



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**EVALUACIÓN DEL SOSTENON COMO PROMOTOR  
DE LA MADURACIÓN DE JUVENILES DEL ACOCIL**  
*Cambarellus montezumae* **EMPLEANDO UNA DIETA  
FORMULADA**

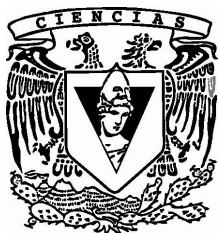
**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G O**

**P R E S E N T A:**

**RENÉ DIEGO CORTÉS**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. JOSÉ ROMÁN LATOURNERIÉ CERVERA**

**2013**



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.

**1. Datos del alumno**

Diego  
Cortés  
René  
58790875  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
301198473

**2. Datos del tutor**

Dr.  
José Román  
Latournerié  
Cervera

**3. Datos del sinodal 1**

Dr.  
René de Jesús  
Cárdenas  
Vázquez

**4. Datos del sinodal 2**

Dr.  
José Luis  
Villalobos  
Hiriart

**5. Datos del sinodal 3**

Dra.  
Elsa Guadalupe  
Escamilla  
Chimal

**6. Datos del sinodal 4**

M. en C.  
Gabino  
de la Rosa  
Cruz

**7. Datos del trabajo escrito**

Evaluación del Sostemon como promotor de la maduración de juveniles del acocil  
*Cambarellus montezumae* empleando una dieta formulada.

73 p.

2013

## **AGRADECIMIENTOS**

A la máxima casa de estudios del país, la Universidad Nacional Autónoma de México, y a la Facultad de Ciencias por haberme permitido formarme como profesionista y como persona.

Al Dr. José Román Latournerié Cervera por haberme transmitido sus conocimientos, por su paciencia y asesorías durante la realización de esta investigación, pero sobre todo por su amistad y confianza.

A la M. en C. María del Pilar Torres García y al Laboratorio de Invertebrados por el apoyo técnico durante este trabajo. Gracias por sus consejos académicos y personales y por haber estado cuando más lo necesitaba.

Al Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez por su apoyo académico y paciencia.

A los miembros del jurado Dr. José Luis Villalobos Hiriart, Dra. Elsa Guadalupe Escamilla Chimal y al M. en C. Gabino de la Rosa Cruz por la revisión, comentarios y aportaciones a esta tesis.

A la Biól. Erika Samantha Palacios quien me brindó su ayuda técnica y su amistad. Por los buenos y malos momentos.

## **DEDICATORIA**

### **A mis padres:**

Valentina y Roberto, por todo su amor y su apoyo, por seguir juntos a pesar de las dificultades. Porque sus ganas de luchar y seguir adelante son un ejemplo a seguir. LOS AMO.

### **A mis hermanos:**

Beny, Rosy y Noemí, por ser los mejores hermanos que pude haber tenido.

### **A mi amiga Mireya:**

Por su amistad, por estar en los momentos más difíciles y mostrarme su apoyo incondicional, por acompañarme en esta etapa. T.Q.M.

### **A mis amigos del Laboratorio de Invertebrados:**

Pilar, Erika, Ma. Ana, Clarita, Lupita, Ma. Guadalupe, Ale, Nancy, Omar, Abraham y Daniela, por los momentos tan divertidos que hemos pasado.

### **A mi amiga Beatriz:**

Por su apoyo, amistad y sus ánimos para seguir adelante. T.Q.M.

## **INDICE**

	<b>Página</b>
<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Biología de la Especie</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1. Taxonomía</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2. Distribución y Hábitat</b>	<b>5</b>
<b>2.1.3. Alimentación</b>	<b>5</b>
<b>2.1.4. Dimorfismo Sexual</b>	<b>5</b>
<b>2.1.5. Aparato Reproductor Masculino</b>	<b>6</b>
<b>2.1.6. Aparato Reproductor Femenino</b>	<b>7</b>
<b>2.2. Endocrinología de Crustáceos</b>	<b>7</b>
<b>2.2.1. Sistema Endócrino</b>	<b>7</b>
<b>2.2.2. Control Hormonal de la Muda y el Crecimiento</b>	<b>8</b>
<b>2.2.2.1. Ecdisteroides</b>	<b>8</b>
<b>2.2.2.2. Hormona Inhibidora de la Muda (MIH)</b>	<b>9</b>
<b>2.2.3. Control Hormonal de la Reproducción en Crustáceos Machos</b>	<b>11</b>

2.2.3.1.	Ecdisteroides	11
2.2.3.2.	La Glándula Androgénica (AG) y la Hormona de la Glándula Androgénica (AGH)	12
2.2.3.3.	Regulación Endócrina de la Glándula Androgénica: la Hormona Estimuladora de la Gónada (GSH) y la Hormona Inhibidora de la Gónada (GIH)	13
2.2.3.4.	Órganos Mandibulares (MO), Metil Farnesoato (MF) y las Hormonas Inhibidoras de los Órganos Mandibulares (MOIH)	13
3.	ANTECEDENTES	15
4.	JUSTIFICACIÓN	21
5.	HIPÓTESIS	21
6.	OBJETIVOS	22
6.1.	General	22
6.2.	Específicos	22
7.	MATERIALES Y MÉTODOS	22
7.1.	Trabajo de Campo	22

<b>7.1.1. Colecta de los Organismos</b>	<b>22</b>
<b>7.1.2. Caracterización del Hábitat</b>	<b>23</b>
<b>7.2. Trabajo de Laboratorio</b>	<b>23</b>
<b>7.2.1. Fase de Aclimatación</b>	<b>23</b>
<b>7.2.2. Caracterización Morfométrica de los Animales Colectados</b>	<b>24</b>
<b>7.2.3. Formulación del Alimento Hormonado</b>	<b>24</b>
<b>7.2.4. Diseño Experimental</b>	<b>26</b>
<b>7.3. Fase Experimental</b>	<b>27</b>
<b>7.3.1. Análisis de la Calidad del Agua</b>	<b>27</b>
<b>7.3.2. Recambio de Agua</b>	<b>27</b>
<b>7.3.3. Número de Mudas y Porcentaje de Supervivencia</b>	<b>27</b>
<b>7.3.4. Evaluación del Crecimiento</b>	<b>28</b>
<b>7.3.5. Tasa Metabólica de Rutina</b>	<b>28</b>
<b>7.3.6. Análisis de Metabolitos</b>	<b>29</b>
<b>7.3.6.1. Homogenizado</b>	<b>29</b>
<b>7.3.6.2. Determinación de Glucosa</b>	<b>30</b>
<b>7.3.6.3. Determinación de Proteínas Solubles</b>	<b>30</b>



7.3.6.4. Determinación de Lípidos Totales	31
7.4. Análisis de Resultados	31
8. RESULTADOS	32
8.1. Análisis de la Calidad del Agua	32
8.2. Número de Mudas y Porcentaje de Supervivencia	35
8.3. Evaluación del Crecimiento	36
8.4. Tasa Metabólica de Rutina	38
8.5. Análisis Discriminante (Metabolitos)	39
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	42
9.1. Calidad del Agua	42
9.2. Muda, Crecimiento y Supervivencia	44
9.3. Tasa Metabólica de Rutina	48
9.4. Análisis Discriminante (Metabolitos)	49
10. CONCLUSIONES	52
11. LITERATURA CITADA	54

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figuras</b>	<b>Página</b>
1. Posición anatómica de los diferentes órganos endócrinos y neuroendócrinos en el cefalotórax de un crustáceo decápodo.	8
2. Dispositivo Respirométrico.	29
3. Temperatura promedio (°C) de cada tratamiento.	32
4. Concentración promedio de oxígeno (mg/L) de cada tratamiento.	33
5. pH promedio de cada tratamiento.	34
6. Número de mudas de <i>C. (C.) montezumae</i> de cada tratamiento.	35
7. Porcentaje de supervivencia de <i>C. (C.) montezumae</i> de cada tratamiento.	36
8. Peso húmedo promedio (mg) de <i>C. (C.) montezumae</i> después de 60 días.	37
9. Consumo promedio de oxígeno en base húmeda (VO <sub>2</sub> ) de <i>C. (C.) montezumae</i> .	38
10. Discriminación de grupos (tratamientos) empleando las ocho variables de cada tratamiento.	40
11. Discriminación de grupos (tratamientos) empleando las variables niveles de proteína y glucosa.	41

## LISTA DE CUADROS Y TABLAS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
I. Diseño experimental	26
<b>Tablas</b>	
I. Parámetros Físico-Químicos del Área de Muestreo.	23
II. Composición Proximal (%) de la Camaronina 35.	24
III. Datos Morfométricos de los Animales Colectados.	24
IV. Valores promedio de la temperatura (°C).	32
V. Valores promedio de la concentración de O <sub>2</sub> (mg/L).	33
VI. Valores promedio del pH.	34
VII. Parámetros de la calidad del agua medidos durante la etapa experimental en los diversos tratamientos ensayados en <i>C. (C.) montezumae</i> .	35
VIII. ANOVA de mediciones repetidas para el factor peso húmedo (PH).	37
IX. Valores promedio finales del peso húmedo (mg).	37
X. Consumo promedio de oxígeno por gramo de peso húmedo por hora (mgO <sub>2</sub> /g/h).	38
XI. Valores de “F y p” de las variables del análisis discriminante.	39
XII. Valores promedio de las variables que participaron en el análisis discriminante.	40
XIII. Valores de “F y p” de las variables niveles de proteínas y glucosa.	40
XIV. Nivel de correlación entre las variables de los diferentes tratamientos.	41

## 1. RESUMEN

Se evaluó el efecto de los esteroides anabólico-androgénicos, que componen el Sostanon 250, durante un periodo de 60 días en los indicadores del crecimiento (peso, talla, contenido de metabolitos y número de mudas), requerimientos de energía (tasa metabólica de rutina) y supervivencia, en juveniles del acocil *Cambarellus (Cambarellus) montezumae*. No se encontraron diferencias significativas en los indicadores antes mencionados entre los diferentes tratamientos: Control 1 (solo Camaronina), Control 2 (Camaronina con soluciones vehículo), Hormona 1 (15 µg/0.02 g de dieta) y Hormona 2 (30 µg/0.02 g de dieta). Los tratamientos Control 1 y Control 2, fueron los que presentaron un mayor número de mudas, una ganancia de peso más elevada así como porcentajes de supervivencia altos. Sin embargo, en los tratamientos experimentales Hormona 1 y Hormona 2, se observó un mayor consumo de oxígeno, así como un contenido más elevado de proteínas y glucosa, que en los tratamientos Control 1 y Control 2. Estos resultados nos indican el posible efecto promotor del crecimiento, maduración y elevación de la tasa metabólica en juveniles de esta especie por los esteroides del Sostanon 250.

Contribución No. 150. (Tesis de Licenciatura). Laboratorio de Acuicultura y Producción Acuática. Departamento de Biología Comparada. Facultad de Ciencias, UNAM. (2013).

## 2. INTRODUCCIÓN

La diferenciación sexual y reproducción en vertebrados macho son reguladas por distintos péptidos y hormonas esteroides provenientes de varios órganos endocrinos; a diferencia de esto, en los crustáceos así como en otros grupos de invertebrados, se conoce muy poco acerca de la función o incluso de la existencia de hormonas que regulen la diferenciación sexual o la fisiología reproductiva masculina. El control hormonal de la reproducción ha sido estudiado principalmente en las hembras y solamente en unos pocos crustáceos, tales como la langosta Americana *Homarus americanus* y el acocil *Procambarus clarkii*, en los que varias hormonas de muchos órganos neuroendócrinos y endócrinos, desempeñan papeles clave en el control del desarrollo gonadal y las características sexuales secundarias (Van Herp y Soyez, 1997; Chen *et al.*, 2003).

Además de los agentes hormonales, diversos factores ambientales, físico-químicos y nutricionales, desempeñan papeles fundamentales en los procesos fisiológicos de la maduración gonádica (Van Beek y De Loof, 1988).

En la mayoría de las especies de crustáceos, la inducción de la maduración es realizada a través de la técnica de la ablación de los pedúnculos oculares (Quackenbush, 1991), este procedimiento remueve la fuente de la hormona inhibidora de la gónada (GIH por sus siglas en inglés), el complejo neuroendócrino órgano-X-glándula sinusal (XO-SG por sus siglas en inglés) (Brown y Jones, 1949). Aunque esta técnica es empleada comúnmente alrededor del mundo por sus beneficios a corto plazo, se han reportado efectos colaterales no deseados tales como deterioros en la freza, en los reproductores y en la calidad y cantidad de larvas producidas debido a su uso (Emmerson, 1980; Chamberlain, 1985; Primavera,

1985; Makinouchi y Primavera, 1987; Tsukimura y Kamemoto, 1991; Aktas y Kumlu, 1999).

En el camarón *Penaeus canaliculatus*, las hembras ablacionadas desovaron más frecuentemente que las hembras intactas, pero el número de huevos y la eclosión fueron mayores en las hembras intactas (Choy, 1987). Además, la remoción del pedúnculo ocular no es una técnica favorable para utilizarla como una práctica estándar en la acuicultura (Abdu *et al.*, 2001).

Debido a lo anterior, muchos científicos y acuacultores están optando por alternativas, no traumáticas, en la manipulación endocrinológica para la inducción de la reproducción. Algunas técnicas alternativas han sido el control de factores ambientales como la temperatura, el fotoperiodo y la salinidad para modificar los niveles hormonales, la administración de anticuerpos para la GIH, neurotransmisores como la serotonina y la espiperona y los esteroides progesterona y estradiol (Chang y Mulder, 2001; Fanjul-Moles, 2006; Mazurová *et al.*, 2008; Nagaraju, 2007; Nagaraju y Borst, 2008; Treerattrakool *et al.*, 2008). Por otra parte, Kulkarni y cols. (1979) indujeron el desarrollo ovárico con progesterona en el camarón *Parapenaeopsis hardwickii* y Yano y cols. (2000) estimularon con  $17\beta$ -estradiol, *in vitro*, la síntesis de vitelogenina en fragmentos ováricos del acocil.

Evaluada en conjunto, estas herramientas biotecnológicas podrían constituir alternativas viables para la conservación o para la producción comercial de algunas especies acuáticas que se encuentren amenazadas y que tengan aceptación entre la población, como es el caso del acocil *Cambarellus (Cambarellus) montezumae*.

## 2.1. Biología de la Especie

### 2.1.1. Taxonomía

En la actualidad, existen en el mundo alrededor de 550 especies de acociles clasificadas en tres familias: Parastacidae, Astacidae y Cambaridae. En México, los acociles nativos de la familia Cambaridae se dividen en tres géneros: *Cambarellus* (de Saussure, 1857); *Orconectes* Cope, 1872 y *Procambarus* Ortman, 1905 (Álvarez y Rangel, 2007). Dentro del género *Cambarellus*, se agrupan 10 especies (Gutiérrez y Morales, 2000), entre ellas *Cambarellus (C.) montezumae*, la cual se ubica en la siguiente clasificación taxonómica, según Hobbs (1989):

<b>Subphylum</b>	Crustácea Brünmich, 1722
<b>Clase</b>	Malacostraca Latreille, 1802
<b>Orden</b>	Decápoda Latreille, 1802
<b>Infraorden</b>	Astacidea Latreille, 1802
<b>Superfamilia</b>	Astacoidea Latreille, 1802
<b>Familia</b>	Cambaridae Hobbs, 1942
<b>Subfamilia</b>	Cambarellinae Laguarda, 1961
<b>Género</b>	<i>Cambarellus</i> Ortmann, 1905
<b>Subgénero</b>	<i>Cambarellus</i> Ortmann, 1905
<b>Especie</b>	<i>Cambarellus (Cambarellus) montezumae</i> Saussure, 1857

### **2.1.2. Distribución y Hábitat**

*C. (C.) montezumae* es una especie endémica de México que se encuentra distribuida en gran parte del país; abarca desde el lago de Chapala, Jalisco, hacia el este, hasta los lagos cráter de Puebla (Rojas *et al.*, 2002). Se le encuentra asociada a las raíces de la vegetación riparia de cuerpos de agua continentales como arroyos, canales, presas, ríos, bordos y lagos (Álvarez y Rangel, 2007).

### **2.1.3. Alimentación**

Los acociles presentan una alimentación omnívora, se alimentan de microalgas, pequeños crustáceos, peces, insectos, moluscos, restos de animales muertos y cuando el alimento escasea se puede observar canibalismo (Civera y Cruz, 1982). Sin embargo, se ha señalado que la mayor parte de la dieta de estos organismos consiste de detritus enriquecido microbiológicamente (Avault Jr., 1983).

### **2.1.4. Dimorfismo Sexual**

Entre los acociles existe un marcado dimorfismo sexual; las hembras en estado adulto son de mayor tamaño, con las quelas del primer par de pereiópodos gruesas y cortas, el abdomen es ancho para portar los huevecillos, los gonoporos se encuentran en los coxopoditos del tercer par de pereiópodos y entre las coxas del quinto par de pereiópodos presentan una estructura en forma de herradura llamada *annulus ventralis*, mientras que los machos son más pequeños, las quelas del primer par de pereiópodos son largas y esbeltas, presentan pequeños ganchos en los isquiopoditos del segundo y tercer par de pereiópodos, los gonoporos se encuentran en el quinto par de pereiópodos, sus dos primeros pleópodos están modificados para la reproducción, tienen la forma de (Y) y son utilizados para



efectuar la cópula; el segundo par de pleópodos es más largo que los demás y son empleados para transferir los espermátóforos al *annulus ventralis* (Civera y Cruz, 1982).

