



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**“OSTEOGÉNESIS DEL ESQUELETO AXIAL Y APENDICULAR EN
LARVAS DE LA MOJARRA CASTARRICA *Mayaheros urophthalmus*
(GÜNTHER)”**

MODALIDAD DE:

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MERITXELL SANLÚCAR GÓNZÁLEZ

DIRECTORES:

Dr. WILFRIDO MIGUEL CONTRERAS SÁNCHEZ

M. en C. ARLETTE A. HERNANDEZ FRANYUTTI

Marzo, 2022

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Osteogénesis Del Esqueleto Axial Y Apendicular En Larvas De La Mojarra Castarrica Mayaheros Urophthalmus (Günther)

Por Meritxell Sanlúcar González

Osteogénesis Del Esqueleto Axial Y Apendicular En Larvas De La Mojarra Castarrica Mayaheros Urophthalmus (Günther)

INFORME DE ORIGINALIDAD

1%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	www.repositoriodigital.ipn.mx Internet	29 palabras — < 1%
2	repositorio.unas.edu.pe Internet	19 palabras — < 1%
3	ri.ujat.mx Internet	15 palabras — < 1%
4	docplayer.es Internet	14 palabras — < 1%
5	tesis.ipn.mx Internet	14 palabras — < 1%
6	vdocuments.site Internet	14 palabras — < 1%
7	repositorio.unicach.mx Internet	13 palabras — < 1%
8	sites.google.com Internet	13 palabras — < 1%
9	hdl.handle.net Internet	12 palabras — < 1%

10 sedici.unlp.edu.ar 12 palabras — < 1%

Internet

11 www.researchgate.net 12 palabras — < 1%

Internet

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 12 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2022 Flores
Magón
REVISOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

MARZO 01 DE 2022

**C. MERITXELL SANLÚCAR GONZÁLEZ
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se les autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Diseño de Equipo, Máquina o Software Especializado denominado: **"OSTEOGÉNESIS DEL ESQUELETO AXIAL Y APENDICULAR EN LARVAS DE LA MOJARRA CASTARRICA *Mayaheros urophthalmus* (GÜNTHER)"**, asesorado por el Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez y M. en C. Arlette Amalia Hernández Franyutti, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. Nicolás Álvarez Pliego, Dr. Ulises Hernández Vidal, Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez, Dr. Francisco Javier Félix Torres y M. en C. Alejandro Mcdonal Vera.

**ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA, ACCION EN LA FE**


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.

Consortio de
Universidades
Mexicanas
154 AVANDEZ CALLE DE LA UNIFICACION 50011118

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, 337-9611, 337-9706, Fax (993) 354-4308 y 358-1579

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **"OSTEOGÉNESIS DEL ESQUELETO AXIAL Y APENDICULAR EN LARVAS DE LA MOJARRA CASTARRICA *Mayaheros urophthalmus* (GÜNTHER)"**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 01 de Marzo de Dos Mil Veintidos.

AUTORIZO



MERITXELL SANLÚCAR GONZÁLEZ

i. DEDICATORIA

A Dios por siempre estar conmigo en todo momento y darme fuerzas para levantarme.

A mi madre por ser siempre el motivo, el motor de mis sueños y la persona más incondicional en mi vida.

Y a mi hermana por ser siempre la personita que me da ánimos a seguir adelante siempre.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ii. AGRADECIMIENTOS

A mis asesores Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez y Ma. En C. Arlette Amalia Hernández Franyutti por su dedicación, sus enseñanzas, su comprensión, su valiosa amistad, su paciencia al enseñarme, sus consejos en esta investigación, pero sobre todo fueron los que me enseñaron a amar la ciencia, a su enseñanza a nunca rendirte ante tus errores durante el proceso, a siempre dedicarte hacer lo que más te apasiona y amas.

A mis sinodales Dr. Nicolas Álvarez Pliego, Dr. Ulises Hernández Vidal, Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez, Ma. En C. Alejandro Mcdonal Verá y el Dr. Francisco Javier Félix Torres, por sus valiosas observaciones y sobre todo sus grandes enseñanzas durante esta investigación.

A mis grandes amigos y mis primeros maestros Dr. Marco A. López Luna, Biol. María Bárbara Santillán Meza y el Biol. Mauricio Padilla Hernández, por ser los pioneros para inclinarme a esta área de la biología, pero sobre todo por ser los primeros en confiar en mi para hacerlo.

A los doctores y maestra Dr. Lenin Arias Rodríguez, el Dr. Edmundo Rosique Gil y Ma. En C. María J. Contreras García por proporcionarme sus microscopios para así poder elaborar mis descripciones y toma de las fotomicrografías en esta investigación.

A la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez autónoma de Tabasco y el laboratorio de Acuicultura tropical por proporcionarme las instalaciones y el equipo para elaborar mi trabajo.

A mi madre y mi familia por siempre luchar, apoyarme darme ánimos en cada uno de mis sueños en todo momento y jamás dudar de mis esfuerzos.

A mis grandes amigos Dra. Wendi Arévalo Frías, Ma. En C. Elsi B. Recino Reyes, Biol. Moisés González Valencia, Andrea C. Carreta Ortiz, Leidy Sánchez Velázquez, Nicol L. Silvan Osorio, Valentín Uriel Gómez López, Carolina Sánchez Arias, Yuli, Eli, José Reyes, Biol. Roberto Muñoz Zapata, Ángel (QEPD), Gustavo y a todos mis amigos y personas que en algún momento me brindaron su apoyo, a mis amigos ya mencionados y los que se me están pasando por siempre darme ánimos para seguir adelante, apoyarme en el laboratorio y en todo momento, buscar siempre la manera de hacer todo con alegría y siempre ayudarme a levantarme cuando en algún momento sentía que ya no podía.

ÍNDICE

i. DEDICATORIA	4
ii. AGRADECIMIENTOS	5
1. INTRODUCCIÓN	8
2. ANTECEDENTES	9
Biología de la especie.....	9
Osteogénesis.....	11
3. JUSTIFICACIÓN	13
4.OBJETIVO GENERAL.....	15
5. OBJETIVOS PARTICULARES.....	15
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
Toma de muestras	16
Preservación	17
Mediciones morfológicas e identificaciones de las fases.....	17
Diafanización para la observación de los huesos cartilaginosos y óseos.....	18
Medición del porcentaje promedio de mineralización.....	18
Técnica histológica para la observación del tipo de osificación.....	19
Análisis estadístico de datos.....	19
7. RESULTADOS	20
Etapas del desarrollo anatómico.....	20
Crecimiento	22
Descripción del desarrollo de las estructuras del sistema esquelético axial y apendicular de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	23
Eleuteroembrión de 2 días post-eclosión (3.8 GD)	23
Larva protopterigilarva de 5 días post-eclosión (32.6 GD);.....	23
Larva protopterigilarva de 8 días post-eclosión (55.4 GD);.....	24
Larva protopterigilarva de 11 días post-eclosión (74.4 GD);.....	24
Larva protopterigilarva de 16 días post-eclosión (105.6 GD);.....	25
Larva pterigilarva de 21 días post-eclosión (149.6 GD);.....	27
Larva pterigilarva de 26 días post-eclosión (193.6 GD);.....	28
Juvenil de 31 días post-eclosión (236.2 GD);	29
Juvenil de 36 días post-eclosión (273.8 GD);	29

Juvenil de 41 días post-eclosión (317.3 GD;	30
Juvenil de 46 días post-eclosión (367.9 GD;	33
Juvenil de 51 días post-eclosión (420.4 GD;	35
Juvenil de 56 días post-eclosión (476.5 GD;	35
Flexión del notocordio, medidas de grosor y longitud total.....	37
Proceso de mineralización.....	39
Identificación del tipo del desarrollo óseo a nivel histológico.....	40
Juvenil de 41 días post-eclosión (317.3 GDA)	40
Juvenil de 51 días post-eclosión (420.4 GDA)	41
Juvenil de 56 días post-eclosión (476.5 GDA)	43
Descripción del desarrollo, crecimiento y conteo del desarrollo de los huesos del sistema óseo y su osificación	44
Anormalidades	46
8. DISCUSIÓN	48
9. CONCLUSIONES	54
10. REFERENCIAS.....	56

1. INTRODUCCIÓN

La mojarra castarrica (*Mayaheros urophthalmus*) es una especie de gran importancia en México ya que forma parte de las capturas de la pesquería artesanal de aguas interiores en la región sureste del país, por lo que sus poblaciones están sometidas a una fuerte presión pesquera. En esta región existe una gran demanda de esta especie y en algunos sitios ha sido erradicada (Barrientos-Medina, 2005). Esta razón ha motivado a numerosos investigadores a estudiarla y a proponer estrategias para introducirla a sistemas de cultivo con fines de repoblación y para su aprovechamiento de consumo (Jiménez-Martínez *et al.*, 2012). A pesar de que existen esfuerzos para implementar el cultivo de la especie, aún existen vacíos de información sobre la biología de la mojarra castarrica. Entre estas carencias de información se encuentra el desarrollo anatómico y óseo en sus etapas iniciales.

Durante el crecimiento larvario de los peces, el sistema óseo atraviesa por múltiples transformaciones, pasando por los procesos de condrogénesis y osteogénesis. Este sistema es importante ya que les da rigidez, protección a los órganos, permite las actividades locomotoras y constituye un reservorio para los iones calcio y fosfato. De manera general, el esqueleto se divide en dos secciones: esqueleto axial y esqueleto apendicular. La columna vertebral, forma parte del esqueleto axial, que en el caso de los peces está dividida en región pre-caudal y caudal, especialmente en peces teleosteos el esqueleto axial en la región de las vértebras es osificado y sus centros se relacionan con la notocorda dándole un soporte al cuerpo del organismo (Castro *et al.*, 2011); por otra parte, el esqueleto apendicular está formado por estructuras esqueléticas dérmicas y endocondrales. Un ejemplo de ello son las aletas, que se encuentran constituidas por radios dérmicos (Olivares y Rojas, 2013).

Boglione *et al.* (2013) menciona que diversos autores han resaltado la importancia de generar información sobre el desarrollo osteológico de los peces para tener una línea base del desarrollo normal de larvas y juveniles. De esta manera se puede tener la información científica sobre nuestros recursos pesqueros, además de generar un punto de partida que permita comprender algunas malformaciones observadas durante la producción masiva de organismos en sistemas de cultivo. Por esta razón, en el presente

trabajo se describe el desarrollo óseo a nivel microscópico y macroscópico durante las etapas larvarias de la mojarra castarrica; una especie reconocida por su alto potencial acuícola y comercial.

2. ANTECEDENTES

Mayaheros urophthalmus es un pez teleósteo de la familia Cichlidae, nativo del continente americano que habita ambientes lénticos o lóticos, mayoritariamente dulceacuícolas, aunque puede estar presente en aguas salobres (Miller *et al.*, 2005). Esta especie conocida localmente como mojarra castarrica es reconocida por presentar una mancha ocelada en la base de la aleta caudal y siete bandas negras verticales a lo largo del cuerpo (Miller *et al.*, 2005). Tiene una gran importancia económica, debido a su alta extracción pesquera para consumo humano y su alto potencial de inclusión en la acuicultura (Barrientos-Medina, 2005). Su área de distribución abarca desde el río Coatzacoalcos, México hasta el río Prinzapolka en Nicaragua (Barrientos-Medina, 2005). Además, de haber sido introducida en 1983 en el norte de Florida, USA (Adams y Wolfe, 2007), siendo registrada por primera vez como especie invasora en el sur de esa entidad.

Biología de la especie

Para *M. urophthalmus* se han investigado diferentes aspectos de su biología y ecología. Martínez-Palacios y Ross (1992 y 1994) reportaron las condiciones ambientales en las que se desarrolla, Chávez-López *et al.* (2005) reportaron que esta especie se reproduce y crece a diferentes concentraciones de salinidad. Además, Martínez-Palacios y Ross (1987) indicaron que las temperaturas altas (superior a 28 grados) son un factor importante para que *M. urophthalmus* pueda desarrollarse y reproducirse. Siendo determinante para el desarrollo embrionario, crecimiento, consumo de alimentos y eficiencia de la conversión del mismo. Sin embargo, Schofield *et al.* (2010) demostraron que al sur de Florida las castarricas pueden sobrevivir a temperaturas por debajo de 4° C, lo que demuestra la alta plasticidad genética de esta especie y su resistencia a cambios ambientales severos.

Con respecto a su alimentación, se considera que *M. urophthalmus* es una especie es omnívora, con tendencia a la carnivoría. (Chávez-Lomelí *et al.*,1983) aunque, con crecimiento lento. Al respecto, Cuenca-Soria *et al.* (2013) reportan que *M. urophthalmus* presenta en general un desarrollo lento y que aún no se dispone de un alimento balanceado adecuado para su crecimiento. Por medio de la evaluación de 29 tipos de harinas de origen animal y vegetal, estos investigadores obtuvieron como resultado que la harina de coco puede ser una buena fuente de proteína y ácidos grasos insaturados para ser agregada a dietas balanceadas y tener buenos rendimientos por sus altos niveles de hidrólisis.

En un estudio comparativo, Madrigal *et al.* (2009) mencionan que obtuvieron buenos resultados en el crecimiento de larvas de *M. urophthalmus* y *Petenia splendida* al tiempo que evaluaron el crecimiento de una población para su potencial en cautiverio. Sin embargo, es importante tomar en cuenta factores ambientales como la temperatura, pues Faunce *et al.* (2002) indicaron que las castarricas tienen un crecimiento más lento en el sureste de Florida. Ellos además observaron que los machos son más grandes que las hembras en todas las edades.

Con respecto a la reproducción, se ha reportado que *M. urophthalmus* presenta dimorfismo sexual aparente, pues es posible diferenciar hembras y machos de edades avanzadas mediante la comparación de la papila genital (Martínez-Palacios y Ross, 1994). Además, se ha descrito que, en su área de distribución natural, su reproducción es estacional y que en lo general empieza en el mes de marzo y termina en octubre. Se considera que la temporada reproductiva de esta especie está principalmente determinada por la temperatura (Barrientos-Medina, 2005). Chávez-Lomelí *et al.* (1983) y Martínez-Palacios (1987) sugieren que los organismos reproductores requieren un mínimo de 1m² de extensión para poder reproducirse y cuidar exitosamente a su progenie.

Osteogénesis

La osteogénesis es la formación del tejido óseo, mediante la sustitución de un tejido conjuntivo preexistente. Se han descrito dos tipos de osificación: la formación intramembranosa y formación endocondral (Ross y Pawlina 2012). Estos dos procesos cuentan con la transformación de una red trabecular primaria en hueso maduro, sin embargo, se diferencian en el punto de partida, en donde la formación de hueso intramembranoso ocurre por la transformación de un eje mesenquimal en hueso; a diferencia de la osificación endocondral en donde el cartílago hialino ya existente es sustituido por hueso (Kierszenbaum, 2008).

Con respecto al desarrollo del sistema óseo, se han reportado descripciones en peces teleósteos en los estudios de Bird y Mabee (2003) para la especie *Danio rerio*, el trabajo de Coban *et al.* (2009) con *Pagrus pagrus* los autores recrearon condiciones ambientales definidas alrededor de temperaturas entre 16 y 21 grados y diferenciaron el desarrollo de las larvas en cada condición diferente; mientras que Bird y Mabee (2003) se enfocaron a elaborar comparaciones evolutivas con peces relacionados con *D. rerio*.

Diversas investigaciones se han enfocado a estudiar el desarrollo del cráneo. Entre estos, Mork y Crump (2015) describieron el desarrollo larval en *D. rerio* enfocándose en el cráneo facial y generando información de la morfogénesis facial y la descripción de todo el cráneo. En estudios similares, Fujimora y Okada (2007) y Rosas *et al.* (2008), llevaron a cabo la descripción detallada del desarrollo cráneo-facial en larvas de *Oreochromis niloticus* y de *Hemirhamphus brasiliensis*, respectivamente. Por otro lado, Parsons *et al.* (2014) describieron la osificación cráneo-facial y estudiaron la expansión de la señalización de los genes *Wnt/b-catenina* en larvas de cíclidos del lago Malawi; demostrando que la vía *Wnt* resultó ser un mediador para el desarrollo del cráneo y *b-catenina* fue un factor de la señalización de *Wnt* en las especies *Labeotropheus fuelleborni*, *Tropheops sp.* y *Maylandia zebra*. Aparentemente el gen *Wnt* da paso al desarrollo del cráneo y la región pre orbital a pocos días después de la eclosión, concluyéndose que *Wnt* conduce a una osificación temprana y robusta.

En otro estudio, Kratochwil *et al.* (2015) analizaron el desarrollo embrionario y el crecimiento larval en *Amphilophus xiloaensis*, detallando los órganos y estructuras anatómicas, enfocándose al cráneo al igual que en el estudio de Parsons *et al.* (2014); solo que estos últimos definieron estructuras caudales y etapas homologas. Mientras que Mesa *et al.* (2016) estudiaron el desarrollo del cráneo en larvas de *Seriola rivoliana*, observando particularmente la mineralización del neurocráneo y a diferencia de los autores antes ya mencionados este estudio no solo se enfocó en cráneo, sino también al sistema esquelético axial y el apendicular. En este trabajo se observó que el neurocráneo comienza a mineralizarse por los huesos parasfenoides y las mandíbulas.

En lo referente al desarrollo esquelético, Rodríguez *et al.* (2015) evaluaron el desarrollo en larvas de *Lutjanus guttatus* al igual que Mesa *et al.* (2016) describiendo la osificación de la vértebra; solo que los primeros no describieron radios y espinas, pero si la base de la aleta caudal y lograron ver que, en esta especie, la mayoría de las estructuras óseas empiezan a aparecer después de los 12 días de la eclosión. En cambio, Lencer y McCune, (2018) elaboraron una descripción de todo el desarrollo de *Cyprinodon variegatus*, desde la formación de un blastodisco hasta la embriogénesis tardía y lo dividieron en 34 estadios. La osificación de algunas estructuras comienza a aparecer a partir del estadio 28 (aproximadamente 77-84 h post fertilización y 27 °C) y observaron especialmente la formación del neurocráneo. También comienzan a desarrollarse rudimentos óseos de la mandíbula, aletas, esqueleto axial, y el patrón de la pigmentación larvaria.

Weigele y Franz-Odenaal (2016) elaboraron un estudio con adultos de la especie *D. rerio* en donde identificaron los cuerpos celulares durante el proceso de ontogénesis y la transición que se realiza en este proceso, estos autores reportaron que, en la osteogénesis, durante la osificación intramembranosa identificaron dos grupos diferentes de osteoblastos (tipo I y tipo II). Indicando que a partir de ellos se produce la osificación intramembranosa. Para la osificación endocondral de igual manera se reportan dos tipos: En la osificación endocondral I, se observa la composición de la epífisis y la capa de crecimiento epifisial de la misma manera que otros vertebrados, y

en la tipo II se detectó osificación que produce los huesos tubulares, en donde se observó que los huesos tubulares presentan adipocitos, cartílago, osteoblastos diferenciadores, osteoblastos y osteoclastos; llegando a la conclusión que en el pez cebra el crecimiento de osificación intramembranosa y endocondral continúa hasta adultos. Por el contrario, Estevao *et al.* (2011) elaboraron un análisis de las modificaciones celulares durante la ontogenia de *Sparus auratus*, obteniendo como resultado que a partir del mesénquima se propicia el desarrollo de las estructuras dérmicas, base del desarrollo el hueso dérmico al igual que otros vertebrados.

Una gran cantidad de estudios han reportado que en el desarrollo ose de los peces se pueden presentar malformaciones. Al respecto, Boglione *et al.* (2013) en un trabajo de revisión, mencionan que diferentes autores han reportado que larvas criadas en cautiverio pueden sufrir anomalías en las vértebras generando curvaturas o dislocaciones y desviaciones del eje vertebral durante el desarrollo del sistema óseo. Como ejemplo, Hernández *et al.* (2013) elaboraron un estudio en la especie *Rhamdia quelen* donde detectaron que el tipo de alimentación en larvas puede afectar en el desarrollo de los huesos. Dado el impacto que las malformaciones puede tener en el desarrollo de los peces, Hasanpour *et al.* (2015) señalan que este tipo de estudios son de mucha importancia ya que sirven como bio-indicadores en el cuidado, desarrollo y producción de organismos en cautiverio.

3. JUSTIFICACIÓN

El estudio de la osteogénesis es importante ya que permite generar datos que servirán para comprender mejor el desarrollo larvario de los organismos y los factores que puedan alterarlo, tales como patógenos o condiciones fisicoquímicas. Así también, como lo mencionan Hasanpour *et al.* (2015), este tipo de estudios pueden servir como bio-indicadores para la producción y mantenimiento de organismos en cautiverio, si llegan a presentar alguna alteración ósea que no permita su buen crecimiento y desarrollo.

En los peces teleósteos se ha descrito el desarrollo óseo de especies como *D. rerio*, *P. pagrus*, *H. brasiliensis*, *A. xiloaensis*, *S. rivoliana*, *R. quelen*, *L. guttatus*, *C. variegatus*, y *S. auratus*. En los cíclidos, existen reportes en *Amatitlania nigrofasciata*, *Archocentrus nigrofasciatus*, *Astatotilapia burtoni*, *Haplochromis elegans*, *Hemichromis bimaculatus*, *Labeotropheus fuelleborni*, *Metriaclima zebra*, *Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis niloticus*.

