acción del fijador.

La migración de pigmentos de la parte dorsal a la ventral descrita por Fúnes-Rodríguez y Esquivel-Herrera, (1985) se realiza en eleuteroembriones recién eclosionados en Opisthonema spp., aunque su ilustración sugiere que se trata de eleuteroembriones pero no recién eclosionados.

A los 12.09 mm el pigmento en la región nugal, los dos de la pared interna de la cápsula ótica y el de la parte dorsal del pedúnculo caudal no se presentan en Opisthonema spp. (Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera, op. cit.), pero sí en las larvas del mismo género que se describen para el Golfo de California (Funes-Rodríguez y Esquivel-Herrera, 1988). En O. oglinum los ojos y el vientre de la larva se pigmentan antes que en O. libertate, pero para la primera especie no se reportan el pigmento cefálico ventral localizado antes del cleitro, el pigmento dorsal del pedúnculo caudal, las líneas de pigmento debajo del orbital y el pigmento dorsal de la nuca.

Comparándolas con la pigmentación de Harenqula thrissina, la diferencia más evidente es que esta última presenta

dos pigmentos en guión en la parte dorsal del pedúnculo caudal a partir de eleuteroembrión.

6.6. Patrón de nado:

La actitud de los eleuteroembriones de mantenerse suspendidas de cabeza parece obedecer a la posición posterior del glóbulo de aceite, la distribución de la masa corporal de la larva (la mayor parte está hacia la cabeza), y seguramente se trata de una estrategia de defensa, ya que permite a la larva mantenerse cerca de la superficie del agua y proyectar la menor sombra posible, además de que las larvas son muy quietas, transparentes y difíciles de detectar. A pesar de ésto, sobre esta etapa del desarrollo recae la mayor depredación, especialmente por organismos pequeños como copépodos, eufáusidos y otras larvas de peces poco hábiles para capturar presas con mucho movimiento (Theilacker y Lasker, 1974). Cuando empieza su alimentación exógena la larva necesita desplazarse más, ya que como el alimento es vivo, éste se mueve también en el acuario y se distribuye en parches.

El síndrome de "boca abierta" repercutió en un notable cambio de comportamiento en su patrón de nado en relación a tallas menores y mayores, ya que se observó que fuera de este intervalo las larvas desarrollaban una gran actividad, moviendose **contínuamente** en sentido horizontal y vertical y

alimentándose constantemente. En cambio las larvas que caían dentro de ese intervalo tendían a nadar principalmente en un sentido horizontal y si bien se observa la presencia de nauplios de artemia en el tracto digestivo, era evidente que las larvas no buscaban el alimento intensamente; así mismo, su respuesta de huída ante estímulos extraños era menor que el de las otras larvas. Este estado duraba aproximadamente dos días, después de los cuales la larva cerraba la boca y asumía un comportamiento similar al de días previos.

6.7 Diferenciación con respecto a especies afines.

Las larvas de O. libertate se pueden diferenciar de otros clupeidos ya descritos de la misma localidad que son Harenqula thrisaina y Sardinops caeruleus. De acuerdo a la descripción de H. thrieina (Matus-Nivón et al., en prep.) se diferencia de esta especie porque esta última presenta huevos con un glóbulo de aceite más pequeño (0.09-0.1 mm) y de color dorado en ejemplares vivos o recién fijados; al eclosionar su posición en el vitelo es ligeramente anterior en relación a la posición que guarda en O. libertate. Antes de eclosionar el embrión es más largo por lo que la cabeza y la cola quedan muy cerca por el arrollamiento dentro del corion, pero una vez que eclosiona el eleuteroembrión se estira perfectamente, quedando recto y no curvado como en O. libertate (Fig. 3B). La larva tiene una cuenta de solo 40 a

43 vértebras, y presenta una pigmentación dorsal y ventral sobre la última parte del notocordio (después del pedúnculo caudal) que se hace presente a partir del eleuteroembrión. Deben considerarse también el desarrollo osteológico, ya que a partir de los 20.75 mm H. thrissina desarrolla un hipomaxilar presente únicamente en ese género de la familia Clupeidae, así como la talla de formación de aletas, y las tallas de osificación endocondral de los hipurales 1-3 varían notablemente en relación a O. libertate (Matus-Nivón et al., datos no publicados).

De Sardinops caeruleus difiere en número de vértebras (48 a 54). Un caracter que solo puede apreciarse en el eleuteroembrión de O. libertate es que la unión posterior del vitelo con el tronco es redondeado, mientras que en S. caeruleus es perpendicular al tronco y por lo mismo el punto de unión es posterior: en esta etapa se observa también que la absorción del glóbulo de aceite concluye casi hasta la absorción total del saco vitelino y su posición en el vitelo al eclosionar es ligeramente posterior a O. libertate y Harengula thrissina (datos no publicados), mientras que en O. libertate se absorbe alrededor de las 20 horas después de la eclosión. En larvas más grandes se observa que S. caeruleus tiene mayor número de miómeros postanales, ya que el ano se distribuye más o menos entre los mismos miómeros, pero tiene más miómeros totales. Por otra parte, la época de

reproducción en invierno no permite que se confunda con O. libertate, que se reproduce en verano.

7. CONCLUSIONES:

La pigmentación, lamorfometria y las cuentas merísticas son las principales características que se consideran en la identificación del ictioplancton, sin embargo, las dos primeras pueden sufrir grandes modificaciones cuando las larvas mueren o al ser fijadas, especialmente en el material de campo, ya que en esos casos no sabemos con precisión si la larva fué capturada (y por lo tanto muerta) al inicio, en el transcurso o al final de un arrastre de plancton. Por todo esto se debe dar mayor importancia al desarrollo osteológico y a las cuentas merísticas, y fomentar la práctica de técnicas de transparentación como la de Potthoff (1984) para darle exactitud a los trabajos.

Es obvio que con el gran parecido que existe entre las larvas de clupeidos en general, y con las otras especies del género *en* particular, es necesario generar las descripciones faltantes, y que en ellas se incluya al menos el desarrollo osteológico de la placa hipúrica y de la aparición de dientes efímeros en el aparato bucal.

