

03474



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**ASPECTOS DE LA MADURACION Y CALIDAD REPRODUCTORA DE Ponaeus  
setiferus EN CONDICIONES CONTROLADAS EN TUXPAN, VERACRUZ**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
Maestra en Ciencias**

**Biología de Sistemas y Recursos Acuáticos.**

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

**Biol. Graciela Saldaña Fraire**

**MEXICO. D.F.**

**1992**

**TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN**



## **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.

## CONTENIDO

RESUMEN -----	1
INTRODUCCION-----	2
OBJETIVOS-----	7
MATERIAL Y METODOS-----	9
RESULTADOS-----	18
DISCUSION-----	25
CONCLUSIONES-----	35
LITERATURA CITADA-----	36

## RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de la ablación y de la calidad de luz sobre la maduración ovárica de las hembras de *Penaeus setiferus*, en condiciones de laboratorio.

Los mejores resultados en relación a la maduración gonadal se obtuvieron en los métodos de Ablación parcial unilateral y total unilateral, si bien la mayor sobrevivencia se obtuvo en ésta última. El tiempo de maduración promedio en todos los tratamientos fue entre 25 y 30 días.

La combinación de la Ablación total unilateral y la luz verde, promovieron un mayor desarrollo de estadios de maduración de los ovocitos.

En el análisis histológico de los ovocitos de las hembras tratadas con AFU y con ATU se obtuvieron los tres estadios de maduración (II-III-IV), los cuales difirieron significativamente ( $p < 0.05$ ). En las hembras maduras capturadas en el medio natural, se obtuvo solo un estadio de maduración en los ovocitos analizados (IV). Al comparar estos resultados con los obtenidos para el mismo estadio de las hembras tratadas con AFU y ATU, no se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Se determinó el tiempo de regeneración del espermátforo en machos de *P. setiferus* así como el efecto de la estimulación eléctrica sobre la calidad y cantidad de las células espermáticas. En relación a los animales regenerados se observó una disminución en la cantidad de células normales de de % .

La estimulación eléctrica, causó la expulsión total del espermátforo sólo en el 8.3 % de los machos; se observó una expulsión parcial en el 78 % de los casos y no hubo respuesta en el 13.7 % de los animales estimulados.

El tiempo medio de regeneración de espermátforo de los machos que respondieron completamente al estímulo fué de 96 horas.

La cantidad y calidad de las células espermáticas de los machos antes y después de la estimulación eléctrica difirieron significativamente ( $p < 0.05$ ), la cantidad de células normales disminuyeron de  $26.8 \times 10^6$  a  $7.6 \times 10^6$  en espermátforos regenerados; las células anormales aumentaron de  $0.02 \times 10^6$  Cel./espermátforo/animal. El incremento de las células anormales y muertas se relacionó con un aumento de bacterias en la masa espermática y en el ámpula. Esta infección bacteriana se asoció con la necrosis del tejido gonádico.

## INTRODUCCION

Actualmente la producción de camarones del género *Penaeus* ha alcanzado una gran importancia. De acuerdo con (PESCA, 1991) para este año se produjeron via la captura en barcos camaroneros 2484 Toneladas de camarón. En relación con esto México ocupa el 8º lugar en el mundo. Considerando que se han alcanzado los niveles de captura máxima de las poblaciones naturales, numerosos productores han encontrado en la acuicultura una alternativa para elevar la producción. En este contexto, actualmente se ha desarrollado el cultivo de camarón en todo el mundo en granjas camaronerías. A nivel mundial, según Shrimp Farming (1991), México produjo un total de 5 mil toneladas de camarón, ocupando así el tercer lugar.

Tres especies de camarón de importancia comercial, *Penaeus aztecus*, *P. duorarum* y *P. setiferus*, se distribuyen en el Golfo de México. El más abundante en la parte norte es el camarón café *P. aztecus* y en la zona sur los camarones blanco *P. setiferus* y rosado *P. duorarum*.

En relación con esto y por su abundancia, el camarón café ha sido el mejor estudiado (Venkataramiah et. al., 1974). Sin embargo, estos estudios se han llevado a cabo en las poblaciones pertenecientes a la parte norte del Golfo de México y, como ha sido señalado Levinton (1983), la latitud es un factor importante en las diferencias fisiológicas entre poblaciones. Si se considera que de las respuestas fisiológicas de los organismos depende la sobrevivencia ante los cambios del medio, entonces es de esperar que los estudios realizados en climas templados sean poco extrapolables a las condiciones tropicales de nuestro país.

El camarón blanco *P. setiferus* ha sido seleccionada para este

estudio debido a que es una especie nativa del Golfo de México y con un crecimiento más rápido que el de *P. aztecus* en estanques de cultivo (Parker y Holcomb, 1973 *vide in* Brown et. al., 1979). Para la reproducción esta especie requiere que las hembras maduren sexualmente antes de realizar la cópula debido a que, al presentar telico abierto, la cópula sólo se da algunas horas antes del desove. Para la fertilización se utiliza la técnica de inseminación, la cual ha sido una alternativa para la obtención de desoves viables al no poder obtener cópulas naturales en condiciones controladas. Reportes recientes han demostrado que es factible obtener cópulas naturales en cautiverio si se proporcionan las condiciones adecuadas (Remos comunicación personal).

Otras características que hacen adecuada esta especie para su desarrollo en cultivo incluyen la tolerancia a la salinidad, el amplio espectro alimentario y la facilidad de obtener hembras silvestres copuladas, lo cual coadyuva a la obtención de larvas en condiciones de laboratorio.

De acuerdo con Aguilar (1988) los picos de reproducción de *P. setiferus* en la región sur del Golfo de México se dan durante los meses de Mayo y Octubre, asociados con un incremento de la temperatura después del invierno ( $24-26^{\circ}\text{C}$  a  $28^{\circ}\text{C}$ ) y con una disminución de esta después del verano ( $30-32^{\circ}\text{C}$  a  $28^{\circ}\text{C}$ ).

Uno de los aspectos más importantes en la camaronicultura es la reproducción controlada, la cual tiene como ventajas elevar la productividad y proporcionar un producto de mejor calidad que el obtenido en el medio natural. La posibilidad de controlar las características de los reproductores en ambientes controlados proporciona ventajas sobre la heterogeneidad de los organismos capturados en el medio natural.

La disponibilidad y bajo costo de las especies nativas fueron

inicialmente usados como factores para definir la factibilidad comercial del cultivo de camarón. De esta evaluación se ha observado que las especies del género *Penaeus* son adecuadas para el cultivo. Las especies nativas evaluadas, en orden decreciente de productividad en estanques, son: *Penaeus vannamei*, *P. stylirostris*, *P. setiferus*, *P. occidentalis*, *P. aztecus*, *P. californiensis* y *P. duorarum*. Las primeras 3 especies presentan telico abierto, lo cual es significativo en términos de los procedimientos usados para la maduración y reproducción de estos camarones en cautiverio. Otras especies que han sido evaluadas en los Estados Unidos, Cuba, Venezuela, Colombia y Brasil son *Penaeus schmitti*, *P. notialis* y *P. paulensis* (Lawrence, 1985).

En la actualidad el cultivo de camarones peneidos ha adquirido especial importancia para nuestro país. Para esta actividad, México cuenta con 8000 ha cultivadas, las cuales se han desarrollado fundamentalmente en las áreas costeras del Pacífico. Con 10 000 km de costa, México tiene un gran potencial para el cultivo del camarón.

Entre las regiones en donde aún no ha sido desarrollada tal actividad se encuentran las zonas costeras del Golfo de México, en donde se espera que en los próximos años se construya una gran cantidad de granjas, para aumentar la producción y por tanto la exportación de este preciado producto marino.

Sin embargo, a pesar de este potencial, en la actualidad no existe información publicada relacionada con las posibilidades de obtener postlarvas de las especies del Golfo de México, lo que ha provocado que las granjas actualmente proyectadas establezcan el uso de especies foráneas como *Penaeus vannamei* para su producción.

La introducción de especies foráneas a un ambiente como el

Golfo de México puede tener consecuencias graves en cuanto al impacto que puedan provocar estas especies en la estructura de las comunidades. Cabe mencionar las alteraciones en las relaciones de competencia, depredación y parasitismo, así como la presencia de enfermedades específicas. Una opción viable para salvar los problemas arriba mencionados es el desarrollo de los métodos que permitan una reproducción fácil en condiciones controladas.

La tecnología para controlar la reproducción de camarones peneidos en cautiverio es relativamente joven. En la actualidad, existen por lo menos 17 especies de peneidos que han sido madurados en cautiverio. Los primeros experimentos de maduración con camarones tienen por lo menos 15 años y se han desarrollado en países como Japón, Filipinas, Cuba, Estados Unidos, Ecuador, Panamá y Brasil.

El tiempo necesario para que una hembra en su medio natural pase de un estadio de maduración a otro es aproximadamente de un mes, por lo que el ciclo normal es de 4 a 5 meses (Guitart *et. al.*, 1978). Este proceso puede reducirse a sólo 3 a 4 días, utilizando la técnica de ablación para inducir el desarrollo ovárico.

La técnica de ablación es uno de los métodos aplicados para la obtención de hembras grávidas y consiste en la extirpación del pedúnculo ocular (Panoose, 1943; O'Connor y Lawrence, 1968; Adiyodi y Adiyodi, 1970).

Este método parte del siguiente criterio: los crustáceos decápodos tienen centros hormonales que se localizan en cada uno de los pedúnculos oculares (Complejo Organo X glándula del seno). La liberación de hormonas por dicho complejo controla funciones como la reproducción y la muda. Al destruir la glándula X se produce un desequilibrio hormonal que acelera el

desarrollo de los ovarios (Adiyodi y Adiyodi, 1970). La ablación ocular puede hacerse por medio de corte, maceramiento del ojo, por una punción y por vaciado del contenido del ojo. Los mejores resultados se han obtenido al extirpar un sólo pedúnculo, con todas sus variantes como son la ablación parcial unilateral, la ablación parcial bilateral, la ablación total unilateral y la ablación total bilateral. (Ramos y González, 1983).

La técnica de la ablación es importante debido a que estimula la reproducción y ha sido utilizada para producir rápidamente la maduración gonadal, además de que pueden tenerse desoves más frecuentes (Holtschmit y Romero, 1991).

Diferentes autores que han aplicado la técnica de ablación en algunas especies de camarones han obtenido la maduración ovárica en un intervalo de 2 a 45 días, dependiendo de la especie de que se trate. Por ejemplo, Primavera *et. al.*, (1978) han obtenido un 50% de maduración para *Penaeus monodon* con la ablación parcial unilateral mientras que Ramos y Primavera (1986), lograron la maduración gonadal y obtuvieron una reducción en el periodo de maduración ovárica de 4 meses a 3 a 4 días, al practicar ablación parcial unilateral en *P. notialis* y *P. shmitti* (Ramos y González, 1983).

Santiago (1977) comparó la ablación unilateral y bilateral de *P. monodon* y encontró que el desarrollo ovárico fue rápido comparado con los controles, aunque con la ablación bilateral se obtuvo una alta mortalidad.

Por otro lado, en cuanto a la fecundación artificial en los machos algunos investigadores han propuesto que el uso de estimulación eléctrica para la obtención de espermatóforos es un método adecuado para camarones peneidos (AQUACOP, 1983; Sandifer (1984). Esta técnica ha sido exitosa con *Macrobrachium*

*rosembregii*, *Palaemonetes pugio*, *P. vulgaris* y *Sicyonia ingentis* (Sandifer y Lynn, 1980) y con *Homarus americanus* (Kooda-Cisco y Talbot, 1983).

A pesar de que la técnica es adecuada, no se tienen informes en donde hayan sido evaluados el tiempo necesario para la regeneración del espermatoforo y la calidad del esperma de los camarones peneidos eyaculados mediante estímulos eléctricos.

