

53
24

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**CARACTERIZACION DEL ESTADO
REPRODUCTIVO DE UNA POBLACION DE
MACHOS DE *Panaeus setiferus* Y EL TIEMPO DE
REGENERACION DEL ESPERMATOFORO EN
ORGANISMOS MANTENIDOS EN CAUTEVERIO.**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A
MONICA FAJER FLORES

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D.F.

1992



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 está 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.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
AREA DE ESTUDIO	5
MATERIAL Y METODOS	
Muestreo de la población: características morfofisiológicas	7
Determinación del estadio de muda	9
Calidad y Conteo de los espermatozoides	11
Regeneración del espermatóforo	14
Análisis estadístico	17
RESULTADOS	
Relaciones morfofisiológicas	18
Indices gonadosomáticos y talla mínima de madurez sexual	22
Estadios de muda e índices gonadosomáticos	27
Calidad espermática	32
Regeneración del espermatóforo	35
DISCUSION	39
CONCLUSIONES	45
BIBLIOGRAFIA	46
APENDICE	51

RESUMEN

El presente estudio se enfocó a caracterizar el estado reproductivo de una población de machos adultos de *Penaeus setiferus* y el tiempo de regeneración del espermátforo en organismos mantenidos en cautiverio. Se llevó a cabo en Tamiahua, Ver. y los organismos se obtuvieron de la plataforma adyacente a la Laguna de Tamiahua y de la laguna misma. Se caracterizó morfométrica y fisiológicamente a la población.

El índice gonadosomático se utilizó como un indicador de la condición reproductiva y se determinó que en la relación de éste con el peso y el largo total; el peso se encuentra mejor relacionado y es mejor indicador de ésta condición. Se mostró un traslape de los organismos maduros e inmaduros entre los índices gonadosomáticos de 0.178 a 1.28 % correspondiendo a camarones de 17.4 a 22.19 g de peso corporal húmedo.

La talla mínima en la que un organismo es maduro sexualmente se definió a partir de los 23 g de peso corporal y los 16 cm. de longitud total.

Otro indicador utilizado fue el estadio de muda de la población, se encontró el 57 % en post-muda, el 20% en intermuda y el 23.% en pre-muda. Al relacionar los estadios de muda con el índice gonadosomático se encontró que los valores de índices gonadosomáticos más altos corresponden a la post-muda temprana y los más bajos a la pre-muda temprana.

Así mismo, se determinó la calidad reproductiva de los machos por medio de la evaluación de la cantidad de espermatozoides por espermátforo y la relación entre células normales/anormales y vivas/muertas. El número promedio de espermatozoides fue de $3.20 \times 10^6 \pm 0.34 \times 10^6$ en organismos con una longitud promedio de cefalotórax de 3.35 ± 0.03 cm. La relación del número de espermatozoides es mejor con el peso que con el largo del cefalotorax. La viabilidad y el porcentaje de anomalías encontrados fueron del 99.97% y 2.23% respectivamente.

El tiempo de regeneración del espermátforo en machos estimulados eléctricamente fue variable y se propone desde las 24 horas después de la expulsión del mismo.

Cabe señalar que el método de estimulación eléctrica utilizado en este estudio no fue el óptimo para especies con una anatomía reproductiva tan compleja como la de *P. setiferus*.

INTRODUCCION

Actualmente el cultivo de los crustáceos decápodos progresa en forma acelerada ya que continuamente se implementan nuevas técnicas de cultivo. En México, los crustáceos, tienen una gran importancia comercial. Son uno de los principales constituyentes de la producción que trae ingresos vía exportación por su amplia aceptación y su elevado precio en el mercado internacional. En 1987, el camarón ocupó el primer lugar en volúmen de captura, con 33,974 tons. de peso vivo, después de la jaiba con 7,999 tons. y el langostino con 3,224 tons., tanto en el litoral del Pacífico como en el Golfo y Caribe (SEPESCA, 1987). La producción de camarón en México, por acuicultura, alcanzó 5000 toneladas en 1991 tanto en sistemas extensivos, semiintensivos e intensivos (Rosenberry, 1991).

Dentro del grupo Dendrobranchiata se encuentran los camarones peneidos, (*Penaeus* spp), donde cuando menos 17 especies de este género se han reproducido en cautiverio a pesar de que las técnicas en reproducción y maduración no estén completamente desarrolladas (Sandifer *et al.*, 1984).

A este grupo corresponde el camarón blanco, *Penaeus setiferus*, con importancia comercial y potencial reproductivo, lo que ha provocado un mayor interés en su cultivo (Leung-Trujillo y Lawrence, 1987). Aunque uno de los mayores problemas en su cultivo ha sido lo referente al control de la reproducción en cautiverio (Beard y Wickins, 1980).

P. setiferus es una especie nativa del Golfo de México, al igual que *P. aztecus*, pero presenta un mayor crecimiento en menor tiempo en estanques para cultivo (Parker y Holcomb, 1973). Esta especie es de climas templados donde la diferencia de las estaciones es muy marcada, lo que puede condicionar de alguna manera el proceso de la reproducción (Brown *et al.*, 1979).

P. setiferus, al igual que otras especies de peneidos, ha sido ampliamente estudiada en sus aspectos biológicos, morfológicos y fisiológicos (Burkenroad, 1934; King, 1948; Anderson *et al.*, 1949; Pérez-Farfante, 1970); sin embargo son pocos los estudios reproductivos que se han llevado a cabo.

Con respecto a la maduración y reproducción el enfoque ha sido principalmente hacia hembras con énfasis en la ablación peduncular (Caillouet, 1973; Santiago, 1977; Brown *et al.*, 1979; Chamberlain y Lawrence, 1981a); calidad del huevo (Primavera y Posadas, 1981); inseminación artificial (Bray *et al.*, 1982); existiendo poca información sobre la biología reproductiva de los machos. (Ver apéndice)

Chamberlain y Lawrence (1981b) establecieron que las capacidades reproductivas del macho pueden ser un factor limitante en el cultivo. Así mismo, Chamberlain y Gervais (1984) y Leung-Trujillo y Lawrence (1987) indican que los problemas reproductivos del macho son también responsables del limitado éxito que se puede obtener de la reproducción en cautiverio con varias especies de peneidos.

Algunos de los problemas reproductivos que se presentan en los machos es la pérdida del espermatóforo, ya sea en camarones obtenidos del medio cómo en los cultivados en condiciones controladas. Esto sucede en aquéllos camarones que presentan los télica abiertos como es en *P. setiferus*, *P. vannamei* y *P. stylirostris*. Otro gran problema es la dificultad del camarón para copular en cautiverio (Sandifer *et al.*, 1984).

Existen diversos factores que pueden explicar la dificultad para que la cópula, en cautiverio, se lleve a cabo como es el tamaño inadecuado del tanque de reproducción (Primavera, 1980), infecciones bacterianas de *Vibrio sp.* en las ámpulas terminales y espermatóforos dentro de éstas (Leung-Trujillo y Lawrence, 1987, Brown *et al.*, 1980) ó condiciones inapropiadas del medio (Brown *et al.*, 1979).

Ante estos problemas se ha propuesto la práctica de la inseminación artificial por medio de la extrusión del espermatóforo, ya sea por medios manuales (Persyn, 1977) o por medio de la estimulación eléctrica (Sandifer y Lynn, 1980); método con el cual el animal es menos dañado y no se produce la esterilidad del mismo según Chamberlain *et al.* (1983).

La inseminación artificial es un método empleado cada día con mayor frecuencia, por lo que es necesaria la realización de más estudios enfocados a determinar la calidad de los espermatozoides y más aún, por la importante relación entre las condiciones reproductivas del macho y la producción acuícola.

Se han realizado algunas investigaciones sobre la degeneración del espermatóforo y disminución en la calidad de los espermatozoides cuando los animales son mantenidos en cautiverio (Leung-Trujillo y Lawrence, 1987; Talbot *et al.*, 1989). Se ha observado en *P. setiferus* que, bajo condiciones de cautiverio, se da una melanización o enegrecimiento del espermatóforo asociada a una infección bacteriana (*Vibrio sp.*) (Brown *et al.*, 1979). Chamberlain *et al.* (1983) aclaran que la melanización es una enfermedad gonadal que disminuye la capacidad reproductiva de los machos, la cual ha sido reportada para *P. setiferus*, *P. vannamei* y *P. stylirostris*.

Otro estudio relacionado se realizó con *P. vannamei* para medir el efecto de la ablación peduncular en el espermatóforo y en la calidad de los espermatozoides (Leung-Trujillo y Lawrence, 1985).

Como puede observarse los trabajos sobre maduración y condición del aparato reproductor en *P. setiferus* son considerablemente recientes y limitados, por lo cual es necesaria la investigación y el desarrollo de otros estudios.

Por ésto es importante conocer cuál es el tiempo de regeneración del espermatóforo para esta especie. De esta manera se podrá determinar con mayor precisión el momento indicado para realizar la extrusión del espermatóforo, asegurando que los espermatozoides que se encuentren sean de buena calidad.

Considerando la importancia que tiene un conocimiento más fino de la biología reproductiva de una especie económicamente importante como es *Penaeus setiferus*, el presente estudio se enfocó a caracterizar a la población natural de machos de *P. setiferus* del noroeste de la plataforma adyacente a la Laguna de Tamiahua, Veracruz. Se tomó en cuenta los indicadores morfofisiológicos y el estadio de muda y su relación con el estado reproductivo de los mismos. Se determinó el tiempo de regeneración del espermatóforo en cautiverio, y la efectividad del método de estimulación eléctrica para la obtención de estos, con organismos extraídos de la laguna.

AREA DE ESTUDIO

La Laguna de Tamiahua se localiza en la zona norte del Estado de Veracruz entre los ríos Pánuco al Norte y Tuxpan al Sur comunicándose con el mar, al Sur, por la Boca de Corazones y al Norte por la Boca Tampachichi, ésta última de origen artificial. Se encuentra en la porción media occidental de las costas del Golfo de México en los $21^{\circ} 06'$ a $22^{\circ} 06'$ de latitud Norte y en los $97^{\circ} 23'$ a $97^{\circ} 46'$ de longitud Oeste con una orientación NW a SSE paralela a la línea de costa (Villalobos *et al.*, 1976) (Fig. 1).

Por su ubicación y condiciones topográficas el clima que se presenta en la zona corresponde, según la clasificación de Köpen modificada por García (1981), al tipo Aw (Tropical de Sabana).

El clima de la zona es subhúmedo con lluvias en verano y seco en el invierno. Este se ve modificado por las fuertes tormentas o " Nortes " que se presentan con fuertes vientos de esa misma dirección, durante el invierno. A diferencia del verano que prevalecen vientos del Sureste. Estos vientos son importantes en la mezcla de las aguas que determinan la salinidad de la misma (Ayala-Castañares *et al.*, 1969).

En cuanto a la salinidad, ésta varía considerablemente según los cambios en las descargas de los ríos. De tal manera se distinguen dos facies, una ultrahalina (mayor de $30^{\circ}/\text{oo}$) en la porción sur de la laguna, influenciada por la penetración de las mareas a través de la Boca de Corazones. La otra facie polihalina, entre los 16 y $30^{\circ}/\text{oo}$, distribuida en el resto de la laguna (Ayala Castañares, *et al.*; 1969.).

La precipitación pluvial anual es de 750 mm., dándose una evaporación moderada la cual aumenta en el invierno. La temperatura media anual es de 25°C .

