



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Ciclo gonádico de *Erichsonella attenuata* (Crustacea:
Peracarida: Isopoda)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

Hugo Enrique Reyes Aldana



**DIRECTOR DE TESIS:
M. en C. José Luis Bortolini Rosales.**

2015

Ciudad Universitaria, D. F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno

Reyes
Aldana
Hugo Enrique
85 89 30 77
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
307315580

2. Datos del tutor

M. en C.
José Luis
Bortolini
Rosales

3. Datos del sinodal 1

Fernando
Álvarez
Noguera

4. Datos del sinodal 2

José Luis
Villalobos
Hiriart

5. Datos del sinodal 3

María del Carmen
Hernández
Álvarez

6. Datos del Sinodal 4

Alicia
Rojas
Ascencio

7. Datos del trabajo escrito

Ciclo gonádico de *Erichsonella attenuata* (Crustacea: Peracarida: Isopoda)
99p
2015

**Ciclo gonádico de *Erichsonella attenuata* (Crustacea:
Peracarida: Isopoda)**

Por: Hugo Enrique Reyes Aldana

“Education is the progressive discovery of our own ignorance”

(“La educación es el descubrimiento progresivo de nuestra propia ignorancia”)

Will Durant.

***„Das sein ist ewig ; den Gesetze bewahren die lebend´gen Schätze,
Aus welchen sich das All geschmücht.“***

(“El ser es eterno, existen leyes para conservar los tesoros de la vida,
De las cuales el Universo extrae su belleza”)

Johann Wolfgang von Goethe.

***“Sane sicut lux se ipsam et tenebras manifestat,
Sic veritas norma sui et la falsi est”***

(“Así como la luz se manifiesta a sí misma y a la oscuridad ,
La verdad es la norma de sí misma y del error”)

Baruch Spinoza

Agradecimientos

Al **M. en C. José Luis Bortolini**, del Departamento de Biología Comparada de la Facultad de Ciencias de la UNAM, quien dirigió este trabajo, por su apoyo en el trabajo de campo, análisis de datos, realización de la técnica histológica, revisión, corrección, edición y comentarios que llevaron a la culminación de esta tesis.

Al **Dr. Fernando Álvarez**, de la Colección Nacional de Crustáceos del Instituto de Biología de la UNAM, por la ayuda en la identificación de las especies contenidas en las muestras y por su función como sinodal de éste trabajo.

Al **Dr. José Luis Villalobos**, del Instituto de Biología de la UNAM, por sus comentarios y su función como sinodal de éste trabajo.

A la **Dra. María del Carmen Hernández**, por sus comentarios y su función como sinodal de éste trabajo.

A la **M. en C. Alicia Rojas**, del Departamento de Biología Comparada de la Facultad de Ciencias de la UNAM por sus comentarios y por su función como sinodal de éste trabajo.

A la **Dra. María del Pilar Alonso**, del Departamento de Matemáticas de la Facultad de Ciencias de la UNAM, por su apoyo en el desarrollo de los análisis estadísticos.

A la **Dra. Adriana Muñoz**, del Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental de la Facultad de Ciencias de la UNAM, por su apoyo en la toma de microfotografías e identificación de los estados citológicos, descripción de imágenes, revisión y comentarios que enriquecieron profundamente este trabajo.

A la **M. en C. Verónica Aguilar**, del Departamento de Ecología y Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias de la UNAM, quien fue responsable de la edición del mapa.

A la **Biól. Susana Guzmán Gómez** del Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad II del Instituto de Biología de la UNAM, por su apoyo en la toma de fotografías.

A la **M. en C. Berenit Mendoza**, Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad del Instituto de Biología del Instituto de Biología de la UNAM, por el apoyo en la toma de las microfotografías con MEB.

A la **M. en F. P. Ana Isabel Bieler**, del Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias de la UNAM, por el apoyo en la toma de las microfotografía de campo claro.

A **Ricardo Gaspar** y al **Biól. Alan Gonzáles**, estudiantes de la Facultad de Ciencias de la UNAM, por su apoyo en la recolecta de las muestras utilizadas para esta tesis.

A **Luis y Jorge Luis Díaz**, entusiastas pescadores de la Laguna de Tamiahua, por su apoyo en el transporte durante los periodos de recolecta.

Dedicatoria.

A la memoria de mi abuelita, Josefina, quien siempre me apoyó e incentivó a estudiar y culminar una carrera universitaria, a quien también le debo gran parte de los mejores recuerdos y enseñanzas de mi vida.

A mi madre, Araceli, por todo su apoyo y cariño que me han llevado concretar mi formación académica y personal, porque sin ella nada de lo que logrado habría sido posible.

A mi tío, César, por todos sus consejos y palabras de aliento.

A mi maestro, José Luis, por convertirse también en mi amigo.

A mis amigos: Samuel e Iván, por todos estos años de andanzas y experiencias compartidas. A Nancy, por ayudarme siempre que lo he necesitado, su sinceridad y todas aquellas risas. A Gaby, Sebas, José, Bere y, aunque me cueste admitirlo, Marco; por hacerme miembro de su selecto grupo de “*Víboras*” y tantos momentos tan divertidos. A quienes he olvidado mencionar, pero que también han compartido minutos alegres conmigo y han contribuido a hacerme una mejor persona brindándome su amistad.

A mis profesores de la Facultad de Ciencias: Concepción Gómez (Conchita), Lorena Caballero, Agustín Carmona, por ayudarme a descubrir la belleza detrás de la Biología del Desarrollo. Y todos aquellos he olvidado mencionar, pero que sin duda contribuyeron enormemente a mi formación académica e intelectual.

A mis profesores del CELE (mi segunda Facultad): Guadalupe Castaneida, Oscar Ucha, Juan Carlos Olmos y Elena Oustinova, de alemán, por conducirme en el aprendizaje, del que es para mí „*die schönste Sprache der Welt*”. A David Huerta, de inglés, por orientarme siempre que lo requerí en la lengua franca de la ciencia. A Paola Suárez y Juan Ortiz, de portugués, quienes me hicieron descubrir una nueva perspectiva en la lusofonía. A Hatem Saleh Abduwahid, de árabe, quién me introdujo en el bello mundo de la literatura y filosofía del medio oriente. A todos ellos y a los que no he mencionado, por brindarme las herramientas para enfrentar un nuevo mundo, en el que las fronteras desaparecen y las lenguas nos unen, para crear ciudadanos del mundo.

A la sociedad mexicana, que a pesar la deficiente administración pública y de las pobres condiciones en las que se ha desarrollado en las últimas décadas, sigue poniendo su confianza en el desarrollo de una mejor nación a través de la ciencia y tecnología.

Y por último, pero no menos importante, a la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme ofrecido una enorme gama de posibilidades que me han formado intelectual y personalmente. Me esforzaré por retribuir a la Universidad y sociedad mexicana.

Nuevamente gracias enormemente a todos, por ser parte de mi vida y permitirme entrar en las suyas. Soy, gracias a ustedes.

Resumen.

Erichsonella attenuata es una especie de isópodos de vida libre que se encuentra en algunos sitios del Atlántico Oeste y del Golfo de México, está asociado a praderas de pastos marinos compuestas por *Ruppia maritima*, *Halodule wrightii* y *Thalassia testudinum*. En este trabajo se ha demostrado la presencia de este isópodo en costas mexicanas asociados a *H. wrightii*, particularmente en la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México; el propósito de este trabajo es presentar un análisis poblacional, histológico y citológico de la población observada en la Isla El Ídolo. La reproducción de estos organismos se observa como continua, debido a que existen hembras ovígeras durante todas las estaciones del año. Se muestran los cambios que ocurren en las gónadas a nivel tisular y celular durante el ciclo reproductivo, la justificación de este trabajo se debe a la poca información en la literatura de la biología reproductiva de este grupo de crustáceos, para su realización se obtuvieron organismos de ésta especie en siete colectas bimestrales en el periodo comprendido de julio de 2010 y agosto de 2011; los organismos fueron fijados con solución Davidson, posteriormente lavados con agua corriente durante 6 horas y conservados en EtOH 70% hasta el momento de su proceso histológico; fueron procesados en un tren de deshidratación con alcoholes graduales, aclarados con xilol e incluidos en paraplast (56-58 °C) y cortados con microtomo rotatorio (5-7 µm) en sentido trasversal y longitudinal, se tiñeron con Hematoxilina-Eosina y técnica de Lendrum, finalmente fueron montados con resina sintética. Se presenta la posición anatómica de las gónadas y la relación que guardan éstas con otras estructuras del cuerpo, se observaron diferentes estados de maduración, así como la descripción celular e histológica en relación a los estados del desarrollo gonadal.

Palabras clave:

Ciclo gonádico, *Erichsonella attenuata*, histología, citología, reproducción.

Abstract.

Erichsonella attenuata is a free-living isopod species that is found in some locations of the Western Atlantic and the Gulf of Mexico, is associated with seagrass beds consisting of *Ruppia maritima*, *Halodule wrightii* and *Thalassia testudinum*. In this work has been demonstrated the presence of this isopod on Mexican coasts associated with *H. wrightii*, particularly in the Laguna de Tamiahua, Veracruz, Mexico; the purpose of this work is to present a population, histological and cytological analysis of the population observed around the island El Ídolo. The reproduction of these organisms is observed as continual, because there are ovigerous females during all seasons of the year. Changes that occur in the gonads, to cell and tissue level, during the reproductive cycle are showed, the justification for this job is due to the fact that little information in the literature of the reproductive biology of this group of crustaceans is found. For its realization organisms of this species were obtained in seven bimonthly collecting dates in the period from July 2010 and August 2011; the samples were fixed with solution Davidson, subsequently washed with running water for 6 hours and preserved in 70% EtOH until the moment of its histological process; were processed in a train of gradual dehydration with alcohols, clarified with xylol and included in paraplast (56-58 °C), cut with rotary microtome (5-7 µm) in lateral direction and longitudinal, stained with hematoxylin and eosin and Lendrum's technique, finally were mounted with synthetic resin. The anatomical position of the gonad and the relationship between these with other structures of the body is presented, different states of maturation were found, as well as the cell and histological description, in relation to states of the gonadal development.

Key Words:

Gonadic cycle, *Erichsonella attenuata*, histology, cytology, reproduction.

ÍNDICE

Abreviaturas en el texto	i
Índice de figuras	iii
Índice de tablas	iv
Introducción	1
Ciclo biológico de <i>Erichsonella attenuata</i>	3
Ciclo gonádico	4
Fecundidad	5
Fecundidad a nivel histológico	7
Meiosis y gametogénesis	7
Anatomía interna e histología de isópodos	14
Antecedentes	17
Objetivos	
Generales	21
Particulares	21
Área de estudio	22
Material y método	
Trabajo de campo	23
Trabajo de laboratorio	23
Análisis estadístico	26
Técnica histológica	27
Toma de fotomicrografías	29
Resultados	
Análisis estadístico.	30
Histología y citología	36
Histología.	
Hembras	36
Machos	40
Citología.	
Hembras	45
Machos	51
Discusión	58
Conclusiones	
Poblacionales	65
Histológicas	65
Citológicas	66
Generales	66
Recomendaciones	67
Literatura consultada.	68
Anexos.	
Fijador Davidson´s	84
Deshidratación para inclusión en paraplast	84
Técnica de tinción de Hematoxilina-Eosina	85
Tinción de Lendrum	86

Abreviaturas en el texto

#Em	Número de embriones
♀ NO	Hembras no ovígeras
♀ O	Hembras ovígeras
♂	Machos
AHÍ	Hormona androgénica I
AHII	Hormona Androgénica II
Cac	Células accesorias
Cfl	Células foliculares
Cu	Cutícula
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Em	Embrión
Epc	Espermatocito
Esm	Espermátida
Esp	Espermatozoide
EtOH	Alcohol etílico
FA	Ácido farnesóico
FI	Folículo primordial
FSH	Hormona folículo estimulante
GIH	Hormona inhibidora de gónada
GnRH	Factor liberador de gonadotropina
GPS	Sistema de posicionamiento global
GSH	Hormona estimulante de gónada
H-E	Técnica de Hematoxilina-Eosina
Hp	Túbulos hepatopancreáticos
LC	Largo del cefalón
LH	Hormona luteinizante
LPe	Largo del pereión
LPI	Largo del pleón
LT	Largo total.
MEB	Microscopio electrónica de barrido
MF	Metil farnesoato

Os	Osteguito
Ov	Ovocito/ovocito
PET	Tereftalato de polietileno
SH	Sistema hemal
SN	Sistema nervioso
SO	Espermatogonia
T	Testículo
Td	Tracto digestivo
TEF	Tasa específica de fecundidad
TFG	Tasa de fecundidad general
TGF	Tasa global de fecundidad
Tm	Tejido muscular