A pesar de la importancia ecológica, pesquera y comercial que poseen los cíclidos nativos de México, las investigaciones que describan su desarrollo óseo son muy escasas. En el caso particular de *M. urophthalmus*, la especie ya ha sido introducida a sistemas de cultivo por la gran demanda local que presenta (Martínez-Palacios y Ross, 1994). En Tabasco, ya existen centros de producción de crías de la especie para su uso en acuicultura y repoblación. Esto, a pesar de que se desconoce el tipo de alimento idóneo para la especie, lo que puede generar el desarrollo de malformaciones óseas durante las fases tempranas del cultivo. Por esta razón, este trabajo constituye una importante contribución para el conocimiento científico de la especie, además de que servirá de antecedente para el estudio de estas características en otros cíclidos o para realizar comparaciones evolutivas, del desarrollo larval y juvenil.

4.OBJETIVO GENERAL

Describir la osteogénesis en el esqueleto axial y apendicular en *M. urophthalmus*.

5. OBJETIVOS PARTICULARES

- Describir el desarrollo óseo de vértebras, radios y espinas durante el proceso de desarrollo.
- Determinar el tipo de osificación que se presenta durante el desarrollo del hueso.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras. El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del área de Biología de la Reproducción, del Laboratorio de Acuicultura Tropical (LAT) de la División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Los organismos que se utilizaron provinieron de un solo desove obtenido en los tanques de reproducción del área de producción del LAT.

Se obtuvieron 13 muestras consistentes en 20 organismos cada uno, distribuidas durante un periodo de 10 semanas. Las muestras se colectaron iniciando el segundo día post eclosión (DPE) y se concluyó a los 56 DPE. Los muestreos al inicio, se realizaron cada tercer día y al llegar a 8 DPE, las muestras se tomaron cada 5 días posteriormente. Desde la eclosión, se tomaron a diario datos de temperatura máxima y mínima del agua en las tinas donde se colectaron los organismos (Tabla 1), estimándose los valores promedios de la temperatura por día y transformando promedios a grados día (GD). Para ello, se empleó la fórmula elaborada por Chezik et al. (2014) y se consideró el valor al cual el crecimiento de *M. urophthalmus* es nulo; mismo que se determinó usando la fórmula de crecimiento descrita por Martínez-Palacios (1987).

Fórmula para Grados día:

$$GD = \left[\frac{T_{Max} + T_{Min}}{2} \right] \times T_0$$

Los grados día acumulados (GDA) se calcularon sumando los valores de grados-día estimados para cada día transcurrido. Las muestras fueron recolectadas en cada muestreo a la misma hora del día.

La temperatura promedio del agua durante los días de muestreo, fue de $28.81 \text{ }^\circ\text{C} \pm 4.07$ con un rango de 23.6 a 30.9 °C. Las temperaturas más bajas se observaron durante los primeros días de experimentación, estabilizándose alrededor del día 21 DPE (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de temperatura y grados-día acumulados durante el muestreo de *M. urophthalmus*.

Colectas	Días post-eclosión (DPE)	Temperatura promedio del agua (°C)	Grados-día acumulados (GDA)
1	2	23.6 ± 1.75	3.8
2	5	25.7 ± 3.40	32.6
3	8	28.1 ± 5.65	55.4
4	11	26.5 ± 4.50	74.4
5	16	24.7 ± 1.95	105.6
6	21	30.9 ± 4.75	149.6
7	26	28.9 ± 7.85	193.6
8	31	28.9 ± 6.35	236.2
9	36	30.1 ± 5.01	273.8
10	41	31.1 ± 4.75	317.3
11	46	30.8 ± 5.50	367.9
12	51	30.5 ± 4.51	420.4
13	56	30.6 ± 5.75	476.5

Preservación. Los organismos colectados fueron sacrificados por hipotermia al ser colocados en agua con hielo (Batt *et al.*, 2005), posteriormente 10 organismos se fijaron en una solución de formaldehído al 5% neutralizado con fosfato de sodio monobásico y fosfato de sodio dibásico y los 10 restantes se fijaron en solución Bouin. A partir del día 16 DPE, 10 peces se fijaron en formol neutro al 10% y los 10 sobrantes siguieron fijándose en Bouin, al transcurrir las 24 h de fijación se almacenaron en alcohol etílico al 30% hasta su análisis.

Mediciones morfológicas e identificaciones de las fases. A cada individuo se le tomó la medida de longitud total con un calibrador vernier electrónico convencional marca Truper® (precisión ± 0.01 mm) y se obtuvo el peso húmedo con una balanza analítica marca Sartorius® Modelo BP124S (precisión ± 0.001 g). Para la identificación de los estadios se describieron e identificaron los cambios anatómicos de los peces por cada muestreo, siendo ubicados por cada fase durante la transformación de las larvas en su desarrollo se empleó referencia para la identificación el trabajo de revisión de (Kendall *et al.*, 1984).

Diafanización para la observación de los huesos cartilagosos y óseos. A las muestras fijadas en formaldehído al 5 y 10 % se les aplicó la técnica de diafanización según la metodología de Potthoff, (1984) modificada. Esta modificación consistió en lavar las muestras con agua corriente después del tiempo en el fijador, para posteriormente preservarlas en alcohol etílico al 30% antes de la deshidratación.

Descripción del desarrollo del crecimiento del sistema óseo y su osificación. Se tomaron fotomicrografías panorámicas de cada larva en un microscopio fotónico de campo claro, con una cámara marca Axiocam ERc5s™, con el programa ZEN.2.3.2018®. Para el último muestreo se tomaron fotomicrografías en un microscopio estereoscopio con una cámara marca Axiocam ERc5s™, con el programa ZEN 2012®. Posteriormente se describió el proceso de osificación del esqueleto axial y apendicular, para ello, se registró la formación y se realizó el conteo de las estructuras con base en la presencia de color azul alcian, tinción específica para el cartílago tomando como base las investigaciones elaboradas por Álvarez-Pliego (2004) y Ortiz-Galindo *et al.*, (2008) y para la identificación de las fases de la flexión del notocordio según Hernández *et al.* (2012). A partir de la identificación de la flexión del notocordio, se tomó la longitud total y el grosor de esta estructura durante todos los estadios siguientes. Además, se tomó la longitud total en todas las estructuras del esqueleto axial y apendicular de los 51 DPE. Las medidas fueron tomadas con un calibrador vernier electrónico convencional marca Truper® (precisión ± 0.01 mm).

Medición del porcentaje promedio de mineralización. Los muestreos seleccionados para medir las cantidades de coloración e identificar la osificación fueron los juveniles con 31, 41, 46, 51 y 56 DPE (Tabla 3). De las imágenes panorámicas de organismos diafanizados, se estimó la cantidad de coloración azul (cartílago y células mesenquimales) y rojo (óseo), a partir del conteo de píxeles en ambos colores, utilizando el software Fiji (Fiji Is Just ImageJ, Versión Java 8®). La sumatoria de ambos rangos de color fue considerada como el 100% del sistema óseo. En cada muestreo, se calculó el promedio del número de píxeles a partir de dos organismos.

Técnica histológica para la observación del tipo de osificación. Se seleccionaron tres muestreos específicos para el análisis del desarrollo del hueso (41, 51 y 56 DPE) a fin de describir el tipo de osificación que presenta *M. urophthalmus*. Estas edades fueron seleccionadas con base en la observación de los primeros indicios histológicos de desarrollo óseo en el sistema axial y apendicular, determinándose las etapas presentes de la osteogénesis. Las muestras empleadas provinieron de las fijadas en solución Bouin y fueron procesadas por medio de las técnicas histológicas convencionales (Prophet *et al.*,1995); se deshidrataron en concentraciones de alcohol etílico (Etanol, OH), (50, 70, 80, 96 y 100%) durante 10-30 min, en cada una de ellas dependiendo del tamaño de la muestra. Concluida la deshidratación, las muestras se sumergieron en soluciones de alcohol 100%-Xilol y Xilol. Posteriormente se impregnaron de parafina-Xilol (1:1), parafina 1 y parafina 2 (Paraplast® 55-58 °C), durante 10-30 min, dependiendo del tamaño del organismo. Por último, las larvas fueron incluidas en parafina Paraplast® usando para ello un inclusor marca Reichert-Jung®. Se obtuvieron cortes seriados de 5µm de grosor usando un micrótopo de rotación marca Thermo Scientific modelo HM 325; Posteriormente las laminillas se tiñeron empleando la técnica convencional de Hematoxilina-Eosina (H-E) para histología general (Prophet *et al.*,1995).

Análisis histológico. Se observaron cada una de las laminillas en un microscopio fotónico de campo claro y se elaboró la toma de fotomicrografías en un microscopio de campo claro, con una cámara marca AxioCam ERc5s con el programa ZEN versión 2012. Con el fin de determinar las características del tejido óseo y cartilaginoso, se consideraron las características de las células, matriz fundamental y su vascularización.

Análisis estadístico de datos. Se aplicó estadística descriptiva para generar los valores representativos que permitieron detallar los cambios en el tiempo de las variables medidas, promedios y desviación estándar de longitud total y peso de las larvas, longitud total y grosor del notocordio durante cada muestreo a cada una de las larvas y se analizó el porcentaje de mineralización promedio en los huesos a partir de los 31 DPE de los juveniles *M. urophthalmus*.

7. RESULTADOS

Etapas del desarrollo anatómico. *M. urophthalmus* presenta ontogenia indirecta, en los días seleccionados de muestreo se identificaron fases por las que atraviesa y son: eleuteroembrión (embrión libre); larvaria que presenta dos etapas: protopterigiolarva y pterigiolarva; y juvenil (Fig. 1 y 2).

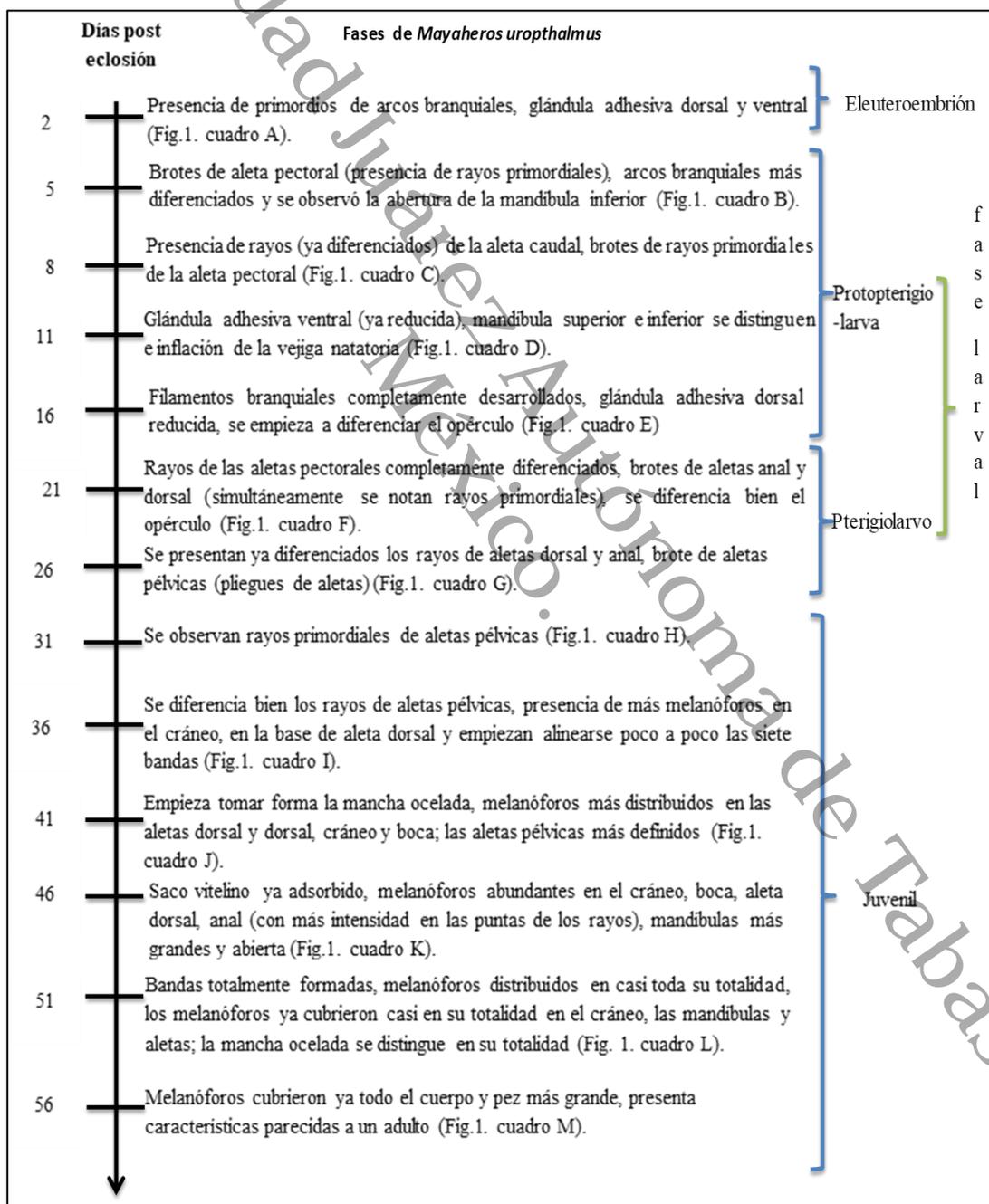


Figura 1. Fases de *M. urophthalmus* y el proceso de transformación.

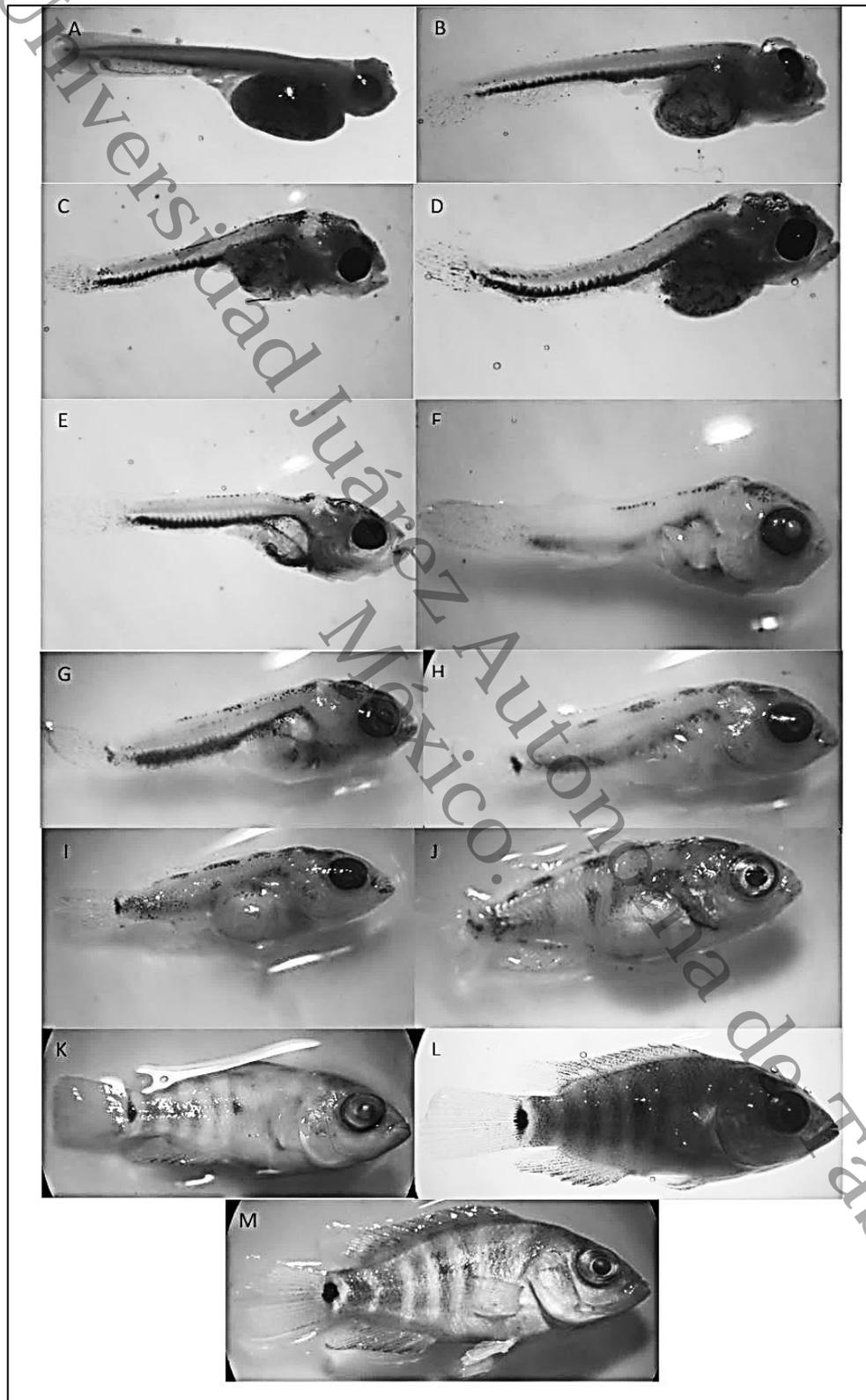


Figura 2. Fotografías de diferentes fases de desarrollo de *M. urophthalmus*. Eleuterioembrión (A); larva protopterigiolarva (B, C, D y E); Pterigiolarva (F y G) y juvenil (H, J, K, L y M)

Crecimiento. A los 2 DPE (23.6 GD) *M. urophthalmus* presentó una longitud promedio \pm DE, de 5.39 ± 0.82 mm (Fig. 3) y un peso de $0.002 \text{ mg} \pm 0.00029$ (Fig. 4). Durante los siguientes 24 días muestreados se presentó poco crecimiento y poca ganancia en peso en los organismos. A los 26 DPE (30.1 GD) se empezaron a observar aumentos considerables en talla y peso (Fig. 3 y 4). Al final de los muestreos para el día 56 DPE (30.6 GD) los juveniles presentaron una talla promedio de 21.16 ± 2.36 mm, con peso de 0.19 ± 0.07 mg.

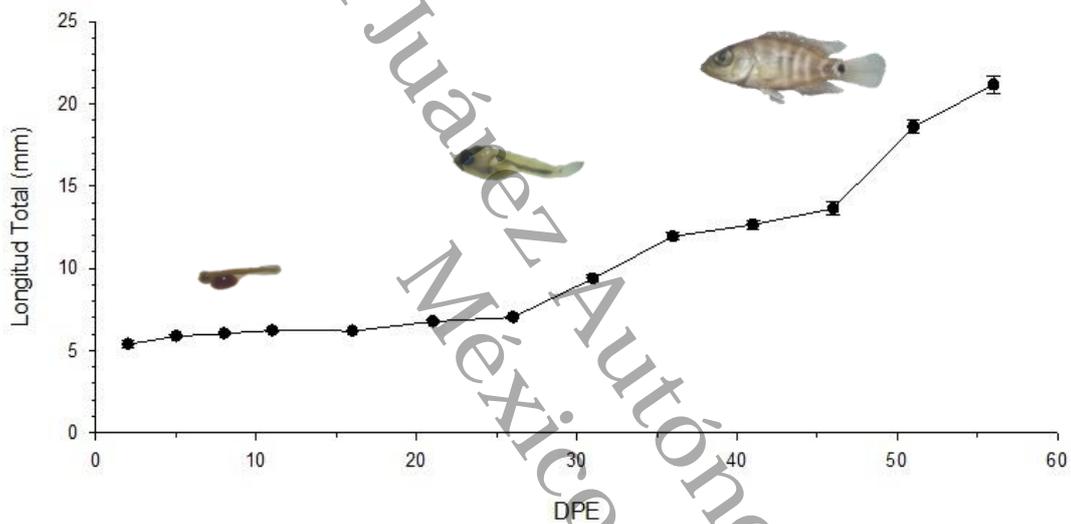


Figura 3. Valores promedio de longitud total (\pm EE), durante los días muestreados.

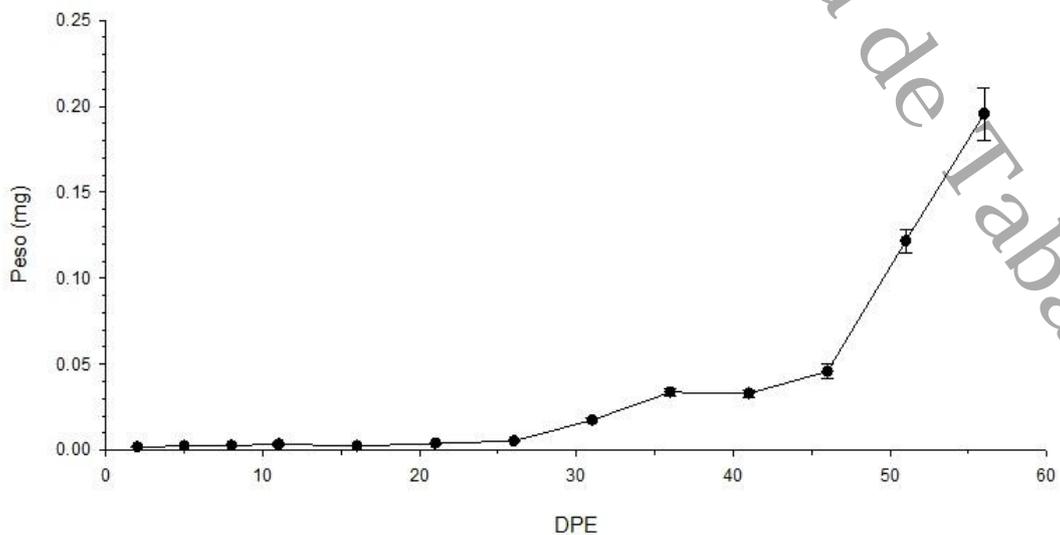


Figura 4. Valores promedio de peso húmedo (\pm EE), durante los días muestreados.