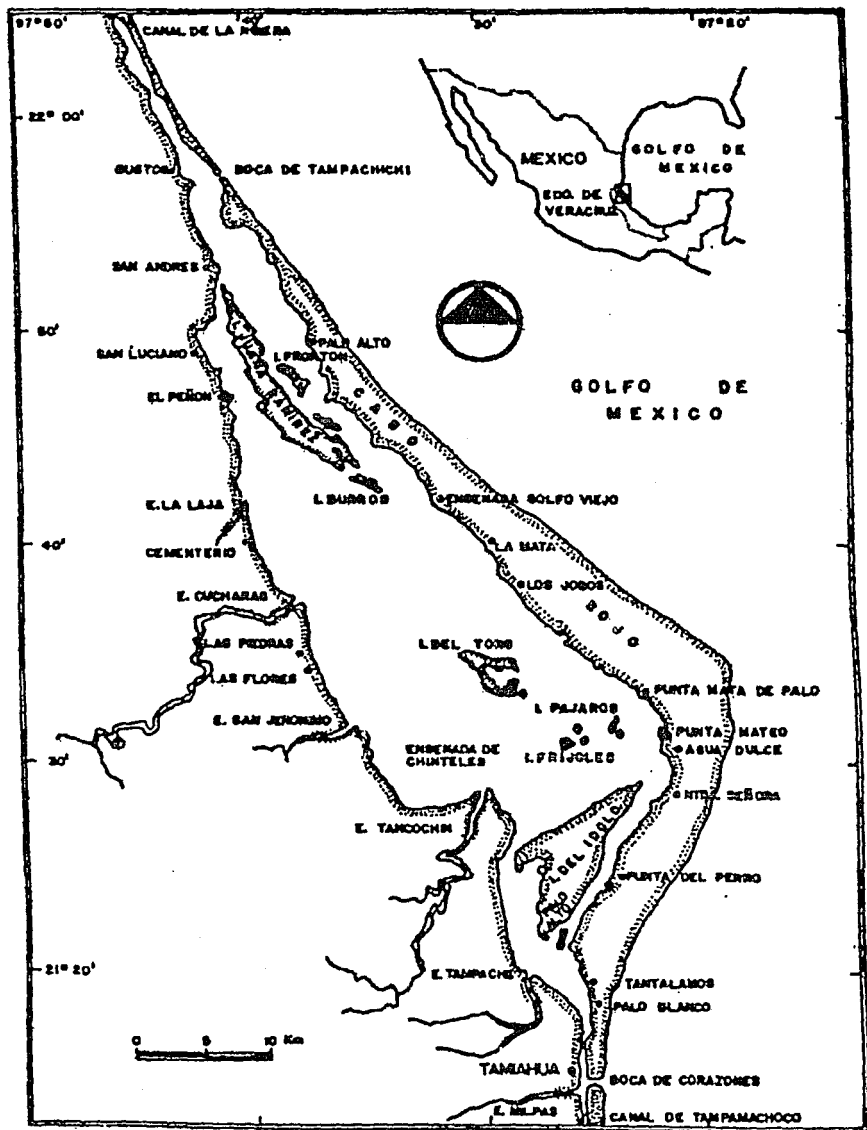


Fig. 1. Area de estudio

MATERIAL Y METODOS

MUESTREO DE LA POBLACION: Características morfofisiológicas

Para la realización del muestreo de machos de la población de pre-adultos y adultos de *P. setiferus*, los organismos fueron colectados directamente en los lugares de descarga de los pescadores.

Se tomaron 90 machos (adultos y pre-adultos) con los cuales se determinó el peso corporal (PC) ($\pm 0.01g$), que en todos los casos fue peso húmedo. La longitud total (LT), considerada desde la punta del rostrum a la punta del télson y la longitud del cefalotórax (LC) medida del borde postorbital al borde posterior del cefalotórax. Estas medidas se tomaron como características básicas de la especie. Estos parámetros fueron tomados como indicadores morfométricos y se relacionaron posteriormente con los indicadores fisiológicos como el peso de la gónada y el estadio de muda (Fig.2)

Para obtener el aparato reproductor completo fue necesario hacer la disección retirando el cefalotórax con la piel, músculo y órganos del rededor, cuidando de no cortar la parte media de los conductos deferentes. La disección se realizó abriendo desde la porción anterior del hepatopáncreas en dirección a la región posterior, hasta el quinto pereiópodo donde se encuentra el ámpula terminal.

Una vez obtenidos los testículos, conductos deferentes, ámpulas terminales y espermatóforos completos se pesaron en una balanza analítica ($\pm 0.001 g$). El peso gonadal total se utilizó para obtener el Índice Gonadosomático (I.G.), el cual se calculó de la siguiente manera:

$$I.G. = \frac{\text{Peso total de la gonada}}{\text{Peso corporal total}} \times 100$$

Este índice se utilizó para determinar la madurez sexual y condición reproductiva de los camarones. Posteriormente se relacionó con la calidad de los espermatozoides.

Se identificaron a los camarones maduros como aquéllos que presentaron el espermatóforo en los conductos deferentes o en el ámpula terminal.

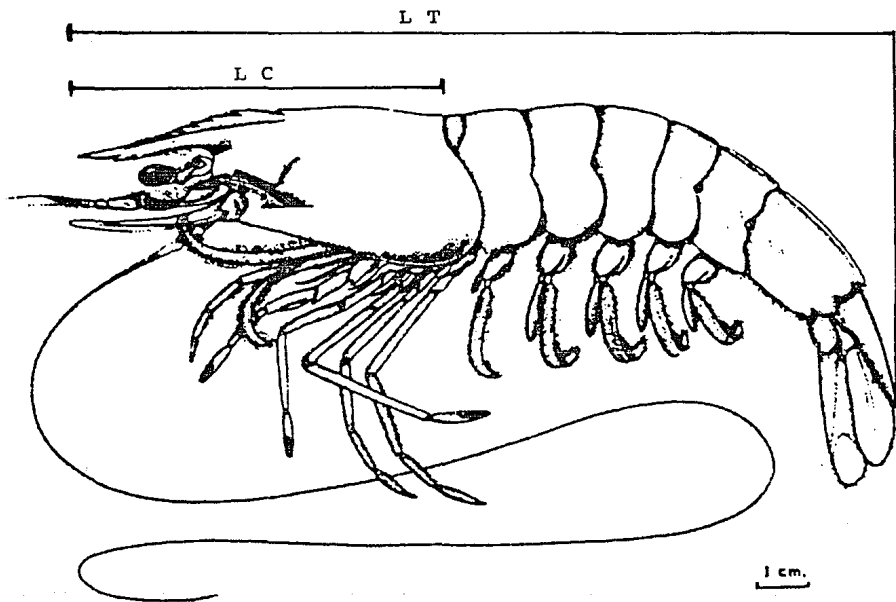


Fig.2 Esquema que muestra las medidas morfométricas realizadas en los machos adultos y pre-adultos de Penaeus setiferus
LT - longitud total LC - largo del cefalotórax

DETERMINACION DEL ESTADIO DE MUDA:

Para determinar el estadio de muda se utilizó el método de Robertson *et al.* (1987) el cuál se basa en la setogénesis y apólisis de los urópodos.

Los caracteres utilizados para la determinación del estadio de muda fueron:

- 1.- El grado de retracción epidermal de las bases setales tomando en cuenta la ausencia o presencia de la matriz celular en éstas, y
- 2.-La retracción epidermal de la cutícula junto con el desarrollo de las nuevas setas.

De esta manera se definieron los 5 siguientes estadios de muda:

ESTADIO I ó POST-MUDA TEMPRANA: cuando el organismo está recién mudado, por lo tanto menos quitinizado, y la matriz celular llena completamente las bases setales.

ESTADIO II ó POST-MUDA TARDIA: donde se da una retracción de la matriz celular observándose un espacio entre las bases setales y esta retracción.

ESTADIO III ó INTERMUDA: en que la matriz celular está totalmente ausente de las bases setales y el pigmento forma una especie de línea en la base de los nódulos setales.

ESTADIO IV ó PRE-MUDA TEMPRANA: que comienza cuando el pigmento se aleja completamente de las bases de los nódulos setales, dejando la vieja cutícula.

ESTADIO V ó PRE-MUDA TARDIA: donde la retracción del pigmento es tal que permite observar el desarrollo de las nuevas setas.

Debido a que es importante que se observe siempre en la misma zona del urópodo, las observaciones se realizaron en la porción distal derecha del segundo urópodo (Fig.3).

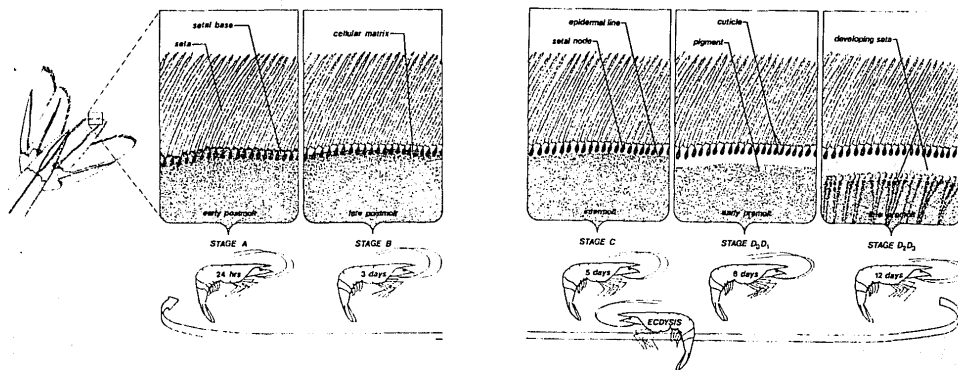


Fig.3 Estadios del ciclo de muda identificados por la sucesión de cambios ocurridos en la base setal de los urópodos de machos adultos y pre-adultos de Penaeus setiferus.

CALIDAD Y CONTEO DE LOS ESPERMATOZOIDES

Para la evaluación de la calidad y cantidad de los espermatozoides, se realizaron observaciones del contenido de 40 espermátóforos de machos maduros de *P. setiferus*.

La colecta de los organismos se llevó a cabo en la plataforma continental adyacente a la laguna de Tamiahua, a una profundidad de 6 brazas aproximadamente; utilizando el arte de pesca local (Trasmallos) (Fig.4). Se realizó durante los meses de febrero, marzo y abril de 1991, registrándose una temperatura promedio de 21 °C y una salinidad promedio de 30.5 ‰.

Se utilizó el largo del cefalotórax como un parámetro morfométrico y donde fue posible se usó también el peso corporal (g).

Los espermátóforos se obtuvieron manualmente oprimiendo en la base del quinto par de pereiópodos donde se encuentran las ámpulas terminales que los contienen. Este procedimiento se llevó a cabo con organismos recién capturados y que no tenían más de dos horas de muertos (Ramos, com.per.)

El espermátóforo se colocó en una solución salina libre de Ca^{++} (Tabla 1), (Leung-Trujillo y Lawrence, 1987), la cual permitió que los espermatozoides se mantuvieran vivos un tiempo máximo de 4 horas.

Para realizar el conteo, el espermátóforo completo se homogenizó en un mortero con 0.9 ml. de solución salina al cual se le añadió 0.1 ml. de solución stock de Azul tripano al 1.0% (Leung-Trujillo y Lawrence, 1987).

Esta suspensión de espermatozoides se dejó reposar por un lapso no mayor de 10 minutos. Así, los espermatozoides muertos se identificaron como aquellas células que se tiñeron después de dicho tiempo. Con base en esto se determinó el porcentaje de células vivas en el organismo.

El conteo de espermatozoides se realizó en una cámara de Neubauer. Se contaron cinco cuadros al azar, dentro de la cuadrícula central de 0.2 X 0.2 mm., ya que son células menores de 8 micras. Esto se realizó por duplicado.

Para obtener el número de células por espermátforo fue necesario obtener primero el número de células por mililitro (Sigma,1990):

$$\text{Células/ml} = X \cdot F \cdot \text{FD} \cdot 10^4$$

donde: X = promedio de células contadas, F = factor de multiplicación que depende del número de cuadros contados, FD = factor de dilución y por 10^4 para expresar los datos en mililitros.

Finalmente se multiplicó por el volúmen original de la muestra obteniéndose así el número de espermatozoides por espermátforo.

Los parámetros para determinar la cáalidad de los espermatozoides fueron:

1) GRADO DE NORMALIDAD (%)

El cuál representa el porcentaje de células normales y anormales por espermátforo. Para ésto, las células normales fueron caracterizadas como aquellos espermatozoides con la cabeza en forma ovalada, más ancha en la region anterior y con una sola cola corta y recta. Las células anormales fueron reconocidas como aquéllas que presentaron alguna modificación en su estructura como la ausencia de cola, colas torcidas o dobles o cabezas con malformaciones (Leung-Trujillo y Lawrence, 1987).