El patrón de osificación en dos etapas que se presentó en todos los ejemplares a partir de los 13.17 mm, es muy regular en cuanto a orden de aparición por tallas para cada

hipural.

Por ello, la osificación de estos tres hipurales puede considerarse de valor taxonómico y **sistemático**. Debe pensarse en la posibilidad del uso de su conocimiento para hacer inferencias evolutivas.

No se hizo un estudio detallado de la osificación para todos los clupeoideos disponibles en nuestra colección de peces transparentados, pero se pueden reconocer diferencias en las tallas en que se presenta la segunda osificación en los hipurales de las mismas.

Existen diferencias entre larvas que fueron fijadas anestesiadas y las fijadas postmortem aún cuando provinieron del mismo acuario de desarrollo en laboratorio, entonces es muy probable que se puedan asignar erróneamente a especies o morfotipos diferentes a larvas capturadas por arrastres de plancton, cuyas diferencias se deban más bien al tiempo de arrastre individual previo a la fijación, a factores externos como temperatura y fijación e incluso a su **condición** nutricional (O'Connell, 1976).

8. SUGERENCIAS PARA TRABAJO FUTURO:

Efectuar experimentos similares en laboratorio de huevos recolectados en localidades más al sur, como Sinaloa o Nayarit, para tratar de desarrollar las otras especies del

género, o mejor aún, procurar el desove de especies del género bajo condiciones controladas con el fin de realizar trabajos comparables al presente estudio.

Desarrollar una clave de identificación de larvas y juveniles, basada en la aparición de la osificación endocondral de los hipurales 1 al 3 para los clupeidos de la misma localidad. Esto implica por supuesto, llevar a cabo experimentos similares con otras especies, y conseguir también material de las colecciones científicas disponibles.

En el caso de que los quistes de artemia no hayan sido la causa del "síndrome de boca abierta", este resultaría ser un tema de investigación de gran importancia, debido a la connotación que tiene tanto por su aplicación en la evaluación del recurso como de investigación básica.

9. BIBLIOGRAFIA:

-Ahlstrom, E.H. 1943. Studies on the Pacific pilchard or sardine (Sardinops caerulea); 4. Influence of temperature on the rate of development of pilchard eggs in nature. U.S. Fish. Wildl. Serv., SSRF 23: 26 p.

-Ahlstrom, E.H. 1976. Maintenance of quality in fish eggs and larvae collected during plankton hauls. p. 313-318 In: Zooplankton fixation and preservation. H.F. Steedman (ed.). UNESCO Prese, Paris.

-Bensam, P. 1981. Taxonomic problems in the identification of clupeiform eggs and larvae in Indian waters. Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer. 178: 605-607.

-Berry, F.H. y I. Barrett. 1963. Gillraker analysis and speciation in the thread herring genus Opisthonema. Inter-Am. Trop. Tuna Comm. Bull. 7: 112-190.

-Blaxter, J. H. S. 1971. Feeding and condition of Clyde herring larvae. Rapp. P.-v. Réun. Cons. Int. Explor. Mer 160: 128-136.

-Blaxter, J. H. S. 1976. Reared and wild fish-how do they compare?. Proc. 10th Eur. Symp. Mar. Biol. 1: 11-26.

-Casas-Valdéz, M. 1983. Distribución en tiempo y espacio de las especies de sardina y macarela en Bahía Magdalena, B.C.S., México. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), I.P.N., La Paz, B.C.S., México: 176 p.

-Castro-Aguirre, J.L. 1978. Catálogo sistemático de los peces marinos que penetran a las aguas continentales de México con aspectos zoogeográficos y ecológicos. Depto. de Pesca. Inst. Nal. Pes., Serv. Cient. México, 19, xi: 298p.

-Daoulas, Ch. y A.N. Economou. 1985. Seasonal variation of egg size in the sardine, Sardina pilchardus Walb., of the Saronikos Gulf: causes and probable explanation. J. Fish Biol. 28: 449-457.

-Farris, D.A. 1963. Shrinkage of sardine (Sardinops caerulea) larvae upon preservation in buffered formalin. Copeia, 1: 185-186.

-Funes-Rodríguez y A. Esquivel-Herrera. 1985. Determinación de las principales características que permiten la identificación de las larvas de Opisthonema_{HDD.} en la costa del Pacífico de Baja California Sur. Inv. Mar. CICIMAR, (2): 77-85.

-Funes-Rodríguez, R. y A. Esquivel-Herrera. 1988. Comparación de los caracteres merísticos, morfométricos y patrones de pigmentación en larvas del género Opisthonema Gill, 1861, en el noroeste de México. Ciencias Marinas 14(3): 51-68.

-García-Coll, I. 1978. Determinación de edad y ritmo de crecimiento de la sardina crinuda (Opisthonema libertate Günther, 1867) en la región de Guaymas, Sonora. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México: 50 p.

-García-Gómez, M. y D. Molina. 1986. Edad y crecimiento de la sardina crinuda de la zona de Guaymas. Ciencia Pesquera. Inst. Nal. Pesca. Sría. de Pesca, México, 71(5):17-41.

-Gil-Hernández, R.A. 1982. Censo larvario y biomasa reproductora de la sardina crinuda Opisthonema libertate. Golfo de California. Verano de 1977. Tesis profesional, Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México: 81 p.

-Hay, D.E. 1981. Effects of capture and fixation on gut contents and body size of Pacific herring larvae. Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer., 176: 395-400.

-Hedgecock, D., K. Nelson y L. G. López-Lemus. 1988. Biochemical genetic and morphological divergence among three species of thread herring (Opisthonema) in northwest Mexico. CalCOFI Rep., 29:110-121.

-Houde, E. D. y P. L. Fore, 1973. Guide to identity of eggs and larvae of some Gulf of Mexico clupeid fishes. Fla. Dep. Nat. Resour. Mar. Res. Lab. Leaflet Ser. 4(pte.1 No.23): 14p.

-Houde, E.D., W.J. Richards y V.P. Saksena. 1974. Description of eggs and larvae of scaled sardine, Harengula jaguana. Fish. Bull. U.S. 72: 1106-1122.