Índice de figuras y diagramas

Figura	Contenido	Página
Figura. 1	Clasificación taxonómica de <i>E. attenuata</i> .	3
Figura. 2	Esquemmatización de los eventos que ocurren durante la profase I	9
Figura. 3	Esquemmatización de los eventos de la meiosis I y meiosis II.	11
Figura. 4	Esquemmatización del proceso de espermatogénesis y ovogénesis.	14
Figura. 5	Mapa de ubicación de la Laguna de Tamiahua e isla El Ídolo en el Estado de Veracruz, México.	22
Figura. 6	<i>Erichsonella attenuata</i> .	25
Figura. 7	Flujo de actividades para el procesamiento de los organismos en sus diferentes etapas.	28
Figura. 8	Intervalos de clase por frecuencia absoluta con base en LT para ♀NO, ♀O y ♂.	32
Figura. 9	Separación de los intervalos de clase por sexo.	32
Figura. 10	Frecuencia relativa de ♀ NO, ♀O y ♂ con respecto a la fecha de colecta.	33
Figura. 11	Relación entre el intervalo de LT y el número de ovocitos por hembra ovígera.	34
Figura. 12	Histología de hembras.	38
Figura. 13	Vistas generales del testículo.	41
Figura. 14	Detalles de los cortes de testículo.	43
Figura. 15	Fases incipientes de maduración del ovocito.	47
Figura. 16	Fases intermedias y avanzadas de maduración del ovocito.	49
Figura. 17	Fases de la meiosis I en el testículo.	52
Figura. 18	Fases de la profase I en el testículo.	54
Figura. 19	Espermatogénesis y espermiogénesis.	56
Figura. 20	Anatomía común de los isópodos de vida libre.	61

Índice de tablas

Tabla	Contenido	Página
Tabla. 1	Análisis multivariado. Largo total mm (LT), intervalos de clase para frecuencia absoluta (N) y	30
Tabla. 2	frecuencia relativa (%) de <i>E. attenuata</i> para hembras no ovígeras (♀NO), hembras ovígeras (♀O) y machos (♂).	31
Tabla. 3	Valores correspondientes a la abundancia por fecha de colecta.	33
Tabla. 4	Análisis de contraste por fechas de colecta entre machos y hembras.	34
Tabla. 5	Valores absolutos de las hembras que se encuentran en talla reproductiva	35
Tabla. 6	Valores hipotéticos y reales de la Tasa de Fecundidad General (TFG) y Tasa Global de Fecundidad (TGF).	35
Tabla. 7	Valores hipotéticos y reales de la Tasa Especifica de Fecundidad (TEF).	35

Introducción.-

Dentro de los artrópodos, el segundo grupo con mayor diversidad son crustáceos, los cuales tienen una relevancia biológica, ecológica y evolutiva. Desde la perspectiva humana, también una importancia económica y gastronómica que se observa principalmente en organismos como camarones, langostas y cangrejos. El grupo consta de aproximadamente 67,000 especies descritas y un número aún mayor se calcula para las especies que aún no han sido descritas (Brusca y Brusca, 2003).

Los crustáceos son representantes de los mayores volúmenes de biomasa en el planeta, como ejemplo se puede citar a *Euphasia superba* (krill), cuya abundancia en la Antártida se calcula en 500 millones de toneladas (Brusca y Brusca, 2003).

Son capaces de habitar diversos ecosistemas, por lo que son uno de los grupos taxonómicos más abundantes en los ambientes marinos, poseen una representación importante en manglares, llanuras costeras, playas, bosques y selvas; el caso particular de los isópodos (Brusca y Brusca, 2003; Singer, 2013).

Con relación a los caracteres diagnósticos de los crustáceos, comúnmente poseen ojos compuestos pareados, un par de antenas, múltiples apéndices articulados que presentan diferentes modificaciones de acuerdo a sus hábitos, tienen un cuerpo segmentado unido a un cefalón o un cefalotórax. El desarrollo de todas las especies tiene un inicio como larva nauplio. Su respiración es branquial y presentan una cutícula de quitina que puede estar calcificada en un segundo grado debido a la impregnación de minerales que se encuentran en el medio donde habitan (Singer, 2013).

Dentro del Superorden Peracarida se encuentra el Orden Isopoda, el cual alberga a los organismos comúnmente llamados cochinillas o “pillbugs” (en inglés), conformado por unas 10,300 especies descritas, que representan un aproximado del 13% de la diversidad total de crustáceos (Poore y Bruce, 2012). En cuanto a su distribución, los isópodos han sido encontrados en los mares, cuerpos de agua dulce y ambientes terrestres; tan disímiles como desiertos, selvas, bosque, entre otros (Appeltans *et al.*, 2012). La amplia distribución de estos organismos y su éxito, pueden ser atribuidos a sus sistemas de apareamiento, que en la mayoría de las especies es por fecundación interna (Wilson, 1991).

El grupo de los isópodos marinos está constituido por 6,250 especies (Poore y Bruce, 2012) distribuidas desde las zonas intersticiales hasta las fosas abisales. Los organismos de vida libre son encontrados simbioses de: esponjas, corales, algas, peces y otros crustáceos. Habitan diferentes sustratos como troncos, rocas y arena. Algunas especies han sido clasificadas como parásitos verdaderos de peces y otros crustáceos de diferentes grupos taxonómicos (Brusca y Iverson, 1985; Grutter, 1999; López *et al.*, 2012; Williams y Boyko, 2012; Cruz *et al.*, 2013).

El Orden Isopoda alberga a la Familia Idoteidae que consta de 22 géneros; uno de ellos es *Erichsonella* constituido por de siete especies: *E. attenuata* (Harger, 1873); *E. filiformis* (Say, 1818), *E. floridana* (Richardson, 1901), *E. cortezi* (Brusca & Wallerstein, 1977), *E. crenulata* (Menzies, 1950), *E. isabelensis* (Menzies, 1951) y *E. nordenskjoldi* (Ohlin, 1901).

E. attenuata es un organismo marino de vida libre, dominante en algunas regiones del Atlántico Oeste del Golfo de México, asociado comúnmente a diversas especies de pastos marinos (Kensley *et al.*, 1995; Poore and Schotte, 2014) (Figura 1). Se ubica en aguas someras de América, habita regiones tropicales y templadas, dispuestos sobre algas, planicies lodosas, pastos marinos y sustrato con restos de conchas. Varía en color, de ámbar a pardo, machos y hembras pueden tener manchas oscuras en las partes dorsal y ventral; con una longitud total máxima de 2.92 cm, la cabeza es en promedio dos veces más ancha que larga y los ojos se encuentran posicionados lateralmente a cada uno de los costados, son de color negro; en promedio, los machos adultos son más grandes que las hembras (Pirés, 1984). Las especies de pastos marinos a las cuales se asocia son principalmente *Ruppia maritima* (Linneo, 1753), *Zostera marina* (Linneo, 1753), *Halodule wrightii* (Ascherson, 1868) y *Thalassia testudinum* (Banks ex König, 1805) (Ryer y Orth, 1987; Fredette *et al.*, 1990; Kensley *et al.*, 1995; Boström y Mattila, 2005).

En la laguna del río Indio, Florida, Estados Unidos; *E. attenuata* es una de las tres especies más comunes de invertebrados en las praderas de *H. wrightii* y es un importante herbívoro epifito que constituye también una importante fuente de recurso alimenticio para niveles tróficos superiores y ocasionalmente es consumida de manera intensiva por peces marinos de importancia comercial (Ryer y Orth, 1987).

Phylum: Arthropoda (von Siebold, 1848)
Subphylum: Crustacea (Brunnich, 1772)
Clase: Malacostraca (Latreille, 1802)
Subclase: Eumalacostraca (Grobben, 1892)
Superorden: Peracarida (Calman, 1904)
Orden: Isopoda (Latreille, 1817)
Suborden: Valvifera (Sars, 1882)
Familia: Idoteidae (Samouelle, 1819)
Género: *Erichsonella* (Richardson, 1900)
Especie: *E. attenuata* (Harger, 1874)

Figura 1. Clasificación taxonómica de *E. attenuata*. (Tomado y modificado de Grave *et al.*, 2009; Watling, 1981; Fee, 1926; Brusca *et al.*, 2001, en línea).

En la isla de El Ídolo dentro de la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México, *E. attenuata* está asociado a praderas aisladas de *H. wrightii*, la cual es una especie abundante de pasto marino en las regiones subtropicales del Caribe y del Golfo de México. Es participante importante de la producción béntica primaria de estas áreas, puede ser considerado como un bioindicador dada su sensibilidad a los cambios fisicoquímicos en la calidad del agua, por lo cual se puede considerar para el control y manejo de la salud de los ambientes costeros subtropicales (Hauxwell *et al.*, 2003).

Ciclo biológico de *Erichsonella attenuata*

Con relación al ciclo de vida y reproducción de *E. attenuata* la información es prácticamente inexistente, incluso para otras especies de isópodos similares la información es escasa. El Superorden Peracarida, posee un registro insuficiente respecto a los ciclos de vida, la mayoría de los estudios son referidos a isópodos terrestres y parásitos, no así para organismos de vida libre (Furota e Ito, 1999; Haldfiel *et al.*, 2009; Kashani *et al.*, 2011). Las especies tropicales, tienden a ser de tallas pequeñas, se reproducen múltiples veces a lo largo del año, producen crías de tamaño reducido en gran número. En contraste las especies terrestres muestran una clara estacionalidad en la reproducción, la cual se observa frecuentemente en primavera en

el hemisferio norte y en temporada húmeda en los trópicos (Sparkes *et al.*, 2002). Este tipo de reproducción está determinado por factores ambientales tales como la disponibilidad de nutrientes, sin embargo uno de los factores a nivel individual, es la talla que deben de alcanzar las hembras para poder comenzar a reproducirse (Johnson *et al.*, 2001).

Ciclo gonádico

Desde la perspectiva biológica y ecológica, el proceso de reproducción es costoso, dado que implica la inversión de un gran porcentaje de recursos energéticos y tiempo. A partir del conocimiento del ciclo gonádico de una especie se puede inferir su participación en la cadena trófica (Kautsky, 1982; Encina y Granado, 1997; Johnson *et al.*, 2001).

En el caso de especies de importancia económica, estos pueden ser utilizados para calcular la producción de acuerdo a las distintas temporadas del año, sin embargo para especies que no se encuentran directamente relacionadas de las actividades humanas, pueden servir para monitorear el estado de salud de las poblaciones (Kautsky, 1982).

E. attenuata, no es una especie implicada de manera directa en actividades económicas; un ciclo gonádico de esta especie aporta datos acerca del comportamiento reproductivo de la población. Este organismo es importante dentro de la cadena trófica, ya que sirve de alimento a larvas y estadios juveniles de peces y crustáceos de importancia económica y otras de importancia ecológica (Ryer y Orth, 1987).

La manera de estudiar el comportamiento reproductivo de las poblaciones puede variar, desde los estudios de análisis poblacional que analizan el número de adultos, hembras grávidas y no grávidas; número de huevos y/o embriones y larvas; épocas reproductivas; disponibilidad de recursos, entre otros (Kautsky, 1982).

Fecundidad

Un factor importante es la fecundidad, que expresada de forma general, es el número de crías producidas por una hembra en un periodo determinado; no obstante, es posible y necesario redefinirla según corresponda al caso particular de cada estudio (Brass, 1974; Ramírez, 2002).

La fecundidad es un valor importante en estudios ecológicos porque es el índice que aporta más información sobre la adecuación o “fitness” de un organismo (Brass, 1974; Ramírez, 2002; Bradshaw y McMahon, 2008; Kindsvater y Otto, 2014; Wang *et al.*, 2015). En demografía el estudio de la fecundidad brinda una cantidad importante de información sobre el comportamiento presente y futuro de las poblaciones, para ello se establecen parámetros y fórmulas para cuantificarla; los parámetros a considerar son principalmente el número de hembras reproductoras, hembras en etapa reproductiva y número de productos, es decir huevos, embriones o crías (Brass 1974; Bertrand *et al.*, 1994; Daniel, 2008).

La literatura refiere a tres fórmulas principales:

- 1) la Tasa de Global de Fecundidad (TGF), la cual indica el número de descendencia que tendría una hembra si procreara en cada periodo reproductivo de su vida, basándose en los valores de fecundidad específica de cada grupo.
- 2) la Tasa de Fecundidad General (TFG), que refiere el número de productos que tendrían todas las hembras en etapa reproductiva de la población en un periodo determinado.
- 3) la Tasa Específica de Fecundidad (TEF), que responde al número promedio productos que existen por cada mil hembras en un periodo determinado y en un grupo o intervalo de edad establecido.

Debido a que estas fórmulas arrojan únicamente valores hipotéticos, en ocasiones alejados de la realidad, se han realizado modificaciones a las fórmulas previamente mencionadas, considerando únicamente a las hembras reproductivas, con la finalidad de alcanzar valores de fecundidad real (Brass, 1974; Bertrand, 1994; Ramírez, 2002; Daniel, 2008).