2) PORCENTAJE DE ESPERMATOZOIDES VIVOS (%)

$$\% \text{ de espermas vivos} = \frac{\text{No. de células vivas}}{\text{Número total de células}} \times 100$$

TABLA 1. COMPOSICION DE LA SOLUCION SALINA LIBRE DE Ca^{++}
UTILIZADA PARA LA PRESERVACION DE LOS ESPERMATOFOROS DE *Penaeus setiferus*.

COMPONENTE	CANTIDAD (g)
NaCl	21.63
KCl	1.12
H_3BO_3	0.53
NaOH	0.19
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.93

pH ajustado a 7.4 con HCl 1 N para un litro de solución.

REGENERACION DEL ESPERMATOFORO

Para la realización de estos experimentos la captura de los organismos adultos se realizó durante el mes de junio de 1991 en la Laguna de Tamiahua, en la zona de Naranjales (Fig.4)

Se seleccionaron 43 machos maduros sexualmente (25.78 ± 0.96 g) los cuales fueron transportados al laboratorio en bolsas de plástico saturadas de oxígeno.

En el laboratorio, los animales se colocaron en un estanque de reserva de 2600 lts. de color azul claro, de 6 m^2 de superficie por 40 cm de profundidad. Se mantuvieron en este estanque por dos días para su aclimatación y a una densidad de 4 organismos por metro cuadrado.

Con el fin de mantener la calidad del agua adecuada se hicieron recambios diarios del 50% del volúmen total del estanque.

Los parámetros fisicoquímicos del agua fueron medidos cotidianamente a diferentes horas del día. Se registró una temperatura promedio de $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (oscilando entre 25 y $31 \text{ }^{\circ}\text{C}$). La salinidad promedio fue de $31 \text{ }^{\circ}/\text{OO}$. El oxígeno máximo fue de 7.7 mg/ml y el mínimo de 5.5 mg/ml. El pH osciló entre 7.5 y 7.9.

Los organismos fueron alimentados con calamar (*Loligo sp.*) dos veces al día a razón de un 15% del peso corporal promedio (25.78 g) tanto en el período de aclimatación como en el de experimentación.

Una vez aclimatados se les extrajo el espermatóforo a todos los camarones del estanque. Para la extracción se utilizó un estimulador eléctrico, similar al empleado por Sandifer *et al.* (1984). Los electrodos se colocaron en la base del quinto par de pereiópodos aplicándose un voltaje de 4.5 V por lapsos cortos, menores de 1 segundo. El estímulo eléctrico causa una contracción muscular en el tejido que rodea el ámpula terminal provocando la expulsión del espermatóforo.

La estimulación eléctrica provocó tres tipos de reacción en los organismos:

- 1.- Expulsión completa del espermatóforo.
- 2.- Expulsión parcial del mismo, ya sea de un ámpula o de otra. En estos casos fue necesaria la utilización de pinzas para obtener completo el espermatóforo (las dos mitades).
- 3.- No expulsión del espermatóforo.

Los espermatóforos se colocaron en solución salina y a baja temperatura (6 °C) para mantener vivos los espermatozoides. Se realizó el conteo de los espermatozoides de cada uno de los espermatóforos.

Al término de la estimulación eléctrica (sobrevivencia del 66%) los organismos fueron colocados en el estanque y a partir de ese momento empezó a tomarse el tiempo de regeneración del espermatóforo y la sobrevivencia.

Se realizaron disecciones cada 24 horas y a lo largo de 96 horas, para observar el proceso de regeneración, con un total de 19 organismos. Se obtuvo el aparato reproductor completo y se observaron las condiciones del mismo.

Las características utilizadas para evaluar la regeneración del espermatóforo fueron las siguientes:

- 1.- Apariencia general del aparato reproductor
- 2.- Tamaño, turgencia y coloración del ámpula terminal
- 3.- Desarrollo de los conductos deferentes y testículos.
- 4.- Adhesividad del espermatóforo y sustancia adhesiva.
- 5.- En caso de tener el espermatóforo nuevamente formado, se tomó en cuenta el número de espermatozoides.

Para ésto fue necesario hacer observaciones de cada una de las partes involucradas en el desarrollo del aparato reproductor.

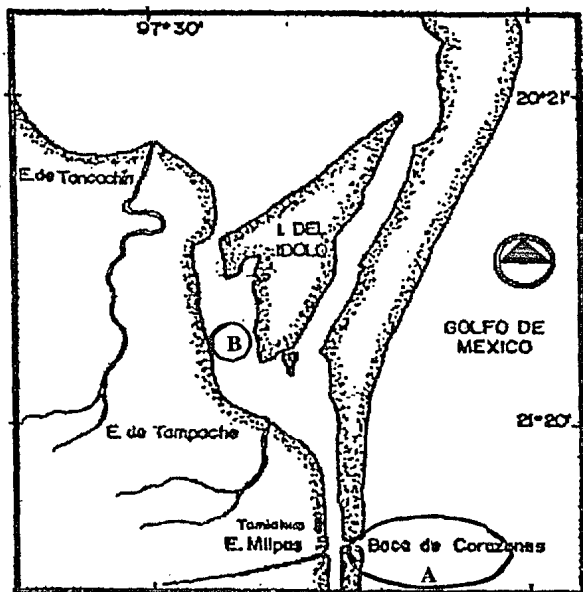


Fig.4 Zonas de colecta. Se señalan los sitios de colecta de los organismos para:

1. Calidad espermática - Zona de plataforma (A)
2. Regeneración del espermátóforo - Zona de Naranjales (B)

ANALISIS ESTADISTICO

En estudios referentes al crecimiento relativo se demuestra que el comportamiento de la mayoría de las poblaciones se describe mediante la ecuación alométrica

$$Y = a x^b$$

donde x es la dimensión de referencia y Y es la dimensión variable, a es el intercepto y b es el coeficiente de regresión (Hartnoll, 1978).

Esta ecuación implica que las dos dimensiones crecen relativamente una a la otra a una tasa de cambio constante, definido por el parámetro b , refiriéndose a una tasa de crecimiento relativo o a un nivel de alometría. Definiéndose alometría como cambios en proporción con el peso.

Se utilizó esta ecuación potencial la cual fue transformada a su forma logarítmica por medio de la regresión lineal quedando de la siguiente manera:

$$\text{Log } y = \text{Log } a + b \text{ Log } x$$

Para certificar la bondad de la prueba se hicieron análisis de varianza, análisis de residuos y curvas de normalidad.

Estas ecuaciones fueron utilizadas tanto para los parámetros morfológicos como fisiológicos.

Para las relaciones de índices gonadosomáticos con estadios de muda fue necesario transformar los valores porcentuales de los índices gonadosomáticos por medio de la siguiente transformación (Zar, 1974):

$$\text{I.G.'} = \text{Arc Sen} \sqrt{X}$$

Estos índices fueron utilizados a su vez en relación al peso y también fue necesario hacer regresiones lineales para el ajuste de las rectas. Al igual que con la relación de número de espermatozoides y largo del cefalotórax.

En la relación de número de espermatozoides contra peso corporal fue necesario hacer la transformación inversa de $1/X$ y $1/Y$.

Para saber si existían diferencias significativas entre el número de espermatozoides antes y después de la regeneración se realizaron Análisis de Kruskal-Wallis por medio del programa estadístico Statgraphics V.2.1.

RESULTADOS

RELACIONES MORFOFISIOLOGICAS

Las relaciones morfométricas de los machos adultos y pre-adultos de *P. setiferus* fueron descritas a través de ecuaciones potenciales donde se observó que el crecimiento es alométrico y positivo (Tabla 2).

La pendiente de la relación del largo del cefalotorax y peso corporal ($b=0.35$) resultó diez veces menor que la de la relación entre el peso corporal y la longitud total ($b=3.36$) (Fig.5 a,b y c). Los coeficientes de correlación entre las variables son altos ($r=0.96 - 0.98$), así como los coeficientes de determinación ($r^2=0.92 - 0.97$), lo cual indica que el modelo utilizado explica adecuadamente estas relaciones morfométricas.

Los indicadores morfofisiológicos utilizados fueron también explicados a través de ecuaciones potenciales (Tabla 3). Como se puede apreciar en esta tabla, los coeficientes de determinación (r^2) muestran que el modelo utilizado también es adecuado para explicar estas relaciones, lo cual se puede observar en la Fig.6 a. b y c.

De esta manera, los coeficientes de correlación indican un 90%, 93% y 95% de asociación entre las variables respectivamente. El coeficiente de determinación más alto representa la relación entre el peso de la gónada y la longitud cefalotorácica del organismo (Tabla 3).

También los coeficientes de determinación son altos. Estos varían entre 0.82 y 0.9 con relación a las longitudes corporal y de cefalotórax y peso.

TABLA 2. PARAMETROS DE LAS RELACIONES ENTRE LOS INDICADORES MORFOMETRICOS DE MACHOS ADULTOS Y PRE-ADULTOS DE *Penaeus setiferus*. $\text{Log } y = \log a + b \log x$

Y	X	Log a	Log b	r ²	r	P	n
PC	LT	5.81	3.36	0.97	0.98	0.00001	87
LC	PT	0.02	0.35	0.93	0.96	0.00001	87
LC	LT	-2.065	1.2	0.92	0.96	0.00001	87

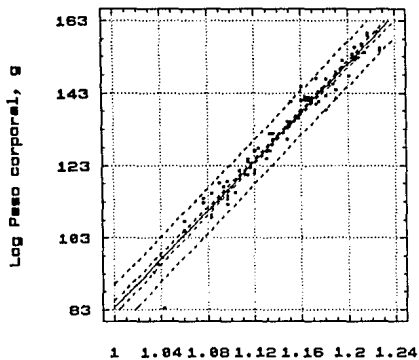
PC = peso corporal LT = longitud total LC = longitud del cefalotórax r² = Coeficiente de determinación
r = Coeficiente de correlación P = nivel de significancia
n = Tamaño de muestra

TABLA 3. PARAMETROS DE LAS RELACIONES ENTRE LOS INDICADORES MORFOLOGICOS Y FISIOLÓGICOS EN MACHOS ADULTOS DE *Penaeus setiferus*. $\text{Log } y = \text{Log } a + b \text{Log } x$

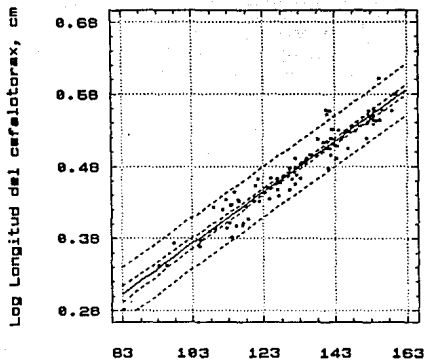
Y	X	Log a	Log b	r ²	r	P	n
PG	PC	-9.6	2.64	0.76	0.9	0.00001	47
PG	LC	-8.66	6.52	0.71	0.93	0.00001	47
PG	LT	-23.51	8.35	0.73	0.95	0.00001	47

PG = Peso de la gónada LT = longitud total PC = peso corporal r² = Coeficiente de correlación r = Coeficiente de determinación P = nivel de significancia n = Tamaño de muestra

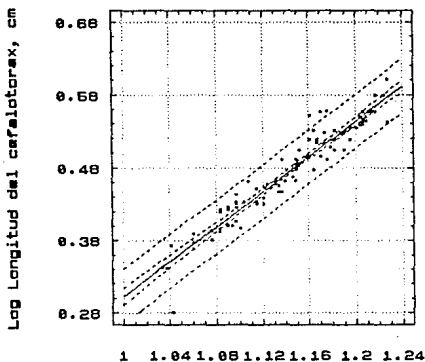
(x 0.01)



(a) Log Longitud total, cm

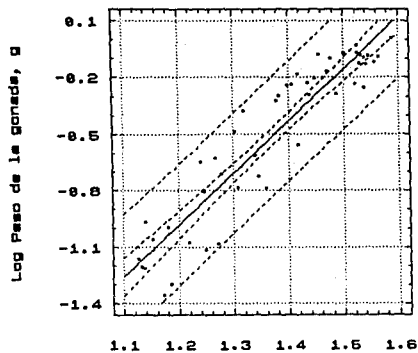


(b) Log Peso corporal, g (x 0.01)

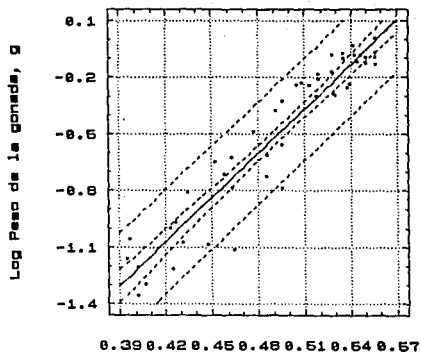


(c) Log Longitud total, cm

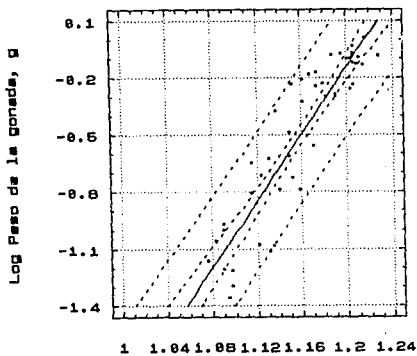
Fig.5 Regresiones logarítmicas de las relaciones morfométricas de una población de machos adultos y pre-adultos de Penaeus setiferus.