El ciclo de vida de los Cambáridos machos se caracteriza porque estos presentan dos formas alternantes, el cambio de una forma a otra ocurre durante las mudas semianuales. La forma I (F I) o forma sexual activa se presenta durante la última muda juvenil y se caracteriza por ser más agresiva y por el crecimiento, endurecimiento y coloración del primer par de pleópodos. El primer par de quelípedos es grande y los vasos deferentes están llenos de espermátidas. La forma II (F II) es sexualmente inactiva (Civera y Cruz, 1982).

#### **2.1.5. Aparato Reproductor Masculino**

El testículo es un órgano impar, situado arriba y atrás del hepatopáncreas y debajo del corazón; se conforma por tres lóbulos, dos anteriores y uno posterior. En el punto de unión de los tres lóbulos parten conductos deferentes largos, estrechos y sinuosos que abren en los gonoporos de las coxas del quinto par de pereiópodos (Civera y Cruz, 1982).

Los lóbulos presentan vesículas esferoidales formadas por las dilataciones de las extremidades y de las paredes de los túbulos seminíferos; parte de las células que conforman cada vesícula, durante la temporada de la reproducción, se multiplican y experimentan la espermatogénesis y la espermiogénesis. Después de haber experimentado estos procesos, los espermatozoides llegan a los vasos deferentes en donde son bañados por secreciones para conformar los espermátóforos (Civera y Cruz, 1982).

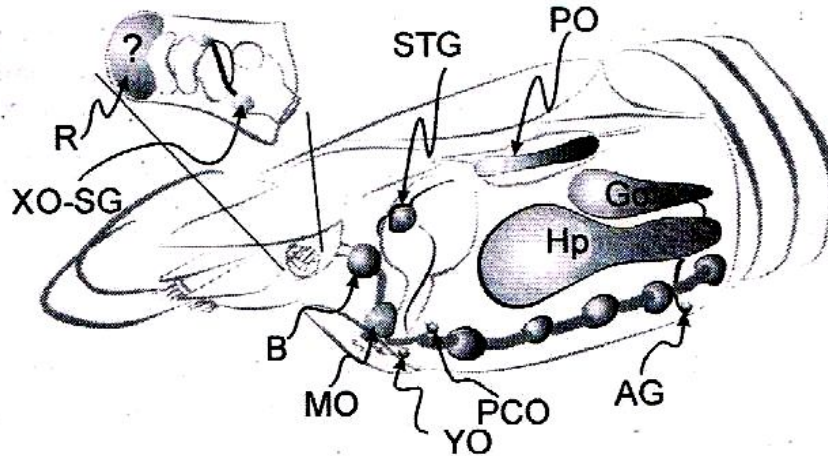
### **2.1.6. Aparato Reproductor Femenino**

El ovario es un órgano trilobulado ubicado abajo y delante del corazón, entre el seno pericárdico y el tubo digestivo; de los tres lóbulos que lo conforman, dos son anterolaterales y uno medio posterior. A cada lado de los lóbulos anteriores y ventralmente, parten los oviductos que desembocan en las coxas del tercer par de pereiópodos. El ovario está formado por un epitelio de células cúbicas con núcleo pequeño y cromatina compacta; entre ellas se encuentran las ovogonias que se distinguen por su forma redonda, citoplasma claro y núcleo grande con cromatina reticular laxa. Las ovogonias al crecer arrastran consigo las células epiteliales de las paredes del ovario, formando una capa de células aplanadas entorno de cada ovogonia. Cuando las ovogonias llegan a su etapa final de madurez se transforman en óvulos aptos para la fecundación y se proyectan hacia la luz del tubo ovárico (Civera y Cruz, 1982).

## **2.2. Endocrinología de Crustáceos**

### **2.2.1. Sistema Endócrino**

El sistema endócrino en crustáceos consiste de órganos endócrinos y órganos neuroendócrinos. En los decápodos los órganos endócrinos comprenden el órgano mandibular (MO), el órgano-Y (YO), la glándula androgénica (AG), las gónadas (Go), el órgano pericárdico (PO) y el hepatopáncreas (Hp); los órganos neuroendócrinos son el complejo órgano-X-glándula sinusal (XO-SG), el órgano post-comisural (PCO), el cerebro (B) y los ganglios estomatogástricos (STG) (figura 1) (Durán-Lizarraga *et al.*, 2008). Las diferentes hormonas liberadas de los órganos endócrinos y neuroendócrinos incluyen péptidos, esteroides, aminas, terpenoides y prostaglandinas (Vogt, 2002).



**Figura 1.** Posición anatómica de los diferentes órganos endócrinos y neuroendócrinos en el cefalotórax de un crustáceo decápodo. Los órganos endócrinos: glándula androgénica (AG); gónadas (Go, ovarios o testículos); hepatopáncreas (Hp); órgano mandibular (MO); órgano pericárdico (PO) y órgano-Y (YO); los órganos neuroendócrinos: complejo órgano-X-glándula sinusal (XO-SG); cerebro (B), órgano post-comisural (PCO) y los ganglios estomatogástricos (STG). La retina (R) es marcada con un signo de interrogación, indicando la posibilidad de producir péptidos. Tomado de Durán-Lizarraga y cols. (2008).

## 2.2.2. Control Hormonal de la Muda y el Crecimiento

### 2.2.2.1. Ecdisteroides

En todos los artrópodos, el crecimiento depende del proceso de la muda, por ello es importante comprender los mecanismos que determinan el inicio y la frecuencia de este proceso. En crustáceos, las glándulas ecdisiales u órganos-Y, que están situados justo detrás del esófago, son la fuente principal de las hormonas de la muda, los ecdisteroides.

Aunque estas hormonas esteroides se encargan principalmente de la muda, también participan en diferentes procesos como el desarrollo embrionario, la diapausa, la formación

de cutícula, reproducción y el crecimiento (Hagedorn, 1985; Skinner, 1985; Koolman, 1989; Spindler, 1989; Jegla, 1990; Lachaise, 1990; Lachaise *et al.*, 1993; Chang, 1993, 1997; Charmantier *et al.*, 1997; Subramoniam, 2000).

En la actualidad, son conocidos varios ecdisteroides de crustáceos. Algunos ejemplos son: ecdisona, 2-deoxi-20-hidroxiectdisona, 25-deoxi-20-26-dihidroxiectdisona, 24-metil-20-hidroxiectdisona, 25-deoxi-20-hidroxiectdisona, 25-deoxiectdisona y 3-dehidroectdisona. Estos ecdisteroides son secretados a la hemolinfa para posteriormente ser transformados en 20-hidroxiectdisona por medio de una 20-hidroxilasa, que se encuentra presente en la epidermis y otros órganos y tejidos (Lachaise y Feyereisen, 1976; Chang y O'Connor, 1978; Lachaise y Lafont, 1984; Snyder y Chang, 1991; Lachaise *et al.*, 1993; Böcking *et al.*, 1995; Spaziani *et al.*, 1997). La 20-hidroxiectdisona es abundante en dichos tejidos así como en la hemolinfa, y podría constituir la forma final activa de las hormonas de la muda (Spaziani *et al.*, 1994).

La concentración circulante de la 20-hidroxiectdisona varía ampliamente a través de las etapas del ciclo de muda. Inmediatamente después de la ecdisis, ésta es muy baja, permaneciendo así durante la intermuda. Una elevación repentina ocurre durante la premuda seguida por una caída en forma abrupta justo antes de la muda (Petriella y Boschi, 1997; Huberman, 2000). Es por esto que se sugiere que hay una relación directa entre los ecdisteroides y el ciclo de muda.

#### **2.2.2.2. La Hormona Inhibidora de la Muda (MIH)**

El sistema neurosecretor del pedúnculo ocular lo conforman neuronas peptidérgicas que se agrupan para formar el órgano-X (XO por sus siglas en inglés) y sus terminales bulbosas axónicas que constituyen la glándula sinusal (SG por sus siglas en inglés), la cual es un

órgano neurohemal que libera una gran cantidad de hormonas peptídicas, incluyendo la hormona inhibidora de la muda (MIH por sus siglas en inglés). El XO y la SG conforman el complejo XO-SG.

En animales intactos en etapa de intermuda, la actividad de síntesis de ecdisteroides por el órgano-Y, puede ser suprimida por la secreción de la MIH. Muchos estudios han demostrado que la extirpación quirúrgica del pedúnculo ocular resulta en la producción de 20-hidroxiecdisona por el órgano-Y y por lo tanto en el inicio y acortamiento del intervalo del ciclo de la muda, mientras que la implantación de los contenidos del pedúnculo ocular restablece dicho intervalo. Se ha reportado que en cangrejos del género *Carcinus*, al entrar al estado de aneudisis permanente, el proceso de la muda puede ser inducido por la ablación del pedúnculo ocular. Lo que restringe el funcionamiento de los órganos-Y durante la aneudisis permanente, probablemente se debe a que hay una elevada actividad de la MIH (Carlisle, 1957).

Mattson y Spaziani (1985) demostraron mediante estudios *in vitro*, que la MIH es capaz de inhibir la producción de ecdisteroides por los órganos-Y de una manera dosis-dependiente. Spaziani y cols. (1994) encontraron que la liberación de la MIH, promovida por la inyección de serotonina (5HT), disminuye los niveles hemolinfáticos de ecdisteroides en el cangrejo *Cancer antennarius*. Por otro lado, se demostró que los niveles elevados de ecdisteroides ejercen un efecto de retroalimentación positiva, inhibiendo la liberación de la MIH de la SG, pero no su síntesis en el XO. Otros estudios, realizados en muchas especies de decápodos, han revelado que las inyecciones con extractos pedunculares extienden el ciclo de muda. Estos resultados demuestran la función inhibidora de la MIH (Skinner, 1985).

### **2.2.3. Control Hormonal de la Reproducción en Crustáceos Machos**

#### **2.2.3.1. Ecdisteroides**

Diversos estudios han reportado que las hormonas de la muda (ecdisteroides) son importantes reguladores de la reproducción de las hembras en crustáceos (Subramoniam, 2000; Chang y Kaufman, 2005). Sin embargo, se conoce muy poco acerca de estas hormonas esteroides en la reproducción de los machos. En el cangrejo *Carcinus maenas*, se encontró evidencia que indica que hay una elevación de ecdisteroides hemolinfáticos coincidente con las etapas iniciales de la gametogénesis tales como mitosis oogoniales y espermatogoniales (Arvy *et al.*, 1956). Estudios *in vitro*, como los realizados por Matlock y Dornfeld (1982), han demostrado que las células de la vaina de los testículos del isópodo *Idotea wonsnesenskii*, incrementaron la síntesis de DNA después de 2-3 días de haber sido cultivadas con 20-hidroxicdisona.

Brody y Chang (1989) notaron que las espermatogonias de la langosta *Homarus americanus*, expuestas a 20-hidroxicdisona, proliferaban. En el langostino *Macrobrachium rosenbergii*, se cultivaron los testículos con 20-hidroxicdisona y se observó un incremento significativo en la incorporación de timidina radiomarcada (Sagi *et al.*, 1991). Algunos reportes implican circunstancialmente a los ecdisteroides en la reproducción masculina.

En un estudio reciente, Parnes y cols. (2006) descubrieron un mecanismo dependiente de la muda por el cual el esperma viejo es periódicamente removido del sistema reproductor de especímenes macho de *Litopenaeus vannamei*. Así, se demostró que los camarones macho atraviesan ciclos reproductivos que están estrictamente asociados a los ciclos de muda, los que a su vez, están hormonalmente regulados. Los espermátóforos de intermuda intactos

fueron desechados durante la muda, y un nuevo par de espermátóforos aparecieron en las ámpulas después de la muda de los machos.

### **2.2.3.2. La Glándula Androgénica (AG) y la Hormona de la Glándula Androgénica (AGH)**

En la mayoría de los Malacostraca (anfípodos, isópodos y decápodos), la posición de la glándula androgénica (AG por sus siglas en inglés) es constante; ésta se encuentra en la porción terminal o subterminal del vaso deferente (Charniaux-Cotton, 1964). Cronin (1947) fue el primero en descubrir la AG en el cangrejo azul *Callinectes sapidus* y posteriormente Charniaux-Cotton (1954) sugirió, que la AG era el órgano regulador de la espermatogénesis y la diferenciación sexual masculina en el anfípodo *Orchestia gamarella*.

Charniaux-Cotton (1964) después de realizar la remoción de la AG en un macho, observó que la espermatogénesis disminuía. Estas observaciones fueron confirmadas en el isópodo *Armadillidium vulgare* (Legrand, 1955). En hembras del langostino *M. rosenbergii* la implantación de esta glándula provocó la masculinización e iniciación de la espermatogénesis (Nagamine *et al.*, 1980a, 1980b).

La AG es la responsable de la síntesis y secreción de la hormona androgénica u hormona de la glándula androgénica (AH o AGH por sus siglas en inglés) (Demeusy, 1967). En los isópodos de los géneros *Porcellio* e *Idotea*, la AGH es requerida para la continuación de la espermatogénesis, mientras que en otros como del género *Helleria* solamente parece tener un efecto estimulante (Reidenbach, 1971). La regulación de la secreción de esta hormona por parte de la AG es realizada por las secreciones del complejo neuroendócrino XO-SG (Khalaila *et al.*, 2002).

### **2.2.3.3. Regulación Endócrina de la Glándula Androgénica: la Hormona Estimuladora de la Gónada (GSH) y la Hormona Inhibidora de la Gónada (GIH)**

La reproducción en crustáceos es neuroregulada por hormonas del sistema nervioso central. Los neuropéptidos tales como la hormona estimuladora de la gónada (GSH por sus siglas en inglés), secretada por los ganglios torácicos, supraesofágicos y cerebroide, y la GIH, sintetizada y secretada por el XO-SG, actúan directamente sobre los ovarios de las hembras, y en apariencia actúan indirectamente sobre los testículos de los machos vía la AG (Adiyodi, 1984; Gupta, 1989; Hasegawa *et al.*, 1993).

La ablación bilateral de los pedúnculos oculares del camarón *Pandalus platycerus* causó un incremento en la síntesis del RNA de las células de la AG (Brockenbrough-Foulks y Hoffman, 1974). Por otra parte, Kulkarni y cols. (1984) a través de experimentos con ablación bilateral e inyección de extractos de los pedúnculos oculares concluyeron que las hormonas liberadas del sistema neuroendócrino regulan la actividad de la AG. En *Procambarus clarkii*, Sarojini y cols. (1994) sugirieron que la serotonina estimula la liberación de la GSH, la que a su vez actúa sobre la AG, la cual libera la AGH.

### **2.2.3.4. Órganos Mandibulares (MO), Metil Farnesoato (MF) y las Hormonas Inhibidoras de los Órganos Mandibulares (MOIH)**

En los Decapoda, los órganos mandibulares (MO por sus siglas en inglés) generalmente están situados muy cerca al plano sagital corporal. También, están localizados en la cara posterior de las mandíbulas, cercanos a las bases de los músculos abductores posteriores de estos apéndices (Sochasky *et al.*, 1972). La ultraestructura de los MO se caracteriza por las formas especiales de las mitocondrias, así como por la abundancia de retículo endoplásmico liso. Debido a esto, se ha postulado que los MO tienen alguna función en



algún metabolismo esteroideogénico (Hinsch, 1981). Este metabolismo podría estar ligado al control de los procesos de la muda, reproducción y desarrollo. Subsecuentemente, el aislamiento del metil farnesoato (MF por sus siglas en inglés), un sesquiterpeno, de los MO de los crustáceos ha confirmado esta hipótesis.

Experimentos recientes han demostrado la implicación del MF en los procesos reproductivos de crustáceos de ambos sexos. En hembras de *P. clarkii* (Laufer *et al.* 1998) y *Libinia emarginata* (Jo *et al.*, 1999) se ha demostrado que el MF estimula la maduración ovárica. En machos de *L. emarginata* hay diferentes morfotipos: aquellos con comportamiento reproductivo más activo, individuos grandes con cutícula abrasiva. Homola y cols. (1991) observaron que estos machos tuvieron las concentraciones más elevadas de MF en la hemolinfa. Estos individuos también tuvieron los órganos reproductivos, las quelas y los MO más grandes que los machos con cutícula no abrasiva y los machos más pequeños.

Todos estos datos señalan funciones morfogenéticas y reproductivas del MF en crustáceos (Sagi *et al.*, 1993). En los cangrejos *Oziotelphusa senex senex*, Kalavathy y cols. (1999) y más tarde Reddy y cols. (2004) observaron que la inyección de MF promovió el crecimiento de los folículos testiculares y el índice testicular completo. La síntesis del MF por los MO es inhibida por tres neuropéptidos aislados de la SG (Liu y Laufer, 1996). Por otra parte, se han caracterizado hormonas inhibitoras de los órganos mandibulares (MOIH por sus siglas en inglés) de los cangrejos *Cancer pagurus* (Wainwright *et al.*, 1996) y de *L. emarginata* (Liu *et al.*, 1997).

### 3. ANTECEDENTES

Actualmente se cuentan con diversos estudios en *C. (C.) montezumae* de los que se ha obtenido información muy importante.

