



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA**

**“ Inducción a la maduración gonádica del  
langostino malayo, *Macrobrachium  
rosenbergii* (de Man), por medio  
de la ablación unilateral del  
pedúnculo ocular ”**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TITULO DE

**B I O L O G O**

P R E S E N T A

**MARIO DELGADILLO CID**



LOS REYES IZTACALA EDO. DE MEXICO SEPTIEMBRE 1994



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES JESUS E INES  
POR EL APOYO QUE ME HAN BRINDADO

A MIS HERMANOS MARTIN, ANA, ROSA Y TERESA  
POR CONFIAR EN MI

A MIS ABUELOS FRANCISCO, EMMA Y NIEVES

A MIS TIOS ESTABAN, REBECA, FRANCISCO, JOSE LUIS Y MARTHA  
POR SU APOYO

A MIS SOBRINOS GISSELE, DILERI, MARIO ALBERTO, JESICA, NATALI,  
MOISES, ANA KAREN, INES IVONNE, YOEL.

A TODOS MIS FAMILIARES.

## AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Mario Alfredo Fernández Aráiza, por su amistad y dirección del presente trabajo.

A mis revisores del trabajo Sergio G. Stanford Camargo, Antonio Cisneros Cisneros, José del Carmen Benites, Martha Valdez Moreno.

Al Dr. José Luis Arredondo Figueroa, por darme un mayor panorama de la biología a nivel aplicativo, por su amistad y apoyo.

A Hector Raul y Mario Garibay Rodríguez por su amistad durante muchos años, así como a su familia.

A los Biol. Francisco Nava Nava, Francisco Fierro, Alejandro González Cruz, Ricardo Campos, Marcela Ibarra, Martha Carmona, Jorge Angulo, Sergio Pérez, Ernesto Kapelmann, Alberto Morales y Manuel Elías.

Al Dr. Eduardo Pérez García, por la enseñanza en el manejo de laboratorio de producción de postlarvas de camaron y el manejo de sistemas de cultivo.

Al grupo Barandúa de Ecuadoren especial a Tino Pérez, Horacio Navarro y Martha Coello por su amistad.

Y a todos aquellos que han formado parte en mi vida gracias.

## INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
ANTECEDENTES.....	9
OBJETIVOS.....	11
MATERIAL Y METODO.....	12
RESULTADOS.....	20
DISCUSION.....	46
CONCLUSIONES.....	50
BIBLIOGRAFIA.....	51
ANEXO 1.....	57
CALCULOS DE LOS ESTADISTICOS.....	59

INICE DE FIGURAS, GRAFICAS Y TABLAS.

Ciclo biológico de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> .....	4
Anatomía del pedúnculo ocular de un crustáceo.....	5
Efectos de las hormonas en los crustáceos.....	6
Relación entre la inhibición y la estimulación de gónada en la reproducción de crustáceos.....	7
Comportamiento hormonal por efecto de la ablación unilateral del pedúnculo ocular en crustáceos.....	8
Diagrama representativo de los diferentes estadios de ovogénesis.....	16
Localización anatómica del ovario.....	17
Estadios de desarrollo del ovario.....	18
Localización anatómica del testículo.....	19
Datos generales de los langostinos del lote de seguimiento del desarrollo ovárico.....	25
Resultados con el estadístico "t" de Student.....	26
Resultados con el estadístico ANOVA.....	27
Parámetros físico-químicos.....	28
Estadios de desarrollo de las hembra de ambos lotes trabajados.....	29
Peso y longitud alcanzados por los individuos por sexo y lote.....	30
IGS del lote de seguimiento y los lotes trabajados.....	31
Diferentes grados de desarrollo que se pueden encontrar en los ovocitos del langostino.....	32-34
Diferentes grados de desarrollo del ovario en los langostinos.....	35-38

## RESUMEN

En el presente trabajo se utilizaron individuos pertenecientes a la especie *Macrobrachium rosenbergii*, realizándose éste en laboratorio, con el objetivo de acelerar el proceso de maduración gonádica por medio de la ablación unilateral del pedúnculo ocular, registrándose el tiempo en días de cada uno de los estadios de desarrollo, así como del tiempo total, el número de mudas en promedio por cada organismo, número de huevos por hembra, su porcentaje de eclosión y el IGS; además se determinó de manera visual y corroborado con un estudio histológico, los diferentes cambios que ocurren en el desarrollo de los óvulos de ésta especie.

Se realizaron dos ensayos del trabajo, el primero con una duración de 80 días, presentando una densidad de 8 org./60 l, y el segundo de 110 días con 4 org./60 l, con una relación sexual de 1:1, obteniéndose 11.76% de los organismos de los grupos testigos que manifestaron maduración ovárica y 20.83% en los que se les practicó la ablación. Cuando se comparó el tiempo en días de desarrollo de cada estadio no se obtuvo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en ninguno de ellos, pero en el tiempo total si existió diferencia ( $P < 0.05$ ); en las mudas el promedio fue de 2.125 en el grupo control y 1.33 para el experimental, presentando diferencia ( $P < 0.05$ ). El promedio de huevos por hembra fue de 11,470 en el control y en el experimental de 10,197 ( $P > 0.05$ ), el porcentaje de eclosión en el control 92.014% el experimental de 85% ( $P > 0.05$ ). Al comparar los estadios del ovario registrados de manera visual con los obtenidos a través del estudio histológico, en base a los cambios en los caracteres de los ovocitos y el tiempo en que se desarrollaron éstos, no se encontraron diferencias en los tiempos en que transcurren de uno a otro, por lo que se pueden considerar como una base para determinaciones de los cambios que se presentan en los ovocitos a lo largo de su desarrollo.

La respuesta de los organismos a los que se les practicó la ablación unilateral del pedúnculo ocular, se manifestó directamente en el desarrollo gonadal, ya que en el proceso de muda hubo un retardo en el desarrollo somático.

## INTRODUCCION

Los recursos pesqueros representan una de las vías principales en la producción y economía de muchos países y dentro de los de mayor importancia están los crustáceos; ya que su cotización en el mercado permite obtener los mejores ingresos económicos, siendo así, uno de los productos de mayor demanda.

La meta que ha tenido el hombre, en relación a los crustáceos, es tener un mejor aprovechamiento de estos sin capturarlos en su medio, manejando su ciclo biológico, en condiciones controladas (Pérez, 1992, com. per.) obteniendo una mayor producción de ellos.

Debido al alto nivel de exportación del recurso, se ha iniciado el cultivo de estos organismos, con la finalidad de obtener una producción constante a lo largo de todo el año. En un principio, los cultivos de crustáceos dependían en su totalidad de las postlarvas del medio natural y de la productividad primaria del lugar del cultivo (Arredondo, 1986).

Se han realizado estudios con el camarón (que pueden servir como base para trabajos con el langostino y otros crustáceos de interés comercial), con el objeto de desarrollar métodos artificiales para su cultivo a gran escala (Hudinaga, 1942). Sin embargo, en forma radical y gracias a los avances científicos y tecnológicos en la materia se ha alcanzado un punto, en el que el sistema de cultivo intensivo puede ser manejado a la perfección. Esto va desde la retención de los reproductores en cautiverio, hasta la producción masiva de larvas en condiciones óptimas, el diseño de dietas artificiales, modificar las condiciones naturales del medio, mediante la fertilización del agua, la adición de alimento vivo, variar la temperatura y la salinidad, y manteniendo el sistema en buenas condiciones (Hudinaga, op. cit.; Pérez, 1992, com. per.).

La práctica del cultivo de crustáceos, es una actividad relativamente reciente en nuestro país, y en algunos aspectos aún es experimental. Día a día la investigación y la práctica en el cultivo de crustáceos, tienen resultados de suma utilidad para el desarrollo de nuevas técnicas aplicadas al cultivo del langostino. Las condiciones hidrográficas en nuestro país, ofrecen amplias perspectivas para el desarrollo de su cultivo. En México se desarrollan 10 especies de langostinos del género *Macrobrachium* de importancia comercial (9 endémicas y 1 introducida) destacando *M. acanturus*, *M. carcinus*, *M. americanus* y *M. tenellum* entre las



nativas. No obstante, diversos trabajos han demostrado que la especie introducida *M. rosenbergii*, es hasta el momento la idónea para el desarrollo de cultivos controlados a escala comercial, ya que es la que presenta una buena tasa de crecimiento y sobrevivencia (Díaz y Fernández, 1990), además de ser la menos agresiva, siendo el nivel de canibalismo bajo, en comparación con las especies endémicas de México. Presentan un ciclo biológico no muy complejo (**Fig. 1**), en el cual las larvas se encuentran en un medio estuarino y los juveniles y adultos se desarrollan en aguas dulces.

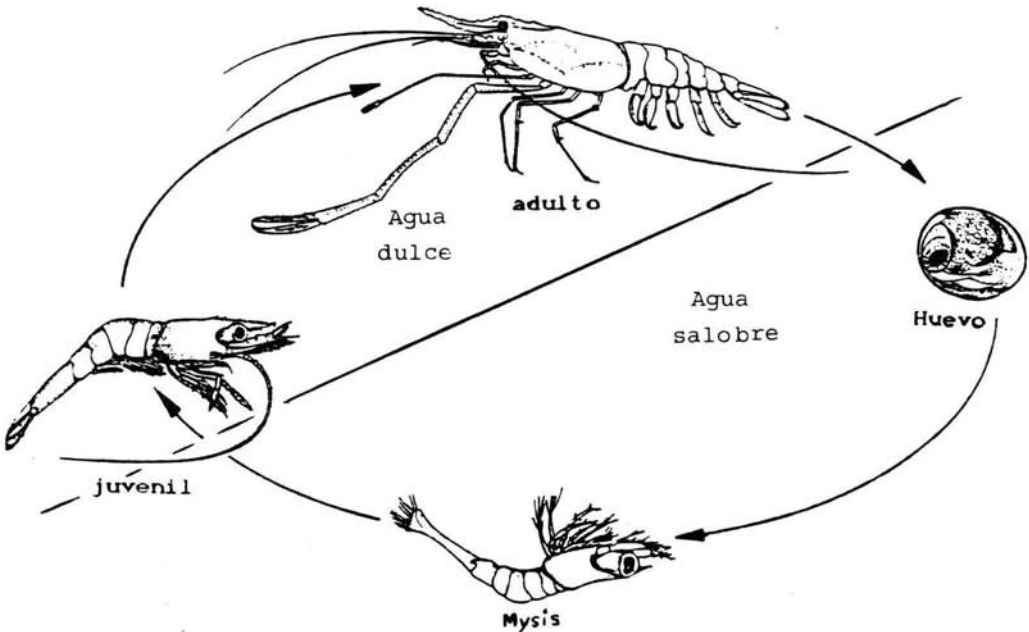
La preocupación principal de los cultivadores de crustáceos, es el abastecimiento de larvas, ya que en el medio natural, solo se dispone de estas en épocas de reproducción. Por lo que ha surgido la necesidad de reproducir a los langostinos en medios controlados, utilizando metodologías acordes a las condiciones óptimas ambientales para la especie, así como a través de la inducción artificial para la producción de las larvas, en la cual, se altera el equilibrio fisiológico y el endocrinológico.

En los pedúnculos oculares de los crustáceos, se localiza el sistema órgano X - glándula sinusal (**Fig. 2**), que contiene una variedad de factores u hormonas tales como: la hormona inhibitoria de la gónada (**HIG**), la hormona estimuladora de la gónada (**HEG**), la hormona inhibitoria de la muda (**IHM**), la hormona de la muda (**HM**) o ecdisona, la hormona femenina (**HF**), la hormona androgénica (**HA**) (Carlisle, 1953; Adiyodi y Adiyodi, 1970; Weis, 1976; Lumare, 1979; Nakatani y Ötsu, 1979; Quackenbush y Herrnkind, 1981; y Ruszkal-Pietrza, 1981) y otros tipos hormonales que gobiernan las diversas funciones de los organismos (**Fig. 2a**), como el desarrollo, contracciones del corazón, y algunos los procesos metabólicos como el de los carbohidrato y proteínas, balance hidromineral, dispersión de los pigmentos, la adaptación a la luz y la actividad sexual con la secreción de feromonas en hembras (**Fig. 3**) (Kleinholz, 1966, 1976; Drach y Tchernigovtzeff, 1967; Iwasaki y Satow, 1971; Adiyodi y Adiyodi, 1970; Aréchiga, et. al., 1985; Mattson y Staziani, 1986).

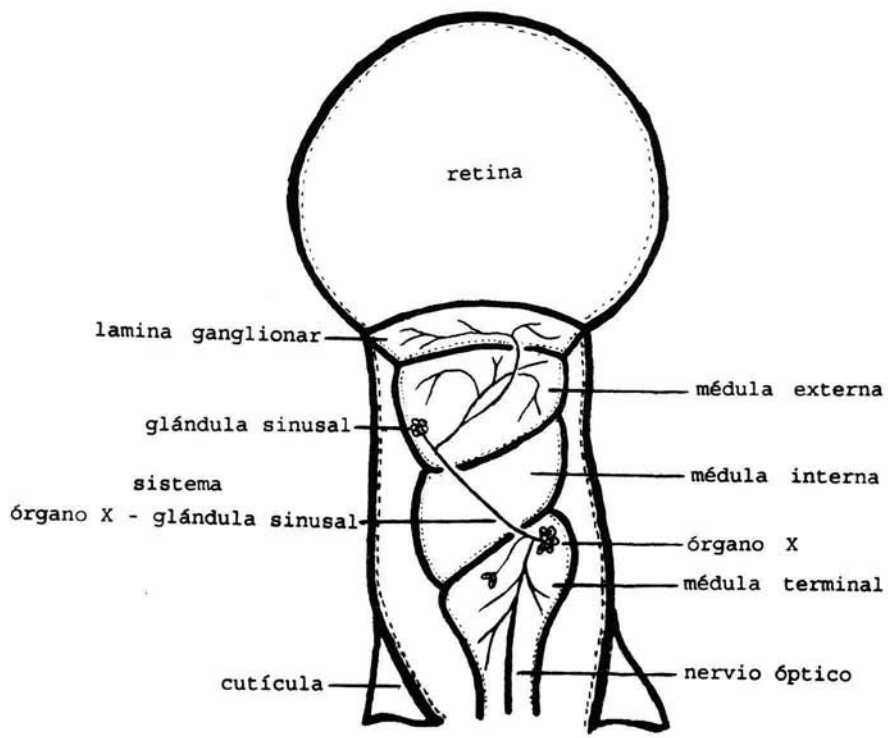
En los decápodos juveniles y adultos en estadios poco desarrollados se produce una muda precoz al ser sometidos a la ablación de los pedúnculos oculares, y esta aparentemente relacionada con la disminución en producción de la HM y consecuentemente con la acción del órgano Y, el cual produce la HM. En las hembras adultas de diversas especies, el resultado de la ablación del pedúnculo ocular, puede o no producir una muda precoz, pero prematuramente desarrolla el ovario. Al remover el pedúnculo ocular en juveniles y adultos machos de diferentes especies, se aprecia inducción a la espermatogénesis precoz, la hipertrofia e hipersecreción de la glándula androgénica, resultando además, que los espermatozoides en ocasiones no se desarrollan perfectamente, quedando en estadios más jóvenes, por lo cual, no cumplen con la función de la fusión genética (Ramos, 1991, com. per.). En segundo

lugar los órganos epiteliales (presentes solo en machos), situados en la parte distal del vaso diferencial, son los responsables de la secreción de la HA (Adiyodi y Adiyodi, *op. cit.*). En los pedúnculos oculares, tanto en machos como en hembras, es restaurado el mantenimiento normal de la gónada, en individuos carentes de pedúnculos oculares (Ôtsu, 1963, citado por Adiyodi y Adiyodi, *op. cit.*), no hay razón para afirmar que la inhibición del ovario y la del testículo difieran una de la otra (Adiyodi y Adiyodi, *op. cit.*; Fingerman y Fingerman, 1976; y Nakatani y Ôtsu, 1979) en condiciones naturales.

En el desarrollo gonádico de las hembras y machos, con relación a la respuesta de la ablación, esta sufre una aceleración, ya que aparentemente disminuye la producción de las hormonas inhibitorias, (Graf. I a III) (Adiyodi y Adiyodi, 1970; Nakatani y Ôtsu, 1979), ya que las reacciones vinculadas con el desarrollo de los ovocitos también se incrementan sin que existan anomalías en estos, a diferencia de los espermatozoides, los cuales además pueden tener un desarrollo incompleto (Ramos, 1991, *com. per.*).



**Figura 1.** Ciclo biológico del langostino *Macrobrachium rosenbergii*, que muestra las siguientes fases de desarrollo: Huevo (la incubación de la hembra dura de 21 días), eclosiona una larva Mysis (4 estadios en 21 días), Post-larva / juvenil al adulto maduro (en este paso tardan 4 meses o 180 días) (tomado de Lee y Wickins, 1992).



**Figura 2.** Anatomía del pedúnculo ocular de un crustáceo. (basado en Adiyodi y Adiyodi, 1970; Iwasaki y Satow, 1971; Aréchiga, et. al., 1985).