(a) Log Peso corporal, g



(b) Log Longitud del cefalotorax, cm



(c) Log Longitud total, cm

Fig.6 Regresiones logarítmicas de las relaciones morfofisiológicas de una población de machos adultos y pre-adultos de Penaeus setiferus.

INDICES GONADOSOMATICOS Y TALLA MINIMA DE MADUREZ

La relación entre el peso del organismo y el peso de la gónada (índice gonadosomático) fue muy útil para determinar la madurez y la calidad reproductiva.

De las relaciones de índice gonadosomático con parámetros morfológicos como peso corporal y longitud total, se puede observar que aunque los coeficientes de determinación no sean altos, la relación entre las variables es alta, $r = 0.83$ y 0.81 respectivamente (Tabla 4).

A pesar de ésto, la mejor correlación se obtuvo con el peso. Lo cuál hace pensar que es un mejor indicador de la condición reproductiva del organismo que la longitud total del mismo. También se muestra que la relación de cambio es mayor con respecto a la longitud total que al peso corporal del organismo (Fig. 7 a y b).

En la Tabla 5 se muestra el valor promedio del índice gonadosomático y su relación con las longitudes y peso promedio de los camarones muestreados.

Los índices gonadosomáticos (%) de los organismos inmaduros sexualmente, sin espermatóforo en el ámpula, tuvieron un intervalo de 0.17 a 1.28% y los maduros sexualmente de 0.72 a 2.94 %. Se observó un traslape de los organismos maduros e inmaduros entre 0.72 y 1.28% correspondiendo a los camarones de 17.4 a 22.19 g (Tabla 6).

También se determinó la talla mínima en que los organismos se encontraron maduros sexualmente, a partir de los 23 g de peso corporal y 16 cm. de longitud total. Aunque el intervalo va desde los 20.32 g de peso corporal y 0.1643 g de peso gonadal. Aquí los conductos deferentes estaban inmaduros pero el espermatóforo se encontraba en principios de la formación. De igual manera, se encontraron organismos de 20.08 g y 17.40 g de peso corporal y 0.3262 g y 0.2261 g de peso gonádico respectivamente con espermatóforos completamente formados en las ámpulas. (Tabla 7).

Sin embargo, se encontró también, que un organismo de 18.68 g (PC) y 0.1905 g (PG) presentaba el espermatóforo en el conducto deferente más no en el ámpula, con el aparato reproductor perfectamente maduro como lo indica el índice gonadosomático. Esto hace pensar en que el organismo hubiera expulsado el espermatóforo y uno nuevo se encontrara en regeneración (Tabla 7).

Por ésto, se determinaron como organismos maduros a partir de los 23 g de peso corporal y 16 cm. de longitud total.

TABLA 4. PARAMETROS DE LA ECUACION DE LA RELACION DE LOS INDICES GONADOSOMATICOS CON INDICADORES MORFOLOGICOS EN MACHOS ADULTOS DE *Penaeus setiferus*.

X	Y	Log a	Log b	r ²	r	P	n
PC	IG	-0.9951	0.908	0.6847	0.8274	0.001	48
LT	IG	-5.7587	2.8623	0.6484	0.8052	0.00001	48

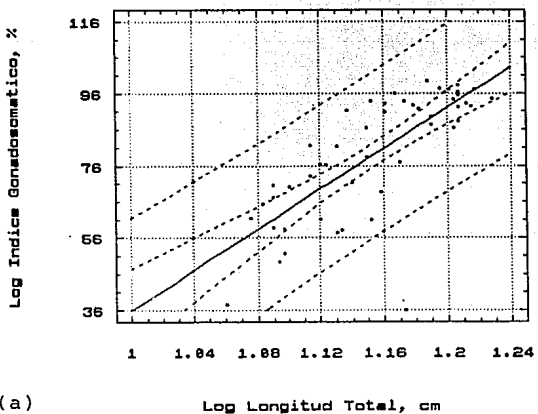
PC = peso corporal LT = longitud total IG = índice gonadosomático
 r² = coeficiente de determinación
 r = coeficiente de corelación P = nivel de significancia
 n = Tamaño de muestra

TABLA 5. RELACION ENTRE EL INDICE GONADOSOMATICO DE ORGANISMOS MADUROS E INMADUROS Y PARAMETROS MORFOFISIOLOGICOS EN *Penaeus setiferus*,
 $\bar{x} \pm E.S.$

	IND. GON.	LT	FC	LC
X	1.54 ± 0.12	14.38 ± 0.21	24.31 ± 1.11	3.09 ± 0.05
MIN.	0.1724	11.5	11.25	2.38
MAX.	2.9366	16.9	38.86	3.60

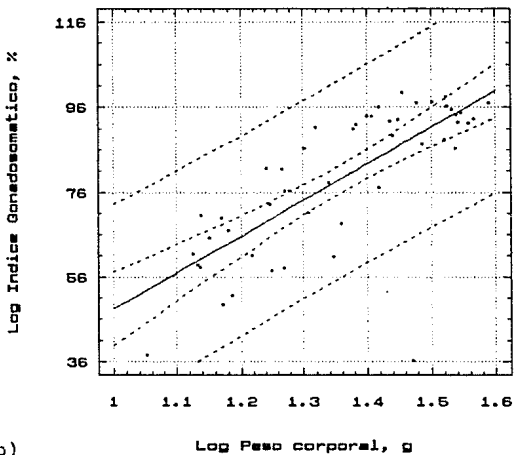
IND.GON. = Índice gonadosomático LT = Longitud total
 LC = Longitud del cefalotórax PC = Peso corporal

(X 0.01)



(a)

(X 0.01)



(b)

Fig. 7(a) Regresión logarítmica de la longitud total y el índice gonadosomático de machos de Penaeus setiferus.

7(b) Regresión logarítmica del peso corporal y el índice gonadosomático de machos de Penaeus setiferus.

TABLA 6. INDICES GONADOSOMATICOS DE ORGANISMOS MADUROS E INMADUROS SEXUALMENTE Y LA RELACION CON LOS INDICADORES MORFOLOGICOS DE *Penaeus setiferus*.

	I N M A D U R O S	M A D U R O S
LT	12.88 ± 0.18	15.28 ± 0.18
MAX.	14.2	16.9
MIN.	11.5	13.0
PC	16.49 ± 0.71	29.10 ± 1.04
MAX.	22.19	38.86
MIN.	11.25	17.4
LC	2.70 ± 0.05	3.33 ± 0.04
MAX.	2.38	3.6
MIN.	3.06	2.76
IG	0.66 ± 0.07	2.08 ± 0.09
MAX.	1.28	2.94
MIN.	0.17	0.72

LT= longitud total PC= peso corporal LC= longitud del cefalotórax IG= indice gonadosomático (%).

TABLA 7. TALLAS, PESOS MINIMOS Y ESTADO DEL APARATO REPRODUCTOR EN QUE *Penaeus setiferus* ES MADURO SEXUALMENTE.

PC	LT	LC	PG	IG	OBSERVACIONES
(g)	(cm)	(cm)	(g)	(%)	
20.32	13.8	2.90	0.1643	0.81	Conducto deferente inmaduro, principios del espermatóforo.
20.08	14.1	3.00	0.3263	1.62	Espermatóforo formado en el ámpula
17.40	13.0	2.83	0.2260	1.30	Completamente maduro con espermatóforo en el ámpula.
18.68	13.2	2.75	0.1905	1.02	Espermatóforo en el conducto deferente, no en el ámpula, sin embargo, el aparato reproductor maduro.

PC = peso corporal, LT = longitud total, LC = longitud del cefalotórax PG = peso de la gónada, IG = índice gonadosomático.

ESTADIOS DE MUDA E INDICES GONADOSOMATICOS

Otro indicador utilizado fue el estadio de muda en que se encontró la población de machos adultos.

En la figura 8 se observa que el 43% de los organismos se encontraron en post-muda temprana, el 14% en post-muda tardía y el 20% en intermuda.

Por lo que respecta a la pre-muda, el 18% corresponde a la pre-muda temprana y el 5% a la pre-muda tardía.

De la relación entre los índices gonadosomáticos y peso corporal para cada uno de los estadios de muda; se observó que los coeficientes de determinación (r^2) son significativos para los estadios de pre-muda temprana, intermuda y post-muda temprana. En los de post-muda tardía se observó una mayor dispersión por lo que el r^2 fue bajo (Tabla 8). Es posible que para este último estadio de muda, el número de datos sea insuficiente para que la regresión no sea significativa ($n=9$) (Fig.9 y 10).

El quinto estadio de muda, pre-muda tardía, no pudo relacionarse por el número reducido de datos ($n=2$).

Se observó un cambio en las pendientes de 0.77 a 1.01 de los estadios I al IV. Así mismo se observó que conforme aumentaban las pendientes, disminuían los interceptos, obteniéndose los valores de índices gonadosomáticos más altos para la post-muda temprana y los más pequeños para la pre-muda temprana (Tabla 8).

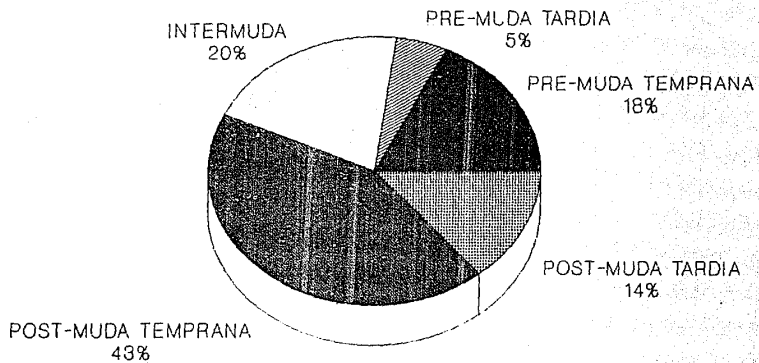


Fig.8 Porcentajes de los estadios de muda de machos de *Penaeus setiferus*

TABLA 8. PARAMETROS DE LA ECUACION DE LA RELACION ENTRE LOS INDICES GONADOSOMATICOS Y PESOS CORPORALES PARA CADA UNO DE LOS ESTADIOS DE MUDA DE *Penaeus setiferus*. $\text{Log } y = \text{log } a + b \text{ log } x$

Y	X	Log a	Log b	r ²	r	P	n
IG1	PC	-0.49	0.7784	77.55	0.7755	0.0001	20
IG2	PC	-0.8	0.7894	29.62	0.5492	0.13	9
IG3	PC	-1.31	0.9744	77.34	0.8794	0.0008	10
IG4	PC	-1.34	1.0167	88.44	0.9404	0.0005	8

IG1,IG2,IG3,IG4 = Indices gonadosomáticos para cada uno de los cuatro estadios de muda:1. Post-muda temprana 2.Post-muda tardia, 3.Intermuda y 4. Pre-muda temprana
 r^2 = Coeficiente de correlación r = Coeficiente de determinación P = nivel de significancia n = Tamaño de muestra

TABLA 9. PARAMETROS DE CALIDAD Y CONTEO DE LOS ESPERMATOZOIDES DE ESPERMATOFOROS DE *Penaeus setiferus* OBTENIDOS DE LA PLATAFORMA. ($x \pm$ E.S.)