En consideración de la necesidad de contar con una tecnología propia para la producción de postlarvas de *P. setiferus*, el presente trabajo tiene como objetivos:

a).-Determinar el efecto de la ablación y calidad de luz bajo diferentes longitudes de onda sobre la maduración ovarica de hembras de *Penaeus setiferus* en condiciones de laboratorio.

b).-Establecer el tiempo de regeneración del espermatoforo después de la estimulación eléctrica y los efectos de ésta técnica sobre la calidad y cantidad de las células del esperma, así como también el estado general de la ampula terminal de *P. setiferus*.

## MATERIAL Y METODOS

### Maduración de las hembras

Los ejemplares fueron capturados en la Laguna de Tamiahua, con una red de tipo cuchara. Esta laguna se encuentra ubicada en la porción media del Golfo de México a los 21° 28' Latitud Norte y 28° 23' Longitud Oeste (Fig. 1).

Una vez que los organismos se recuperaban del estrés producido por la captura, eran transportados hacia el laboratorio en un lapso no mayor de una hora, en bolsas de polietileno con 20 litros de agua de mar saturada de oxígeno. La temperatura de transporte era disminuida con hielo hasta  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con el fin de reducir el estrés producido por la captura. En estas condiciones se ha observado que una medida apropiada para desacelerar el metabolismo, es la reducción de la temperatura del agua, por lo que los organismos se encuentran aletargados al disminuir su metabolismo a un mínimo observándose una mayor sobrevivencia.

Los animales fueron aclimatados por un periodo de 48 horas en estanques de 2100 l de capacidad, con airación continua y alimentación tres veces al día, con el objeto de que se recuperaran del transporte y se adaptaran a las condiciones de cautiverio.

Los organismos inmaduros que se seleccionaron para aplicarles el método visual de diferenciación de estados de madurez, descrito por Guitart y Quintana (1978), fueron inducidos a la maduración empleando la técnica de ablación parcial unilateral (Primavera, 1978). Esta técnica sólo se aplicó a las hembras, ya que se ha comprobado que los machos maduran normalmente en condiciones de cautiverio. Previo a la ablación, los organismos se desinfectaron en un baño de formol de 15 a 25ppm (Ramos, 1990).

Una vez ablacionadas las hembras se colocaron en estanques de maduración, redondos de color negro de 1 000 litros de capacidad, con airación constante y un recambio continuo de agua de 120% por día. El agua utilizada, previamente se filtró por medio de cartuchos de 20  $\mu\text{m}$ . Los camarones permanecieron a una densidad de 300  $\text{g}/\text{m}^2$ .

Para todas las fases experimentales se tomaron parámetros fisicoquímicos dos veces al día. La temperatura se midió con un termómetro digital de 1°C de precisión, el oxígeno disuelto con un oxímetro y sensor polarográfico (YSI S4 ARC  $\pm 0.1$  y 0.05  $\text{mg}/\text{l O}_2$ ), la salinidad con un salinómetro de inducción (YSI  $\pm 0.5$   $\text{mg}/\text{l}$ ) y el pH con un potenciómetro de campo (Corning  $\pm 0.01$ ).

La alimentación fue proporcionada al 5% de su biomasa durante cuatro veces al día y estuvo compuesta de ostión, calamar y camarón.

En el presente estudio, se realizaron tres experimentos en los cuales se evaluó el efecto de la ablación y la calidad de la luz sobre la maduración ovárica de las hembras teniendo en cuenta la sobrevivencia, y el porcentaje de hembras maduras.

## EXPERIMENTO 1

Se colocaron 3 estanques con 12 hembras en cada uno de ellos. Los tipos de ablación que se llevaron a cabo fueron la parcial unilateral y la total unilateral, se hizo una incisión en el globo ocular con un bisturí redondeado, tomando la base del pedúnculo ocular entre los dedos índice y pulgar y presionando de forma tal que el contenido del mismo fuera exudado a través de la incisión. Este procedimiento se llevó a cabo dentro del agua para evitar resecamiento en las branquias. En la segunda variante se hizo lo mismo pero después de expulsar el

contenido, el pedúnculo se ligó con hilo de nylon en la base, para evitar la pérdida de la hemolinfa e infecciones posteriores. En unos días el pedunculo ligado se caía.

Los tratamientos dados a los organismos de cada estanque fueron:

Estanque 1.- hembras ablacionadas ( vaciadas): APU

Estanque 2.- hembras ablacionadas (vaciadas y ligadas): ATU

Estanque 3.- hembras control. ( sin ablacionarse )

El periodo experimental de esta primera fase duró 31 días.

Se realizaron observaciones dos veces al día para determinar la evolución de la maduración gonádica de las hembras. Estos datos se expresaron en % de hembras por cada uno de los estadios de maduración por cada semana experimental. Así mismo se estableció la frecuencia de la ecdisis, así como la mortalidad ocurrida durante los experimentos de la siguiente manera:

$$\text{Número de mudas/día de tratamiento} = \frac{\# \text{ total de mudas}}{\# \text{ total de días del experimento}}$$

$$\text{Número de mudas/animal/día} = \frac{\# \text{ total de mudas}}{\# \text{ total de animales}}$$

Para determinar el estadio de maduración ovárica en el que se encontraban las hembras se observó el color de la gónada en las regiones visibles del cefalotórax y abdomen utilizando la siguiente escala propuesta por Guitart y Quintana (1978):

Estadio I.- Inmadura, los ovarios no son visibles a través del exoesqueleto dorsal.

Estadio II.- Maduración temprana aparecen los ovarios delgados desde la porción anterior a la posterior del exoesqueleto. Coloración amarillo claro.

Estadio III.- Maduración avanzada, ovarios más gruesos y apariencia oscura ,al ponerla a contra luz, ocupa la porción cefalotorácica casi completa. La coloración es amarillo oscura y con pigmentaciones verdosas.

Estadio IV.- Maduro, ovarios muy gruesos, con una constricción en los lóbulos del ovario correspondientes al primer segmento abdominal, lo cual se hace más evidente en dicho estadio. La coloración es mostaza con pigmentos pardos.

Se tomaron en cuenta las medidas del largo total del camarón en centímetros con una regla graduada de 0.1 cm de precisión considerando desde la espina rostral, hasta el final del telson, y el largo del cefalotórax, desde la base del ojo hasta el final del telson. El peso se obtuvo con una balanza digital de 0.01 g de precisión.

## EXPERIMENTO 2

Se colocaron 3 estanques con 12 hembras en cada uno de ellos. Las hembras inmaduras para esta fase fueron inducidas a la maduración empleando las técnicas de ablación total unilateral y parcial bilateral de los pedúnculos oculares.

La segunda variante utilizada se llevó a cabo de la misma forma que el experimento anterior, pero se probó el efecto de la ablación bilateral. La duración de este experimento fue de 13 días.

Los tratamientos dados a los organismos de cada estanque fueron:

Estanque 1 - hembras ablacionadas (vacías y ligadas): ATU.

Estanque 2 - hembras ablacionadas (vacías): APB.

La evaluación de la maduración, y el resto de las observaciones

se realizaron siguiendo los mismos criterios establecidos en el primer experimento.

### EXPERIMENTO 3

Se utilizaron 3 estanques con 4 machos y 7 hembras en cada uno. A las hembras se les practicó la ablación total unilateral. En esta fase experimental se usó un gradiente de luz, con un fotoperíodo de 11 horas de luz y 13 de oscuridad, probando así 3 calidades de luz con diferentes colores: blanca, verde y azul. La duración de este experimento fue de 30 días.

Se realizó la prueba chi-cuadrada tomando en cuenta la ocurrencia de estadios maduros (III-IV) e inmaduros (I-II) al final del experimento con una confiabilidad del 95%,

#### ANALISIS HISTOLOGICO

Para el análisis de la maduración se utilizaron los criterios aplicados en el experimento 1. Así mismo se realizó un análisis de las características histológicas de las gónadas de las hembras maduras bajo estas condiciones.

Para el análisis de los ovarios se tomaron muestras de los camarones de los experimentos 2 y 3, después de concluir los experimentos de ablación. Se seleccionaron las hembras que presentaron estadios evidentes de maduración según la escala de Guitart y Quintana (1978). Se realizaron cortes histológicos transversos de 6 a 10  $\mu$  de grosor tomados de la región anterior de cada uno de los ovarios disectados. Se empleó el método de inclusión en parafina y tinción con Hematoxilina y Eosina. En la determinación de los estadios microscópicos de los ovocitos se utilizó la clasificación dada por Guitart y Quintana (1978).

Se efectuaron mediciones de los ovocitos, considerando 50 de cada muestra para cada uno. Se determinó el diámetro medio de

los ovocitos en la región anterior del ovario para las hembras disectadas. Estas mediciones se realizaron con la ayuda de un micrómetro ocular.

Mediante el método de Sturgens, se determinó la distribución de frecuencias de las diferentes clases de diámetros a intervalos de 6  $\mu$ m para la región anterior en el estadio IV de hembras de maduración natural e inducida y de 3  $\mu$ m para todos los estadios II, III y IV de maduración inducida.

Se corroboró si ambas escalas, tanto macroscópica, como microscópica, corresponden a los estadios de maduración ya propuestos. Además se llevaron a cabo comparaciones de la morfología de los ovocitos en las gónadas de las hembras con maduración inducida y con las hembras provenientes del medio natural.

Se realizó la prueba de "T de student" para comparar los diámetros de ovocitos procedentes de hembras con maduración natural y maduración inducida en estadio IV.

Para comparar las mediciones realizadas a los ovocitos de hembras con maduración inducida en estadios maduros e inmaduros se realizó un ANOVA de clasificación simple y las medias se compararon por la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Para determinar las clases de edades en la distribución de frecuencias de los ovocitos de ovarios maduros en condiciones de cautiverio se empleó el programa para computadora ELEFAN (*Electronic length frequency analysis*) Ver 2.1.

En todos los casos se consideró una confiabilidad del 95 % ( $P < 0.05$ ).

### Maduración de los machos.

Los machos adultos de *P. setiferus* fueron colectados en la zona costera del NW del Golfo de México, específicamente al norte del estado de Veracruz. Sesenta adultos fueron seleccionados con un peso húmedo de 16 a 47 g y colocados en tanques de fibra de vidrio de 2500 l por 48 horas para su aclimatación. Durante este tiempo el agua de mar fue parcialmente cambiada al 50 % y mantenida a  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 34 o/oo,  $\text{pH } 8.21 \pm 0.5$ ,  $\text{N-NH}_3 < 0.02$  mg/l y una concentración de oxígeno mayor de 5 mg/l. El agua de mar fue filtrada a través de un filtro de cartucho de 20  $\mu$ . Los camarones fueron alimentados con una mezcla de camarón fresco congelado, calamar y ostión dos veces diariamente, al 10 % de su peso durante la aclimatación y períodos experimentales. Un 100 % de sobrevivencia fue registrado durante ese tiempo.

Una vez finalizado el tiempo de aclimatación los camarones fueron estimulados eléctricamente. Ninguno de los animales mostró melanización del ápula terminal como ocurre para *P. setiferus* (Chamberlain et. al., 1983). Un sistema similar al descrito por Sandifer et. al., (1984) fue usado para la estimulación eléctrica y éste consistió de una fuente de bajo voltaje conectada a dos electrodos que fueron colocados en la base del quinto par de pereopodos y un solo estímulo de 4.5 V fue aplicado por un segundo. Los espermatóforos fueron removidos con pinzas después de la contracción muscular. Estos animales fueron entonces marcados sobre el cefalotorax y los espermatóforos fueron mantenidos en una solución salina libre de calcio por una hora. Los camarones fueron colocados en grupos de 10 con agua marina de la misma calidad que la usada en el mismo período de aclimatación.

La calidad del esperma obtenido antes y después de la regeneración fue evaluada a través del contenido celular del esperma, así como también la viabilidad de las células. Esto último fue obtenido a través de la cuantificación del número de

celulas espermáticas teñidas con azul de trypan. El número de celulas normales y anormales fue registrado. Las celulas anormales fueron reconocidas por malformaciones de la cabeza o la ausencia de la cola (Leung- Trujillo y Lawrence, 1987).