-Hunter, J.R. 1984. Synopsis of culture methods for marine fish larvae. p. 24-27. In: Ontogeny and syetematicice of fishes. H.G. Moser, W.J. Richards, D.M. Cohen, M. P. Fahay, A.W. Kendall, Jr. y S.L. Richardson (eds.). Spec. Publ. No. 1, Amer. Soc. Ichtyol. Herpetol.

-Johnson, J. R., J. G. Loeach y A. B. Blair 1986. A morphometrical comparison between cultured and wild juvenile American shad. The Proaressive Fish-Culturist 48: 168-170.

- Juárez O., C. del C. y R. Funes R. 1981. El ictioplancton de la Ensenada de La Paz. p. 92. In: Resúmenes y programa, VII Simp. Latinoamericano sobre Oceanografía Biológica. Acapulco, Gro, México, 15-19 de noviembre de 1981.

-Juárez O., C. del C. 1983. Estructura de algunas comunidades ictioplanctónicas de la Ensenada de La Paz, B.C.S. Instituto Politécnico Nacional, Dirección de Graduados e Investigación. p. 18. In: Resúmenes Primeras Jornadas Científicas de Graduados, 7-9 de septiembre de 1983, México, D.F.

-Kendall, A. W., E. H. Ahlstrom y H. G. Moser. 1984. Early life history stages of fishes and their characters. p. 11-

22. **In:** Ontogeny and Systematics of fishes. H. G. Moser, W. J. Richards, D. M. Cohen, M. P. Fahay, A. W. Kendall, Jr. y S. L. Richardson (eds.). Spec. Publ. No. 1. **Amer. Soc. Ich. Herp.**

-Lagúñez-Moreno, L. M. 1989. Identificación de razas geográficas de **Opisthonema sp.** de las costas de Baja California Sur. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). 1. P. N., La Paz, B.C.S., México: 63 p.

-López-Lemus, L. G. 1986. Genetic relationship of the different morphotypes of the clupeid fish **Opisthonema spp.** in the west coast of Baja California and the Gulf of California. **CalCOFI abstracts**, annual conference, October, 1986: 21-23.

-Matus-Nivón, E., R. Ramírez-Sevilla, J. L. Ortiz-Galindo, R. Martínez-Pecero y B. González-Acosta. 1989. El huevo y la larva de la sardina crinuda del Pacífico **Opisthonema libertate** (Günther). **Rev. Biol. Trop.** 37(2): 115-125.

-McGowan, M.F. y F.H. Berry, 1984. Clupeiformes: Development and Relationships. p. 108-126. Ontogeny and systematics of fishes. **In:** H.G. Moser, W.J. Richards, D.M. Cohen, M. P.

Fahay, A.W. Kendall, Jr. y S.L. Richardson (eds.). Spec. Publ. No. 1, Amer. Soc. Ichtyvol. Herpetol.

-Miller, D.J. 1952. Development through the prolarval stage of artificially fertilized eggs of the Pacific sardine (Sardinops caerulea). Calif. Fish and Game, 38: 587-595.

-Miller, R.V. 1969. Constancy of epibranchial organs and fourth epibranchial bones within species groups of clupeid fishes. Copeia: 308-312.

-Mito, S. 1961. Pelagic fish eggs from Japanese waters-1. Clupeina, Chanina, Stomiatina, Myctophida, Anguillida, Belonida and Syngnathida. Sci. Bull. Fac. Agric. Kyushu Univ. 18:285-310.

-Moser, H. G. y E. H. Ahlstrom. 1970. Development of lanternfishes (Family Myctophidae) in the California current. Part 1. Species with narrow-eyed larvae. Nat. Hist. Los Angeles Ctv. Sci. Bull. 7:145 p.

-O'Connell, Ch. P. 1976. Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy, Engraulis mordax Girard. J. exp.

Biol. Ecol., 25:285-312.

-Páez-Barrera, F. 1976. Desarrollo gonadal, madurez, desove y fecundidad de la sardina crinuda, Opisthonema libertate (Günther) de la zona de Mazatlán, basados en el análisis histológico de la gónada. Mem. Simp. sobre Recursos Masivos de México. Ensenada, B.C. México, 28-30 sept. 1976: 263 p.

-Potthoff, T. 1984. Clearing and staining techniques, p: 35-37. In: Ontogeny and Systematics of fishes. H.G. Moser, W. J. Richarda, D. M. Cohen, M.P. Fahay, A. W. Kendall, Jr., y s. L. Richardson (eds.), Spec. Publ. No. 1, Amer. Soc. Ichthvol. Herpetol.

-Richards, W. J., R. V. Miller y E.D. Houde. 1974. Eggs and larval development of the Atlantic thread herring, Opisthonema oglinum. Fish. Bull. U.S. 72:1123-1136.

-Ricker, W.E. 1984. Computation and uses of central trend lines. Can. J. Zool., 62:1897-1905.

-Rodríguez-Domínguez, G. 1987. Caracterización Bioecológica de las tres especies de sardina crinuda (Opisthonema libertate, O. medirastre y O. bulleri) del Pacífico mexicano. Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica

y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Ensenada, B. C., México: 139 p.

-Rodríguez-Sánchez, R. 1989. Taxonomía de las especies del género Opisthonema (sardina crinuda) en el noroeste de México. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), 1. P. N., La Paz, B. C. S., México: 101 p.

-Romero-Ibarra, N. 1988. Alimentación de la sardina crinuda Opisthonema libertate (Günther) en el brea de Bahía Magdalena, B. C. S., México, Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), 1. P. N., La Paz, B. C. S., México: 54 p.

-Saldierna-Martínez, R.J., C. A. Sánchez-Ortíz y G. R. Vera-Alejandre. 1987. Estudios sobre los primeros estadios de vida de las sardinas crinuda (Opisthonema libertate), y monterrey (Sardinops sagax), en Bahía Magdalena, B. C. S. 1. Descripción de huevos. II. Distribución y abundancia de huevos y larvas. III. Mortalidad larval. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS), La Paz, B. C. S., México. 217 p.