	NUMERO DE ESPERMATOZOIDES ($x 10^6$)	LARGO DEL CEFALOTORAX (cm)	ANORMALIDADES (%)	VIABILIDAD (%)
X	3.2 ± 0.38	3.35 ± 0.03	2.23 ± 0.23	99.97 ± 0.03
MIN.	0.81	2.86	0	98.95
MAX.	10.42	3.87	7.75	100

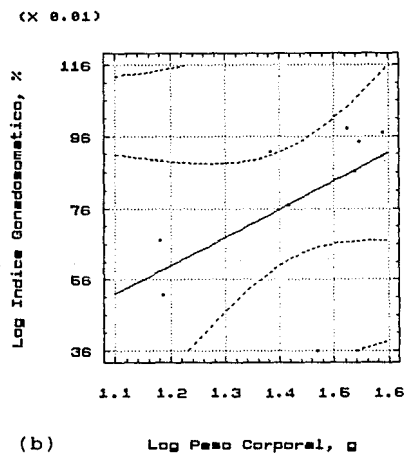
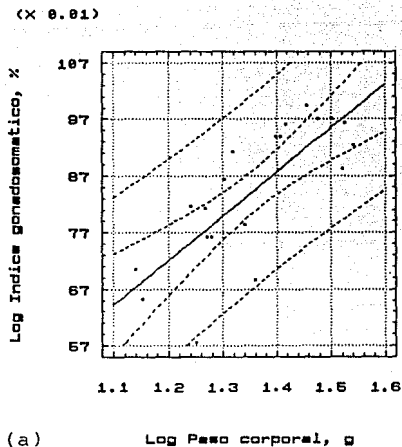


Fig.9 Relación del peso corporal y el índice gonadosomático para el estadio de post-muda temprana (a) y para el estadio de post-muda tardía (b) para machos de Penaeus setiferus.

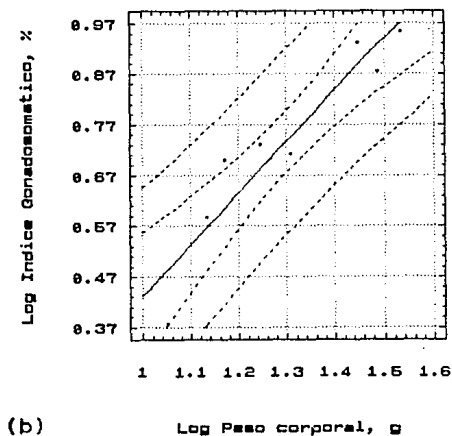
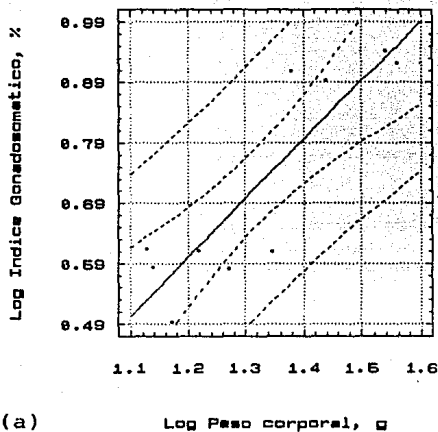


Fig.10 Relación del peso corporal y el índice gonadosomático para el estadio de intermuda (a) y para el estadio de pre-muda temprana (b) para machos de Penaeus setiferus.

CALIDAD ESPERMÁTICA

El promedio de espermatozoides por espermátforo fue de $3.20 \times 10^6 \pm 0.34$ en organismos con una longitud promedio del cefalotorax de 3.35 ± 0.03 cm (Tabla 9).

Con respecto al conteo de los espermatozoides se encontró que en la relación del largo del cefalotorax y número de espermatozoides, la correlación entre las variables es baja ($r=0.37$), así como el coeficiente de determinación del modelo ($r^2=0.11$) (Fig.11a).

A pesar de esto se observó que la relación que guardan el peso corporal y el número de espermatozoides es aún mejor, ya que el coeficiente de correlación fue de 0.75 con un $r^2=0.54$. Con esto se puede observar que hay una mejor relación del peso corporal con un parámetro tan intrínsecamente variable como es el número de espermatozoides (Fig.11b).

En cuánto a la calidad, los parámetros utilizados fueron el grado de normalidad y el porcentaje de viabilidad. Se encontró que la viabilidad fue del 99.97%.

El número de células anormales en el total de células varió entre 0% y 7.75% con un promedio de 2.23% ($n=41$). Dentro de las anomalías observadas, las más frecuentes fueron la ausencia de la cola y, en menor grado, malformación de las cabezas. No se observaron colas dobles o torcidas. (Foto 1)

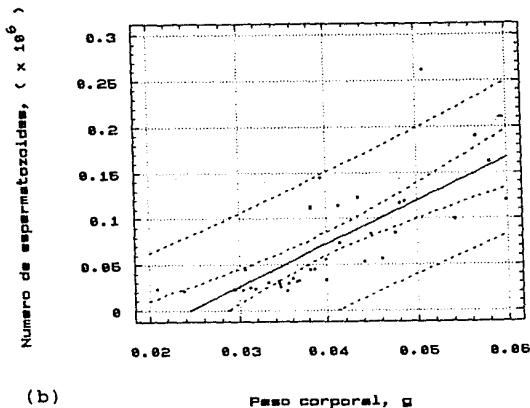
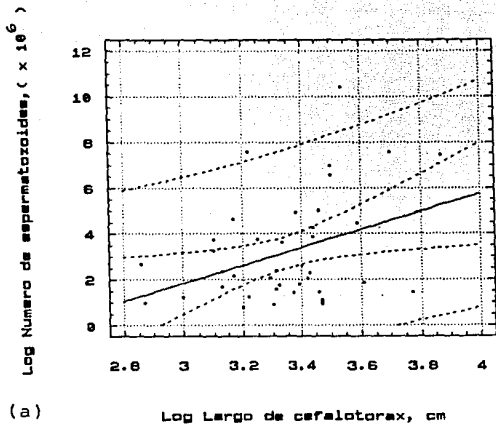
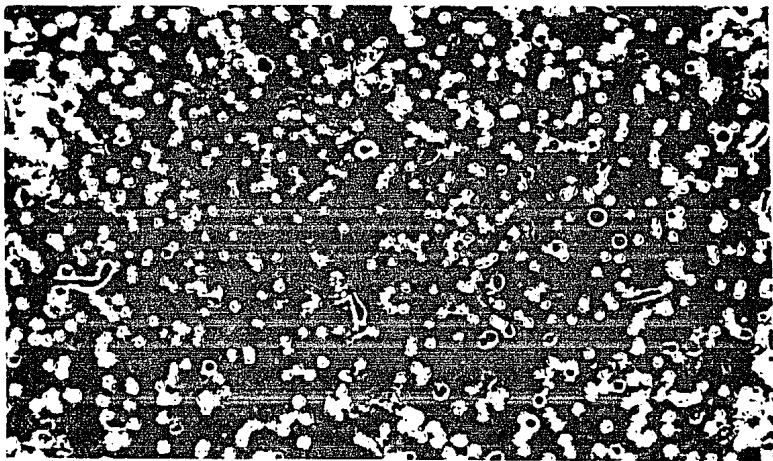
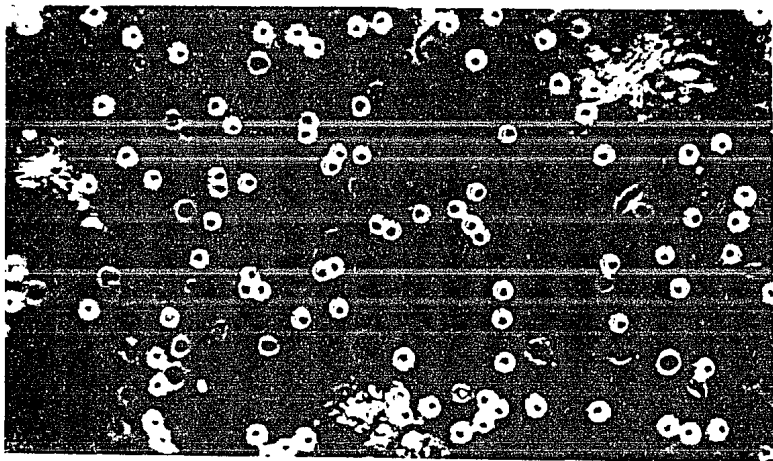


Fig.11 (a) Regresión logarítmica de la relación entre el largo del cefalotórax y el número de espermatozoides de machos de Penaeus setiferus.
 (b) Relación del peso corporal y el número de espermatozoides para machos de Penaeus setiferus.
 (Transformación recíproca)



(a)



(b)

Foto 1. Espermatozoides de *Penaeus setiferus* a un aumento de 10X (a) y a un aumento de 40X (b).

REGENERACION DEL ESPERMATOFORO

De 41 organismos estimulados sólo el 2.43% reaccionó completamente a la estimulación expulsando ambos espermatozoides. El 4.87 % no reaccionó y del 95.12% sólo se obtuvo el contenido de una de las ámpulas o de ambas pero con ayuda de pinzas. Cabe mencionar que del total de organismos estimulados murió un 41.46% por lo que finalmente el proceso de regeneración se observó sólo en 18 organismos.

El proceso de regeneración de los espermatozoides fue muy variable. Se encontraron organismos que regeneraron dentro de las 24 horas posteriores a la estimulación y otros que no regeneraron dentro de las 48 a 96 horas subsecuentes. Sólo el 38.88% de los organismos estimulados regeneró completamente el espermatozoides, el 50% parcialmente y el 11.11% no regeneró (Tabla 10).

Se observó que conforme iba transcurriendo el tiempo, de las 48 horas en adelante, era más frecuente encontrar organismos con sólo una mitad del espermatozoides formado o bien, sin espermatozoides. Estos espermatozoides estaban en forma incipiente, sin masas espermáticas o muy pequeñas y alas también pequeñas y ligeramente pigmentadas. Los cambios observados durante la regeneración del espermatozoides se encuentran descritos en la Tabla 11.

Inicialmente el promedio de espermatozoides fue de $4.58 \pm 2.26 \times 10^6$ y después de la regeneración completa del espermatozoides fue de $2.13 \pm 0.56 \times 10^6$. Aunque no existen diferencias significativas ($P = 0.17$) entre éstos, la tendencia observada fue a obtener menos espermatozoides en los animales regenerados. De éstas células no se observaron alteraciones morfológicas, anomalías o disminución en la viabilidad de los mismos (Tabla 12).

TABLA 10. PORCENTAJES Y TIPO DE REGENERACION DEL ESPERMATOFORO DE LOS MACHOS DE *Penaeus setiferus* MANTENIDOS EN CAUTIVERIO.

TIEMPO (horas)	n	PORCENTAJE DE REGENERADOS	TIPO DE REGENERACION
24	3	100%	Total
48	4	50%	No regeneró
		25%	Total
		25%	Parcial
72	6	16.66%	Total
		83.88%	Parcial
96	5	40%	Total
		60%	Parcial
*	18	38.88%	Total
		50%	Parcial
		11.11%	No regeneró

* Número total de organismos estimulados.