Los camarones fueron revisados en el exterior para verificar la regeneración. La estimulación del camarón en el que un nuevo espermátóforo era visto, se repetía. Estos camarones fueron colocados de nuevo en el tanque para una segunda regeneración. Como todos estos animales murieron, los resultados presentados se refieren sólo a los de la primera estimulación-regeneración. El espermátóforo regenerado fue analizado y comparado con aquellos obtenidos a través de la primera estimulación. Observaciones macroscópicas del ámpula terminal fueron también llevadas a cabo para detectar cambios en el órgano y algunas características macroscópicas del síndrome de degeneración del tracto reproductivo de los camarones machos (SDTRM) fueron tomadas en cuenta.

Una relación fue obtenida entre el número de celulas normales y se empleo el peso del camarón antes y después de la regeneración. Se utilizó el modelo logístico de Brower y Zar (1977):

$$C = \frac{K}{1 + e^{-m(W)}}$$

donde C es el número de células \* 10<sup>6</sup>/espermátóforos/animal, K es el Máximo promedio de células de esperma cuando la curva se hace asintótica, m es la pendiente, e es la base de logaritmos naturales, w es el peso del camarón vivo y a es una constante.

El número promedio de células del esperma de camarón con peso mayor de 36 g fue usado para calcular K. El valor para m fue obtenido a partir de la relación lineal entre  $\log [(K - N_w) / N_w]$  y peso (W). Un análisis de mínimos cuadrados fue llevado a cabo para probar la habilidad predictiva del modelo (Zar, 1974)

La prueba de T student fue aplicada para comparar el número de celulas antes y después de la estimulación. Una transformación V arc-seno fue usada antes del análisis de los valores porcentuales (Zar, 1974).

## RESULTADOS

### EXPERIMENTO 1

En la figura 2 se observaron variaciones en la temperatura con un mínimo de 27 °C y un máximo de 29 °C durante el período experimental y con fluctuaciones diarias de 0.05 a 2°C. La salinidad tuvo un mínimo de 29 ‰ y un máximo de 34 ‰. Las variaciones fueron de 4%. El oxígeno presentó oscilaciones de 6.9 a 7.4 mg/l y el pH de 6.5 a 8.0. Estos dos factores estuvieron íntimamente relacionados sin presentar cambios bruscos.

En la figura 3 de la correlación entre la frecuencia de mudas y la temperatura se observó un aumento de la frecuencia de mudas con la disminución de la temperatura., Esto sucedió entre los días 6 y 10 y los días 18 y 21, en el grupo control y en los dos tratamientos.

En este estudio se observó que las técnicas empleadas para la ablación de los pedunculos provocaron una sobrevivencia satisfactoria, ya que solo en la APU hubo una mortalidad del 25% de los 12 animales experimentados. En estas condiciones que puede la mortalidad considerarse baja

El número de hembras mudadas/día por tratamiento osciló entre 0.63 y 0.67 y el número de mudas por animal fue de 0.05 y 0.06 lo cual se puede considerar bajo (Tabla 1).

En la tabla 2 y figura 4 se observó la respuesta a la maduración. Como se puede apreciar la maduración se inició a partir de la tercera semana para los animales con APU y ATU, ya que el control permaneció en las cuatro semanas en estadios inmaduros (I-II).

La prueba estadística aplicada a este experimento presentó

diferencias significativas con respecto al grupo testigo. No se encontraron diferencias significativas entre los animales a los que se realizaron los dos tipos de ablación.

## EXPERIMENTO 2

En la figura 5 se muestran las variaciones de la temperatura, durante el segundo experimento. Durante este período la mínima temperatura fue de 25 °C y la máxima de 29 °C con fluctuaciones diarias de 0.5 a 2°C. La salinidad varió de 31 ‰ a 33‰ con unas modificaciones diarias de 3 ‰. El oxígeno se mantuvo entre 5 a 7 mg/l y el pH entre 6 y 8.

En la relación de la frecuencia de mudas con la temperatura (Fig. 6) los tratamientos de la ablación unilateral y bilateral se observó un comportamiento similar al experimento anterior. Cabe destacar que aunque se presentó una alta frecuencia de mudas en el APB no hubo una relación clara con respecto a la temperatura. Se observó que desde el segundo día los animales empezaron a mudar hasta el día 15. En cuanto a la ablación unilateral, en el día 10 hubo una disminución brusca de la temperatura de 28.5 °C a 25°C, lo cual incrementó el número de mudas en los días posteriores (Fig. 6). En la tabla 3 se observaron altos índices de mudas para la APB con relación a la ATB. En el tratamiento de APB se obtuvo un 83.33 % de maduración temprana (estadio III) a partir de la primera semana. Se considerarán las hembras en este estadio solamente por el desarrollo de la gónada ya que la coloración en lugar de ser amarilla fue de color crema, hubo un estancamiento en este grupo de animales ya que permanecieron en estadio III hasta la tercera semana. En el tratamiento ATU no se observó maduración permaneciendo en estadios inmaduros (I-II) en las tres semanas.

En la prueba estadística aplicada presentó una diferencia significativa entre ambos tratamientos ( $p < 0.05$ ).

### EXPERIMENTO 3

En la figura 8. Se representan las variaciones de los parámetros físicoquímicos durante el experimento 3. En este caso la temperatura presentó variaciones entre 22 °C y 30°C, con fluctuaciones diarias de .05 a 2°C, la salinidad osciló entre un mínimo de 30 ‰ y un máximo de 33 ‰, con variaciones diarias máximas de 3 ‰. Estas variaciones comenzaron a partir del día 18, ya que hasta ese día la salinidad se mantuvo estable en 32 ‰.

El intervalo de valores para el oxígeno fue de 5 a 7 mg/l y el del pH de 6.5 a 8.

En la figura 9 se representan la relación entre frecuencia de mudas y la temperatura. Aquí no se observó una aparente relación entre ambos parámetros, aunque puede notarse que en el día 7 y 22 hay una pequeña disminución de la temperatura y un aumento de la frecuencia de mudas en el tratamiento con luz de color blanco.

En la tabla 5 se observa que la mayor sobrevivencia fue la del tratamiento de luz blanca con un 100% seguido por el color el azul con 85.71 % y por ultimo el verde con 71.42%. El número de mudas/tanque/día fue mas alto en el tratamiento de luz blanca con un valor de 0.40 y en los otros tratamientos fue de 0.26.

En la tabla 6 y la figura 10. Se pueden observar las variaciones entre el porcentaje de maduración en las distintas calidades de luz. Se observa que el mayor porcentaje de maduración correspondió a los camarones expuestos al color verde con 60% de hembras con estadios de maduración (III-IV) mientras que el de color azul llega a un 16.66 % de estadios de maduración.

Mediante la prueba estadística aplicada se encontraron diferencias significativas en la respuesta a la maduración de los animales expuestos a la luz a blanca con relación a los tratamientos con luz a verde y azul, pero no entre estos últimos ( $p < 0.05$ ).

#### ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Al final de cada experimento se realizó el análisis histológico de las gónadas de las hembras que presentaron estadios de maduración del II al IV que fueron del experimento 2 y 3. En las fotografías al microscopio óptico se puede observar como la ablación, al alterar el metabolismo general de los camarones, produce una desorganización de la estructura de las gónadas. Esto provocó que en los cortes se observaron ovocitos en diferentes estadios de desarrollo. Así, se encontraron en las hembras maduras ovocitos con las características tanto de animales maduros como organismos inmaduros. En la figura 11 se ve la distribución de frecuencias para las 18 clases de diámetro para ovarios de hembras con maduración inducida en estadios (II-IV)

De acuerdo a las observaciones macroscópicas de coloración y desarrollo de los ovarios, correspondientes a los estadios de maduración (II, III y IV), (tabla 7). Se realizó una ANOVA simple en donde se observaron diferencias significativas entre las medias y la prueba de rangos múltiples de Duncan. Se comprobó que las tres medias eran diferentes ( $p < 0.01$ ) tabla 7. Usando el programa ELEFAN (Batacharia) se obtuvieron cuatro grupos modales, uno para cada grupo de estadios de maduración. figura 12.

Al comparar los estadios de maduración (IV) de ovarios de hembras con maduración natural e inducida se obtuvo la distribución de frecuencias de clases de diámetros (6 clases con 3 mm de intervalo) figura 13.

No se obtuvo diferencia significativa entre los diámetros de los ovocitos medidos en ambos grupos de animales, la tabla 9 muestra la estadística descriptiva de dos grupos y los resultados de la prueba de "T de student".

#### MADURACION DE LOS MACHOS

De los 60 camarones estimulados electricamente sólo 5 expulsaron el espermátforo totalmente (8.3 %) el resto (75 %) parcialmente expulsaron el contenido de ambas ampulas terminales y solo el 3.3 % expulsó una parte del espermátforo. El resto (13.3 %) no respondieron a los estímulos.

Las relaciones entre el número de células de espermato normal y peso corporal fue adaptado a la curva logística (Fig.14). Un valor máximo de 45.37 millones de células / espermátforo (K) y m de .24. Para este modelo se obtuvo un coeficiente de correlación (r) de .89 y una  $p < 0.0001$ .

Después de realizada la primera estimulación eléctrica y durante los 7 días de observación no se observó mortalidad entre los camarones.

Después de la estimulación la regeneración se observó hasta las 72 horas y solo en un 20 % de los camarones (tabla 9) . El 80 % de regeneración se observó después de 168 h y el tiempo medio de regeneración se obtuvo a las 96 h de la estimulación. En el 20 % restante se ubicaron los camarones que regeneraron solo el contenido de una ampula terminal o no regeneraron.

En todos los animales regenerados y en relación con los valores, iniciales se observó una disminución en la cantidad de células normales asociado con un aumento en las células anormales y células muertas (tabla 9). Las células normales disminuyeron en un 71.6 % con variaciones entre 64 y 77 % lo cual significó una reducción de 26.8 millones cel /

espermátforo a 7.6 millones cel / espermátforo en animales regenerados (Tabla 11) La cantidad de celulas anormales aumentó de .02 millones a 3.8 millones cel / espermátforo después de que los camarones fueron estimulados electricamente. Asi mismo la cantidad de celulas muertas pasó de 0 % a 28.3 en animales regenerados. De esta forma se observó que durante la regeneración, el total de celulas espermáticas disminuyó en un 40.7 % de las cuales el 47.8 % fueron celulas normales, 23.9 anormales y 28.3% celulas muertas. Tambien se observó que la cantidad de celulas normales en los animales regenerados no presentó ninguna relación aparente con el peso corporal ( Fig.14 a y b ) .

En cuanto a las características macroscópicas de las ámpulas de los camarones regenerados se pudo notar la presecia de areas necrosadas en un 60 % de la ámpulas terminales analizadas. Se observó una mayor incidencia de la necrosis en la apertura del gonopóro que en las regiones internas de la ámpula. Aunque no se cuantificó se pudo observar una gran cantidad de bacterias en la masa espermática asociada con las ámpulas necrosadas. Al hacer la disección de las ámpulas de los animales que regeneraron parcialmente se observó un cambio en la coloración y la turgencia siendo estas menos blancas y flácidas en comparación con las de los animales antes de la regeneración. En el contenido de la ámpula que no regeneró, se encontraron fragmentos del ala y restos de la matriz adhesiva mezclada con la masa espermática la cual fue identificada por la presencia de unas pocas celulas espermáticas. En estas ámpulas se observaron areas necrosadas al interior asociadas con gran cantidad de bacterias. En los camarones no regenerados, las ámpulas presentaron características similares a las de los regenerados parcialmente, aunque en estos animales los restos de células espermáticas y estructuras del espermátforo fueron observados en ambas ámpulas. La necrosis del ámpula fue también mas evidente en estos animales.

## DISCUSION

En el presente estudio los parámetros físico-químicos se mantuvieron dentro de los intervalos adecuados para la maduración de las hembras de *P. setiferus*. Así, la temperatura varió entre  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , la salinidad entre  $32 \pm 2\%$ , el pH entre 7 y 8 y el oxígeno disuelto entre  $6 \pm 1$  mg/l.