Las fórmulas corresponden a: TFG, donde B es igual al número de productos, NF al número de hembras en etapa reproductiva y K es la constante igual a 1000; TGF es la sumatoria de las tasas específicas de fecundidad de todas las hembras de los distintos intervalos (TEF_{α}) y; TEF, donde B_{α} es igual al total de número de productos del grupo, E_{α} es igual al número total de hembras del grupo, multiplicado por 1000 (Brass, 1974; Bertrand, 1994; Daniel, 2008).

$$1) TFG = \frac{B}{iNFn} * K$$

$$2) TGF = \sum_{i=m}^n i TEF_{\alpha} n$$

$$3) TEF = \frac{B_{\alpha}}{E_{\alpha}} * 1000$$

En el caso de animales marinos, y en específico aquellos que ponen huevos o presentan estadios larvarios, la fecundidad se considera a partir del conteo de huevos/embriones puestos por una hembra, relación entre número de huevos/embriones y talla de la hembra, patrones de desove, estudios histológicos que contabilizan los folículos en desarrollo y la producción final de huevos o embriones; tamaño, peso y contenido de las gónadas, análisis numéricos de etapas de desarrollo específico, fases de desarrollo de ovocitos, entre otros. Esta diversidad de metodologías está dada por la gran variedad de patrones de reproducción que existen entre los organismos marinos que en el caso de organismos modulares, pueden llegar a ser completamente diferentes (Ramírez, 2002; Tsai y Dai, 2003; Bakenhaster *et al.* 2006; Bradshaw y Mc Mahon, 2008;).

En los animales marinos, los estudios de fecundidad son frecuentes en organismos de importancia comercial, ya sean silvestres o en cultivo, principalmente peces, de valor alimenticio o de ornato; moluscos (bivalvos y cefalópodos) y crustáceos (camarones y langostas); aunque los organismos sin relevancia económica también han

recibido atención (Ramírez, 2002; Gjedrem, 2005; Longhurst, 2010). En los crustáceos, una manera recomendable de estimar la fecundidad, es mediante la toma de morfometrías como la longitud total del organismo y el tamaño de la puesta, que puede estar dada en el peso de ésta o en el número de huevos/embriones que la integran, ya que en múltiples estudios se ha comprobado que existe una relación positiva entre la talla de las hembras y el tamaño/peso de la puesta (Fogarty, 1995; Ramírez, 2002; Gjedrem, 2005; Longhurst, 2010).

Respecto a los isópodos, los estudios de fecundidad son diversos, un parámetro ampliamente utilizado es la relación entre el largo total del organismo y el número de huevos, ya que frecuentemente se encuentra una relación positiva entre estos dos factores, aunque también pueden encontrarse otros en los cuales se pesa la gónada, se mide o en el que la longitud total no es significativa (Wägele, 1987; Jay, 1989; Song y Mok, 1994; Marques *et al.*, 1994; Poulin, 1995; Fonseca *et al.*, 2000; Tsai y Dai, 2003; Kight y Nevo, 2004; Romero y Román, 2008; Romero, 2014).

Fecundidad a nivel histológico

Además de la fecundidad, se pueden utilizar otros métodos para conocer el comportamiento reproductivo, como pueden ser mediante análisis histológicos o citológicos (Johnson *et al.*, 2001). Kautsky (1982) y Schuldt (1993) consideran al ciclo gonádico, como el conjunto de cambios a nivel celular y tisular, que ocurren en las gónadas de los individuos de ambos sexos, en un periodo determinado y que pueden llegar a ser diferenciados en etapas; considerando también que pueden existir especies de reproducción no estacional en las cuales se observen distintas etapas del desarrollo gonádico en un mismo individuo, para un mismo tiempo y que se pueden caracterizar mediante cualidades morfológicas, histológicas o citológicas.

Meiosis y gametogénesis

Uno de los criterios que puede considerarse desde la perspectiva citológica es la meiosis. Este proceso implica dos divisiones nucleares sucesivas, meiosis I y II, a través de las cuales se obtienen cuatro células hijas haploides, es decir, que los

núcleos contienen la mitad del total de cromosomas que contenía la célula de la cual se originaron (John, 1990; Curtis *et al.*, 2008; Karp, 2009).

Como parte de la dinámica de este proceso celular, se requiere que el DNA se duplique y organice para su posterior segregación. Durante la meiosis I los cromosomas duplicados durante la interfase constituidos por dos cromátidas se separan de sus homólogos (cromosomas pareados que se encuentran en las células diploides, cada uno porta una copia del material genético propio del par cromosómico) (Karp, 2009). La meiosis se divide en etapas, de acuerdo con el arreglo de la cromatina (núcleo interfásico) hasta cromosomas (profase, metafase, anafase y telofase); la primer división, meiosis I, está compuesta por: profase I, metafase I, anafase I y telofase I. La profase I es un proceso largo que puede llevar varios días, y que a su vez se divide en sub-fases:

Leptoteno, la cromatina se compacta y permite la identificación de los cromosomas a manera de estructuras filamentosas o gránulos, es posible observar cromátidas hermanas de los cromosomas.

Cigoteno, se aparean los cromosomas homólogos, sinapsis, y se forma el complejo sinaptonémico, el cual permite la interacción de las cromátidas que da origen a configuraciones cromosómicas tales como los “bivalentes” o “tétradas”. El primero resulta de dos cromosomas homólogos y el segundo de cuatro cromátidas.

Paquiteno, el complejo sinaptonémico se forma completamente y permite el entrecruzamiento o “crossing-over”, que ocurre en los nódulos de recombinación.

Diploteno, se observa una disolución parcial del complejo sinaptonémico que permanece presente mediante estructuras con forma de “X” llamadas quiasmas, resultantes de las interacciones covalentes de los homólogos.

Diacinesis, se ensambla el huso meiótico e inicia la separación de los cromosomas, comienza la compactación (se observan bivalentes que se desplazan hacia el ecuador o placa de la metafase), el nucléolo desaparece y la envoltura nuclear se desintegra (Figura. 2) (John, 1990; Alberts *et al.*, 2006; Brooker, 2008; Karp, 2009; Rodríguez *et al.*, 2009).

En la metafase I, los cromosomas bivalentes migran hacia la placa ecuatorial y los centrómeros de los cromosomas homólogos se orientan hacia opuestos a la placa.

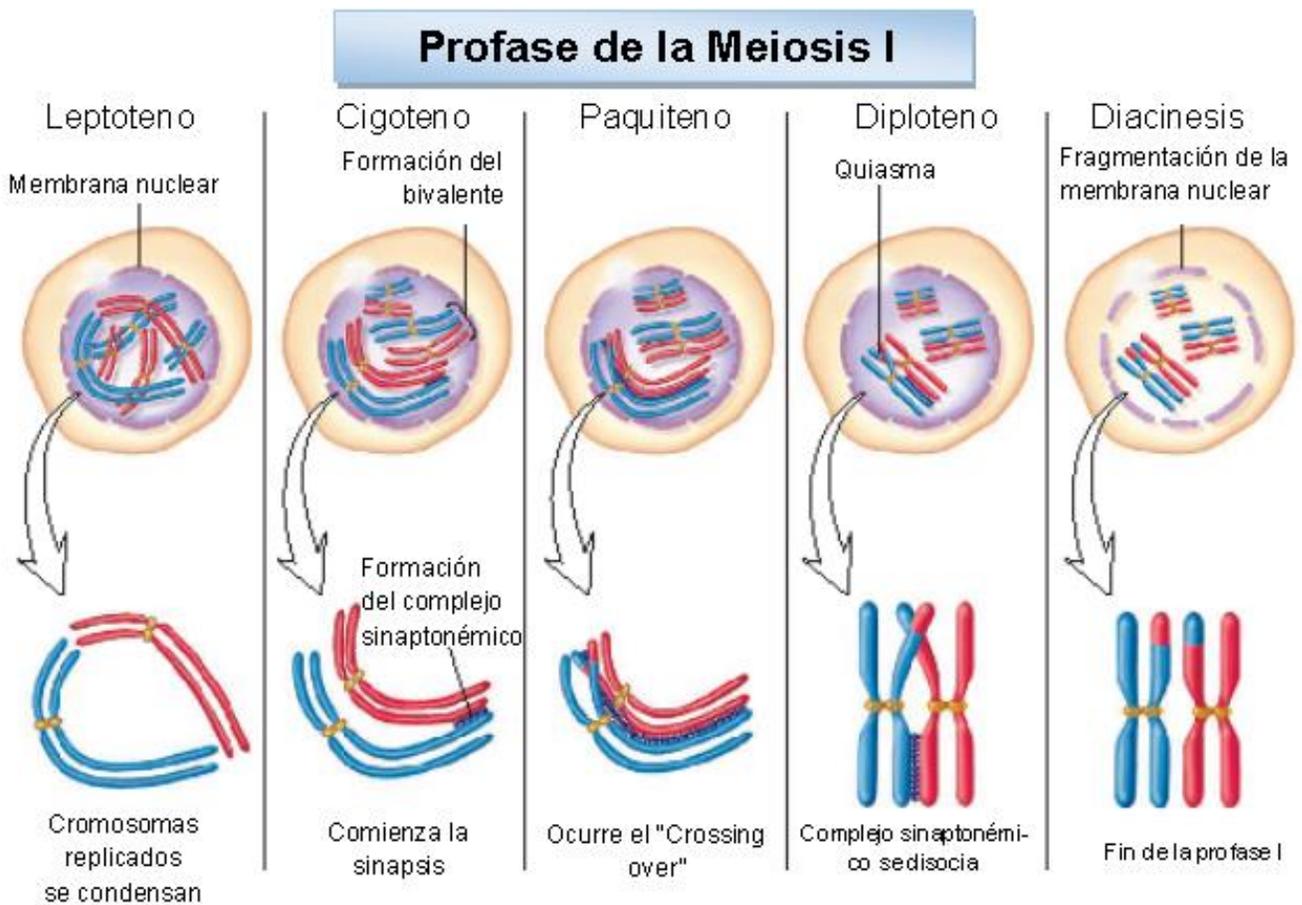


Figura 2. Esquematación de los eventos que ocurren durante la profase I. (Tomado y modificado de Brooker, 2008).

Anafase I, existe un alineamiento de los cromosomas en la placa ecuatorial y se han disuelto los quiasmas, los homólogos que poseen sus cromátidas unidas a los centrómeros se separan y comienzan una migración hacia los polos.

En la telofase I la migración hacia los polos ha concluido, dando a cada célula un complemento haploide, cuando la telofase I termina se presenta la intercinesis, que es la etapa entre divisiones meióticas y que permite caracterizar estadios celulares como los espermatocitos secundarios u ovocitos secundarios (Brooker, 2008; Karp, 2009; Rodríguez *et al.*, 2009; Gilbert, 2010,).

La meiosis II es un segundo proceso de división sin duplicación del material genético.

La profase II, los cromosomas se compactan nuevamente y migran hacia una nueva placa de la metafase, dando lugar al inicio y final a la metafase II. La anafase II, segregación ecuacional de los centrómeros guiada por la unión de los cinetocoros a fibras del huso meiótico y una consecuente migración hacia los polos.

La fase final de la meiosis II es la telofase II, en la cual se reensambla la envoltura nuclear y se divide el citoplasma dando origen a la formación de cuatro células haploides (Figura 3) (John, 1990; Brooker, 2008; Karp, 2009; Rodríguez *et al.*, 2009; Gilbert, 2010).

Como se mencionó, el proceso de división meiótica hace posible que las células gaméticas femeninas y masculinas contengan la cantidad de información genética adecuada para la complementación entre sí, lo cual es indispensable para la reproducción sexual. Dependiendo del sexo del organismo la meiosis forma parte de la espermatogénesis en los machos o la ovogénesis en las hembras, estos procesos estarán auxiliados por otras celulares como las células accesorias, enfermeras o foliculares, la terminología puede variar dependiendo del autor y del organismo en cuestión, sin embargo la función general es la de nutrir y brindar soporte a las células gaméticas en desarrollo (Wägele, 1992).

La espermatogénesis inicia con la espermatocitogénesis o la fase de multiplicación, en la cual están implicadas unas células conocidas como espermatogonias, estas son generalmente grandes con respecto a otros tipos celulares y presentan cromatina dispersa. Durante la espermatocitogénesis únicamente ocurren múltiples divisiones mitóticas que dan origen a poblaciones numerosas de espermatogonias y que son un factor determinante en la cantidad de espermatozoides que puede formar la especie (Roosen-Runge, 1977).

La transición de la fase mitótica a la meiótica dentro de las gónadas es producto de la regulación hormonal. Las hormonas participan dentro del desarrollo de las estructuras reproductivas de diferentes maneras, en estadios juveniles detienen su desarrollo y cuando el organismo alcanzan su forma o talla adulta estimula la maduración de las gónadas, el inicio de las divisiones meióticas al interior de las mismas y la diferenciación celular de los gametocitos.