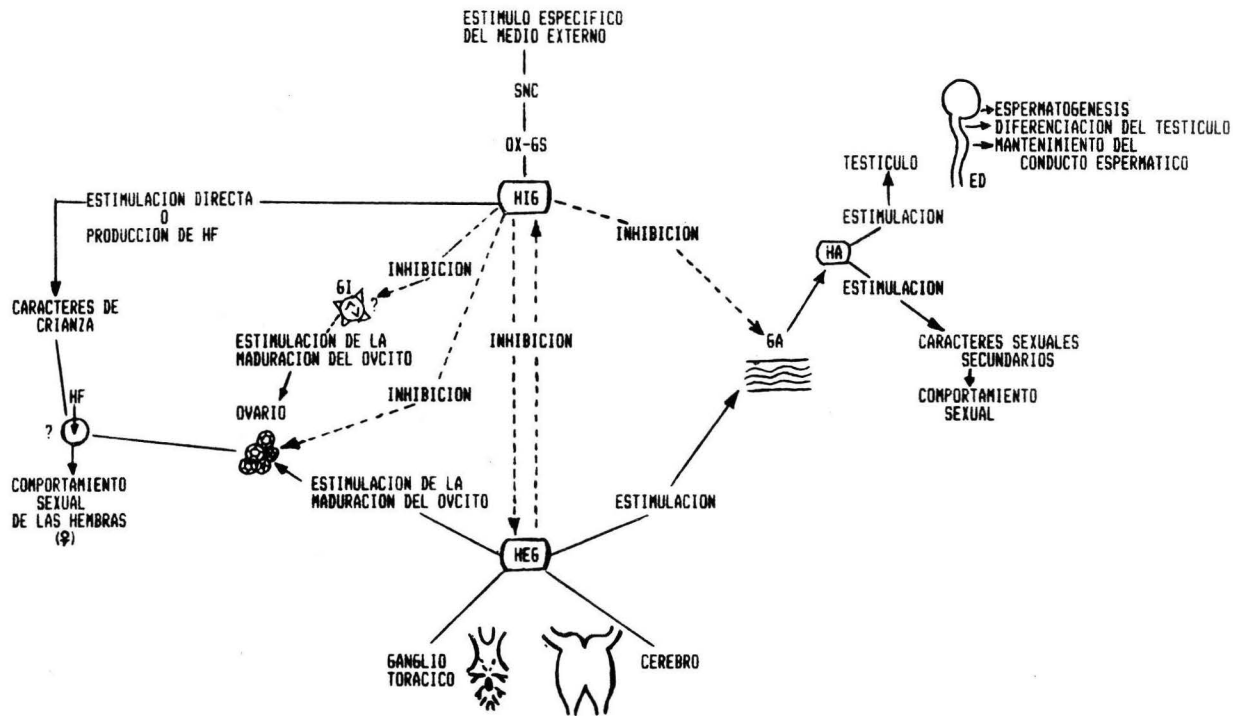
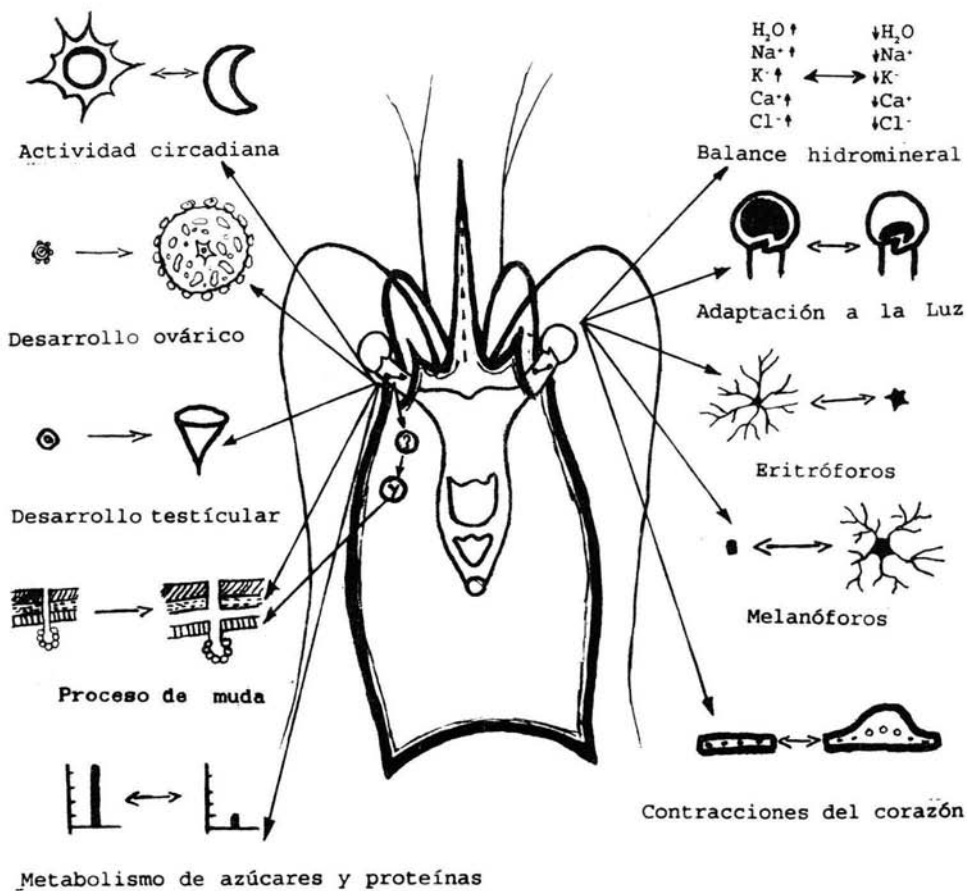


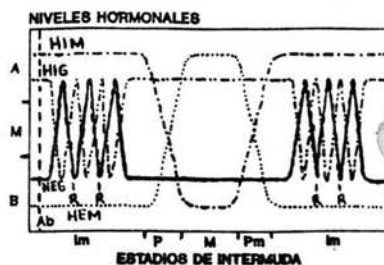
Fig. 2a Diagrama ilustrativo de la posible relación entre la inhibición y la estimulación de la gonada, en la reproducción de los crustáceos y las hormonas sexuales (Adiyodi y Adiyodi, 1970).

DEFINICION DE LAS CLAVES: SNC, sistema nervioso central; OX-6S sistema organo X - glandula sinusal  
 HI6: hormona inhibitoria de la gónada; HE6, hormona estimuladora de la gónada; GI, glandula intermedia hipotética.  
 AG, glandula androgénica; HA, hormona androgénica; HF, hormona femenina; ED, espermiducto

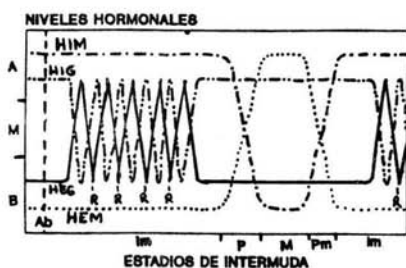


**Figura 3.** Diagrama de los efectos de las hormonas atribuidos a los pedúnculos oculares de los crustáceos (Kleinholz, 1966 modificado por Delgadillo, 1992).

## COMPORTAMIENTO HORMONAL



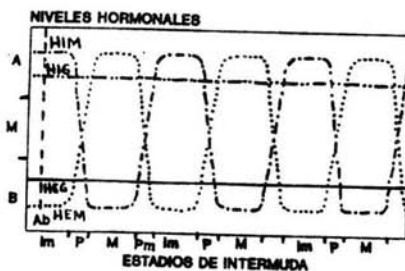
Gráfica I



ESTADIOS DE INTERMUDA

Gráfica II

Teórico



ESTADIOS DE INTERMUDA

Gráfica III

Teórico

**Gráfica I.**- Condición normal de las hormonas que intervienen en los procesos de muda y reproducción, en los crustáceos (Kleinholz, 1976)

**Gráfica II.**- Variación de los niveles hormonales en los referente a la muda y reproducción en crustáceos, en relación a la respuesta causada por la ablación unilateral del pedúnculo ocular, condición hacia la reproducción (Delgadillo, 1992, basado en Adiyodi y Adiyodi, 1970; Kleinholz, 1966 y 1976).

**Gráfica III.**- Variación hormonal (principalmente de la muda y la reproducción) encausada hacia la muda, provocada por la ablación unilateral del pedúnculo ocular (Delgadillo, 1992, basado en Adiyodi y Adiyodi, 1970; Kleinholz, 1966 y 1976).

(A) nivel hormonal alto; (M) nivel hormonal medio; (B) nivel hormonal bajo; (Ab) momento de la ablación; (Im) intermuda; (P) premuda; (M) muda; (Pm) postmuda; (HIM) hormona inhibitoria de la muda; (HIG) hormona inhibitoria de la gónada <ovario>; (HEM) hormona estimuladora de la muda; (HEG) hormona estimuladora de la gónada <ovario>; (R) reproducción.

## ANTECEDENTES

De los trabajos con crustáceos, relacionados con el proceso de maduración gonádica, se presentan los siguientes reportes: Rosas et. al. (1991), realizaron la ablación unilateral y bilateral de pedúnculos oculares en *Callinectes similis*, en busca de una respuesta en el consumo de oxígeno y encontraron una aceleración en el ritmo respiratorio además de alteraciones en el metabolismo general del organismo que provocaron un incremento en el desarrollo gonadal y el ciclo de la muda. Quackenbush y Herrnkind (1981), llevaron a cabo pruebas con el fin de conocer la relación que presentan el ciclo de muda y el desarrollo gonadal, después de la ablación unilateral de los pedúnculos oculares en *Panulirus argus*, concluyeron que estos dos eventos presentaron una relación antagónica, además de que la respuesta que se tuvo al realizar la ablación, dependía del estadio de desarrollo del organismo y otros factores que interfirieron en su respuesta. Lumare (1979) indujo a la reproducción de *Penaeus kerathurus*, por medio de la ablación unilateral, haciendo pruebas en cada estación del año, manejando diferentes proporciones de hembras y machos; además varió el fotoperiodo, temperatura, salinidad, concentración de oxígeno disuelto,  $N-NH_4$ ,  $NO_2$  y la talla en los organismos, obteniendo una reducción en 3 a 10 días del tiempo total del desarrollo de la gónada; en todos los casos, los huevos fecundados, tuvieron una eclosión del 92%, pero hubo problemas con los reproductores, por contaminación con *Leucotrix* (bacterias filamentosas), aunado con alta mortalidad, causada por el estrés por la ablación. Nagamine et. al. (1980) realizaron observaciones de los efectos que causa la androgenización (ablación de la glándula androgénica), en los caracteres sexuales primarios y secundarios, observaron que si esta se realiza en estadios juvenes, los caracteres sexuales secundarios no se manifestaban, inclusive se comparó con otros crustáceos, teniendo que los isópodo responden de idéntica manera; registran una mortalidad del 27%, pero también en algunos machos, hay feminización, tanto en el desarrollo de sedas ovígeras en los pleópodos y del gonoporo femenino; en lo que respecta a la gónada, presentaron la mitad anterior de tipo testicular y en la mitad posterior de tipo ovárica, produciendo gametos de ambos tipos de forma normal. Middleditch et. al. (1979) en su trabajo de maduración de camarones peneidos, con la utilización de ácidos grasos saturados e insaturados, encontraron que la relación 20:4, 20:5 y 22:6 es la mejor para estos casos, la adición de esteroides es de suma importancia, para la formación de hormonas, que intervienen en el proceso reproductivo.

Sagi y Ra'anán (1985) describieron un método que muestra la manera de conocer, cuando una hembra de *M. rosenbergii* se encuentra receptiva para el apareamiento; utilizando un macho adulto dominante, al que se le bloqueó el gonoporo; a las hembras se les practicó una inseminación artificial, contando para esto con machos seleccionados, a los que se les obtuvo los espermátóforos, los cuales fueron colocados a las hembras receptoras, identificadas con el método, se presentó una fecundidad del 92%, con una alta sobrevivencia. Nagamine y Knigh (1980) realizaron un trabajo en el que describieron las modificaciones que sufren los organismos de la especie *M. rosenbergii*, se examinaron los caracteres sexuales secundarios; en machos se observan quelas, segundo metámeros del pleón (pleura) y segundo par de pleópodos en relación a los gonopodios; en las hembras se observó el desarrollo de las sedas ovígeras. En general todas las modificaciones variaron dependiendo del estadio de desarrollo en el que se encontró el organismo.

Zerbib (1980) observó la ovogénesis a nivel de ultraestructura en *Orchestia gammarellus*, describió los estadios de desarrollo del ovario de este organismo, proporcionando rangos dimensionales de las células en todo el proceso, además aclara el origen del vitelo en la vitelogénesis, que se da tanto en el interior como en el exterior del ovocito, así como su incorporación por medio de la pinocitosis, describiendo la formación de vesículas ergoplásmicas, las cuales contienen vitelo y la formación de vesículas corticales. Rankin y Davis (1990) trabajaron a nivel de ultraestructura del ovocito de *Penaeus vannamei*, en lo que respecta a la formación cortical especializada, que se da en células precursoras de óvulos. Explican la formación de vitelo de forma endógena y exógena, además de que intuyen en la presencia de moléculas de alto peso molecular, que forman parte de gránulos vitelogenéticos que promueve el desarrollo del óvulo. Levi y Vacchi (1988) describieron una escala microscópica para la determinación simple y rápida en la maduración sexual de *Aristeomorpha foliacea*, tomando en cuenta las diferentes tonalidades en el color del ovario, realizaron la fijación de este para el examen histológico, determinando los cambios que presenta el ovario; con esto al organismo in vivo se le puede conocer su estadio de desarrollo.

Goudeau (1982) en su estudio de fertilización, en el cangrejo *Carcinus maena*, en eventos relacionados con el ovario, la reacción acrosomal y el contacto gamético, describe el desarrollo del ovario, con respecto al contacto gamético y la acción de la reacción acrosomal in vivo, para no perder detalle del proceso.



Por lo mencionado anteriormente y por la poca información que se presenta con respecto a la maduración gonádica de *M. rosenbergii* (específicamente en lo referente al desarrollo ovárico), se plantea el siguiente objetivo general y particulares:

1 - Lograr la reproducción del langostino malayo *M. rosenbergii* (De Man), en condiciones de laboratorio.

1.1 - Inducir la maduración gonádica por medio de la ablación unilateral del pedúnculo ocular, tanto de hembras como de machos.

1.2 - Describir el desarrollo ovárico de las hembras de *M. rosenbergii*.

## MATERIAL Y METODO

Los langostinos utilizados en este trabajo, fueron adquiridos en la granja "Unidad el Vergel", que se ubica en el Km. 4 de la desviación de la carretera Anenecuilco - San Rafael, Estado de Morelos, México. Se trabajo un total de 170 ejemplares de *Macrobrachium rosenbergii* con una talla entre 60 a 150 mm. Fueron transportados en cajas de polietileno cerradas al acuario de la U.N.A.M. campus Iztacala, en donde a su arribo, se aclimataron agregando poco a poco, aproximadamente 500 ml. de agua a una temperatura de 28°C, con el fin de igualar la temperatura de los contenedores plásticos, en donde fueron mantenidos a lo largo del trabajo. Se les dejó con aireación toda una noche, para después colocarlos en cajas plásticas de 60 litros, acondicionadas con calentadores "Longlife", aireadores "Elite 801 y 802" y filtros de caja "Penn plax" con carbón activado y fibra de vidrio para acuario; posteriormente se sometieron a una cuarentena, en la que se observó el comportamiento de los organismos, y la detección de posibles enfermedades; se les dio medidas sanitarias al inicio; siendo estas, la aplicación de azul de metileno concentrado (30 gotas / 60 lt), quince días después se agregó verde de malaquita (30 gotas / 60 lt), para eliminar bacterias Gram - y Gram + respectivamente y casi al finalizar de la cuarentena se les adicionó Nitrofurazona, una cápsula por cada 20 litros de agua (en la cual se tenían 10 org/contenedor). Se registró diariamente la temperatura, realizándose además recambios del 20 al 30% de agua.

Se hicieron 2 ensayos, uno de ellos en el período del 3 de agosto al 2 de noviembre de 1991 (80 días), utilizando 72 langostinos y el segundo ensayo en el período del 12 de diciembre de 1991 al 17 de abril de 1992 (110 días), se utilizaron 40 organismos que se dividieron en 3 grupos con 3 repeticiones cada uno, y una densidad de 8 org/60 lt. de agua, en el primer ensayo y el segundo, en 2 lotes con 5 repeticiones cada una y una densidad de 4 org/60 lt. Se mantuvo además un grupo con 58 individuos, los cuales fueron utilizados para la observación y estudio histológico, a una densidad similar a la del segundo ensayo. Para evitar agresiones de los grandes a los pequeños, se dividió a estos en rangos de longitud no mayor de 30 mm., estando representados en cada uno de los tratamientos individuos de las diferentes tallas con las que se contó. Se mantuvieron con una dieta, en la que se contempló *Artemia* sp., *Tubifex* sp. y alimento peletizado para camarón de la marca "Nutrión", con 35% de proteína. Se mantuvo una temperatura constante de 28°C ± 1°C, que fue registrada diariamente con un termómetro de mercurio, con graduación de -10° a 100°C., el pH y el oxígeno se midieron con un oxímetro cada 4 días, los recambios fueron del 20 al 30% agua diariamente; se sexaron y marcaron a los organismos, con una clave de identificación (sexo y

número de identidad), la cual fue colocada con tinta metálica no tóxica, en el caparazón del organismo, presentaron una relación sexual 1:1, por cada unidad experimental.

En ambos ensayos, se utilizaron lotes testigos y experimentales. En los lotes experimentales, en ambos ensayos, se les practico la ablación unilateral del pedúnculo ocular, realizado con ayuda de unas tijeras de punta fina y pinzas de relojero del número 0.5, para cauterizar las heridas producidas, se les colocó una gota de azul de metileno, dejando pasar 10 seg. fuera del agua al organismo, evitando con esto una posible infección por contaminación. En el primer ensayo se utilizaron 2 testigos.

En cada uno de los lotes de cada ensayo, se midieron las siguientes variables de respuesta:

1.- Número de apareamientos determinados por medio de la revisión de la implantación del espermátóforo en el tético.

2.- Número de huevos producidos que fueron contabilizados de manera indirecta (se pesaron en una balanza analítica 30 huevos tomados de una hembra, y a ésta antes y después de que soltara los huevos, por diferencia se obtuvo el peso de la masa de huevos, a este último dato se dividió entre el peso de los 30 huevos, con los cual, se determinó la cantidad aproximada del número de huevos por hembra).

3.- Número y porcentaje de huevos eclosionados (se contabilizaron los que no eclosionaron, este valor fue restado a los huevos producido por hembra, se conoció el número de los que eclosionaron, por regla de tres, se extrae el porcentaje de eclosión, además del número de larvas mysis producidas por hembra).

4.- Incremento del peso (tomado con una balanza granataria) y longitud patrón (de la cavidad ocular al telson, tomada con una regla graduada en mm.).

Para el índice gonado-somático (IGS), se aplicó la siguiente relación (Mendoza, 1985):

$$\text{IGS} = \frac{\text{Peso húmedo de la gónada (g.)}}{\text{Peso húmedo total del organismo (g.)}} \times 100$$

5.- Se determinaron de manera visual macroscópica los diferentes estadios de desarrollo del ovario (Fig. 5 A a D), y de microscópica, ésta última basándose en los trabajos de Zerbib (1980) y Guitart y Quintana (1976) (Fig. 4):

**Ovogonia:** presentan un diámetro de aproximadamente 12  $\mu\text{m.}$ , tiene un núcleo esférico, varios nucleolos.

**Ovocito etapa 1:** tiene un diámetro que va de 12-18  $\mu\text{m.}$ , con núcleo

esférico y un solo nucleolo; el citoplasma es basofílico.

**Ovocito etapa 2:** se observan con un rango de 18-80  $\mu\text{m}$ . de diámetro, con núcleo esférico y un nucléolo; en este tipo el citoplasma es basofílico en un principio, pero cuando inicia la vitelogénesis primaria presenta cierta afinidad a la hematoxilina, hasta ser completamente afín.

**Ovocito etapa 3:** se aprecian en un rango que va de los 80-160  $\mu\text{m}$ . de diámetro, con un núcleo esférico y un solo nucléolo; en el citoplasma se hace notorio la aparición de gránulos corticales o cuerpos periféricos, estos se ubican en la periferia de la célula.

**Ovocito etapa 4:** mantiene las mismas dimensiones que el ovocito del tipo anterior, con núcleo esférico y un nucléolo; los gránulos corticales o cuerpos periféricos incrementan su número, forman una especie de franja entre el citoplasma y el núcleo.

**Ovocito etapa 5:** observándose en un rango de 160-800  $\mu\text{m}$ . de diámetro contando también con un núcleo que comienza a presentar deformaciones y un nucléolo; los gránulos corticales o cuerpos periféricos invaden todo el citoplasma de la célula, por el gran número de estos, que a su vez incrementan su tamaño.

**Ovocito etapa 6:** último tipo o maduro, teniendo su máxima dimensión que es aproximadamente de 800  $\mu\text{m}$ ., el núcleo es amorfo (tipo de estrella), manteniendo un solo nucléolo.

Tomando en cuenta que el ovario maduro visiblemente abarca el 50% aproximadamente de la superficie visible del pereión (**Fig. 6 A a E**). Para la determinación externa del estadio de desarrollo del ovario, en el organismo vivo, se estableció el siguiente criterio:

**Estadio I.-** la gónada no aparente (en reposo) hasta ocupar el 20% aproximadamente del volumen total que abarca en el pereión (**Fig. 6 A**).

**Estadio II.-** del 21 a 40% que abarca la gónada, del volumen total que ocupa en el pereión (**Fig. 6 B**).

**Estadio III.-** del 41 al 60% que abarca la gónada, del volumen total que ocupa en el pereión (**Fig. 6 C**).

**Estadio IV.-** del 61 al 100% del volumen total que abarca la gónada en el pereión (**Fig. 6 D**).

**Estadio V.-** postdesove (**Fig. 6 E**).

En los machos, se toma en cuenta que el testículo corre a lo largo de la parte dorsal de pereión, apreciándose con una tonalidad blanca (**Fig. 7 A a C**).

En el grupo de 58 organismos, utilizado para determinar de manera histológica el desarrollo de la gónada, se registró el peso húmedo del organismo y de la gónada, la longitud patrón, el estadio de desarrollo gonadal observado in vivo y el IGS. Para detectar el peso de la gónada de estos organismos, se registró su peso en una balanza analítica de precisión de  $\pm 0.0001$  g. y la longitud con una regla graduada con precisión de  $\pm 0.1$  cm.