- Aguilar (1991) evaluó el crecimiento y la producción de juveniles de la especie bajo cinco niveles de ración con *Egeria densa* a temperaturas de 17 y 23°C. A partir de los resultados, concluyó que el crecimiento depende de los factores temperatura y nivel de ración.
- Cornejo (1991) llevó a cabo estudios sobre selección térmica en *C. (C.) montezumae* y la relación que guarda con algunos índices fisiológicos. En este estudio se encontró que la selección térmica se ve influenciada por el sexo, la talla y la estacionalidad. También se encontró que la temperatura es un factor determinante en el desempeño de los organismos.
- Talavera y cols. (1995) estudiaron la presencia y localización de la enzima diaforasa-NADPH, demostrando su distribución en el ganglio cerebroide del acocil.
- Moctezuma (1996) determinó las condiciones de cultivo de la especie bajo condiciones de laboratorio y en pequeños estanques. Se realizaron observaciones sobre su distribución natural, los requerimientos del substrato, la profundidad del agua, la cobertura vegetal, la densidad de cultivo, oxígeno y alimento.
- Barbosa (1998) determinó si el crecimiento de *C. (C.) montezumae* se ve influenciado por el factor temperatura y el porcentaje de nutrientes tales como proteínas, lípidos y carbohidratos. No se observó relación alguna entre el

crecimiento y la temperatura. Sin embargo, la tasa de crecimiento fue mayor en organismos pequeños que en organismos grandes. El porcentaje ideal de nutrientes para esta especie es: lípidos, no mayor al 10%; carbohidratos, del 5 al 20% y de proteínas, del 20 al 40%.

- Salazar (1999), a partir de la técnica de medición de los niveles de la lipoperoxidación, así como de un bioensayo de electroforesis unicelular en gel, evaluó la toxicidad y genotoxicidad que provoca el pesticida dieldrin en *C. (C.) montezumae*. De los resultados se concluyó que el pesticida es genotóxico y probablemente tóxico para esta especie.
- Rodríguez-Serna y Carmona-Osalde (2002) determinaron las pérdidas de energía a través del metabolismo y su efecto en la nutrición de acociles juveniles. Los animales fueron alimentados con cinco niveles de ración (0, 1, 3, 5 y 10 % del peso corporal/día) a 17° y 23°C con *Elodea sp.* La temperatura de 17°C mostró la mayor tasa de consumo y la mejor eficiencia de asimilación, mientras que la mayor tasa de ingesta se obtuvo en el nivel de ración 5%. Los autores señalan que la alimentación con *Elodea sp.* no fue óptima para el crecimiento de esta especie.
- Nacif (2004) evaluó el crecimiento desde un enfoque bioenergético en crías de *C. (C.) montezumae*, a partir de sustratos alimenticios obtenidos de la descomposición de *E. densa*. Los resultados obtenidos demuestran que los sustratos alimenticios fueron aceptados y que promovieron el crecimiento, alcanzándose tallas cercanas a las de subadulto, durante un periodo de alimentación de cinco semanas.

- Buzoianu y cols. (2006) midieron la actividad de fenoloxidasa en presencia y ausencia de inhibidores de la síntesis de eicosanoides; encontrando que la dexametasona disminuye la actividad de la fosfolipasa A, mientras que el naproxeno, no modificó la actividad de fenoloxidasa.
- Latournerié y cols. (2006) midieron el crecimiento, supervivencia, producción y eficiencias de transferencia de energía en juveniles tempranos de *C. (C.) montezumae*, alimentados con detritus de *E. densa* enriquecido microbiológicamente. Los resultados demostraron que el peso de los animales se incremento 10.3 veces, se alcanzó una supervivencia del 34.4 %, la biomasa se incremento 3.3 veces y las pérdidas de energía y asimilación presentaron una relación inversa con el peso de los animales. La producción de crías de acocil de esta especie mediante el detritus vegetal de *E. densa* enriquecida microbiológicamente es favorable en sistemas de cultivo extensivos.
- Alonso (2007) realizó un estudio sobre la influencia del fotoperiodo en el proceso de la muda. En este estudio, los resultados demostraron que, al menos para este diseño experimental, no existe influencia alguna del fotoperiodo sobre el proceso de la muda.
- Álvarez y Rangel (2007) realizaron una caracterización poblacional de la especie en el sistema lacustre de Xochimilco, más específicamente dentro de la Pista de Remo y Canotaje Virgilio Uribe. En dicho estudio se observó una distribución de tallas de 2.1 a 41.5 mm de longitud total; se encontraron machos forma I y forma II, siendo los primeros los más abundantes junto con hembras ovígeras, indicando que hay una

reproducción continua a través del ciclo anual para esta especie; la tasa de crecimiento promedio mensual fue de 2.53 mm; las primeras tallas reproductivas fueron de 21 mm para machos y de 24 mm para hembras, de longitud total. Así mismo, se determinó una elevada mortalidad durante los 2 primeros meses de vida y tan solo el 4% de la población alcanzó las tallas reproductivas.

- Rangel (2009), nuevamente realizó un estudio sobre la dinámica poblacional de esta especie en el mismo lugar. En tal estudio se encontró que la talla máxima que alcanza la especie en el área de estudio es de 47.8 mm de longitud total; se determinó que el factor temperatura presenta un efecto sobre la abundancia, provocando que la población aumente durante los meses cálidos; hubo reclutamiento y reproducción durante todo el año; los individuos machos maduran sexualmente más rápido que las hembras y la tasa de mortalidad es mayor durante los primeros meses de vida, por lo tanto pocos individuos alcanzan la madurez sexual.
- Vásquez (2009) llevó a cabo un estudio sobre el crecimiento y la reproducción de *C. (C.) montezumae* a partir de tres diseños experimentales. Los resultados obtenidos demuestran que el acocil es susceptible de ser cultivado y de mantener una reproducción constante durante casi todo el año.
- Flores (2009) realizó una evaluación de las condiciones físico-químicas del hábitat de la especie en Xochimilco, contrastando la época cálida y fría del ciclo anual. Los resultados obtenidos mostraron que la zona lacustre presenta una estacionalidad

definida; que existe una variación espacio-temporal entre los canales y que se trata de un ambiente hipereutrífico producto de las actividades antropogénicas.

- Cortés (2010) investigó las interacciones de depredador-presa entre el acocil *C. (C.) montezumae* y el ajolote *Ambystoma mexicanum*. Se encontró una interacción de depredación bidireccional; cuando los ajolotes son adultos consumen a los acociles desde que se desprenden del abdomen de la hembra hasta que alcanzan la madurez sexual, mientras que los acociles adultos se alimentan de los huevos y las crías de los ajolotes.
- Villa-Narciso (2010) realizó un estudio sobre la dinámica poblacional de la especie. Los individuos fueron colectados de octubre de 2007 a octubre de 2008 en el Canal el Bordo, Xochimilco. En este estudio se encontró una proporción de hembras mayor que la de machos (2.5:1); y una mayor cantidad de machos forma II con respecto a los machos forma I. Se observó que la temperatura influye sobre la abundancia de la especie, ya que la abundancia aumenta en los meses cálidos, mientras que disminuye durante los meses fríos. Hubo reclutamiento de crías durante todo el año y el mayor índice reproductivo se obtuvo durante la época cálida. Así mismo, se reportó que los machos alcanzan la madurez sexual a tallas pequeñas en comparación con las hembras, sin embargo, éstas alcanzan tallas mayores. Hubo una mortalidad elevada en machos durante los primeros meses de vida. La fecundidad de las hembras fue reducida.
- García (2010) investigó la influencia de la estacionalidad, época cálida y época fría, sobre los parámetros de la ecuación del balance energético ( $C=P+R+F+U$ ) en el

lago de Xochimilco. Los resultados muestran que *C. (C.) montezumae* consume una mayor cantidad de calorías/ejemplar/día durante la época cálida en comparación con la época fría. Así mismo, se demuestra que el campo de crecimiento es mayor durante los meses cálidos con respecto a los meses fríos, del 31% y 28%, respectivamente.

- Aguilar (2011) evaluó el efecto de la temperatura (20°, 25° y 30°C) en el crecimiento, supervivencia y metabolismo energético de crías del acocil *C. (C.) montezumae*. Los resultados demostraron que hubo una mayor supervivencia y crecimiento a una temperatura de 25°C, mientras que la tasa de consumo de oxígeno en base seca (QO<sub>2</sub>) fue menor y la tasa de excreción nitrogenada (Q-NH<sub>4</sub>) fue mayor a esta temperatura. También se realizó el análisis de composición del tejido en el que se evaluó el contenido de proteínas, lípidos, triglicéridos y glucosa. Estos indicadores no presentaron una correlación directa con la temperatura. Sin embargo, la mayor cantidad de proteínas se presentó en los organismos mantenidos a 25°C. Estos resultados permitieron concluir que el mejor rango de temperatura para cultivar crías de acocil de esta especie es de 20-25°C.

#### **4. JUSTIFICACIÓN**

La población del acocil *C. (C.) montezumae* en Xochimilco, se encuentra amenazada y en riesgo inminente de desaparición, debido al impacto antropogénico sobre su hábitat natural, sobreexplotación de la especie, introducción de especies exóticas, altos niveles de contaminantes y disminución del espejo de agua, el cual se encuentra reducido a una serie de canales que a su vez tienden a desaparecer por el crecimiento de la mancha urbana. Así mismo, como resultado de los muestreos quincenales realizados por el grupo de trabajo del laboratorio de Acuicultura, se ha observado que la proporción de machos y la fecundidad de la especie han estado disminuyendo en su medio natural. Dado lo anterior y considerando que la mayoría de los estudios que se han realizado en *C. (C.) montezumae* se han enfocado en aspectos de: dinámica poblacional, bioenergética, interacciones ecológicas, neurofisiología, taxonomía, morfología, entre otros temas, existe un vacío de información sobre estudios que se enfoquen al análisis de factores que modulen la maduración, el proceso de muda y el crecimiento de juveniles tempranos de la especie, por tales motivos, se diseñó la presente investigación, tendiente a evaluar los efectos que causa una dieta formulada con hormonas esteroides en estos procesos. Esto busca generar alternativas para la obtención de crías en un lapso más corto, las cuales pudieran emplearse en procedimientos de repoblamiento o sistemas de producción intensiva.

#### **5. HIPÓTESIS**

Debido a que el Sostemon 250 es un medicamento compuesto de esteroides anabólico-androgénicos que influyen en diversas respuestas fisiológicas y morfogénicas en el organismo de vertebrados, entonces su administración en el alimento de los acociles



acelerará el proceso de maduración gonadal, muda y aumentará el peso y la talla (LT y LCT) en juveniles del acocil *C. (C.) montezumae*.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. General**

- Evaluar los efectos de los esteroides anabólico-androgénicos que componen el Sostanon 250 en juveniles del acocil *C. (C.) montezumae*.

### **6.2. Específicos**

Comparar en los individuos de los diversos tratamientos ensayados:

- Los indicadores del crecimiento (peso, talla y contenido de metabolitos).
- El número de mudas.
- Los requerimientos de energía, a través de la medición del metabolismo de rutina ( $VO_2$  y  $QO_2$ ).
- El porcentaje de supervivencia.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1. Trabajo de Campo**

#### **7.1.1. Colecta de los Organismos**

Se realizó una recolecta durante el mes de enero del 2012 en el canal de Cuemanco, entre las coordenadas 19°16'50.16"N y 99°06'07.77"O y 19°16'49.21"N y 99°06'07.83"O de la

zona lacustre de Xochimilco, D. F. Los acociles juveniles macho de 16-22 mm de longitud total (LT) fueron capturados con redes de cuchara triangulares con una luz de malla de 1 mm.

### 7.1.2. Caracterización del Hábitat

En el sitio de colecta se midieron los siguientes parámetros físico-químicos: temperatura (T°C) y potencial de hidrógeno (pH) con un potenciómetro digital Hanna modelo HI 98129 ( $\pm 0.05^\circ\text{C}$ ) y concentración de oxígeno ( $\text{O}_2$ ) con un oxímetro YSI modelo 51B ( $\pm 0.05$  mg/L). La tabla I muestra los valores registrados para dichos parámetros.

**Tabla I.** Parámetros Físico-Químicos del Área de Muestreo

<b>Parámetros Físico-Químicos</b>			
<b>Estrato</b>	T°C	pH	O <sub>2</sub> (mg/L)
<b>Fondo</b>	14	-	9.6
<b>Superficie</b>	15	9.3	5.6

## 7.2. Trabajo de Laboratorio

### 7.2.1. Fase de Aclimatación

Una vez recolectados los animales, fueron transportados al acuario del Laboratorio de Acuicultura y Producción Acuática de la Facultad de Ciencias, UNAM, se aclimataron durante dos semanas en peceras de 40 L, con aireación constante, refugios de PVC, temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  y fotoperiodo natural. La aclimatación a la temperatura de estudio fue realizada gradualmente,  $1^\circ\text{C}/\text{día}$ . Los animales fueron alimentados a saciedad con Camaronina 35 en polvo. La composición proximal del alimento se muestra en la tabla II.

**Tabla II.** Composición Proximal (%) de la Camaronina 35

<b>Producto</b>	<b>Proteína</b>	<b>Humedad</b>	<b>Grasa</b>	<b>Fibra</b>	<b>Ceniza</b>
	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Máximo</b>
<b>Camaronina 35</b>	35	12	4	4	10

### 7.2.2. Caracterización Morfométrica de los Animales Colectados

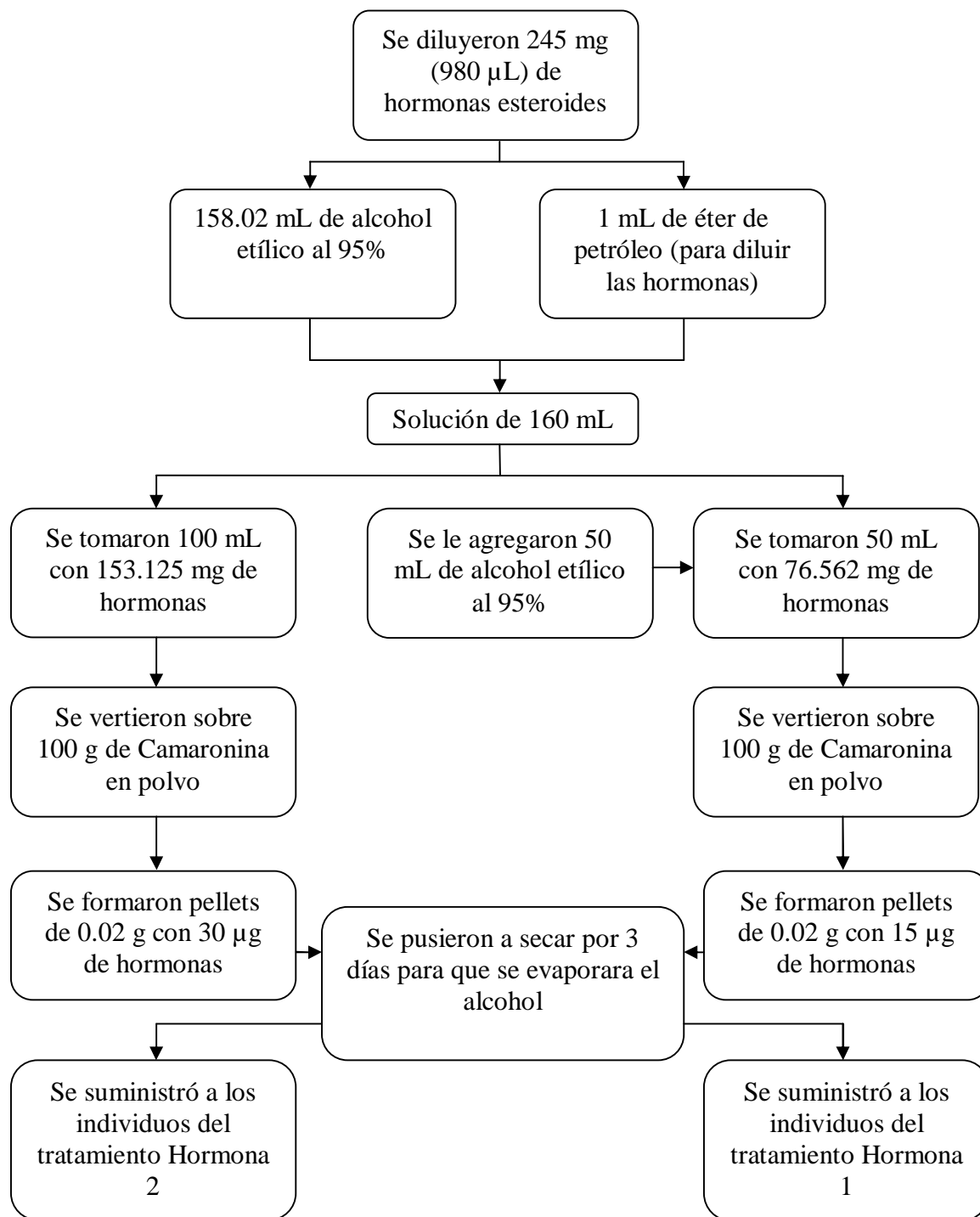
Después del periodo de aclimatación se recabaron datos morfométricos de peso húmedo (PH) con una balanza digital Scout-Pro de 0.1-600 g ( $\pm 0.01$ g) de sensibilidad; de la longitud total (LT) y la longitud cefalotorácica (LCT) con un vernier digital Stainless Hardened de 0-150 mm ( $\pm 0.1$  mm). Los datos morfométricos de los animales se muestran en la tabla III.