-Saville, A., 1964. Estimation of the abundance of a fish stock from egg and larval surveys. p. 164-170. In: On the measurement abundance of fish stocks. J.A. Gulland (ed), Rapp. P.-v Reun. Cons. Perm. int. Explor Mer, 155.

-Scherer, M.D. 1973. Some skeletal anomalies in American shad (Alosa **sapidissima**) with an example of vertebral curvature in blueback herring (A. **aestivalis**). Chesapeake Science, 14:298-300.

-Scofield, E. C., 1934. Early life history of the California sardine (Sardinops caerulea) with special reference to distribution of eggs and larvae. Fish. Bull. U.S., 41:48p.

-Stauffer, G.D. y S. J. Picquelle. 1980. Estimates of the 1980 spawning biomass of the central subpopulation of northern anchovy, Natl. Mar. Fish. Serv., NOAA. Southw. Fish. Cent. Admin. Rep. W-80-09: 41 p.

-Scherer, M. D. 1973. Some skeletal anomalies in American shad (Alosa **sapidissima**) with an example of vertebral curvature in blueback herring (A. **aestivalis**). Chesapeake Science 14(4): 298-300.

-Swan, M.A. 1968. Double-mouth deformity in a trout (Salmo trutta) and its cause. J. Zool. Lond. (156): 449-455.

-Theilacker, G.H. 1978. Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, Trachurus symmetricus, larvae. Fish. Bull. U.S. 76(2): 403-414.

-Theilacker, G. H. 1980, Changes in body measurements of larval northern anchovy, Engraulis mordax, and other fishes due to handling and preservation. Fish. Bull. U.S. 78:685-692.

-Theilacker, G. H. y R. Lasker. 1974. Laboratory studies of predation by euphausiid shrimps on fish larvae. p. 287-299. In: The Early Life History of Fish. J.H.S. Blaxter (ed.). Springer-Verlag, Berlin.

-Torrea-Villegas, J. R., C. G. Garcia-Melgar, R. 1. Ochoa-Báez y V. A. Levy-Pérez. 1985. Parámetros reproductivos de las poblaciones de Opisthonema libertate (Günther) (Pisces: Clupeidae) y discusión sobre su evaluación por producción de huevos, en Bahía Magdalena, B.C.S., México. Inv. Mar. CICIMAR, 2:45-58.

-Torres-Villegas, J. R. y L. Perezgómez, 1988. Variación de la fecundidad de Opisthonema libertate (Günther, 1866) (Pisces:Clupeidae) de 1983 a 1985 en Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. Inv. Pesa. España. 52(2):193-206.

-Whitehead, J. P. 1985. FAO **species** catalogue. Vol. 7 Clupeoid **fishes** of the world (suborder Clupeoidei). An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolf-herrings. Part 1- Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. FAO Fish. Synop., 7 (125) Pti 1: 303 p.

-Whitehead, J. P., G. J. Nelson y T. Wongratana, 1988. FAO **Species** Catalogue Vol. 7 Clupeoid **Fishes** of the world (Suborder Clupeoidei). An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, **anchovies** and wolf-herrings. Part 2- Engraulididae. FAO Fish. Synop., 7 (125) Pt. 2: 305-579.

-Wolf, P. y P. E. Smith. 1985. An inverse egg production method for determining the relative magnitude of **Pacific** sardine spawning biomass off California. CalCOFI Rep. 26:130-138.

CUADRO 1.-MORFOMETRIA DE LOS HUEVOS DE *Opisthonema libertate* PARA CADA ESATADIO DE DESARROLLO.

ESTADIOS	DIAMETRO DEL CORION		DIAMETRO DEL VITULO		DIAMETRO DEL GLOBULO			
	JULIO	AGOSTO	JULIO	AGOSTO	JULIO	AGOSTO		
	n	n	X s	X s	X s	X s		
VI	40	17	1.69 0.07	1.51 0.11	0.68 0.04	0.62 0.04	0.12 0.01	0.11 0.02
VII	40	39	1.69 0.06	1.65 0.07	0.71 0.04	0.69 0.04	0.12 0.01	0.12 0.02
VIII		20		1.55 0.10		0.64 0.05		0.12 0.01
IX	1	20	1.80	1.59 0.04	0.74	0.63 0.04	0.12	0.12 0.01
X	7	20	1.65 0.09	1.63 0.12	0.56 0.07	0.58 0.04	0.10 0.01	0.12 0.02
XI	4	1	1.61 0.08	1.63	0.57 0.05	0.58	0.11 0.01	0.10
TOTAL/MES	92	117	1.68 0.07	1.60 0.10	0.68 0.06	0.64 0.06	0.12 0.00	0.12 0.02
			X	s	X	s	X	s
TOTAL	209		1.64	0.10	0.66	0.06	0.12	0.01

Donde: n= número de huevos; X= media y s= desviación estandar
 -Las medidas están dadas en milímetros

CUADRO 2.-MORFOMETRIA DE LAS LARVAS CON SACO VITELINO DE *Opisthonema libertate* DE 2.29 A 4.58 mm (LN).

EDAD (Hr)	n	LONG. TOTAL	LONG. NOTOCORDAL	LONG. PREANAL	ALTURA MAXIMA	LONG. CEFALICA	LONG. HOCICO	DIAM. OCULAR	LONG. VITELO	ANCHO VITELO	DIAM. GLOBULO
0	X ± (Intervalo)	6 2.47 0.13 (2.36 2.64)	2.40 0.12 (2.29 2.56)	2.12 0.09 (2.02 2.24)	0.68 0.02 (0.66 0.71)	0.51 0.04 (0.44 0.54)	0.10 0.01 (0.09 0.11)	0.20 0.01 (0.20 0.22)	0.90 0.05 (0.86 0.94)	0.60 0.05 (0.58 0.65)	0.11 0.02 (0.08 0.12)
20	X ± (Intervalo)	5 4.00 0.21 (3.87 4.40)	3.90 0.22 (3.67 4.21)	3.30 0.21 (3.04 3.58)	0.42 0.08 (0.35 0.55)	0.49 0.05 (0.42 0.53)	0.09 0.01 (0.08 0.11)	0.20 0.02 (0.19 0.23)	0.84 0.10 (0.60 0.90)	0.25 0.09 (0.19 0.23)	0.07 0.02 (0.04 0.11)
42	X ± (Intervalo)	4 4.65 0.10 (4.56 4.80)	4.42 0.11 (4.33 4.58)	3.70 0.09 (3.65 3.84)	0.35 0.03 (0.33 0.40)	0.64 0.02 (0.62 0.66)	0.11 0.01 (0.10 0.12)	0.24 0.01 (0.23 0.26)	0.06 0.08 (0.58 0.75)	0.11 0.01 (0.07 0.13)	

Donde: n= número de larvas, X= media y s= desviación estandar.