Se ha demostrado que la manipulación de las hembras de *Penaeus setiferus* es posible en condiciones de laboratorio. La factibilidad de obtener hembras maduras para la producción de postlarvas en estas condiciones ha quedado también demostrada. De acuerdo con varios autores, la ablación de los pedúnculos oculares es un método adecuado para estimular la maduración de las hembras de camarones peneidos. Así se han obtenido hembras maduras con *P. monodon* (Primavera, 1978), *P. schimitti* (Ramos y Primavera, 1986) *P. vannamei* (AQUACOP, 1979; Chamberlain y Lawrence, 1981; Chamberlain y Gerbais, 1984), *P. stylirostris* (AQUACOP, 1979; Brown, et al., 1980), *P. californiensis* (Moore, et al., 1974), *P. aztecus* (Duronslet et al., 1975; AQUACOP, 1975), *P. duorarum* (Caillouet 1972), *P. notialis* (Ramos y Torres, 1986) *P. monodon* (Santiago, 1977) y *P. setiferus* (Brown et al., 1979; Lawrence et al., 1985). Este estudio es el primero en el que se reporta la obtención de hembras maduras en cautiverio en la región tropical del Golfo de México.

De los resultados obtenidos ahora se ha podido observar que la ablación unilateral puede ser aplicada al cortar totalmente los pedúnculos ó al extraer únicamente el contenido del pedúnculo. En ambos casos la sobrevivencia y la maduración fueron positivas. Las diferencias obtenidas en la sobrevivencia de las hembras ouclectomizadas totalmente y las

ligadas se puede asociar con la pérdida de la hemolinfa después del corte del pedúnculo. Este efecto puede reducirse enfriando con hielo la región operada. En este sentido, Ramos y Primavera (1986) han señalado a la ablación parcial unilateral como el método más apropiado para la obtención de hembras maduras de *P. schmitti* con alta sobrevivencia.

En cuanto a la respuesta de los organismos operados por el método APB se observó una baja sobrevivencia y una alta frecuencia de muda. Es posible que el estrés al que se someten las hembras durante la operación influya de manera negativa en ellos. La desestabilización del metabolismo al estar ausentes ambos pedúnculos, produce un desequilibrio general el cual impide la maduración y provoca la muerte. Esto último podría estar asociado con el debilitamiento de las hembras por falta de alimento, el cual les es difícil de obtener en los tanques.

Entre los factores del medio que determinan la maduración de las hembras de *P. setiferus* en ambientes controlados se encuentra la temperatura. En este estudio se ha podido observar cómo variaciones desde 0.5°C pueden alterar el proceso de maduración. En este sentido un aumento de la frecuencia de las mudas asociado con los cambios en la temperatura es el síntoma inequívoco de la reabsorción de las gónadas, con el consecuente retraso en la maduración. Aún cuando no hay reportes en los cuales se haya establecido una relación entre la frecuencia de muda, la maduración y la temperatura, Ramos (comunicación personal) ha observado este mismo efecto en *P. schmitti*.

En relación con el tiempo de maduración de 25 a 30 días aquí obtenido, Brown et al., (1979) encontraron que *P. setiferus*

en cautiverio y con ablación unilateral, tarda en madurar entre 25 a 35 días, lo cual cae dentro de los tiempos reportados en el presente estudio. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Ramos y Primavera (1986) quienes reportaron la obtención de hembras maduras entre 3 y 6 días en una especie filogenéticamente muy cercana a *P. setiferus*, como es *P. schmitti*. Aún cuando en este estudio se alimentó a los animales con una dieta compuesta de calamar, ostión y camarón frescos, al igual que otros estudios, no fué posible reducir el tiempo de maduración en *P. setiferus*. A este respecto Brown et al., (1979) han reportado que la lentitud de *P. setiferus* para la maduración en condiciones controladas obedece a las condiciones climatológicas asociadas con el origen de las poblaciones. Así estos autores proponen que por ser de origen templado, los procesos de maduración son aún más lentos que los que se obtienen en especies de origen tropical. Aún cuando es necesario realizar mayor número de investigaciones que permitan concluir al respecto, llama la atención que una especie que se distribuye también en aguas tropicales puedan guardar relación con las características genéticas asociadas con las poblaciones de las regiones templadas. Factores nutricionales sumados a las características del agua en cada zona y los factores intrínsecos de la especie, pueden ser los responsables de una respuesta tardía, como la observada en *P. setiferus*.

El período de latencia desde la ablación a la maduración y desove va de tres días a dos meses, dependiendo de la edad y fuente de los progenitores, estadio del ciclo de la muda y otros factores en el momento de la ablación. *P. monodon* subadultos capturados en manglares maduran en 40 días y desovan a los 69 días después de la ablación comparado con un mínimo de tres días para progenitores adultos del mar.

Otro ejemplo en *P. monodon* de mar costero del océano Indico, toman solamente 4-5 días para desovar después de la ablación, en contraste a 20-30 días de hembras de regiones esturinas. También se han visto diferencias en el período de latencia para progenitores silvestres y criados en cautiverio dando éstos últimas respuestas mas lentas en *P. keraturus*. (Primavera, 1984).

Así podría ser que también el período de latencia observado en este estudio podría estar asociado con el origen estuarino de las hembras utilizadas. En relación con la calidad de la luz utilizada, el experimento ahora desarrollado parte de la consideración de que dentro del espectro de luz visible, las longitudes de onda que penetran entre los 15 y 20 metros de profundidad en las zonas costeras del Golfo de México donde se reproduce *P. setiferus*, caen dentro del intervalo de la longitud de onda de la luz azul y verde (Wurts y Stickney, 1984). De los resultados obtenidos ahora se ha demostrado que es la luz verde la que promueve mas el desarrollo de la maduración, una baja en la frecuencia de mudas y una alta sobrevivencia. Cabe aclarar que en el experimento con luz blanca se observó la mas alta frecuencia de mudas.

El efecto de la luz en los camarones peneidos pudiera estar asociado tanto con las condiciones para la cópula como con las condiciones en las cuales se encuentran los organismos en cautiverio. Los camarones peneidos realizan la cópula en horas de la tarde, cuando la luz del sol es menor.

En estas condiciones, la longitud de onda que penetra a esa profundidad pudiera ser la que promueva la maduración. Cuando

las hembras son colocadas en un ambiente propicio para la actividad reproductiva es posible que se disparen los procesos asociados con esa actividad, comenzando con la maduración. Así mismo, podría establecerse que la longitud de onda del color verde reduzca el estrés al que los animales pudieran eventualmente estar expuestos en el estanque al simular su medio natural. Así al reducirse el estrés habría mayor cantidad de energía disponible para la maduración lo cual se reflejaría en los resultados obtenidos ahora.

Así, la ablación parcial unilateral aunada a una longitud de onda que estimule las condiciones de la actividad reproductiva ó reduzca el estrés en cautiverio, serán las mejores condiciones para la obtención de hembras maduras de *P. setiferus*. Cabe destacar que estas condiciones sólo serán exitosas en un marco ambiental estable, en el cual la temperatura juega un papel fundamental.

De las observaciones macroscópicas realizadas en relación con el cambio de la coloración de las gónadas y la maduración se pudo notar que el color observado en los organismos experimentales no siempre correspondió a los estadio de maduración propuesto por Guitart (1978).

En este estudio se obtuvo que algunas de las hembras que presentaron estadio de maduración IV macroscopicamente en el análisis histológico presentaron estadio de maduración II, esto se debe a que ocurrió un proceso de reabsorción. Las hembras de estadio de maduración II<sup>+</sup> - III por el color estaban realmente en IV y/o a punto de desovar.

Un factor importante en la maduración es la relación que guarda ésta con los pigmentos carotenoides del ovario. Este

cambio se hace visible en la mayor parte de los crustaceos, caracterizanado los estadios de maduración de las hembras. La concentración de los pigmentos carotenoides totales en el ovario pasa de 39.3 a 463.37/g de peso fresco del organo en *P. schmitti*, mientras que en el hepatopáncreas la concentración alcanza un máximo de 558.2 g/g, estabilizandose al final de la maduración (Vincent et al., 1988). El origen hepatopancreatico de los carotenoides del ovario se hace evidente así como de la Zeaxantina monoester como forma de trasferencia de los pigmentos del hepatopancreas hacia el ovario.

#### Análisis histológico

En las hembras maduradas en cautiverio se observaron 3 modas bien definidas para los tres estadios de maduración II, III Y IV ( $p < 0.05$ ).

La comparación de estadio IV de hembras en cautiverio y en el medio natural no mostró diferencias significativas lo cual indica que hubo una maduración satisfactoria, tomando el medio natural como patrón.

A este respecto en *P. notialis* se encontraron 2 grupos modales de ovocitos en las hembras con maduración inducida. Así se supuso que detras de un grupo de ovocitos maduros viene otro grupo de ovocitos en proceso de maduración (Ramos y Torres, 1986). En el presente estudio se observó en el estadio IV un solo grupo modal tanto en los madurados en el medio natural como los madurados en cautiverio. En cuanto al diámetro promedio de los ovocitos, segun la literatura los valores mas cercanos a las muestras analizadas son los de *P. setiferus* reportados por Guitart y Quintana (1978) (tabla

10).

#### MADURACION EN MACHOS

Los resultados obtenidos de los machos de P. setiferus al inicio de este estudio indican que los camarones utilizados se encontraron en buenas condiciones y con un promedio de espermatozoides similar al reportado por otros autores, para ésta y otras especies. A este respecto Leung-Trujillo y Lawrence (1985 y 1987) reportaron conteos de 31.9 millones cel/espermatóforo en machos adultos de P. vannamei y entre 39.7 y 54.4 millones cel/espermatóforo en machos adultos de P. setiferus.

En este estudio se presenta el primer reporte de la relación entre el número de células espermáticas y el peso corporal de P. setiferus. Como se puede apreciar, el comportamiento sigmoideal de esta relación evidencia que el número de espermatozoides alcanza un máximo de 45 millones cel/espermatóforo para animales entre 16 y 48g. Así animales mayores de 36g presentarán el mayor potencial reproductivo para la obtención de las células espermáticas aptas para la fertilización de hembras de esta especie.

En el presente estudio se observó que la estimulación eléctrica, si bién promueve la salida de los contenidos de las ámpulas terminales, no produce la liberación total del espermatóforo. Esto implica que, para la obtención de las células espermáticas, es necesario aplicar una manipulación extra al obtener el espermatóforo por extracción manual con pinzas. Para ésto hay que ejercer una pequeña presión en la base del ámpula que permita la extracción de sus contenidos con mayor facilidad.

El ámpula terminal de P. setiferus es muy grande en relación con el tamaño de la apertura del gonópodo además de que el espermátforo es grande y complejo (King, 1948; Pérez-Farfante, 1975). Estas características anatómicas hacen difícil el que los camarones expulsen totalmente el espermátforo con una contracción muscular provocada por la electroestimulación (Sandifer et al., 1984). El uso de una mayor descarga eléctrica ó de un mayor número de estímulos como alternativa para la obtención del espermátforo ha causado la muerte de los camarones en este y otros estudios (Sandifer et al., 1984). En el total de animales estimulados que presentaron algún tipo de respuesta no se presentó mortalidad. Estos resultados coinciden con lo obtenido por Chow (1982), para M. rosebergii y por Sandifer et al., (1984) para P. setiferus.

Sin embargo en los animales regenerados se observó una disminución significativa en la cantidad y calidad de las células espermáticas, lo cual produjo una reducción del 71% en el potencial reproductivo de los animales (Tabla 9). La presencia de bacterias entre la masa espermática de los espermátforos en el 60% de los casos pudiera ser la causa para la reducción del número de células viables. La entrada de las bacterias a través del gonópodo pudiera estar relacionada con una conducta oportunista asociada al estrés general producido durante la estimulación eléctrica (Talbot et al., 1989). En este proceso la manipulación de las ámpulas para la extracción del espermátforo pudiera ser la primera causa de la infección. La aplicación del estímulo y el roce de los electrodos en el ámpula al momento de la contracción muscular y los daños locales en la apertura del gonópodo producidos por las pinzas durante la extracción, destacan como los procedimientos directamente involucrados en la entrada de las bacterias al ámpula. Un obscurecimiento progresivo desde el gonópodo hacia

el interior del ámpula pudiera ser interpretado como una prueba del crecimiento bacteriano hacia el interior de las ámpulas.