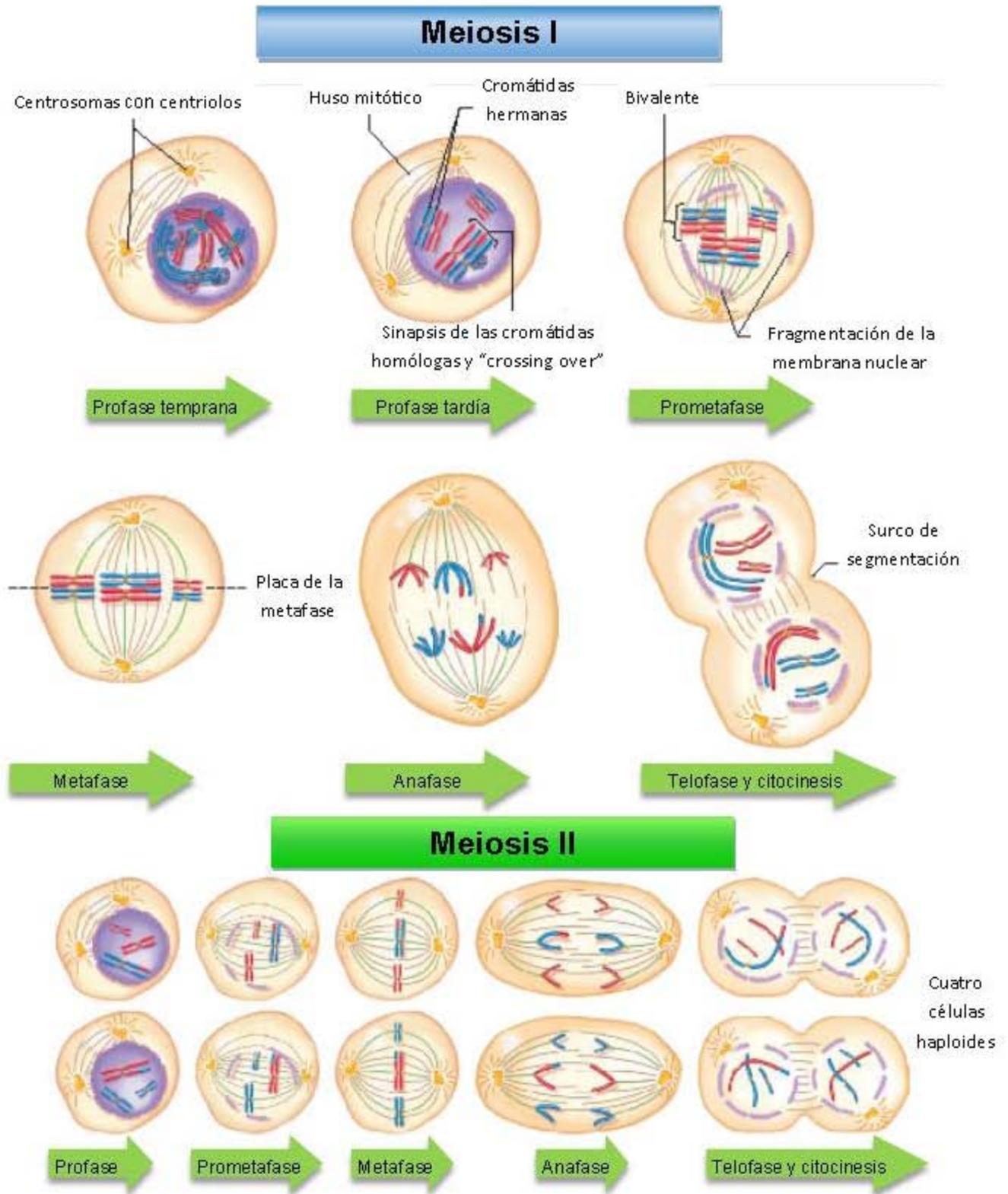


Figura 3. Esquematación de los eventos de la meiosis I y meiosis II, (Tomado y modificado de Brooker, 2008).

En los crustáceos, las hormonas involucradas y las vías implicadas se conocen bien, ya que tienen aplicaciones biotecnológicas y en la acuicultura. Una hormona importante en la maduración y desarrollo sexual es la ecdisona, la cual regula los momentos en los que estos organismos llevan a cabo la ecdisis (muda). Después de varios ciclo de ecdisis, se activa un mecanismo de control neuro-endocrino que también implica a los órganos X y Y (glándulas localizadas en la región sub-ocular y maxilar, respectivamente). La diferencia en la liberación de ecdisona después de varios ciclos altera la relación antagónica del complejo GIH-GSH (Hormona inhibidora de la gónada-Hormona estimulante de la gónada). La ecdisona funciona entonces como antagonista de GIH y permite así que GSH tenga efecto sobre los órganos reproductivos, haciéndolos madurar. El descenso de los niveles de GIH también tiene una función sobre el órgano Y, que libera hormonas como la metil farnesoato (MF) y ácido farnesóico (FA), la cuales tienen un efecto directo sobre el inicio de la gametogénesis de ambos sexos, aunque en la masculina también se observa la presencia de las hormonas androgénicas I y II (AHI y AHII) (Laufer, *et al.*, 1993; Nagaraju, 2011; Aprajita, *et al.*, 2014).

Después de los eventos del control hormonal que inician la maduración sexual observa el inicio de la fase meiótica, las células participes en esta fase en los machos son llamados espermatocitos, los espermatocitos primarios comprenden la meiosis I, mientras que los espermatocitos secundarios se caracterizarán desde la intercinesis hasta el fin de la meiosis II. Los espermatocitos primarios son generalmente de talla grande dada su doble dotación genética y se pueden observar las fases de la meiosis I. Los espermatocitos secundarios presentaran una menor talla con relación a los primarios y una compactación visible del material genético. Al terminar la meiosis II las células resultantes son las espermátidas que inician la última fase de la espermatogénesis, la espermiogénesis, la fase de diferenciación hacia los espermatozoides, los cuales representan la fase final del proceso (Roosen-Runge, 1977; Gilbert; 2010).

En las hembras ocurre un proceso similar, que inicia con una fase mitótica en la que están implicadas las ovogonias, posterior a los eventos de regulación hormonal, que en el caso de las hembras se ven mayormente influenciados por la actividad de la

ecdisona, ya que para iniciar la maduración las hembras deben alcanzar una talla específica determinada por el número de ciclos de ecdisis. Inicia la fase meiótica y con ello será posible observar a los folículos primordiales, primarios y secundarios, los cuales se encuentra rodeados por las células foliculares.

Las divisiones meióticas de los ovocitos o folículos, a diferencia de los espermatozoides, no forman cuatro gametos, sino un solo gameto funcional y tres cuerpos polares, esto es debido a que las divisiones meióticas no son geoméricamente iguales, al final los cuerpos polares morirán y serán reabsorbidos. Estos estadios celulares se caracterizarán como ovocito o folículo primario si han alcanzado la meiosis I y secundario si han alcanzado la meiosis II (Figura 4) (Wägele, 1992; Curtis *et al.* 2008; Gilbert, 2010; Aprajita, *et al.* 2014).

Otra forma de caracterizar a este tipo de células ya que pueden variar en dependiendo del organismo, por la existencia de particularidades de maduración sexual u hormonal a lo largo del ciclo de vida, es mediante la morfología de las células foliculares adyacentes (Wägele, 1992).

Finalmente se debe de reconocer que la meiosis y los dos proceso derivados de esta, espermatogénesis y ovogénesis, juegan un papel importante desde la perspectiva biológica, ecológica y evolutiva, ya que son la base de la reproducción sexual que permite la variabilidad genética, que a su vez lleva a la diversidad genotípica y fenotípica (John, 1990).

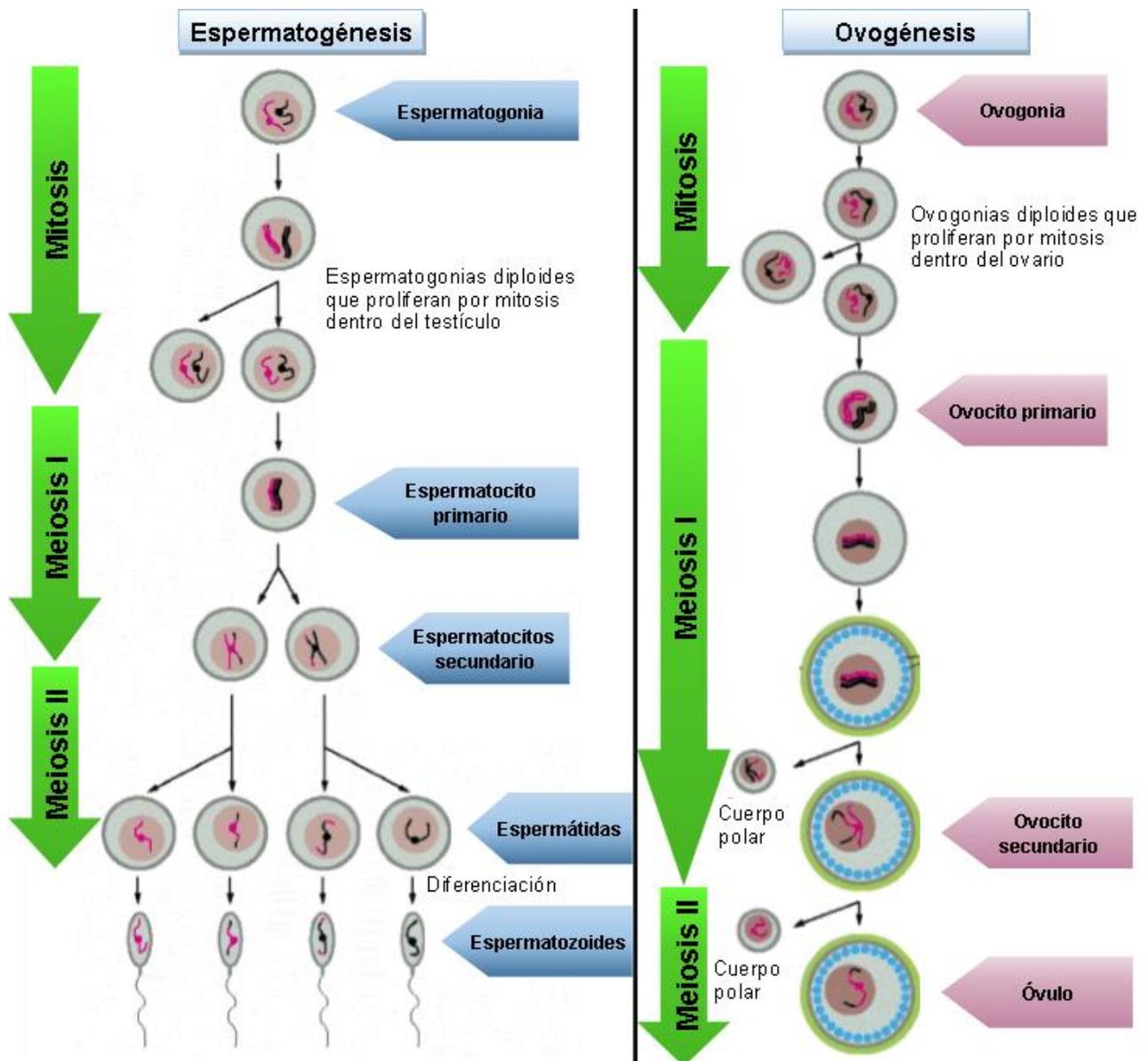


Figura 4. Esquematización del proceso de espermatogénesis y ovogénesis. (Tomado y modificado de Alberts *et al.*, 2008).

Anatomía interna e histología de isópodos

En el caso particular de los crustáceos la histología es una herramienta que ha permitido el estudio de los diferentes órganos, que va desde estructuras como el hepatopáncreas, sistema nervioso, tracto digestivo, sistema reproductivo, además de enfermedades que organismo de importancia económica podrían presentar (Bell y Lightner, 1988; Harrison y Humes, 1991A y B; Bortolini, 2003; Bortolini y Álvarez, 2008).

En el caso de los isópodos los trabajos sobre el sistema digestivo y nervioso son los más abundantes, algunos otros tratan acerca de cambios en el hepatopáncreas y unos cuantos más se avocan a las gónadas, aunque la gran mayoría son casos de estudio de isópodos terrestres (Holdich, 1971; Longo *et al.*, 1998; Wilson, 1991; Wägele, 1992; Schuldt, 1993; Suzuki y Ziegler, 2005; Ziegler *et al.*, 2005; Millaku *et al.*, 2010; Ziegler y Suzuki, 2011; Vittori *et al.*, 2012).

Las gónadas de isópodos de vida libre son semejantes en especies marinas y terrestres, aunque dependiendo de la anatomía de la especie tendrán diferencias. De manera general los machos poseen testículos pareados, ubicados longitudinalmente que pueden constar de un par compartimentado de tres pares de testículos en el caso de organismos de vida libre y hasta cuatro en el caso de organismos parásitos, estas gónadas están distribuidas acorde a la anatomía de la especie, sin embargo de manera general se menciona que recorren la longitud total del organismo desde el segmento posterior al cefalón y hasta el último del pleón. Anatómicamente se encuentran en posición dorso-lateral y se encuentran rodeadas por estructuras como paquetes musculares, túbulos hepatopancreáticos, tracto digestivo y sistema hemal. Es posible distinguir a las gónadas por las células que albergan como son las espermatogonias, espermatocitos, espermatidas y espermatozoides, pero también es posible distinguirlas mediante las células accesorias, las cuales son alargadas, de pequeño tamaño y con núcleos relativamente grandes; que están organizadas a manera de lámina conformando el perímetro de la gónada (Wägele, 1992; Longo *et al.*, 1998; Suzuki y Ziegler, 2005).