Descripción del desarrollo de las estructuras del sistema esquelético axial y apendicular de *Mayaheros urophthalmus*

Eleuteroembrión de 2 días post-eclosión (3.8 GD; $LT 5.39 \pm 0.82$ mm), se observan indicios de los arcos que protegen al notocordio con una pre-flexión, no se observa algún primordio de otra estructura del sistema esquelético axial y apendicular (Fig. 5).

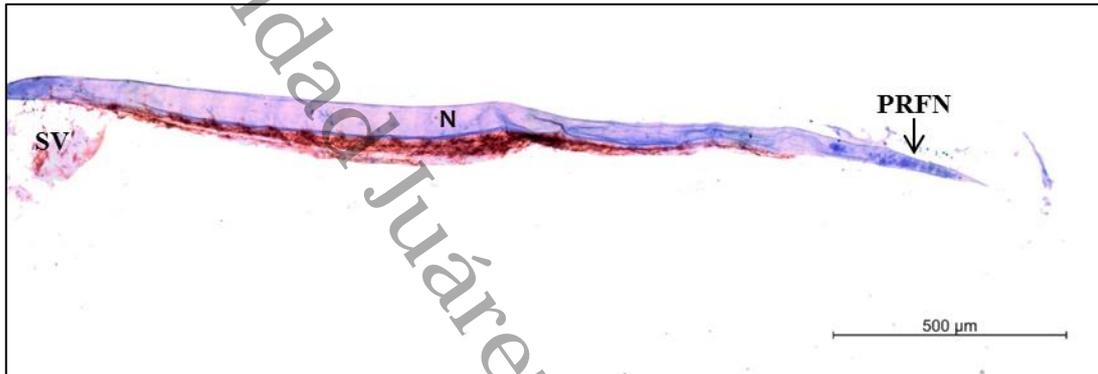


Figura 5. Eleuteroembrión de 2 DPE. Se observa el notocordio (N) y el comienzo de la pre-flexión (PRFN). Aún no se observan indicios de espinas o radios.

Larva protopterigiolarva de 5 días post-eclosión (32.6 GD; $LT 5.872 \pm 0.36$ mm). En este estadio se observa el inicio de la flexión del notocordio. Se comienzan a notar los primordios del arco basidorsal arcualia central (27-28), los primordios de los hipurales al igual que el primordio parahipural (1) y se observan los primordios de los radios de la aleta caudal, los hipurales y parahipural son cartilagosas (Fig. 6).

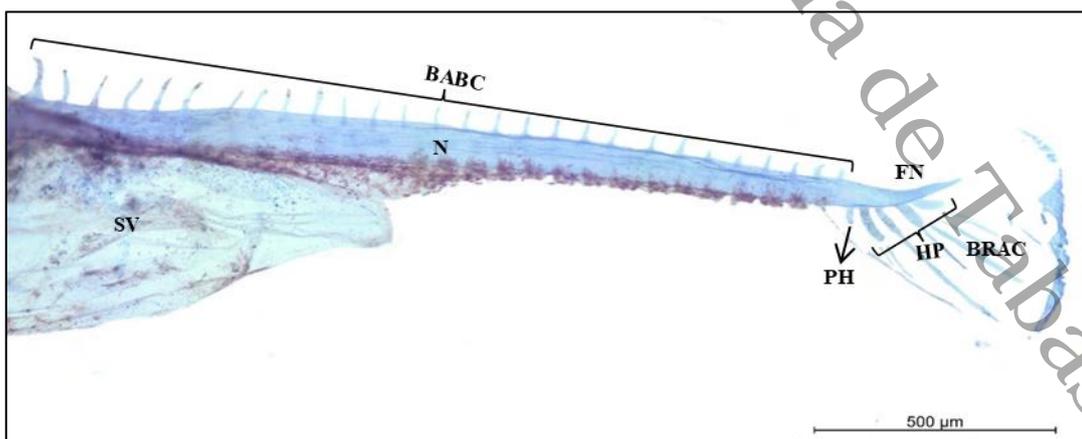


Figura.6. Larva protopterigiolarva de 5 DPE. En esta fase ya dio inicio la flexión del notocordio (FN) y se observan los primordios del arco basidorsal arcualia central (BABC), se observas claramente el notocordio, los 4 hipurales (HP) y el parahipural (PH) y se aprecian ya los primeros brotes de radios de la aleta caudal (BRAC). Aún no son visibles las estructuras de las demás aletas.

Larva protopterigiolarva de 8 días post-eclosión (55.4 GD; 6.032 ± 0.30 mm). El notocordio continúa en fase de flexión. Se identifican formados los elementos del arco basidorsal arcualia central (28) y también se observan los primordios del arco basiventral (14). Los hipurales se encuentran más formados, aunque siguen siendo 4, de igual manera el parahipural se observa más estructurado. Los hipurales y el parahipural siguen siendo cartilagosas (Fig. 7).

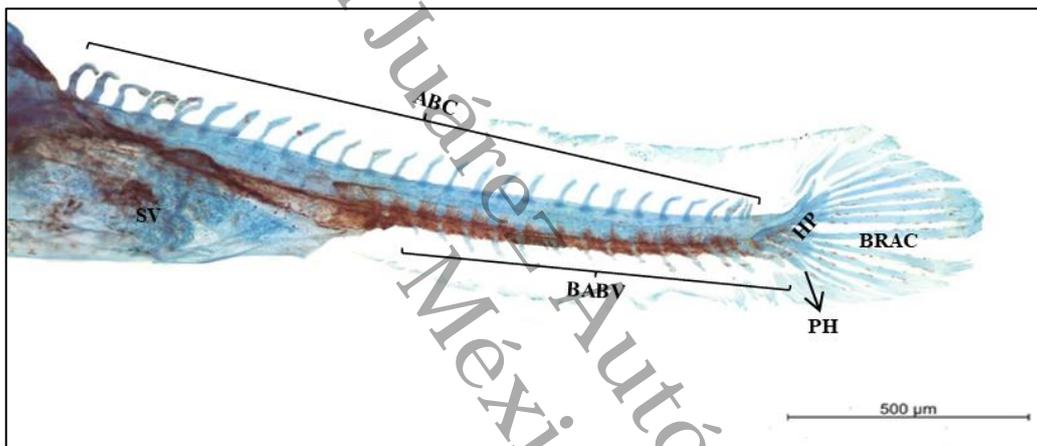


Figura.7. Larva protopterigiolarva de 8 DPE. En este estadio el arco basidorsal arcualia central (ABC) ya está completamente estructurado. Del arco basiventral arcualia central (BABV) se observan los primordios. Las estructuras caudales se encuentran más desarrolladas.

Larva protopterigiolarva de 11 días post-eclosión (74.4 GD; 6.214 ± 0.20 mm). En el notocordio se empiezan a notar las divisiones donde iniciará la formación de la división vertebral. Aún sigue la fase de flexión de notocordio. Las larvas ya pasan de tener arco basidorsal y basiventral arcualia central a tener espinas neurales y hemales. En este estadio las larvas ya cuentan con 26 espinas neurales, 14 espinas hemales, un arco neural (parecido a una espina neural), un arco neural especializado y ya se logran observar los parapófisis. En el caso de los hipurales ya cuentan con el quinto hipural. De igual manera ya se logra distinguir un poco el cartílago escapulo coracoideo y el cleitro de la aleta pectoral (Fig. 8). Los radios de aleta caudal ya empiezan a

diferenciarse (Fig. 9), aunque en algunas larvas no logran observarse por que fueron desintegrados por la tripsina.

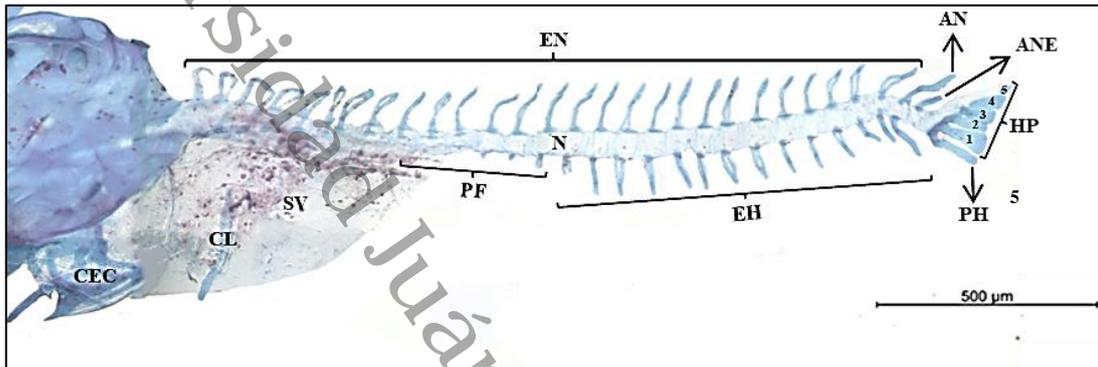


Figura 8. Larva protopterigolarva de 11 DPE. En el notocordio (N), se observa claramente la división de los cuerpos vertebrales, además, se logran diferenciar los 5 Hipurales (HP). Son visibles las espinas neurales (EN) y espinas hemales (EH) que ya pasaron la transición de arcos a espinas y de igual manera ya se diferenció el arco neural (AN), el arco neural especializado (ANE), observándose también mejor el Cleitro (CL), el Cartílago Escapulo Coracoideo (CEC) y los Parapófisis (PF).

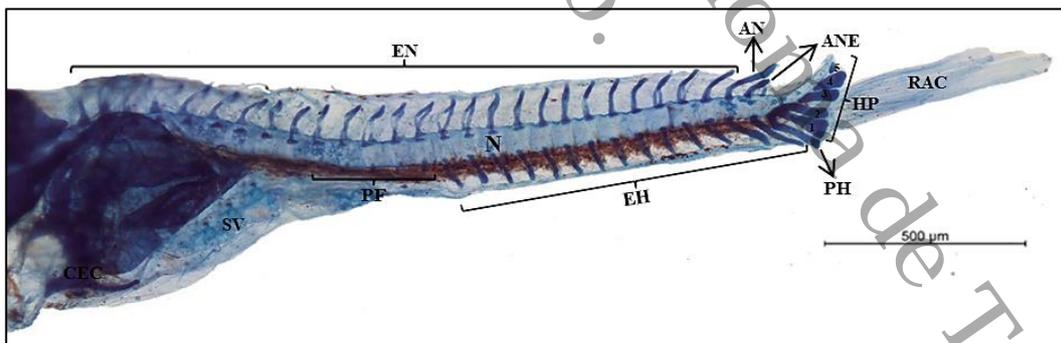


Figura 9. Larva protopterigolarva de 11 DPE. Se observan definidos los radios de la aleta caudal (RAC). En esta etapa aún no se observan primordios de radios de las otras aletas.

Larva protopterigolarva de 16 días post-eclosión (105.6 GD; 6.184 ± 0.30 mm). El notocordio sigue en etapa de flexión, ya logran observarse 2 epurales de la aleta caudal (Fig. 10 y 11), ya se pueden diferenciar algunos primordios de radiales de la aleta

dorsal e igual se observan radiales de la aleta pectoral y el par del cartílago escapulo coracoideo muy bien diferenciado, presentando el agujero escapular (Fig. 10). En este estadio igual lograron observarse primordios de radios de aleta pélvica (los demás fueron desintegrados por la tripsina) (Fig. 11), las estructuras caudales (parahipural, hipurales y epineurales) aún son estructuras cartilagosas.

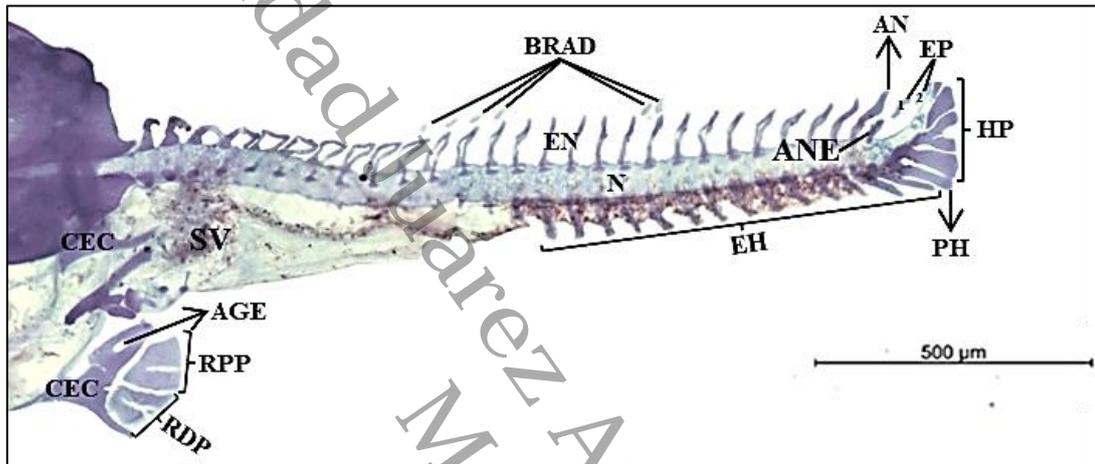


Figura 10. Larva protopterigiolarva de 16 DPE. Se logran observar los epurales 1 y 2 (EP) de la aleta caudal, los brotes de algunos radiales de la aleta dorsal (BRD). En la aleta pectoral se observan ya desarrollados los radiales proximales (RPP), así como los radiales distales (RDP) y se observa claramente el par del cartílago escapulo Coracoideo (CEC) con el agujero escapular (AGE) en uno de ellos.

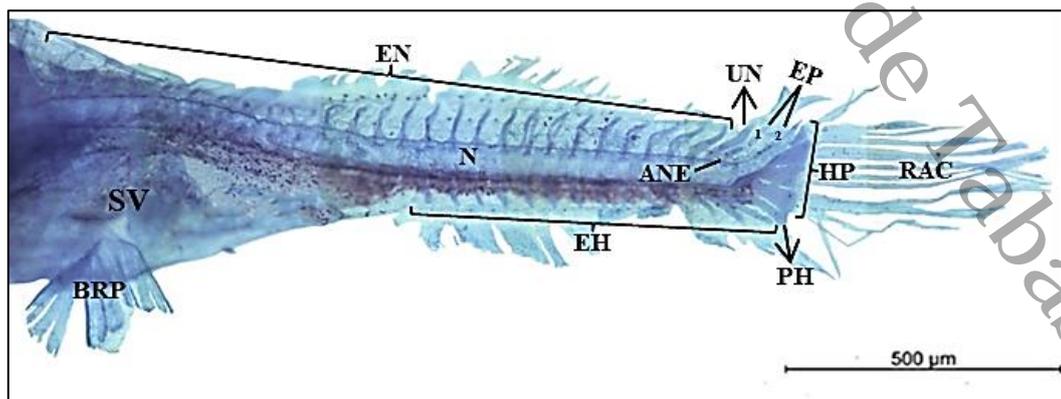


Figura 11. Larva protopterigiolarva de 16 DPE. Los brotes de los radios de la aleta pectoral (BRP) se observan bien diferenciados.

Larva pterigiolarva de 21 días post-eclosión (149.6 GD; 6.765 ± 0.40 mm). La larva en este estadio ya presenta los 3 epurales. También se observan ya las costillas de las larvas, se distinguen muy bien los ptiogiofero 1+2 de las aletas dorsal y anal. Se pueden diferenciar la mayoría de los radiales proximales y distales de la aleta dorsal y anal (algunos fueron destruidos por la tripsina) e igual se pueden ver ya desarrollados los estribos de la aleta dorsal (1) y anal (1). Se identifican los primordios de radios de la aleta dorsal y anal (Fig. 12 y 13).

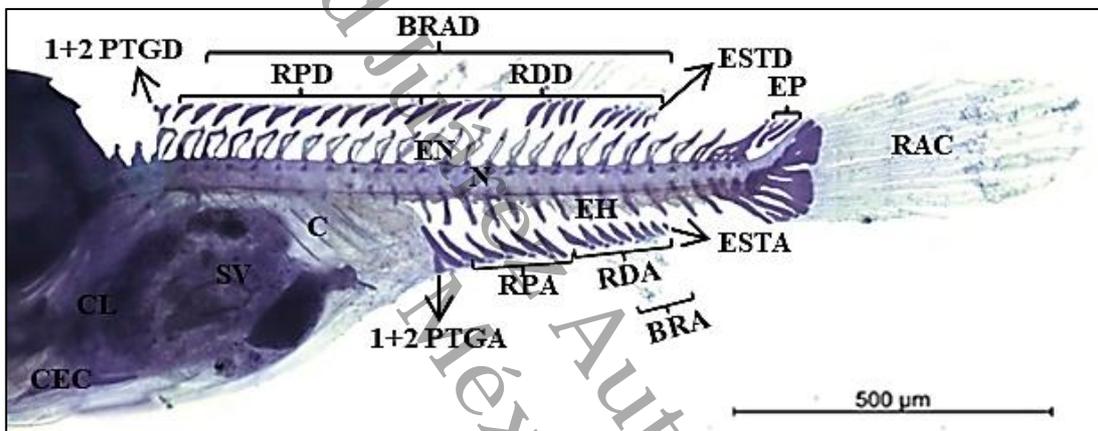


Figura 12. Pterigiolarva (larva) con 21 DPE (GD). Se observa en la larva 3 Epurales de la aleta caudal (EP), las costillas (C) ya se desarrollaron, los 1+2 ptiogiofero de las aletas dorsal (1+2 PTGD) y anal(1+2PTGA) se distinguen muy bien, los radiales proximales (RPD) y distales de la aleta dorsal (RDD) y anal (RPA),(RDA) se observan la mayoría (algunos se desintegraron por los reactivos), en este estadio de igual manera se observan los estribos de la aleta dorsal (ESTD) y anal (ESTA), los brotes de radios de aleta dorsal (BRD) y anal (BRA) se hacen presentes hasta este estadio.

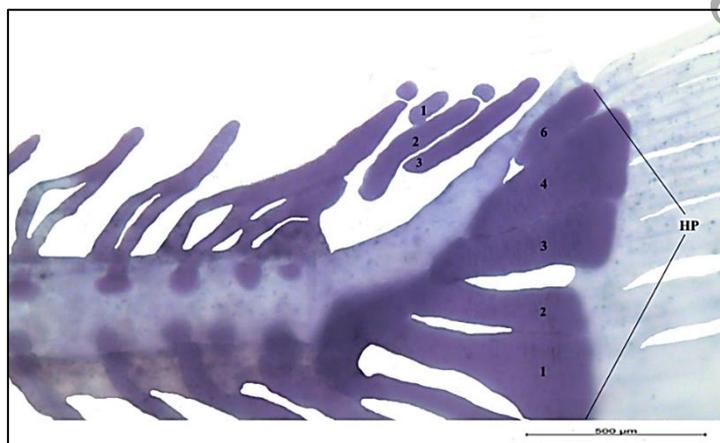


Figura 13. Acercamiento de la fotomicrografía panorámica. Se puede se puede apreciar detalladamente los 3 Epurales (EP) y los 5 Hipurales (HP) de la aleta caudal.

Larva pterigolarva de 26 días post-eclosión (193.6 GD; 7.018 ± 0.33 mm). El notocordio se observa en etapa de flexión. En este estadio ya se logra visualizar el uroneural 1, las espinas neurales junto con la notocorda comienzan a tomar forma de futuras vertebras y empiezan las espinas neurales a verse delgadas. Se observan los primordios de radios de las aletas pélvicas (Fig.14), al igual que los primordios de las espinas de la aleta dorsal (Fig. 15).