En el estudio de maduración gonádica a nivel microscópico, se empleó la técnica histológica general; la tinción se realizó con hematoxilina y eosina (Benítez, 1992, com. per.) (se describe en el anexo 1).

Las evaluaciones histológicas de la gónada, se realizaron bajo el siguiente criterio:

Para determinar el estadio de desarrollo gonádico a partir de los cortes histológicos en el ovario, se contó con un microscopio óptico marca "Zeiss", para observar las preparaciones, tomándose en cuenta la cantidad de células observadas de cada uno de los diferentes estadios de desarrollo, corriendo el campo visual, para apreciar mejor el corte de la gónada.

Para establecer los diferentes estadios de maduración gonádica, se utilizó el siguiente criterio (basado en los trabajos de Zerbib (1980) y Guitart y Quintana (1976)):

**Estadio I.-** mayor presencia de ovogonia y ovocitos de tipo 1.

**Estadio II.-** mayor presencia de ovocitos de tipo 2, teniendo además ovocitos de tipo 1 y ovogonias.

**Estadio III.-** mayor presencia de ovocitos de tipo 3, 4 y 5 presentándose además de ovocitos de tipo 1 y 2, y las ovogonias.

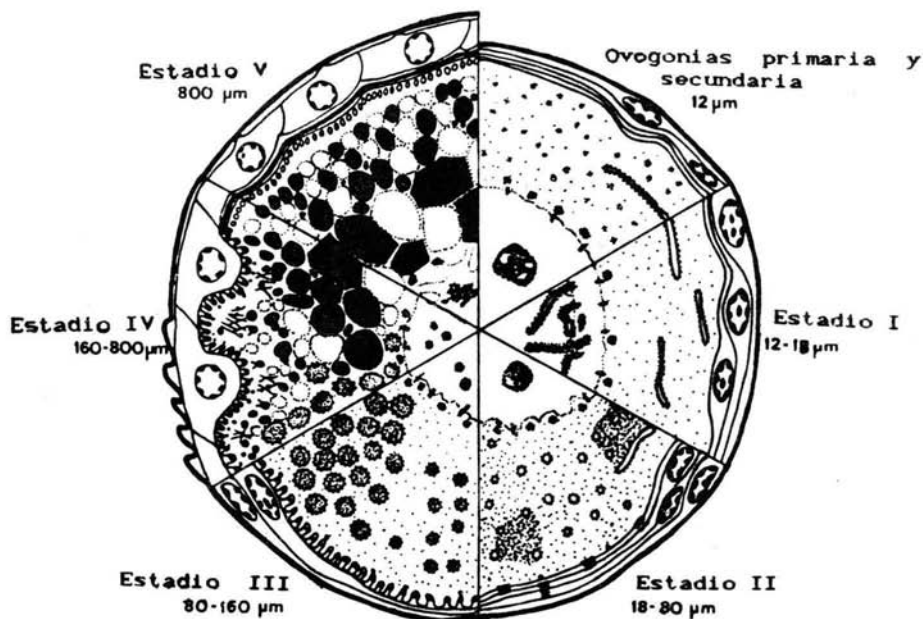
**Estadio IV.-** mayor presencia de ovocitos de tipo 6, además se presentan ovocitos de los tipos anteriormente señalados.

**Estadio V.-** presencia de ovocitos de diferentes tipos, como las de tipo 1, 2, 3 y 4 en pocas cantidades.

Los datos de los parámetros físico-químicos registrados (temperatura, pH y oxígeno disuelto), se presentaron en gráficas.

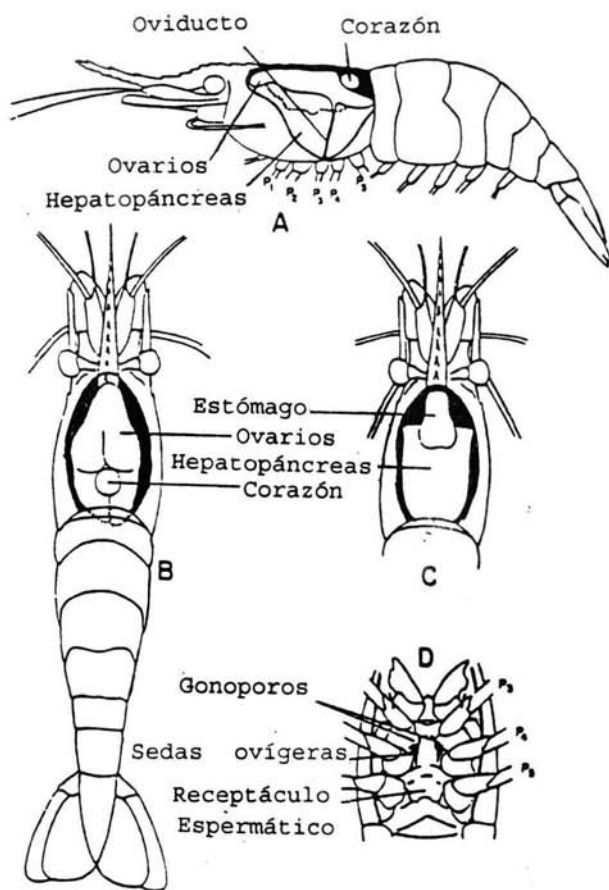
Con los datos obtenidos, con respecto al incremento en el peso y longitud, de los organismos en cada tratamiento. Para cada ensayo, se aplicó el estadístico ANOVA (análisis de varianza de 2 factores peso contra sexo y longitud contra sexo), para detectar diferencias significativas en los tratamientos de los ensayos, mediante el programa de computación "CSS: STATISTICA". Se aplicó el estadístico de "t" de student (Zar, 1985), para los siguientes

casos: número de días totales en que alcanzan la maduración gonadal los langostinos del lote testigo y experimental; número de días en que pasan de un estadio a otro de desarrollo gonádico; número de huevos producidos por las hembras de ambos lotes; porcentaje de eclosión para ambos lotes; datos del índice gonado-somático de ambos lotes experimentales y número de mudas que presentaron los langostinos de ambos lotes.



crustacea amphipoda *Orchestia gammarellus*

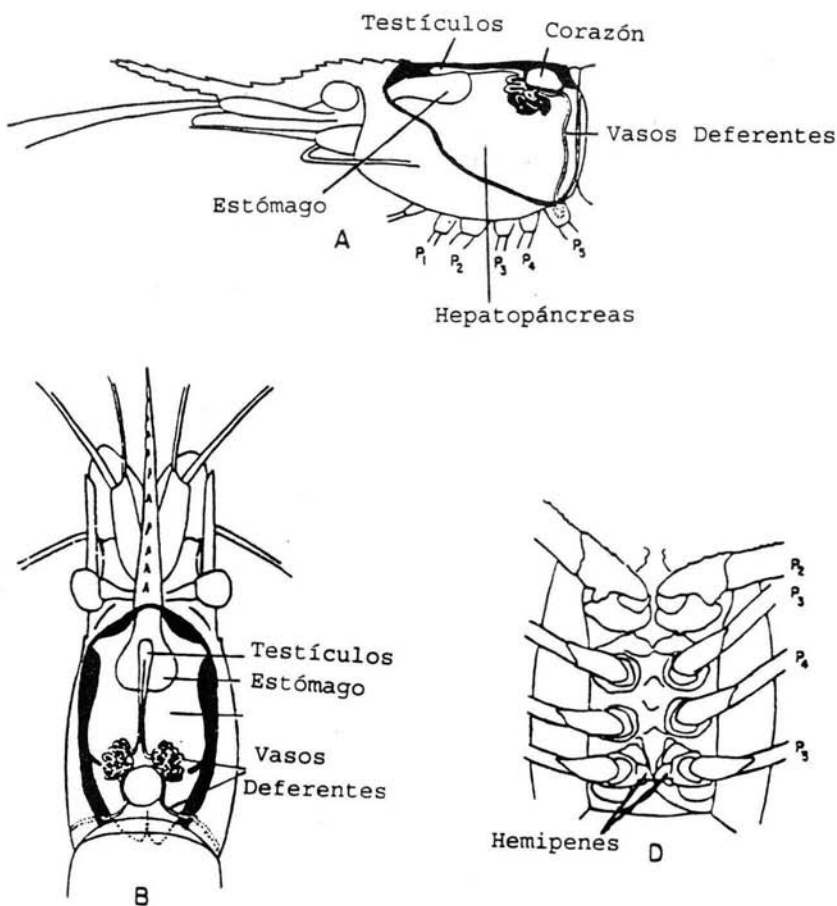
**Figura 4.** Diagrama representativo de los diferentes estadios de ovogénesis. Ovogonias primaria y secundaria, las cuales son identificables por la presencia de ribosomas agrupados en polirribosomas. **Estadio I** (o fase meiótica) el ovocito adquiere una primera capa de células foliculares que lo envuelven y el citoplasma presenta una larga cisterna de RER. En el **Estadio II** (o previtelogénesis) el RER produce vesículas, el ovoplasma es invadido masivamente por ribosomas. **Estadio III** (o primer vitelogénesis) El RER es responsable de la depositación del vitelo endógeno. Así mismo en el **Estadio IV** (o vitologénesis secundaria) el ovocito es envuelto en una nueva capa de células foliculares y este desarrolla macro- y microvellocidades; se forman esferas de vitelo por actividad micropinocítica y en el ovoplasma se forman burbujas de lípidos; las microvellocidades desaparecen al final de la vitelogénesis; los gránulos corticales se hacen visibles. **Estadio V y VI**, corresponde a la maduración (tomado de Zerbib 1980).



**Figura 5.** Localización anatómica del aparato reproductor de la hembra del langostino, en el pereión (Sandifer y Smith, 1979).

- (A) Vista lateral de la localización del aparato reproductor del langostino.
- (B) Vista dorsal de la localización del ovario.
- (C) Vista dorsal de los órganos que soportan al ovario.
- (D) Localización de los gonoporos de las hembras, en una vista ventral.





**Figura 7.** Localización anatómica del aparato reproductor del macho del langostino en el pereión (Sandifer y Smith, 1979).

- (A) Vista lateral del pereión, en el cual se esquematiza el aparato reproductor del macho del langostino.
- (B) Vista dorsal del pereión apreciándose el aparato reproductor del macho del langostino y los órganos que lo soportan.
- (C) Vista lateral en la que se representan los gonoporos y los hemipenes de macho del langostino.

## Desarrollo ovarico

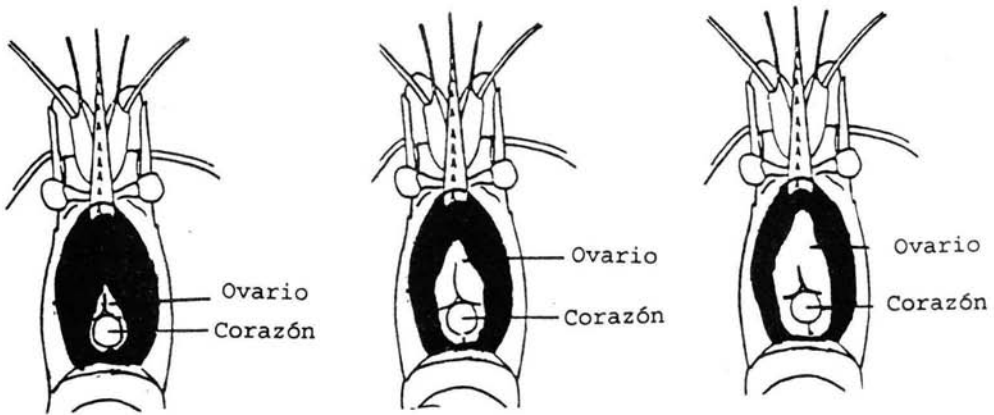


Fig. (A)

Fig. (B)

Fig. (C)

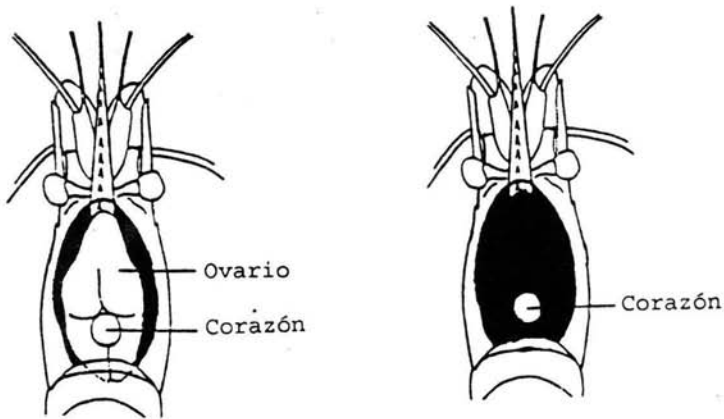


Fig. (D)

Fig. (E)

Figura 6 Estadio de desarrollo (Delgadillo, 1990).

- (A) Estadio de desarrollo "I".
- (B) Estadio de desarrollo "II".
- (C) Estadio de desarrollo "III".
- (D) Estadio de desarrollo "IV".
- (E) Estadio de desarrollo "V".

## RESULTADOS

Los parámetros físico-químicos registrados en los ensayos se representan en la gráficas IV y V, y tienen los siguientes promedios:

	TEST.*	ABLA. *	TEST.*	TEST.**	ABLA.**
	LOTE A	LOTE B	LOTE C	LOTE A	LOTE B
	PROM.	PROM.	PROM.	PROM.	PROM.
Temperatura (°C)	28.0	28.1	27.7	28.2	28.3
pH	8.4	8.5	8.5	8.5	8.5
Oxíg. dis. (mg/l)	5.0	5.3	5.2	4.9	4.5

\* - Datos del primer ensayo, que tuvo una duración de 80 días.

\*\* - Datos del segundo ensayo, que tuvo una duración de 110 días.

	TESTIGO PROMEDIO	ABLACION PROMEDIO
Temperatura (°C)	28.0	28.2
pH	8.44	8.5
Oxígeno disuelto (mg/l)	5.0	4.85

En los datos promedios de los lotes, no se tomo en cuenta la duración de cada uno de los ensayos realizados, a lo largo del trabajo.

Los caracteres morfológicos de las gónadas en organismos vivos (tanto los que tuvieron ablación como los testigos), fueron los siguientes:

El ovario en las hembras de *Macrobrachium rosenbergii* se desarrolla en la parte dorsal del pereión, no varió su forma y color a lo largo de su desarrollo, el ovario presentó una forma bilobulada, con una tonalidad amarillo-verdosa, en pocos casos presentó un color anaranjado intenso, que es la coloración normal del ovario para la especie.

A lo largo de los dos ensayos, se registró el siguiente número de cópulas:

#### PRIMER ENSAYO.

Lote A (TESTIGO) 2 cópulas.  
Lote B (ABLACION) 4 cópulas.  
Lote C (TESTIGO) 2 cópulas.

#### SEGUNDO ENSAYO.

Lote A (TESTIGO) 6 cópulas.  
Lote B (ABLACION) 5 cópulas.

Los datos generales obtenidos de los organismos que se mantuvieron para determinar los cambios histológicos del ovario, se muestran en la tabla 1.

Para los organismos de ambos lotes, se registraron los datos generales, que son los siguientes: peso, longitud patrón, peso de la gónada, IGS, número de huevos de cada hembra, porcentaje de eclosión y tiempo de incubación; mostrados en las tablas 2 y 2a (los estadios de desarrollo se corroboraron con los datos de la tabla 1).

La variación de los parámetros evaluados bajo las condiciones experimentales se muestran en las tablas IV y V, se indican los valores promedio y el estadístico que les fue aplicado, para conocer si habría diferencia significativa entre ellos, en las gráficas VI y VII se registraron los estadios de desarrollo y tiempo total de maduración, en las gráficas VIII y IX se procesan los pesos y longitudes alcanzados por los langostinos, en la primera muda y al final de los ensayos; en las gráficas X y XI se señalan los pesos tanto de los ovarios en promedio y como el de los IGS's de los langostinos que manifestaron maduración gonádica.

Las observaciones del estadio de desarrollo gonadal y de las microscópicas, realizadas en los cortes del ovario, presentan los siguientes caracteres (basándose, en los diferentes tipos celulares, como: ovogonias (Fig. 12 y 13), ovocito en etapa 1 (Fig. 14 y 15), ovocitos en etapa 2 (Fig. 16 y 19), ovocito en etapa 3 (Fig. 20 y 23), ovocito en etapa 4 (Fig. 24 y 27), ovocito en etapa 5 (Fig. 28 y 31) y ovocito en etapa 6 (Fig. 32 y 35)), registrándose lo siguiente:

#### Estadio I.

El ovario cubrió hasta el 20% del volumen total que abarca el pereión, en una vista dorsal. Se observan en los cortes, a las ovogonias con un tamaño de 7.2-9.27  $\mu\text{m}$  y núcleos de 6.18-8.24  $\mu\text{m}$ , en acúmulos y ovocitos (etapa 1) con un tamaño de 10.3-16.48  $\mu\text{m}$  de largo y 8.32-16.48  $\mu\text{m}$  de ancho, con citoplasma escaso y núcleo de 7.21-12.36  $\mu\text{m}$  con cromatina escaso, presentando este nucléolos en la periferia. Se aprecian otro tipo de ovocitos (etapa 2) que van de 41.2-79.25  $\mu\text{m}$  de largo y 36.05-41.2  $\mu\text{m}$  de ancho, con núcleo de 13.39-23.65  $\mu\text{m}$  y un nucléolo prominente de 5.15-10.3  $\mu\text{m}$ , su citoplasma aumenta y es homogéneamente basófilo. Se presentan además acúmulos de pequeñas células llamadas "células nodriza". En

este estadio dominan principalmente los ovocitos en **etapa 1** y en menor cantidad los de **etapa 2** (**Fig. 36 y 37**). Las ovogonias en el ovario tiene una organización de láminas y conductos, en las cuales son visibles el gran número de ovogonias, que son células pequeñas (Levi y Vacchi, 1988; Guitart y Quintana, 1990). Las ovogonias primarias y secundarias (en estas comienza la fase meiótica) que son identificables por la presencia de ribosomas agrupados en polirribosomas, el ovario adquiere una capa primaria de células foliculares; se distingue también la presencia de largas cisternas de retículo endoplásmico rugoso (RER) (Zerbib, 1980). Comienza un desarrollo de las ovogonias y conforme aumentan de tamaño se agrupan en láminas, se considera que en esta etapa se inicia la **previtelogénesis**. En todos los ovocitos el citoplasma, el núcleo y el nucléolo son basofílicos y la eosina tiñe al tejido conectivo. Los ovocitos presentan cromosomas conspicuos (Payen y Costlow, 1977) decondensados, que son acompañados de cargas citoplasmáticas, causadas por un notable incremento en el número de ribosomas, que invaden el citoplasma; a nivel de RER, se observan vesículas ovales, llamadas "**vesículas ergoplásmicas**", estas contienen diversos materiales. La membrana nuclear externa también participa en la formación de nuevas vesículas ergoplásmicas. Se tiene la presencia de **vesículas pinocíticas** inmersas en el ovoplasma cortical. La conjugación celular se da probablemente por la participación de desmosomas, conecta al ovocito con los bordes de las células foliculares, esta conjugación no ha sido bien observada (Zerbib, 1980).