-Las medidas estan dadas en milímetros.

CUADRO 3.-MORFOMETRIA DE LAS LARVAS DE *Opisthonema libertate* POSTABSORCION DEL SACO VITELINO. Las medidas están dadas en milímetros. Excepto las medidas que se indican con una "x", las demás corresponden a ejemplares fijados.

	LP	LT	LPa	LPp *	LPd	AM	LC	LH	
	3.70	3.90	3.13	1.77		0.35	0.65	0.11	0.26
	4.44	4.68	3.76	1.99		0.31	0.65	0.11	0.22
	4.52	4.78	3.80	2.15		0.37	0.72	0.11	0.26
	4.54	4.69	3.96	2.15		0.34	0.67	0.11	0.26
	4.59	4.86	3.89	2.19		0.36	0.72	0.12	0.26
	5.11	5.34	4.40	2.37		0.41	0.81	0.14	0.28
PRE-FLEXION	5.13	5.37	4.36	2.36		0.37	0.80	0.13	0.28
	5.20	5.46	4.41	2.38		0.41	0.84	0.13	0.34
	5.28	5.54	4.50	2.34		0.40	0.77	0.14	0.27
	5.40	5.74	4.69	2.57		0.54	0.86	0.12	0.29
	5.60	5.81	4.80	2.57		0.53	0.87	0.15	0.30
	5.78	5.82	4.99	2.57		0.53	0.86	0.11	0.29
	5.92	6.18	5.12	2.61		0.50	0.88	0.12	0.30
	6.25	6.48	5.37	2.79	4.45	0.39	0.94	0.15	0.30
	6.61	7.22	5.72	3.56	5.01	0.62	1.39	0.31	0.48
	6.90	7.21	5.96	3.05	4.69	0.62	1.04	0.19	0.35
	7.04	7.32	6.18	3.14	4.96	0.65	1.12	0.22	0.31
FLEXION	7.05	7.30	6.17	3.10	4.82	0.68	1.11	0.20	0.30
	7.14	7.39	6.23	3.10	4.87	0.62	1.12	0.21	0.30
	7.3s	7.60	6.29	3.28	5.00	0.56	1.21	0.20	0.40
	7.43	7.74	7.12	3.58	5.42	0.71	1.38	0.31	0.40
	7.53	7.98	6.71	2.33	5.13	0.62	1.33	0.23	0.33
	8.74	9.17	7.58	3.86	5.83	0.66	1.37	0.30	0.42
	9.30	9.91	8.28	4.09	6.07	0.70	1.44	0.31	0.44
	9.74	10.31	8.26	3.98	6.81	0.72	1.42	0.33	0.42
	10.78	11.49	9.51	4.89	6.83	0.81	1.80	0.44	0.49
POST-FLEXION	10.94	11.67	8.68	4.30	6.44	0.72	1.67	0.39	0.48
	11.15	11.97	9.87	4.87	7.08	0.84	1.72	0.46	0.48
	11.94	12.72	10.62	5.56	7.83	0.88	1.94	0.41	0.52
	12.81	13.67	11.25	6.17	7.94	1.17	2.44	0.62	0.64
	13.33	14.39	11.90	6.39	8.17	1.11	2.40	0.56	0.63
	16.97	19.42	14.27	8.07	10.00	2.08	4.17	1.15	1.09
TRANS-FORMACION	19.13	20.48	16.14	8.72x	11.18	1.72	3.56	0.89	0.89
	21.33	22.22	17.61	9.48x	11.33	2.61	4.59	1.11	1.22
	22.33	24.00	17.58	10.15x	11.75	2.56	4.64	1.23	1.09
	22.33	24.22	18.05	10.41x	12.39	3.11	4.72	1.31	1.19
	22.63	24.35	18.61	10.15x	12.50	2.83	4.74	1.28	1.23

* Antes de la formación de las aletas pélicas (19.13 mm), la longitud prepélica se tomó como la longitud plúvica

x Estas medidas se tomaron en organismos transparentados, por lo que varían en relación al material fijado y al fresco.

CUADRO 4.-AJUSTE A UN MODELO POTENCIAL PARA CRECIMIENTO ALOMETRICO EN CADA FASE DE DESARROLLO EN LARVAS DE *Opisthonema libertate*.

Los intervalos estan referidos a la longitud notocordal o patrón dada en mm.

RELACION MORFOMETRICA	PREFLEXION				FLEXION				POSTFLEXION				TRANSFORMACION			
	v	a'	di	r ^{**}	v	a'	di	r ^{**}	v	a'	di	r ^{**}	v	a'	d	r ^{**}
	3.70—6.24 (3.70—5.92)				6.25—8.73 (6.25—7.53)				8.74—16.96 (8.74—13.33)				16.97—> (16.97—22.63)			
					a								a			
LP=a'LT	1.06	0.860	3.199	0.998*	1.01	0.929	0.013	0.954	0.957	1.042	2.659*	0.999	1.181	0.522	0.17	0.986
LPa=a'LP	1.04	0.794	2.410	0.998*	1.39	0.410	1.919	0.933	1.084	0.711	0.858	0.971	0.848	1.301	2.01	0.984
LPd=a'LP					0.81	0.999	1.217	0.774	0.953	0.739	0.240	0.839	0.806	1.001	1.42	0.941
LPp=a'LP	0.884	0.555	2.467	0.983*	1.00	0.447	0.016	0.562	1.331	0.201	2.218	0.955	0.879	0.661	1.41	0.981
AM=a'LP	1.517	0.036	2.105	0.828	3.01	0.002	2.426	0.685*	1.415	0.028	1.992	0.921	1.888	0.008	1.48	0.774
LC=a'LP	0.859	0.195	1.526	0.928	2.26	0.014	1.790	0.564	1.501	0.049	3.321*	0.964	0.975	0.229	0.07	0.693
LH=a'LC	1.047	0.159	0.189	0.566	1.71	0.166	2.745	0.916*	1.184	0.210	1.468	0.960	1.262	0.179	1.11	0.929
DOc=a'LC	0.928	0.353	0.440	0.792	1.27	0.283	0.808	0.712	0.733	0.327	7.199*	0.991	1.084	0.224	0.42	0.932
	n = 13				n = 9				n = 9				n = 6			