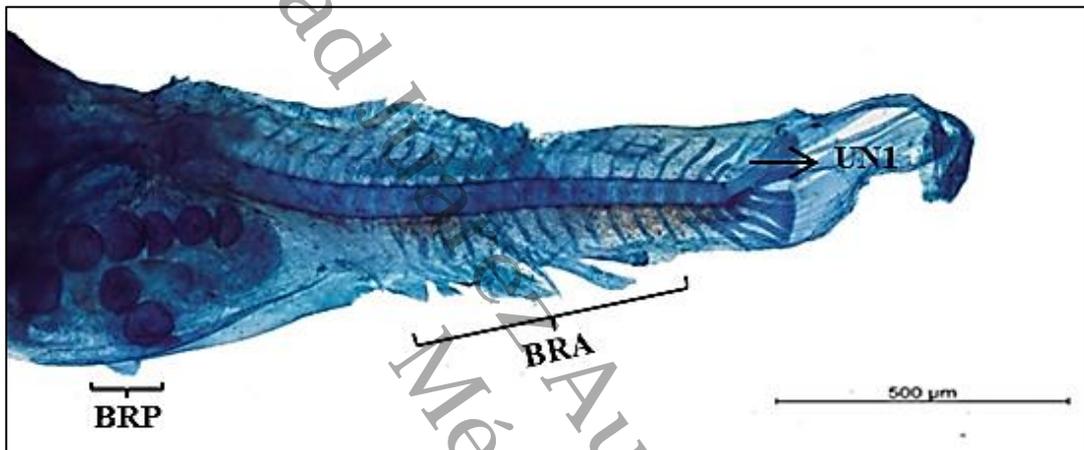


Figura 14. Larva pterigolarva de 26 DPE. Se observa el uroneural 1 (UN1) y los brotes de radios de las aletas pélvicas (BRP). Los radios de la aleta pectoral fueron desintegrados por los reactivos.

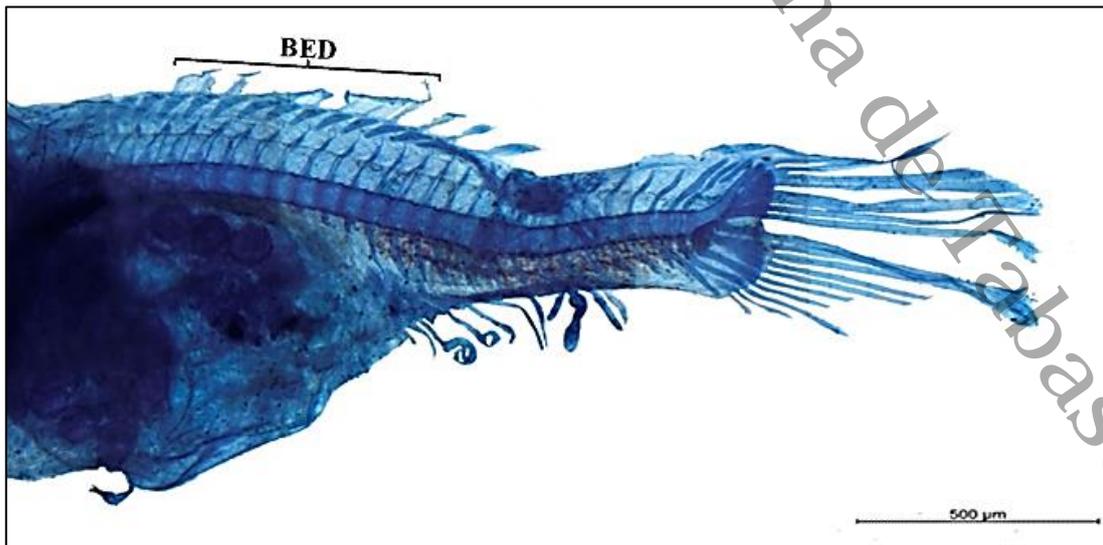


Figura 15. Larva pterigolarva de 26 DPE. Se alcanzan a observar los brotes de espinas de la aleta dorsal (BED) observándose acomodadas junto a sus respectivos radiales.

Juvenil de 31 días post-eclosión (236.2 GD; 9.391 ± 0.96 mm). En esta etapa los peces suelen ser considerados juveniles debido a que se encuentran todas las aletas ya con sus estructuras (Balon, 1977; Kendall *et al.*, 1984; Ortíz-Galindo *et al.*, 2008; Kupren *et al.*, 2014; y Kratochwil *et al.*, 2015). Aunque sigue su notocordio en flexión. El notocordio sigue reduciéndose y tomando forma en separaciones vertebrales, las dos últimas espinas hemales pegadas a la aleta caudal empiezan a inclinarse a la aleta caudal, para así empezar el proceso de fusión con las demás estructuras de la aleta caudal (Fig. 16). También en este estadio suelen verse los predorsales con un tamaño pequeño. Las espinas y radios de las aletas, dorsal, anal y caudal están formados (Fig. 17). La aleta dorsal cuenta con 14 espinas y 11 radios y la aleta anal cuenta con 4 espinas y 8+10 radios.

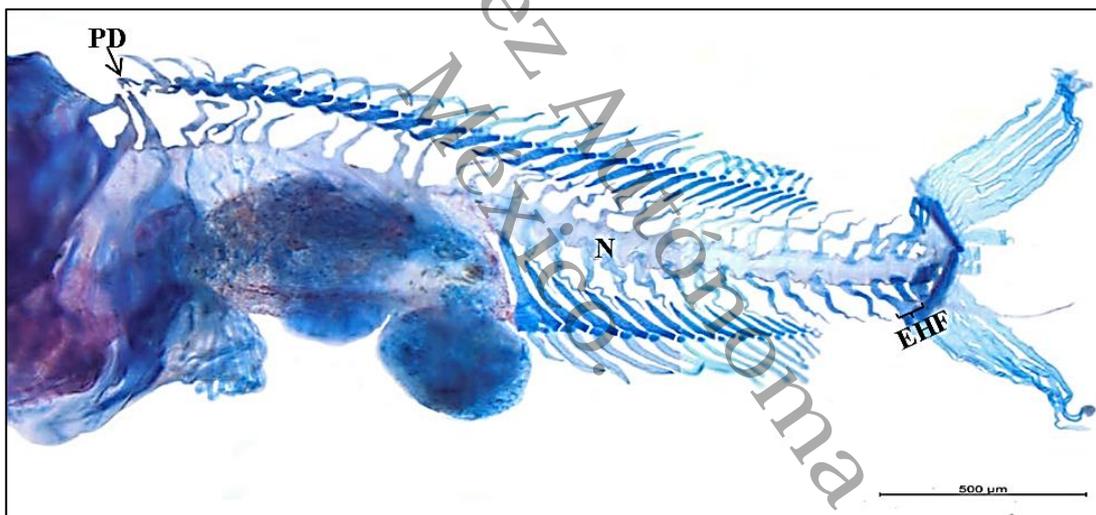


Figura 16. Juvenil de 31 DPE. Se observan los 3 predorsales (PD). El notocordio (N) se presenta con más definición. Los cuerpos vertebrales que se están desarrollando y las espinas hemales se inclinaron para fusionarse con las demás estructuras caudales (espinas hemales en proceso de inclinación para fusionarse (EHF)). Estas dos espinas de la parte hemal son las únicas que se fusionan con el área caudal. En todo el sistema esquelético axial y apendicular no se observa inicio de la osificación y sigue en proceso de transformación el esqueleto, aunque se observen ya la mayoría de las estructuras.

Juvenil de 36 días post-eclosión (273.8 GD; 11.946 ± 1.10 mm). El notocordio sigue en el proceso de flexión, ya en esta fase se logra observar que se diferencia el urostilo en la aleta caudal. En esta etapa se comienza a visualizar mineralización del notocordio

de las espinas neurales y hemales, las espinas de las aletas dorsal, anal y pélvicas, comienzan a osificarse mostrando una coloración rosa pálido, indicador de una reacción entre los componentes inorgánicos que presentan los huesos (fosfato de calcio, carbonato de calcio, fluoruro de calcio y fluoruro de magnesio) y el colorante. Esta coloración se combina con elementos de color azul, indicando el paso de las estructuras a el comienzo de la mineralización ósea (proceso de osteogénesis). Se empieza a visualizar que el notocordio inicia el proceso de separación de los cuerpos vertebrales. En esta etapa da inicio la fusión de espinas hemales, pues 2 de las 14 de las espinas presentes ya se empiezan a fusionar con la aleta caudal, quedando solo 12 espinas hemales. Las espinas neurales siguen adelgazándose cada vez más, al igual que el notocordio. También se puede observar que los ptigioforos 1+2 y los estribos de las aletas, dorsal y anal ya se encuentran más estructurados (Fig.17).

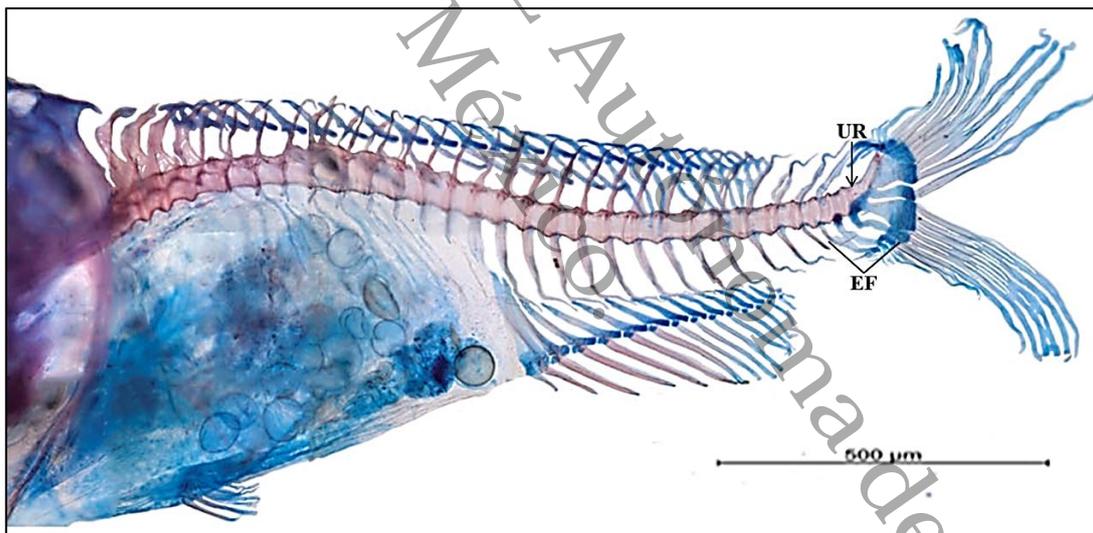


Figura 17. Juvenil de 36 DPE. Puede observarse la diferenciación del urostilo (UR) y se da inicio a la fusión de las espinas hemales, 2 de las 14 de las espinas hemales se empiezan a fusionar (EF), con las estructuras de la aleta caudal, quedando solo 12 espinas hemales (EH). Puede observarse que algunas estructuras se tornan de color rosa, indicando el inicio de la osificación de las estructuras. Los radios de las aletas son cada vez más resistentes a los reactivos.

Juvenil de 41 días post-eclosión (317.3 GD; 12.266 ± 1.25 mm). En estos juveniles el notocordio continúa en flexión, en las aletas pélvicas sus espinas resaltan más y sus radios están más grandes que en el estadio pasado, al igual que los radiales, espinas y

radios de las aletas dorsal, anal y caudal (solo presenta radios y no espinas) también presentaron un aumento de tamaño (Fig. 18). En este estadio, también se logra observar los dos uroneurales (Fig. 19) en la aleta caudal y el cartílago de la columna interneurales número 4 (Fig. 20).

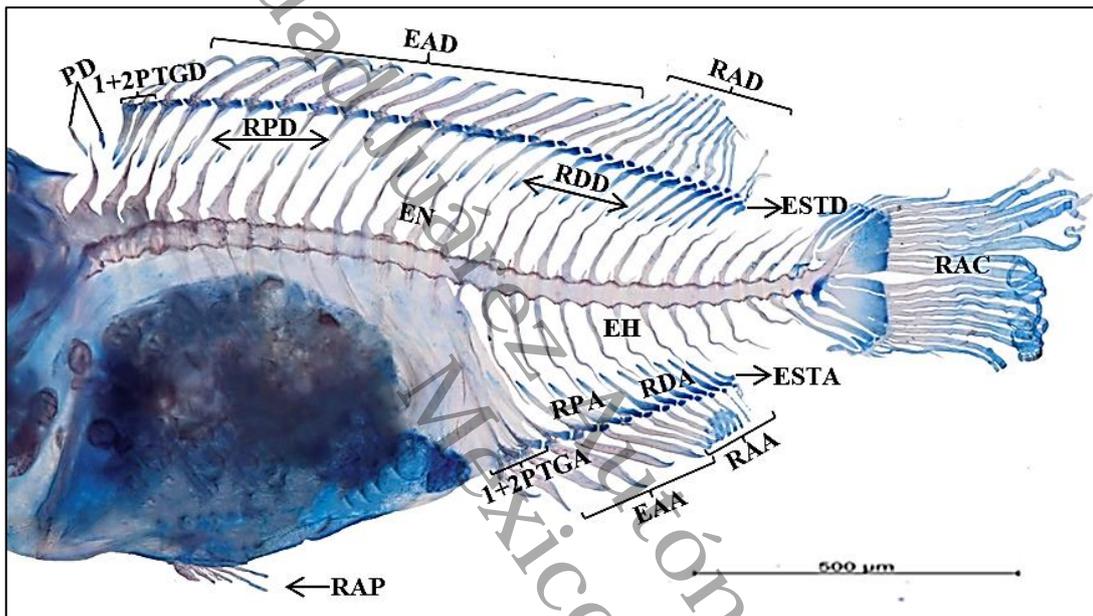


Figura 18. Juvenil con 41 DPE (GD). Se observa el aumento de tamaño de los radiales proximales de aleta dorsal (RPD), radiales distales de aleta dorsal (RDD), radiales proximales de aleta anal (RPA), radiales distales de aleta Anal (RDA), radios de aleta caudal (RAC), radios de aletas pélvicas (RAP), espinas de aleta dorsal (EAD), radios de aleta dorsal (RAD), espinas de aleta anal (EAA) y radios de aleta anal (RAA). Es visible el avance de la osificación de las estructuras de todo el sistema esquelético.

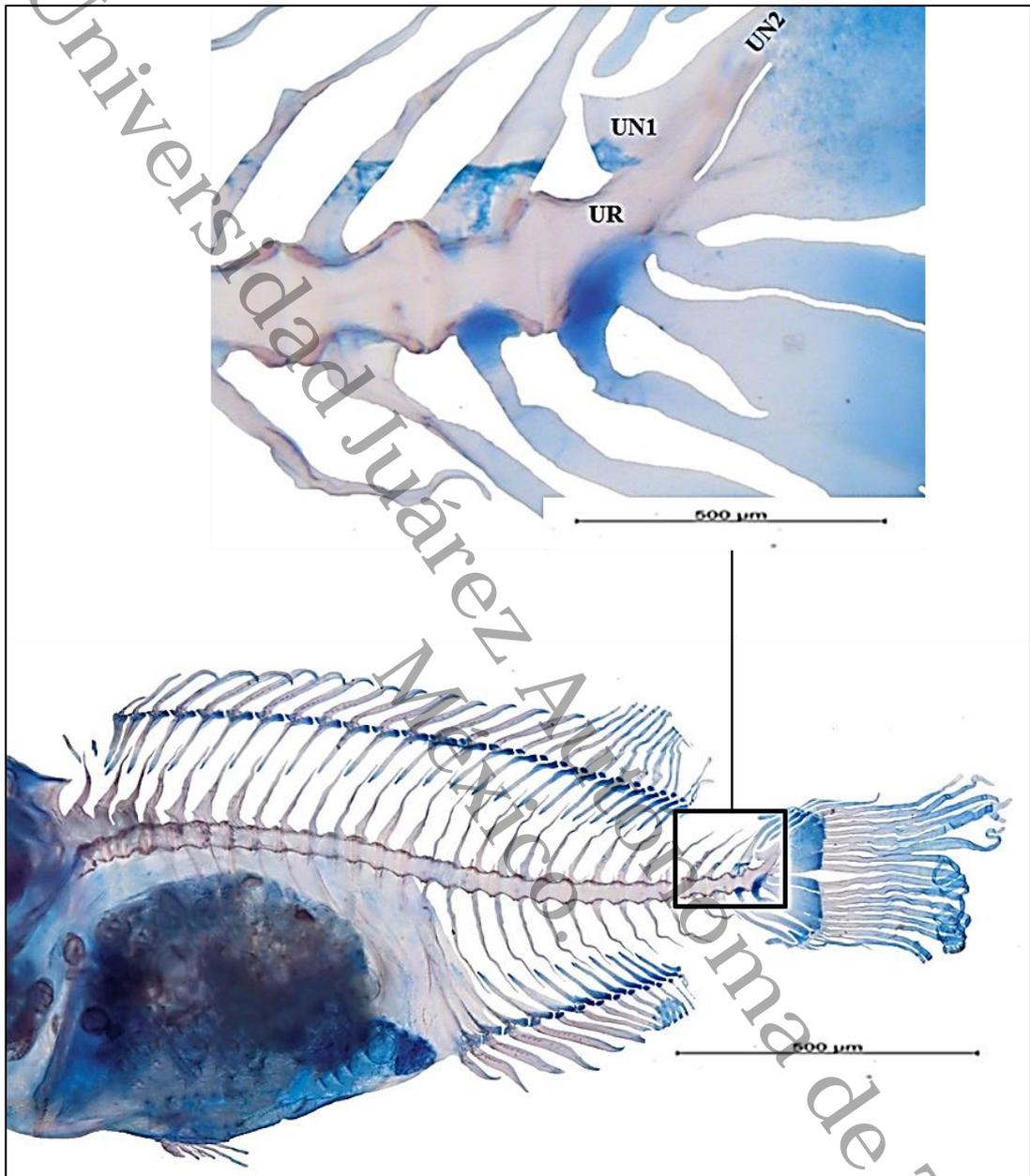


Figura 19. Juvenil con 41 DPE. Se observan algunas estructuras de la aleta caudal, donde son visibles los dos uroneurales (UN1) (UN2) y el urostilo (UR), además de algunas partes de las espinas neurales y hemales del juvenil.

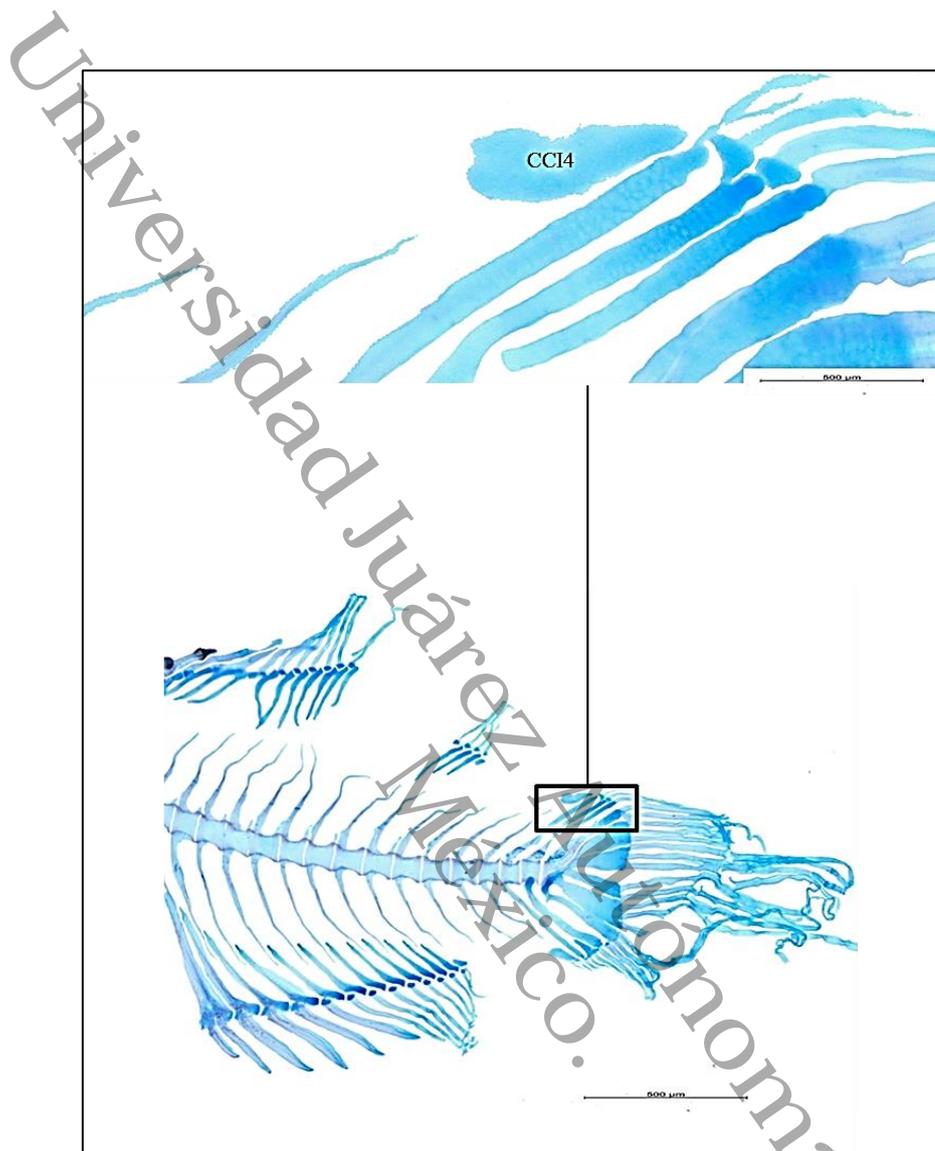


Figura 20 Juvenil con 41 DPE. Se logra observar el desarrollo del cartílago de la columna interneural No. 4 (CCI4) de la aleta caudal. Aumentado en el recuadro para mayor precisión de algunas estructuras superiores de la aleta caudal.