## **Estadio II.**

El ovario abarcó del 21 al 40% del volumen total que este ocupa en el pereión, en una vista dorsal. Presenta gran actividad ovárica evidente por abundantes grupos ovogoniales y abundantes ovocitos en **etapa 2** en comparación con los de **etapa 1** y **ovogonias**. Las ovogonias son aisladas, de 7.21-10.3  $\mu\text{m}$  de diámetro con núcleo de 6.18-8.24  $\mu\text{m}$ , ovocitos previtelogenéticos en **etapa 1** de 10.3-16.48  $\mu\text{m}$  de largo y 8.24-16.48  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo de 7.21-12.36  $\mu\text{m}$  y ovocitos previtelogenéticos en **etapa 2** que van de 41.2-79.25  $\mu\text{m}$  de largo y 36.05-41.2  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo de 13.39-23.65  $\mu\text{m}$  y nucléolo prominente de 5.15-10.3  $\mu\text{m}$ . En estos últimos se presenta un aumento en el citoplasma homogéneamente basófilo. Se presentan en poca cantidad ovocitos en **etapa 3** de 30.9-41.2  $\mu\text{m}$  de largo y 25.75-36.05  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo de 10.3-11.33  $\mu\text{m}$  de largo por 8.24-10.3  $\mu\text{m}$  de ancho y nucléolo prominente de 5.15-7.21  $\mu\text{m}$ . (**Fig. 38 y 39**). En los ovocitos en **etapa 2**, comienza a observarse con cierta afinidad a ser eosinofílico, conforme aumenta de tamaño, esto por la producción de vitelo, denominándose a esta fase **vitelogénesis primaria**, ya que en el citoplasma se presenta una mayor acumulación de vesículas ergoplásmicas conteniendo material de diversa naturaleza en gránulos finos; el desarrollo de vesículas es rápido hasta el final de la viteligenesis primaria. Los ribosomas son rápidamente

diseminados, así como las vesículas ergoplásmicas, el RER tiene como característica principal, la formación y depositación del vitelo endógeno, que es envuelto formando con esto esferas de vitelo (Payen y Costlow, 1977; Zerbib, 1980) y gotas de lípidos (Nagamine, et. al., 1980; Zerbib, op. cit.; Rankin y Davis, 1990). En esta misma etapa celular, se da la depositación exógena de vitelo denominada vitelogénesis secundaria, los ovocitos se encuentran rodeados de células pequeñas denominadas "**células nodriza**" (Guitart y Quintana, 1990). Además se observa a partir de este momento, que se presentan dos capas de granulaciones diferentes en el citoplasma, lo que hace suponer que a medida que avanza la maduración, tiene lugar una restructuración de los gránulos desde la periferia al núcleo. Se adquiere una capa secundaria de células foliculares, que es diferente de la primera, esta interviene en la formación de vitelo, por medio de la acumulación de gotas de vitelo y lípidos, ambos de tipo exógeno, que se va acumulando en esta fase. El RER continúa con su actividad de sintetizar el vitelo, hasta la primera parte de la **vitelogénesis secundaria**, las vesículas ergoplásmicas son electro-densas por la gran cantidad de diversas sustancias, uno o dos cuerpos cristaloides de naturaleza química desconocida, que posteriormente ocupa completamente la vesícula ergoplásmica, dándose esto por el desarrollo de microvellosidades en el ovocito, que se estrechan con las células foliculares que rodean todo el ovocito, no solo son interdigitaciones, ya que se encuentran en contacto con el plasma de otras células. Comienza con el contacto entre las células foliculares y el ovocito, en la superficie cortical del ovoplasma, la que es invadida por numerosas microvesículas, microcanales y esferas de vitelo, estas últimas se originan por el proceso de pinocitosis, en la superficie del ovocito, el número de vesículas se incrementa posteriormente (Zerbib, 1980).

### **Estadio III.**

El ovario abarcó del 41 al 60% del volumen total que este ocupa en el pereión, en una vista dorsal, se aprecia un acúmulo de **ovogonias** de 8.24-13.39  $\mu\text{m}$  de largo y 8.24-12.36  $\mu\text{m}$  de ancho con núcleo de 5.15-8.24  $\mu\text{m}$ , ovocitos en **etapa 1** de 13.09- 24.72  $\mu\text{m}$  de largo y 10.3- 21.63  $\mu\text{m}$  de ancho, con núcleo de 6.18-18.54  $\mu\text{m}$ , ovocitos de **etapa 2** de 23.69-82.4  $\mu\text{m}$  de largo por 21.63-30.9  $\mu\text{m}$  de ancho, y núcleo de 10.3-18.54  $\mu\text{m}$  de largo y 10.3-25.75  $\mu\text{m}$  de ancho y nucléolo prominente de 3.9-10.3  $\mu\text{m}$ . Aparecen ovocitos en **etapa 3** de previtelogénesis con citoplasma eosinofílico, en la periferia aparecen **vesículas corticales o cuerpos periféricos**, las cuales no presentan una afinidad por los colorantes y contienen diversos materiales (Zerbib, op. cit.; Guitart y Quintana, 1990). Los ribosomas son abundantes, se presenta un mayor desarrollo de micro y macrovellosidades, las esferas de vitelo al inicio de esta fase, son formadas por actividad pinocítica (Zerbib, op. cit.; Guitart y Quintana, op. cit.). Los ovocitos miden de 51.5-79.31  $\mu\text{m}$  de largo y 36.05-43.26  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo prominente presentan cromatina abundante de 15.45-29.87  $\mu\text{m}$  de largo por 10.3-15.75  $\mu\text{m}$  de ancho

nucléolo prominente de 3.09-6.12  $\mu\text{m}$ , en la periferia aparecen vesículas corticales. Los ovocitos en **etapa 4** presentan las vesículas en forma de franja alrededor del núcleo, las células van de 56.65-118.5  $\mu\text{m}$  de largo y 21.69-92.69  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo prominente de 15.45-31.93  $\mu\text{m}$  de largo y 10.3-23.69  $\mu\text{m}$  de ancho, nucleolo prominente de 4.12-10.3  $\mu\text{m}$ . Ovocito en **etapa 5**, esta tiene las vesículas en todo el citoplasma en forma azarosa, el ovocito presenta dimensiones de 156.56-545.1  $\mu\text{m}$  de largo y 142.2-350.76  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo prominente, presentando una pequeña deformación, en ovocitos más avanzados, condimensiones de 37.92-61.62  $\mu\text{m}$  de largo y 20.6-37.92  $\mu\text{m}$  de ancho, nucleolo de 9.52-14.22  $\mu\text{m}$  de largo por 9.52-11.33  $\mu\text{m}$  de ancho (**Fig. 40 y 45**).

#### **Estadio IV.**

El ovario abarcó del 61 al 100% del volumen total que ocupa en el pereión; en una vista dorsal, se presentan acúmulos de ovogonias y ovocitos en **etapa 1** (basífilos) en pequeñas regiones. Los **ovogonias** van de 10.3-11.33  $\mu\text{m}$  de largo y 9.27-10.3  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo de 7.21-8.24  $\mu\text{m}$  de largo y 6.18-7.21  $\mu\text{m}$  de ancho, ovocitos de **etapa 1** con dimensiones que fluctúan de 20.6-43.26  $\mu\text{m}$  de largo por 15.45-41.2  $\mu\text{m}$  de ancho, núcleo de 15.45-17.61  $\mu\text{m}$  de largo por 5.15-7.21  $\mu\text{m}$  de ancho, ovocitos de **etapa 6**, es en donde alcanzan su tamaño máximo. Gran cantidad de vesículas corticales en el citoplasma eosinofílico. Los ovocitos en **etapa 6** presenta dimensiones de 848.46-948  $\mu\text{m}$  de largo por 274.92-853.2  $\mu\text{m}$  de ancho, el núcleo presenta una forma estrellada, dimensiones de 189.6-213.3  $\mu\text{m}$  de largo por 71.1-180.12  $\mu\text{m}$  de ancho, el nucleolo de 42.66-47.4  $\mu\text{m}$  de diámetro. Los ovocitos y la gónada llega a su tamaño máximo dentro del organismo (Zerbib, 1980; Guitart y Quintana, 1990) (**Fig. 46 y 47**).

#### **Estadio V.**

El ovario después del desove, ya no se observa en el pereión, recuperando aparentemente su tamaño normal, esto es las dimensiones que presenta antes del inicio de su desarrollo. Al revisar los cortes del ovario al microscopio, se aprecian ovocitos de los tipos 1, 2, y 3, además de grupos de ovogonias (**Fig. 48 y 49**). Se distinguen después del desove a los cigotos, con un tamaño de 850 a 950  $\mu\text{m}$ .

Zerbib (op. cit.), y Rankin y Davis (1990) hacen mención de una vitelogénesis terciaria, la cual se lleva a cabo en el conducto ovárico, que se produce externamente y es asimilado por el ovocito en forma pinocítica.

**DATOS GENERALES DE LOS LANGOSTINOS DEL LOTE DE SEGUIMIENTO DEL DESARROLLO OVARICO**

SEXO	ESTADIO DE DESARROLLO OVARICO		LONG. (mm.)	PESO (g.)	PESO DEL OVARIO (g.)	IGS	DURACION DEL ESTADIO (DIAS) AL SER SACRIFICADOS
	OBS.	HIST.					
HEMBA	I	I	98	21.547	0.0193	0.089	2
HEMBA	I	I	90	13.456	0.0297	0.22	2
HEMBA	I	I	100	14.543	0.0543	0.373	3
HEMBA	I	I	82	15.937	0.0729	0.457	4
HEMBA	I	I	96	21.661	0.1323	0.61	5
HEMBA	II	II	140	29.342	0.3421	1.165	7
HEMBA	II	II	83	13.432	0.3189	1.703	8
HEMBA	III	III	86	18.723	0.4431	3.298	10
HEMBA	III	III	98	20.093	0.6482	3.225	11
HEMBA	III	III	120	20.545	0.9452	4.6	12
HEMBA	IV	IV	115	21.894	1.0321	4.694	14
HEMBA	IV	IV	117	21.024	1.0024	4.767	15
HEMBA	IV	IV	95	19.954	1.0245	5.134	16
HEMBA	IV	IV	95	19.413	1.0152	5.229	17
HEMBA	IV	IV	102	21.075	1.0388	4.928	18
HEMBA	IV	IV	95	19.983	1.2467	6.238	19

Tabla 1. Se muestran los datos generales de los langostinos que se sacrificaron, los cuales fueron tomados como base, para estimar el estadio de desarrollo que se presenta en determinado momento, el peso de la gónada y predecir lo que ocurre dentro del ovario.



## TEST160

CLAVE	ESTADIO	PESO TOTAL (g.)	PESO GONADA (g.)	LONGITUD PATRON (mm.)	IGS	No. DE HUEVOS TOTALES	No. DE HUEVOS ECLOS.	PORCENTAJE DE ECLOSION	TIEMPO DE INCUBACION
A1H	IV	19.2	1.1	86	5.72	4560	4360	95.6	18
C3H	IV	18.9	1.2	76	6.34	3020	2620	86.75	17
A6H	IV	30.6	1.3	104	4.25	18430	18190	98.7	18
C4H	IV	20.8	1	98	4.81	20000	18640	93.2	18
A2H	IV	21.1	1.1	86	5.21	6320	5780	91.46	17
B1H	IV	22.7	1	94	4.4	4400	3700	84.1	19
B2H	IV	28.5	1.4	101	4.91	17650	16450	93.2	19
C1H	IV	24.2	1.2	102	4.96	17400	16200	93.1	18
PROM.		23.2	1.162	93.375	5.07	11472	10742	81.79	18

**Tabla 2.** Datos de las hembras de langostinos que manifestaron un desarrollo gonadal, a lo largo del tiempo del experimento, mostrando el porcentaje de eclisión y tiempo de incubación.

## ABLACION

CLAVE	ESTADIO	PESO TOTAL (g.)	PESO GONADA (g.)	LONGITUD PATRON (mm.)	IGS	No. DE HUEVOS TOTALES	No. DE HUEVOS ECLOS.	PORCENTAJE DE ECLOSION	TIEMPO DE INCUBACION
A3H	IV	17.6	1	96	5.68	4400	4000	90.91	17
B1H	IV	21.6	1	92	4.62	7460	7415	99.4	16
B4H	IV	24.1	1.2	94	4.97	6300	5980	94.92	16
C2H	IV	21.2	1	95	4.71	8000	5840	73	17
A2H	IV	27.8	1.5	90	5.4	30420	24820	81.26	17
B1Ha	IV	28.9	1.6	102	4.54	4000	3800	95	18
D3H	IV	18.2	1	87	5.49	12400	11000	88.71	17
D4H	IV	20.1	1.1	92	5.47	8740	4540	51.94	18
E4H	IV	22.8	1.2	96	5.26	10060	9040	89.86	18
PROM.		22.4	1.17	93.8	5.12	10198	8493	83.75	17.11

**Tabla 2a.** Datos generales de las hembras de los langostinos que manifestaron un desarrollo gonadal a causa de la ablación del pedúnculo ocular, al que fueron sometidas registrándose el porcentaje de eclisión y tiempo de incubación, a lo largo del experimento.

VARIABLES	TRATAMIENTOS		ESTADISTICO "t" DE STUDENT
	TESTIGO	ABLACION	
ESTADIO I *	5 ± 0	4 ± 0	( n.s. )
ESTADIO II *	3.75 ± 0.43	4 ± 0	( n.s. )
ESTADIO III *	3.625 ± 0.48	3.555 ± 0.497	( n.s. )
ESTADIO IV *	5.625 ± 0.484	5.555 ± 0.497	( n.s. )
DESARROLLO GONADICO			
TOTAL *	18 ± 0.889	17.11 ± 0.737	( sig. )
MUDAS	2.125 ± 0.599	1.333 ± 1.054	( n.s. )
NUM. HUEV./ HEM.	11,472 ± 6,984	10,197 ± 7,568	( n.s. )
% DE ECLOSION	92.014 ± 4.36	85 ± 13.86	( n.s. )
IGS	5.075 ± 0.64	5.237 ± 0.359	( n.s. )

**Tabla 3.** Promedios de los lotes de cada tratamiento que se obtubieron de la variable de respuesta que se contemplo y el nivel de significancia que se obtuvo con el estadistico aplicado.

( n.s. ) - no significativo,  $P > 0.05$  ( sig. ) - significativo,  $P < 0.05$

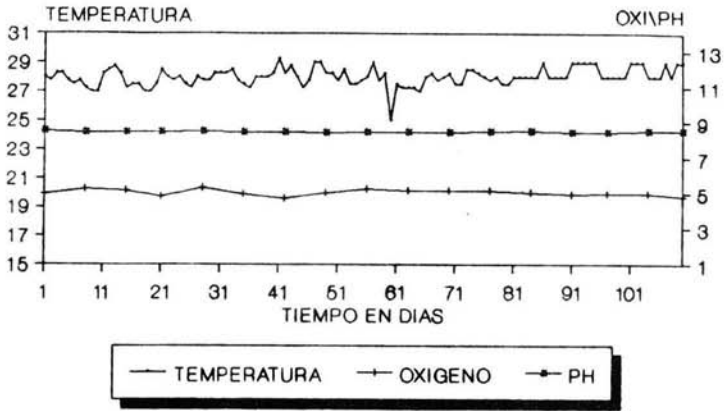
\* Los resultados en estas variables de respuesta estan dados en números de días.

VARIABLES	TRATAMIENTOS		ESTADISTICO ANOVA DE 2 FACTORES
	TESTIGO	ABLACION	
<b>PESO</b>			( n.s. )
HEMBRAS			
INICIO	19.00 ± 1.49	18.15 ± 2.11	
FINAL	24.73 ± 3.30	23.17 ± 4.05	
MACHOS			
INICIO	20.18 ± 1.88	20.42 ± 3.06	
FINAL	24.84 ± 3.33	22.22 ± 3.7	
<b>LONGITUD</b>			( n.s. )
HEMBRAS			
INICIO	89.85 ± 7.09	89.02 ± 6.35	
FINAL	95.97 ± 6.26	93.9 ± 5.83	
MACHOS			
INICIO	92.01 ± 5.97	93.9 ± 7.94	
FINAL	97.72 ± 6.46	96.42 ± 6.94	

**Tabla 4.** Promedios con sus desviaciones estadndar, que se obtuvieron de las variables de respuesta del peso, la longitud y el nivel de significancia que se obtuvo con el estadistico aplicado.

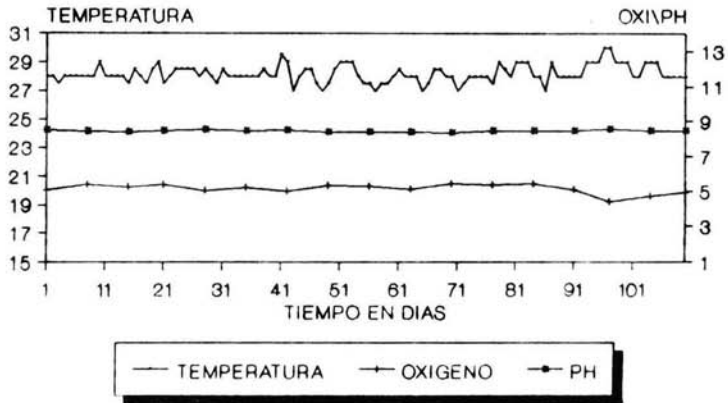
En el ANOVA de 2 factores, los valores de los resultados obtenidos se consideraron con el sexo de los langostinos.

## TESTIGO



Gráfica V. Fluctuaciones de los parámetros físico-químicos del agua, a lo largo del experimento con el langostino *Macrobrachium rosenbergii*.

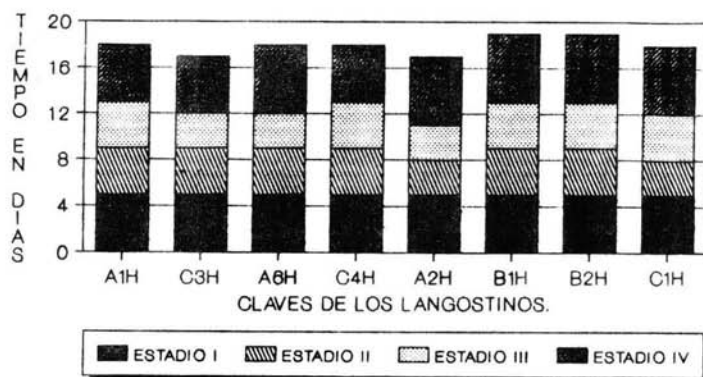
## ABLACION



Gráfica IV. Cambios registrados a lo largo del trabajo de los parámetros físico-químicos contemplados, para la *Macrobrachium rosenbergii*.

## ESTADIOS DE DESARROLLO GONADAL

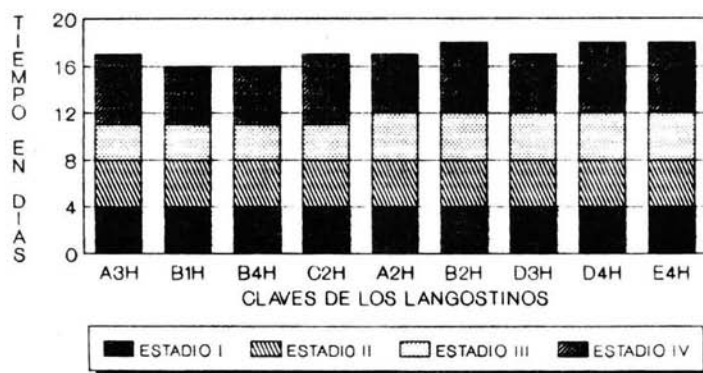
### TESTIGO



Gráfica VI. Registro de los tiempos en que transcurrió el desarrollo total y de cada estadio del ovario de *Macrobrachium rosenbergii*, en el grupo testigo.