Aunque las causas directas de la muerte de las células espermáticas no han sido establecidas, el posible desarrollo de bacterias en la matriz extracelular de la masa espermática pudiera ser la causa para la reducción de células viables y el aumento del número de células anormales y muertas en los espermatóforos de los camarones regenerados. El comportamiento de los resultados obtenidos de la relación entre el número de células espermáticas y el peso de los camarones regenerados evidenció que el efecto de la estimulación eléctrica no está relacionado con el peso ni con el estado de salud de los animales (Bolger y Cannolly, 1989) sino con el estrés al que es sometido cada animal, al proceso de aclimatación y a su propia fortaleza. La muerte del 100% de los camarones después de una segunda estimulación evidenció el estrés que significó para estos camarones el ser sometidos a este tipo de estimulación.

Así pues, aunque la estimulación eléctrica puede ser una alternativa viable para la obtención de espermatóforos en otras especies de camarón como P. vannamei (Sandifer et al., 1984; Leung-Trujillo y Lawrence, 1985), es necesario investigar sobre métodos más adecuados para producir inseminaciones sin manipulación en especies que como P. setiferus no responden fácilmente a la regeneración después de una electroeyaculación y cuya regeneración puede estimular la aparición de características negativas (como el MRTDS) en la reproducción en cautiverio (Rosas, et al., en prensa).

## CONCLUSIONES

1.-Al evaluar el efecto de la maduración gonádica de hembras de *P. setiferus* con tres tipos de ablación, ablación parcial unilateral (APU), total unilateral (ATU) y parcial bilateral (APB), se obtuvieron los mejores resultados en las dos primeras; de éstas, la ATU fué la más adecuada.

2.-La calidad de luz más adecuada para la maduración gonádica de hembras tratadas con ATU fué la luz verde, en la cual se obtuvo un 60 % de estadios III-IV; en la combinación con luz se obtuvo un 16.6 % para los mismos estadios.

3.-El efecto combinado de la ATU y la temperatura fué determinante para la inducción a la maduración, variaciones mayores de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  ocasionaron retraso reabsorción en el desarrollo de la gónada de las hembras de *P. setiferus*.

4.-El color de las gónadas varió de acuerdo con el estadio de maduración, siendo estas variaciones, muy similares a *P. schmitti*.

5.-En las hembras maduras en cautiverio se observaron 3 modas para los tres estadios de maduración (II a IV); se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

6.-Morfológicamente los ovocitos son similares en ovarios de hembras con maduración natural e inducida, solo la disposición de los cuerpos periféricos en los ovocitos de ésta última es irregular.

7.-La distribución de frecuencias de los diámetros de los ovocitos de las hembras del medio natural en estadio IV y de las hembras inducidas a la maduración con ATU y APU son similares ( $p > 0.05$ ).

8.-Así la factibilidad de obtener hembras maduras para la producción de postlarvas en condiciones quedó demostrada.

9.-La técnica de electroeyaculación, promueve, la liberación del espermatóro, aunada a una presión manual, en los machos de *P. setiferus*.

10.-En el análisis de la regeneración del espermatóforo se registró una disminución en la cantidad y calidad de las células espermáticas.

11.-La presencia de bacterias en la masa espermática de los espermatóforos puede ser una de las causas de la reducción de número de células viables.

12.-La segunda estimulación eléctrica del espermatóforo resultó ser letal para los machos.

13.-Se recomienda emplear otro método para estimular la liberación del espermatóforo.

## BIBLIOGRAFIA

Adiyodi, R.G. and ar.G. Adiyodi, 1970. Endocrine control of reproduction in decapod crustacea. Biol. Rev., 45: 121-145.

Aguilar. S.V.A., 1985. Camarones peneidos de la laguna de terminos, Campeche: Composición, distribución y parámetros poblacionales. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. 169p.

AQUACOP, 1975. Maturation and spawning in captivity of penaeid shrimp: *Penaeus merguensis* de man, *Penaeus japonicus* Bate, *Penaeus aztecus* Ives, *Melaneneus ensis* de Haan, Proc. world. Maricult. soc., 6:123-132.

AQUACOP, 1979. Penaeid reared broodstok :closing the cicle of *Penaeus monodon*, *P. stylirostris* and *P.vannamei*. Proc. world. Maricult.Soc., 10:452-455.

AQUACOP, 1983. Penaeid larval rearing in the centre Oceanologique de Pacifique. In J. P. McVey ( Editor ), CRC Handbook of Mariculture, Vol. I. Crustacean Aquaculture. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 123-128.

Arce, R. A., 1989, Cultivo larvario de camarones peneidos. Monografía. Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur. Fac. Ciencias. 89 p.

Bolger, T y Cannolly, P. L., 1989. The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. J. Fish. Biol: 171- 182.

Brower, J. E. y Zar, J. H. 1977. Field and laboratory methods for general ecology. WM.C. Brown Co. Pub 194 pp.

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

Brown, A., J. P. McVey, M.B. Scott and Lawrence, 1980. The maturation and spawning of *Penaeus stylirostris* under controlled laboratory conditions. World. Maricult.Soc., 11: 448.

Caillouet, A. C., 1972. Ovarian maturation induced by eyestalk ablation in pink shrimp, *Penaeus duorarum* Burkenroad. World. Maricult. Soc., 3: 201-225.

Cazon, G. y Aquacop, 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. J. World Maricult Soc. 18(4): 209-217.

Chamberlain, G.W. and A. L. Lawrence, 1981. Maturation reproduction and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets. World. Maricult. Soc., 12: 209-224.

Chamberlain, G., Jhonson, G. X. y Lewis, D.L. ., 1983. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult penaeid shrimp. J. World Maricult. Soc., 14: 135-136.

Chamberlain, G.W. and N. F. Gervais, 1984. Comparison of unilateraleyestalk ablation with environmental control for ovarian maturation of *Penaeus stylirostris* World. Maricult. Soc., 15: 29-30.

Chow, S., 1982. Artificial insemination using preserved spermatophorosin the Palemonid shrimp Macrobrachium rosenbergii. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 48 ( 12 ): 1693-1695.

De Siquiera, B. S., 1990. Maturation and spawning of the white

shrimp *Penaeus schmitti* Barkenroad 1936, under large scale rearing conditions. J. World Maricult. Soc. 21(3): 170-179.

Duronslet, M. M., A. I. Yodin, R.S. Wheller and W.H. Clark. , 1975. Light and fine structural studies of natural and artificially induced egg growth of oenaeid shrimp. World. Maricult. Soc., 6 : 105-122.

ELEFAN Ver. 2.1 (*Electronic length frequency analysis*)

Guitart, B y Quintana, 1978. Estadios de maduración gonadal en las especies comerciales importantes del género *Penaeus* en el banco de Campeche. Rev. Invest. Marin. 3(1): 83-126.

Holtschmith, H. K. y J. M. Romero, 1991. Maturation and spawning of blue shrimp *Penaeus stylirostris* (Stimpson) under hypersaline conditions. J. World Maricult. Soc. 22(1): 45-50.

King. J.E., 1948. A study of reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* ( Linnaeus ). Biol. Bull. Woods Hole ( Mass), 94 (3): 244-262.

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

Lawrence, A. L., 1985. Marine shrimp culture in the western hemisphere. Second Australian National Prawn Seminar. 327-336.

Leung-Trujillo, J.R. y Lawrence A. L., 1985. The effect of eyestalk ablation on spermatophore and sperm quality in *Penaeus vannamei*. J. World Maricult. Soc. 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.

Levinton, J. S., 1983. The latitudinal compensation hypothesis: Growth data and model of latitudinal growth differentiation based upon energy budget I. Interspecific comparison of Ophryotrocha (Polychaeta: Durvillidae). Biol. Bull. 165:689-698.

Moore, D. W., R. W. Sherry and F. Montañez, 1974. Maturation of *Penaeus californiensis* in captivity. World. Maricult. Soc. 5: 445-449.

Perez-Farfante, I., 1975. Spermatophores and thelica of the American white shrimp *Penaeus* subgenus Litopenaeus. Fish bull. 73 ( 3 ): 463-486.

Primavera, J. H., 1978. Induced maturation and spawning in five-month-old *Penaeus monodon* fabricios by eyestalk ablation. Aquaculture. 13:355-359.

7 Primavera, J. H., 1984. A review of maturation and reproduction inclosed thelycum penaeids. Proceedings of the fist international conference on the culture of penaeid prawns/shrimps. Iloilo city, Phillipines. 31 pp.

Ramos, T. y A. Gonzalez, 1983. Inducción artificial a la maduración gonadal en hembras de *Penaeus notialis* P rez Farfante, 1967 por oculotomía. Rev. Invest. Marin. IV(1):33-61.

Ramos, T. y Y. G. E. Torres, 1986. Relación entre la talla y la maduración ovírica inducida por ablación ocular en el camarón rosado *Penaeus notialis*. Rev. Invest. Marin. VII(3):91-92.

X Ramos, T. y J.H. Primavera, 1986. Induced maturation in ablated *Penaeus notialis* and *Penaeus schmitti*, p. 677-700. In J. L. McLean, L. B. Dizon and L. V. Hosillos (eds.). The first asian fisheries forum. Asian Fisheries Society, Manila, Phillipines.

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

Sandifer, P.A., y Lynn, J. w., 1980. Artificial insemination of caridean shrimp. In, W. H., Clark, Jr. y T.S. Adams (Editrs), *Advances in invertebrates reproduction*. Elsevier, North-Holland, Amsterdam, pp 271-288.

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

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

Venkataramiah, A., G. J. Lakshmi y G. Gunter, 1974. Studies on the effects of salinity and temperature on commercial shrimp *Penaeus aztecus* Ives. U.S. Army Engineer Water Ways Experiment Station. Report. H-74-2:115 p.

Vicent, M.; L. Ramos y M. Oliva, 1988. Variations cuatitatives des pigments carotenoides L'ovare et L'hepatopancreas de *Penaeus schmitti* an archives Internationales de physiologie et de Biochimie, 96: 155-164.

World Shrimp Farming, 1991. November 1. ,46p.

Wurts, A.W., y R.R. Stickney, 1984. An hypothesis on the light requirements for spawning penaeid, with emphasis on *Penaeus setiferus*. *Aquaculture*. 41:93-98.

Zar, J.H., 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J.

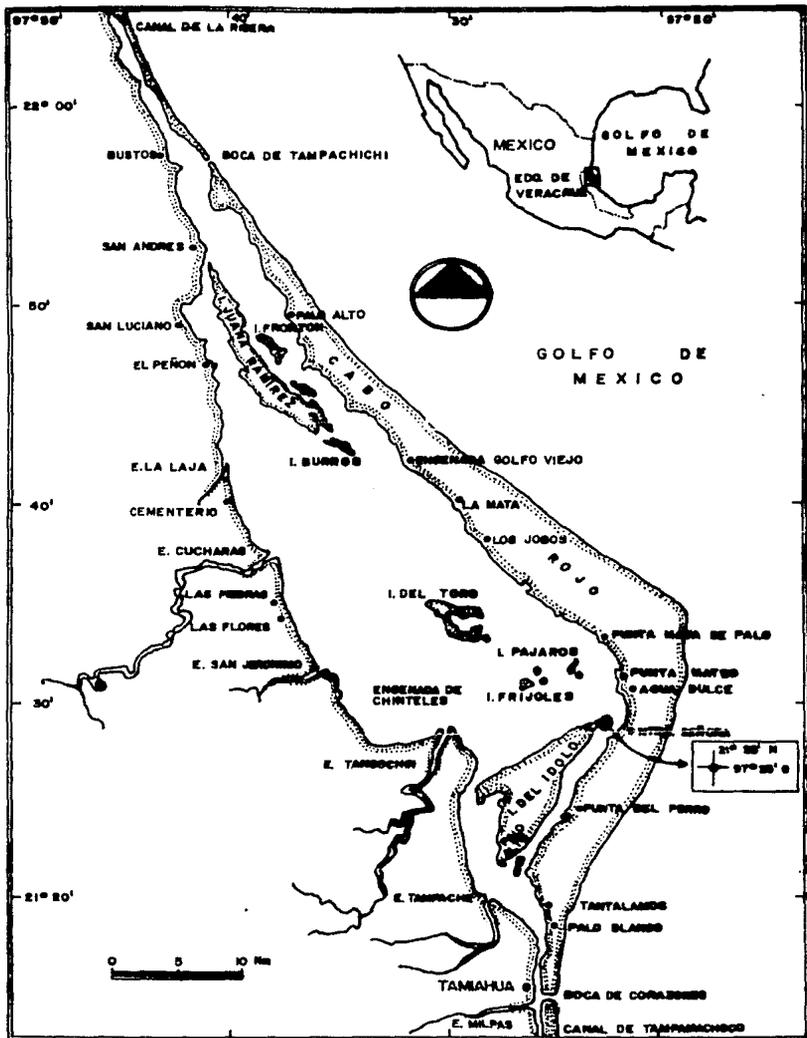


Fig.1.- Area de estudio. El punto (●) señala el sitio de colecta.