**Tabla III.** Datos Morfométricos de los Animales Colectados

	<b>LT (mm)</b>	<b>LCT (mm)</b>	<b>PH (mg)</b>
<b>Media<math>\pm</math>D.S.</b>	18.5 $\pm$ 1.5	8.4 $\pm$ 0.8	153.1 $\pm$ 41.8
<b>Rango</b>	16-21	7-10	90-250
<b>N</b>	24	24	24

### 7.2.3. Formulación del Alimento Hormonado

El procedimiento para hormonar el alimento suministrado a los acociles, se basó en el protocolo propuesto por Guerrero (1975) (ver diagrama).



La mezcla de hormonas esteroides se obtuvo del producto comercial denominado Sostemon 250 de laboratorios Organon, cuya formulación contiene: 30 mg de propionato de testosterona, 60 mg de fenilpropionato de testosterona, 60 mg de isocaproato de testosterona y 100 mg de decanoato de testosterona.

Para el caso de los individuos del tratamiento Control 1 se les suministró alimento solo, mientras que para los individuos del tratamiento Control 2 se les dio alimento mezclado con alcohol al 95% (158.02 mL) y éter de petróleo (1 mL). Para ambos casos se formaron pellets de 0.02 g.

#### 7.2.4. Diseño Experimental

El diseño experimental se muestra en el cuadro I.

**Cuadro I.** Diseño Experimental

TRATAMIENTO	BLOQUE	n	VARIABLE DE RESPUESTA* T <sub>0</sub> ..... T <sub>60</sub>
Control 1 (alimento solo)	1	2	PH, LT y LCT Mudas Supervivencia
	2	2	
	3	2	
Control 2 (alimento con soluciones vehículo)	1	2	PH, LT y LCT Mudas Supervivencia
	2	2	
	3	2	
Hormona 1 (15 µg)	1	2	PH, LT y LCT Mudas Supervivencia
	2	2	
	3	2	
Hormona 2 (30 µg)	1	2	PH, LT y LCT Mudas Supervivencia
	2	2	
	3	2	

PH: peso húmedo; LT: longitud total; LCT: longitud céfalo-torácica.

El diseño experimental empleado se basó en un diseño de bloques al azar: este consistió de 4 tratamientos (Control 1: solo Camaronina, Control 2: Camaronina adicionada con alcohol etílico al 95% y éter de petróleo y Hormona 1 y Hormona 2: Camaronina con hormonas esteroides, 15 µg y 30 µg, respectivamente). Para cada tratamiento se emplearon 3 bloques (acuarios de 10 L) y en cada uno se dispusieron dos cámaras de 0.3 L, c/u conteniendo un organismo seleccionado aleatoriamente.

Los acociles fueron alimentados a razón del 5 % de su peso corporal cada tercer día con el alimento correspondiente para cada tratamiento.

\*También se realizó la evaluación del contenido de metabolitos y tasa metabólica de rutina al final del periodo experimental (60 días).

### **7.3. Fase Experimental**

#### **7.3.1. Análisis de la Calidad del Agua**

Para evaluar la calidad del agua, se registraron dos veces por semana los siguientes parámetros físico-químicos para cada tratamiento: potencial de hidrógeno (pH) y temperatura (T°C) con un potenciómetro digital Hanna modelo HI 98129 ( $\pm 0.05^\circ\text{C}$ ) y la concentración de oxígeno (O<sub>2</sub>) con un oxímetro YSI modelo 51B ( $\pm 0.05$  mg/L).

#### **7.3.2. Recambio de Agua**

Se hicieron recambios de agua semanales del 50% de los bloques de cada tratamiento.

#### **7.3.3. Número de Mudadas y Porcentaje de Supervivencia**

El número de mudas, así como el porcentaje de supervivencia fueron registrados diariamente para cada uno de los tratamientos.

#### **7.3.4. Evaluación del Crecimiento**

El registro de las variables del crecimiento: longitud total (LT), longitud cefalotorácica (LCT) y peso húmedo (PH) fueron registradas quincenalmente durante el periodo que duró el experimento, empleando un vernier digital Stainless Hardened de 0-150 mm ( $\pm 0.1$  mm) y una balanza digital Scout-Pro de 0.1-600 g ( $\pm 0.01$ g) de sensibilidad. Previo al pesaje de los acociles, éstos fueron colocados en papel absorbente durante cinco segundos, aproximadamente, para eliminar el exceso de agua.

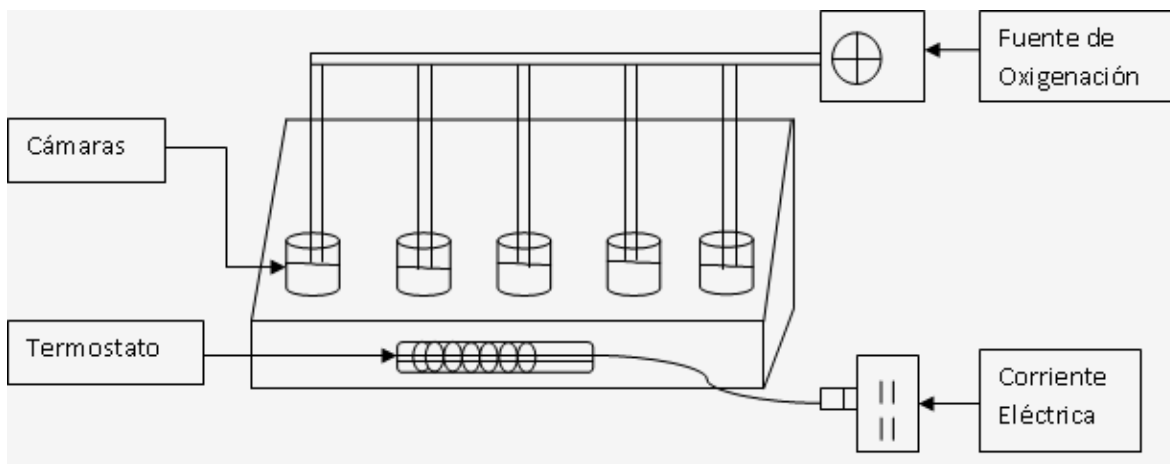
#### **7.3.5. Tasa Metabólica de Rutina ( $VO_2/QO_2$ )**

Al término de los 60 días, se llevó a cabo la medición de la tasa metabólica de rutina, evaluada como el consumo promedio de  $O_2$  por gramo de peso húmedo ( $VO_2$ ) y por gramo de peso seco ( $QO_2$ ) por hora ( $mgO_2/g/h$ ).

Para la medición de la tasa metabólica, se instaló un dispositivo respirométrico (figura 2), en el cual los organismos restantes de cada tratamiento fueron introducidos, un día previo a la medición del metabolismo con la finalidad de minimizar el estrés por la manipulación y en condiciones de ayuno de 24h. Las cámaras respirométricas individuales de 300 mL de capacidad contenían agua con aireación continua y se encontraban en baño María a  $24\pm 1^\circ C$  dentro de una java de 35 L.

La concentración de  $O_2$  siempre se mantuvo por arriba de 4.4 mg/L, al interior de cada cámara se colocó un tubo de PVC de  $\frac{1}{2}$  pulgada, que actuaba a manera de refugio para minimizar el estrés durante las mediciones. La evaluación del metabolismo respiratorio de los acociles se realizó en tres lapsos (9:20-11:20, 12:20-14:20 y de 15:20-17:20 h). Al inicio y al final de cada tiempo se midió la concentración de oxígeno con un oxímetro YSI

modelo 51B ( $\pm 0.05$  mg/L). Después de cada periodo de medición las cámaras fueron aireadas durante una hora. Al final de la respirometría se realizó la biometría de los acociles; posteriormente, éstos se seleccionaron de forma aleatoria para los análisis de metabolitos, los organismos fueron sacrificados por medio de choque hipotérmico y fueron almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su análisis posterior.



**Figura 2.** Dispositivo Respirométrico

### 7.3.6. Análisis de Metabolitos

#### 7.3.6.1. Homogenizado

A los dos meses del experimento, se tomó un individuo al azar, de cada uno de los bloques de cada tratamiento para determinar el contenido de metabolitos.

La homogenización de los animales se realizó individualmente. Cada animal de entre 160 y 450 mg fue cortado en secciones pequeñas, las cuales fueron introducidas en un homogenizador Dounce de vidrio que siempre fue mantenido sobre hielo para evitar la degradación del tejido. Se agregaron 2 mL de Buffer de Lisis y con el émbolo se



homogenizó completamente al individuo. El homogenizado fue filtrado con un filtro casero de malla fina de nylon y el sobrenadante guardado en tubos Ependorff.

#### **7.3.6.2. Determinación de Glucosa.**

Las determinaciones de glucosa se realizaron a través del método enzimático-colorimétrico, con juego de reactivos SpinReact.

Para las determinaciones de glucosa, se tomaron alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  (por duplicado) del homogenizado de cada animal, se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de agua desionizada y 210  $\mu\text{L}$  de reactivo para glucosa SpinReact. Tanto la curva patrón como las determinaciones de las muestras se leyeron con un espectrofotómetro BECKMAN COULTER DU 640 a 500 nm después de 30 minutos.

La curva patrón de glucosa se corrió con 0, 5 y 10  $\mu\text{L}$  (por duplicado) de la solución estándar de glucosa (100 mg/dL) más 40, 35 y 30  $\mu\text{L}$  de agua desionizada y 210  $\mu\text{L}$  de reactivo para glucosa SpinReact.

#### **7.3.6.3. Determinación de Proteínas Solubles**

La determinación de proteínas solubles se realizó mediante la técnica de Bradford (1976). Para las determinaciones de proteínas solubles, se diluyeron 5  $\mu\text{L}$  de cada uno de los homogenizados en 20  $\mu\text{L}$  de agua desionizada, dilución (1:5). De esta dilución se tomaron 5  $\mu\text{L}$  (por duplicado), se agregaron 5  $\mu\text{L}$  de agua desionizada y 240  $\mu\text{L}$  de reactivo de Bradford. La curva patrón y las determinaciones de proteínas solubles fueron leídas al momento con el espectrofotómetro BECKMAN COULTER DU 64 a 590 nm.

La curva patrón se corrió con 0, 5 y 10  $\mu\text{L}$  (por duplicado) de la solución estándar de proteínas (1 mg albúmina sérica bovina/mL de agua), más 10, 5 y 0  $\mu\text{L}$  de agua desionizada y 240  $\mu\text{L}$  de reactivo de Bradford.

#### **7.3.6.4. Determinación de Lípidos Totales.**

La determinación de lípidos totales se llevó a cabo con el método colorimétrico de fosfovainillina (Inouye y Guiherme, 2006).

Para las determinaciones de lípidos totales, se tomaron 300  $\mu\text{L}$  de cada uno de los homogenizados, se agregaron 800  $\mu\text{L}$  de cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) y 400  $\mu\text{L}$  de metanol ( $\text{MeOH}$ ), para la extracción. De cada una de estas mezclas se tomaron 40  $\mu\text{L}$  (por duplicado), se evaporaron y se le agregaron 100  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), para la digestión, y 600  $\mu\text{L}$  de reactivo de fosfovainillina. Para ambos casos, curva patrón y determinación de lípidos totales, después de agregarles el reactivo de fosfovainillina, se dejaron transcurrir 5 minutos para leer en el espectrofotómetro BECKMAN COULTER DU 640 a 490 nm.

La curva patrón de lípidos totales se corrió con 0, 15, 30, 45, 60 y 75  $\mu\text{L}$  (por duplicado) de la solución estándar de lípidos (10 mg de aceite de maíz/10 mL de acetona). Estos se evaporaron a temperatura ambiente y después se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), para la digestión, y 600  $\mu\text{L}$  de reactivo de fosfovainillina.

#### **7.4. Análisis de Resultados**

Los análisis estadísticos de la presente investigación se realizaron a través de los paquetes estadísticos SPSS 8.0, JMP 10.0 y el programa Microsoft Excel 2007.

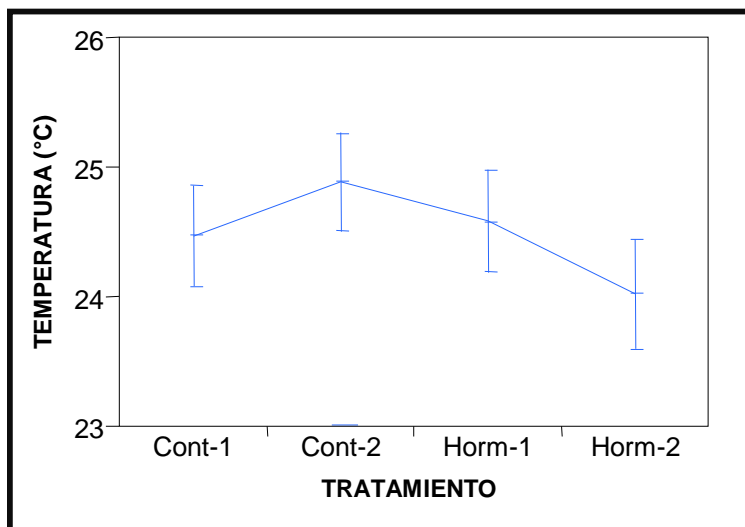
## 8. RESULTADOS

### 8.1. Análisis de la Calidad del Agua

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una vía para cada una de las variables físico-químicas de la calidad del agua. La prueba de ANOVA para la variable temperatura mostró que no existieron diferencias significativas ( $F=0.8105$  y  $p=0.4912$ ) entre tratamientos. Sin embargo, el tratamiento Control 2 presentó la temperatura promedio más elevada ( $24.9\pm 0.4$  °C), posteriormente los tratamientos Hormona 1 ( $24.6\pm 0.4$  °C), Control 1 ( $24.5\pm 0.4$  °C) y Hormona 2 ( $24.0\pm 0.4$  °C) (tabla IV y figura 3).

**Tabla IV.** Valores promedio de la temperatura

Tratamiento	N	Promedio	Error	Límite	Límite
		(°C)	Estándar	Inferior (95%)	Superior (95%)
Cont-1	24	24.5	0.4	23.7	25.3
Cont-2	24	24.9	0.4	24.1	25.7
Horm-1	24	24.6	0.4	23.8	25.4
Horm-2	24	24.0	0.4	23.2	24.8

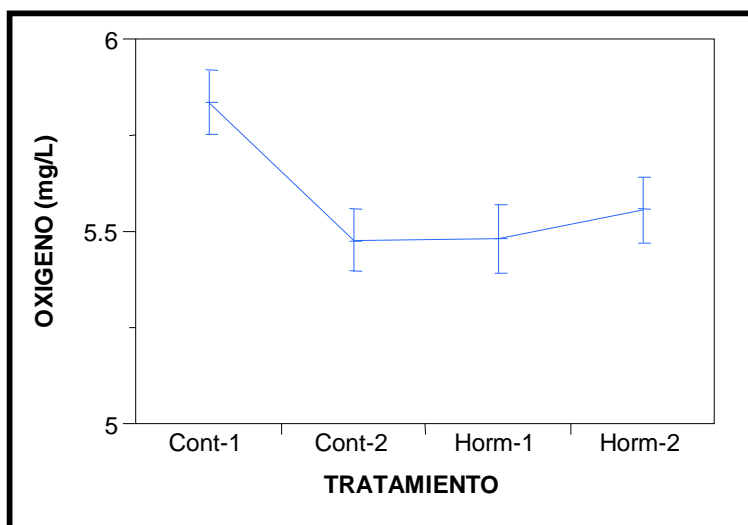


**Figura 3.** Temperatura promedio (°C) de cada tratamiento.

En cuanto al factor oxígeno, la prueba de ANOVA señaló que hubo diferencias significativas ( $F=3.9904$  y  $p=0.0101$ ) en la concentración promedio entre los tratamientos; siendo el tratamiento Control 1 el que presentó la mayor concentración ( $5.8\pm 0.1$  mg/L) y que difirió significativamente de los tratamientos Control 2 y Hormona 1 ( $5.5\pm 0.1$  mg/L) pero no del Hormona 2 ( $5.6\pm 0.1$  mg/L) (tabla V y figura 4). A pesar de haber existido diferencias significativas, la variación máxima en la concentración promedio entre tratamientos fue tan solo de 0.3 mg/L.