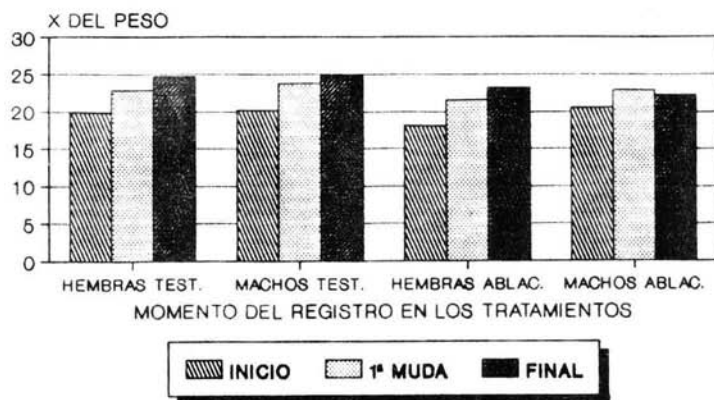
## ESTADIOS DE DESARROLLO GONADAL

### ABLACION



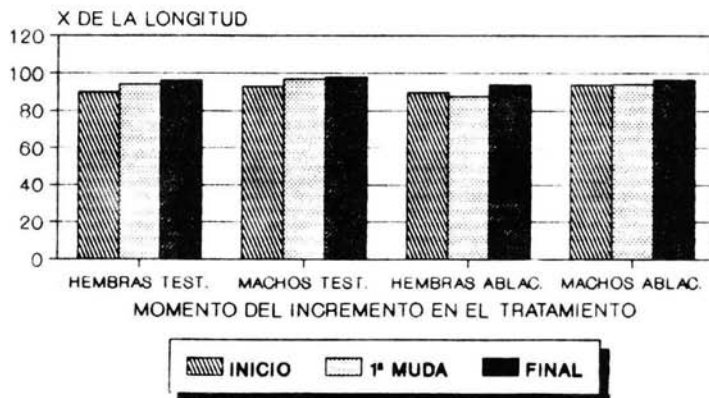
Gráfica VII. Tiempo del desarrollo ovárico total y por estadio en individuos trabajados de la especie *Macrobrachium rosenbergii*, a los que se les practicó la ablación unilateral del pedúnculo ocular.

## PESO



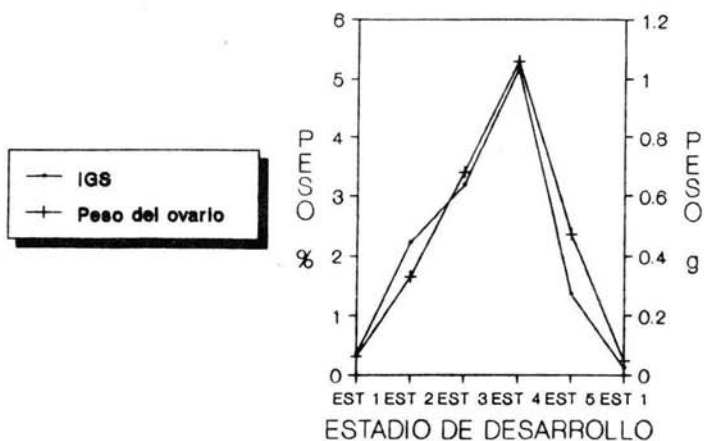
**Gráfica VIII.** Registro de los promedios del peso de los langostinos *Macrobrachium rosenbergii* de acuerdo a su sexo y el momento de su registro en el control y ablación.

## LONGITUD



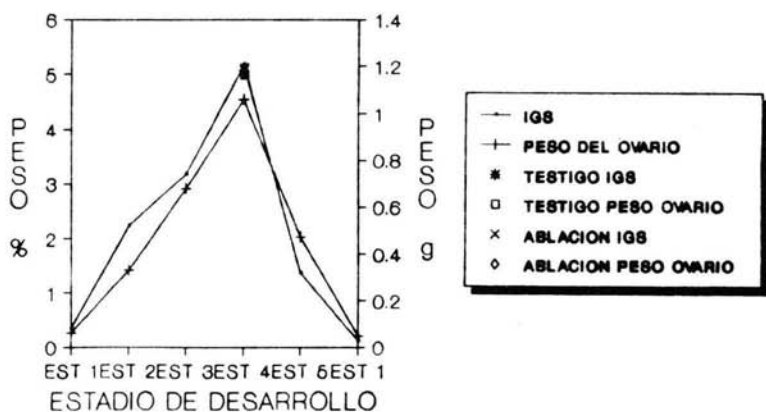
**Gráfica IX.** Promedios de los incrementos en la longitud en *Macrobrachium rosenbergii*, en relación al sexo y momento de su registro, en el control y ablación.

## INDICE GONADO-SOMATICO IGS DEL GRUPO 3



**Gráfica X.** IGS de los langostinos del grupo al que se le practicó el estudio histológico, en los que se registran los pesos en cada momento y el porcentaje que representaba con respecto al peso del organismos.

## INDICE GONADO-SOMATICO IGS PROMEDIOS DE LOS TESTIGOS Y ABLACIONADOS



**Gráfica XI.** Se registran los datos de peso en gramos y en porcentaje de los ovarios en relación al peso corporal del organismos de los grupos testigo y experimentales con relación al IGS y peso de los ovarios de la gráfica X.

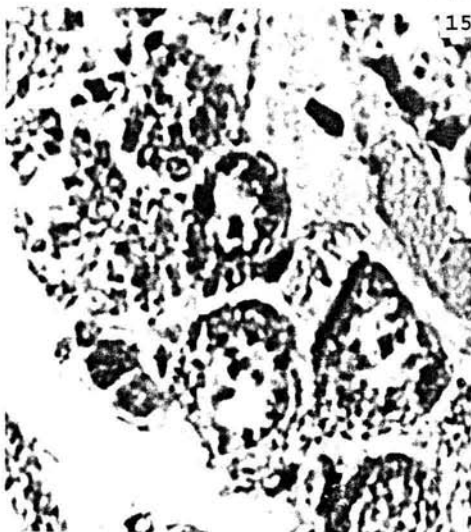
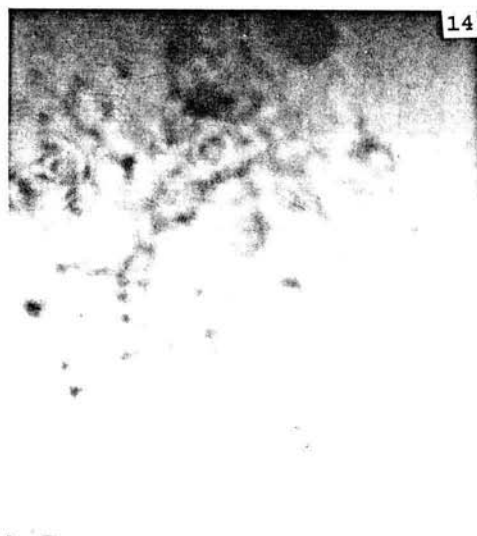
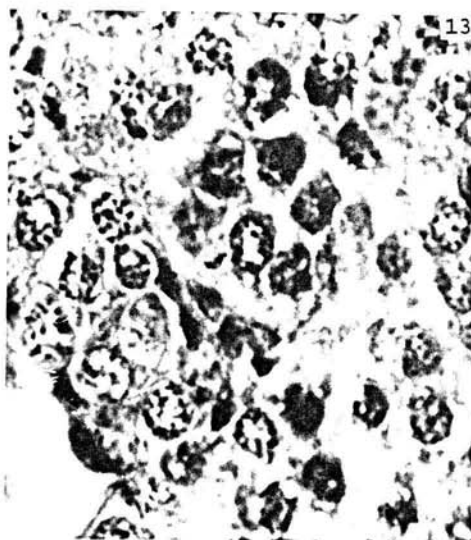
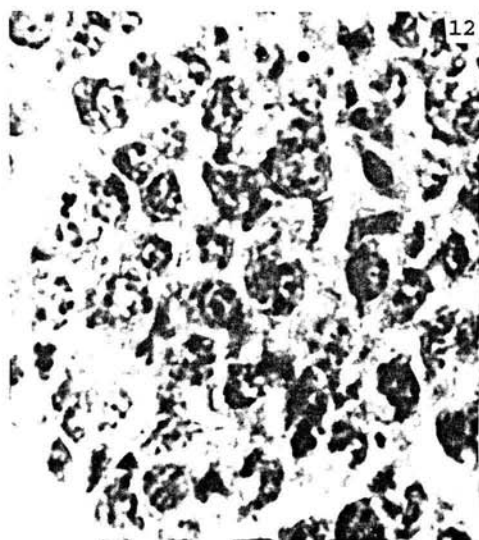


Figura 12 y 13. Ovogonias, las cuales muestran un núcleo (N) grande con varios nucléolos (Nc), un citoplasma conspicuo (C). a microscopía óptica, 1000 X.

Figura 14 y 15. Ovocito en etapa 1, es más grande que la ovogonia, presenta un núcleos (N) con varios nucléolos (Nc) y un citoplasma conspicuo (C). Microscopía óptica 1000 X y 400 X respectivamente.

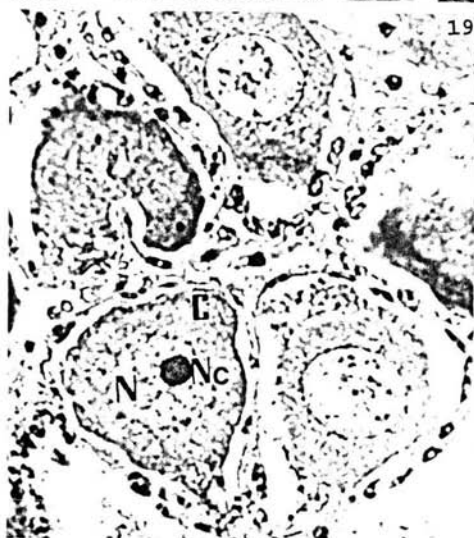
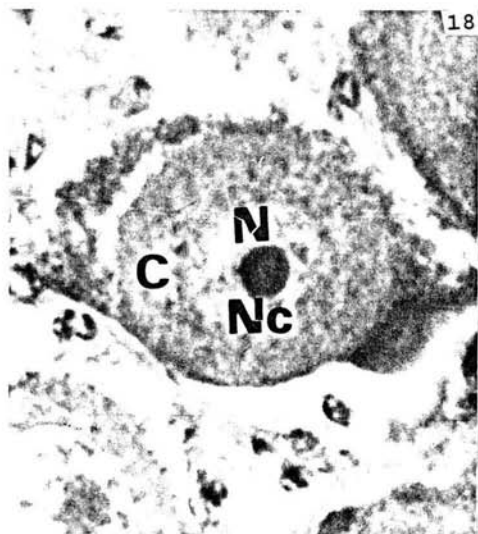
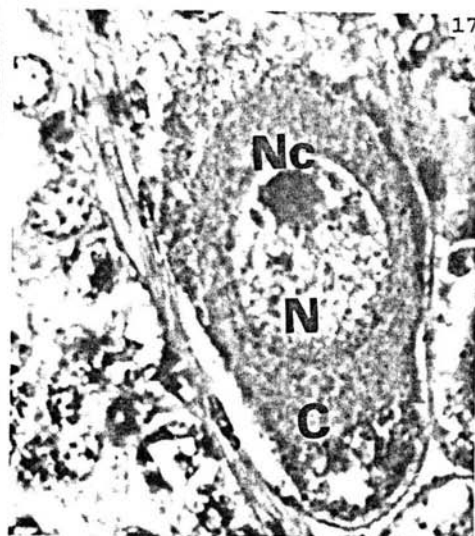
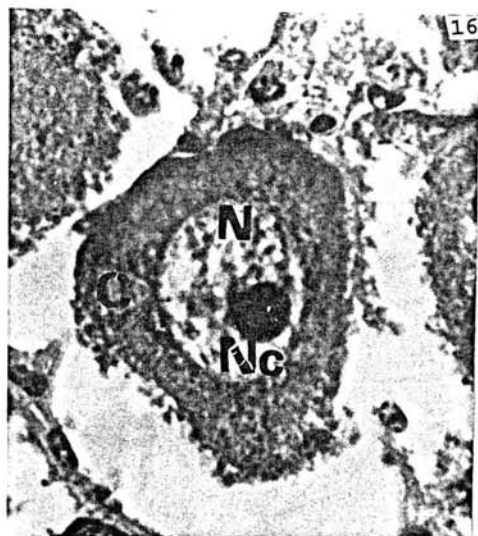


Figura 16 y 17. Ovocito en etapa 2, núcleo (N) grande con un solo nucléolo (Nc), citoplasma (C) basofílico. Microscopía óptica a 400 X.

Figura 18 y 19. Ovocito en etapa 2, núcleo (N) grande con un solo nucléolo (Nc), el citoplasma es eocinofílico a partir de esta etapa. Microscopía óptica a 400 X.



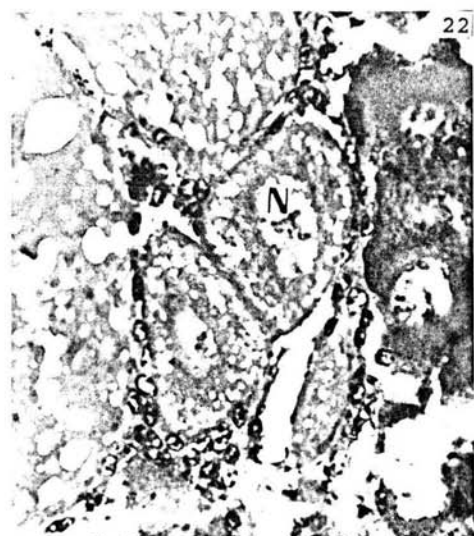
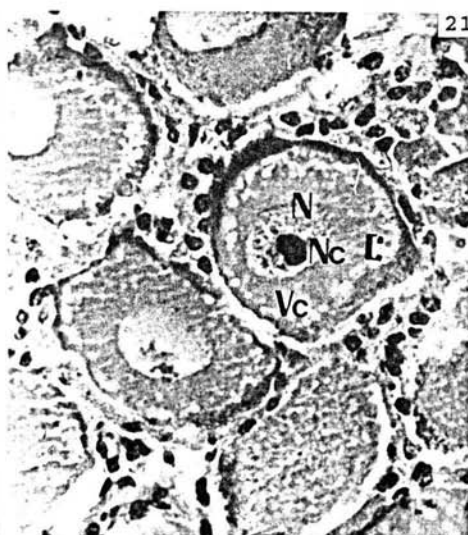
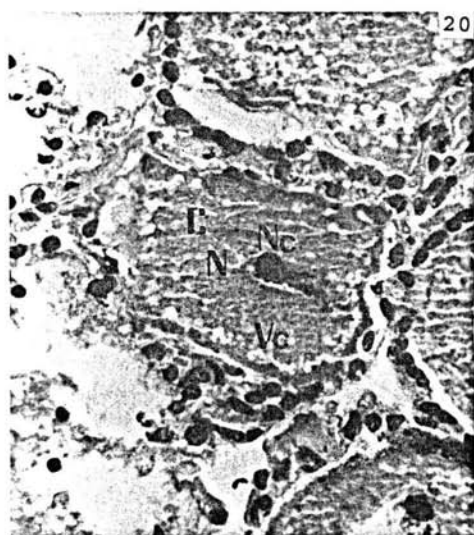


Figura 20 a 23. Ovocito en etapa 3, núcleo (N) con un solo nucléolo (Nc), citoplasma presenta vesículas corticales o cuerpos periféricos en la periferia del ovocito. Microscopía óptica a 400 X y 200 X respectivamente.

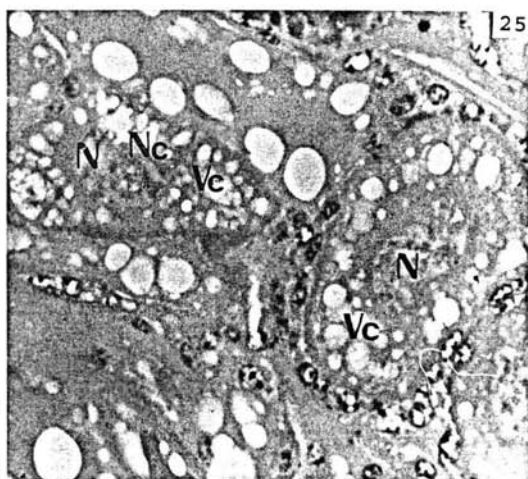


Figura 24 a 27. Ovocito en etapa 4, las vesículas corticales comienzan a invadir al citoplasma (C), forman una especie de "cinturón", alrededor del núcleo (N) esférico con su nucléolo (Nc). Microscopía óptica a 200 X.

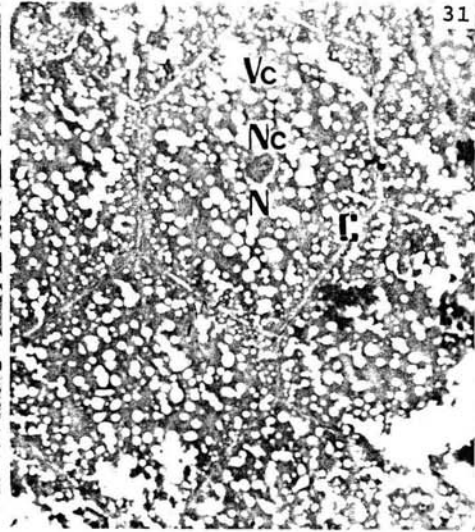
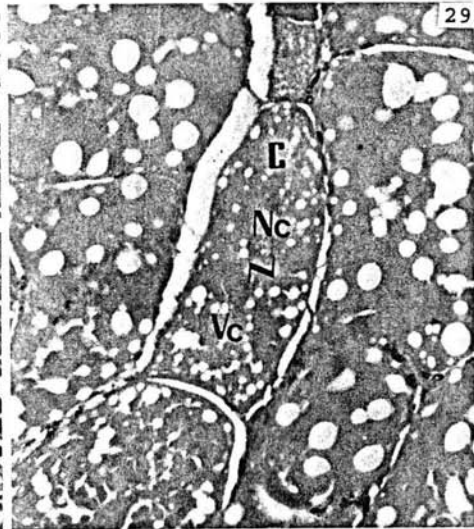
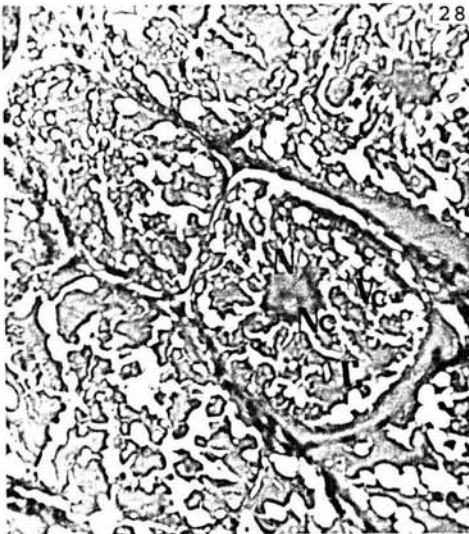


Figura 28 a 31. Ovocito en etapa 5, las vesículas se encuentran en todo en citoplasma (C), el núcleo (N) sigue siendo esférico con tendencia a deformarse, con su nucléolo (Nc). Microscopía óptica a 100X

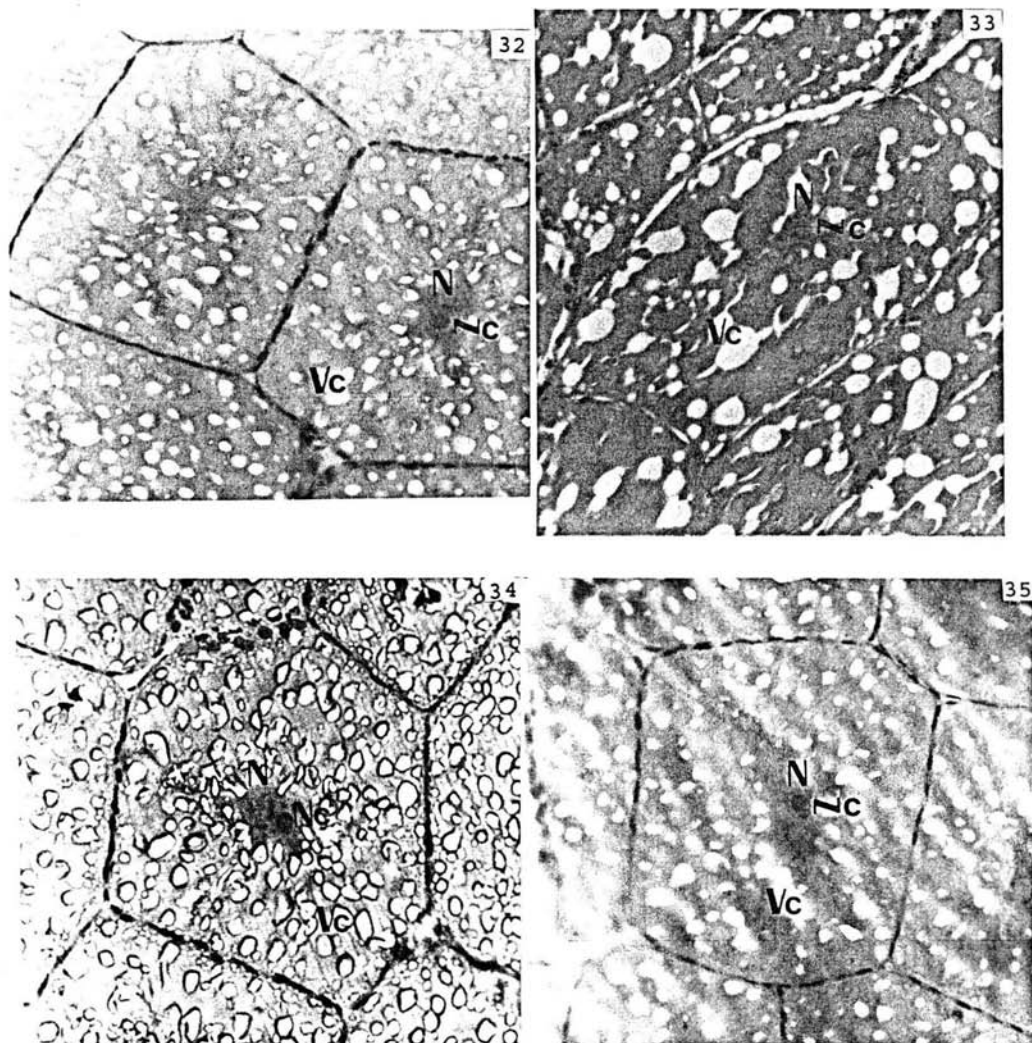


Figura 32 a 35. Ovicito en etapa 6, el núcleo (N) se deforma quedando como de forma estrellada, el nucléolo se mantiene esférico, en esta etapa el ovicito alcanza su mayor tamaño: Microscopía óptica a 100 X.