**TABLA 1**      **Porcentaje de sobrevivencia y frecuencia de muda de las hembras *P. setiferus* durante el experimento 1.**

	Ablación    Parcial y Total unilateral		
	Control	APU	ATU
No. Animales (inicial)	12	12	12
Sobrevivencia (%)	100	75	100
Mudas (frecuencia)			
No./dia/tanque	0.63	0.73	0.67
No./dia/animal	0.05	0.06	0.05

**TABLA 2** Relación entre el tiempo de ablación y la maduración de las hembras de *P. setiferus* durante el experimento 1.

Ablación parcial y total unilateral				
		Control I	APU	ATU
1a. Semana				
Estadio	I	100	100	100
de Maduración	II			
(%)	III			
	IV			
2a. Semana				
Estadio	I	100	100	100
de Maduración	II			
(%)	III			
	IV			
3a. Semana				
Estadio	I	76.47	40	
de Maduración	II	23.52	50	57.14
(%)	III		10	42.85
	IV			
4a. Semana				
Estadio	I			
de Maduración	II	100	42.85	50
(%)	III		57.14	50
	IV			

Porcentaje de maduración y estadio máximo alcanzado durante las cuatro semanas de experimentación (julio y agosto).

**TABLA 3** Porcentaje de sobrevivencia y frecuencia de muda de hembras de *P. setiferus* durante el experimento 2.

Ablación Total	Unilateral y Bilateral	
	A.T.U.	A.P.B
No. Animales (inicial)	12	12
Sobrevivencia (%)	83.3	66.6
Mudas (frecuencia)		
No./día/tanque	0.69	2.07
No./día/animal	0.05	0.17

**TABLA 4** Relación entre el tiempo de ablación y la maduración de las hembras de *P. setiferus* durante el experimento 2.

Ablación Total Unilateral y Bilateral			
		A.T.U.	A.P.B.
1a. Semana			
Estadio	I	100	16.66
de Maduración	II		
(%)	III		83.33
	IV		
2a. Semana			
Estadio	I	62.5	16.66
de Maduración	II	37.5	
(%)	III		83.33
	IV		
3a. Semana			
Estadio	I	37.5	16.66
de Maduración	II	62.5	
(%)	III		83.33
	IV		

Porcentaje de maduración y estadio máximo alcanzado durante las cuatro semanas de experimentación (agosto y septiembre).

**TABLA 5** Porcentaje de sobrevivencia y frecuencia de muda de hembras de *P. setiferus* durante el experimento 3.

	Ablación Total Unilateral		
	A.T.U. (Blanca)	A.T.U. (Verde)	A.T.U. (Azul)
No. Animales (inicial)	7	7	7
Sobrevivencia (%)	100	71.42	85.71
Mudas (frecuencia)			
No./dia/tanque	0.40	0.26	0.26
No./dia/animal	0.05	0.03	0.03

**TABLA 6** Relación entre el tiempo de abalción y la maduración de las hembras de *P. setiferus* durante el experimento 3.

		Abalción Total Unilateral		
		A.T.U. (Blanca)	A.T.U. (Verde)	A.T.U. (Azul)
1a. Semana				
Estadio	I	100	100	57.14
de Maduración	II			42.85
(%)	III			
	IV			
2a. Semana				
Estadio	I	85.71	85.71	83.3
de Maduración	II	14.28	14.28	
(%)	III			14.66
	IV			
3a. Semana				
Estadio	I			83.3
de Maduración	II	57.14	57.14	
(%)	III	42.85		
	IV		42.85	16.66
4a. Semana				
Estadio	I	28.57	40	83.3
de Maduración	II	42.85		
(%)	III	28.57	40	
	IV		20	16.6

Porcentaje de maduración y estadio máximo alcanzado durante las cuatro semanas de experimentación (agosto y septiembre).

Tabla7 Diámetro medio (mm) de los ovocitos en la región anterior del ovario en hembras con maduración inducida en los diferentes estadios de maduración.

ESTADIO	II	III	IV
N	200	100	250
$\bar{X}$	.2740	.3098	.4010
$S_x$	.018	.028	.019
Min.	.1410	.1600	.2000
Max.	.4400	.4800	.8000

**TABLA 8** Diametro medio de los ovocitos en la región anterior del ovario en hembras enel medio natural e inducida en estadio IV.

	Maduaración natural	Maduración inducida
N	250	250
$\bar{x}$	.39608	.40096
$S\bar{x}$	.016	.019
Min.	.24	.20
Max.	.60	.80

Table 9 Valores de numero de espermas de P. setiferus antes y después de la estimulación eléctrica. R es el porcentaje de animales regenerados, A = cell x 10<sup>6</sup>/espermatoforose/animal, B = %

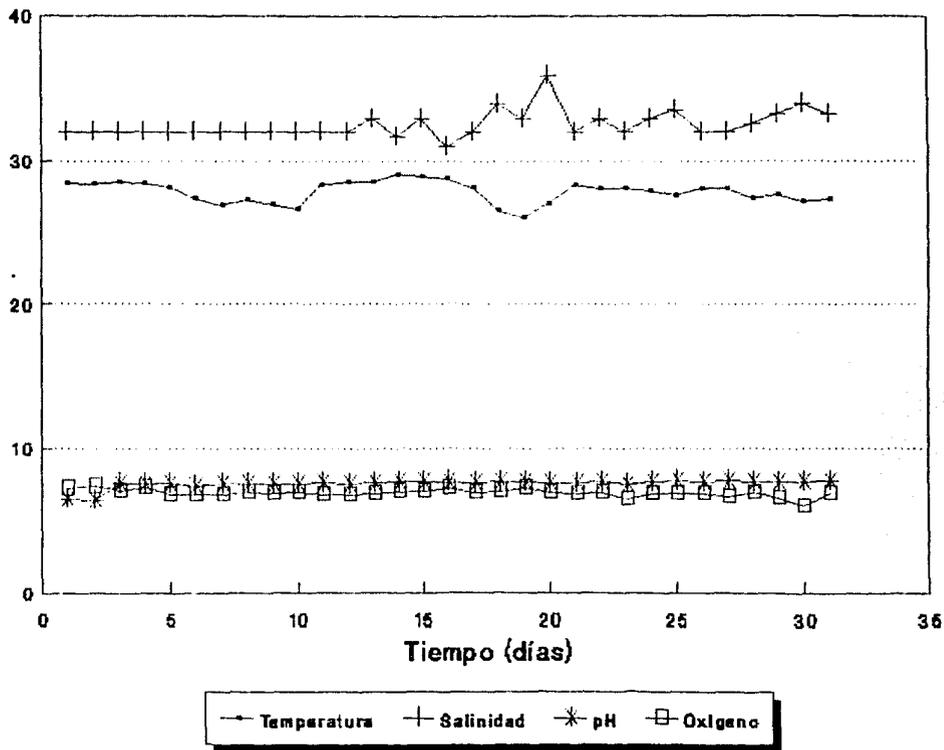
PERFIL DE VIAVIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES								
TIEMPO HORAS	R %	NORMAL		ANORMAL		MUERTAS		TOTAL
		A	B	A	B	A	B	A
0 ±	--	26.8* 9.3	99.9*	0.02* ---	0.1*			26.82* 5.60
72 ±	20	6.0 1.7	37.5	5.3 2.7	33.1	4.7 0.8	29.4	16.0 2.6
96 ±	50	6.8 2.6	40.0	4.9 1.4	28.8	5.3 0.8	31.2	17.0 1.9
120 ±	57	9.6 1.6	62.7	1.8 0.8	11.8	3.9 0.7	25.5	15.3 1.4
144 ±	71	7.9 2.8	52.3	3.0 0.4	19.9	4.2 0.5	27.8	15.1 2.3
168 ±	80	7.3 0.9	43.9	4.6 0.7	26.9	4.8 0.5	28.8	16.7 2.6
Regenerados cell., Media ±		7.6 0.8	48.1	3.8 0.8	23.4	4.5 0.3	28.5	15.9 0.4

\* Diferencias estadísticas, p < 0.05.

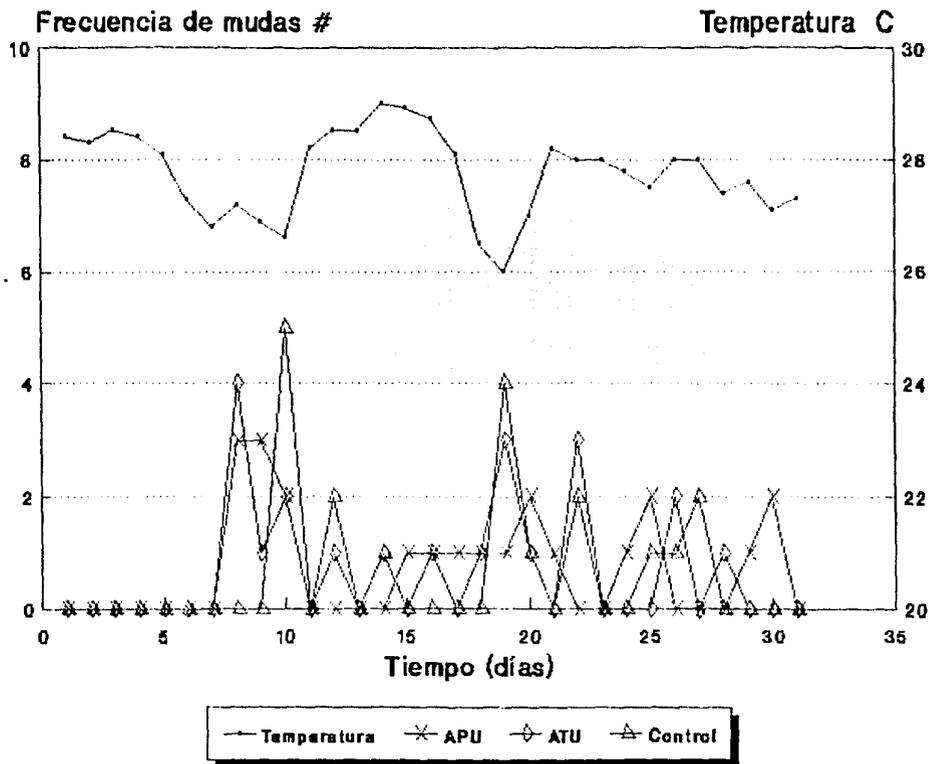
Tabla 10    Diámetro de ovocitos de diferentes especies

ESTADIOS					
II	II-III	III	IV	Especie	Autor
(mm)	(mm)	(mm)	(mm)		
0.10-0.12		0.19-0.25	0.26-0.28	<i>P. aztecus</i>	Ferez Farfante (1969)
0.15-0.22		0.20-0.25	0.30	<i>P. aztecus</i>	Guitart y Quintana (1978)
			0.37	<i>P. duorarum</i>	Cummings (1961)
			0.23-0.33	<i>P. duorarum</i>	Eldred (1958)
			0.31-0.33	<i>P. duorarum</i>	Dobling (1961)
			0.19-0.3	<i>P. setiferus</i>	Ferez Farfante (1969)
			0.23	<i>P. setiferus</i>	Pearson (1939)
			0.25-0.32	<i>P. setiferus</i>	Guitart y Quintana (1978)
			0.094	<i>F. notialis</i>	Ramos y Torres (1986)
			0.15	<i>P. notialis</i>	Ramos y Torres (1986) *
5-15		20-30	20-30	<i>P. monodon</i>	Tan-fermin y Pudarera (1989)
			0.39	<i>P. setiferus</i>	Saldana G (1992)
	0.27	0.30	0.40	<i>P. setiferus</i>	Saldana G (1992) *