**Tabla V.** Valores promedio de la concentración de  $O_2$

Tratamiento	N	Promedio (mg/L)	Error Estándar	Límite Inferior (95%)	Límite Superior (95%)
Cont-1	24	5.8	0.1	5.7	6.0
Cont-2	24	5.5	0.1	5.3	5.6
Horm-1	24	5.5	0.1	5.3	5.7
Horm-2	24	5.6	0.1	5.4	5.7

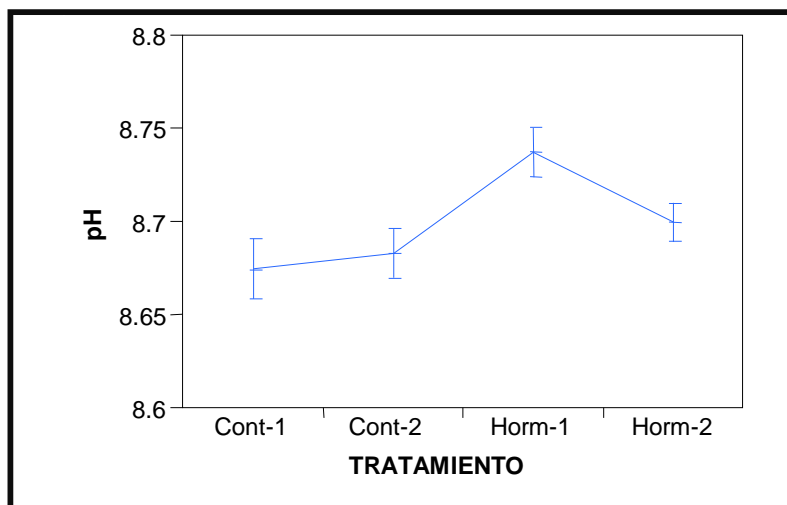


**Figura 4.** Concentración promedio de oxígeno (mg/L) de cada tratamiento.

Por otra parte, la prueba de ANOVA para el pH también indicó diferencias significativas ( $F=4.2988$  y  $p=0.0069$ ) entre los diferentes tratamientos. El tratamiento con el pH más alto fue el Hormona 1 ( $8.74\pm 0.01$ ), que fue significativamente diferente de los tratamientos Control 1 ( $8.68\pm 0.01$ ) y Control 2 ( $8.68\pm 0.01$ ) pero no del tratamiento Hormona 2 ( $8.70\pm 0.01$ ) (tabla VI y figura 5).

**Tabla VI.** Valores promedio del pH

Tratamiento	N	Promedio	Error Estándar	Límite	
				Inferior (95%)	Superior (95%)
Cont-1	24	8.68	0.01	8.65	8.70
Cont-2	24	8.68	0.01	8.66	8.71
Horm-1	24	8.74	0.01	8.71	8.76
Horm-2	24	8.70	0.01	8.67	8.73



**Figura 5.** pH promedio de cada tratamiento.

En la tabla VII se resumen los valores promedio con su error estándar de cada uno de los parámetros físico-químicos de la calidad del agua registrados para cada tratamiento durante el periodo experimental.

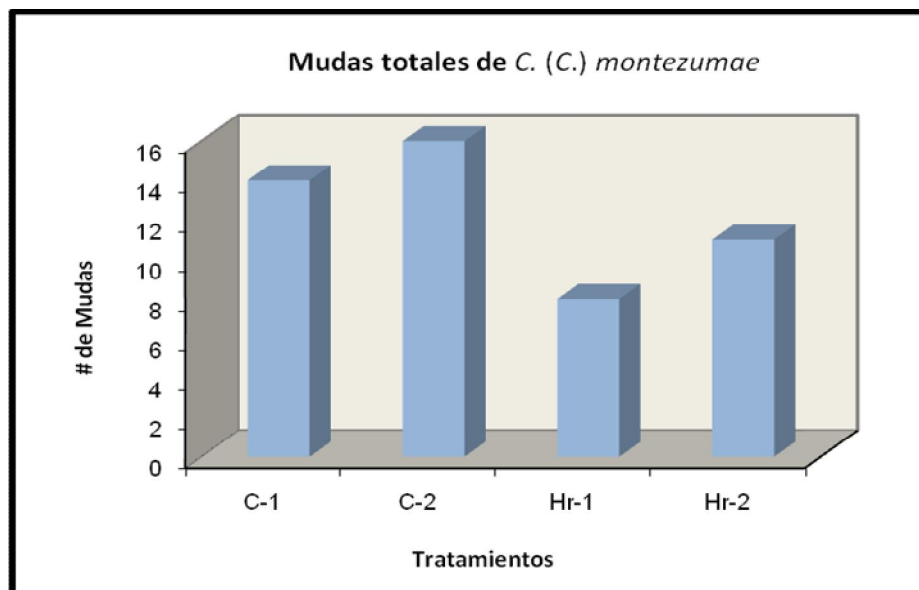
**Tabla VII.** Parámetros de la calidad del agua medidos durante la etapa experimental en los diversos tratamientos ensayados en *C. (C.) montezumae*.

Tratamiento	n	T(°C)	O <sub>2</sub> (mg/L)	pH
Cont-1	24	24.5±0.4 <sup>(a)</sup>	5.8±0.08 <sup>(a)</sup>	8.68±0.01 <sup>(a)</sup>
Cont-2	24	24.9±0.4 <sup>(a)</sup>	5.5±0.08 <sup>(b)</sup>	8.68±0.01 <sup>(a)</sup>
Horm-1	24	24.6±0.4 <sup>(a)</sup>	5.5±0.08 <sup>(b)</sup>	8.74±0.01 <sup>(b)</sup>
Horm-2	24	24.0±0.4 <sup>(a)</sup>	5.6±0.08 <sup>(ab)</sup>	8.70±0.01 <sup>(ab)</sup>

Letras distintas como superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre medias de tratamientos (Media  $\pm$  ES).

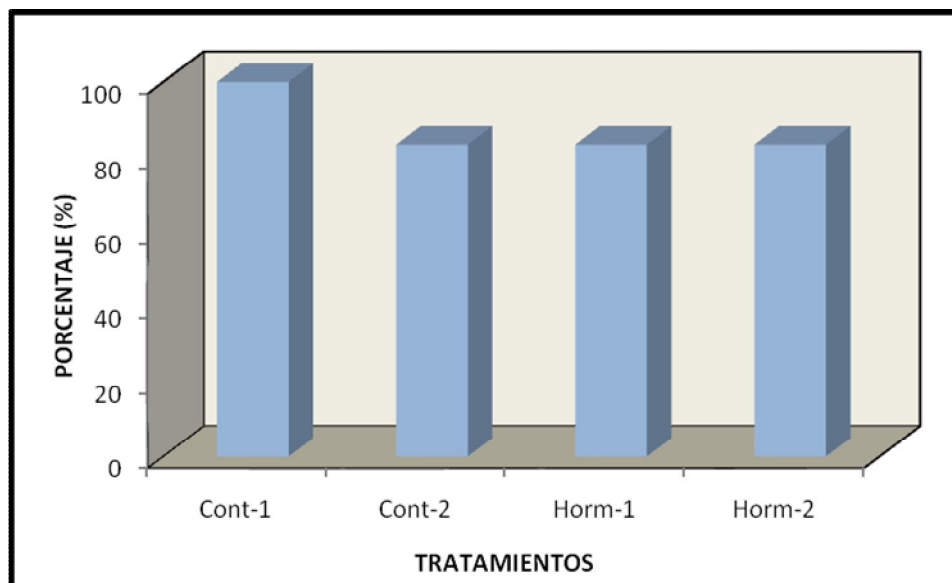
## 8.2. Número de Mudas y Porcentaje de Supervivencia

La prueba de  $X^2$  realizada para evaluar la frecuencia de muda entre tratamientos señaló que no existieron diferencias significativas entre estos. Sin embargo, el tratamiento que presentó el mayor número de mudas fue el Control 2 (16 mudas), seguido por los tratamientos Control 1 (14 mudas), Hormona 2 (11 mudas) y Hormona 1 (8 mudas) (figura 6).



**Figura 6.** Número de mudas de *C. (C.) montezumae* de cada tratamiento.

Por otro lado, la misma prueba estadística fue realizada para el porcentaje de supervivencia; ésta señaló que tampoco hubo diferencias significativas entre tratamientos. A pesar de esto, se observó un porcentaje mayor en el tratamiento Control 1 (100%) con respecto al resto de los tratamientos (83.3%) (figura 7).



**Figura 7.** Porcentaje de supervivencia de *C. (C.) montezumae* de cada tratamiento.

### 8.3. Evaluación del Crecimiento

La prueba de ANOVA para mediciones repetidas que se llevó a cabo para evaluar el crecimiento (peso húmedo), después de un periodo de 60 días, indicó que no existieron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ni entre bloques, así como tampoco en la interacción de los factores de segundo orden Tratamiento X Bloque. A pesar de esto, parece haber una tendencia hacia la significancia ( $F=2.9944$  y  $p=0.0731$ ) entre grupos (tabla VIII). Los animales del tratamiento Control 1 fueron los que presentaron un peso promedio final mayor ( $391.1 \pm 28.7$ mg), posteriormente los de los tratamientos

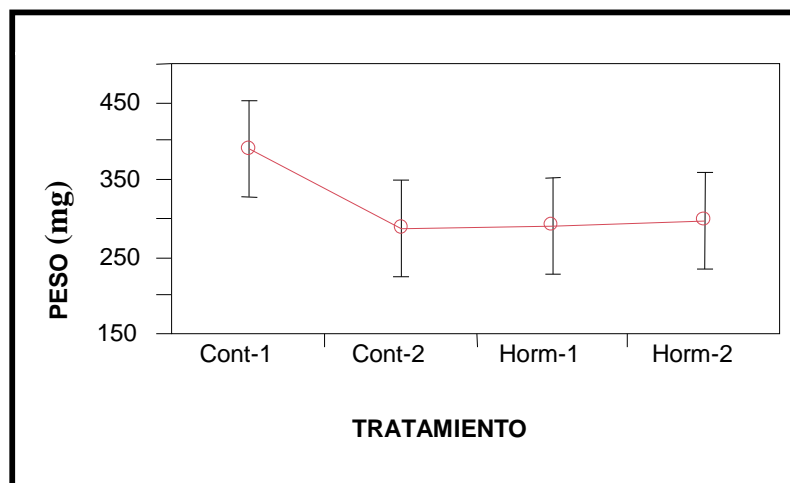
Hormona 2 ( $298.3 \pm 28.7$ mg), Hormona 1 ( $291.7 \pm 28.7$ mg) y finalmente Control 2 ( $288.3 \pm 28.7$ mg) (tabla IX y figura 8).

**Tabla VIII.** ANOVA de mediciones repetidas para el factor peso húmedo (PH)

Fuente de Variación	N	gl	Suma de Cuadrados	F	Valor de (p)
Tratamiento	3	3	44316.667	2.9944	0.0731
Bloque	2	2	1525.000	0.1546	0.8585
Tratamiento*Bloque	6	6	24408.333	0.8246	0.5723

**Tabla IX.** Valores promedio finales del peso húmedo (PH)

Tratamiento	N	Promedio (mg)	Error Estándar
Cont-1	6	391.7	28.7
Cont-2	6	288.3	28.7
Horm-1	6	291.7	28.7
Horm-2	6	298.3	28.7



**Figura 8.** Peso húmedo promedio (mg) de *C. (C.) montezumae* después de 60 días.

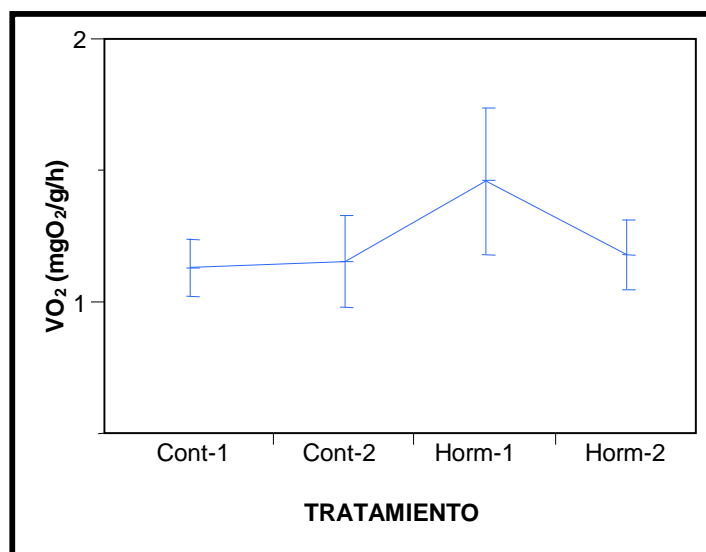


#### 8.4. Tasa Metabólica de Rutina (VO<sub>2</sub>)

Se calculó el consumo promedio de oxígeno por gramo de peso húmedo (VO<sub>2</sub>) por hora (mgO<sub>2</sub>/g/h) para los animales de cada tratamiento. La prueba de ANOVA mostró que no existieron diferencias significativas (F=0.7198 y p=0.5441) entre tratamientos. Sin embargo, los organismos que presentaron una mayor tasa de consumo promedio de oxígeno pertenecen a los grupos tratados con hormonas, Hormona 1 (1.46±0.18mg) y Hormona 2 (1.19±0.18mg), posteriormente los de los tratamientos Control 2 (1.16±0.18mg) y Control 1 (1.14±0.17mg) (tabla X y figura 9).

**Tabla X.** Consumo promedio de oxígeno por gramo de peso húmedo por hora

Tratamiento	N	Promedio	Error	Límite	Límite
		(mgO <sub>2</sub> /g/h)	Estándar	Inferior (95%)	Superior (95%)
Cont-1	18	1.14	0.17	0.80	1.47
Cont-2	15	1.16	0.18	0.79	1.53
Horm-1	15	1.46	0.18	1.10	1.83
Horm-2	15	1.19	0.18	0.82	1.55



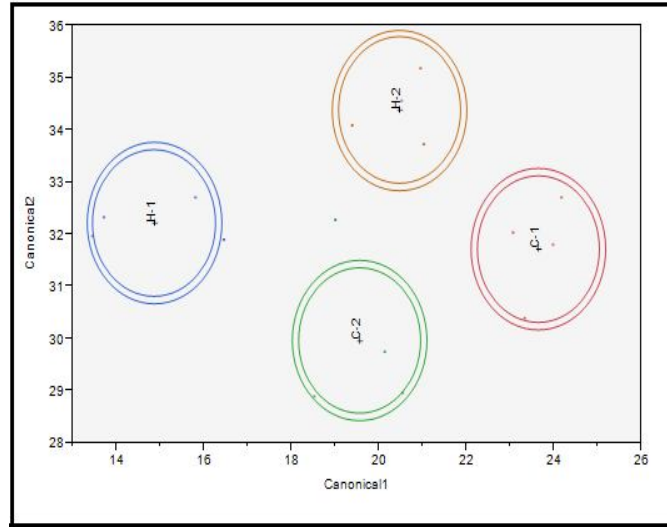
**Figura 9.** Consumo promedio de oxígeno en base húmeda (VO<sub>2</sub>) de *C. (C.) montezumae*.

### 8.5. Análisis Discriminante (Metabolitos)

El análisis multivariante con modalidad discriminante demostró que sí hay una separación entre los diferentes tratamientos gracias al efecto conjunto de las variables dependientes que participaron en el análisis; solamente las variables cantidad de proteínas y glucosa presentaron una tendencia hacia la significancia ( $F=4.054$  y  $p=0.0829$ ) y diferencias significativas ( $F=12.075$  y  $p=0.0099$ ), respectivamente, entre tratamientos (tabla XI y figura 10). En la tabla XII se puede observar que los tratamientos con una mayor cantidad de proteínas son Hormona 1 y Hormona 2, tal cantidad es el doble de aquella de los tratamientos Control 1 y Control 2. En cuanto al nivel de glucosa, el tratamiento con niveles más elevados fue el Hormona 2, seguido por el Control 1, Hormona 1 y Control 2. Cabe señalar que las variables nivel de proteínas y glucosa fueron las que ejercieron un mayor efecto para hacer una discriminación de grupos, ya que al realizar el análisis discriminante únicamente con estas dos variables se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, con valores de “F y p” de 7.734 y 0.0046 y 12.721 y 0.0006 para proteína y glucosa, respectivamente (tabla XIII y figura 11).

**Tabla XI.** Valores de “F y p” de las variables del análisis discriminante

<b>Variable</b>	<b>F</b>	<b>Valor de (p)</b>
PH (mg)	1.961	0.2383457
LT (mm)	3.091	0.1279432
LCT (mm)	1.873	0.2517823
QO <sub>2</sub> Promedio	1.673	0.2865753
Mudas	2.977	0.1354035
mg Prot./g PH	4.054	0.0829981
mg Gluc./g PH	12.075	0.0099736
mg Lip.Tot./g PH	1.595	0.3019435



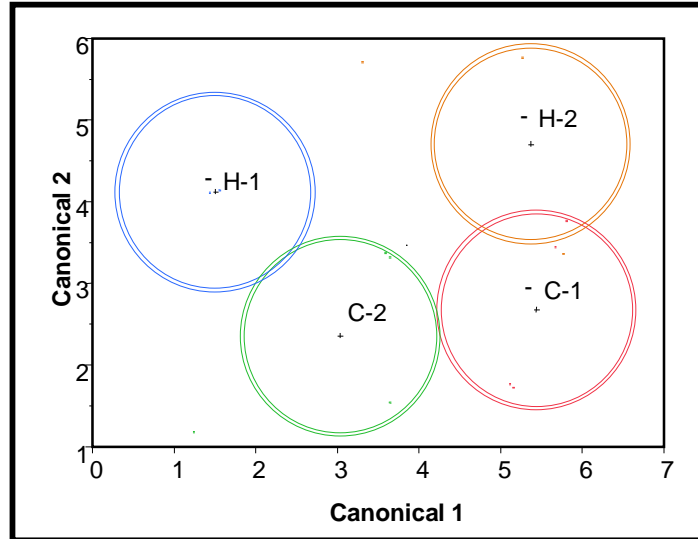
**Figura 10.** Discriminación de grupos (tratamientos) empleando las ocho variables de cada tratamiento.