Las hembras en contraste son más diversas, en el caso de las especies parásitas, presentan ovarios a manera de sacos pareados compartimentados, que están albergando distintas fases de la ovogénesis; los organismos de vida libre que poseen una forma abultada-redondeada, tienen ovarios con un perímetro epitelial formado por las células foliculares, que además de auxiliar a los ovocitos en desarrollo, pueden diferenciarse en hacia un folículo y en consecuencia hacia un ovocito (Highnam, 1977).

Las especies con una anatomía más elongada presentan una gónada bilobulada dorso-lateral, con los gonocitos dispuestos a manera de collar de perlas, es decir en

filas que recorren al organismo desde el segmento posterior al cefalón y hasta el anterior al pleón, de manera similar a los machos. Las filas compuestas por gonocitos en distintas etapas de desarrollo, pueden ser o no consecutivas.

Una diferencia significativa que existe con respecto a los machos son las células foliculares, ya que en las hembras se pueden presenciar cambios en su morfología con respecto al desarrollo de los gonocitos; en especies de vida libre, las células foliculares rodean al ovario y tiene una forma esférica o cubica cuando este se encuentra en una etapa inicial, conforme el desarrollo avanza estas comienzan a aplanarse y a perder volumen, por ceder nutrientes para auxiliar a la progresión de los gonocitos y por el aumento de presión interna, en etapas finales incluso puede ser difícil apreciar los núcleos y estas pueden llegar a verse únicamente como una lámina. En etapas finales se observa un crecimiento de los gonocitos que llega a ocupar un volumen considerable de la anatomía interna del organismo. De la misma manera que en los machos, los órganos internos como túbulos hepatopancreáticos, tracto digestivo, sistema hemal y paquetes musculares, se encontraran alrededor de las gónadas; pero con el crecimiento de estas, los demás órganos son desplazados hacia la periferia del cuerpo del organismo, lo que incluso lleva a la compactación de estas estructuras.

Previa a la etapa final de organismos marinos de vida libre que es el desove, se desarrollarán osteguitos, que son prolongaciones de la cutícula en la región ventral del organismo para conformar un marsupio, al fecundarse los ovocitos, migran hacia el marsupio, convirtiéndose en embriones, y se alojan ahí hasta la liberación al medio entendiéndose entonces que existen cuidados maternos por tiempos determinados para cada una de las diferentes especies (Bell y Lightner, 1988; Wilson 1991; Wägele, 1992; Schuldt, 1993).

Antecedentes.-

E. attenuata ha recibido poca atención, lo que se refleja en la literatura con escasos, generalmente se encuentra en estudios de diversidad poblacional de crustáceos, revisiones taxonómicas y estudios de hábitos alimenticios relativos a sus depredadores, o competidores que presentan las mismas características ecológicas.

El género *Erichsonella* fue establecido por James Dwight Dana en 1849 para incluir a *Erichsonia angulata*, una especie tropical encontrada en Rio de Janeiro, Brasil. Posteriormente Edward John Miers sinonimizó el género con *Cleantis* (Dana, 1849), y en 1900 Charles Harriet Richardson publicó una clave del género Idoteidae, lo que eliminó a *Cleantis* como sinónimo e incluyó a *Erichsonia*, al cual nombró *Erichsonella*; inicialmente compuesto por tres especies: *E. attenuata* (Harger, 1873); *E. filiformis* (Say, 1818) y *E. floridana* (Richardson, 1901). El género actualmente consta de siete especies (Dana, 1849; Pirés, 1984; Kensley y Schotte, 1989; Poore y Schotte, 2014).

En el Golfo de México se ha reportado la presencia de *E. attenuata* en las costas Texasanas, en la zona intermareal de 0 a 20m de profundidad (Richardson, 1905; Pirés, 1984; Kensley y Schotte 1989; Boström y Mattila, 2005; Schotte *et al.*, 2009), en las regiones Noroeste y Noreste, que están delimitadas al sur por el paralelo 25 N (Schotte *et al.*, 2009).

Su importancia resulta de representar una considerable parte de la producción secundaria sobre pastos marinos, y por lo tanto en la dieta de organismos asociados a éstos como peces y otros crustáceos, algunos son de importancia económica y ecológica, como en el caso del pez *Sygnathus fuscus* o pez pipa que pertenece a la familia Syngnathidae, para quien *E. attenuata* representa hasta un 40% de su dieta (Ryer y Orth, 1987; Larkum *et al.*, 2006).

Por otra parte, su papel como competidor permite que no proliferen otras especies semejantes, ya que es una especie dominante de la carcinofauna asociada a pastos marinos, lo cual evita la pérdida del balance de las poblaciones de otras especies de crustáceos (Ryer y Orth, 1987; Fredette *et al.* 1990; Boström y Mattila, 1999).

Como herbívoro y detritívoro es importante puesto que previene la acumulación de materia orgánica en las zonas que habita, así como la proliferación excesiva de las

especies de pastos marinos y algas a las cuales se encuentra asociado, por lo cual, su presencia se puede asociar a zonas que gozan de un buen equilibrio ambiental (Ryer y Orth, 1987; Ferguson *et al.*, 1993; Kensley *et al.*, 1995; Boström y Mattila, 1999; Boström y Mattila, 2005; Darcy y Eggleston, 2005; Sheridan, 2004).

Existen algunos trabajos experimentales sobre la capacidad de *E. attenuata* para fungir como un colonizador primario en ambientes de praderas marinas devastadas por la acción de fenómenos naturales o actividades antropogénicas; dichos estudios llegan a la conclusión que este isópodo posee un amplio espectro de adaptabilidad, soporta valores de pH que van de ácidos a alcalinos, intervalos amplios de temperatura (euritermos) y una capacidad de soportar umbrales de salinidad de dulces a salados (eurialinos). Después de un evento destructivo, *E. attenuata* junto con fauna acompañante compuesta de otros crustáceos y moluscos, dispersan mediante zoocoria diferentes especies de pastos marinos, lo cual se ve favorecido por la naturaleza detritívora de muchos de estos organismos, ya que altera positivamente el sustrato favoreciendo el crecimiento de esta flora. Posteriormente la vegetación crece y da oportunidad a esta y otro tipo de fauna de proliferar, lo que resulta en el reclutamiento de especies depredadoras; sin embargo la presencia de *E. attenuata* puede ser ambigua, ya que arroja información de un ecosistema en buenas condiciones, uno en estado de recuperación o uno que haya sido fuertemente alterado; para corroborar el papel que *E. attenuata* juega se deben de realizar comparaciones con las otras especies cohabitantes, dado que la proporción de estas determina como interaccionan con el ambiente (Sheridan, 2004; Darcy y Eggleston, 2005; Blake y Duffy, 2010; Lawless y Seitz, 2014).

Con respecto a las características reproductivas, citológicas e histológicas de *E. attenuata*, los trabajos son inexistentes, aunque existen algunas investigaciones con organismos similares. Los estudios sobre hábitos reproductivos de isópodos terrestres y marinos no son raros dentro del registro bibliográfico, incluso existen algunos de organismos de grandes profundidades como *Bathynomus doederleini*, aunque comúnmente los organismo terrestres, parásitos y marinos de zonas intermareales de tamaño pequeño reciben mayor atención. Estos trabajos se abocan al análisis de la estructura poblacional, fecundidad, morfometrías relativas a los sexos y etapas

reproductivas, e incluso existen algunos que abordan la etología de estos organismos. La mayoría de estos estudios coinciden con que existe una relación entre la talla de las hembras en etapas reproductivas y el número de huevos albergados en el marsupio y la existencia de una reproducción no estacional (Soong y Mok, 1994; Marques *et al.*, 1994; Lefebvre y Caubet, 1999; Fonseca *et al.*, 2000; Rocha *et al.*, 2002; Sparkes *et al.*, 2002; Achouri *et al.*, 2002; Tsai y Dai, 2003; Bakenhaster *et al.*, 2006; Romero y Román, 2008; Montesanto *et al.*, 2012; Sokolowicz y Araujo, 2013; Romero y Román, 2013).

Refiriéndose a trabajos que abordan las características histológicas y/o citológicas de las gónadas de isópodos, éstos son escasos, por lo cual es necesario recurrir a trabajos de especies muy diferentes, como ejemplo se puede citar a Shuldt (1993), quien se ocupó del caso de *Probopyrus ringueleti*, isópodo parásito, aunque también existen trabajos más recientes, que de la misma manera abordan las características histológicas de isópodos parásitos o terrestres (Manship *et al.*, 2011; Warburg, 2012; Romero, 2014). Los trabajos acerca de la histología de otros órganos de isópodos se enfocan al aparato digestivo, sistema nervioso y vascular (Longo *et al.*, 1998; Suzuki y Ziegler, 2005; Ziegler *et al.*, 2005; Millaku *et al.*, 2010; Ziegler y Suzuki, 2011; Vittori *et al.*, 2012).

Debido a que estos trabajos son en su mayoría de isópodos terrestres, es necesario recurrir a descripciones generales del grupo como la que realizó Wägele (1992) para proporcionar un panorama general de la histología de todos los isópodos.

La citología de isópodos está poco abordada, generalmente los objetos de estudio de esta área son isópodos hermafroditas o dimórficos, en los cuales se analizan los cambios cromosómicos ocurridos durante la gametogénesis (Staiger y Bocquet, 1954; Holdich, 1971; Cladera, 1981; Mittal y Pahwa, 1981; Rocchi *et al.*, 1984).

Los trabajos más recientes relativos a esta especie corresponden a un estudio poblacional en un ciclo anual y la ampliación de su área de distribución en costas mexicanas, en específico en la laguna de Tamiahua, Veracruz y en la laguna de Términos, Campeche (Reyes *et al.*, 2011; Bortolini *et al.* 2012, 2013), la cual únicamente estaba limitada a las costas de norteamericanas (Texas, Louisiana, Mississippi, Alabama y Florida) del Golfo de México.

Es por esto y debido a la escasa cantidad de información que se encuentra en la literatura especializada acerca de la reproducción de isópodos marinos de vida libre, que este estudio pretende fincar un precedente, para entender la reproducción del orden Isópoda ya que es escasa la literatura del desarrollo gonadal de estos crustáceos.

Reconociéndose como un aspecto importante la identificación los cambios en las gónadas de los organismos de ambos sexos, para evidenciar las transiciones estructurales a nivel tisular y celular que están involucradas en su ciclo reproductivo, y como es que esto se relaciona con la ecología de la especie.

Objetivos.-

General

Documentar las características generales del ciclo reproductivo en *Erichsonella attenuata* en la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México.

Particulares

Con la finalidad de poder abordar los diferentes aspectos que se pretenden evaluar en este trabajo, los objetivos particulares se presentan a nivel poblacional, histológico y citológico.

Estudio poblacional

- Determinar los valores de proporción sexual, fecundidad, relación de talla/#embriones producidos por las hembras.

Histología del tejido gonadal

- Describir la ubicación y organización del tejido gonádico para hembras y machos de *E. attenuata*.

Características citológicas

- Exponer el proceso de formación de gametos femeninos y masculinos en *E. attenuata*
- Identificar las fases de la meiosis a lo largo del proceso de formación de gametos masculinos en *E. attenuata*.

Área de estudio.-

La Laguna de Tamiahua en el Estado de Veracruz, México; es en extensión la tercera de la República Mexicana, mide cerca de 800 km² y se ubica en el Norte del Estado de Veracruz, entre el Río Pánuco al Norte y el Río Tuxpan al Sur ; ésta se encuentra ubicada entre los 21°16' y 22° 06' latitud Norte y 97°23' y 97°46' longitud Oeste, limita al norte con el Río Pánuco y al sur con el Río Tuxpan (Franco y Chávez, 1992) (Figura 5).

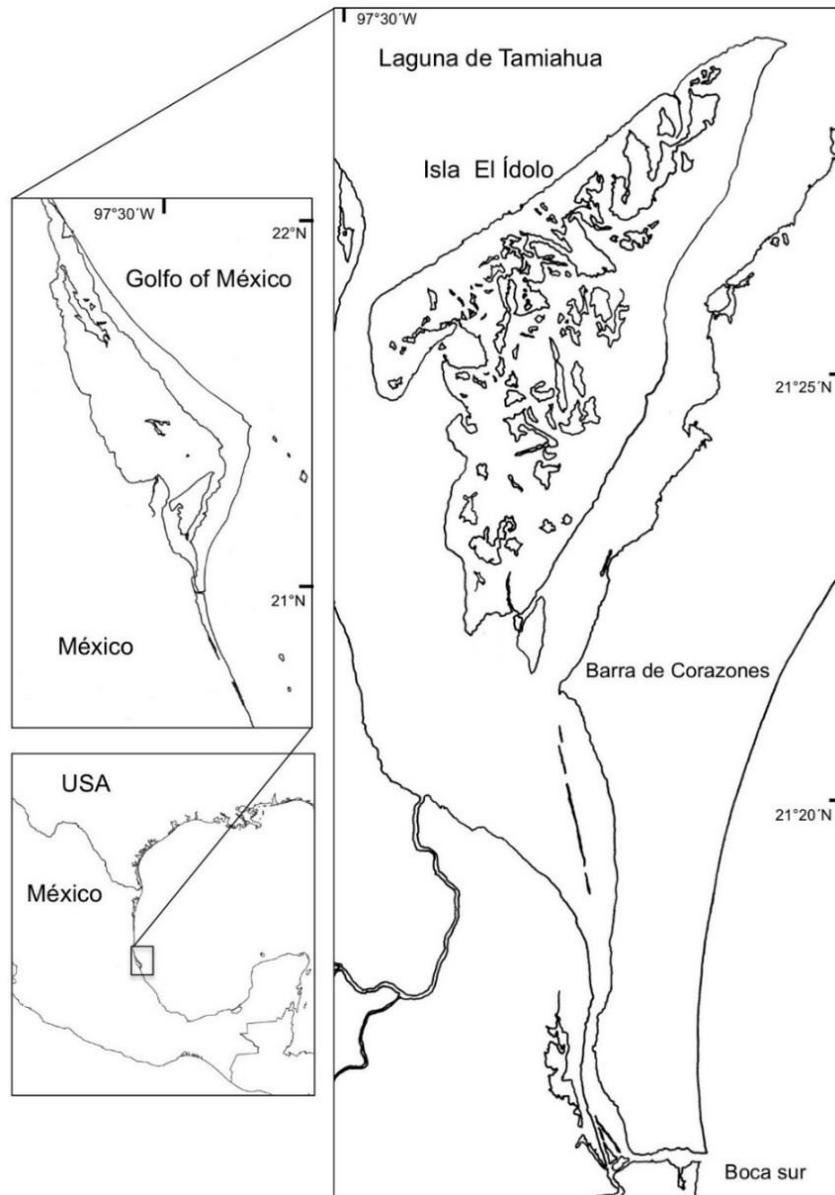


Figura 5.- Mapa de ubicación de la Laguna de Tamiahua e isla El Ídolo en el Estado de Veracruz, México.