TABLA 11. DIAGNOSIS DEL APARATO REPRODUCTOR DE MACHOS ADULTOS DE *Panaeus setiferus* DURANTE LA REGENERACION DEL ESPERMATOFORO BAJO CAUTIVERIO.

	24 horas	48 horas	72 HORAS	96 HORAS
APARATO REPRODUCTOR	En general en buenas condiciones y de buen tamaño	En buenas condiciones y de buen tamaño	Pequeño, empiezan a ser poco más fragiles los conductos deferentes.	Pequeño e igualmente frágil
TESTICULOS	Bien formados con gran producción espermática	Bien formados con gran producción espermática	Bien formados con gran cantidad de espermatozoides	Bien formados con gran cantidad de espermatozoides
PARTE PROXIMAL	Abundantes espermias pero algunos sin colas formadas	Abundantes espermias en diferentes estadios de desarrollo	Abundantes espermias en diferentes estados de desarrollo. Sólo en un caso se encontraron muy pocas espermias con gran cantidad de deformaciones.	Abundantes espermatozoides en diferentes estados de desarrollo.
PARTE MEDIA	Gran cantidad de espermatozoides en diferentes estados de desarrollo.	Gran cantidad de espermatozoides en diferentes estados de desarrollo.	Gran cantidad de espermatozoides en diferentes estados de desarrollo	Gran cantidad de espermatozoides en diferentes estados de desarrollo.
AMPULAS	Pequeñas y ligeramente suaves	Pequeñas, poco turgentes con sólo la mitad del espermatóforo en el 50% de estos. En otro caso el espermatóforo completamente formado.	Ligeramente menos turgentes, pequeñas. Algunas con restos de la formación del espermatóforo. Empiezan a estar más fibrosas	Ligeramente más pequeñas y menos turgentes. Se encuentran restos de la formación del espermatóforo en algunas de las ampulas. En algunos casos sólo se formaba una mitad del espermatóforo y la otra ampula estaba completamente vacía.
ESPERMATOFORO	El 100% formados, en algunos casos eran más pequeños y se observaban ligeramente traslucidos	Sólo se formó en el 50% de los casos, donde en uno de ellos sólo había una mitad del espermatóforo en una de las ampulas y éste en forma incipiente.	Pequeños con abundante masa espermática en el 33.33% de estos. El 16 % no regeneró en lo absoluto y el otro 33.3 % fue parcial	El 60% se regeneró parcialmente, es decir formaba sólo partes del espermatóforo. En casos en que se encuentran las dos mitades en ambas ampulas, éstas no contenían masa espermática.
ADHERENCIA	Buena	Buena (en el regenerado)	Buena. En algunos casos en algunos casos empieza a ser menos adherente que en regeneraciones previas	Buena en los espermatoforos formados.
ALA	En algunos no totalmente formada. Algunas poco pigmentadas.	En el 50% mejor formada y más pigmentada. Los demás no formaron el ala, o sólo se observaron restos de la misma, ligeramente pigmentada.	Se encontraron restos de la ala en las ampulas	Cuando llegó a formarse fue menos pigmentada que en regeneraciones previas.
REBORDE	En algunos no totalmente formado.	Formado en el 50% de los casos pero muy pequeño; en los demás no llegó a formarse.	Formado sólo en un 33.33%	Sólo se encontró en el espermatóforo completamente formado.

TABLA 12. RELACION ENTRE EL NUMERO DE ESPERMATOZOIDES DE *Penaeus setiferus* ANTES Y DESPUES DE LA ESTIMULACION ELECTRICA.

NUMERO DE ESPERMAS
ANTES DE ESTIMULAR

4.58 ± 2.26

NUMERO DE ESPERMAS
DESPUES DE ESTIMULAR

2.13 ± 0.56

Las diferencias no son significativas (P > 0.05)

DISCUSION

La camaronicultura representa una actividad muy importante económica y comercialmente para nuestro país y se encuentra en un período de expansión y desarrollo.

Por su parte, el cultivo de los camarones aún se enfrenta con problemas de manejo, mantenimiento, alimentación, cría de larvas y aspectos reproductivos. Entre éstos es poco lo que se conoce en relación a la calidad reproductiva de los machos.

Las características morfofisiológicas de una población de crustáceos son función de las condiciones ecológicas a las que los organismos se ven expuestos durante su ciclo de vida. En éste sentido, cada población representará una condición ambiental particular la cual no puede ser utilizada directamente para interpretar el estado de otra población ubicada en un ambiente distinto (Vernberg,1983).

En este estudio se ha caracterizado morfofisiológicamente a una población de machos adultos de *P. setiferus* con el objeto de determinar las tallas reproductivas de la especie.

De acuerdo a los resultados se puede notar que dentro de esta población existen tres grupos característicos: los inmaduros (16.49 ± 0.71 g), los maduros (29.8 ± 1.04 g) y los mixtos (17.4 a 22.19 g) los cuales se definieron en función de las características morfológicas y del aparato reproductor. En este caso el grupo mixto se ha definido tanto por camarones maduros con espermatozoides bien formados, principalmente aptos para la cópula, como por organismos aún inmaduros. La posibilidad de encontrar animales grandes inmaduros y pequeños maduros o viceversa puede estar directamente asociada con las características del ecosistema, el tipo y calidad del alimento disponible y su repercusión sobre el crecimiento y madurez sexual de las distintas cohortes que se reclutan a la población de adultos.

Al respecto, Adiyodi (1985) ha señalado que los factores nutricionales son primordiales para asegurar la calidad y condición reproductiva de los organismos.

Aunque en este estudio se hayan obtenido animales maduros desde los 18 g, considerando lo anterior es posible proponer como la talla mínima de maduración sexual a machos con pesos mayores de 23 g y longitudes mayores de los 16 cm.

De esta manera se observó que esta talla no es un límite rígido sino que puede estar influenciada directamente por las condiciones del medio.

Por esta razón, Bray, *et al.* (1982) han utilizado ejemplares de *P. setiferus* con pesos mayores de 39 g como organismos maduros.

En el presente estudio se ha utilizado al índice gonadosomático como un medio para evaluar el estado reproductivo de los camarones. La regresión entre el índice gonadosomático y el peso corporal resultó en una alta correlación entre las variables lo cual hace pensar que el peso puede también ser utilizado como indicador del estado de desarrollo de las gónadas. Así, animales con peso promedio de 24 g tendrían un índice gonadosomático promedio de 1.54%, el cuál es característico de machos aptos para la reproducción.

A este respecto, Leung-Trujillo y Lawrence (1985) reportan índices gonadosomáticos de 1.074 ± 0.045 para machos adultos de *P. vannamei*.

Con respecto a la reproducción y el ciclo de muda, se sabe que son eventos metabólicos antagónicos ya que ambos requieren del movimiento cíclico de las reservas energéticas, de los lugares de depósito, a gónadas y epidermis respectivamente. Por tal motivo es durante la intermuda que se da la cópula (Adiyodi, 1985).

De manera general en los crustáceos, las hembras reabsorben parte de las gónadas durante la muda y el máximo desarrollo ovárico equivale al período de mudas más bajas. Además, en el orden Natantia, al cual corresponde *P. setiferus*, la proecdysis (estadio anterior a la muda) cubre aproximadamente el 60% del ciclo de muda. Al ser tan largo este período permite que los recursos sean utilizados más o menos simultáneamente para el crecimiento ovárico y la muda dándose de alguna manera un proceso sincrónico (Adiyodi, 1985).

A pesar de la información existente sobre estos procesos metabólicos poco se sabe sobre cómo sucede con los machos. En los organismos estudiados no se hizo un seguimiento de cada uno de los estadios de muda con relación al peso, sino una descripción de un momento específico de la población. A pesar de esto, se encontró que los máximos valores de los índices gonadosomáticos se obtuvieron de organismos que se encontraron en post-muda temprana y los mínimos en pre-muda temprana.

Esto es, los mayores índices gonadosomáticos correspondieron con el primer estadio del ciclo de muda y los más bajos con los estadios más avanzados. El peso de los organismos fue similar en los cuatro estadios de muda, por lo que éste parámetro no altera la relación. Debido a que la relación

entre el índice gonadosomático y el estadio de muda no es clara aún, se recomienda la realización de más estudios enfocados a este aspecto.

Además de éstos parámetros morfofisiológicos que caracterizan a una población, fue necesario realizar conteos de espermatozoides para determinar de manera más directa el estado reproductivo.

Con respecto al conteo del número de espermatozoides se determinó la relación con el largo del cefalotórax, por la dificultad de utilizar otro parámetro en tales condiciones de muestreo. En los casos donde fue posible, se utilizó el peso corporal y se encontró nuevamente que éste es un mejor indicador de la condición reproductiva del animal.

Adams y Paul (1983) experimentaron con *Chionoecetes bairdi* para determinar de manera indirecta el número de espermatozoides que se depositaban en la espermateca de las hembras adultas con el fin de relacionarlo con el ancho del caparazón del macho. Estos autores encontraron un máximo y un mínimo de 4.9×10^6 y 4.0×10^4 células. De las regresiones realizadas entre el número de espermatozoides y el ancho del caparazón del macho obtuvieron valores de r^2 menores de 0.3 lo cual sugiere que no existe una relación clara entre estas variables.

Lo mismo sucedió en este estudio con el largo de cefalotórax ya que se obtuvo una r^2 de 0.11. Por éste motivo se sugiere utilizar el parámetro morfométrico del peso para relacionarlo con un parámetro tan intrínsecamente variable como el número de espermatozoides.

En cuanto al número de espermatozoides por espermatóforo el promedio de células fue de $3.20 \times 10^6 \pm 0.34$ en organismos con un peso corporal promedio de 25 g. Al respecto, Leung-Trujillo y Lawrence (1987) han obtenido rangos promedio de 39.7 a 54.4×10^6 células por espermatóforo en machos adultos de 39.5 g de *P. setiferus*

También, Bray, et al.(1985) obtuvieron para *P. setiferus* números de espermatozoides de $38.7 + 10.165 \times 10^6$ para organismos de 34.2 g promedio.

Por su parte, Leung-Trujillo y Lawrence (1985) encontraron en *P. vannamei* un promedio de 5.6×10^6 en organismos de 35.4 g promedio.

El que en el presente estudio se hayan obtenido menor número de células a las reportadas por otros autores, puede deberse a que los organismos utilizados, aunque se encontraban maduros, eran más pequeños (PC = 25 g). Como se mencionó anteriormente, los otros estudios se realizaron con organismos maduros de pesos mayores (Bray *et al.*, 1985; Leung-Trujillo y Lawrence, 1985 y 1987).

Estos datos sugieren que la cantidad de espermatozoides que se pueden encontrar es bastante variable tanto entre especies como interespecíficamente. Además de ser un parámetro que depende directamente de las condiciones en que se haya desarrollado el organismo. Por esto es importante tener en cuenta todos los factores que pueden afectar la producción espermática como son aspectos nutricionales, temperatura, salinidad, manejo, estrés, etc. (Talbot, *et al.* 1989).

En cuanto a la calidad espermática se encontró que tanto la viabilidad como el porcentaje de normalidad se encuentran dentro de los rangos reportados por Leung-Trujillo y Lawrence. (1985) y Leung-Trujillo y Lawrence (1987) para *P. setiferus* y para *P. vannamei* por Leung-Trujillo *et al.* en 1985.

Tomando en cuenta que son pocos los trabajos realizados con aspectos reproductivos de los machos se investigó la regeneración del espermatóforo en organismos mantenidos en cautiverio. Este aspecto específico del ciclo reproductivo es importante para desarrollar con éxito un ciclo de cultivo.

Para esto, se utilizó un estímulo eléctrico el cual implicó la manipulación del ápula terminal a la que se le aplicó la descarga eléctrica. En tales circunstancias se observó que únicamente el 2.4% respondió con la expulsión completa del espermatóforo. Debido a esto, el 95.2% fue necesario extraerlos con la ayuda de pinza o con presión manual.