Donde: Según Richter (1984) v=pendiente, a'=ordenada al origen, di=diferencia de la isometría y r=coeficiente de correlación. LT=long. total, LP=long patrón o notocordal,

LPa=long. preanal, LPd=long. predorsal, LPp=long. prepelvíca, AM=altura máxima, LC=long. cefálica, LH=long. del hocico y DOc=díam. ocular.

* Relaciones en los cuales se detecta la alometría con un 95% de confianza

** Todos los coeficientes de correlación obtenidos son significativos con un 95% de confianza

Entre paréntesis, los intervalos reales de long. patrón o notocordal observados en larvas fijadas.

CUADRO 5.-FRECUENCIA Y PROMEDIO DEL NUMERO DE MIOMEROS TOTALES EN LARVAS DE *Opisthonema libertate*.

TIPO DE MATERIAL	NUMERO DE MIOMEROS (FRECUENCIAS)					PROMEDIO	n
	45	46	47	48			
MATERIAL FIJADO	31	22	9			45.7	62
MATERIAL VIVO	14	11	11	1		46	37
MATERIAL TRANSPARENTADO	1	4	7			46.5	12
SUBTOTALES	46	37	27	1		Total	111

-El material transparentado presenta los conteos mas confiables.

-Donde: n= número de ejemplares.

CUADRO 6.-DISTRIBUCION DE MIOMEROS EN RELACION A LAS ALETAS DORSAL Y ANAL DE Opisthonema libertate.

CLASES DE TALLA LP (mm)	MIOMEROS PREANALES		MIOMEROS POSTANALES		MIOMEROS PREDORSALES		MIOMEROS POSDORSALES -PREANALES	
	n	(Interv.) X	n	(Interv.) X	n	(Interv.) X	n	(Interv.) X
01.91 - 03.90	17	(37-40) 39.1	17	(5-8) 6.82				
03.91 - 05.90	23	(37-39) 38.0	23	(7-9) 7.43	5+	(27-39) 28.20	5	(6-8) 7.20
05.91 - 07.90**	11	(37-39) 38.3	11	(6-10) 1.09	11	(26-30) 27.91	9	(6-8) 7.36
07.91 - 09.90	5	(37-39) 38.0	5	(7-10) 8.40	5	(25-27) 26.40	5	(7-8) 7.20
09.91 - 11.90*	4	(37-38) 37.8	4	(8-10) 9.00	4	(25-26) 25.50	4	(5-7) 6.25
11.91 - 13.90*	2	(37-38) 37.5	2	9 9.00	2	24 24.00	2	6 6.00
13.91 - 15.90	1	37 37	1	10 10.00	1	24 24.00	1	5 5.00
15.91 - 17.90	1	34 34	1	12 12.00	1	20 20.00	1	5 5.00
17.91 - 19.90*	3	(33-35) 33.7	3	12 12.00	3	(19-20) 19.33	3	5 5.00
19.91 - 21.90**	3	(32-34) 33.0	3	13 13.00	3	(16-19) 17.67	3	(5-7) 6.00
21.91 - 23.90**	2	(32-33) 32.5	2	13 13.00	2	(18-19) 18.50	2	7 7.00

Donde: X=media y n=número de larvas.

* Cada ejemplar transparentado incluido en cada intervalo se representa con un asterisco

+ No se presentan radios. Las mediciones se hicieron hasta el primer pterigióforo

La línea divisoria marca el inicio de la transformación

CUADRO 7.-DISTRIBUCION DE VERTEBRAS EN RELACION A OTRAS PARTES DEL CUERPO EN LARVAS TRANSPARENTADAS DE *Opisthonema libertate*.

LP (mm)	VERTEBRAS PREANALES	VERTEBRAS POSTANALES	VERTEBRAS PREDORSALES	VERT. POSDORSALES -PREANALES
18.85	37	10	21	6
20.83	34	12	20	5
20.98	36	10	20	7
22.55	36	11	21	6
22.74	35	11	20	7

CUADRO 8.-DISTRIBUCION DE VERTEBRAS EN RELACION A OTRAS PARTES DEL CUERPO EN JUVENILES TRANSPARENTADOS DE CAMPO DE *Opisthonema* spp.

LP	VERTEBRAS PREANALES	VERTEBRAS POSTANALES	VERTEBRAS PREDORSALES	VERT. POSDORSALES -PREANALES	VERTEBRAS PREC. CAUD.
24.79	33	13	15	9	23 23
26.40	33	14	15	9	23 24
27.18	33	14	15	8	23 24
27.81	33	14	15	8	23 24
27.91	33	14	15	9	23 24

- Los juveniles del cuadro 8 provienen de campo, y no es posible identificarlos con las claves de Berry y Barrett (1963).
- Para ambos cuadros, las observaciones se hicieron en todos los casos sobre organismos transparentados y teñidos.

CUADRO 9.-CARACTERES MERISTICOS DE LARVAS DE *Opisthonema libertate*.