Juvenil de 46 días post-eclosión (367.9 GD; 13.641 ± 1.68 mm). En este estadio el notocordio ya ha pasado a la fase de post-flexión, los hipurales ya se observan más osificados al igual que las demás estructuras, suelen observarse un tono rosa más intenso (aún se encuentran en proceso de osificación), en esta etapa se observó el aumento de tamaño de los radios de la aleta pectoral, ya en etapa de osificación y los cuerpos vertebrales suelen verse ya como vertebras parecidas a las de un pez adulto (Fig. 21).

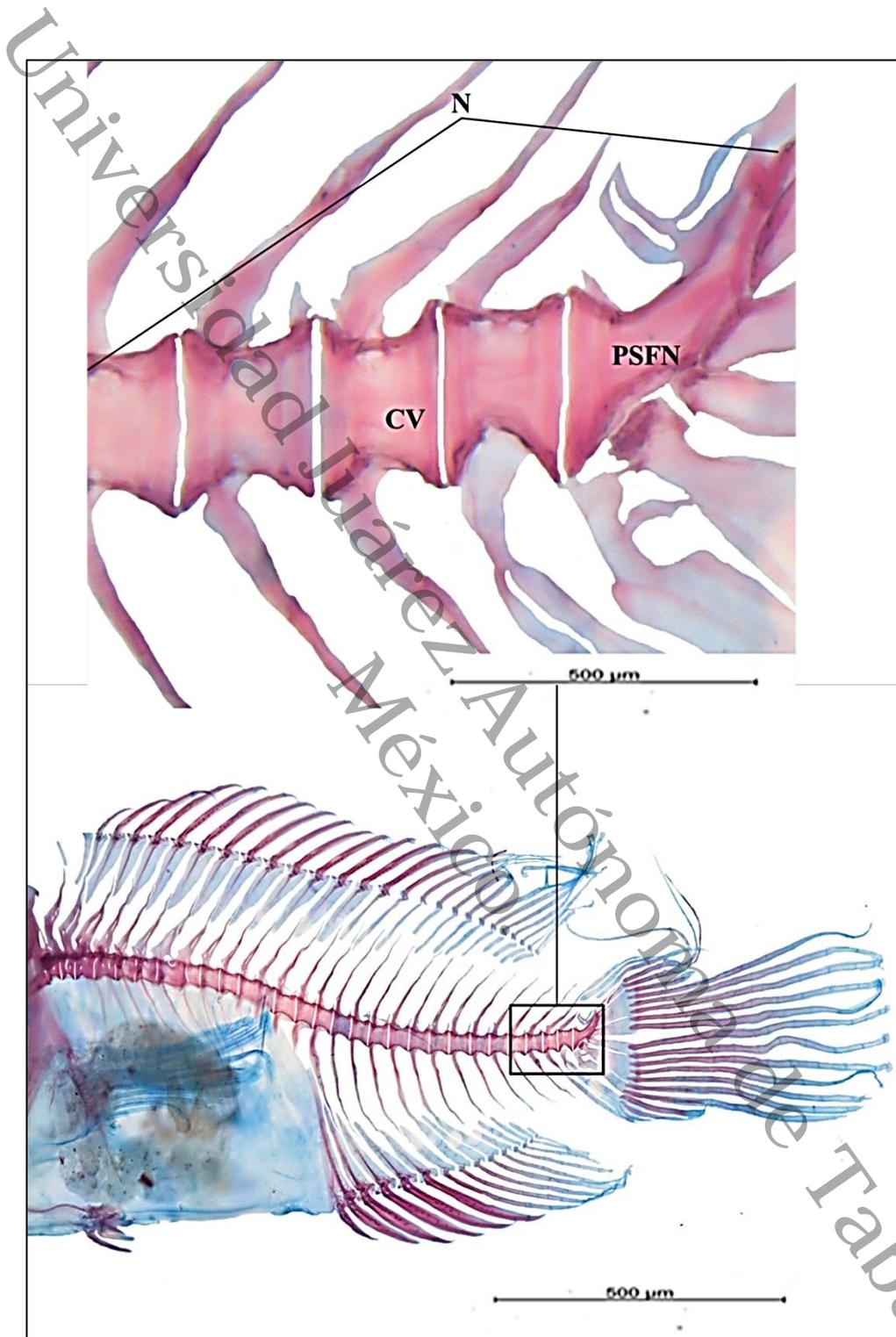


Figura 21. Juvenil con 46 DPE. Se observa que ya ha culminado la flexión del notocordio (N) pasando a la fase de post flexión (PSFN), viéndose más definida la estructura del urostilo. Los cuerpos vertebrales (CV) se observan más estructurados, mostrándose los detalles en el recuadro.

Juvenil de 51 días post-eclosión (420.4 GD; 18.609 ± 1.76 mm). En esta fase el notocordio puede observarse aún más delgado y ya los cuerpos vertebrales del notocordio están completamente desarrollados. Las espinas neurales y hemales suelen visualizarse ya como vértebras. Las estructuras de esta fase ya se observaron osificadas (indicado por la intensidad del color rojo con coloración más a tono color púrpura, más intensa que el estadio anterior). Aún suele observarse que las puntas de las espinas y radios de las aletas aún de color azul, pero ya muy disminuido (Fig.22).

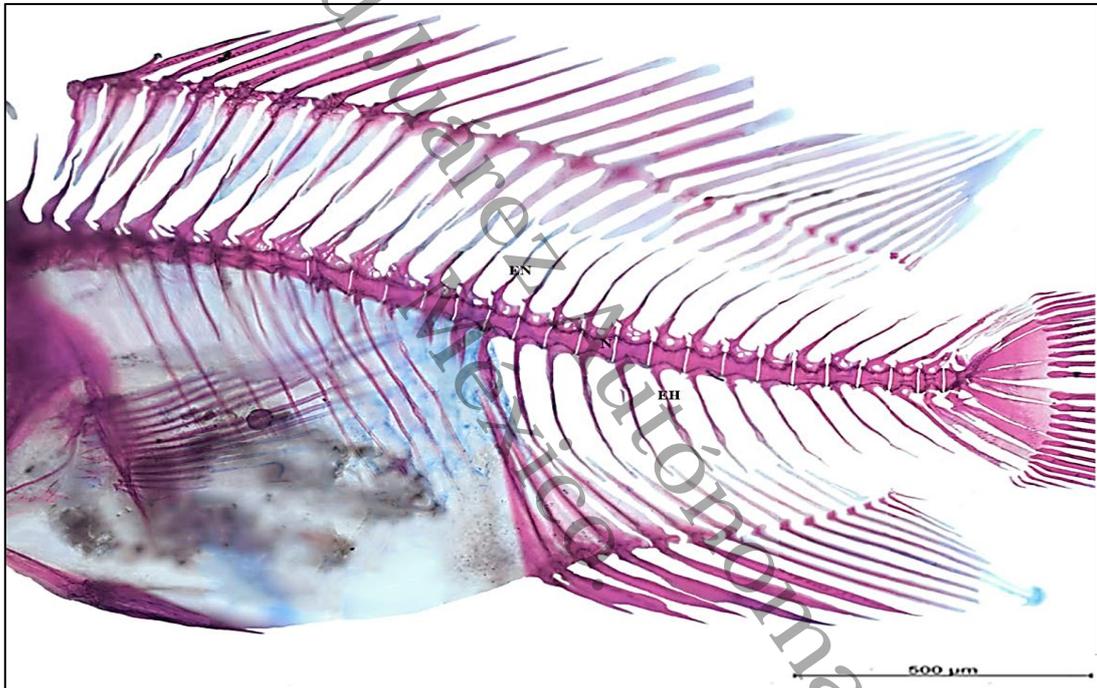


Figura 22. Juvenil con 51 DPE. El juvenil de este estadio presenta un notocordio (N) más delgado, las Espinas Neutrales (EN) y Espinas Hemales (EH) suelen visualizarse ya como vértebras.

Juvenil de 56 días post-eclosión (476.5 GD; 21.163 ± 2.36 mm). En este último muestreo se observa que *M. urophthalmus*, cuenta ya con todas las estructuras del sistema esquelético axial y apendicular desarrolladas (Fig. 23 y 24). Se observa en esta fase una columna pélvica bien definida (Fig. 23, 24 y 25). Las espinas y radios de las aletas pélvicas, ya están completamente definidas. Se pueden distinguir claramente las vértebras pueden pre-caudales y caudales (Fig. 24).

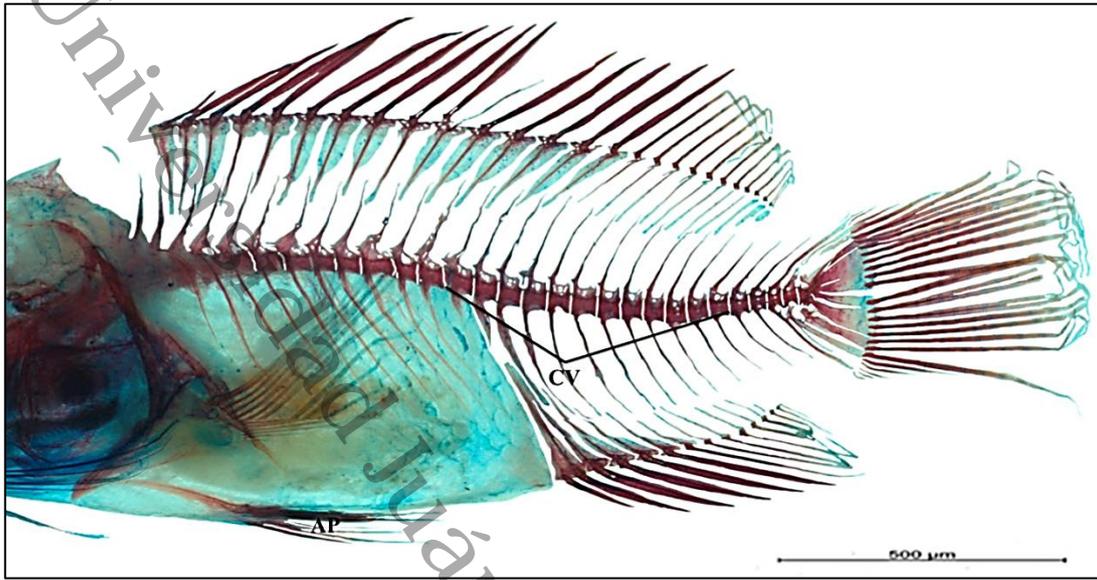


Figura 23. Fotomicrografía panorámica de un juvenil de 51 DPE. Los cuerpos vertebrales (CV) del notocordio y las aletas pélvicas (AP) están bien definidas y osificadas.

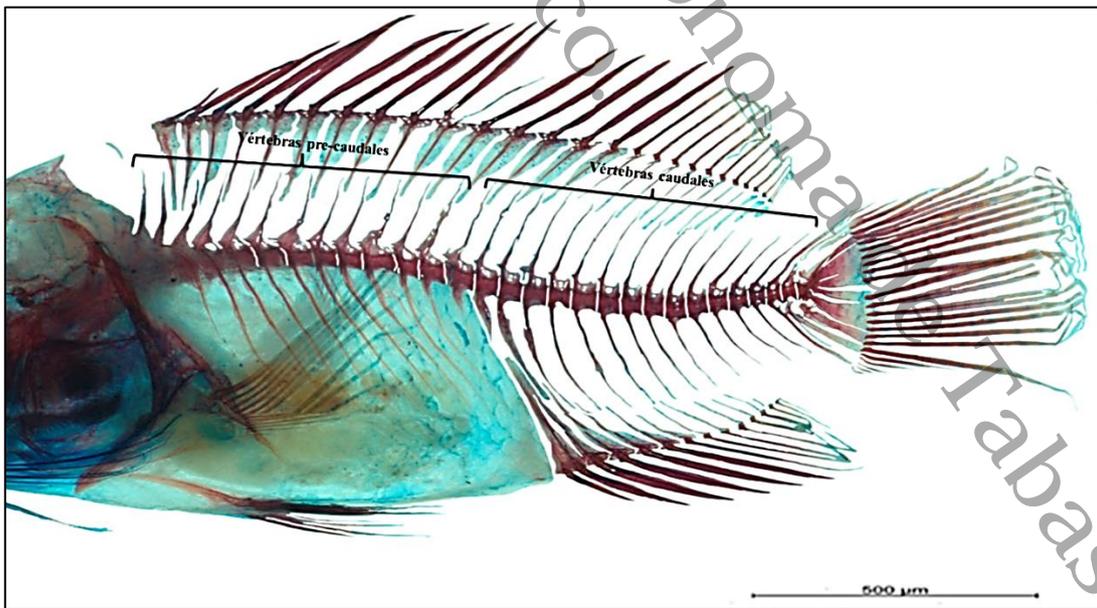


Figura 24. Fotomicrografía panorámica de un juvenil de 56 DPE. Se logra apreciar las vértebras pre-caudales (lado izquierdo, proximales al cráneo) y vértebras caudales (lado derecho), todas osificadas en su totalidad.

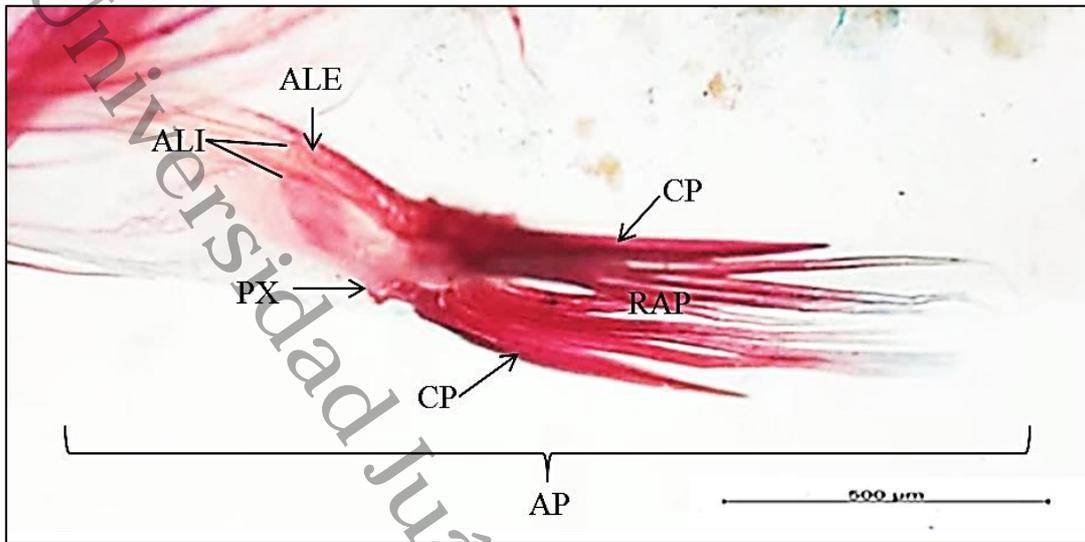


Figura 25. Acercamiento de aleta pélvica (AP) de un juvenil con 56 DPE. Se aprecian las estructuras ya osificadas y un desarrollo completo. CP: Columna pélvica, RAP: Radios de pares de aleta pélvica, ALE: Ala dorsal lateral externa, PX: Proceso xifoides posterior, ALI: Ala lateral interna.

Flexión del notocordio, medidas de grosor y longitud total. Al momento que se elaboraron las descripciones de la formación de los huesos de *M. urophthalmus* también se registró el proceso de la flexión del notocordio (tabla 5). A partir de los dos DPE aún se encontraban en la etapa de pre-flexión del notocordio, dando inicio a la flexión a los cinco DPE y es hasta los 46 DPE que se observó la transición a post-flexión del notocordio. En esta etapa, los hipurales se observan más osificados (Fig. 26). La longitud máxima alcanzada en el notocordio al día 56 fue de $10,650 \mu$, teniendo un grosor de $163.58 \pm 1.99 \mu$. A pesar de observarse un claro aumento en la longitud del notocordio, el grosor se observa con relativamente poca fluctuación (Fig. 27).

Tabla 5. Fases de flexión de notocordio.

DPE	Pre-flexión	Flexión	post-flexión
2	*		
5		*	
8		*	
11		*	
16		*	
21		*	
26		*	
31		*	
36		*	
41		*	
46			*
51			*
56			*

DPE: Días Post Eclosión. Los asteriscos indican los días en los que una fase de flexión fue observada

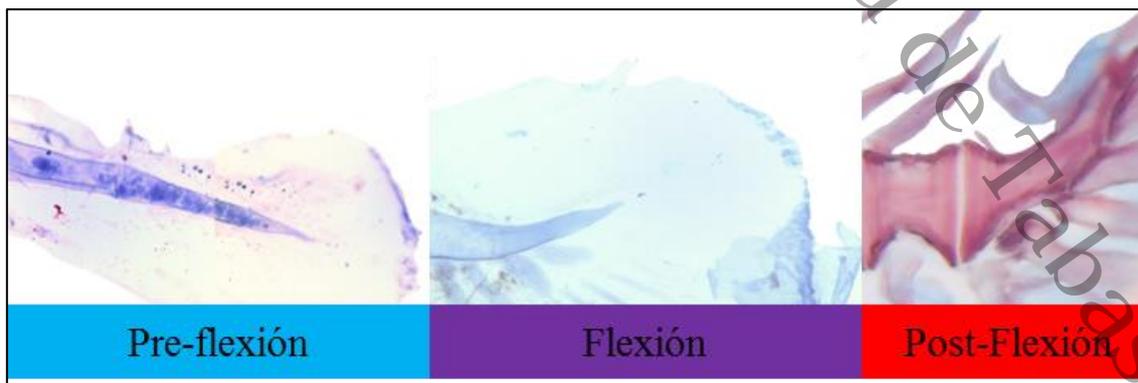


Figura 26. Etapas de flexión del notocordio de *M. urophthalmus*.

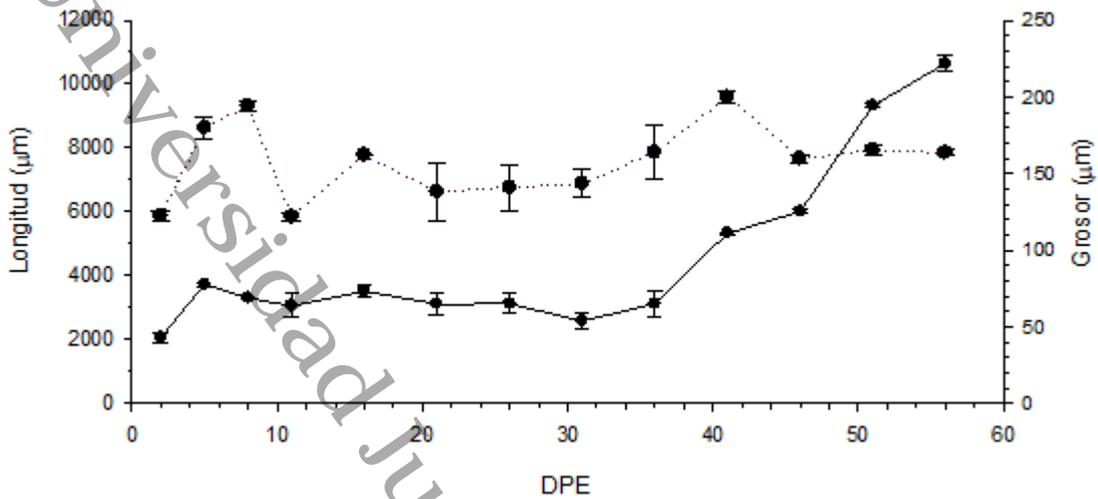


Figura 27. Crecimiento en longitud (línea sólida) y grosor (línea punteada) del notocordio de *M. urophthalmus*. DPE: Días Post Eclosión.

Proceso de mineralización. El análisis de imágenes de organismos diafanizados por conteo de píxeles indica que a los 31 DPE (236.2 GDA) se observó que el 100% del tejido que compone el esqueleto axial y apendicular de los juveniles de *M. urophthalmus* aún se mantenía como hueso en formación (células mesenquimales) y cartílago (Fig. 28). En el caso de los siguientes DPE: 36 (273.8 GDA); 41 (317.3 GDA); 46 (367.9 GDA); 51 (420.4 GDA); y 56 (476.5 GDA) el tejido de células mesenquimales presenta una menor condensación durante el desarrollo dérmico. El tejido cartilaginoso va siendo sustituido por tejido óseo de manera progresiva. Se observa que *M. urophthalmus* presenta la todas sus estructuras desarrolladas del esqueleto axial y apendicular a los 51 DPE (420.4 GDA) y las estructuras óseas se observan en osificación y las aletas ya mineralizadas. Sin embargo, es importante resaltar que la cantidad de coloración (píxeles de color rojo de tejido mineralizado) solo alcanza un 87.96% (Fig. 28). Al llegar a los 56 días post-eclosión (476.5 GDA) se observó que las estructuras óseas cuentan con un 93.13% de mineralización y un 6.87% de cartílago en todo esqueleto axial y apendicular (Fig. 28).