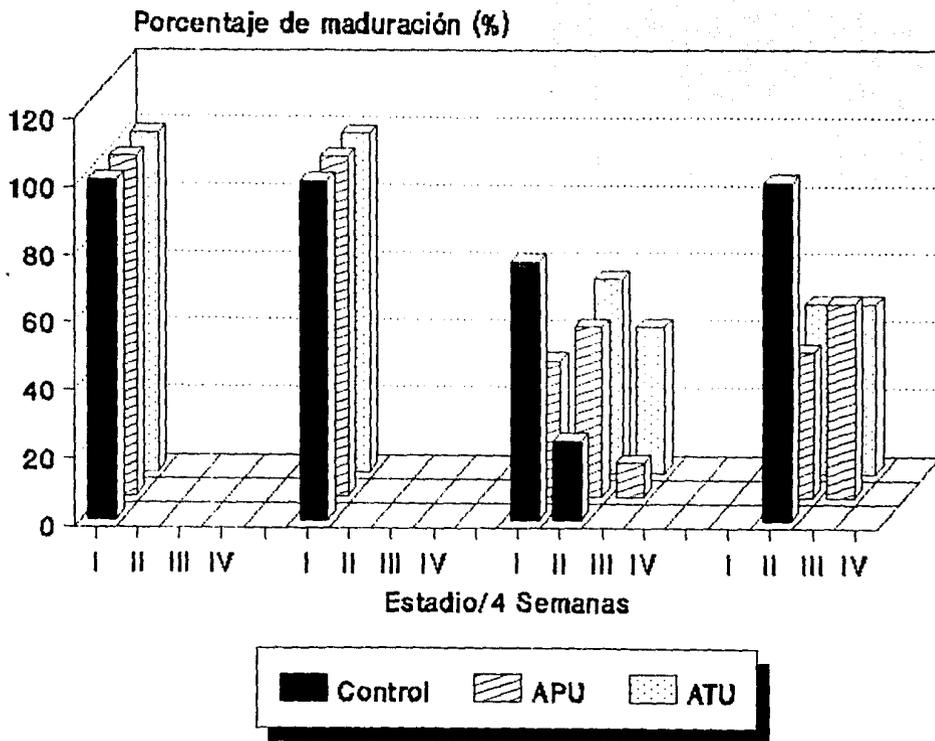
\* Hebras de maduración inducida



**Figura 2. Variación diaria de los parámetros fisicoquímicos durante el desarrollo del experimento 1.**



**Figura 3. Relacion entre las variaciones diarias de la temperatura y la frecuencia de mudas de las hembras de *P. setiferus* durante el experimento 1.**



**Figura 4. Variación de los estadios de maduración de las hembras de *P. setiferus* durante el periodo experimental 1.**

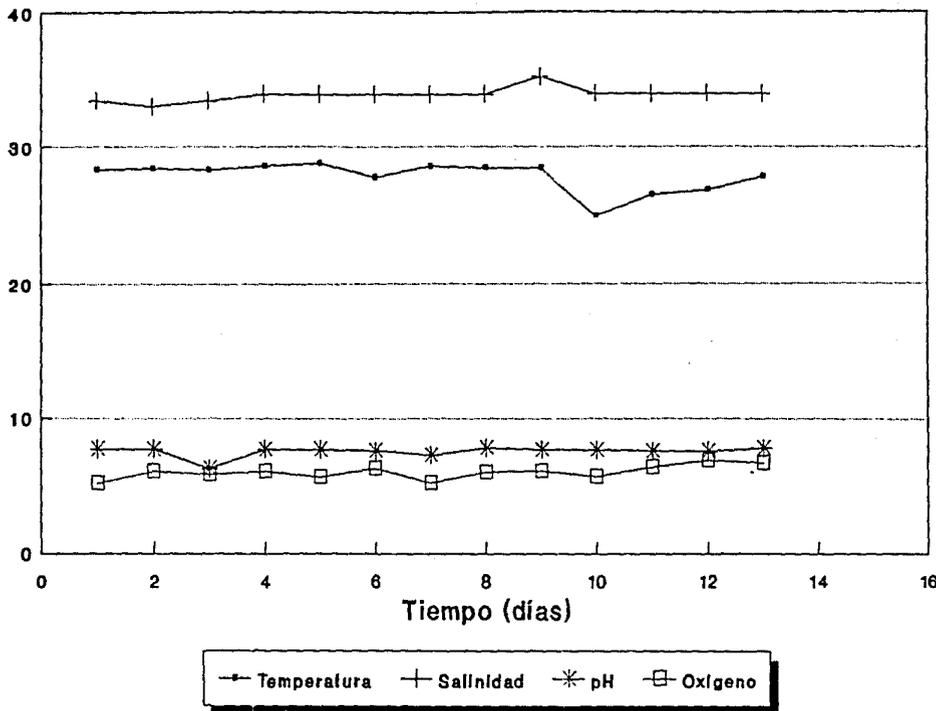


Figura 5. Variación diaria de los parámetros fisicoquímicos durante el desarrollo del experimento 2.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

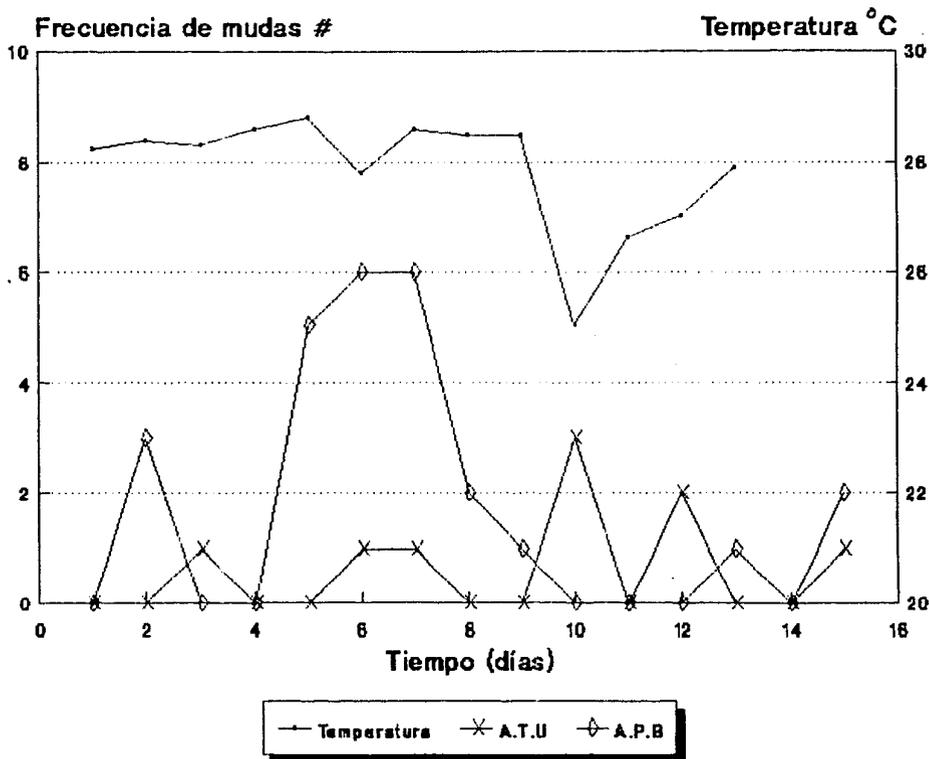
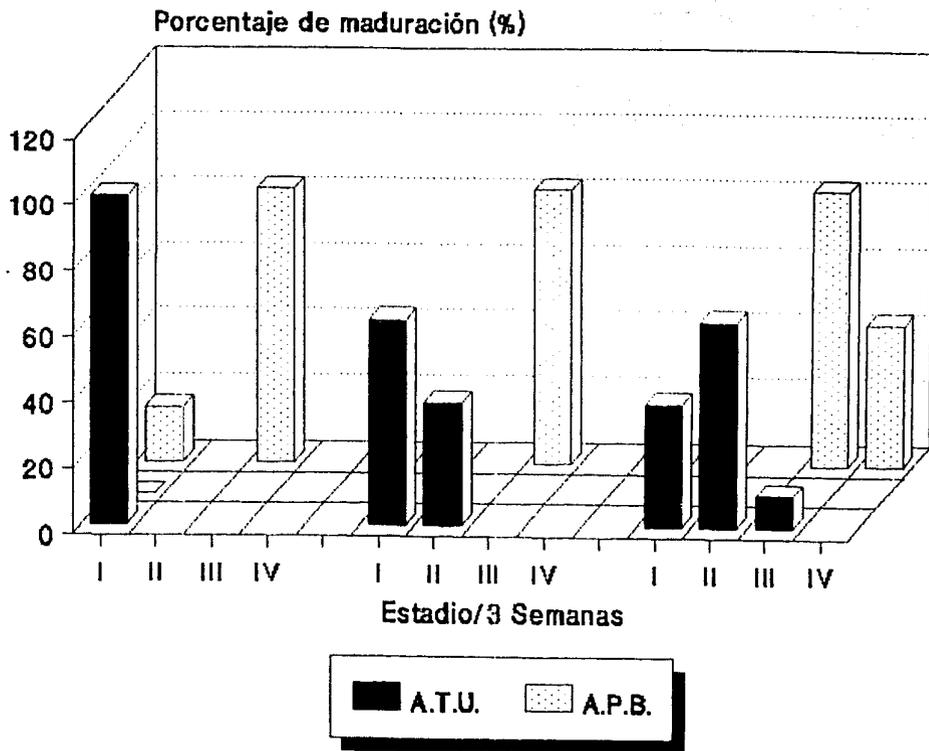
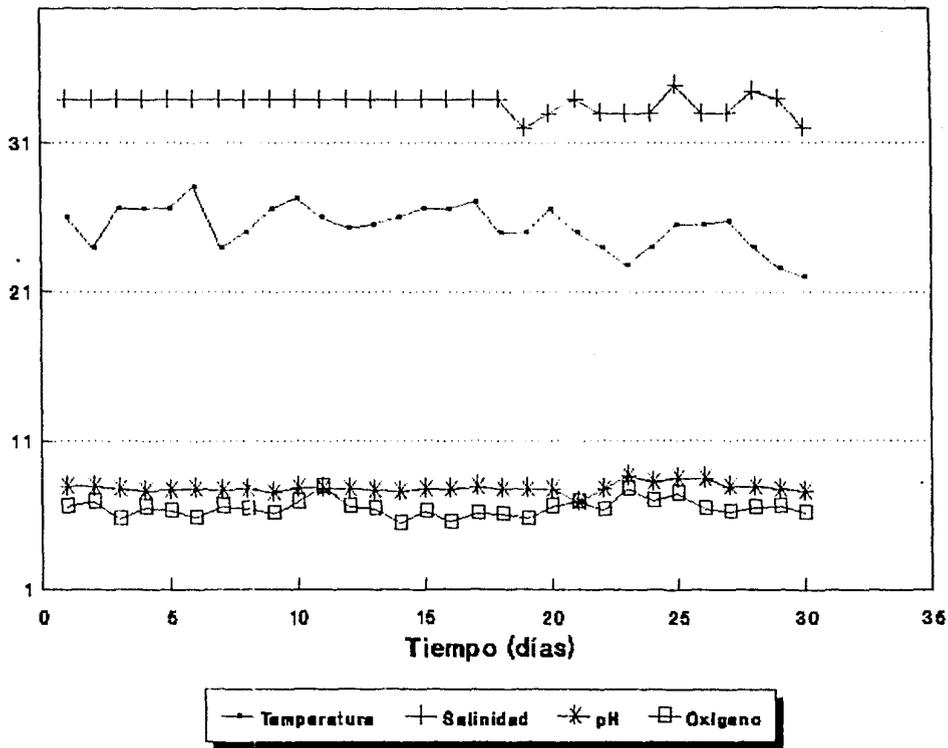