Otro indicador para la evaluación de este método fue la sobrevivencia. En este estudio, del total de organismos, el 41.46% murió después de haber sido estimulado. El poco éxito en la obtención de espermatóforos y la alta mortalidad obtenida con la estimulación eléctrica sugiere que el método empleado no es el óptimo. Esto puede deberse a que al estimular al animal, éste sólo reacciona con una contracción muscular que si no es lo suficientemente fuerte el espermatóforo no puede ser expulsado o tan grande que mate al individuo antes de que éste expulse el espermatóforo en su totalidad.

Esto puede tener relación con la anatomía reproductiva propia de la especie, ya que en *P. setiferus* el espermatóforo al igual que el ápula terminal son muy largos y complejos en relación al tamaño de apertura del gonoporo (King, 1948, Pérez Farfante, 1975).

Se observó que en los organismos donde los espermatozoides se encontraban perfectamente maduros y de buen tamaño era más fácil ser expulsados pues a pesar de la complejidad del mismo, éste posee una estructura relativamente fuerte en la parte posterior, el reborde, con el cual gracias a la contracción muscular expande el ápula terminal y es expulsado con mayor facilidad.

De esta manera se puede decir que el método de estimulación eléctrica no es el adecuado para especies con una morfología tan compleja como es el caso de *P. setiferus*. A pesar de estas limitaciones, la estimulación eléctrica parece ser mejor método de estimulación que la eyaculación manual para la obtención de los espermatozoides; ya que ésta produce la esterilidad de los organismos (Sandifer, et al., 1984).

Se observó que la regeneración del espermatozoides fue variable, pues se encontraron animales regenerados desde las 24 horas (el 100%) hasta las 72 horas (el 16%). Esto posiblemente indique que siendo la regeneración una respuesta tipo todo o nada, los animales hayan podido regenerar desde las 24 horas posteriores a la estimulación.

Esto hace pensar en la posibilidad de que el espermatozoides regenera dentro de las 24 horas posteriores a su expulsión aunque las características de la regeneración estarán relacionadas con el daño producido por la estimulación, en el ápula. Así, se observó que dependiendo de la manipulación es posible obtener animales parcialmente regenerados.

Aquí se observaron algunos de los pares de ápulas terminales vacías, con fragmentos del ala y reborde o con sólo una mitad del espermatozoides. El que se haya observado esto se debe a los efectos producidos por la estimulación pues en camarones normales, por su propia biología reproductiva, formarán siempre una mitad de espermatozoides en cada una de las ápulas terminales (King, 1948).

Con respecto al efecto que provoca el método de estimulación y la regeneración sobre el número y calidad de los espermatozoides, se observó que no hubo cambios significativos en éstos; además de que no provocaron malformaciones distintas de las observadas en las células de los espermatozoides iniciales. Sin embargo se pudo notar que éste método puede acelerar el proceso de degeneración del espermatozoides al permitir la entrada de bacterias via el ápula terminal, lo cual se observó solamente en algunos casos. A pesar de esto, no se llegó a degenerar el espermatozoides de la manera como mencionan Leung-Trujillo y Lawrence (1987) y Talbot, et al., 1989; posiblemente porque en el presente estudio sólo se trabajó hasta las 96 horas y éstos autores prolongaron el tiempo de experimentación.

A este respecto, Talbot, *et al.* (1989) han señalado que la manipulación y el estrés pueden estar íntimamente relacionados con éste síndrome de degeneración del espermatóforo.

Así, al mejorar el método de estimulación, es posible que no se dañe tanto al animal y éste regenere el espermatóforo completamente para poder ser utilizado pues no se afecta internamente al organismo.

A su vez, es importante conocer el tiempo de regeneración del espermatóforo ya que éste permite determinar con qué frecuencia se puede estimular a los animales asegurando que el espermatóforo se encuentre formado y en buenas condiciones.

Finalmente, se puede observar que los machos, a pesar de haberse empezado a estudiar posteriormente a las hembras, son igualmente importantes para el cultivo. Los machos comenzaron a estudiarse desde el punto de vista de su biología reproductiva y con mayor énfasis hacia los factores limitantes en la reproducción y obtención de mejores producciones y un mayor éxito en el cultivo, desde principios de la década de los 80's. Por lo cual es importante continuar con más investigaciones al respecto.

CONCLUSIONES

Después de haberse realizado el presente estudio puede concluirse que:

- 1.- La talla mínima de maduración sexual de los machos de *Penaeus setiferus* es a partir de los 23 g de peso corporal y los 16 cm de longitud total.
- 2.- Dentro de los parámetros morfométricos el peso es el mejor indicador de la condición reproductiva del organismo. Al igual que la longitud total, en menor grado.
- 3.- La relación de la calidad espermática, en cuanto al número de espermatozoides, con los parámetros morfométricos es mejor, nuevamente con el peso corporal que con el largo del cefalotórax.
- 4.- El número promedio de espermatozoides es de 3.20×10^6 \pm 0.34 con un 2.23% promedio de células anormales y un 99.97% de viabilidad.
- 5.- El tiempo de regeneración de los espermatóforos de los camarones mantenidos en cautiverio fue variable y pudo verse afectado por diversos factores. A pesar de ésto se proponen las 24 horas como tiempo de regeneración.
- 6.- El método de estimulación eléctrica utilizado para la obtención del espermatóforo en *P. setiferus* no fue eficiente por la alta tasa de mortalidad y el poco éxito en la obtención de los mismos.

BIBLIOGRAFIA

Adams, A.E. y Paul, A.J., 1983. Male parent size, sperm storage and egg production in the crab *Chionoecetes bairdi* (Decapoda, Majidae). *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 6:181-187.

Adiyodi, K.G. y Adiyodi, R.G., 1970. Endocrine Control of Reproduction in Decapod Crustacea. *Biological Review*, 45: 121-165.

Adiyodi, R.A. 1985. Reproduction and its Control. In: Bliss, D.E. y L.H. Mantel(Eds.) *The Biology of Crustacea*. Academic Press, Inc. (9):147-215.

Anderson, W.W., King, J.E. y Lindner, M.J., 1949. Early stages in the life history of the common shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus). *Biological Bulletin*, 96:168-172.

Ayala Castañares, A., Cruz, R., García-Cubas, A. Jr., y Segura, L.R., 1969. Síntesis de los conocimientos sobre la geología marina de la laguna de Tamiahua, Veracruz, México. In: Ayala-Castañares, A. y F.B. Phleger (Eds) *Lagunas Costeras un Simposio*. Mem. Sim. Intern. Lagunas Costeras. UNAM-UNESCO, Nov.28-30, 1967:39-48.

Beard, T. W., y J. F. Wickins. 1980. Breeding of *Penaeus monodon* Fabricius in laboratory recirculation tanks. *Aquaculture* 20:79-89.

Bray, W.A., Chamberlain, G.W. y Lawrence, A.L., 1982. Increased larval production of *Penaeus setiferus* by artificial insemination during sourcing cruises. *Journal of the World Mariculture Society* 13: 123-133.

Bray, W.A., Leung-Trujillo, J.R., Lawrence, A. L. y Robertson, S., 1985. Preliminary investigation of the effects of temperature, bacterial inoculation, and EDTA on sperm quality in captive *Penaeus setiferus*. *Journal of the World Mariculture Society* 16:250-257.

Brown, A.Jr., McVey, J.P., Middledith, B.S. y Lawrence, A.L., 1979. Maturation of white shrimp (*Penaeus setiferus*) in captivity. *Proceedings of the World Mariculture Society* 10:435-444.

Brown, A. Jr., McVey, J.P., Scott, B.M., Williams, T.D., Middleditch, B.S., y Lawrence, A.L., 1980. The maturation and spawning of *Penaeus stylirostris* under controlled laboratory conditions. *Proceedings of the World Mariculture Society*, 11:488-489.

Burkenroad, M. D., 1934. Bulletin American Museum of Natural History. (68): 72-141

Burkenroad, M. D., 1949. Occurrence and Life Histories of Commercial Shrimp. *Science*.(110):688-699.

Caillouet, C.W., Jr. 1973. Ovarian maturation by eyestalk ablation in pink shrimp *Penaeus duorarum* Burkenroad. *Proceedings of the World Mariculture Society* 3:205-225.

Chamberlain, G.W. y Lawrence, A.L., 1981a. Maturation, Reproduction and Growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets. *Journal of World Mariculture Society* 12 (1):209-224.

Chamberlain, G.W., y Lawrence, A.L., 1981b. Effect of light intensity and male and female eyestalk ablation on reproduction of *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei*. *Journal of World Mariculture Society*, 12(2):357-372.

Chamberlain, G.W., Johnson, S.K. y Lewis, D.H., 1983. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult penaeid shrimp. *Journal of the World Mariculture Society*, 14:135-136.

Chamberlain, G.W. y Gervais, F., 1984. Comparison of unilateral eyestalk ablation with environmental control for ovarian maturation of *Penaeus stylirostris*. *Journal of World Mariculture Society*, 15:29-30.

Hartnoll, R.G., 1978. The determination of relative growth in Crustacea. *Crustaceana* 34 (3):281-293.

King, J.E., 1948. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* (Linnaeus). *Biological Bulletin* 94(3):244-262.

Kooda-Cisco, M.J. y Talbot, P., 1983. A technique for electrically stimulating extrusion of spermatophores from the lobster, *Homarus americanus*. *Aquaculture*, 30:221-227.

Lawrence, A.L., Ward, D., Missler, S., Brown, A., McVey, J. y Middleditch, B.S. 1979. Organ indices and biochemical level of ova from penaeid shrimp maintained in captivity versus those captured in the wild. *Proceedings of the World Mariculture Society*, 10: 453-463.

Leung-Trujillo, J.R. y Lawrence, A.L., 1985. The Effect of Eyestalk Ablation on Spermatophore and Sperm Quality in *Penaeus vannamei*. *Journal of World Mariculture Society*, 16:258-266.

Leung-Trujillo, J.R. y Lawrence, A.L., 1987. Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions. *Aquaculture*, 65:363-370.

Parker, J.C. y Holcomb, H.W., 1973. Growth and reproduction of brown and white shrimp (*Penaeus aztecus* and *Penaeus setiferus*) from experimental ponds in Brazoria and Orange counties, Texas. *Proceedings of the World Mariculture Society*, 4:215-235.

Pérez-Farfante, I., 1970. Western Atlantic Shrimps of the genus *Penaeus*. *Fishery Bulletin*. Vol.67 No.3:461-487.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Primavera, J.H. and Posadas, R.A., 1981. Studies on the egg quality of *Penaeus monodon* Fabricius, based on morphology and hatching rates. *Aquaculture*, 22: 269-277.

Robertson, L.; Bray, W.; Leung-Trujillo, J.; y Lawrence, A.L. 1987. Practical Molt Staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*. *Journal of World Aquaculture Society*. (18)3: 180-185.

Rosenberry, B., 1991. World Shrimp Farming. *Aquaculture Digest*. San Diego, Cal., p. 3.

Sandifer, P.A. y Lynn, J.W., 1980. Artificial Insemination of caridean shrimp. In: W.H. Clark, Jr. and T.S. Adams (*Editors*), *Advances in Invertebrate Reproduction*. Elsevier, North-Holland, Amsterdam, pp.271-288.

Sandifer, P.A., Lawrence, A.L., Harris, S.G., Chamberlain, G.W., Strokes, A.D. y Bray, W.A., 1984. Electrical stimulation of spermatophore expulsion in marine shrimp, *Penaeus spp.* *Aquaculture*, 41:181-187.

Santiago, A.C., Jr. 1977. Successful spawning of cultured *Penaeus monodon* after eyestalk ablation. *Aquaculture*, 11(3):185-196.

Schram, F.R. 1986. *Crustacea*. N Y Oxford. pp.242-253.

SEPESCA., 1987. Anuario Estadístico de Pesca. Dirección General de Información. Secretaría de Pesca, México.

Sigma Catalog. 1990. Biochemicals organic compounds for Research and Diagnostic Reagents. SIGMA. Chemical Co. 2077.

Talbot, P., Howard, D., Leung-Trujillo, J., Lee, T.W., Li, W.-Y., Ro, H. y Lawrence, A.L., 1989. Characterization of male reproductive tract degenerative syndrome in captive penaeid shrimp (*Penaeus setiferus*). *Aquaculture*, 78:365-377.