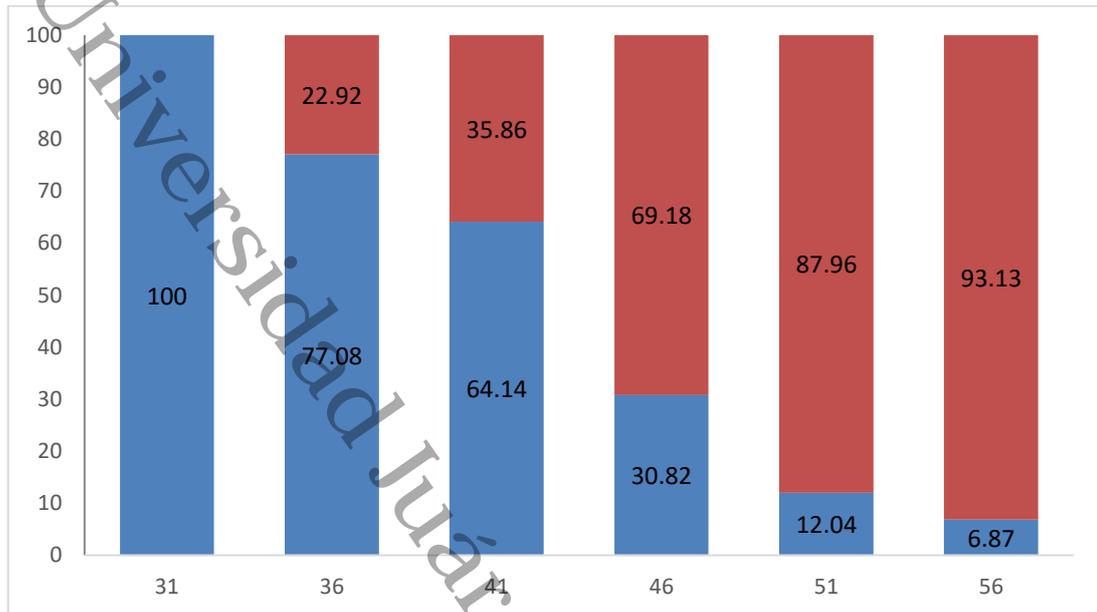


Figura 28. Porcentajes de tejido óseo (rojo) y tejido mesenquimatoso y cartílago (azul) en *M. urophthalmus*. Iniciando a los 31 días post eclosión. A partir de los 36 días post eclosión (GD), se observa el inicio de la osteogénesis. Al día 56 se considera que el sistema esquelético axial y apendicular se encuentra completamente osificado.

Identificación del tipo del desarrollo óseo a nivel histológico. *M. urophthalmus* muestra que las placas de los arcos de la arcualia basidorsal y basiventral que protegen al notocordio, sus espinas neurales y hemales de la vertebra, radiales, base de los radios y radios de la aletas se mineralizan por osificación dérmica, ya que no se observó ninguna placa cartilaginosa antes de empezar su mineralización ósea en las estructuras, en cambio las estructuras caudales como los hipurales y parahipural, se observó que presentan osificación endocondral, ya que aun presentan los hipurales y parahipural cartílago.

Juvenil de 41 días post-eclosión (317.3 GDA). En esta etapa, el pez es un juvenil que se encuentra en osteogénesis. Se logró observar que las placas de las arcualias basidorsal y basiventral presentan una vaina de tejido conectivo tupido alrededor del notocordio, que va formando una estructura rígida (Sh) (presentando la primera etapa de la osificación dérmica, en donde se presenta la aglomeración y condensación de células en las regiones que se va a formar o se está formando el hueso), en el notocordio presentan células con vacuolas llenas de líquido (CV) (células hinchadas) por lo que

tiene una alta presión interna (Fig. 29A), En esta fase se logró ya apreciar hueso acelular (Ha) (ya algunas estructuras se encuentran en la segunda etapa de la osificación dérmica en la base de los radios de la aleta caudal, porque ya presentan hueso acelular con diferenciación de células mesenquimales (aun presentes alrededor de las estructuras, en este caso, se logran aun apreciar junto con el hueso acelular de las base de los radios de la aleta caudal)) , y a sus costados tejido conectivo (CT), también se logra observar en la figura en la parte superior de la base de los radios de la aleta caudal un poco de los condrocitos hipertróficos (Cho) de los hipurales y el parahipural (los condrocitos se hipertrofian) indicando los primeros pasos de la osificación endocondral que representa un modelo cartilaginoso del hueso que esta por formarse (Fig. 29B), observándose a mayor detalle y aumento los condrocitos hipertróficos (Fig. 29C).

Juvenil de 51 días post-eclosión (420.4 GDA). En esta fase el cuerpo vertebral se encuentra en la segunda etapa de la osificación dérmica ya cuenta con presencia de hueso acelular (Ha) mineralizado, pero cuentan aun con condensaciones de células mesenquimales (Ce) en las regiones dorsal y ventral del centro, observándose también en los centros vertebrales las células con vacuolas llenas de líquido (VC) del notocordio, con un tejido conectivo (CT) junto a los centros vertebrales (Fig. 30A), también en esta fase se observó que los radiales de las aletas se encontraban en la segunda etapa de osificación dérmica, en donde se observó hueso acelular (Ha) en el extremo superior de los radiales y a sus alrededores del hueso acelular (Ha) contaban con presencia de osteoblastos (Ob) y células mesenquimales unidos al hueso (en la segunda etapa de la osificación dérmica, se presenta la diferenciación de las células mesenquimales para generar precursores de osteoblastos y las células mesenquimales y se sitúan alrededor de las estructuras óseas (en este caso el hueso acelular) (Fig. 30B). En el caso de los radios y espinas de *M. urophthalmus* se logró observar células mesenquimales (Ce) como parte de su formación y mineralización, encontrándose en la tercera etapa de la osificación dérmica (por la asociación del hueso recién formado con las células mesenquimales, sin embargo, en esta fase ya contaban con hueso acelular mineralizado (Ha) los radios y espinas de las aletas en su periferia (Fig. 30C), observándose a mayor aumento, con la aleta caudal (Fig. 30D).

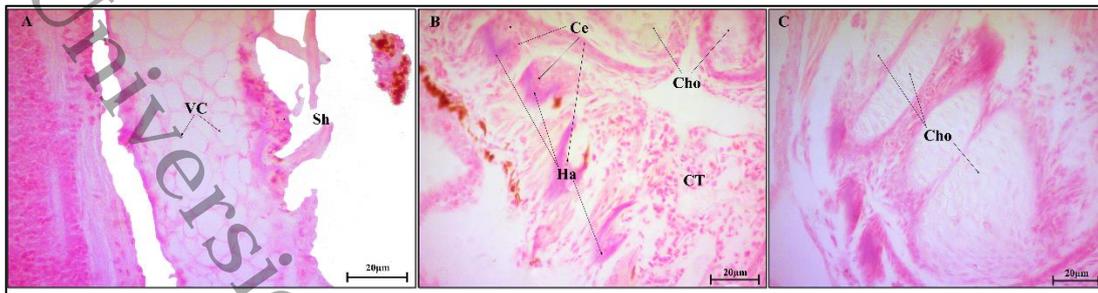


Figura 29. Microfotografías de cortes longitudinales de un juvenil de 41 DPE. A. Se observan las vacuolas llenas de líquido (VC) y alrededor presentan una vaina apretada de tejido conectivo que rodea el notocordio, de modo que se va formando una estructura rígida B. Base del inicio de los radios de la aleta caudal unidos a los hipurales y parahipural, se observa pequeña proporción de hueso acelular (Ha) y a su alrededor células mesenquimales (Ce), también se logra observar por encima de la base de los radios de la aleta caudal, una pequeña parte de los condrocitos (Cho) del parahipural e hipurales, al igual que se logra apreciar el tejido conectivo junto a las estructuras caudales mencionadas (CT). C. Ubicación de los hipurales donde se observan condrocitos hipertróficos (Cho). Técnica: Hematoxilina- Eosina.

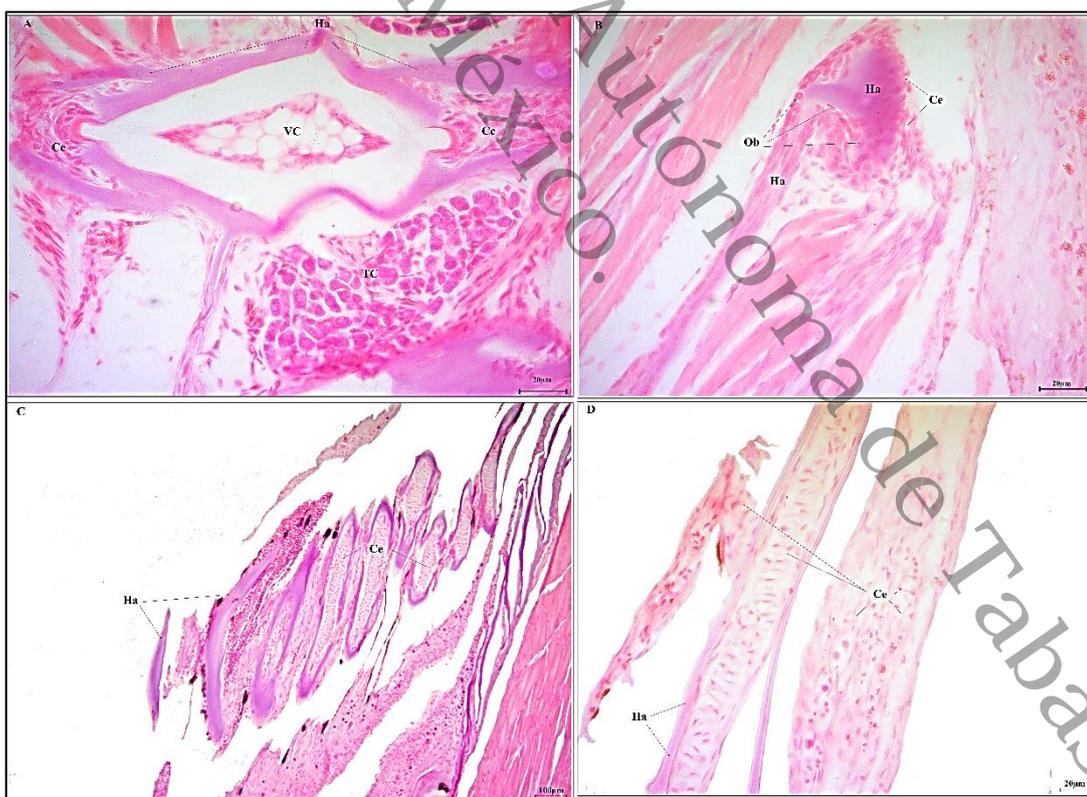


Figura 30. Microfotografías de cortes longitudinales de un juvenil con 51 DPE. A. Centro vertebral con presencia de hueso acelular (Ha), cuentan también con presencia de células mesenquimales en las regiones dorsal y ventral del centro (Ce), también se logran observar, las células vacuoladas llenas de líquido (VC) del notocordio y tejido

conectivo a sus alrededores (CT). B. Se identifica hueso acelular (Ha) en el extremo superior del radial de la aleta dorsal, teniendo alrededor los osteoblastos (Ob) y células mesenquimales (Ce) unidos al hueso. C. Radios y espinas de la aleta anal, se aprecia células mesenquimales (Ce) formando a los radios y espinas, y en la periferia se observa hueso acelular mineralizado formando la estructura de los radios y espinas (Ha). D. A mayor aumento se observa radios de aleta caudal, donde se aprecia a mejor detalle el hueso acelular mineralizado (Ha) formando los radios y en su interior se encuentran las células mesenquimales (Ce). Técnica: Hematoxilina- Eosina.

Juvenil de 56 días post-eclosión (476.5 GDA). En esta fase se observó que la estructura vertebral de *M. urophthalmus* se encontraba en la tercera etapa de la osificación dérmica ya que el hueso recientemente formado conserva una asociación con células de la mesénquima (células mesenquimales presentes, pero en menor cantidad y/o los huesos recientemente formados conservan una asociación con las células mesenquimales). En las espinas de las vertebra (EV) se encuentran formadas por hueso acelular mineralizado (Ha) y presencia de células mesenquimales (Ce), de la misma manera que los centros vertebrales, junto a los centros vertebrales se observó una vaina apretada de tejido conectivo que rodea al notocordio que forma una estructura rígida (Sh) en las placas de las arcualias basidorsal y basiventral (Fig. 31A) como se observó en formación a los 41 DPE alrededor de las células características (VC) del notocordio (Fig. 31A). En los radios y espinas de las aletas se observan células mesenquimales (Ce) y hueso acelular (Ha) (presentan la tercera etapa de la osificación dérmica) (Fig. 31B). los radios de la aleta caudal se observan a mayor aumento en la (Fig. 31C).

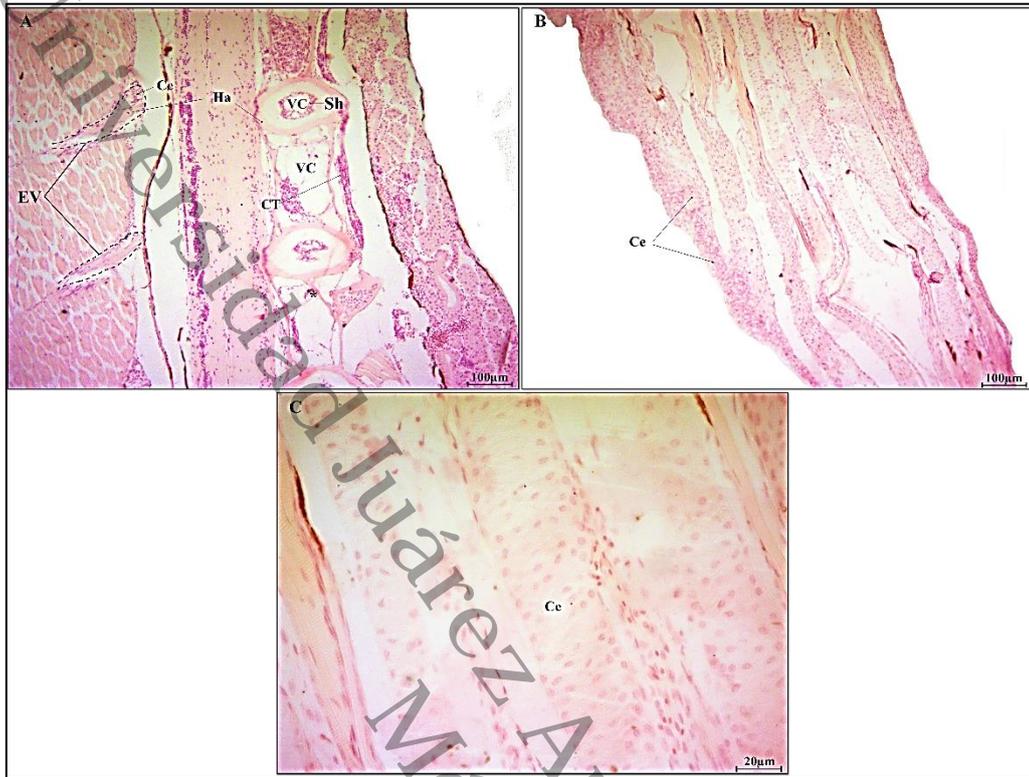


Figura 31. Fotomicrografías de cortes longitudinales de juveniles con 56 DPE. A. Se observa la estructura de la vertebra, donde se puede apreciar las espinas de la vertebra (espinas hemales) (EV), con presencia de células mesenquimales (Ce) y hueso acelular en las espinas y los centros vertebrales (Ha), en los centros vertebrales se logra apreciar la vaina apretada del tejido conectivo que rodea el notocordio formando una estructura rígida (Sh) y el tejido conectivo pegado al hueso acelular de los arcos basiventral y basidorsal que forman la vertebra (CT). B. Se observa las células mesenquimales que conforman a la aleta caudal (Ce). C. Radios de aleta caudal a mayor aumento, se pueden apreciar mejor las células mesenquimales (Ce). Técnica: Hematoxilina- Eosina

Descripción del desarrollo, crecimiento y conteo del desarrollo de los huesos del sistema óseo y su osificación. Las observaciones y conteos de estructuras en eleuteroembriones, larvas y juveniles transparentados, indican que para los 51 DPE los peces juveniles de *M. urophthalmus* habían completado el desarrollo de sus estructuras óseas y solo ocurriría el crecimiento y mineralización de las misma. Las mediciones de las estructuras óseas más representativas al día 51 DPE se muestran en la Tabla 4.

Tabla 3. Desarrollo y conteo de las estructuras óseas observadas

DPE	2	5	8	11	16	21	26	31	36	41	46	51	56
Notocordio	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AB.ArcualiaC	*	27-28	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
ABV.ArcualiaC	*	*	14	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Arco Neural	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ARN. especializado	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Espinas neurales	*	*	*	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
Espinas hemales	*	*	*	14	14	14	14	14	12	12	12	12	12
Hipurales	*	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1
Parahipurales	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Epurales	*	*	*	*	2	3	**	**	**	**	**	**	9-10
Costillas	*	*	*	*	*	8	8	8	8-10	9-10	9-10	9-10	9
Parapófisis	*	*	*	4+6	8	7+8	8	8	9	9	9	9	9
Epineurales	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	1 2
Urostilo	*	*	*	*	*	*	*	*	1	1	1	1	1
1+2 Ptg.AD	*	*	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1
1+2 ptg.AN	*	*	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	p
R.AD	*	*	*	*	p	P	p	p	p	p	P	p	p
R.AA	*	*	*	*	*	P	p	p	p	p	P	p	p
R.AP	*	***	***	***	4	***	***	***	***	***	***	***	p
Estribo.AD	*	*	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1
Estribo.AA	*	*	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1
Uroneural 1	*	*	*	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1
Uroneural 2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	1	1	1
Predorsales	*	*	*	*	*	*	*	3	***	2	P	P	P
Esp.AD	*	*	*	*	*	*	*	14	14	14	14	14	14
RA.AD	*	*	*	*	*	*	*	11	11	11	11	11	11
Esp.AA	*	*	*	*	*	*	*	4	4	4	4	4	4
RA.AA	*	*	*	*	*	*	*	8-10	8-10	8-10	8-10	8-10	8-10
RA.AC	*	p	p	p	p	P	p	p	p	p	P	p	p
RA.AP	*	*	*	*	p	P	***	***	4	4	4	4	4
RA.APC	*	***	***	***	8	***	***	***	***	***	P	12	9-12

AB. Arcualia.C: Arco basidorsal arcualia central, ABV. Arcualia.C: Arco basiventral arcualia central, ARN. Especializado: Arco neural especializado, 1+2 Ptg.AD: 1+2 Ptigiofero de aleta dorsal, 1+2 Ptg. AN: 1+2 Ptigiofero de aleta anal, R.AD: Radiales de aleta dorsal, R.AA: Radiales de aleta anal, R.AP: Pares de Radiales de aleta pectoral, Estribo. AD: Estribo de aleta dorsal, Estribo. AA: Estribo de aleta anal, Esp.AD: Espinas de aleta dorsal, RA. AD: Radios de aleta dorsal, Esp.AA: Espinas de aleta anal, RA.AA: Radios de aleta anal, RA.AP: Radios de pares de aleta pélvicas, RA. APC: Radios de aleta pectoral, Cart.Esc. Coracoideo: Cartilago escapulo coracoideo. *=no se habían desarrollado las estructuras; **= no se alcanzaron a distinguir bien; ***= no se observaron estructuras completas, solo fragmentos por efecto de los reactivos; /= contaban con otro nombre; y P= estaban presentes, pero la estructura no estaba completa o estaba por pedazos por el manejo o por la intensidad de algún reactivo suministrado en la técnica.

Tabla 4. Valores promedio de longitud total (\pm DE) de las estructuras óseas más sobresalientes de juveniles de *M. urophthalmus* a los 51 DPE

51 DPE	mm
Longitud de notocorda	9.33 \pm 0.09
Grosor de notocordio	0.8 \pm 0.10
Ptigiofero AD 1+2	1.58 \pm 0.29
Radiales AD	1.48 \pm 0.21
Estribo de aleta dorsal	0.99 \pm 0.24
Espinas AD	2.60 \pm 4.57
Radios AD	3.91 \pm 0.23
Espinas Neurales	1.66 \pm 0.27
Espinas Hemales	1.69 \pm 0.22
Parapófisis	0.62 \pm 0.46
Costillas	3.34 \pm 1.09
Radios de aleta pectoral	3.12 \pm 0.04
Esp. aleta pélvica	2.26 \pm 0.42
Radios de aleta pélvica	2.86 \pm 0.25
Ptigiofero aleta anal	3.16 \pm 0.21
Radiales de la aleta anal	1.79 \pm 0.56
Estribo de la aleta anal	0.92 \pm 0.22
Espinas de aleta anal	2.91 \pm 0.29
Radios de la aleta anal	2.43 \pm 1.10
Arco neural	1.87 \pm 0.01
Arco neural especializado	0.81 \pm 0.18
Epurales	1.39 \pm 0.65
Uroneural 1	0.69 \pm 0.33
Hipurales	1.37 \pm 0.27
Parahipural	1.28 \pm 0.31
Radios de la aleta caudal	4.03 \pm 0.59
Cartílago escapulo coracoideo	3.15 \pm 0.41
Cleitro	3.62 \pm 0.34
Predorsal	1.39 \pm 0.07

Anormalidades. Durante el presente estudio del desarrollo óseo de *M. urophthalmus* se observaron anomalías óseas en dos de los organismos muestreados; uno a los 26 y otro a los 31 DPE. A los 26 DPE, el organismo identificado lordosis caudal en el notocordio, ubicada entre las espinas hemales y neurales al inicio del pedúnculo caudal (Fig. 32). En el caso observado a los 31 DPE, se lograron identificar deformidades en

las espinas neurales y hemales al igual que en las costillas. Se distinguen anomalías de arco neural y/o columna vertebral mal formada (espinas neurales y hemales) y costillas deformadas (Fig. 33).