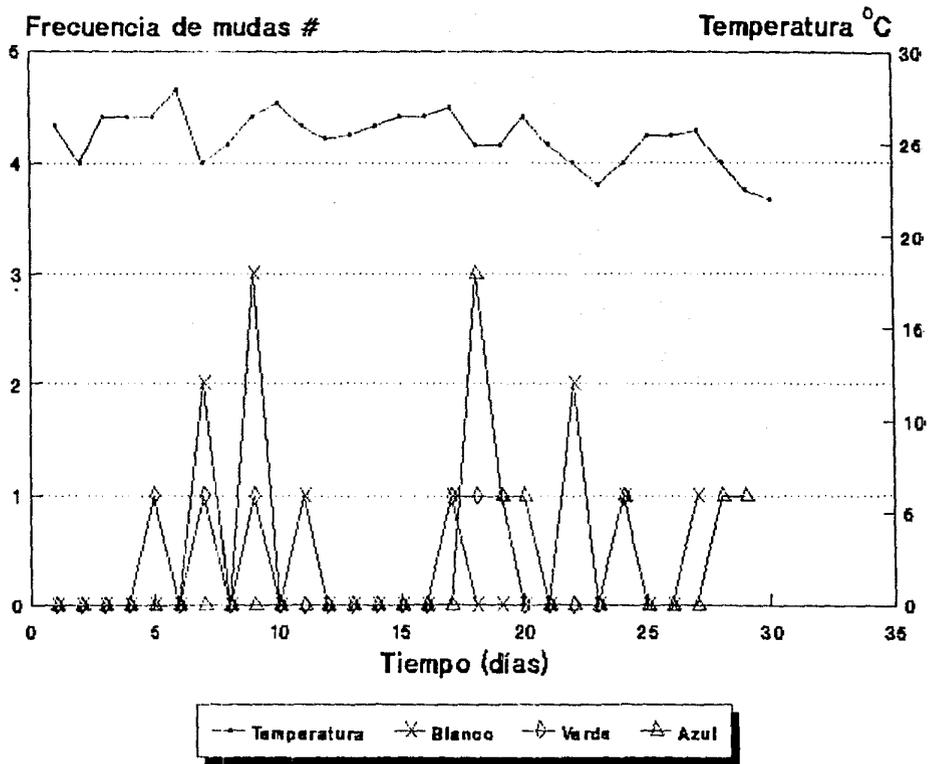
Figura 6. Relación entre las variaciones de la temperatura y la frecuencia de mudas durante el experimento 2.



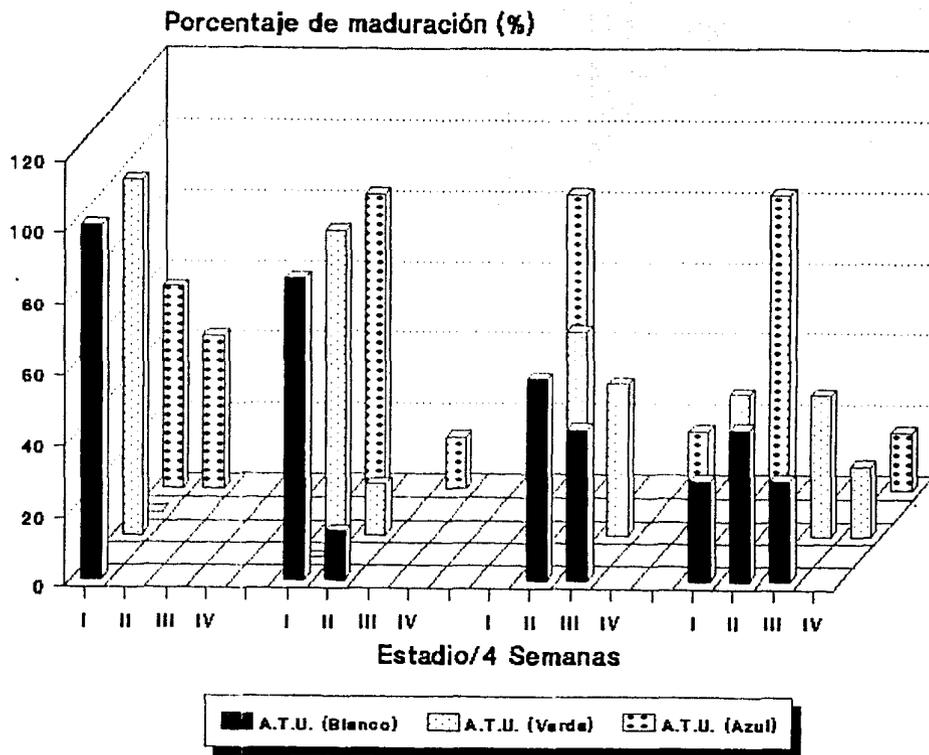
**Figura 7. Variación de los estadios de maduración de las hembras de *P. setiferus* durante el periodo experimental 2**



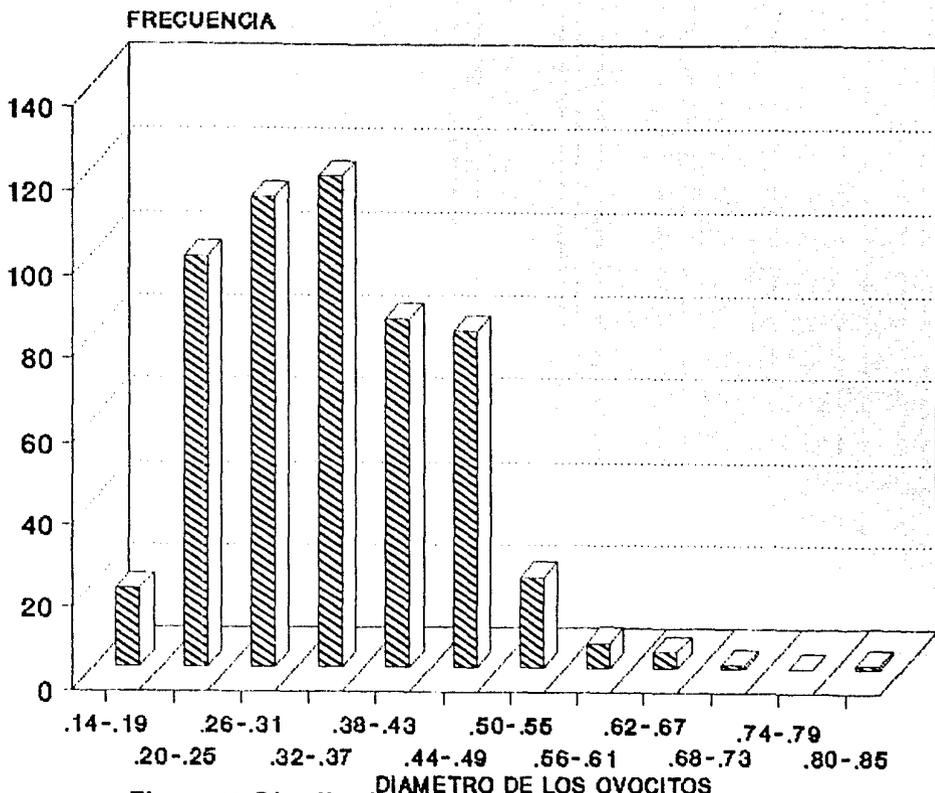
**Figura 8. Variación diaria de los parámetros fisicoquímicos durante el desarrollo del experimento 3.**



**Figura 9. Relacion entre las variaciones diarias de la temperatura y la frecuencia de mudas de las hembras de *P. setiferus* durante el experimento 3.**



**Figura 10. Variación de los estadios de maduración de las hembras de *P. setiferus* durante el periodo experimental 3**



**Figura 11. Distribución de frecuencias del diámetro de los ovocitos de hembras de *P. setiferus* inducidas a la maduración**

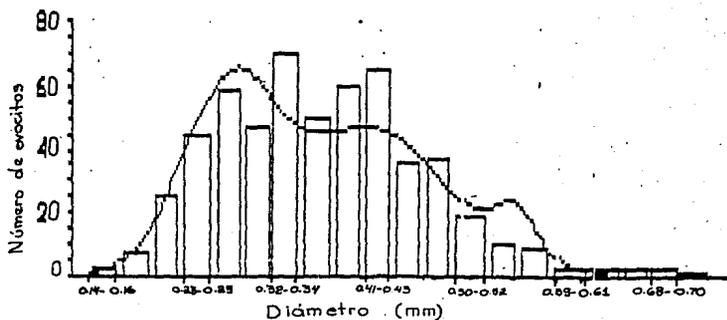
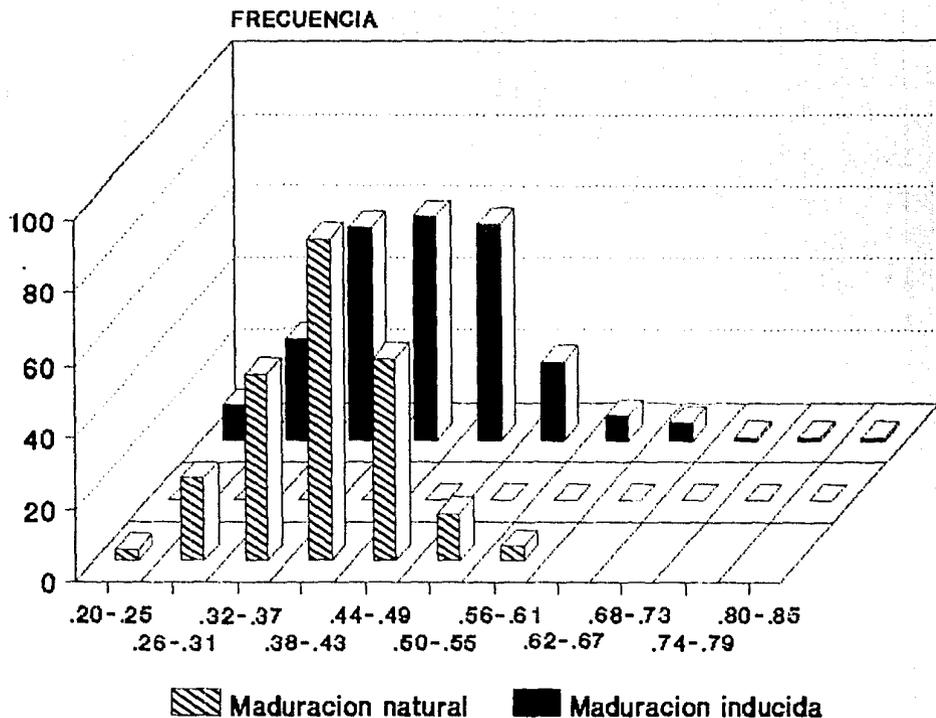


Fig. 12.- Distribución de frecuencias del diámetro de los ovocitos en estadios II a IV, de hembras de P.setiferus, inducidas a la maduración .



**Figura 13. Distribución de frecuencias del diametro de los ovocitos en estadio IV, de las hembras de *P. setiferus* con maduración inducida y maduración natural.**

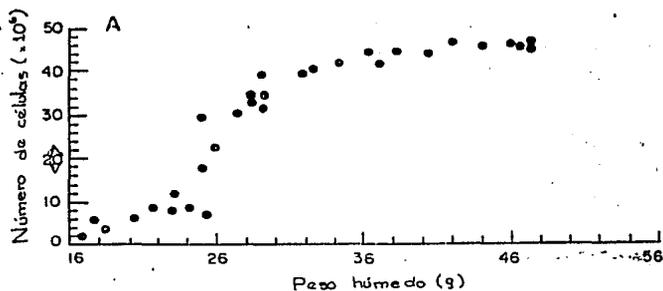


Fig. 14.- Número de células esperáticas normales en relación al peso corporal de los machos de *P. setiferus* (A) antes y (B) después de la regeneración del espermatóforo .