Material y métodos.-

Trabajo de campo

Se realizaron siete recolectas de manera bimestral entre julio de 2010 y agosto de 2011. En cada uno de los sitios de colecta de la Laguna de Tamiahua en el Estado de Veracruz, México; se procesaron \approx 20kg de sustrato, con tamices de apertura de malla de 1.6 y 2.0 mm y se tomaron datos de los factores físico-químicos como salinidad, pH y temperatura con el multiparamétrico Hanna HI9828. La geoposición fue obtenida con un GPS Garmin eTREX Venture HC.

Los organismos se obtuvieron a partir de los tamizados fueron depositados en frascos PET de boca ancha de 1,000 ml, algunos conservados con EtOH 70% y otros fijados con solución Davidson's (Anexo 1), a cada una de las muestras se le anexó una etiqueta con los datos de colecta: geoposición, número de estación, fecha, datos físico-químicos y nombre de los colectores (Figura 6). Aquellos organismos fijados en solución Davidson's fueron destinados al proceso histológico.

Trabajo de laboratorio

Una vez en el laboratorio las muestras fueron lavadas con agua corriente por 6 horas, la totalidad de organismos constituyentes fue aislada del resto de la materia orgánica y posteriormente conservadas en EtOH 70%. Los organismos pertenecientes a *E. attenuata* fueron separados del resto de la fauna colectada compuesta de varios grupos taxonómicos, no solo crustáceos, bajo un microscopio estereoscópico Olympus SZ2-ILST. Se determinó el sexo y se obtuvieron las siguientes medidas morfológicas: largo del cefalón (LC) el cual está delimitado entre el perfil medio anterior y el perfil medio posterior de la cabeza; largo del pereión (LPe) que va del perfil medio anterior del primer segmento al perfil medio posterior del séptimo segmento torácico y largo del pleón (LPI) que va del perfil medio anterior al perfil medio posterior del abdomen, así como el largo total del organismo (LT) que está constituido del perfil medio anterior de la cabeza al perfil medio posterior del abdomen (Figura 7).

Para determinar el sexo de los organismos se consideró para los machos la presencia de penes y estiletos, los primeros ubicados entre el final del octavo segmento

corporal y el principio del pleón, mientras que los segundos se encuentran localizados detrás del segundo par de pleópodos (Figura 7). La ausencia de estas estructuras determinaba a una hembra, aunque los gonoporos pueden ser identificados mediante Microscopía electrónica de barrido (MEB) en el quinto segmento. Finalmente, se asignó una clave numérica para su posterior identificación a cada uno de los organismos.

Se establecieron subconjuntos de machos (♂), hembras no ovígeras (♀NO) y hembras ovígeras (♀O) para su manejo. En el caso de las hembras ovígeras se procedió a la separación de los embriones de los osteguitos mediante la apertura de estos con agujas de disección, éstos fueron contabilizados y conservados en lo individual en viales Eppendorf® de 0.5 ml con EtOH 70%.

Ejemplares de cada grupo fueron seleccionados para la toma de fotomicrografías con un microscopio estereoscópico Leica MB80 en el Taller de Biología de Animales III de la Facultad de Ciencias (FC) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y con el microscopio electrónico de barrido Hitachi SU 1510 del Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad del Instituto de Biología (IB) de la UNAM.

Una muestra fue depositada en la Colección Nacional de Crustáceos (CNCR) del IB de la UNAM como referencia para futuros trabajos.

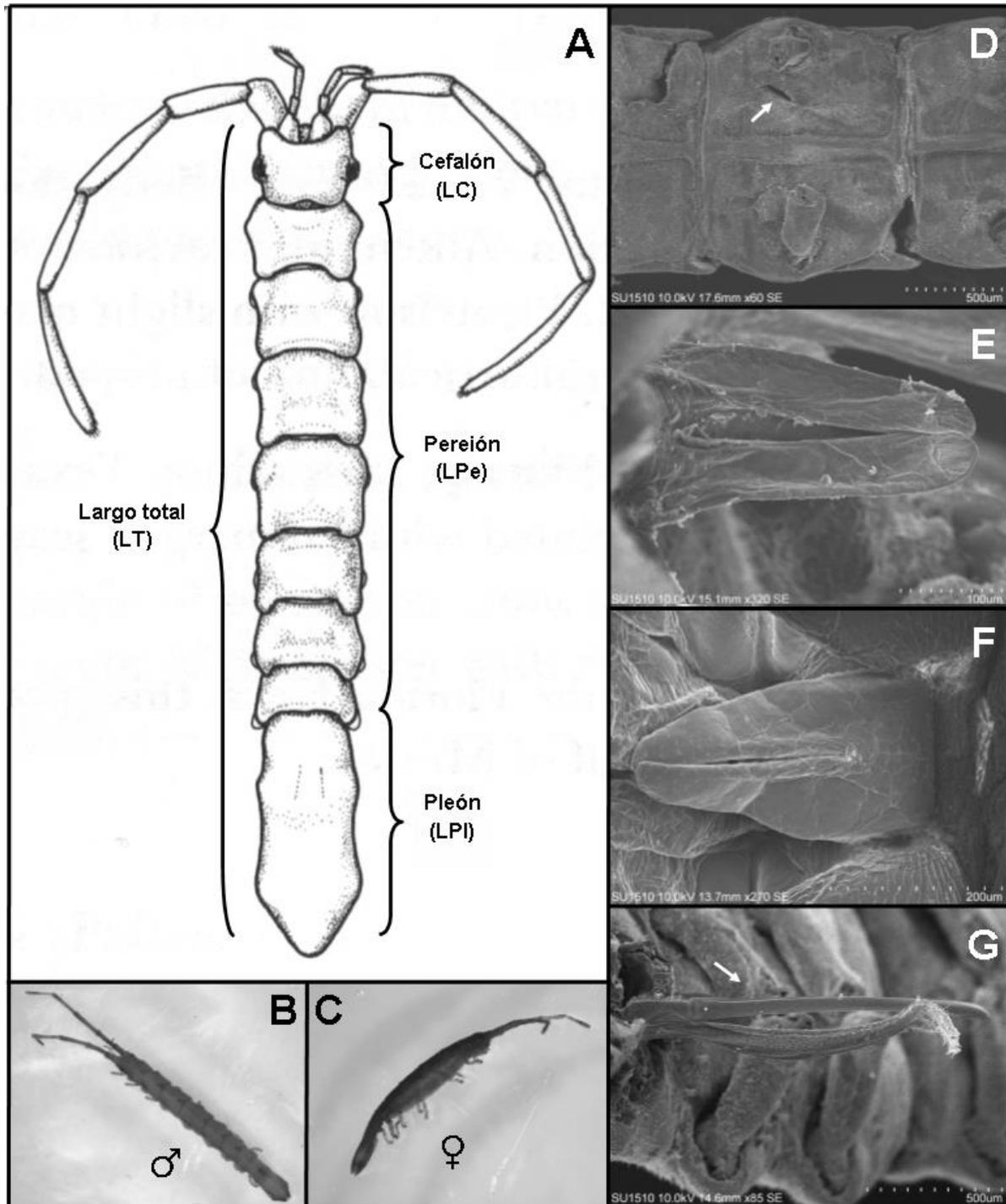


Figura 6.- *Erichsonella attenuata*. A, medidas morfológicas obtenidas para el estudio. Largo del cefalón (LC), largo del pereión (LPe), largo del pleón (LPI) y largo total (LT). B) Macho. C) Hembra ovígera. D) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de un gonoporo del isópodo. E) Vista de la región interior de los penes. F) Vista de la región exterior de los penes. G) Imagen de SEM de un estilete, en el que también se observa el segundo pleópodo al cual está asociado. A, tomado y modificado de Pirés, 1984.

Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos para el análisis morfométrico en la cual se consideraron las medidas de largo de cefalón (LC), largo de pereión (LPe), largo de pleón (LPI) y largo total (LT). Dicha base de datos contiene también el género del organismo, fecha de captura, geoposición y parámetros fisicoquímicos. A partir de la base de datos, se utilizó un análisis multivariado, con los estadísticos de análisis discriminante y análisis de regresión. Para determinar la variable más representativa a utilizar para establecer cuál era la medida morfológica, de las cuatro tomadas, que ofrece mejor información dentro de la población y establecer los intervalos de clase, así como la relación talla y número embriones en el caso de las ♀O.

En la primer parte se efectuaron algunos análisis discriminantes para determinar la variable (cefalón, pereión, pleón y el largo total) que sería utilizado para el análisis estadístico.

Como método se utilizó la estrategia de inclusión de variables por pasos, las variables fueron incluidas paso a paso a la función discriminante tras evaluar su grado de contribución individual a la diferenciación entre los grupos. Cada variable independiente candidata a ser incluida en el modelo se evalúa mediante un estadístico F, que mide el cambio que se produce en el valor de la λ de Wilks al incorporar cada una de las variables al modelo. La λ de Wilks expresa la proporción de variabilidad total no debida a la diferencia entre los grupos (Anderson, 1984; Seber, 1984). Para usar el estadístico F en la selección de variables se determina el valor p , correspondiente a la inclusión de cada variable en la discriminación. Así una variable pasa a formar parte de la función discriminante si el nivel crítico asociado al valor del estadístico F es menor a 0.05; es expulsada de la función si ese nivel crítico es mayor o igual a 0.05.

Se hicieron regresiones lineales simples con dos mediadas morfológicas y el número de embriones. Se construyeron modelos lineales simples para explicar el número de embriones a través de la variable independiente (pleón y largo total).

Se establecieron catorce intervalos de clase para conocer la distribución por tallas de la población en general, dividiéndola a su vez en los tres subgrupos: ♂, ♀NO y ♀O. La construcción de los intervalos de clase se realizó considerando LT, medida que resultó seleccionada tras el análisis estadístico. Los intervalos fueron construidos a

partir de LT y del número total de organismos muestreados (2,315). Se obtuvieron los valores máximo y mínimos de esta medida, y al dividirse entre 14 se determinó el ancho del intervalo. Para fijar los valores extremos de cada intervalo se consideró al mínimo de esta medida y éste fue el extremo izquierdo del primer intervalo, se le sumó el ancho del intervalo y con ello se calculó el extremo derecho de este primer intervalo; para los subsecuentes intervalos, el extremo izquierdo fue calculado sumando 0.01 al extremo derecho del intervalo anterior y el extremo derecho era obtenido sumándole el ancho del intervalo.

Se procedió a hacer las gráficas de los tres subconjuntos de la población, hembras ovígeras, hembras sin huevos y machos, considerando los intervalos construidos, fechas de captura y total de organismos.

El segundo grupo de pruebas consistió en contrastar si todas las distribuciones de las hembras son iguales en las fechas de captura.

Con base en el análisis, las morfometrías tomadas y el conteo de embriones en el marsupio, además de las referencias en las que se hace alusión a esta metodología (Fonseca *et al.*, 2000; Achouri *et al.*, 2002; Rocha *et al.*, 2002; Tsai y Dai, 2003; Bakenhaster *et al.*, 2006; Romero y Román, 2008; Montesanto *et al.*, 2012; Sokolowicz y Araujo, 2013; Romero y Román, 2013), se decidió considerar LT del organismo y el número de embriones en el marsupio como parámetros base para determinar los valores de fecundidad.

Para la obtención de la fecundidad hipotética se utilizaron las fórmulas de TGF, TFG y TEF. Para estimar la fecundidad real se modificaron las fórmulas antes mencionadas considerando únicamente las hembras ovígeras, en vez de la totalidad de las hembras con sus correspondientes embriones.