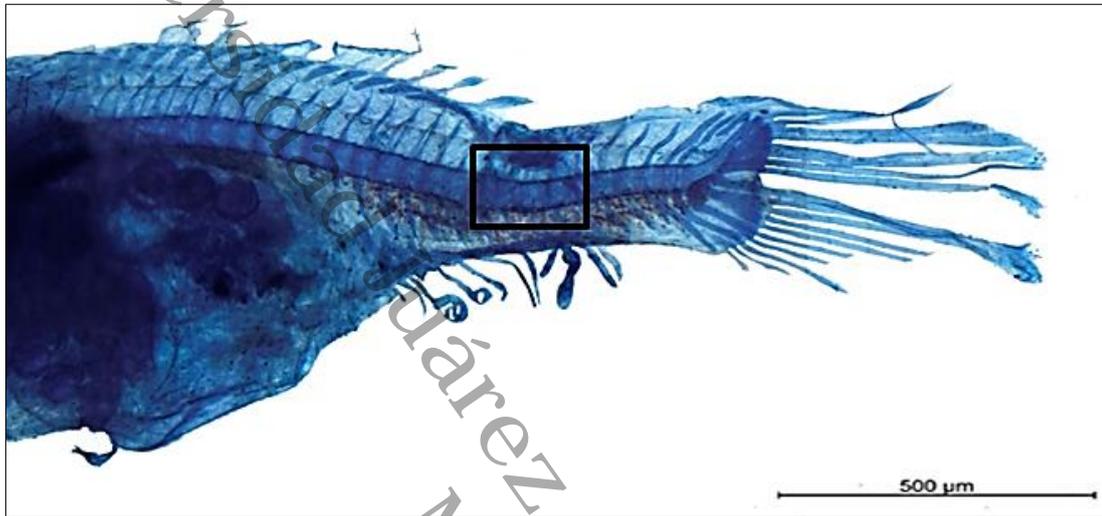


Figura 32. Fotomicrografía panorámica de una larva pterigiolarva de 26 DPE con lordosis. En esta de esta larva se observa la presencia de lordosis caudal. Recuadro muestra las espinas neurales y hemales donde ocurrió la curvatura.

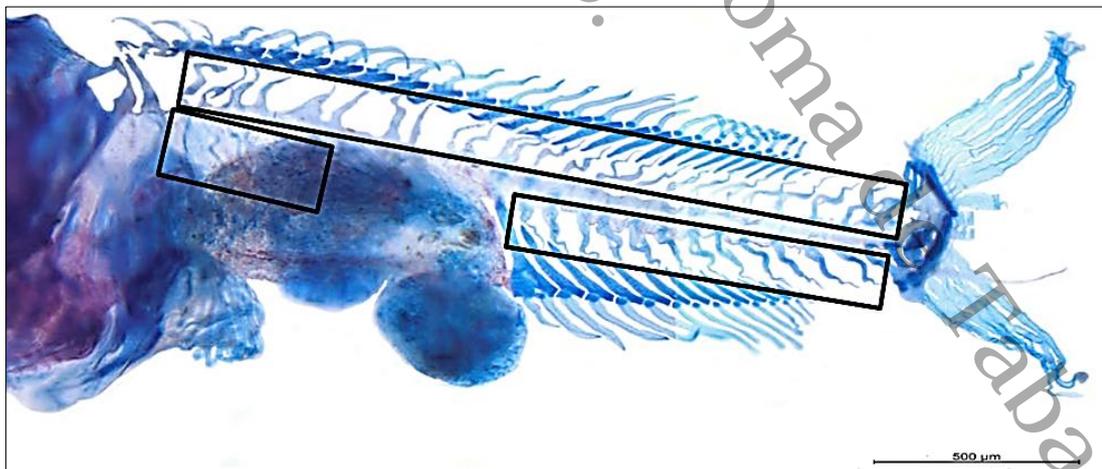


Figura 33. Fotomicrografía panorámica de juvenil de 31 DPE. Se observan las anomalías de las espinas neurales y hemales de la vértebra al igual que las costillas.

8. DISCUSIÓN

Este estudio describe por primera vez el proceso de osificación del sistema esquelético axial y apendicular en *M. urophthalmus*, acompañado de la descripción histológica, siendo posible identificar el crecimiento, desarrollo y mineralización de las estructuras por medio de colorantes y de cuerpos celulares (desarrollo ontogénico). Aunque existen otros estudios sobre osteogénesis en cíclidos, pocos se han orientado a describir el desarrollo de todo el sistema óseo. De los estudios más completos sobre desarrollo óseo en cíclidos son los publicados recientemente por Weigele *et al.* (2015) en *Oreochromis mossambicus* y el de Woltering *et al.* (2018) en *Astatotilapia burtoni*. En el primero, se realizó una descripción detallada del desarrollo esquelético; lo relevante del estudio consistió en incluir el análisis de los patrones de expresión de los genes osteopontin-like (OP-L) y osteonectin (SPARC) y su relación con la formación del cartílago del esplancocráneo y los demás cartílagos y el proceso de osificación. Esta investigación además sugiere una co-ocurrencia de la deposición inicial de calcio y la expresión de la proteína de la matriz ósea durante la osteogénesis. El conteo de píxeles del presente estudio brinda una cantidad más exacta del porcentaje de mineralización ósea durante el desarrollo y permite distinguir que al final del muestreo se observa un porcentaje remanente de cartílago en el esqueleto axial y apendicular, a diferencia del estudio en *O. mossambicus* en el que solo se enfocaron a la identificación de los tejidos que iban a ser mineralizados y la expresión de la proteína de la matriz ósea durante su mineralización. En el caso del estudio con *A. burtoni*, los autores publicaron una detallada descripción del desarrollo osteológico, enfocándose principalmente en el desarrollo de la columna espinal, las costillas verdaderas y las costillas epicentrales. Los autores consideran que la especie presenta un modo de desarrollo extremadamente directo y que *A. burtoni* adquiere un plano corporal de adulto en dos semanas, proveyendo un valioso modelo para estudiar la evolución y desarrollo de peces o características específicas de los teleósteos.

Diversos estudios se han enfocado a describir las características del crecimiento y el desarrollo de las estructuras del sistema óseo en los peces teleósteos, algunos de estos estudios son muy específicos en el desarrollo y formación de diferentes estructuras óseas y pocos han abordado todo el sistema óseo incluyendo el cráneo, el esqueleto

axial y el esqueleto apendicular (Cubbage y Mabee, 1996; Faustino y Power, 1998,1999, 2001; Bird y Mabee, 2003; y Saele *et al.* 2017).

La técnica de diafanización de peces para la observación e identificación del desarrollo y crecimiento de estructuras óseas ha sido empleada en diversas especies de peces, incluyendo a los cíclidos. El empleo de esta técnica permitió detectar que en *M. urophthalmus* ya existía un indicio de los arcos que protegen al notocordio a los dos DPE, dando inicio la formación de estructuras del esqueleto axial a los cinco DPE. En esta etapa se pudieron observar la formación de los primordios de las espinas del arco basidorsal arcualia central, los hipurales y el parahipural. Los primeros indicios de mineralización de las estructuras del esqueleto axial y apendicular se observaron a los 36 DPE. Al respecto, Weigele *et al.* (2015) reportaron que en *O. mossambicus* la osificación inicia etapas antes. Dicha investigación la manejaron por fases y se reporta que la mineralización de los huesos da inicio en la fase 13, en la cual presentaban un saco vitelino y solo los primordios de las estructuras craneales y de la aleta caudal dando inicio a la mineralización de los huesos, las estructuras del dermatocráneo y los primordios de la aleta caudal. En contraste, *M. urophthalmus*, comenzó la mineralización de los huesos del esqueleto axial y apendicular una vez que las estructuras ya se encontraban formadas casi en su totalidad y los peces ya eran juveniles y no presentaban saco vitelino. En el caso de *O. niloticus* se ha descrito la formación y desarrollo de estructuras del esqueleto axial y apendicular solo a nivel histológico (Morrison *et al.*, 2001).

M. urophthalmus presenta una ontogenia indirecta, que, por definición, es considerada cuando un pez al eclosionar no cuenta con todas sus estructuras desarrolladas (Balon, 1977; Kupren *et al.*, 2014; Kratochwil *et al.*, 2015; Kendall *et al.*, 1984; Ortiz-Galindo *et al.*, 2008). En cambio, en el cíclido *A. burtoni*, que presenta ontogenia directa, el desarrollo esquelético y su posterior mineralización ósea se observa durante el desarrollo embrionario y no después de la eclosión (Woltering *et al.*, 2018). La presente descripción del desarrollo óseo en *M. urophthalmus* basada en días posteriores a la eclosión y grados-día puede servir como punto de partida para el

estudio del desarrollo temprano de cíclidos mesoamericanos, ya que existen muy pocos trabajos relacionados con las estructuras óseas en este grupo de peces.

La mojarra castarrica presenta las estructuras de su sistema esquelético axial y apendicular osificadas casi en su totalidad a los 56 días posteriores a la eclosión. Aparentemente su desarrollo es lento en comparación con otras especies de cíclidos como *A. burtoni* que alcanza un plan corporal de adulto dentro de dos semanas posteriores a la fertilización (Woltering *et al.*, 2018). Aunque el tiempo de desarrollo depende de diferentes factores ambientales y la nutrición de los organismos, la temperatura es definitivamente el factor que más influye en este proceso. La temperatura óptima reportada para *M. urophthalmus* oscila entre 28 y 33 °C, partiendo de resultados de crecimiento y mortalidad (Martínez-Palacios *et al.*, 1996). En el presente estudio, las larvas obtenidas y su posterior crecimiento estuvieron sometidas a fluctuaciones de temperatura, particularmente durante las primeras tres semanas, promediando 25.7 °C. Por esta razón, el uso de grados-día acumulados (GDA) es una importante referencia. Es muy probable que las bajas temperaturas observadas incidieron en la velocidad de crecimiento de las larvas. Al respecto, Martínez-Palacios *et al.* (1996) obtuvieron a esta misma temperatura, que el crecimiento de juveniles de la especie corresponde a solo un tercio del crecimiento obtenido a 33 °C. La alta mortalidad observada por Martínez-Palacios *et al.* (1996) a 33 °C puede ser un indicador de problemas metabólicos y malformaciones por lo que ellos mismos recomiendan que el crecimiento a largo plazo se realice a 28 °C. Faunce *et al.* (2002) reportaron que en poblaciones silvestres del sureste de Florida *M. urophthalmus* crece más lento, debido a las bajas temperaturas de invierno, pero presentan más longevidad que en los hábitats nativos en México. Coincidiendo con los dos últimos autores mencionados, el efecto de la temperatura en nuestro estudio es evidente pues a partir de los 21 DPE se registraron temperaturas más altas, promediando 30.2 °C, observándose una tendencia de crecimiento acelerado en los peces, comprobando la idea de Martínez-Palacios y Ross (1994) quienes mencionan que las altas temperaturas propician el crecimiento de *M. urophthalmus*.

En *M. urophthalmus* se presenta una osificación dérmica y endocondral, pues así lo demuestran los cuerpos celulares presentes en los muestreos. En las estructuras observadas que presentaron osificación dérmica no se observó una placa cartilaginosa intermedia para dar proceso a su mineralización; en cambio, las condensaciones de células del mesénquima que presentaron las estructuras de desarrollo dérmico, fueron sustituidas directamente por hueso acelular mineralizado y las estructuras que fueron mineralizadas por desarrollo endocondral si presentaron cartílago (condrocitos), indicando que su desarrollo es endocondral ya que parte de una placa cartilaginosa para poder mineralizarse (Estevao *et al.*, 2011; Ross y Pawlina, 2012; y Witten *et al.*, 2010). Estas estructuras además presentan un parecido en sus células de desarrollo osteogénico al cíclido *O. niloticus* descrito por Morrison *et al.* (2001 y 2006) y con *S. auratus* Estevao *et al.* (2011), sin embargo, en *M. urophthalmus* se observó un desarrollo dérmico en toda la vértebra y todas sus aletas, siendo solamente desarrollo endocondral en estructuras caudales, excepto la base y los radios de la aleta caudal. Las espinas de la vértebra presentaron hueso acelular al igual que todos los perciformes, tal y como lo mencionan Lall y Lewis-McCrea (2007).

En *M. urophthalmus* también se observó que los radiales en los extremos presentaban osteoblastos, coincidiendo nuestro trabajo con lo descrito por Lall y Lewis-McCrea, (2007) el orden de perciformes es único entre los vertebrados que carecen de osteocitos, pues presentan huesos acelulares, que se forman por células osteoblásticas, siendo esta la razón por la que en *M. urophthalmus* se observó osteoblastos durante la mineralización ósea en sus radiales, y hueso acelular en la mayoría de sus estructuras óseas. A la edad de 56 DPE, los cuerpos vertebrales ya están completamente estructurados, sin embargo, aún se observan puntos de células mesenquimales (en los radios de las aletas, espinas vertebrales y centros vertebrales), estas reservas de células mesenquimales suelen estar presentes ya que los peces teleósteos siempre están en crecimiento, porque su esqueleto y cartílago puede seguir diferenciándose y transformarse (Witten *et al.*, 2010). Corroborando con Nakatani *et al.* (2018) en donde menciona que los radios y las espinas de las aletas, se ha reportado que estos puntos siempre se encuentran presentes, ya que estas estructuras pueden regenerarse al perderlas parcialmente o quebrarse (Nakatani *et al.*, 2018).

En otros cíclidos se han realizado análisis histológicos en estructuras óseas, como es el caso de *O. niloticus*, en donde se describió la formación y desarrollo de estructuras del esqueleto axial y apendicular a nivel histológico, llegándose a identificar algunas estructuras craneales (Morrison *et al.*, 2001) así como del desarrollo mandibular o estructuras específicas, tanto del sistema esquelético axial o apendicular.

El presente trabajo es el primer esfuerzo que se orienta a describir el desarrollo óseo en *M. urophthalmus*, conjuntando la identificación del desarrollo de las estructuras junto con un análisis histológico de este mismo tejido. En otros cíclidos se ha generado poca información de la descripción del desarrollo óseo y la mayoría se ha enfocado a las estructuras craneales, describiéndose principalmente el desarrollo cráneo-facial, el neurocráneo o las mandíbulas. Por ejemplo, en *H. bimaculatus* (Huysseune y Jean-Yves, 1990), *O. niloticus* (Fujimora y Okada, 2007), *L. fuelleborni*, *H. elegans* y *A. nigrofasciata* (Peterson y Müller, 2018) y peces representativos de la laguna Malawi como *L. fuelleborni*, *T. sp* y *M. zebra* siendo los ejemplos más representativos de la familia Cichlidae (Parsons *et al.*, 2014). En el cíclido *A. nigrofasciata* se realizó un análisis histológico enfocado exclusivamente a describir los canales supraorbitaria y mandibular del cráneo (Tarby y Webb, 2003), sugiriéndose que el desarrollo mandibular consiste en un proceso dinámico, que requiere de la integración e interacción de diferentes tejidos, tanto en el espacio como en el tiempo, subyaciendo el desarrollo del sistema de canales de la línea lateral craneal.

Existen estudios en otros peces teleósteos enfocados al desarrollo de larvas y juveniles que se han orientado a describir histológicamente una sola estructura del esqueleto como el cráneo, el sistema axial y/o apendicular, la vértebra o el complejo caudal, por citar algunos: el estudio cráneo-facial en *D. rerio* (Mork y Crump, 2015), el esqueleto axial en *D. rerio* (Bird y Mabee, 2003), las aletas en *P. pagrus* (Coban *et al.*, 2009), estructuras craneales, el esqueleto axial y/o apendicular en *Eugerres lineatus* (Ortiz-Galindo *et al.*, 2008), *C. variegatus* (Lencer y Mccune, 2018), *S. rivoliana* (Mesa-Rodríguez *et al.*, 2016), la columna vertebral y el complejo caudal en *R. quelen* (Hernández *et al.*, 2012), *Amphiprion ocellaris* (Rodríguez-Ibarra *et al.*, 2017), *Acanthopagrus schlegelii* (Hu *et al.*, 2019), la descripción del desarrollo óseo y

descripciones histológicas de tejido óseo en *S. auratus* en todo su esqueleto (Estevaó *et al.*, 2011) y en *D. rerio* (Weigele y Franz-Odenaal, 2016). Recientemente se describió el modelado, fusión y evolución de la vértebra terminal con las estructuras de la aleta caudal en *D. rerio* (Cumplido *et al.*, 2020)

El inicio del proceso de mineralización de los huesos del esqueleto axial y apendicular requiere más de 30 días en *M. urophthalmus* bajo las condiciones en que se llevó a cabo este estudio. Este tema ha sido poco estudiado en peces tropicales, resaltando un estudio sobre el cíclido *P. splendida* (Gisbert *et al.*, 2014) en el que se observó el grado de mineralización del esqueleto axial y apendicular de las estructuras óseas durante el desarrollo temprano, usando el número de píxeles de las imágenes de organismos tratados con la técnica de aclaración. En otro trabajo sobre el gar cubano *Atractosteus tristoechus*, se evaluó el grosor de los huesos mineralizados mediante imágenes 3D (Sherrer *et al.*, 2017). Sin embargo, en estos estudios no se calculó el porcentaje de mineralización por cambio de coloración, ya que solamente registraron la cantidad de píxeles que iban obteniendo los huesos al mineralizarse. Por el contrario, en el presente estudio se estimó la mineralización utilizando la cantidad obtenida de los píxeles con las coloraciones típicas de los tejidos de hueso en formación (células mesenquimales) cartilaginosa y ósea. En general, los estudios referentes al desarrollo y cantidad de la mineralización ósea en el esqueleto durante los primeros días de vida en peces teleósteos son escasos, pues, en una revisión bibliográfica solo se encontraron investigaciones en *D. labrax* publicada por Darias *et al.*, (2010) donde reportaron el grado de osificación por medio de la cuantificación de píxeles, así como los niveles de osteocalcina observados conforme se iba mineralizando el tejido óseo.

Los resultados del desarrollo de las estructuras anatómicas externas de *M. urophthalmus* guardan relación con los obtenidos en los estudios realizados por Balon, (1977), Kupren *et al.* (2014), Kratochwil *et al.* (2015), Kendall *et al.* (1984), y Ortiz-Galindo *et al.* (2008) en la identificación de fases larvianas en diversos peces teleósteos, variando en tiempos de desarrollo de las estructuras externas, así como de absorción del saco vitelino, con DPE de diferencia antes o después de la ocurrencia de distintos escenarios. Estas diferencias pueden deberse tanto a variaciones intrínsecas a

cada una de las especies estudiadas, como a las temperaturas a que estuvieron expuestas durante su desarrollo y crecimiento.

En este estudio de osteogénesis en *M. urophthalmus* se observaron anomalías de tipo lordosis caudal. Si bien hay pocos estudios del desarrollo óseo en los peces en sus primeras etapas de vida, se han elaborado varias investigaciones referentes a anomalías o deformidades esqueléticas en peces teleósteos, tales como en *Gambusia affinis* (Sassi *et al.*, 2010), *Salmo salar* (Castro-Sánchez *et al.*, 2011), *Rhamdia quelen* (Hernández *et al.*, 2013) *Sparus aurata* (Thuong *et al.*, 2017) y *D. rerio* (Martini *et al.*, 2020), que sirven como referencia para la identificación de alguna enfermedad ósea que presenten las larvas y juveniles de peces durante su desarrollo. Las larvas que suelen presentar lordosis en el notocordio, mostrando capacidad reducida para alcanzar la interfaz aire-agua para tragar la burbuja de aire necesaria para la inflación de la vejiga natatoria en el momento adecuado. En el caso de larvas de los peces salmónidos, diferentes investigadores han propuesto que la lordosis caudal puede estar asociada con un inadecuado hidrodinamismo, presentando natación forzada (Lall y McCrea, 2007, Sfakianakis *et al.*, 2004, Kupren *et al.*, 2011 y Pereira *et al.*, 2016). Otro tipo de malformación observado en *M. urophthalmus* corresponde a anomalías en las costillas, espinas neurales y hemales, y en las vértebras. Este tipo de malformaciones ha sido reportado con anterioridad en peces teleósteos (Sassi *et al.*, 2010; Castro-Sánchez *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2013; y Martini *et al.*, 2020). Una de las principales causas de las malformaciones es la falta del alimento adecuado, ya que esta carencia puede generar que durante el desarrollo se presenten anomalías en las estructuras óseas (Argüello-Guevara *et al.*, 2014).