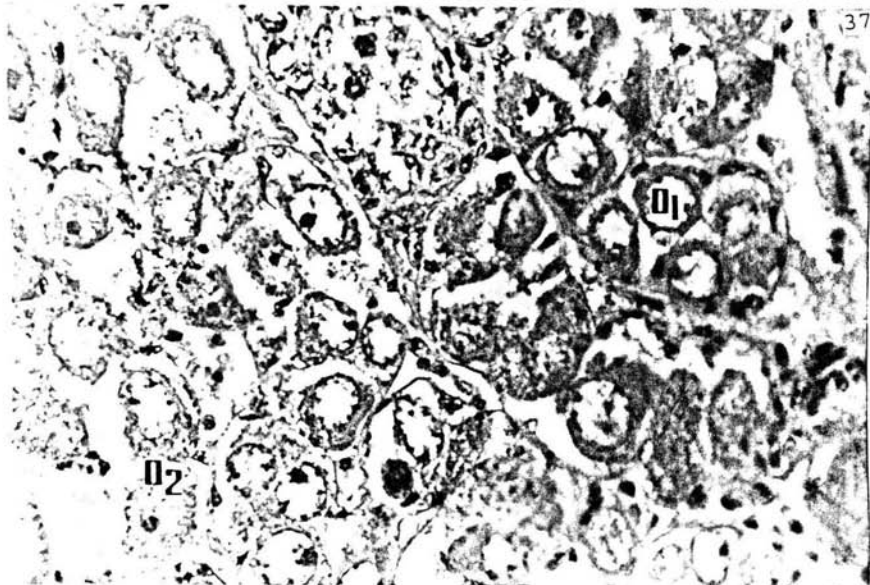


Figura 36 Estadio "I". Acúmulos de ovogonias (Ov), predominando los ovocitos en etapa 1 (O1), y en poca cantidad ovocitos en etapa 2 (O2). Aumento a 100 X. Microscopía óptica.

Figura 37 Estadio "I". Núcleos grandes de las ovogonias (Ov), en los ovocitos en etapa 1 se aprecian además varios nucléolos en los núcleos de estas. Se observan en acúmulos células pequeñas llamadas "células nodriza" (cn). Aumento a 40 X. Microscopía óptica.

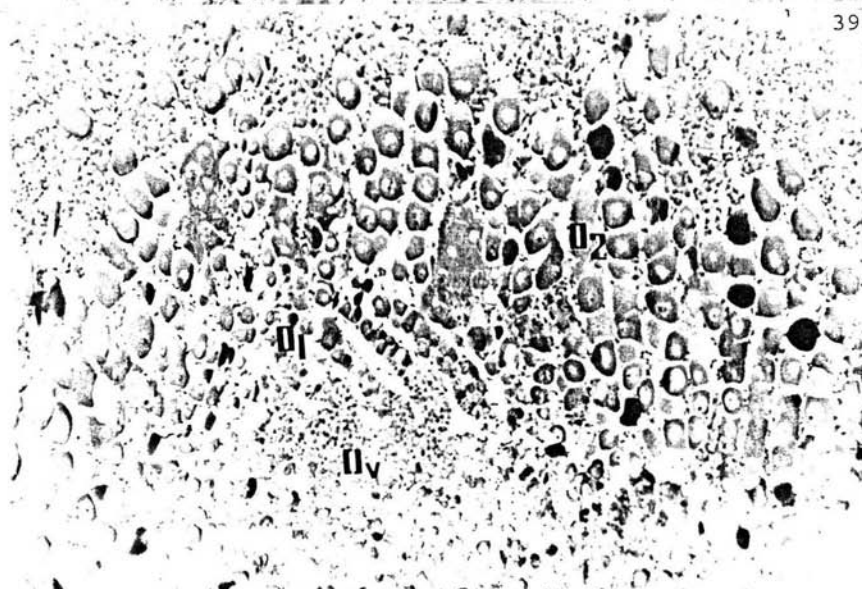
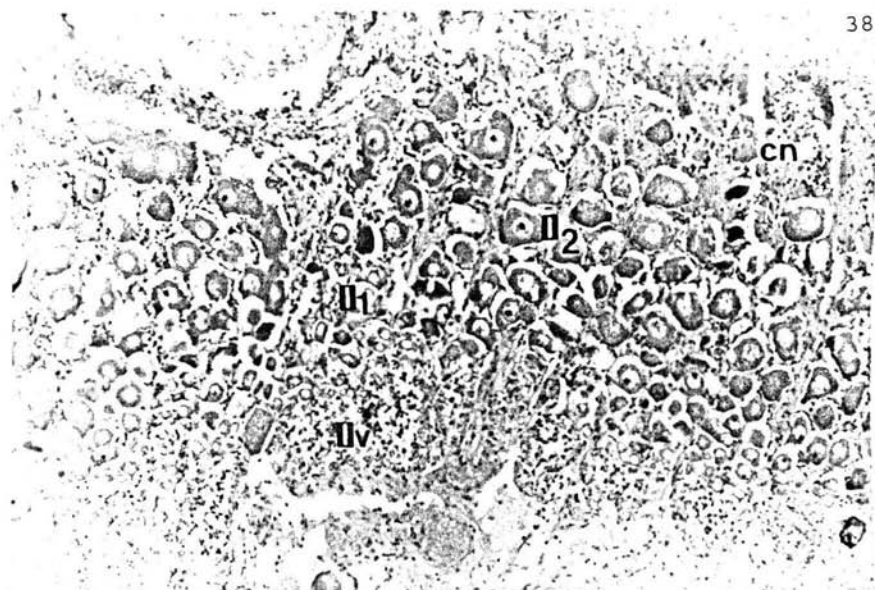
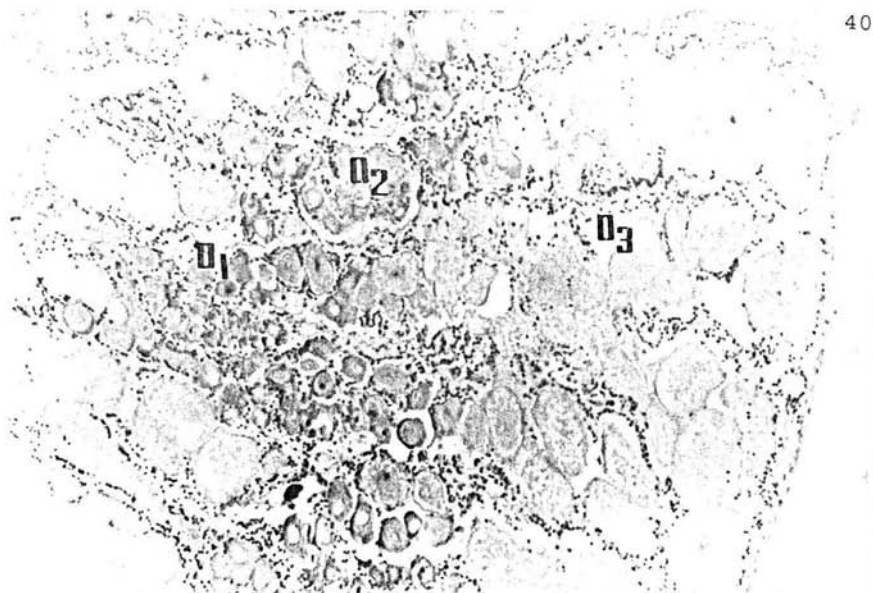
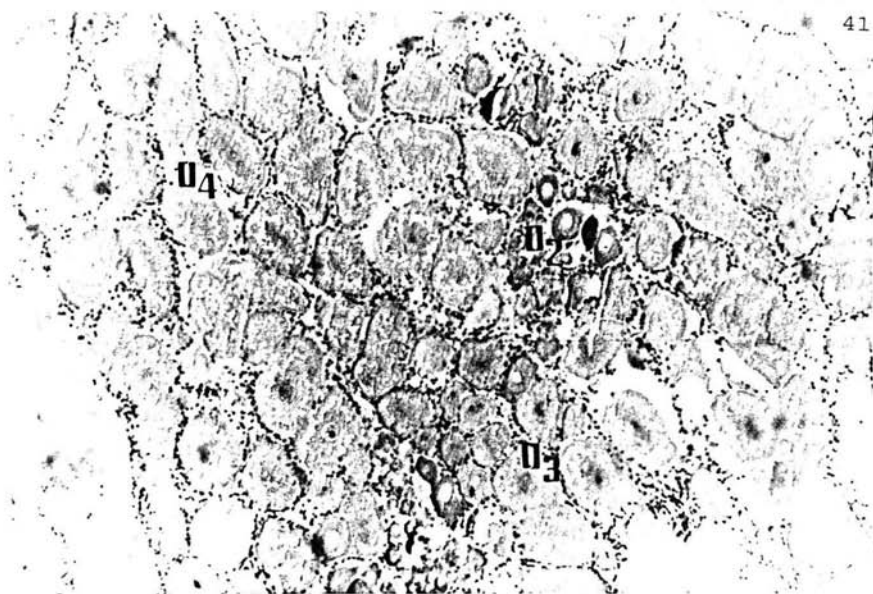


Figura 38 Estadio "II". Las células presentan un núcleo grande y un solo nucléolo, el citoplasma es basofílico, lo cual indica que los ovocitos en etapa 1 (O1) han pasado a la etapa 2 (O2), aún se aprecian ovogonias. Aumento de 40 X. Microscopía óptica.

Figura 39 Estadio "II". Los ovocitos en etapa 2 (O2) comienzan a ser eosinofílicas, el citoplasma se tiñe de color rojizo, aún se aprecian células de los tipos anteriores y las "células nodriza" (cn). Aumento a 40 X. Microscopía óptica.

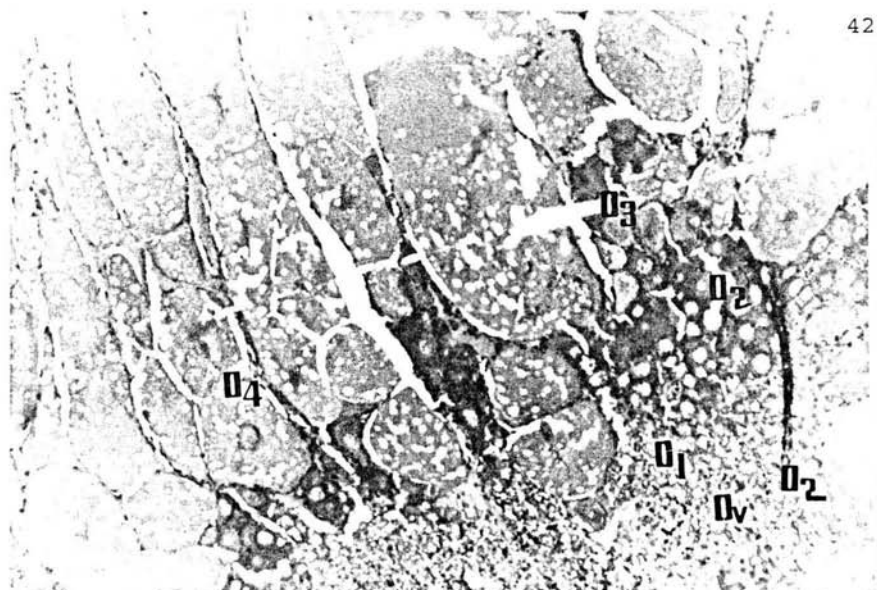


40

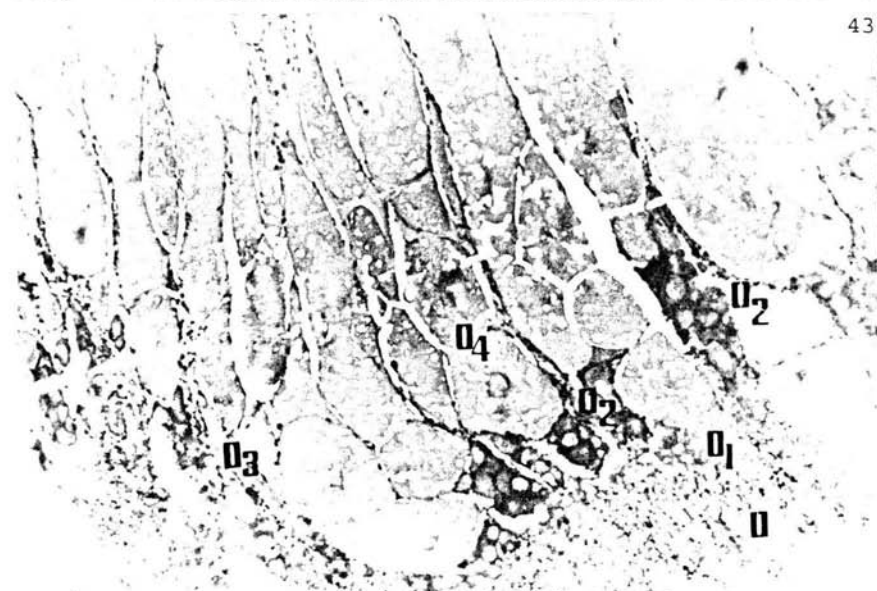


41

Figura 40 y 41 Estadio "III". Ovocito en etapa 3 (O3), el cual se caracteriza por la presencia de vesículas llamadas "vesículas corticales o cuerpos periféricos" (Vc) en la periferia del citoplasma, se observan células en etapas anteriores. Aumento a 40 X. Microscopía óptica.



42



43

Figura 42 y 43 Estadio "III". Ovocito en etapa 4 (O4), caracterizado por las vesículas corticales o periféricas (Vc) que son más numerosas, localizándose entre el núcleo y la periferia del citoplasma, formando bandas de vesículas. Aumento de 40 X. Microscopía óptica.



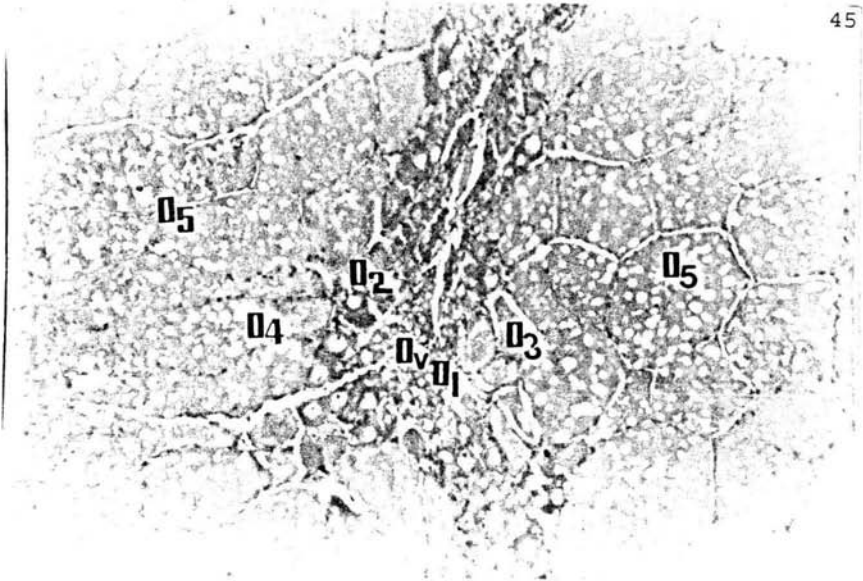
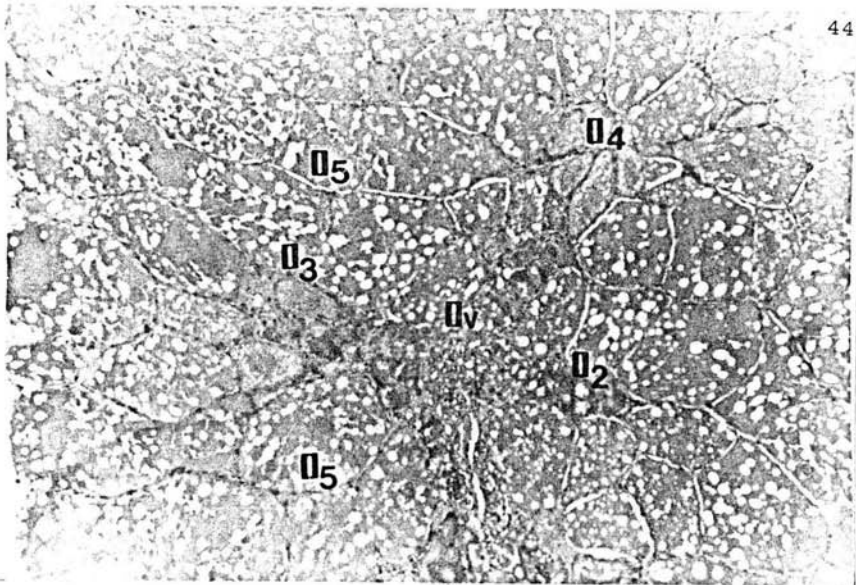


Figura 44 y 45 Estadio "III". Ovocitos en etapa 5 (O5), se observan células donde las vesículas corticales o cuerpos periféricos invaden a todo el citoplasma. Se contemplan ovocitos de etapas anteriores. Aumento de 40 X. Microscopía óptica.