LN o LP (mm)	RADIOS CAUDALES		RADIOS DORSALES	RADIOS ANALES	RADIOS PECTORALES	RADIOS PELVICOS	INTERNEU- RALES	BRANQUISPINAS 1er. ARCO BRANQUIAL **		
	Dor.	Ven.			**	**	**	Ebr.	Cbr.	Hbr.
2.0-7.1	No hay estructuras contables en 49 ejemplares en este intervalo									
7.2 *	3	2	3							
7.4 *	6	8	6							
7.6 *	8	8	10							
8.3	3	4	6							
8.7 *	10	8	6							
9.2	6	8	8							
9.2 *	10	9	10							
9.7 *	9	9	12							
10.3	9	8	15	10						
10.4	10	9	9							
10.7 *	10	9	13							
11.2	9	9	10							
12.9	10	9	13	14						
13.2 *	10	9	14	13					7	
14.0	10	9	14	13						
16.8	10	9	18	17						
18.8 *	10	9	18	19			5	2	12	1
19.1	10	9	16	16						
19.3	10	9	18	17						
20.8 *	10	9	17	19	10	7	8	6	12	5
21.0	10	9	17	17	10	8	8	7	12	7
21.1	10	9	18	18						
22.5 *	10	9	18	16	11	8	8	7	12	7
22.7 *	10	9	17	16	14	8	9	9	12	8

* Cuentas realizadas en larvas transparentadas y teñidas. **Cuentas realizados únicamente en larvas transparentadas y teñidas.

Ebr. =epibranchial; Cbr. =ceratobranchial y Hbr. =hipobranchial

**CUADRO 10.-RESUMEN DE LA SECUENCIA DEL DESARROLLO DE LAS ALETAS
EN *Opisthonema libertate***

Longitud patron (mm)				
Aleta	Aparición del muñón	Aparición primer radio	Complemento de radios total	No. de radios en la aleta totalmente desarrollada
Dorsal	5.1-6.1	7.0-7.3	14.0-16.8	17 a 18
Caudal				
Primarios	-----	7.2	9.2-11.2	19
Secundarios	-----	10.7	?	Se alcanzan conteos de 8 dorsales y 6 ventrales (22.7 mm)
Anal	9.2	10.2-12.0	18.85	18 a 19; anormalmente 16 ? 17 *
Pelvíca	18.8	18.8-20.8	20.8	8
Pectoral	3.9	18.8-20.8	?	14 radios a los 22.7 mm

* Característica anómala, producto de la fusión de uno o dos pares de pterigióforos

~ Las medidas están referidas a tallas de organismos en fresco.

CUADRO II.-LONGITUD MINIMA EN QUE SE OBSERVO EL PROCESO DE OSIFICACION DE LOS HIPURALES 1 AL, 3 EN ORGANISMOS TRANSPARENTADOS DE Opisthonema libertate.

Los valores están dados en mm (LP) de la talla en fresco para ejemplares hasta los 22.55 mm. La talla de los organismos de campo de 24.79 y 50.5 mm corresponde a material fiado.

EVENTO:	HIPURAL-1	HIPuRAL-2	HIPURAL-3
APARICION DE CARTILAGO (AZUL)	7.19	7.19	7.19
INICIO DE LA OSIFICACION PERICONDRAL (ROSA)	9.73	9.73	10.69
APARICION DE CARTILAGO ENDOCONDRA (AZUL)	?	13.17	20.83 y 22.55
INICIO DE OSIFICACION ENDOCONDRA (ROJO)	24.79	20.98	24.79
FIN DE LA OSIFICACION PERICONDRAL	50.5*	50.5*	50.5'
FIN DE LA OSIFICACION ENDOCONDRA	50.5*	24.79	50.5*

∞ **Es probable que este evento se haya dado antes pero no se cuenta con material entre los 27.9 y los 50.5 mm LP.**

CUADRO 12.-DESARROLLO OSTEOLÓGICO DE LA ALETA CAUDAL EN LARVAS TRANSPARENTADAS DE *Opisthonema libertate*, LP en mm.

ESTRUCURA:	APARICION DE CARTILAGO	PRINCIPIO DE OSIFICACION	OSIFICACION TOTAL
Ph	7.19	9.73	
Hi-1	7.19	9.73	
Hi-2	7.19	9.73	
Hi-3	7.19	10.69	
Hi-4	7.39	10.49	
Hi-5	7.39	10.69	
Hi-6	9.73	13.17	
He	7.39	13.17	
Ur-1	9.19	9.73	10.69
Ur-2			13.17
Ur-3		18.85	20.83
U-1		18.85	20.83
u-2		13.17	18.85
PU-1		13.17	18.85
PU-2		18.85	20.83
Ep	10.69 (2) 13.17 (3)	20.83	
AN	13.17	18.85	
Nm		18.85	20.83
N	8.69 (2)	18.85	
RP	7.19 (5) 7.39 (13) 8.65 (14) 9.19 (19)	9.73 (19)	18.85
Rs	10.69 (1v) 13.17 (2v,2d) 20.98 (1)	13.17 (1v,1d) 20.98 (5v,7d) 22.55 (5v,8d)	
CRD	13.17 (1) 18.85 (2)		

Donde: Ph=parabipural; Hi=hipurales; He=hemal; Ur=uroneurales; U=urales; PU=preurales; Ep=epurales; AN=arco neural modificado; Nm=neural modificada; N=neural; Rp=radios primarios; Rs=radios secundarios; v=ventral; d=dorsal y CRD=cartilago radial distal.

- Entre paréntesis el número de piezas esqueléticas de cada talla.

La osificación fue casi total para los hipurales, especialmente del 2 al 6, en los que ya solo se observa una delgada capa de cartilago en la parte distal de los mismos (Figs. 7A, B y C). El hipural-1 aún presenta remanencias de cartilago en la parte proximal.

CUADRO 13.-DIAMETRO DEL CORION, DIAMETRO DEL VITELO Y DIAMETRO DEL GLOBULO DE ACEITE PARA TRES ESPECIES DEL GENERO *Opisthonema*.