Técnica histológica

Para la realización de la técnica histológica, se seleccionaron 92 isópodos (46 machos y 46 hembras) de todas las tallas ubicadas dentro de los intervalos de clase previamente establecidos, que en campo fueron particularmente fijados en solución Davidson's (Anexo 1) y posteriormente conservados en EtOH 70%. Los organismos

fueron colocados en cassetes para biopsia y se inició el proceso de deshidratación e inclusión en paraplast con punto de fusión de 56-58 °C (Anexo 2).

Una vez incluidos en paraplast, se procedió a cortar de los organismos de manera transversal y longitudinal en sentido dorso-ventral. Se realizaron cortes con un grosor de 5-7 μm con un micrótopo rotatorio Leica RM2125RT, finalmente se aplicaron dos técnicas de tinción: Hematoxilina-Eosina (H-E), la cual permitió observar en un panorama general las estructuras que conforman a los organismos (Anexo 3) y la técnica de Lendrum (Anexo 4), que permite observar material genético de manera diferencial con respecto al resto de las estructuras (Figura 7).

Las laminillas histológicas una vez secas, se observaron en un microscopio óptico Zeiss Axiostar a diferentes aumentos (10X, 40X y 100X), seleccionándose campos para una posterior toma de fotomicrografías.

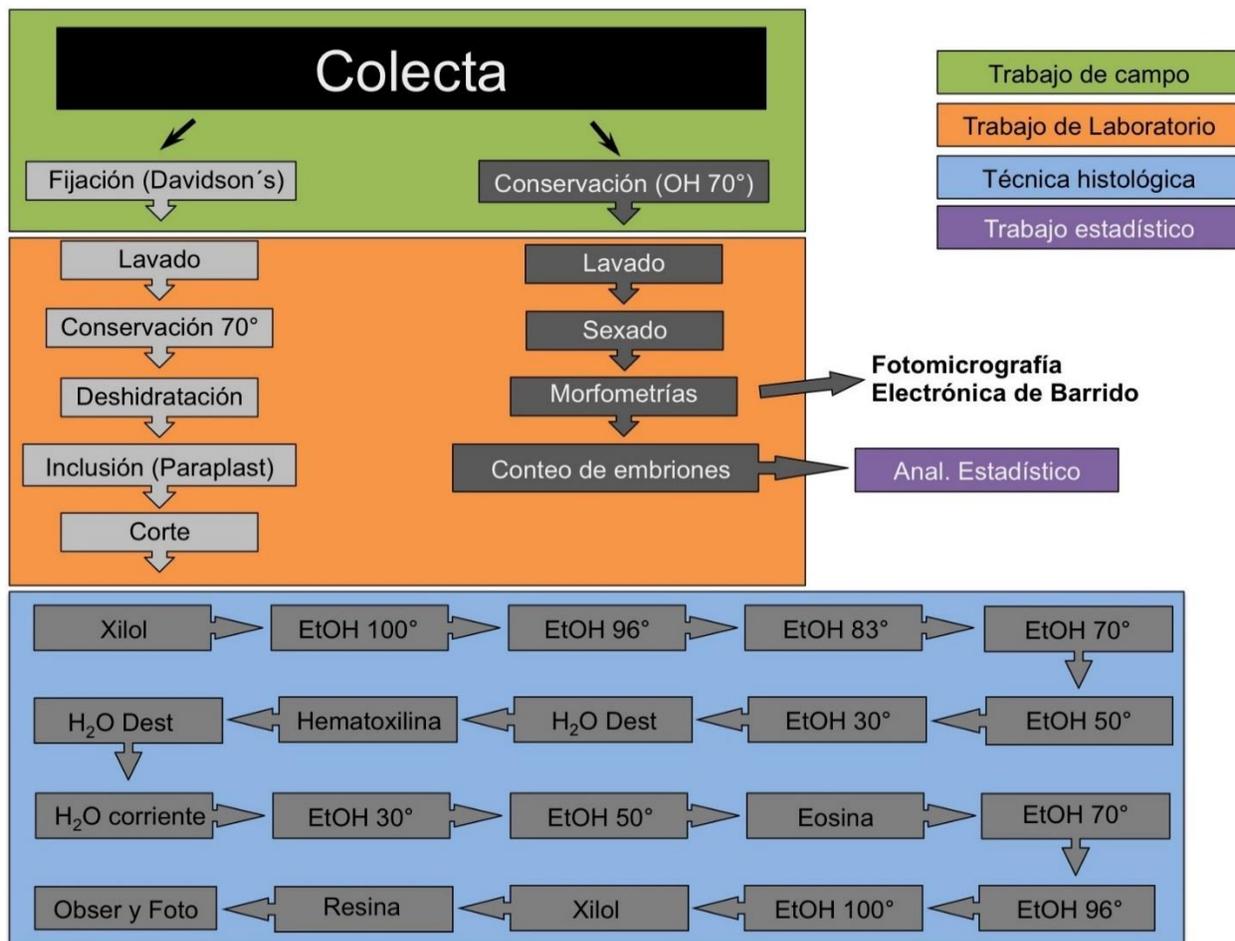


Figura 7.- Flujo de actividades para el procesamiento de los organismos en sus diferentes etapas.

Toma de fotomicrografías

Para la obtención de fotomicrografías en formato digital se utilizó el microscopio estereoscópico LEICA MB80 del Taller de Biología de animales III de la FC de la UNAM.

En el caso de los organismos procesados con MEB: a) fueron colocados en solución jabonosa y sonicados durante 30 minutos para remover materia adherida a la anatomía externa, b) devueltos a EtOH 70% y desecados a punto crítico, c) se cubrieron con oro.

Las fotomicrografías se obtuvieron con un microscopio Hitachi SU 1510.

A partir de las laminillas histológicas se seleccionaron los campos apropiados para la toma de fotomicrografías en el laboratorio de Microcine de la FC de la UNAM con un fotomicroscopio Olympus Provis AX70 con una cámara Evolution MP de 6 megapíxeles, todas las fotomicrografías se obtuvieron en microscopía de campo claro.

Para la citología masculina, la descripción de la meiosis I y espermatogénesis, se utilizó el microscopio Zeiss Axiostar con la adaptación de la cámara Sony Cybershot® DSC-W270 de 12.1 megapíxeles.

Resultados.-

Análisis estadístico

En las colectas del periodo entre julio del 2010 y agosto del 2011 se obtuvieron 2,315 individuos de *E. attenuata*, fueron medidos en diferentes longitudes del cuerpo, se determinó el sexo y en las hembras grávidas, se contabilizaron los embriones colocados entre los pleópodos.

De las morfometrías obtenidas, se seleccionó la de mayor relevancia en términos estadísticos para realizar la evaluación de los parámetros morfométricos correspondientes a la especie, para ello se elaboró un análisis multivariado discriminante con las variables LC, LPe, LPI y LT. En un primer análisis se tomaron en consideración LC, LPe y LPI, tras este análisis se eliminó LC, en un segundo análisis se incluye LT y como resultado la eliminación de LPI y en el último se realizó únicamente con LT y LPe, resultando ser LPe la variable más fuerte, sin embargo, con base en la literatura (Fonseca *et al.*, 2000; Rocha *et al.*, 2002; Tsai y Dai, 2003; Achouri *et al.*, 2002; Bakenhaster *et al.*, 2006; Romero y Román, 2008; Montesanto *et al.*, 2012; Sokolowicz y Araujo, 2013; Romero y Román, 2013) se decidió trabajar con LT (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis multivariado. Se muestran los valores obtenidos de tres análisis multivariados utilizando las morfometrías LC, LPe, LPI y LT $\alpha=0.05$

Análisis	Variable	λ de Wilks	F	p
Primero	LC	0.6925	0.0295	0.8637
	LPe	0.9873	139.9079	0.000
	LPI	0.9912	237.4008	0.000
Segundo	LPe	0.8878	0.0376	0.0275
	LPI	0.9921	231.684	0.000
	LT	0.9942	160.357	0.000
Tercero	LPI	1.00	226.2164	0.000
	LT	1.00	208.5081	0.000

Con base en LT, se establecieron catorce intervalos de clase que agruparon las frecuencias absolutas y relativas para cada uno de los subgrupos en los cuales se dividió la totalidad de organismos durante el estudio (σ , σ NO y σ O) (Tabla 2).

Tabla 2. Largo total mm (LT), intervalos de clase para frecuencia absoluta (N) y frecuencia relativa (%) de *E. attenuata* para hembras no ovígeras (♀NO), hembras ovígeras (♀O) y machos (♂).

Intervalos de clase (LT)	♀ NO		♀ O		♂		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
0.2-0.40	0	0	0	0	3	0.12	3	0.12
0.41-0.60	18	0.77	0	0	29	1.25	47	2.03
0.61-0.80	42	1.81	0	0	53	2.28	95	4.10
0.81-1.0	91	3.93	0	0	126	5.44	217	9.37
1.01-1.20	124	5.35	2	0.08	151	6.52	277	11.96
1.21-1.40	174	7.51	9	0.38	204	8.81	387	16.71
1.41-1.60	223	9.63	85	3.67	173	7.47	481	20.77
1.61-1.81	108	4.66	125	5.39	140	6.04	373	16.11
1.81-2.0	20	0.86	46	1.98	130	5.61	196	8.46
2.01-2.20	5	0.21	10	0.43	81	3.49	96	4.14
2.21-2.40	7	0.30	0	0	64	2.76	71	3.06
2.41-2.60	1	0.04	0	0	40	1.72	41	1.77
2.61-2.80	1	0.04	0	0	28	1.20	29	1.25
2.81-3.0	0	0	0	0	2	0.08	2	0.08
Total	814	35.16	277	11.96	1,224	52.87	2,315	100

En función de los intervalos de clase, se pudo observar que los machos presentan una distribución más amplia dentro de los intervalos de clase, lo contrario a las hembras que difícilmente alcanzaron tallas entre los intervalos 1.8 a 3.0 cm de LT. Asimismo las hembras ovígeras se observaron en los intervalos de clase que están entre los 1.21 cm y 2.20 cm de LT, y representan los últimos intervalos de la distribución de las tallas femeninas (Figuras 8 y 9).

La frecuencia absoluta (N), frecuencia relativa (%) y el porcentaje total de machos en comparación con las hembras ♀ NO y ♀ O se obtuvo para cada una de las fechas de muestreo (Tabla 3). De la misma forma se estableció la frecuencia relativa para los subgrupos (♂, ♀ NO y ♀ O) con respecto a las fechas de colecta, en la figura 10 se puede observar un par de picos, uno muy marcado en cuanto a la presencia de organismos durante el periodo mayo-agosto y otro menor para el periodo noviembre-marzo.

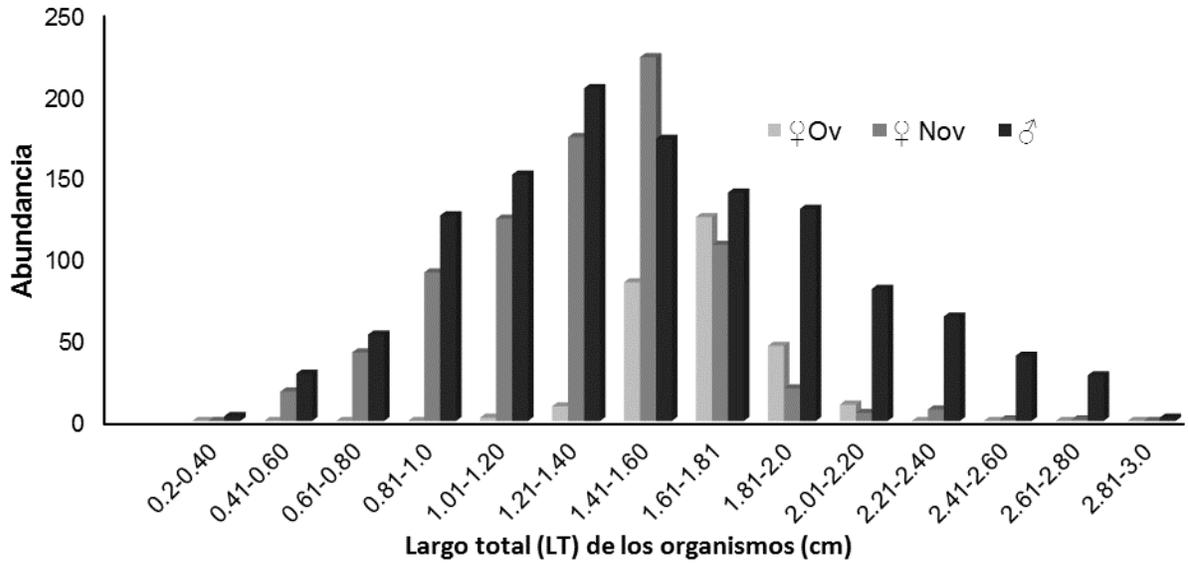
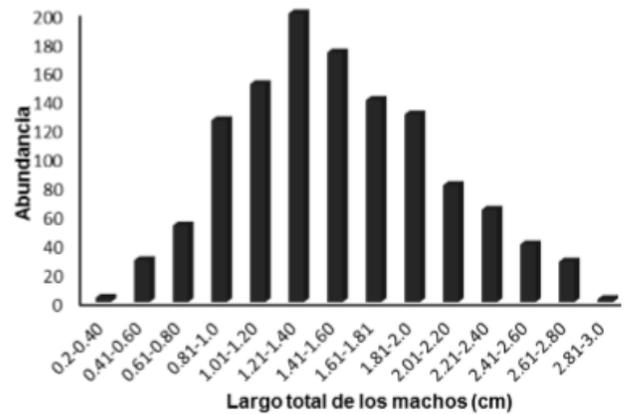
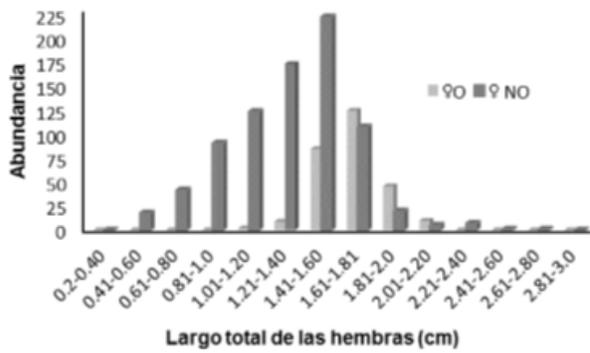


Figura 8.- Intervalos de clase por frecuencia absoluta con base en LT para ♀NO, ♀O y ♂.