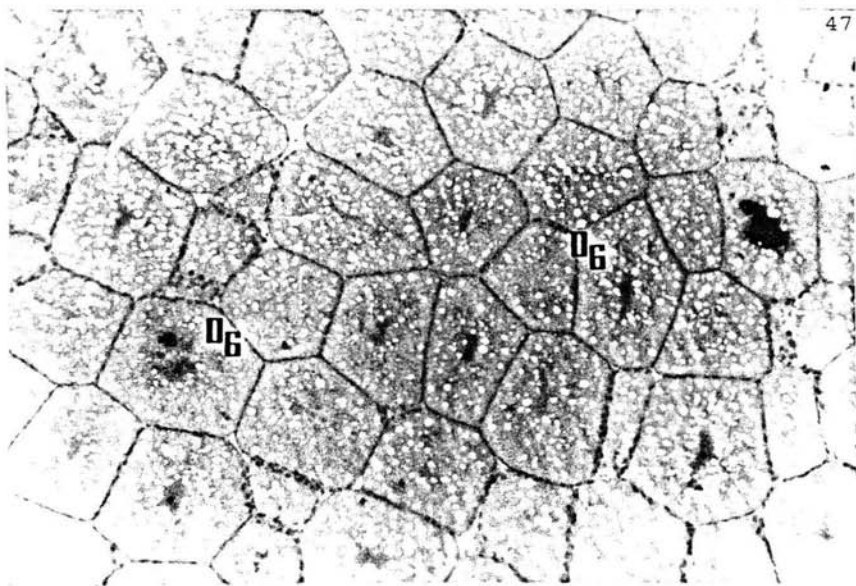


Figura 46 y 47 Estadio "IV". Ovocitos en etapa 6 (O6), que han alcanzado su máximo tamaño, el núcleo presenta una forma estrelladas. Aumento de 40 X. Microscopía óptica.

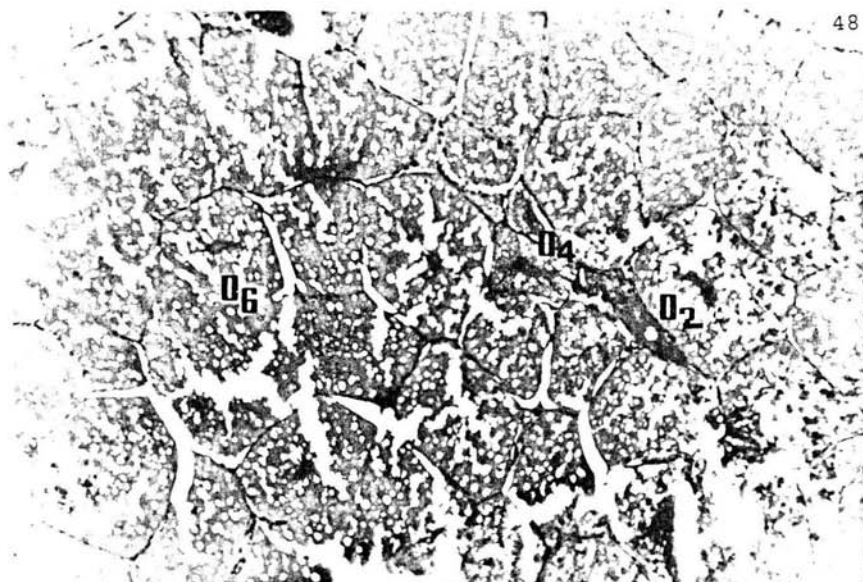


Figura 48 a 49 Estadio "IV". Ovocitos en etapa 6 (O6), que han alcanzado su máximo tamaño, el núcleo presenta una forma estrelladas. Aumento de 40 X. Microscopía óptica.

## DISCUSION

En los ensayos con *Macrobachium rosenbergii*, tanto en el control como en el experimental, la edad de estos fue de 3 meses, su tamaño que oscile entre 67 a 110 mm. y el peso de 16 a 32 g., siendo los adecuados, ya que se logre la reproducción de los mismos, y al compararlo con lo reportado por Lee y Wickins (1992), *M. rosenbergii* presentó una frecuencia de maduración gonádica de 3-6 veces por año, con un rango de fecundidad de 20,000 a 80,000 huevos por desove y la edad para la primer maduración se da entre los 4-7 mes, con un peso de 20 a 30 g. y una talla de 70 mm. en el caparazón (Lee y Wickins, *op. cit.*). Por otra parte la maduración en esta especie en cautividad, se puede presentar en organismos pequeños (<25 g.), aunque la utilización de hembras pequeñas no sea una ventaja para la producción de huevos y el potencial de fecundidad. Los parámetros físico-químicos no presentaron fluctuaciones considerables que pudieran ocasionar variaciones en los resultados obtenidos.

Al inducir la maduración gonádica con la ablación unilateral del pedúnculo ocular, se presentó una aceleración en las hembras en promedio de 24 hrs., comparándola con la que tuvieron los organismos del lote control. En el estadio "I", se apreció homogeneidad de los datos y no hubo diferencia significativa en los dos grupos, así como en los estadios "II", "III" y "IV" no se encontró una diferencia ( $P > 0.05$ ), produciéndose posiblemente por la disminución en la producción de la HIG, puesto que el sistema órgano X - glándula sinusal, que se localiza en los pedúnculos oculares, es el que se encarga de producir la HIG; por lo que al extirpar el pedúnculo ocular se tiene como resultado un desarrollo gonadal precoz (Lumare, 1979; Kelemec y Smith, 1984; Fingerman, 1987). La ablación en juveniles produce una muda precoz, ocurriendo una hipertrofia gonadal, solo en caso de juveniles y preadultos, lo cual indica que las gónadas deben de tener un estado particular de diferenciación, para que esta responda a la presencia de la HIG.

El porcentaje de hembras que lograron completar la maduración gonádica fue de 20.45% en el lote experimental, mientras que en el control fue de 11.76%, teniendo una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). El mayor porcentaje del grupo experimental, posiblemente se debió a la baja producción de la HIG y de la HM, ocasionando que se produjera HEG y activara en forma precoz la maduración gonádica, en los organismos a los que se les extirpó el pedúnculo ocular, en el momento en que estos se encontraran en la intermuda, ya que es en esta cuando ocurre generalmente la maduración gonádica en los crustáceos decápodos (Adiyodi y Adiyodi, 1970; Ramos y González, 1983). En lo referente al porcentaje de maduración gonádica, en esta especie no se obtuvo un resultado, que pudiera mostrar una efectividad en la respuesta a la ablación, como la manifiestan los

reportes con otras especies de crustáceos. No se cuenta con información en esta especie para comparar los resultados obtenidos, varios autores han realizado la ablación u oculotomía en otras especies de crustáceos, así se reporta que el porcentaje de hembras que alcanzan la maduración gonádica varía dependiendo la especie, Santiago (1977) obtuvo un 48% de maduración gonadal con *Penaeus kerathurus*, Primavera, et. al. (1978) 50% con *P. monodon*, Lumare (1979) 94% con *P. kerathurus*, Ramos y González (1983) 80.85% con la oculotomía parcial bilateral y 11.20% con la oculotomía total unilateral con *P. notialis*, Kelemec y Smith (1984) de 70 a 79% con la enucleación del pedúnculo ocular en *P. plebejus*. En otras variedades de crustáceos al practicarles la ablación de pedúnculos oculares, se provoca la maduración gonádica, como en los casos de *Rithropanopeus harrisii* y *Cragon* (Bomirski y Klek, 1974), *P. monodon* (Wear y Santiago, 1976), *Panulirus argus* (Quackenbush y Hernkind, 1981), *Penaeus monodon* (Emmerson, 1983) y *P. stylirostris* (Bray y Lawrence, 1990). Una de las formas para detectar la disposición a la reproducción de las hembras, es con el desarrollo de las sedas ovígeras en los pleópodos (Nagamine y Knight, 1980; Gregory y Labisky, 1981).

En los machos de *Macrobrachium rosenbergii* en ambos lotes, el desarrollo gonádico en la gran mayoría de los casos no fue posible observarlo, por lo cual no se realizó una evaluación a este respecto en ambos lotes. El testículo de los langostinos en los que fue evidente se manifestó con un color blanquecino, de aproximadamente 1 cm. de largo por 3 a 4 mm. de ancho, teniendo que posiblemente es apto para la reproducción, en una población de esta especie, en la cual no es posible distinguir el testículo en forma visual, no se tomó en cuenta los morfotipos que se manifiestan en esta especie, pero al seleccionar los tamaños de los organismos que conformaron cada repetición de los lotes, a estos se les tomó en cuenta con posibilidades para la reproducción; para conocer cuando un macho esta reproductivamente disponible, estos se dividen en 3 tipos, con diferentes caracteres morfológicos o morfotipos, que se basan principalmente en la coloración de los apéndices quelados; como son, los que presentan las quelas de color transparente se consideran inmaduros, los que tienen quelas de color anaranjadas maduros, no dominantes e individuos con las quelas de color azul oscuro son organismos maduros y dominantes dentro de la población (Smith et. al., 1978; Cohen et. al., 1981; Sagi y Ra'anan, 1985; Ra'anan y Sagi, 1985; Kuris et. al, 1987; Sagi et. al., 1988; Sagi y Ra'anan, 1988; Ra'anan et al., 1991). Otra de las formas empleadas es tomando en cuenta el largo de los apéndices quelados, independientemente de su morfotipo (Nagamine et. al., 1988a; Nagamine et. al., 1988b; Sagi et. al., 1990) y el largo del caparazón, que debe ser mayor a 34 mm. (Nagamine y Knight, 1980).

Se presentó en promedio 1.33 mudas por organismos en el lote experimental y 2.125 mudas en el control, lo cual manifiesta que la ablación tuvo efecto en el desarrollo gonádico y la diferencia fue significativa ( $P < 0.05$ ). La respuesta que se dio con la ablación

en esta especie, con relación a la muda y la maduración gonádica (ya que estos procesos son antagónicos), demuestra que en la muda hubo un retardo en el tiempo en este proceso, canalizándose el gasto energético hacia la maduración de la gónada, según los resultados que se presentan en el trabajo. Muchos autores mencionan que al realizar la ablación del pedúnculo ocular en crustáceos, da como resultado una aceleración en la muda, como se describe para *Leander* (= *Paleomon*) (Carlisle, 1953), *Carcinus* (Naylor y Williams, 1968), *Gecarcinus lateralis* (Skinner y Graham, 1972; Holland y Skinner, 1976), *Uca pugilator* (Fingerman y Fingerman, 1976; Weis, 1976), y *Procambarus clarkii* (Nakatani y Ôtsu, 1979 y 1980). Sin embargo, al examinar las gónadas de los crustáceos carentes de pedúnculos oculares, se infiere que las gónadas manifiestan un desarrollo en lugar de acelerar la muda (Quackenbush y Herrnkind, 1981). El proceso de la muda y la reproducción son considerados antagónicos, la reproducción ocurre en el período de la intermuda (Kleinholz, 1976; Fingerman y Fingerman, 1976; Quackenbush y Herrnkind, 1981; Ramos y González, 1983). Ambos procesos son regulados por hormonas secretadas en los pedúnculos oculares, por lo que la ablación de estos puede dar lugar a la inducción de la muda o a la maduración de las gónadas (Adiyodi y Adiyodi, 1970). Aparte de las diferencias relacionadas con la posible iniciación del proceso de muda, por la extirpación de los pedúnculos oculares, en los reportes existe un conflicto en los niveles de actividad en los pedúnculos oculares de decápodos, esto se debe a las diferencias de lapso y tiempo, cuando se registra la ablación y la actividad posterior (Naylor y Williams, 1968).

Con respecto a la longitud patrón contra sexo y el peso total contra el sexo de los ejemplares de *M. rosenbergii*, de ambos tratamientos de cada ensayo realizado, se observó mediante un ANOVA de 2 factores que no existió diferencia significativa ( $P > 0.05$  en peso y  $P > 0.05$  en longitud), por lo cual se infiere que no hubo una respuesta en estos parámetros causada por la ablación del pedúnculo ocular. El mismo resultado se registro con *U. pugilator* (Fingerman y Fingerman, op. cit.), *Panulirus argus* (Quackenbush y Herrnkind, op. cit.) y *Penaeus notialis* (Ramos y González, op. cit.). Como consecuencia de un desarrollo gonadal precoz por ablación del pedúnculo ocular, hay un retardo en la muda, por lo tanto, el desarrollo somático es mínimo (Adiyodi y Adiyodi, op. cit.; Kleinholz, 1976; Hedgecock, 1986; Ra'anan et. al., 1991), presumiblemente a través de la competencia por los materiales nutritivos disponibles (Kleinholz, op. cit.).

En relación al número de huevos producidos en promedio por hembras, fue de 11,475 para los experimentales y 10,198 en el control, no se tuvo diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), en el porcentaje de eclosión, el cual en promedio fue del 92% en el experimental y 85% en el control, no se presentó diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), aunque en el tiempo de desarrollo gonádico si se presentó diferencia ( $P < 0.05$ ), que en promedio adelanto un día; la ablación del pedúnculo ocular no afectó la producción de huevos, pero en ambos lotes, este resultado es muy

bajo, considerando que Lee y Wickins (1992) hacen mención de que el rango de producción en *M. rosenbergii*, se da entre 20,000 y 80,000 por hembra y una eclosión de 50 a 80%, en un período de incubación de 19-20 días, en este caso el promedio de día de 19 días para ambos lotes y de 23,010 a 70,230 con una eclosión del 100% en la misma especie, pero esto se realizó sin someter a los organismos a una ablación del pedúnculo ocular (Wickins y Beard, 1974), Lee y Wickins (op. cit.), los datos respecto a la producción por hembras y el porcentaje de eclosión que reportan, para crustáceos en general, es lo siguiente: en peneidos es de 0.2 a 1.0 millones con una eclosión de 30 a 80%; en *M. rosenbergii* es de 12,000 a 80,000 con 50 a 80%, acosiles de zona templada de 60 a 260 y 50 a 80%, acosiles de zona tropical de 140 a 1,000 y 80%, bogavante de 5,000 a 8,000 y 30%, de langosta espinosa 80,000 a 200,000 con 80%, cangrejo de 50,000 a 3'000,000 y 4 a 80%. Para otras especies en relación a la inducción a la maduración gonádica, por medio de la ablación del pedúnculo ocular, se reporta una producción de huevos por hembra y el porcentaje de eclosión en *Penaeus monodon* por Wear y Santiago (1976), fue de 202,000 y 53%, Aquacop (1977) 180,000 no reporta porcentaje de eclosión, Primavera et. al. (1978) 100,000 y 98%; Lumare (1979) en *P. kerathurus* reporta 78,400 y 66.4%, Ramos y González (1983), en *P. notialis* 74,100 a 13,200 con 86.56 a 35.49%, Kelemec y Smith (1984) cita para *P. plebejus* 196,600 con 83 a 69%, Ramos y Primavera (1984) encuentran para *P. notialis* de 44,410 a 66,520 con 0 a 71.70% y en *P. schmitti* se dieron de 41,672 a 48,083 con 0 a 0.17%, Bray y Lawrence (1990) mencionan en *P. stylirostris* 164,000 a 191,000 con 23 a 51.3%.

Para el estudio histológico de los ovarios de las hembras del lote mantenido a parte de los experimentales, se observó que mediante la maduración del ovario, se presentó en todo momento del desarrollo con una coloración amarillo-verdoso brillante, aunque la coloración en algunos casos fue anaranjado brillante; el color normal que se reporta para el ovario en *M. rosenbergii*, es de tonalidad anaranjada (Sandifer y Smith, 1979; Malecha, 1983; Sagi y Ra'anán, 1985; Levi y Bachi, 1988; Guitart y Quintana, 1990; Lee y Winckins, 1992), en comparación con otras especies, como lo son *Penaeus monodon*, *P. margiensis*, *P. indicus*, *P. vannamei* y *P. stylirostris*, los cambios en la coloración del ovario, son un indicio del grado de maduración del mismo (Aquacop, 1983), además del tamaño y la textura de este (Guitart y Quintana, op. cit.). Los tamaños de las células que presentaron cada uno de los estadios del desarrollo ovárico para la especie trabajada son similares a los que presentan los camarones peneidos reportados por Guitart y Quintana (op. cit.) y en el de Zerbib (1980) para el anfípodo *Orchentia gammarelus*, dado que no se tiene información de *M. rosenbergii* referente a los tamaños celulares, en cada uno de los estadios de desarrollo.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se presentan las siguientes conclusiones:

i) En lo referente a la aceleración del desarrollo del ovario por efecto de la ablación unilateral del pedúnculo ocular, presentaron en promedio 1 día menos en su desarrollo, en comparación con el testigo, pero para fines de producción de larvas esta respuesta no es determinante.

ii) En relación con el efecto que tuvo la ablación con respecto al peso y longitud, no presentó un efecto determinante sobre los langostinos.

iii) Para el IGS, el número de mudas, el número de huevos por hembra y el porcentaje de eclosión comparando el grupo testigo y al que se le practicó la ablación, no presentaron diferencias significativas. En el caso del número de huevos por hembra en ambos casos, su número promedio fue inferior al reportado para esta especie y el porcentaje de eclosión que se presentó en ambos casos, fue superior al reportado.

iv) Al hacer referencia al desarrollo del ovario, se planteó un cuadro observacional *in vivo*, que fue corroborado con un estudio histológico, se ajustó a los cambios relevantes, manifestados en el desarrollo de los ovocitos en el ovario. Este cuadro puede ser utilizado para tener idea del desarrollo de los ovocitos en el ovario en un momento determinado del desarrollo en *Macrobrachium rosenbergii*.

v) Al practicarles la ablación a ejemplares de *M. rosenbergii*, se detectó un cambio en la estimulación y desarrollo del ovario, no siendo este trascendente, puesto que solo se retrasó un día en comparación con el testigo, por lo que no es considerable para ser utilizado en la producción masiva de postlarvas para esta especie en particular, como ocurre con otras especies, por ejemplo: camarones, langostas, cangrejos, etc.



## LITERATURA CITADA

- Adiyodi, K. G. and R. G. Adiyodi. 1970. Endocrine control of reproduction in decapod crustacea. Biol. Rev. 45:121-165.
- Aquacop, 1977. Reproduction on captivity and growth of *Penaeus monodon* Fabricius. Proc. Meet. World. Maricult. Soc. 7:927-945.
- Aquacop. 1983. Constitution of broodstock, maturation, spawning, and hatching systems for penaeid shrimp in the Center Oceanologique du Pacifique. In: Mc Vey, J. P. and J. R. Moore (Eds). CRC Handbook of Mariculture. 1:105-121.
- Aréchiga, H; U. García, and L. Rodríguez-Sosa. 1985. Neurosecretory role of crustacean eyestalk in the control of neuronal activity. In Selverston, A. I. (Ed). Model neural networks and behavior. pp. 361-379.
- Arredondo, F. J. L. 1986 Análisis preliminar del estado de cultivo del camarón en México. Inf. Tec. Direc. Gen. Acuicultura. Secretaria de Pesca Boletín. 1: 1-18.
- Benítez, J. C. 1992. Comunicación personal U.N.A.M. Campus Iztacala.
- Bray, W. A. and A. L. Lawrence. 1990. Reproduction of eyestalk ablated *Penaeus stylirostris* fed various levels of total dietary lipid. J. World. Aquacult. Soc. 21(1): 41-52.
- Bomirski, A. and E. Klek. 1974. Action of eyestalks on the ovary in *Rithropanopeus* and *Crangon crangon*. Mar Biol. 24: 329-337.
- Carlisle, D. B. 1953. Molting hormones in Leander (Crustacea: Decapoda). Mar. Biol. Ass. U. K. 32: 289-296.
- Carlisle, D. B. 1960. Moulting cycles in crustacea. Sympos. Zoo. Sre. Tradin. 2: 109-120.
- CSS: Statistica. Version 3.1. 1991. Statsoft. Tulsa Oklahoma. USA.
- Cohen, D.; Z. Ra'anan, and T. Brody. 1981. Population profile development in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). J. World. Maricult. Soc. 12(2): 231-243.
- Drash, P. and C. Tchernigovtzeff. 1967. Sur la méthode de détermination des stade d'intermue of son application générale aux crustacés. Vie et Miliev. 18(3a): 593-609.