Villalobos,A., S. Gómez, V. Arenas, A. Resendez, y G. De la Lanza, 1976. Estudios Hidrobiológicos en la Laguna de Tamiahua. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*. 37:139-180.

Vernberg, F.J. 1983. Respiratory Adaptations. *In*: Vernberg, F.J. y Vernberg, W. (Eds.), *The Biology of Crustacea*. Academic Press, Inc. (8):147-215.

Zar,J.H., 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New York, p. 85.

APENDICE

BIOLOGIA REPRODUCTIVA

Estructura y Función:

En *P.setiferus* existe un marcado dimorfismo sexual en donde el macho tiene el endopodito del primer par de pleópodos modificado formando el órgano copulatorio denominado petasma. En esta especie, particularmente, los endopoditos del segundo par de pleópodos están modificados formando el apéndice masculino que también ayuda en la retención del espermatóforo (Fig.12). En la hembra, no existe tal modificación de los pleópodos pero en la parte ventral torácica se encuentra el télico cuya función es proveer un medio de fijación para el espermatóforo recibido durante la cópula (King, 1948).

Además existen diferencias significativas en cuanto a la talla de maduración, ya que las hembras tienen un intervalo entre 15.1 y 18.8 cm y los machos entre 14.7 y 17.8 cm (King, 1948.).

El aparato reproductor del macho está formado por el petasma y testículos y conductos deferentes pareados. Los testículos carecen de pigmentos y son translúcidos. Cada uno tiene un eje central con proyecciones, aparentemente seis lóbulos anteriores y uno posterior más pequeño (King, 1948) (Fig.13).

Dentro de los testículos se encuentran los túbulos seminíferos donde se lleva a cabo la espermiogénesis. Después de haberse completado ésta, el esperma se mueve hacia el conducto deferente, donde se observan como cuerpos esféricos con colas, embebidos en una matriz extracelular pegajosa. El esperma está encerrado por capas de secreciones acelulares que resultan en la formación del espermatóforo (King, 1948 y Talbot *et al.* 1989) (Fig.14 a y b)

Los conductos deferentes salen del margen posterior de los ejes centrales de los testículos y se abren al exterior por medio de los poros genitales localizados en la coxa del quinto pereiópodo (King, 1948).

El conducto deferente es estructuralmente más complejo en los camarones peneidos que en otros decápodos y se caracteriza por la presencia de un ámpula larga y dilatada (Talbot *et al.* 1989).

Cada conducto deferente está constituido por cuatro regiones: la primera parte denominada proximal es un tubo delgado y corto con cilios, músculo y tejido conectivo. El diámetro del tubo empieza a aumentar y forma la segunda región o parte media donde se forma un septo longitudinal que se arquea en forma de U y divide al tubo en dos canales de diferente diámetro. Normalmente

es de color blanco. Los espermatozoides se mueven a través del tubo gracias a los cilios y a las secreciones del epitelio glandular. El canal más estrecho secreta un fluido que se cree ayuda en la formación del espermatozoides. Posteriormente la tercera región o parte distal se continúa en un tubo relativamente delgado (0.6 mm de ancho) y largo (aproximadamente 14 mm. de longitud) y no almacena ninguna parte del espermatozoides (Talbot *et al.*, 1989.) (Fig. 14b).

La cuarta región corresponde al ampolla terminal donde se encuentra el espermatozoides. Esta ampolla es una región muscular dilatada y larga. El color blanco y turgencia de la misma, se deben principalmente a una abundancia de la sustancia adhesiva que es sintetizada y secretada en esta misma (King, 1948; Kooda-Cisco y Talbot, 1983; Talbot *et al.*, 1989) (Fig. 14 a y b).

El espermatozoides está constituido principalmente por una masa espermática elongada rodeada de un saco acelular con una lámina dorsal alargada, clara y con inclusiones blanquecinas. El ala es una proyección compleja que se extiende a un lado de la masa espermática y hacia afuera del margen anterior del espermatozoides. La membrana rebordeada une a la masa adhesiva o aglutinante al cuerpo principal del espermatozoides. El adhesivo, sustancia pegajosa localizada centralmente en este reborde y la masa glutinosa que es menos pegajosa que la adhesiva y se encuentra en el lado posterior de éste. La masa glutinosa y el adhesivo van a ayudar en el anclaje del espermatozoides en la superficie ventral de la hembra (Talbot *et al.*, 1989) (Fig. 14c).

En cuanto a la transferencia del espermatozoides, ésta ocurre después del desarrollo ovárico y antes del desove (Brown *et al.*, 1979). Ambos espermatozoides se unen al momento de ser expulsados a través del gonópodo masculino y protegen a las células espermáticas hasta que ocurra el desove (Kooda-Cisco y Talbot, 1983).

Por lo que respecta a la reproducción, Adiyodi y Adiyodi (1970) han señalado que, fisiológicamente, es un evento asincrónico a la muda y que a pesar de que se den separadamente se encuentran íntimamente relacionadas una con la otra. Ambos eventos metabólicos requieren de la movilización de reservas orgánicas de los lugares de depósito, ya sea hacia gónadas ó hacia epidermis respectivamente.

Por esto y tomando en cuenta que se trata de una especie de tético abierto, se sabe que ésta no copula durante la pre-muda tardía y post-muda temprana (Robertson, *et al.*, 1987).

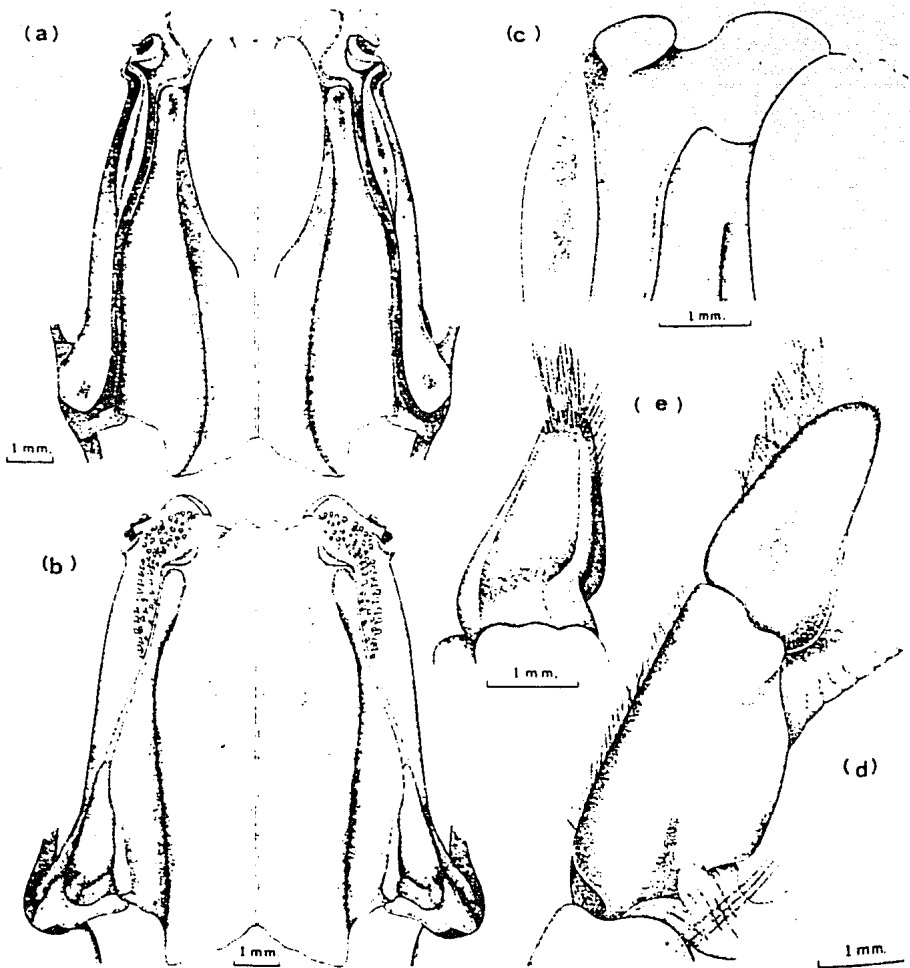


Fig. 12 PETASMA: (a) Vista interior; (b) Vista exterior; (c) Vista interior de la porción distal; (d) Apéndice masculino; (e) Apéndice masculino, vista posterior.

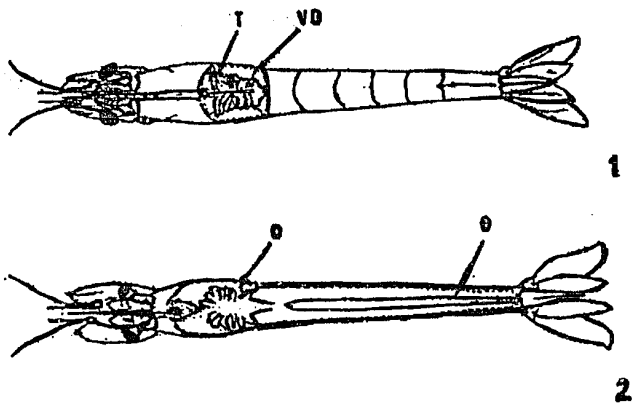


Fig. 13 Vista comparativa de la ubicación del aparato reproductor en machos (1) y en hembras (2) de *Penaeus setiferus*.
T- Testículos, VD- Conducto deferente,
O- Ovarios y oviducto.

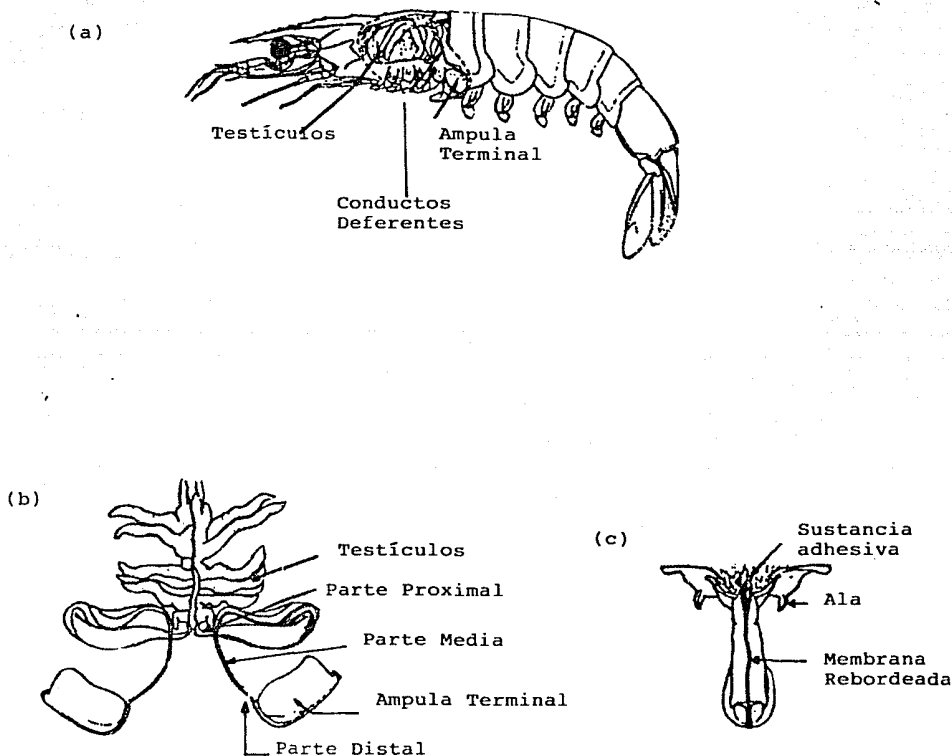


Fig.14 (a) Vista lateral de un macho de Penaeus setiferus mostrando los órganos reproductores.
 (b) Esquema del aparato reproductor del macho mostrando los testículos, parte proximal, parte media, parte distal y ámpula terminal.
 (c) Vista ventral del espermatóforo (como se observaría si estuviese adherido).