**Tabla XII.** Valores promedio de las variables que participaron en el análisis discriminante

Tratamiento	N	PH(mg)	LT(mm)	LCT(mm)	QO <sub>2</sub>	Mudas	mg	mg	mg
							Prot./g	Gluc./g	Lip.Tot./g
							PH	PH	PH
Cont-1	4	382.5	24.5	11.4	4.7	2.5	14.2	2.7	18.7
Cont-2	4	282.5	22.7	10.7	5.7	2.5	16.0	1.8	25.9
Horm-1	4	272.5	22.6	10.1	8.6	1.5	35.5	1.9	22.1
Horm-2	4	310.0	23.8	10.9	5.8	2.0	33.4	3.3	25.0

**Tabla XIII.** Valores de “F y p” de las variables niveles de proteínas y glucosa

Variable	F	Valor de (p)
mg Prot./g PH	7.734	0.0046974
mg Gluc./g PH	12.721	0.0006739



**Figura 11.** Discriminación de grupos (tratamientos) empleando las variables concentración de proteína y glucosa.

En la tabla XIV se puede observar el nivel de correlación que existe entre las distintas variables que se emplearon para hacer la discriminación de grupos. Los valores sombreados indican las variables con una relación más elevada que el resto.

**Tabla XIV.** Nivel de correlación entre las variables de los diferentes tratamientos

Variable	PH (mg)	LT (mm)	LCT (mm)	QO <sub>2</sub> Promedio	Mudas	mg Prot./g PH	mg Gluc./g PH	mg Lip.Tot./g PH
PH (mg)	1.0	0.96	0.86	-0.65	0.10	-0.25	-0.24	0.33
LT (mm)	0.96	1.0	0.89	-0.62	0.11	-0.35	-0.32	0.35
LCT (mm)	0.86	0.89	1.0	-0.84	-0.09	-0.27	-0.30	0.34
QO <sub>2</sub> Promedio	-0.65	-0.62	-0.84	1.0	-0.08	0.003	0.09	0.03
Mudas	0.10	0.11	-0.08	-0.08	1.0	0.14	-0.28	-0.37
mg Prot./g PH	-0.25	-0.35	-0.27	0.0	0.14	1.0	0.56	-0.07
mg Gluc./g PH	-0.24	-0.32	-0.30	0.09	-0.28	0.56	1.0	-0.09
mg Lip.Tot./g PH	0.33	0.35	0.34	0.03	-0.37	-0.07	-0.09	1.0

## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 9.1. Calidad del Agua

La importancia que tiene la calidad del agua en la acuicultura se fundamenta en los efectos que cada uno de los parámetros físicos, químicos y biológicos presentes producen sobre los organismos acuáticos (Parejo, 1993), debido a que afectan de un modo u otro el comportamiento, la supervivencia, el crecimiento, la reproducción, los rendimientos por unidad de área y la productividad primaria (Klontz, 1991). Es evidente que para que los organismos de interés manifiesten resultados deseados se debe tener un control adecuado de dichos parámetros, es decir, mantener constantes los valores óptimos.

En acuicultura los parámetros clave que definen la calidad del agua son de naturaleza físico-química y biológica. Entre los de naturaleza físico-química los principales son: la temperatura, el pH, el oxígeno, la salinidad, el amoníaco y la materia en suspensión, existiendo una interrelación entre ellos (Parejo, 1993).

En la presente investigación los parámetros físico-químicos registrados en el agua para cada uno de los tratamientos fueron: la temperatura, el pH y el oxígeno. Un gran número de investigaciones permiten concluir que la temperatura es uno de los principales factores físicos que afectan al metabolismo en general (Petriella y Boschi, 1997). La prueba de ANOVA para el factor temperatura indicó que no existieron diferencias significativas ( $p=0.4912$ ) entre tratamientos. El valor mínimo correspondió al tratamiento Hormona 2 ( $24.0^{\circ}\text{C}$ ) y el máximo al tratamiento Control 2 ( $24.9^{\circ}\text{C}$ ). Maldonado (1990) refiere la resistencia de *Cambarellus* (*Cambarellus*) *montezumae* a temperaturas elevadas, encontrando la temperatura letal a los  $41$  y  $42^{\circ}\text{C}$  y la subletal a los  $33.5^{\circ}\text{C}$  para el verano y  $27^{\circ}\text{C}$  para el invierno. Pérez-Rodríguez y cols. (1998) registraron temperaturas de  $10$  a

25°C en cuerpos de agua donde habita la especie, en tanto que Arredondo-Figueroa y cols. (2011), en condiciones de laboratorio, obtuvieron resultados positivos para su cultivo y producción a temperaturas de 15.9 a 25°C. Los valores promedio de cada tratamiento de la actual investigación se ubican dentro de las temperaturas indicadas por los diferentes investigadores por lo tanto no parece que este factor haya tenido un efecto negativo sobre el mantenimiento de los juveniles durante el periodo experimental.

Con respecto a la concentración de oxígeno disuelto en el agua, considerada por muchos la variable de mayor importancia en la calidad del agua y la cual dependerá en mucho de la temperatura, densidad, alimentación y aireación instalada en el sistema (Hernández *et al.*, 2009), los valores fueron significativamente diferentes ( $p=0.0101$ ) entre tratamientos, el mínimo fue de 5.5 mg/L y el máximo de 5.8 mg/L. Sin embargo, los valores se encuentran dentro de los niveles obtenidos por Pérez-Rodríguez y cols. (1998) y Arredondo-Figueroa y cols. (2011), de 5.0 a 7.5 mg/L y de 4.3 a 6.8 mg/L, respectivamente, quienes señalan estos niveles como aceptables para el cultivo de la especie. Además, Moctezuma (1996) y García (1991) refieren la supervivencia de la especie en condiciones de hipoxia.

Por otro lado, para la mayor parte de los animales acuáticos el valor óptimo de pH, en referencia a su crecimiento y desempeño óptimo, se sitúa en el rango de 6.5 a 9.0. La exposición a un pH extremo puede ser estresante o letal (SAGyPA, 2006). Como se señaló anteriormente, los valores promedio de pH obtenidos mostraron diferencias significativas ( $p=0.0069$ ) entre tratamientos; el máximo fue de 8.74 (Hormona 1) mientras que el mínimo fue de 8.68 (Control 1 y Control 2). Estos valores se encuentran marginalmente por arriba de los señalados por Aguilar (2011) y Arredondo-Figueroa y cols. (2011) pero por debajo de los registrados por Moctezuma (1996). Por lo tanto, esto no parece tener un efecto

negativo sobre el crecimiento, reproducción y sobrevivencia de esta especie (Moctezuma, 1996; Álvarez y Rangel, 2007). Por otra parte, los valores de pH registrados en el hábitat natural de la especie en Xochimilco se ubicaron en 9.3. Holdich y Lowery (1980) consideran que un pH alcalino favorece el endurecimiento de la cutícula de los astácidos.

## **9.2. Muda, Crecimiento y Supervivencia**

La muda y el crecimiento son eventos que están íntimamente ligados dentro del complejo ciclo de la muda. Ambos eventos están regulados tanto por factores endógenos como por factores exógenos (Hopkins *et al.*, 1999); dentro de los primeros se encuentra el control hormonal. Las principales hormonas que participan en la regulación de la muda y el crecimiento son los ecdisteroides y la hormona inhibidora de la muda (MIH). Entre los factores exógenos, la temperatura y el suministro de alimento son quizás los más importantes (Hartnoll, 2001).

En el caso particular de los crustáceos el crecimiento se observa como un proceso discontinuo que ocurre por saltos, ya que el exoesqueleto que recubre el cuerpo de estos animales impide el aumento en talla y peso en forma continua, por lo tanto, el crecimiento ocurre solamente durante la muda (Hartnoll, 2001). Durante el crecimiento todos los tejidos están involucrados, hay una movilización de reservas, aumento en la división celular y síntesis de nuevos tejidos y modificación del comportamiento (Hartnoll, 2001).

Desde hace varios años se han utilizado diferentes sustancias como agentes promotores de la muda y el crecimiento. Los agentes promotores, cuando se administran en pequeñas cantidades en el alimento, aceleran el ciclo de la muda y aumentan el crecimiento reduciendo el periodo de cultivo y los costos de producción de los animales cultivados. Una

gran variedad de sustancias tales como hormonas no esteroides o esteroides naturales y sintéticos, antibióticos, preparaciones de materia vegetal y animal han sido utilizadas para este propósito (Vattheeswaran y Ali, 1986).

Diversas investigaciones en diferentes grupos de artrópodos, insectos y crustáceos, han revelado distintos efectos de las hormonas esteroides en la muda, crecimiento y supervivencia. El Sostanon 250 fue evaluado por López (2004), demostrando un efecto positivo como promotor del crecimiento en juveniles de la tilapia *Oreochromis mossambicus*. En la presente investigación, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al número total de mudas, crecimiento y supervivencia. Los tratamientos que presentaron una mayor cantidad de mudas y un crecimiento más elevado fueron aquellos a los que se les administró alimento no hormonado, en comparación con aquellos alimentados con alimento formulado con hormonas esteroides. Sin embargo, a pesar de no haber existido diferencias significativas entre tratamientos, pudiera ser que las hormonas esteroides suministradas sí tengan un efecto positivo en la inducción de la muda y el incremento del crecimiento en los individuos de la especie *C. (C.) montezumae*, pero en menores dosis tal y como se ha demostrado en diferentes especies de decápodos.

Vattheeswaran y Ali (1986) en juveniles del camarón *Penaeus indicus* evaluaron el efecto de diferentes dietas conteniendo cada una distintos promotores del crecimiento, entre ellos propionato de testosterona (2.5 mg/100 g). Los resultados demostraron que únicamente la dieta que contenía propionato de testosterona produjo un aumento significativamente mayor en crecimiento, talla y peso (base seca), y en el porcentaje de supervivencia (87.5 %) en los animales alimentados con esta dieta con respecto a los otros tratamientos experimentales y el control. También Vogt (2007) investigó el efecto de la 17 $\alpha$ -metil testosterona (1, 10 y



100 µg/L) en embriones y juveniles del acocil jaspeado (*Marmorikrebs*) derivados de huevos expuestos a la hormona esteroide; sus resultados mostraron que la exposición de los huevos a concentraciones elevadas (100 µg/L) de 17α-metil testosterona prolongaron el periodo del desarrollo embrionario, redujeron el crecimiento en los juveniles y el porcentaje de supervivencia (56.7 %), mientras que en concentraciones bajas (1 y 10 µg/L) hubo un periodo de desarrollo reducido, porcentajes de supervivencia elevados (100 y 86.7 % para 1 y 10 µg/L) y un mayor crecimiento.

Por su parte, Antiporda (1986) en juveniles del camarón *Macrobrachium rosenbergii* demostró que la metil testosterona (125 mg/Kg) tuvo efectos positivos en el aumento del crecimiento en peso y longitud aunque no se presentaron diferencias significativas con respecto a las concentraciones más bajas (25 y 75 mg/Kg) y al grupo control. También Baghel y cols. (2004) en juveniles del camarón *M. rosenbergii* obtuvieron un crecimiento ligeramente mayor a una dosis de 100 mg/L de 17α-metil testosterona pero no se encontraron diferencias significativas con el tratamiento control.

La carencia de resultados positivos en el protocolo ensayado para inducir la muda y el crecimiento en *C. (C.) montezumae* puede deberse a múltiples factores. Podría argumentarse que las dosis administradas pueden haber sido muy elevadas, por lo que tuvieron un efecto negativo al interferir en la producción o acción de los ecdisteroides, hormonas esteroides responsables de los procesos de la muda y el crecimiento (Kirkbride-Smith *et al.*, 2001; Mu y LeBlanch, 2002; Vogt, 2007). Asimismo, los resultados obtenidos también podrían deberse a que las proporciones de las hormonas esteroides involucradas en el producto (Sostenon 250), no hubieran sido las apropiadas para desencadenar el efecto

deseado. En este sentido, la fracción de propionato de testosterona en cada dosis empleada fue de: 1.8 y 3.6  $\mu\text{g}$  para los tratamientos Hormona 1 y Hormona 2, respectivamente.

Mu y LeBlanch (2002) observaron un efecto dosis-dependiente de la actividad antiecdisteroidal de la testosterona en células Kc de *Drosophyla*. Sin embargo, cabe la posibilidad de que sea una respuesta debida al estrés químico más que a la perturbación directa de los ecdisteroides o a sus receptores (Kirkbride-Smith *et al.*, 2001). La vía de administración oral de las hormonas esteroides que componen el Sostenon 250 podría ser un método no efectivo para inducir la muda y el crecimiento en la especie, a pesar de haber tenido éxito en la inducción del crecimiento en *O. mossambicus*. Guerrero (1975) encontró que algunas hormonas esteroides son más efectivas cuando se administran a través de inyecciones que a través del alimento, lo que podría ser cierto para los esteroides del Sostenon 250. También existe la posibilidad de que los esteroides empleados no tengan el mismo efecto promotor de la muda y el crecimiento en otros animales tales como los acociles de la especie *C. (C.) montezumae*.

En cuanto al porcentaje de supervivencia, aparentemente no existió un efecto directo de las dosis empleadas sobre esta variable ya que no existieron diferencias significativas entre tratamientos. Además los porcentajes se mantienen cercanos o incluso elevados en comparación con los resultados obtenidos de las investigaciones de Vatheeswaran y Ali (1986), Vogt (2007) y Antiporda (1986) quienes emplearon cantidades más bajas. Aunque no hay que descartar un posible efecto, ya que los decesos podrían deberse a un agotamiento de un metabolismo hepático acelerado (Aktas y Genc, 2011) o al efecto de las hormonas como antiecdisteroides (Baghel *et al.*, 2004). También es importante mencionar que los decesos presentados en los tratamientos Control 2, Hormona 1 y Hormona 2

ocurrieron durante el primer y tercer día de las biometrías, así que es probable que los animales de estos tratamientos hayan muerto debido a un estrés causado por la manipulación (Chen *et al.*, 1994).

### **9.3. Tasa Metabólica de Rutina**

Existen diversos estudios en vertebrados en los que se ha observado, mediante la manipulación de andrógenos a través de la castración o administración de testosterona exógena, el efecto de éstos sobre la inducción de los morfotipos masculinos y sus rasgos conductuales, en la expresión de caracteres sexuales secundarios, la pigmentación de la piel, el aumento de la masa y resistencia muscular y de la actividad motriz. Sin embargo, pocas investigaciones se han enfocado en el efecto sobre la tasa metabólica de los organismos sometidos al tratamiento y todavía menos en invertebrados.

Las mayores capacidades manifestadas por los machos con elevados niveles de testosterona implican costos metabólicos elevados, por lo tanto existe una correlación positiva entre los niveles de testosterona y la tasa metabólica. Al-Sadoon y cols. (1990) observaron, en machos de la lagartija *Chalcides ocellatus* tratados con testosterona, un aumento significativo en el consumo promedio de oxígeno. López (2004) encontró un incremento en el metabolismo respiratorio en juveniles de la tilapia *O. mossambicus* a los cuales se les administró propionato de testosterona. También Ros y cols. (2004), en la misma especie, encontraron una relación entre los niveles plasmáticos de 11-ketotestosterona y la tasa metabólica de rutina. Además, la administración de 11-ketotestosterona elevó la tasa de consumo de oxígeno. En la presente investigación se observó que los acociles de los tratamientos a los cuales se les administró alimento hormonado presentaron un consumo promedio de oxígeno más elevado, respecto a los animales de los tratamientos que

recibieron alimento sin hormonas. Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre tratamientos, lo que podría deberse a que las cámaras de respiración fueron poco adecuadas, debido al espacio, para que los animales de los tratamientos hormonados manifestaran mayor actividad y por lo tanto un consumo de oxígeno más elevado.

#### **9.4. Análisis Discriminante (Metabolitos)**

Los estudios bioquímicos son muy importantes desde el punto de vista nutricional. Los componentes bioquímicos de los animales varían con la estación, talla, sexo, etapa de madurez, disponibilidad de alimento y con la temperatura, entre otros factores (Soundarapandian y Ananthan, 2008). En los crustáceos, el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas está fuertemente influenciado por las hormonas del complejo XO-SG (Hignam y Hill, 1979) que varían con el tiempo y la especie (Vernberg y Vernberg, 1974; Madhyasthan y Rengnekhar, 1979; Soundarapandian, 1996).

Los efectos positivos de los esteroides anabólico-androgénicos, sobre la composición bioquímica en animales endotermos de importancia comercial, han llevado a la investigación de sus posibles beneficios en el cultivo de peces y crustáceos (Gannam y Lovell, 1991). En la presente investigación, la suplementación de la dieta con hormonas esteroides (15 o 30  $\mu\text{g}/0.02\text{ g}$ ) produjo un incremento, con una tendencia hacia la significancia ( $p=0.0829$ ), en el contenido de proteínas en los animales de los tratamientos Hormona 1 (35.5 mg/g PH) y Hormona 2 (33.4 mg/g PH), con respecto a los tratamientos Control 1 (14.2 mg/g PH) y Control 2 (16.0 mg/g PH). Los resultados obtenidos indican que las hormonas esteroides suministradas a través del alimento ejercieron un efecto positivo en la síntesis de proteínas y retención de nitrógeno, esto probablemente a través de la activación de la secreción de hormonas anabólicas endógenas que aceleraron los

procesos anabólicos en los tejidos (Chandge y Paulraj, 1997), y/o actuando directamente sobre genes de células musculares que incrementan la síntesis de proteínas (Lone y Matty, 1980). El aumento en el nivel de proteínas podría indicar su posible utilización durante la maduración de los testículos (Nagabhushanam y Kulkarni, 1981).