Díaz, H. F. y M. A. Fernández. 1990. Modelo conceptual de cultivo, un ejemplo con el langostino malayo *Macrobrachium rosenbergii*. Recopilación del curso de actualización. E.N.E.P. Iztacala. U.N.A.M. México.

Fingerman, S. W and M. Fingerman. 1976. Effects of time of year and limb removal on rates of ecdysis of eyes and eyestalkless fiddler crabs, *Uca pugilator*. Mar. Biol. 37: 357-362.

Fingerman, M. 1987. The endocrine mechanisms of crustaceans. J. Crust. Biol. 7(1): 1-24.

Goudeau, M. 1982. Fertilization in a crab: I. early events in the ovary, and cytological aspects of the acrosome reaction and gamete contacts. Tissue and Cell. 14(1): 97-111.

Gregory, D. R. Jr. and R. F. Labisky. 1981. Ovigerus setae as an indicator of reproductive maturity in the spiny lobster, *Panulirus argus* (Latreille). Northeast Gulf Science. 4(2): 109-113.

Guitart, B. y M. A. Quintana. 1990. Estadios de maduración gonadal en las especies comerciales del genero *Penaeus* en el Banco de Campeche. Rev. Inv. Mar. 11(1): 82-126.

Hedyeck. 1986. Maturation and apawning of the american lobster *Homarus americanus* in: Mc Vey, J. P. and J. R. Moore. (Eds) CRC Handbook of Mariculture. 1: 261-270.

Holland, C. A. and D. M. Skinner. 1976. Interaction between molting and regeration in the land crab. Biol. Bull. 150: 22-240.

Hudinaga, M. 1942. Reproduction development and reacing of *Penaeus japonicus*. Bate. Japanes. Zool. 10: 305-393.

Iwasaki, S. and Y. Satow. 1971. Sodium -and Calcium- dependent spike potentials in the secretory neuron soma of the X-organ of the crayfish. J. Gen. Physiol. 75: 216-230.

Kelemec, J. A. and I. R. Smith. 1984. Effects of low temperature storage and eyestalk enucleation of gravid eastern king praw, *Penaeus plebejus*, on spawning, egg fertilisation and hatching. Aquaculture. 40: 67-76.

Kleinholz, L. H. 1966. Separation and purification of crustacean eyestalk hormones. Am. Zool. 6: 161-167.

Kleinholz, L. H. 1976. Crustacean neurosecretory hormone and physiological specificity. Am. Zool. 16: 151-166.

Kuris, A. M.; Z. Ra'anani; A. Sagi, and D. Cohen. 1987. Morphotypic differentiation of male malaysian giant prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. J. Crustacean Biol. 7(2): 219-237.

Lee, D. O'C. and J. F. Wickins. 1992. Crustacean farming. Ed. Blackwell Scientific Publications. London. Chapter 4.

Levi, D. and M. Vacchi. 1988. Microscopic scale for simple and rapid determination of sexual maturity in *Aristaemorpha foliacea* (Risso, 1926) (Decapoda: Penaeidae). J. Crustacea Biol. 8(4): 532-538.

Lumare, F. 1979. Reproduction of *Penaeus kerathurus* using eyestalk ablation. Aquaculture. 18: 202-214.

Luna, L. G. 1968. Manual of histologic staining methods. Ed 3. Armed Forces Institute of Pathology. New York. p 258.

Malecha, S. 1983. Commercial seed production of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, in Hawaii. In: Mc Vey, J. P. and J. R. Moore. CRC Handbook of Mariculture. 1: 205-230.

Mattson, M. P. and E. Staziani. 1986. Regulation of the stress responsive X-organ-Y-organ axis by 5-hydroxytryptanine in the crab *Cancer antennarius*. Gen. Comp. End. 62: 419-427.

Mendoza, A. R. E. 1985. Observaciones sobre la producción de nauplios a partir de poblaciones cultivadas, silvestres y mixtas de camarón azul (*Penaeus stylirostris*) Tesis de licenciatura. E.N.E.P. Iztacala. U.N.A.M. pp. 63.

Middleditch, B. S.; S. R. Missler; D. G. Ward; J. B. Mc Vey; A. Brown and A. L. Lawrence. 1979. Maturation of Penaeid shrimp; Dietary fatty acids. Proc. World. Maricult. Soc. 10: 472-476.

Nagamine, C. M. and A. W. Knight. 1980. Development, maturation, and function of some sexually dimorphic structures of the malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda: Paleamonidae). Crustaceana. 39(2): 141-152.

Nagamine, C. M.; A. W. Knight; A. Maggenti and G. Paxman. 1980a. Effect of androgenic gland ablation on male primary and secondary sexual characteristics in the malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda; paleamonidae), with first evidence of induced feminization in a nonhermaphroditic decapod. Gen. Comp. Endocrinol. 41: 423-441.

Nagamine, C.; A. W. Knight; A. Maggenti, and G. Paxman. 1980b. Masculinization of female *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda: Paleamonidae) by androgenic gland implantation. Gen. Comp. Endocrinol. 41: 442-457.

Nakatani, I. and T. Ōtsu. 1979. The effect of eyestalk, leg and uropod removal on the molting and growth of young cryfish, *Peocambarus clarkii*. Biol. Bull. 57: 182-188.

Nakatani, I. and T. Ôtsu. 1980. Relation between the growth and the molt interval in the eyestalkless crayfish, *Procanbarus clarkii*. Comp. Biochem. Physiol. 68(A): 549-553.

Naylor, E. and B. G. Williams. 1968. Effects of eyestalk removal on rhythmic locomotor activity in *Carcinus*. J. Exp. Biol. 49; 107-116.

Payen, G. G. and J. D. Costlow. 1977. Effects of a juvenil hormone Mimic on male and female gametogenesis of the mud-crab, *Rhithropanopeus harrisi* (Gould) (Brachyura: Xanthidae). Biol. Bull. 157: 199-208.

Pérez, G. E. 1992. Comunicación personal. Centro de Investigaciones Bioacuáticas. Barandúa, Ecuador.

Primavera, J. H.; E. Borlongan and R. V. Posadas. 1978. Mass production in concrete tanks of sugpo *Penaeus monodon* Fabricius sapawners by eyestalk ablation. Fish. Res. J. Phil. 3(1): 1-12.

Quackenbush, L.S. and W. F. Herrnkind. 1981. Regulation of molt and gonadal development in the spiny lobster, *Panulirus argus* (Crustacea: Palinuridae): Effect of eyestalk ablation. Com. Biochem. Physiol. 69A: 523-527.

Ra'anan, Z. and A. Sagi. 1985. Alternative mating strategies in male morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. (de Man). Biol. Bull. 169: 592-601.

Ra'anan, Z.; A. Sagi; Y. Wax; I. Karplus; G. Hulata and A. Kuris. 1991. Growth, size rank, and maturation of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Analysis of marked prawns in an experimental population. Biol. Bull. 181: 379-386.

Ramos, T. L. and A. González. 1983. Inducción artificial a la maduración gonadal en hembras de *Penaeus notialis* Pérez Farfante 1967 por oculotomía. Rev. Inv. Mar. 4(1): 33-61.

Ramos, T. L. and J. M. Primavera. 1986. Induced maturation in ablated *Penaeus notialis* and *Penaeus schmitti*. p. 697-700. In J. L. Maclean; L. B. Dizon and L.V. Hosillos (eds.). The First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society. Manila Philippines.

Ramos, T. L. 1991. Comunicación personal. Universidad de la Habana, Cuba.

Rankin, S. M. and R. W. Davis. 1990. Ultrastructure of oocytes of the shrimp, *Penaeus vannamei*: cortical specialization formation. Tissue and Cell. 22(6): 879-893.

Rosas, C.; C. Venegas; G. Alcaraz and F. Díaz. 1991. Effect of eyestalk ablation on oxygen consumption of *Callinectes similis* exposed to salinity changes. Comp. Biochem. Physiol. 100A(1): 75-80.

Ruczkal-Pietrzak, E. 1981. Influence of eyestalks and chelea ablation on loss of hemolymph protein and weight in crayfish, *Orconectes limosus* (RAF). Comp. Biochem. Physiol. 70A: 447-450.

Sagi, A. and Z. Ra'anan. 1985. Rapid identification of reproductive state and the receptive period of female in pond population of *Macrobrachium rosenbergii* -A new technique. Aquaculture. 48: 361-367.

Sagi, A. ; Y. Milner, and D Cohen. 1988. Spermatogenesis and sperm storage in the testes of the behaviorally distinctive male morphotypes of *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda: Palaemonidae). Biol. Bull. 174: 330-336.

Sagi, A. and Z. Ra'anan. 1988. Morphotypic differentiation of male of the fresh-water prawn *Macrobrachium rosenbergii*: changes in the midgut gland and the reproductive system. J. Crustacean Biol. 8(1): 43-47.

Sagi, A.; D. Cohen, and Y. Milner. 1990. Effect of androgenic gland ablation on morphotypic differentiation and sexual characteristics of male freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Gen. Comp. Endocrinol. 77; 15-22.

Sandifer, P. A. and T. I. J. Smith. 1979. A method for artificial insemination of *Macrobrachium rosenbergii*, prawns and its potential use in inheritance and hybridization studies. Proc. World Maricult. Soc. 10; 403-418.

Skinner, D. M. and D. E. Graham. 1972. Loss of limbs as a stimulus to ecdysis in Brachiura (True crabs). Biol. Bull. 143: 222-233.

Santiago, C. Jr. 1977. Successful spawning of culture *Penaeus monodon* Fabricius after eyestalk ablation. Aquaculture. 11: 185-196.

Smith, T. I. J.; P.A. Sandifer and M.H. Smith. 1978. Population structure of Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), reared in earthen ponds in South Carolina, 1974-1976. Proc. World Maricult. Soc. 9: 21-38.

Wear, R.G. and A. Jr. Santiago. 1976. Induction of maturity and spawning in *Penaeus monodon* Fabricius 1798, by unilateral eyestalk ablation (Decapoda: Palaemonidae). Crustaceana. 31(2): 218-220.

Weis, J. S. 1976. Effects of environmental factor on regeneration and molting in fiddler crab. Biol. Bull. 150: 152-162.

Wickins, J. F. and T. W. Beard. 1974. Observations on the breeding and growth of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) in the laboratory. Aquaculture, 3: 159-174.

Zar, J. 1985. Biostatistical analysis. Prentice-Hall. USA. p.350

Zerbib, C. 1980. Ultrastructure observation of oogenesis in the crustacea amphipoda *Orchestia gammarellus* (Pallas). Tissue and Cell, 12(1): 47-62.

## ANEXO 1

### Técnica histológica general.

Benítez, 1992 modificado de Luna 1968.

Se extrajeron las gónadas tanto de machos como de hembras, se colocaron en una solución de Bouin/Dioxano 1:1 (el Bouin se compone de una solución saturada de ácido pícrico <75%>, formalina <25%> y ácido acético <5%>); se mantuvieron las gónadas en esta solución por 24 hrs., pasado este tiempo se lavo con Dioxano, se pasaron estas posteriormante por tres pasos con "celosolve", cada paso por espacio de 1 hr., una vez terminado este paso, se pasan a benceno, también tres pasos pero de 20 min. cada uno, seguido de un paso por benceno/parafina <1:1> de 20 min., se continuo con dos pasos de parafina cada uno de 35 min., posteriormente se colocaron en "paraplast" por 12 hrs. (los pasos que van de benceno/parafina hasta "paraplast", fueron colocados en un horno a una temperatura de 60°C, para mantener líquidas las parafinas).

Una vez pasadas las 12 hrs. en el "paraplast", las gónadas fueron colocadas en moldes agregándose "paraplast", hasta cubrir las muestras, se dejaron secar a temperatura ambiente por espacio de 12 hrs. cada una fue acompañada de una etiqueta de identificación (conteniendo lo siguiente: nombre de la especie, sexo al que pertenece, estadio de desarrollo observado visualmente, y un número de identidad, el cual fue registrado en una tabla para posteriormente ser corroborado. En esta tabla se registro: el sexo, peso del organismo, longitud patrón, peso de la gónada, estadio de desarrollo aparente bajo el criterio del cuadro arbitrario que se describió anteriormente y el tiempo de cada estadio). Ya que secó el "paraplast" se sacó del molde la muestra, se colocó en un frasco de cristal, para evitar se contaminara con polvo. Una vez obtenidas todas las muestras, se realizaron los cortes al microtomo, con un espesor de 5 a 7  $\mu\text{m}$ , algunas de las muestras se mantuvieron, duras para el corte, por lo cual fueron inmersas en una solución de alcohol etílico/acetona <9:1>, por 12 hrs., pasado este tiempo se realizaron los cortes de estas muestras.

Quando se obtuvieron los cortes en tiras, se colocaron en un porta-objetos, con la ayuda de un pincel del # 00; a las muestras se les colocó una gota de alcohol etílico (al 70%), que se hizo correr entre la muestra y el porta-objetos, para extender los cortes, evitando que quedaran burbujas de aire, posteriormente se pasaron a un baño María a 40°C, el cual contenía gelatina, se dejó la muestra hasta que desaparecieran las arrugas que se presentaron por el corte, una vez que desaparecieron las arrugas, con un porta-objetos se sacó la muestra y por la gelatina esta quedaba adherida al cristal (se rotuló con los datos de la muestra <especie, sexo, estadio de desarrollo y número de identidad> con

ayuda de un lápiz de punta de diamante), las muestras fueron colocadas en horno a 40°C, por espacio de 12 hrs, para que quedaran bien adheridas al cristal

Después se tiñen y se pasan por diferentes soluciones, como se indican a continuación:

**Aclaramiento:**

- i) Xilol I ..... 5 min.
- ii) Xilol II ..... 5 min.

**Hidratación:**

- iii) Alcohol 96 ..... 5 min.
- iv) Alcohol 90 ..... 5 min.
- v) Alcohol 80 ..... 5 min.
- vi) Alcohol 70 ..... 5 min.
- vii) Agua del grifo ..... 5 min.

**Tinción:**

- viii) Hematoxilina ..... 7 min.
- ix) Agua .... (eliminación del exceso de colorante).
- x) Alcohol-ácido ..... 1 seg.
- xi) Agua ..... (para detener la reacción).
- xii) Agua amoniacal . (hasta el vire al color azul).
- xiii) agua ..... (para detener la reacción).
- xiv) Eosina..... 3 min.

**Deshidratación:**

- xv) Alcohol 96 ..... 5 min.
- xvi) Alcohol 100 ..... 15 min.
- xvii) Alcohol 100 ..... 10 min.

**Aclaramiento:**

- xviii) Xilol III ..... 5 min.
- xix) Xilol IV ..... 5 min.

Los cortes no se extrajeron de inmediato del xilol, sino hasta que estos fueron montados en un porte-objetos con resina sintética, protegida con un cubre-objetos, evitando así que se formen burbujas de aire.

La observación de los cortes de las muestras se hicieron en un microscopio óptico marca "Zeiss", y se compararon las observaciones con los trabajos de Zerbib (1980) y, Guitart y Quintana (1976). Se seleccionó una muestra de cada estadio, las cuales fueron fotografiadas en un microscopio con cañón fotográfico marca "Nikon", para imprimir los aspectos más representativos de cada estadio y contabilizar las células de cada tipo.



CLAV. DE ORG. TEST.	ABL.	NUMERO DE HUEVOS TESTIGO	NUMERO DE HUEVOS ABLACION	% DE ECLOSION TESTIGO	% DE ECLOSION ABLACION	IGS TESTIGO	IGS ABLACION	NUMERO DE MUDAS TESTIGO
A1H	A3H	6320	30420	91.46	81.26	5.21	5.4	2
C3H	B1H	4400	4000	84.1	95	4.4	5.54	2
A6H	B4H	17650	12400	93.2	88.71	4.91	5.49	3
C4H	C2H	17400	8740	93.1	51.94	4.96	5.47	2
A2H	A2H	4560	10060	95.6	89.86	5.72	5.26	2
B1H	B2H	3020	4400	86.75	90.91	6.34	5.68	2
B2H	D3H	18430	7460	98.7	99.4	4.25	4.62	3
C1H	D4H	20000	6300	93.2	94.92	4.81	4.97	1
	E4H		8000		73		4.71	
TOTAL		91780	91780	736.11	765	40.6	47.14	17
PROM.		11472.5	10197.7777	92.01375	85	5.075	5.237777	2.125
VARIAN.		48777218.7	57275239.5	19.02532	192.1143	0.410175	0.129239	0.359375
DES. STD.		6984.06892	7568.04066	4.361802	13.86053	0.640449	0.359498	0.599478
No. DATOS		8	9	8	9	8	9	8
X\X		1274.72222		7.01375		-0.16277		0.791666
S\N		6097152.34	7159404.93	2.378165	24.01429	0.051271	0.016154	0.044921
S\N+S\N		13256557.2		26.39246		0.067426		0.183810
RAIZ S\N+S\N		3640.95554		5.137359		0.259666		0.428731
T		0.35010650		1.365244		-0.62687		1.846532
g. 1.		15		15		15		15
T TAB 0.975		2.132		2.132		2.132		2.132
T TAB 0.95		2.49		2.49		2.49		2.49

**Tabla 5.** Datos que se manejaron para la aplicación del estadístico "t" de student, para conocer si hay una diferencia entre los dos tratamientos.

CLAV. TEST.	DE ORG. ABLA.	TESTIGO ESTADIO I	ABLACION ESTADIO I	TESTIGO ESTADIO II	ABLACION ESTADIO II	TESTIGO ESTADIO III	ABLACION ESTADIO III	TESTIGO ESTADIO IV	ABLACION ESTADIO IV	TESTIGO DIAS TOL	ABLACION DIAS TOL
A1H	A3H	5	4	4	4	4	3	5	6	18	17
C3H	B1H	5	4	4	4	3	3	5	5	17	16
A6H	B4H	5	4	4	4	3	3	6	5	18	16
C4H	C2H	5	4	4	4	4	3	5	6	18	17
A2H	A2H	5	4	3	4	3	4	6	5	17	17
B1H	B2H	5	4	4	4	4	4	6	6	19	18
B2H	D3H	5	4	4	4	4	4	6	5	19	17
C1H	D4H	5	4	3	4	4	4	6	6	18	18
	E4H		4		4		4		6		18
TOTAL		40	36	30	36	29	32	45	50	144	154
PROM.		5	4	3.75	4	3.625	3.55555555	5.625	5.55555555	18	17.111111
VARIANZA		0	0	0.1875	0	0.234375	0.24691358	0.234375	0.2469135	0.5	0.543209
DES. STD.		0	0	0.4330127	0	0.48412291	0.49690399	0.4841229	0.4969039	0.707106	0.737027
No. DATOS		8	9	8	9	8	9	8	9	8	9
X1-X2		1		-0.25		0.06944444		0.0694444		0.888888	
SN		0	0	0.0234375	0	0.02929687	0.02743484	0.0292968	0.0274348	0.0625	0.060356
S1/M1+S2/M2		0		0.0234375		0.05673171		0.0567317		0.122856	
RAIZ SN		0		0.1530931		0.23818420		0.2381842		0.350509	
T	---			-1.632993		0.29155771		0.2915577		2.535993	
g.l.		15		15		15		15		15	
T TAB. 0.975		2.49		2.49		2.49		2.49		2.49	
T TAB. 0.95		2.132		2.132		2.132		2.132		2.132	

**Tabla 6.** Prueba de "t" de studen, para saber si existe una diferencia significativa en el lote experimental y el control.