	<u><i>O. libertate</i></u>		<u><i>Opisthonema</i> spp.</u> (Saldierna-Martínez et al., 1987)		<u><i>O. oglinum</i></u> (Richards et al. 1974)	
	Intervalo (mm)	X (mm) n	Intervalo (mm)	X (mm) n	Intervalo (mm)	X (mm) n
		209		215		23
DIAMETRO CORION	1.34-1.86	1.63	1.21-1.84	1.56	1.10-1.28	1.19
DIAMETRO VITELO	0.42-0.89	0.66	0.50-0.65	0.57	0.58-0.68	0.66
DIAMETRO GLOBULO ACEITE	0.08-0.17	0.12	0.09-0.12	0.11	0.12-0.16	0.15

CUADRO 14.-DISTRIBUCION DE MIOMEROS EN RELACION A LAS PARTES DEL CUERPO PARA TRES ESPECIES DEL GENERO *Opisthonema*.

ESPECIE	TALLA (mm)	MIOMEROS							
		MIOM. PREDORSALES		MIOM. PREANALES		POSTORSALES-PREANALES		MIOMEROS TOTALES	
		Intervalo	X	Intervalo	X	Intervalo	X	Intervalo	X
<i>O. libertatis</i>	+ 3.91-9.90	25 - 30	27.62	37 - 39	38.08	6 - 8	7.27	45 - 48	45.66
	! 9.91-15.90	24 - 26	24.86	37 - 38	37.60	5 - 7	6.00	45 - 48	46.74
	# 3.91-15.90	24 - 30	26.93	37 - 39	38.01	5 - 8	6.93	45 - 48	45.78
	*15.91-23.90	16 - 20	18.66	32 - 35	33.23	5 - 7	5.77	45 - 47	45.78
<i>O. ogilbyi</i> (Richards et al., 1974)	# <15.00					8 - 10			
	*15.50-21.10		21.50		37.40	5 - 7			
<i>Opisthonema</i> spp. (Funes- Rodríguez y Esquivel- Herrera, 1985)	+ <10.30	28 - 31		39 - 40		6 - 7	7*	44 - 46	
	!10.30-15.71	23 - 27		35 - 39		5 - 7	5*	44 - 45	
	# <15.71	23 - 31		35 - 40		5 - 7			

-Los símbolos iguales indican tallas comparables entre sí.

* Valor modal

GRAFICA 1.-Relaciones morfométricas de la longitud patrón con diferentes partes de l cuerpo en larvas postabsorcibn del saco vitelino. Donde: A: LP vs LT; B: LP vs LPd; C: LP vs LPp; D: LP VS LC; E: LP vs LPa y LP vs AM.

GRAFICA 2.-Relaciones morfométricas de la longitud cefálica con la longitud del hocico y el diámetro ocular en larvas postabsorción del saco vitelino.

GRAFICA 3.-RELACIONES MORFOMETRICAS REFERIDAS A LA LONGITUD PATRON

+	L.preanal	▲	Long. prepélvica	*	Long. predorsal
□	altura máxima	×	Longitud cafálica		

GRAFICA 4.-RELACIONES MORFOMETRICAS REFERIDAS A LA LONGITUD CEFALICA.

FIGURA 2A-C.- Mediciones practicadas en el huevo y la larva de *O. libertate*. Donde: DC: Diámetro del corion; DG: Diámetro del glóbulo de aceite; DV: Diámetro del vitelo; LN: Longitud notocordal; LP: longitud patrón; LT: Longitud total; LC: Longitud cefálica; LPd: Longitud predorsal; LPa: Longitud preanal; LPp: Longitud prepélvica; AM: Altura mxhima y LH: Longitud del hocico.

FIGURA 3A-C.- Huevo y eleuteroembrión de *O. libertate*. A: DC=1.65 mm; B: LN^{*}=2.47 mm (2.3-2.6 mm); C: LN=4.17 mm (3.7-4.2 mm). Con asterisco la longitud en larvas vivas anestesiadas y entre paréntesis la longitud esperada de organismos fijados.

FIGURA 4A-E.- Larvas de O. libertate. A: $LN^* = 5.07$ mm (4.2-6.1 mm); B: $LP = 8.68$ mm (6.2-9.9 mm); c: $LP^* = 12.09$ mm (10.0-15.9 mm); D: $LP^* = 19.15$ mm (16.0-20.0 mm) y E: $LP = 22.63$ mm (20.0-23.0 mm). Con asterisco la longitud de larvas vivas anestesiadas y entre paréntesis la longitud esperada de organismos fijados.

FIGURA 5.-Incorporación de piezas esqueléticas en la aleta caudal. A: LP=7.19 mm; B: LP-g.17 y C: LP=20.98 mm. Donde: Nc=notocordio; Hi-hipurales; Ep-epurales; Ur-uroneurales; U-Urales; Ph-parahipural; He-hemal; N-neural; Nm-neural modificada y ANm-arco neural modificado.

FIGURA 6.-Osteología del aparato mandibular durante la etapa de "boca abierta" y después de ella. A: Vista lateral durante la etapa de "boca abierta", mostrando una cabeza del palatino bastante voluminosa que impide el cierre de la boca. B: Vista dorsal en el mismo ejemplar y C: Vista ventral en un ejemplar que ha superado esa etapa. Donde: q=quiste de *Artemia*; d=dentario; pm=premaxilar; pal.=palatino; etm. lat.=etmoide lateral; fr=frontal; ps=paraesfenótico; ect.=ectopterigoide; c=cuadrado; a=angular; max.=maxila; c. pal.=cabeza del palatino; c. etm.=cartilago etmoide y v=vómer. (Ilustración original elaborada por P. Whitehead).

FIGURA 8.-A y B: Osificación endocondral en juveniles de campo de *Opisthonema* spp; A: Durante el proceso a los 27.91 mm LP y B: Ya concluida la osificación a los 50.5 mm LP. C: Hocico de una larva mostrando un quiste de *Artemia salina* en la narina izquierda.

FIGURA 7.—Osificación endocondral en los hipurales 1-3 en larvas de laboratorio. A: 13.17 mm LP; B: 18.85 mm LP; C: Expansión del cartilago a los 20.83 mm LP y D: Formación del hueso trabecular en el centro del hipural-2 e inicio del proceso en el hipural-3 en una larva de 20.98 mm LP.