En cuanto a los niveles de glucosa, en los que se detectaron diferencias significativas ( $p=0.0099$ ). El tratamiento Hormona 2 fue el que manifestó el mayor valor de glicemia. El incremento en el contenido de glucosa probablemente se deba a su futura utilización como fuente inmediata de energía o como intermediario metabólico para la síntesis de muchos compuestos biológicamente importantes como la quitina del exoesqueleto durante el proceso de la muda, los ácidos nucleicos, ARN y ADN, y los mucopolisacáridos de las secreciones mucosas (Tacon, 1989) o durante la formación de productos gonadales (Nagabhushanam y Kulkarni, 1981). Por otro lado, los niveles de lípidos no mostraron diferencias significativas y fueron muy similares entre tratamientos. Aunque los resultados del presente estudio son expresados en base húmeda (mg/g PH), éstos concuerdan con la tendencia observada en base seca en otras investigaciones, es decir, los valores de proteínas fueron los más altos, seguidos por los de lípidos y finalmente los de glucosa. Vatheeswaran y Ali (1986), en juveniles del camarón *P. indicus*, obtuvieron un aumento en la composición bioquímica con etilestrenol (0.5 mg/100 g) y propionato de testosterona (2.5 mg/100 g); el porcentaje de proteínas, carbohidratos y lípidos, en base seca, fue de 64.0, 2.63 y 15.85%, respectivamente, para el etilestrenol, mientras que para el propionato de testosterona fue del 59.0, 2.87 y 17.84%.

Chandge y Paulraj (1997) observaron que la composición proximal de juveniles *P. indicus* era influenciada por el contenido de colesterol (0.5-4%/100g de alimento), un precursor de las hormonas esteroideas en crustáceos (Kanazawa *et al.*, 1971; New, 1976); estos autores

señalan que la inclusión de colesterol en la dieta incrementó significativamente la acumulación de proteínas, lípidos y colesterol, comparado con la dieta carente de éste. Aunque no se encontraron diferencias significativas entre la composición proximal entre las dietas que contenían colesterol, aquella con un nivel del 0.5% dio los mejores resultados principalmente para proteínas (69%). En cuanto al contenido de lípidos este fue del 11.5% y para carbohidratos del 2%. Así mismo, Jayaprakas y Sambhu (1994) observaron en juveniles de la misma especie que la administración de hCG (gonadotropina coriónica humana) en diferentes dosis (2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 y 15.9 mg) a través de la dieta incrementó los niveles de metabolitos; la dosis de 12.5 mg fue la que mejor incrementó el contenido de proteínas, a 76.23%, mientras que el de lípidos fue del 2.83% y el de carbohidratos del 0.03%.

## 10. CONCLUSIONES

De la presente investigación sobre los efectos que producen las hormonas esteroides que componen el Sostanon 250 en juveniles del acocil *C. (C.) montezumae* se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Las dosis empleadas de hormonas esteroides no ejercieron un efecto promotor en la muda ya que no se observó un mayor número de mudas en los tratamientos experimentales Hormona 1 y Hormona 2. Es probable que hayan tenido un efecto inhibitor de dicho proceso puesto que en los tratamientos Control 1 y Control 2 se obtuvieron la mayor cantidad de mudas.
- Al no existir un efecto promotor de la muda por parte de las hormonas esteroides, en tales dosis, tampoco existió un efecto en el incremento del crecimiento (peso) en los individuos de los tratamientos Hormona 1 y Hormona 2. Además se observó una tendencia a una ganancia de peso mayor en los tratamientos Control.
- Los porcentajes de supervivencia no fueron afectados significativamente por las dosis de hormonas esteroides suministradas. Esto es un resultado positivo dado que en otras investigaciones se ha observado un descenso significativo con el incremento de las dosis.
- La tasa metabólica de rutina fue aumentada, aunque no de manera significativa, por las dosis de hormonas esteroides empleadas en los individuos de los tratamientos experimentales. Este incremento en el gasto energético comprueba el efecto de los esteroides sobre los procesos metabólicos como los observados en otros grupos de animales.

- El contenido de metabolitos (proteínas y glucosa) fue significativamente mayor en los individuos de los tratamientos Hormona 1 y Hormona 2. Estos resultados concuerdan y se relacionan con los resultados del gasto energético más elevado en dichos tratamientos; por lo tanto se deduce que los esteroides ejercen un gasto energético elevado a través de la estimulación de procesos metabólicos, tales como la síntesis de proteínas y carbohidratos.
- A pesar de que *C. (C.) montezumae* ha sido estudiado ampliamente desde diferentes enfoques, aún hace falta mayor investigación dentro del área de estudio tendiente a evaluar los efectos de la administración de esteroides anabólico-androgénicos sobre los procesos de muda, crecimiento, supervivencia, tasa metabólica y reproducción. Conocer los efectos que causan las hormonas esteroides en cada uno de los procesos antes mencionados permitirá contar con estudios con visiones integrales que nos darían la oportunidad de explotar sustentablemente a la especie o con fines de repoblamiento de su hábitat.



## 11. LITERATURA CITADA

- Abdu, U., A. Barki, I. Karplus, Sh. Barel, P. Takac, G. Yehezkel, H. Laufer y A. Sagi. 2001. Physiological effects of methyl farnesoate and pyriproxyfen on wintering female crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture*, 202: 163-175.
- Adiyodi, R. G. 1984. Seasonal changes and the role of eyestalks in the activity of the androgenic gland of the crab, *Paratelphusa hydrodromus* (Herbst). *Comparative Physiology and Ecology*, 9: 427-431.
- Aguilar, E. R. 1991. Crecimiento y producción del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) (Crustacea: Astacidae), empleando alimento vegetal. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 68 pp.
- Aguilar, E. 2011. Efecto de la temperatura en el metabolismo energético y crecimiento de crías de acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure). Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 87 pp.
- Aktas, M. y M. A. Genc. 2011. The effects of 17  $\beta$ -estradiol on growth, survival and feminization of green tiger shrimp, *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10 (5): 562-565.
- Aktas, M. y M. Kumlu. 1999. Gonadal maturation and spawning of *Penaeus semisulcatus* (Penaeidae: Decapoda). *Turkish Journal of Zoology*, 23: 61-66.
- Alonso, A. F. 2007. Reporte final del trabajo profesional en la modalidad de piscicultura; Influencia del fotoperiodo en el proceso de la muda del acocil (*Cambarellus montezumae*). Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México. 89 pp.

- Álvarez, F. y R. Rangel. 2007. Estudio poblacional del acocil *Cambarellus (C.) montezumae* (Crustacea: Decapoda: Cambaridae) en Xochimilco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78: 431-437.
- Al-Sadoon, M. K., A. A. El-Banna, M. M. Ibrahim, N. M. Abdo y K. A. Al-Rasheid. 1990. Effect of Gonadal Steroid Hormones on the Metabolic Rate of the Cold-Acclimated Gonadectomized Male and Female *Chalcides ocellatus* (Forsk.). *General and Comparative Endocrinology*, 80: 345-348.
- Antiporda, J. 1986. Preliminary Studies on the Effects of Methyltestosterone on *Macrobrachium rosenbergii* juveniles. Fisheries and Aquaculture Department. 22 p.
- Arredondo-Figueroa, J. L., A. Vásquez-González, L. G. Núñez-García, I. A. Barriga-Sosa y J. T. Ponce-Palafox. 2011. Aspectos reproductivos del acocil *Cambarellus (Cambarellus) montezumae* (Crustacea: Decápoda: Cambaridae) en condiciones controladas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82: 169-178.
- Arvy, L., G. Echalié y M. Gabe. 1956. Organe Y et gonade chez *Carcinus maenas* L. *Annales des Sciences Naturelles. ser. 11. Zoologie et Biologie Animale*, 18: 263-267.
- Avault Jr, J. W. 1983. Crayfish species plan for the United States. *Freshwater Crayfish*, 5: 528-533.
- Baghel, D., W. Lakra y G. P. Satyanarayana. 2004. Altered sex ratio in giant fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) using hormone bioencapsulated live *Artemia* feed. *Aquaculture Research*, 35: 943-947.
- Barbosa, M. 1998. Aplicación de modelos estadísticos al estudio del crecimiento del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) en condiciones de laboratorio. Tesis de

Especialidad (Especialidad en Estadística Aplicada), Colegio de Ciencias y Humanidades, UNAM. México. 32 pp.

- Böcking, D., C. Dauphin-Villemant y R. Lafont. 1995. Metabolism of 3-dehydroecdysone in the crayfish *Orconectes limosus* (Crustacea: Decapoda). *European Journal of Entomology*, 92: 63-74.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Brockenbrough-Foulks, N. y D. L. Hoffman. 1974. The effects of eyestalk ablation and B-ecdysone on RNA synthesis in the androgenic gland of the protandric shrimp, *Pandalus platycerus* Brandt. *General and Comparative Endocrinology*, 22: 439-447.
- Brody, M. D. y E. S. Chang. 1989. Development and utilization of crustacean long-term primary cell cultures: Ecdysteroid effects in vitro. *Invertebrate Reproduction and Development*, 16: 141-147.
- Brown, F. y G. Jones. 1949. Ovarian inhibition by a sinus-gland principle in the fiddler crab. *The Biological Bulletin*, 96: 228-232.
- Buzoianu, V., M. Garrido, M. Villalobos, I. Alva, A. García, F. García y F. Hernández. 2006. Estudio preliminar de los efectos de los inhibidores de la síntesis de eicosanoides sobre la actividad de fenoloxidasa del acocil (*Cambarellus montezumae*). *Investigación Universitaria Multidisciplinaria*, 5: 1-11.

- Carlisle, B. 1957. On the hormonal inhibition of moulting in decapod Crustacea. The terminal anecdyosis in crabs. *Journal of Marine Biology Association. U.K.* 36, 291-307.
- Civera, R. y L. E. Cruz. 1982. Bioensayo de incubación artificial del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure, 1857) (Decapoda, Astacidae). Informe Final de Servicio Social, UAM-Iztapalapa. México. 85 pp.
- Cornejo, A. R. 1991. Selección térmica del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) (Crustacea: Decapoda: Astacidae) y su correlación con algunos índices fisiológicos. Diferencias estacionales. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. 43 pp.
- Cortés, H. A. 2010. Interacción de depredación entre el ajolote (*Ambystoma mexicanum*) y el acocil (*Cambarellus montezumae*) especies nativas de Xochimilco. Tesis de Maestría, Instituto de Biología, UNAM. México. 56 pp.
- Cronin, L. E. 1947. Anatomy and histology of the male reproductive system of *Callinectes sapidus* Rathbun. *Journal of Morphology*, 81: 209-239.
- Chamberlain, C. W. 1985. Biology and Control of Shrimp Reproduction. En: Texas Shrimp Farming Manual an Update on Current Technology. C. W. Chamberlain, M. G. Haby y R. J. Miget (eds.). P. I. 23. Texas Agricultural Extension Service. Texas A. & M. University System Research and Extension Centre, Corpus Christi, Tx 78410.
- Chang, E. S. 1993. Comparative endocrinology of molting and reproduction: insects and crustaceans. *Annual Review of Entomology*, 38: 161-180.

- Chang, E. S. 1997. Chemistry of crustacean hormones that regulate growth and reproduction. En: *Recent Advances in Marine Biotechnology*, 1, Endocrinology and reproduction. M. Fingerman, R. Nagabhushanam y M. F. Thompson (eds.). Oxford & IBH Publ., New Delhi, p: 163-178.
- Chang, E., S. y E. Mulder. 2001. Hormones in the lives of crustaceans: an overview. *American Zoologist*, 41: 1090-1097.
- Chang, E. S. y J. D. O'Connor. 1978. *In vitro* secretion and hydroxylation of alpha-ecdysone as a function of the crustacean molt cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 36: 151-160.
- Chang, E. S. y W. R. Kaufman. 2005. Endocrinology of Crustacea and Chelicerata. En: *Comprehensive Molecular Insect Science*. L. I. Gilbert, K. Iatrou y S. S. Gill (eds.). Vol. 3. Elsevier B. V., Oxford, p: 805-842.
- Chandge, M. y R. Paulraj. 1997. Cholesterol requirements of juvenile indian white prawn *Penaeus indicus* H. Milne Edwards. *Journal of Aquaculture in Tropics*, 12: 227-237.
- Charmantier, G., M. Charmantier-Daures y F. Van Herp. 1997. Hormonal regulation of growth and reproduction in crustaceans. En: *Recent advances in marine biotechnology*, 1, Endocrinology and reproduction. M. Fingerman, R. Nagabhushanam y M. F. Thompson (eds.). Oxford & IBH Publ., New Delhi, p: 109-161.
- Charniaux-Cotton, H. 1954. Découverte chez un Crustacé Amphipode (*Orchestia gammarella*) glande endocrine responsable de la différenciation de caracteres

sexuels primaires et secondaires mâles. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences des Paris*, 239: 780-782.

- Charniaux-Cotton, H. 1964. Endocrinologie et génétique du sexe chez les Crustacés Supérieurs. *Annales D Endocrinologie*, 25: 36-42.
- Chen, Sh., J. Wu y R. F. Malone. 1994. Effects of temperature on mean molt interval, molting and mortality of red swamp crawfish (*Procambarus clarkii*). *Aquaculture*, 3: 205-217.
- Chen, Y. N., H. F. Fanm, S. L. Hsiehm y C. M. Kuom. 2003. Physiological involment of DA in ovarian development of the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 228: 383-395.
- Choy, S. 1987. Growth and reproduction of eyestalk ablated *Penaeus canaliculatus* (Olivier, 1811) (Crustacea: Penaeidae). *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*, 112: 93-107.
- Dèmeusy, N. 1967. Modalitiés d'action du controle inhibiteur pédonculaire exercé sur les caracteres sexuels externe males du Décapode Brachyoure *Carcinus maenas* L. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences des Paris*, 265: 628-630.
- Emmerson, W. D. 1980. Induced maturation of prawn *Penaeus indicus*. *Marine Ecology-Progress Series*, 2: 121-131.
- Fanjul-Moles, M. L. 2006. Biochemical and functional aspects of crustacean hyperglycemic hormone in decapods crustaceans: review and update. *Comparative Biochemestry and Physiology Part C: Toxicology and Farmacology*, 142: 390-400.

- Durán-Lizarraga, M. E., E. G. Escamilla-Chimal, J. Prieto-Sagredo y M. L. Fanjul-Moles. 2008. Neuropeptides and the circadian clock in crustaceans: review and update. En: Comparative Aspects of Circadian Rhythms. Fanjul-Moles, M. L. y R. Aguilar-Roblero (eds). Kerala, India, 3 (2): 41-73.
- Flores, G. A. 2009. Análisis preliminar de algunos factores físico-químicos indicadores de la calidad del agua en Xochimilco. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 83 pp.
- Ganam, A. y R. Lovell. 1991. Effects of feeding 17 $\alpha$ -methyltestosterone, 11-ketotestosterone, 17 $\beta$ -estradiol, and 3,5,3-triiodothyronine to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 92: 377-388.
- García, O. S. 1991. Efecto de diversas dietas sobre la sobrevivencia y el crecimiento de crías de acocil *Cambarellus montezumae* Saussure (Crustacea: Astacidae). Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 47 pp.
- García, G. M. 2010. Estimación del balance energético del acocil *Cambarellus montezumae* en el Lago de Xochimilco. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 92 pp.
- Guerrero, R. D., III. 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society*, 104 (2): 342-348.
- Gutiérrez, P. y A. Morales. 2000. Ecophysiological races of *Cambarellus* spp. (Cambaridae) in Querétaro, Central México: the beginning of a new species? *Freshwater Crayfish*, 13: 187-197.

- Gupta, N. V. S., K. N. P. Kurup, R. G. Adiyodi y K. G. Adiyodi. 1989. The antagonism between somatic growth and testicular activity during different phases in intermolt (stage C4) in sexually mature freshwater crab, *Paratelphusa hydrodromus*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 16: 195-204.
- Hagedorn, H. 1985. The role of ecdysteroids in reproduction. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Oxford: Pergamon Press, 8: 205-262.
- Hartnoll, R. G. 2001. Growth in Crustacea: twenty years on. *Hidrobiologia*, 449 (1-3): 111-122.
- Hasegawa, Y., E. Hirose y Y. Katakura. 1993. Hormonal control of sexual differentiation and reproduction in Crustacea. *American Zoologist*, 33: 403-411.
- Hernández, C. A., G. Aguirre y D. G. López. 2009. Sistemas de Producción de Acuicultura con Recirculación de Agua para la Región Norte, Noreste y Noroeste de México. *Quinta Época. Año XIII. Vol. 25*: 117-130.
- Hignam, H. y L. Hill. 1979. *The Comparative Endocrinology of the Invertebrates*. Edward Arnold Publishers, London, p: 209.
- Hinsch, G. W. 1981. The mandibular organ of the female spider crab, *Libinia emarginata* (L.) following eyestalk ablation. *Journal of Morphology*, 154: 307-316.
- Hobbs, H. H. Jr. 1989. An illustrated checklist of the American crayfish (Decapoda: Astacoidae: Cambaridae: Parastacidae) *Smithsonian Contributions to Zoology*, 480: 1-236 pp.
- Holdich, D. M. y R. S. Lowery. 1980. *Freshwater crayfish, biology, management and exploitation*. Timber Press. U. K. 480 pp.