9. CONCLUSIONES

En *Mayaheros urophthalmus* es la primera vez que se elabora una investigación enfocada a su sistema óseo en sus primeras etapas de vida, describiendo el proceso de osteogénesis después de la eclosión hasta llegar a su etapa juvenil, con sus estructuras óseas y anatómicas desarrolladas, similares a las de un adulto. Además, es la primera vez que se determina el porcentaje de mineralización ósea.

La mineralización ósea de la mojarra castarrica producida en sistemas de cultivo, sin temperaturas controladas se observa por primera vez a los 36 DPE (273.8 GD). La mayoría de las estructuras del sistema óseo axial y apendicular se encuentran desarrolladas y mineralizadas a los 56 DPE (476.5 GD).

El presente estudio proporciona una mejor comprensión del crecimiento de larvas en sistemas de cultivo, incluyendo la presencia de anomalías, pudiendo servir como punto de partida para la identificación de un buen desarrollo óseo en la castarrica o algún otro cíclido y para poder identificar en el momento preciso que *M. urophthalmus* suele empezar su etapa juvenil, con todo su esqueleto completamente desarrollado.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

10. REFERENCIAS

- Adams, A.J., y Wolfe, R.K. (2007). Aparición y persistencia de *Cichlasoma urophthalmus* no nativo (familia Cichlidae) en hábitats estuarinos del suroeste de Florida (EE. UU.): Controles ambientales y patrones de movimiento. *Marine & Freshwater Research*, 58(10), 921-930. DOI: doi.org/10.1071/MF07086.
- Álvarez-Pliego, N. (2004). *Desarrollo Osteológico de Diapterus peruvianus (CUVIER, 1830) (PERCOIDE: GERREIDAE)* (Tesis de Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos marinos), Instituto Politécnico Nacional CICIMAR, La Paz, Baja California Sur, México.
- Argüello-Guevara, W., Bohórquez-Cruz, M., y Silva, A. (2014). Malformaciones craneales en larvas y juveniles de peces cultivados. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 42 (5), 950-962. DOI: 10.3856/vol42-issue5-fulltext-2.
- Balon, E.K. (1977). Early ontogeny *Labeotropheus* Ahl, 1927 (Mbuna Cichlidae, lake, Malawi), With a discussion on advanced protective styles in fish reproduction and development. *Env. Biol. Fish.* 2 (2), 147-176.
- Barrientos-Medina, R.C. (2005). Estado taxonómico de la mojarra rayada *Cichlasoma urophthalmus* Günther, 1862 (Teleostei: Cichlidae). Tesis de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural). El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). México.
- Batt, J., Bennett-Steward, K., Couturier, C., Hammell, L., Harvey-Clark, C., Kreiberg, H., Iwama, G., Lall, S., Litvak, M., Rainnie, D., Stevens, D., Wright, J., y Griffin, G.(2005). *Guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing*. Ottawa, Canada. Canadian Council on Animal Care 2005.URL: <http://www.ccac.ca>.
- Bird, N.C., y Mabee, P.M. (2003). Developmental Morphology of the axial Skeleton of the Zebrafish, *Danio rerio* (Ostariophysi: Cyprinidae). *Developmental Dynamics*. 228(3), 87-357. DOI: org/10.1002/dvdy.10387.

- Boglione, C., Gisbert, E., Gavaida, P., Witten, P. E., Moren, M., Fontagne., y Koumoundouros, G. (2013). Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. *Reviews in Aquaculture*. 5(1),121-167. DOI: doi:10.1111/raq.12016.
- Castro, S.R., Bustos-Obregón, E., y Rojas, R.M. (2011). Vertebral column deformity and hypoxia in *Salmo salar*. *Int. J. Morphol*, 29(4),1291-1295.
- Chávez-López, R., Peterson, M.S., Brown-Peterson, N.J., Morales-Gómez, A.A., y Franco-López, J. (2005). Ecology of the Mayan Cichlid, *Cichlasoma urophthalmus* Günther, in the Alvarado Lagoonal System, Veracruz, Mexico. *Gulf and Caribbean Research*. 17(1), 123-131. DOI: 10.18785/gcr.1701.13.
- Chezik, K.A., Lester, P., y Venturelli, P.A. (2014). Fish growth and degree-days I: Selecting a base temperature for a within-population study. *Revista Canadiense de pesca y ciencias acuáticas*.1 (71), 47-55.
- Chávez-Lomelí, M.O., Mattheeuws, A.E. y Pérez-Vega M.H. (1988). Biología de los peces del río San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, Villahermosa, Tabasco. 222 p.
- Coban, B.D., Suzer, C., Kamaci, H.O., Saka, S. y Firat, K. (2009). Early osteological development of the fins in the hatchery-reared red porgy, *Pagrus pagrus* (L. 1758). *Journal of Applied Ichthyol*.25 (1),26-32. DOI: org/10.1111/j.1439-0426.2008.01165.x.
- Contreras-García, M.D.J., Contreras-Sánchez, W.M., Hernández-Vidal, U., y Mcdonal-Vera, A. (2015). Induced spawning of the common snook (*Centropomus undecimalis*) in captivity using GnRH-a implants. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 2 (6), 357-362.
- Contreras-García, M.D.J., Contreras-Sánchez, W.M., Mcdonal-Vera, A., y Hernández-Vidal, U. (2018). Masculinization of the Native Bay Snook, *Petenia*

- splendida*, Using Oral Administration of the Synthetic Steroid 17 α -methyltestosterone. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49(5), 889-896.
- Cubbage, C.C., & Mabee, P.M. (1996). Development of the Cranium and paired fins in the Zebrafish *Danio rerio* (Ostariophysi, Cyprinidae). *Journal of Morphology*. 229 (2), 121-160. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4687(199608)229:<121::AID-JMOR>3.0.CO;2-4.
- Cuenca-Soria, C.A., Álvarez-González, C.A., Ortiz-Galindo, J.L., Guerrero-Zárate, R., Perea-García, M.A., Hernández-Gómez, R.E., y Nolasco-Soria, H. (2013). Digestibilidad in vitro de ingredientes proteínicos para *Cichlasoma urophthalmus*. *Universidad y Ciencia Trópico húmedo*. 29 (3), 263-275.
- Cumplido, N., Allende, M.L., y Arriata, G. (2020). From Devo to Evo: patterning, fusion and evolution of the zebrafish terminal vertebra. *Frontiers in Zoology*. 17, 1-17. <https://doi.org/10.1186/s12983-020-00364-y>.
- Darias, M.J., Wing, O.L.C., Cahu, C., Zambonino-Infante, J.L., Mazurais, D. (2010). Double staining protocol for developing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. 26, 280-285.
- Estevao, M.D., Silva, N., Redruello, B., Costa, R., Gregorio, S., Canário, A.V.M., y Power, M. (2011). Cellular morphology and markers of cartilage and bone in the marine teleost *Sparus auratus*. *Investigación de células y tejidos*. 343 (3), 619-635.
- Estrada, E., L. Peralta-Zamora., y P. Rivas-Manzano. (1982). Manual de Técnicas histológicas. México: AGT EDITOR, S.A.
- Fujimora, K., y Okada, N. (2007). Development of the embryo, larva and early juvenile of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Developmental staging system. *Develop. Growth & Differ.* 49 (4), 301-324.
- Fujimora, K., y Okada, N. (2008). Bone development in the jaw of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). *Develop. Growth Differ.* 50, 339-355. DOI: 10.1111/j.1440-169x.2008.01032.x

- Faunce, C.H., Patterson, H.M., y Lorenz, J.J. (2002). Age, growth, and mortality of the Mayan cichlid (*Cichlasoma urophthalmus*) from the southeastern Everglades. *Fishery Bulletin*, 100 (1), 42. Recuperado de: <http://aquaticcommons.org/id/eprint/15188>.
- Faustino, M., y Power, M. (1998). Development of osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex. *Journal of Fish Biology*. 55, 11-22.
- Faustino, M., y Power, M. (1999). Development of the pectoral, pelvic, dorsal and anal fins in cultured sea bream. *Journal of Fish Biology*. 54, 1094-1110.
- Faustino, M., y Power, M. (2001). Osteologic development of the viscerocranial. Skeleton in sea bream: alternative ossification strategies in teleost fish. *Journal of Fish Biology*. 58, 537-572.
- Gisbert, E., Alcaraz, C., Tovar- Ramírez, D., y Álvarez- González, C.A. (2014). *Journal Applied. Ichthyology*. 30, 783-789. DOI: 10.1111/jai.125112
- Hasanpour, S.H., Eagderi, S., y Mojazi, A.B. (2015). Osteological development of the vertebral column, paired, dorsal and anal fins in *Rutilus caspicus*, Pravdin (1927) (Teleostei: Cyprinidae). *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 13 (3), 207-219.
- Hernández, D.R., Casciotta, J.R., Santinón, J.J., Sánchez, S., y Domitrovic, H.A. (2012). Desarrollo ontogenético de la columna vertebral y del esqueleto caudal en larvas de *Rhamdia quelen* en condiciones de larvicultura intensiva. *International Journal of Morphology*. 30(4), 1520-1525.
- Hernández, D.R., Santinón, J.J., Sánchez, S., y Domitrovic, H.A (2013). Crecimiento, Supervivencia e incidencia de malformaciones óseas en distintos biotipos de *Rhamdia quelen* durante la larvicultura. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 41(5), 877-887.

- Hernández, R.D., Casciotta, J.R., Sánchez, S., Domitrovic, H.A., y Santinón, J.J. (2012). Desarrollo ontogénico de la columna vertebral y del esqueleto caudal en larvas *Rhamdia quelen* en condiciones de larvicultura intensiva. *International Journal of Morphology*. 30 (40), 1520-1525.
- Hu, J., Liu, Yan., Yu, G., Yang, C., Shan, B., Liu, S., y Sun, D. (2019). Osteological development of the vertebral column and caudal complex in larval and juvenile blackhead seabream, *Acanthopagrus schlegelii* (Perciformes, Sparidae) (Bleeker, 1854). *Pakistan Journal zoological*. 51 (5), 1859-1867. DOI: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2019.51.5.5.1859.1867> .
- Huysseune, A., y Yves, S. (1990). Ultrastructural observations on chondroid bone in the teleost fish *Hemichromis bimaculatus*. *Tissue & Cell*. 22 (3), 371-383.
- Jiménez-Martínez, L.D., Contreras R., Arias-Rodríguez. L., Álvarez-González, C. A., Carmona-Díaz. E., y De la Cruz-Hernández, E.N. (2012). Efecto de la Salinidad en larvas de mojarra castarrica *Cichlasoma urophthalmus*. *Kuxulkab Rev. De Divulgación de la División Académica de Ciencias Biológicas*. 17(34),45-50.
- Kendall, A, A.W. Jr., Ahlstrom, E.H., y Moser, H.G. (1984). Early life history stages of fishes and their characters. COHEN: ONTOGENY, SYSTEMACTICS, PHYLOGENY.
- Kierszenbaum, A.L. (2008). *Histología y Biología Celular introducción a la anatomía patológica*. Segunda edición. Barcelona, España: Elsevier, España, S.L.
- Kratochwil, C.F., Sefton, M.M., y Meyer, A. (2015). Embryonic and larval development in the Midas cichlid fish species flock (*Amphilophus spp.*): a new evo-devo model for the investigation of adaptive novelties and species differences. *BMC Developmental Biology*.15 (12),2-15 DOI: 10.1186/s12861-015-0061-1.
- Kupren, K., Mamcarz, A., y Kucharczyk, D. (2011). Effect of variable and constant thermal conditions on embryonic and early larval development of fish from the genus *Leuciscus* (Cyprinidae, Teleostei). *Czech J. Anim. Sci*. 56 (2), 70-80.

- Kupren, K., Prusinska, M., Zarski, D., Krejzeff, S., y Kucharczyk, D. (2014). Early development and allometric growth in *Nannacara anomala* Regan, 1905 (Perciformes: Cichlidae) under laboratory conditions. *Neotropical ichthyology*. DOI: 10.1590/1982-0224-201304.
- Madrigal, J.A. (2009). Evaluation of Larval Growth and Survival in Mexican Mojarra, *Cichlasoma urophthalmus*, and Bay Snook, *Petenia splendida*, Under Different Initial Stocking Densities. *Journal of the World Aquaculture Society*. 40(6), 753-761. doi: org/10.1111/j.1749-7345.2009.00295.x.
- Martínez-Palacios, C.A. (1987). *Aspects of the biology of Cichlasoma urophthalmus (Günter) with particular reference its culture*. (Thesis for the degree of Doctor philosophy, University of Stirling Institute of Aquaculture, Scotland) Recuperado de URL: <http://hdl.handle.net/1893/3512>.
- Martinez-Palacios, C.A., y Ross, L.G. (1992). The reproductive biology and growth of the Central American cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther). *Applied Ichthyology*. 8(14), 99-109. doi:10.1111/j.14390426.1992.tb00672x.
- Martínez-Palacios, C.A., y Ross, LG. (1994). *Biología y Cultivo de la mojarra latinoamericana Cichlasoma urophthalmus*. Consejo Nacional en la Ciencia y la tecnología. CONACYT. México.
- Martini, A., Huyseune, A., Witten, P.E., & Boglione, C. (2020). Plasticity of the skeleton and skeletal deformities in zebrafish (*Danio rerio*) linked to rearing density. *Journal of fish biology*. 4 (98), 971-986. DOI: 10.1111/jfb.14272.
- Miller, R.R., Minckley, W.L., Norris, S.M., y Gach, M.H. (2005). *Peces dulceacuícolas de México*. Primera edición. Chicago and London: ©2005 The University of Chicago Press, Ltd., Chicago y Londres.
- Mesa-Rodríguez, A., Hernández-Cruz, C.M., Betancor, M.B., Fernández Palacios, H., Izquierdo, M.S., y Roo, J. (2016). Bone development of the skull, pectoral and pelvic fins in *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833) larvae. *Fish Physiol Biochem*. 42 (6), 1777–1789. DOI: 10.1007/s10695-016-0257-8

- Morrison, C.M., Miyake, T., y Wright, JR. (2001). Histological Study of the Development of the Embryo and Early Larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). *Journal of Morphology*. 247 (2),172-195.
- Morrison, C.M., Fitzsimmons, K., y Wright, J.R. (2006). Atlas of Tilapia Histology. World Aquaculture Society. Louisiana.
- Lall, S.P., y Lewis- McCrea, L.M. (2007). Role of nutrients in Skeletal metabolism and pathology in fish- An overview. *Journal Aquaculture*. 267, 3-19.
- Lencer, E.S. y McCune, A.R. (2018). An embryonic staging series up to hatching for *cyprinodont variegatus*: An emerging fish model for developmental, evolutionary, and ecological research. *Wiley journal of morphology*.279,1559-1578. DOI: 10.1002/jmor.20870.
- Mork, L., y Crump, G. (2015). Capítulo Diez - Desarrollo craneofacial del pez cebra: una ventana a los primeros patrones. *Current Topics in Developmental Biology*. 115,235-269. DOI: org/10.1016/bs.ctdb.2015.07.001
- Nakatani, Y., Nishidate, M., Fujita, M., Kawakami, A., y Kudo, A. (2018). Migration of cell fated to blastema is necessary for fish fin regeneration. *Develop. Growth Differ.* (50), 71-83.
- Olivares, R. y Rojas, M. (2013). Esqueleto axial y Apendicular de Vertebrados. *Int. J. Morphol.* 31(3), 378-387
- Ortíz-Galindo, J.L., Castro-Aguirre, J.L., Balart, E.F., y Álvarez-Pliego, N. (2008). Description of early ontogeny and osteological development of streaked mojarra *Eugerres lineatus* (Teleostei: Percoidei: Gerreidae). *Zootaxa*. 1911, 1-30.
- Parsons, K.J., Taylor, A.T., Powder, K.E. y Craig, A.R. (2014). Wnt signaling underlies the evolution of new phenotypes and craniofacial variability in Lake Malawi cichlids. *Nature Communications*. 5(3629), 1-11. doi:10.1038/ncomms4629.

- Pereira, S.L., de Andrade, D.R., Radael, M.C., Fosse Filho, J.C., de Azevedo, R.V., de Cruz Mattos, D., & Junior, M.V.V. (2016). Effect of temperature during embryonic development and first feeding of *Trichogaster leeri* larvae. *Zygote*. 24 (5), 733-741. DOI: 10.1017/S0967199416000046.
- Peterson, T., y Müller, G.B. (2018). Developmental finite element analysis of cichlid pharyngeal jaws: Quantifying the generation of a key innovation. *PLOS ONE*. 13 (1) 1-23. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189985> .
- Potthoff, T. (1984). Clearing and staining techniques. In: Ontogeny and Systematics of Fishes. En H.G. Moser, W.J. Richards, D.M. Cohen, M.P. Fahay, A.W. Kendall, Jr., & S.L. Richardson, eds. *Lawrence, KS, Special Publication 1, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Allen Press*. (pp. 35-37).
- Prophet, B. E., Mills, B., Arrington, B. J., y Sobin, H. L. (1995). Métodos Histotecnológicos. Preparado por el Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington D.C. 269 p.
- Rodríguez-Ibarra, L.E., Abdo-De la Parra, M.I., Aguilar-Zarate, G., Velazco-Blanco, G., e Ibarra-Castro, L. (2015). Desarrollo osteológico de la columna vertebral y del complejo caudal de larvas de *Lutjanus guttatus* (Perciformes: Lutjanidae) en condiciones de cultivo. *Revista de Biología Tropical*.63(1),155-164.
- Rodríguez-Ibarra, L.E., Abdo-De la Parra, M.I., Velazco-Blanco, G., y Aguilar-Zarate, G. (2017). Desarrollo osteológico de la columna vertebral y del complejo caudal de larvas del pez payaso *Amphiprion ocellaris* (Pomacentridae) en condiciones de cultivo. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 1 (52), 113-119.
- Ross, M.H., y Pawlina, W. (2012). *Histología Texto y Atlas color Biología Celular y Molecular*. Sexta edición. EE.UU. Editorial Medica Panamericana.
- Rosas, J., Mata, E., Velásquez, A., y Cabrera, T. (2008). Desarrollo embrionario-larval del pez tropical *Hemirhamphus brasiliensis* (Beloniformes: Hemirhamphidae) a partir de huevos recolectados del medio natural. *Rev. Biol. Trop.* 56 (3), 1449-1458.

- Schofield, P.J., Loftus, W.F., Kobza, R.M., Cook, M.I., y Slone, D.H. (2010). Tolerancia de peces cíclidos no indígenas (*Cichlasoma urophthalmus*, *Hemichromis letourneuxi*) a baja temperatura: experimentos de laboratorio y de campo en el sur de Florida. *Biol Invasions*.12 (8),2441-2457.
- Sassi, A., Annabi, A., Kessabi, K., Kerkeni, A., Saïd, K., & Messaoudi, I. (2010). *Fish physiol. Biochem.* 36, 403-409.
- Saele, O., Haugen, T., Karlsen, O., Van Der Meeren, T., Baeverfjord, G., Hamre, K., y Lie, K.K. (2017). Ossification of Atlantic cod (*Gadus morhua*) Developmental stages revisited. *Journal Aquaculture.* 468, 524-533. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.11.004.
- Sfakianakis, D.G., Koumoundouros, G., Divanach, P., y Kentouri, M (2004). Osteological development of the vertebral column and of the fins in *pagellus erythrinus*. (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. *Aquaculture.* 232, 407-424.
- Tarby, M.L., y Webb, J.F. (2003). Development of the Supraorbital and Mandibular Lateral Line Canals in the Cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*. *Journal of morphology.* 255, 44-57.
- Thuong, N.P., Verstraeten, B., Kegel, B.D., Christiaens, J., Wolf, T.D., Sorgeloos, P., Bonte, D., & Adriaens, D. (2017). Ontogenesis of opercular deformities in gilthead sea bream *Sparus aurata*: a histological description. *Journal of Fish Biology.* 91 (5), 1419-1434. DOI: 10.1111/jfb.13460.
- Vidal-López, J. M., Contreras-Sánchez, W. M., Hernández-Franyutti, A., Contreras-García, M. D. J., y Uribe-Aranzábal, M. D. C. (2019). Functional feminization of the Mexican snook (*Centropomus poeyi*) using 17 β -estradiol in the diet. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(2), 240-250.
- Weigle, J., y Franz-Odenaal, T.A. (2016). Functional bone histology of zebrafish reveals two types of endochondral ossification, different types of osteoblast clusters and a new bone type. *Journal of Anatomy.*229(1),92-103.

Weigele, J., Franz-Odenaal, T.A., y Hilbig, R. (2015). Expression of SPARC and the Osteopontin-like Protein During Skeletal Development in the Cichlid Fish *Oreochromis mossambicus*. *Developmental Dynamics*. 244, 955-972.

Witten, P.E., Huysseune, A., y Hall, B.K. (2010). A practical approach for the identification of the many cartilaginous tissues in teleost fish. *Journal of Applied Ichthyology*. 26, 257-262. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2010.01416.x.

Woltering, J.M., Holzem, M., Schneider, R.F., Narios, V., & Meyer, A. (2018). The skeletal ontogeny of *Astatilapia burtoni* – a direct- developing model system for the evolution and development of the teleost body plan. *BMC Developmental biology*. 18(8), 2-23.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.