- Homola, E., A. Sagi y H. Laufer. 1991. Relationship of claw form and exoskeleton condition to reproductive system size and methyl farnesoate in the male spider crab, *Libinia emarginata*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 20: 219-225.
- Hopkins, P. M., A. C. K. Chung y D. S. Durica. 1999. Limb regeneration in the fiddler crab, *Uca pugilator*: Histological, physiological and molecular considerations. *American Zoology*, 39: 513-526.
- Huberman, A. 2000. Shrimp endocrinology. A review. *Aquaculture*, 191: 191-208.
- Inouye, S. L. y L. R. Guiherme. 2006. Comparison of macro-gravimetric and micro-colorimetric lipid determination methods. *Talanta*, 70 (3): 384-387.
- Jayaprakas, V. y C. Sambhu. 1994. Impact of dietary human chorionic gonadotropin on growth and body composition of the white prawn, *Penaeus indicus* (M. Edwards). *Mahasagar*, 27 (2): 131-138.
- Jegla, T. C. 1990. Evidence for ecdysteroids as molting hormones in Chelicerata, Crustacea and Myriapoda. En: Morphogenetic hormones of Arthropods. A. P. Gupta (ed.). Rutgers University Press, New Brunswick and London, 1 (2): 229-275.
- Jo, Q. T., H. Laufer, W. J. Biggers y H. S. Kang. 1999. Methyl farnesoate induced ovarian maturation in the spider crab, *Libinia emarginata*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 36: 79-85.
- Kalavathy, Y. P., P. Mamatha y P. Reddy. 1999. Methyl farnesoate stimulates testicular growth in the freshwater crab *Oziotelphusa senex senex* Fabricius. *Naturwissenschaften*, 86: 394-395.

- Kanazawa, A., N. Tanaka, S. Teshima y K. Kashiwada. 1971. Nutritional requirements of prawn-II. Requirements for sterols. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 37 (3): 211-215.
- Khalaila, I., R. Manor, S. Weil, Y. Granot, R. Keller y A. Sagi. 2002. The eyestalk-androgenic gland-testis endocrine axis in the crayfish *Cherax quadricarinatus*. *General and Comparative Endocrinology*, 127: 147-156.
- Kirkbride-Smith, A. E., H. A. Bell y J. P. Edwards. 2001. Effects of three vertebrate hormones on the growth, development, and reproduction of the tomato moth, *Lacanobia oleracea* L. (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (8): 1838–1845.
- Klontz, W. G. 1991. “Producción de trucha arcoíris en granjas familiares”, Universidad de Idaho, USA, 88 pp.
- Koolman, J. 1989. "Ecdysone from Chemistry to Mode of Action." Stuttgart: Thieme.
- Kulkarni, G. K., R. Nagabhushanam y P. K. Joshi. 1979. Effect of progesterone on ovarian maturation in a marine penaeid prawn *Parapenaeopsis hardwickii* (Miers, 1878). *Indian Journal of Experimental Biology*, 17: 986-987.
- Kulkarni, G. K., R. Nagabhushanam y P. K. Joshi. 1984. Neuroendocrine control of reproduction in the male penaeid prawn, *Parapenaeopsis hardwickii* (Miers) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Hydrobiologia*, 108: 281-289.
- Lachaise, F. 1990. Synthesis, metabolism, and effects on molting of ecdysteroids in Crustacea, Chelicerata and Myriapoda. En: Morphogenetic hormones of

Arthropods. A. P. Gupta (ed.). Rutgers University Press, New Brunswick and London. 1: 275-323.

- Lachaise, F., A. Le Roux, M. Hubert y R. Lafont. 1993. The moulting gland of crustaceans: localization, activity, and endocrine control (a review). *Journal of Crustacean Biology*, 13: 198-234.
- Lachaise, F. y R. Feyereisen. 1976. Métabolisme de l'ecdysone par divers organes de *Carcinus maenas* L. incubés in vitro. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences des Paris*, 283: 1445-1448.
- Lachaise, F. y R. Lafont. 1984. Ecdysteroid metabolism in a crab: *Carcinus maenas* L. *Steroids*, 43: 243-260.
- Latournerié, J. R., R. J. Cárdenas y Y. Nacif. 2006. Crecimiento, producción y eficiencias de energía de crías de acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) alimentadas con detritus de *Egeria densa*. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 7 (12): 1-11.
- Laufer, H., W. J. Biggers y J. S. B. Ahl. 1998. Stimulation of ovarian maturation in the crayfish *Procambarus clarkii* by methyl farnesoate. *General and Comparative Endocrinology*, 111: 113-118.
- Legrand, J. J. 1955. Role endocrinien de l'ovaire dans la differenciation des oostégites chez les Crustacés Isopodes Terrestres. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences des Paris*, 241: 1083-1087.
- Liu, L. y H. Laufer. 1996. Isolation and characterization of sinus gland neuropeptides with both mandibular organ inhibiting and hyperglycemic effects from the spider

crab *Libinia emarginata*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 32: 375-385.

- Liu, L., H. Laufer, Y. Wang y T. Hayes. 1997. A neurohormone regulating both methyl farnesoate synthesis and glucose metabolism in a crustacean. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 237: 694-701.
- Lone, K. y A. J. Matty. 1980. The effect of feeding methyltestosterone on the growth and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *General and Comparative Endocrinology*, 40 (4); 409-424.
- López, M. R. 2004. Análisis de los efectos del propionato de testosterona sobre la bioenergética de la tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) variedad roja. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM. México, 67 pp.
- Madhyasthan, M. y P. Regnekhar. 1979. Metabolic effects of eyestalk removal in beach crab *Varuna literate*. *Hydrobiology*, 48: 25.
- Maldonado, R. J. 1990. Respuesta del estrés térmico del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure). Comparación de métodos. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 74 pp.
- Makinouchi, S. y J. H. Primavera. 1987. Maturation and spawning of *Penaeus indicus* using different ablation methods. *Aquaculture*, 62: 73-81.
- Matlock, D. B. y E. J. Dornfeld. 1982. The effect of the crustecdysone on DNA synthesis in polyploid somatic cells of an isopod. *Comparative Biochemistry and Physiology, B*, 73: 603-605.

- Mattson, M. P. y E. Spaziani. 1985. Characterization of molt-inhibiting hormone (MIH) action on crustacean Y-organ segments and dispersed cells in culture and a bioassay for MIH activity. *Journal of Experimental Zoology*, 236: 93-101.
- Mazurová, E., K. Hilscherová, R. Triebkorn, H. Köhler, B. Marsálek y L. Bláha. 2008. Endocrine regulation of the reproduction in crustaceans: identification of potential targets for toxicants and environmental contaminants. *Biologia*, 63: 139-150.
- Moctezuma, M. A. 1996. Bases biológicas y técnicas para el cultivo del acocil *Cambarellus montezumae*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad de Colima, Colima. 85 pp.
- Mu, X. y G. A. LeBlanch. 2002. Developmental toxicity of testosterone in the crustacean *Daphnia magna* involves anti-ecdysteroidal activity. *General and Comparative Endocrinology*, 129: 127-133.
- Nacif, Y. 2004. Evaluación del proceso de descomposición aeróbica de la macrofitia *Egeria densa* presente en el hábitat de *Cambarellus montezumae* y su potencial como alimento para esta especie. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 63 pp.
- Nagabhushanam, R. y G. Kulkarni. 1981. Effect of exogenous testosterone on the androgenic gland and testis of a marine penaeid prawn, *Parapenaeopsis hardwickii* (Miers) (Crustacea, Decápoda, Penaeidae). *Aquaculture*, 23: 19-27.
- Nagamine, C., A. W. Knight, A. Maggenti y G. Paxman. 1980a. Effects of androgenic gland ablation on male primary and secondary sexual characteristics in the Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda,

Palaemonidae) with first evidence of induced feminization in a non-hermaphrodite decapod. *General and Comparative Endocrinology*, 41: 423-441.

- Nagamine, C., A. W. Knight, A. Maggenti y G. Paxman. 1980b. Masculinization of a female *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda, Palaemonidae) by androgenic gland implantation. *General and Comparative Endocrinology*, 41: 442-457.
- Nagaraju, G. P. C. 2007. Is methyl farnesoate a crustacean hormone? *Aquaculture*, 272: 39-54.
- Nagaraju, G. P. C. y D. W. Borst. 2008. Methyl farnesoate couples environmental changes to testicular development in the crab *Carcinus maenas*. *Journal of Experimental Biology*, 211: 27-73.
- New, M. B. 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawns. *Aquaculture*, 9: 101-144
- Parejo, C. 1993. Hidrología. En: Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Castelló, F. (ed.). Universitat de Barcelona, España, 599 pp.
- Parnes, S., S. Raviv, A. Shechter y A. Sagi. 2006. Cyclic disposal of old spermatophores, timed by the molt cycle, in a marine shrimp. *Journal of Experimental Biology*, 209: 4974-4983.
- Pérez-Rodríguez, R. A., A. Malpica-Sánchez y F. Arana-Magallón. 1998. Cambáridos de tres embalses del Estado de Tlaxcala, México (Crustacea: Decapoda). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 48: 1-13.

- Petriella, A. M. y E. E. Boschi. 1997. Crecimiento en crustáceos decápodos: resultados de investigaciones realizadas en Argentina. *Investigaciones Marinas de Valparaíso*, 25: 135-157.
- Primavera, J. H. 1985. A Review of Maturation and Reproduction in Closed Thelycum Penaeids. Proceedings of the International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps. Iloilo City, Philippines.
- Quackenbush, L.S., 1991. Regulation of vitellogenesis in penaeid shrimp. En: *Frontiers in Shrimp Research*. DeLoach, P., Dougherty, W.J. y Davidson, M.A. (eds.). Elsevier, Amsterdam, p: 125–140.
- Rangel, R. 2009. Ecología poblacional de *Cambarellus montezumae* en Xochimilco, México, D. F. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, UNAM. México. 72 pp.
- Reddy, P. R., G. P. C. Nagaraju y P. S. Reddy. 2004. Involment of methyl farnesoate in the regulation of molting and reproduction in the freshwater crab *Oziotelphusa senex senex*. *Journal of Crustacean Biology*, 24: 511-515.
- Reidenbach, J. M. 1971. Les mecanismes endocriniens dans le controle de la differenciation du sexe, la physiologie sexuelle et la mue chez le Crustace Isopode marin : *Idotea balthica* (Pallas). Tesis, Université de Nancy. 335 p.
- Rodríguez-Serna, M. y C. Carmona-Osalde. 2002. Balance energético del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) (Crustacea: Astacidae: Cambaridae), pérdida de energía en la tasa metabólica. *Universidad y Ciencia*, 18 (36): 128-134.
- Rojas, Y., F. Álvarez y J. L. Villalobos. 2002. Morphological variation in the crayfish *Cambarellus (Cambarellus) montezumae* (Crustacea: Decapoda:

- Cambaridae). En: Modern approaches to the study of Crustacea. E. Escobar-Briones y F. Álvarez (eds.). Kluwer Academic/Plenum, New York. 311-317 pp.
- Ros, A., K. Becker, B. Canários y R. Oliveira. 2004. Androgen levels and energy metabolism in *Oreochromis mossambicu*. *Journal of Fish Biology*, 65: 895–905.
  - Sagi, A., L. Karp, Y. Milner, D. Cohen, A. M. Kuris y E. S. Chang. 1991. Testicular thymidine incorporation in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*: Molt cycle variation and ecdysteroid effects *in vitro*. *Journal of Experimental Zoology*, 259: 229-237.
  - Sagi, A., E. Homola y H. Laufer. 1993. Distinct reproductive types of male spider crabs, *Libinia emarginata* differ in circulating and synthesizing methyl farnesoate. *Biological Bulletin*, 185: 168-173.
  - Salazar, I. 1999. Estudio sobre el efecto tóxico y genotóxico sobre el acocil *Cambarellus montezumae*. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. México. 50 pp.
  - Sarojini, R., R. Nagabhushanam y M. Fingerman. 1994. 5 Hydroxytryptaminergic control of testes development through the androgenic gland in the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 26: 127-132.
  - SAGPyA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos). 2006. Sistemas de Recirculación en Acuicultura. Argentina. Página en red: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
  - Skinner, D. M. 1985. Moulting and regeneration. En: The Biology of Crustacea, No. 9, Integuments, pigments and hormonal processes. D. E. Bliss y L. H. Mantel (eds.). Academic Press, Orlando. p: 43-146.



- Snyder, M. J. y E. S. Chang. 1991. Ecdysteroids in relation to the molt cycle of the American lobster *Homarus americanus*. I. Hemolymph titers and metabolites. *General and Comparative Endocrinology*, 81: 133-145.
- Sochasky, J. D., D. E. Aiken y N. H. F. Watson. 1972. Y organ, molting gland, and mandibular organ: A problem in decapods Crustacea. *Canadian Journal of Zoology*, 50: 993-997.
- Soundarapandian, P. 1996. Effects of unilateral eyestalk ablation on growth and biochemical composition in the juveniles of the river prawn *Macrobrachium malcolmsonii* (H. Milne Edwards). Ph. D Thesis, Annamalai University, India. 102 pp.
- Soundarapandian, P. y G. Ananthan. 2008. Effect of unilateral eyestalk ablation on the biochemical composition of commercially important juveniles of *Macrobrachium malcolmsonii*. *International Journal of Zoology Research*, 4 (2): 106-112.
- Spaziani, E., M. P. Mattson y P. H. Rudolph. 1994. Regulation of crustacean molt-inhibiting hormone. *Perspectives in Comparative Endocrinology*, 243-250.
- Spaziani, E., K. De Santis, B. D. O. Rourke, W. L. Wang y J. D. Weld. 1997. The clearance *in vivo* and metabolism of 3-dehydroecdysone in tissues of the crab *Cancer antenarius*. *Journal of Experimental Zoology*, 279: 609-619.
- Spindler, K. D. 1989. Hormonal role of ecdysteroids in Crustacea, Chelicerata and other arthropods. En: Ecdysone: from chemistry to mode of action. J. Koolman (ed.). George Thieme Verlag, Stuttgart. p: 290-295.

- Subramoniam, T. 2000. Crustacean ecdysteroids in reproduction and embryogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology, C*, 125: 135-156.
- Tacon, A. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Página en red: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB492S/AB492S00.htm>
- Talavera, E., G. Martínez-Lorenzana, M. León-Olea, M. Sánchez-Álvarez, E. Sánchez-Islas y F. Pellicer. 1995. Histochemical distribution of NADPH-diaphorase in the cerebral ganglion of the crayfish *Cambarellus montezumae*. *Neuroscience Letters*, 187: 177–180.
- Treerattrakool, S., S. Panyim, S. Chang, B Withyachumnarnkul y A. Udomkit. 2008. Molecular characterization of gonad-inhibiting hormone of *Penaeus monodon* and elucidation of its inhibitory role in vitellogenin expression by RNA interference. *FEBS Journal*, 275: 970-980.
- Tsukimura, B. y F. I. Kamemoto. 1991. In vitro stimulation of oocytes presumptive mandibular organ secretions in the shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 92: 59-66.
- Van Beek y De Loof. 1988. Radioimmunological determinations of concentrations of six steroids during the reproductive cycle of female *Artemia sp.* (Crustacea: Anostraca). *Comparative Biochemistry and Physiology, A: Physiology*, 89: 595-599.
- Van Herp, F. y D. Soyez. 1997. Arthropoda-Crustacea. En: *Reproductive Biology of Invertebrates*, vol. III. Adiyodi, R. G., Adiyodi, K. G. y Adams, T. S. (eds.). John Wiley & Sons, New York, p: 247-275.

- Vásquez, G. A. 2009. Aspectos sobre la reproducción y el crecimiento del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure, 1857) en condiciones de laboratorio. Tesis de Maestría en Ciencias Agropecuarias. UAM Xochimilco. México. 95 pp.
- Vatheeswaran, S. y S. A. Ali. 1986. Evaluation of certain substances as growth promoting agents for the prawn *Penaeus indicus*. *Indian Journal of Fisheries*, 33 (1): 95-105.
- Vernberg, F. y W. Vernberg. 1974. Pollution and Physiology of Marine Organism. Academic Press, New York, p: 492.
- Villa-Narciso, A. 2010. Aspectos preliminares de la dinámica poblacional del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) de Xochimilco. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 63 pp.
- Vogt, G. 2002. Biology of Freshwater Crayfish. En: Holdich, D. M. (ed). Blackwell Scientific Publication. Oxford, 53 pp.
- Vogt, G. 2007. Exposure of the eggs to 17 $\alpha$ -methyl testosterone reduced hatching success and growth and elicited teratogenic effects in postembryonic life stages of crayfish. *Aquatic Toxicology*, 85: 291-296.
- Wainwright, G., S. G. Webster, M. C. Wilkinson y J. S. Chung. 1996. Structure and significance of mandibular organ-inhibiting hormone in the crab, *Cancer pagurus*. Involvement in multihormonal regulation of growth and reproduction. *The Journal of Biological Biochemistry*, 271: 12749-12754.
- Yano, I., M. Fingerman y R. Nagabhushanam. 2000. Endocrine control of reproductive maturation in penaeid shrimp. En: Recent Advances in Marine

Biotechnology: Aquaculture, Part A: Seaweeds and Invertebrates. M. Fingerman y  
R. Nagabhushanam (eds.). Enfield, NH: Science Publishers, p: 161-176.