Figuras 9.- Separación de los intervalos de clase por sexo.

Tabla 3.- Valores correspondientes a la abundancia por fecha de colecta. Frecuencia absoluta (N), frecuencia relativa (%), porcentaje total y proporción entre machos y hembras, para cada una de las fechas de colecta. Resaltado en gris se encuentran los valores totales.

Año	Mes	♂		♀ NO		♀ O		Total		Relación
		N	%	N	%	N	%	N	%	M:H
2010	julio	219	9.46	221	9.54	67	2.89	507	21.90	0.76:1
	septiembre	12	0.51	5	0.21	0	0	17	0.73	2.4:1
	noviembre	63	2.72	55	2.37	17	0.73	135	5.83	0.875:1
2011	enero	218	9.41	190	8.20	35	1.51	443	19.13	0.97:1
	marzo	49	2.11	25	1.07	24	1.03	98	4.23	1:1
	mayo	267	11.53	149	6.43	70	3.02	486	20.99	1.21:1
	agosto	396	17.10	169	7.30	64	2.76	629	27.17	1.70:1
Total		1,224	52.87	814	35.16	277	11.96	2,315	100	1.12 : 1

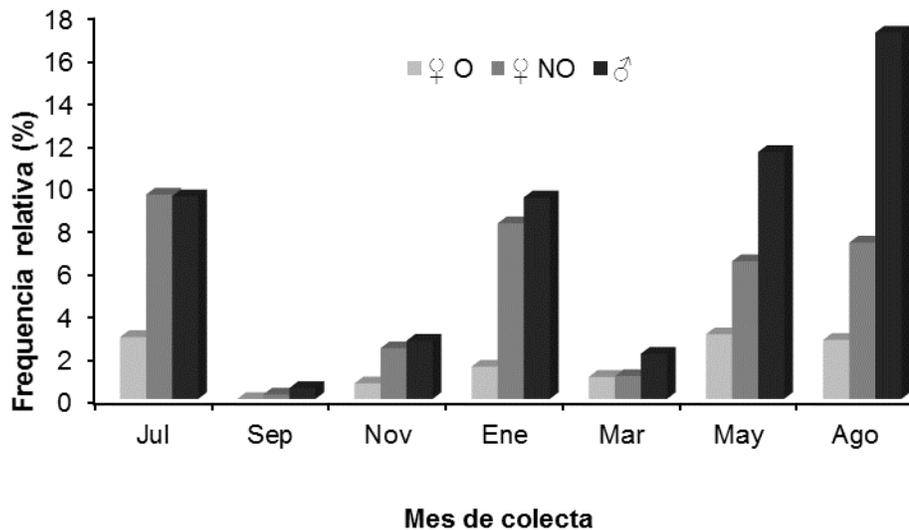


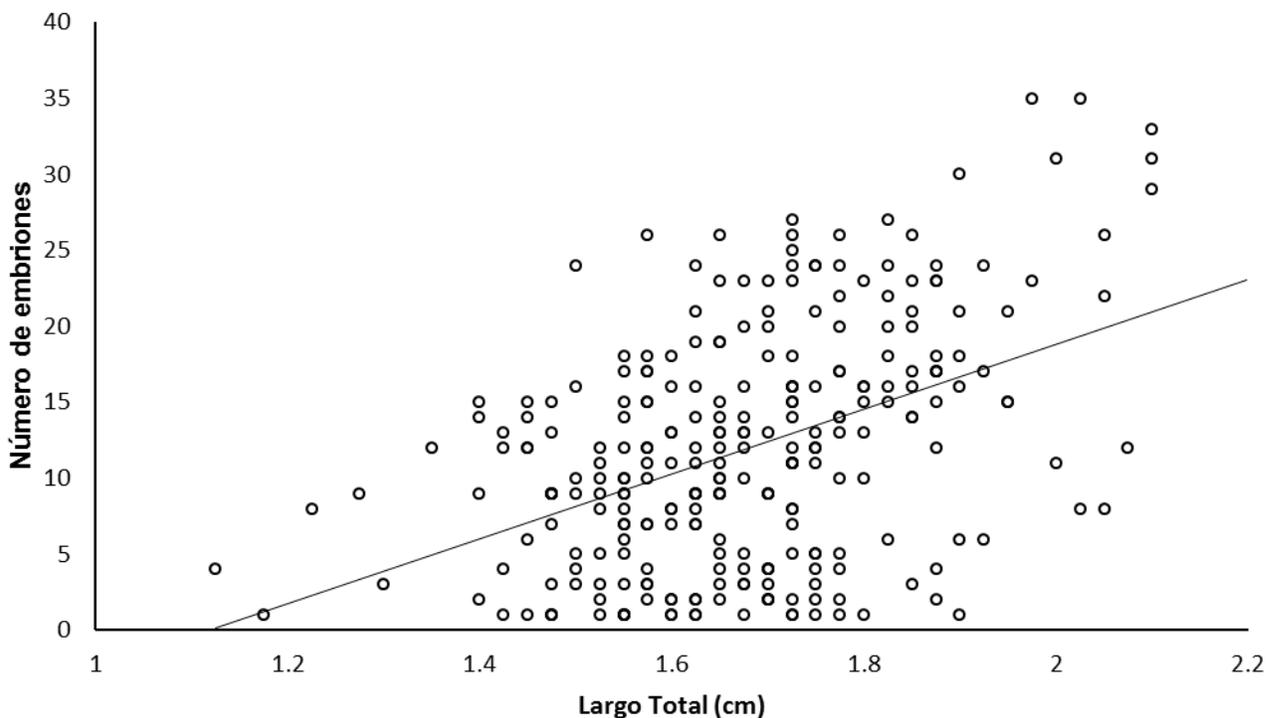
Figura 10.- Frecuencia relativa de ♀ NO, ♀ O y ♂ con respecto a la fecha de colecta.

En la figura 10 se contrastan las subpoblaciones con la fecha de captura, se determinó si las distribuciones son iguales por subpoblación y fecha de captura, por medio de pruebas X^2 , prueba para diferencias en probabilidades; en un primer grupo de pruebas se contrastaron hembras y machos por fecha de captura (Conover, 1999; Sprent y Smeeton, 2007). Únicamente se encontraron distribuciones iguales en septiembre y noviembre del 2010, todas las demás tuvieron distribuciones diferentes (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de contraste por fechas de colecta entre machos y hembras.

	2010			2011				Total
	15/07	23/09	12/11	15/01	20/03	21/05	05/08	
T	88.62	4.88	6.15	31.80	32.41	71.49	121.67	246.82
p	1.41×10^{-15}	0.07	0.11	4.15×10^{-05}	6.01×10^{-06}	3.50×10^{-12}	2.86×10^{-22}	2.27×10^{-48}

Con las hembras ovígeras se realizó una regresión lineal para determinar la relación del número de embriones contenidos en el marsupio vs LT. Al ajustar un modelo lineal simple con origen en $R^2=0.745$, es posible explicar la relación de un 74.5% de los casos. El modelo ajustado es número de embriones (#E) igual a 1.41 multiplicado por LT, se observó un incremento de 1.41 embriones por cada unidad de longitud (Figura 11).

**Figura 11.-** Relación entre el intervalo de LT y el número de ovocitos por hembra ovígera. $\#Em = 1.41 \cdot LT$. $R^2 = 0.745$

A partir del análisis de la relación entre LT y #Em por hembra, se obtuvieron tres valores de fecundidad fundamentales, TGF, TFG y TEF; los valores se obtuvieron en las formas real e hipotética (Tabla 5, 6 y 7).

Tabla 5. Valores absolutos de las hembras que se encuentran en talla reproductiva, hembras ovígeras, número de embriones totales y el promedio de embriones por hembra.

Valores absolutos	
Hembras en intervalos reproductivos	929
Hembras ovígeras	277
Total de embriones	3,316
Promedio de embriones por hembra	11.97
# mínimo de embriones por hembra	1
# máximo de embriones por hembra	44
% la población fecunda	29.81

Tabla 6. Valores hipotéticos y reales de la Tasa de Fecundidad General (TFG) y Tasa Global de Fecundidad (TGF), por una población de 1000 organismos e individual.

Tasas de fecundidad general y global		
	Por 1,000	Individual
TFG_{hip}	3569.43	3.57
TFG_{real}	67975.56	68.00
TGF_{hip}	3314.00	3.314
TGF_{real}	11971.11	11.97

Tabla 7. Valores hipotéticos y reales de TEF, para una población de 1,000 individuos y de manera individual.

Tasa específica de fecundidad								
Intervalos	#♀ por intervalo	♀O	#Em	TEF		TEF individual		
				Hipotética	Real	Hipotética	Real	
1.01-1.20	128	2	5	39.06	2500	0.04	2.5	
1.21-1.40	183	9	104	568.31	11,555.56	0.57	11.56	
1.41-1.60	308	85	741	2,405.84	8717.65	2.41	8.72	
1.61-1.81	233	125	1,452	6231.76	11,616	6.23	11.62	
1.81-2.0	66	44	875	13,257.58	19,886.36	13.26	19.89	
2.01-2.20	15	10	137	9,133.33	13700	9.13	13.7	

Histología y citología

A partir de las 46 hembras y 46 machos de diferentes tallas se obtuvieron 338 laminillas histológicas con grosores de corte de 5-7µm en orientación en transversal y longitudinal y se aplicaron las técnicas de tinción de H-E y Lendrum. A partir de éstos de cortes de hembras (144) y machos (194) fue posible obtener un panorama histológico de la organización interna.

Además se realizaron preparaciones por “squash” teñidas con acetorceína, estas preparaciones se obtuvieron de organismos completos conservados en EtOH70° de diferentes fechas de colecta, sin embargo el estado de conservación y el periodo transcurrido desde su colecta hicieron que dichos organismos perdieran consistencia, dificultando considerablemente la disección y observación, por lo cual estas preparaciones no fueron consideradas para este trabajo

Histología

En una vista panorámica en corte transversal se pueden identificar estructuras como los túbulos hepatopancreáticos (Hp), sistema nervioso (SN), sistema hemal (SH), tracto digestivo (Td), paquetes musculares (Tm) y cutícula (Cu) (Figuras 12 y 13).

Hembras

Se observaron los cambios de las estructuras reproductivas y su relación con el resto de la anatomía interna. Lo más notable es el aumento de la talla de los ovocitos en maduración, lo cual lleva a una compactación de estructuras como el tracto hemal, túbulos hepatopancreáticos y tracto digestivo. Se apreció el desarrollo de los osteguitos, estructuras que conforman al marsupio y que resguardan a los embriones durante un periodo post-desove. Particularmente se observó una consecución reproductiva, dentro del cuerpo de la hembra se encuentra una cohorte de ovocitos en maduración, pero una siguiente generación de folículos primordiales se encuentra en estado de latencia de manera adyacente a los ovocitos en maduración, en el caso de las hembras en estado de pospuesta, mientras una generación se localiza en el marsupio, al interior del cuerpo se encuentran ovocitos en maduración.

Asimismo es evidente la relación de los ovocitos en maduración con respecto a otros órganos como los Hp, Td, SH, Son Tm, los cuales disminuyen el espacio que ocupan dentro de la cavidad corporal debido al aumento en la presión propiciada por el aumento en tamaño de los ovocitos (Figura 12).

Anatómicamente se observó la presencia de las gónadas de forma pareada en la parte dorsal de los organismos, en los estados incipientes entre las gónadas se puede observar la presencia del SH y Td, así como Tm a los costados; el Td se encuentra rodeado por seis Hp y en la zona ventral central se encuentra el SN, todos estos órganos se encuentran rodeados por Tm en diversas disposiciones y este a su vez por Cu que confiere la estructura externa del organismo. En los estados de desarrollo intermedio y avanzado se observa la formación de una prolongación de Cu en la zona ventral que da origen a los Os y que a su vez dará origen al marsupio, que durante la pospuesta alberga a los Em (Figura 12).

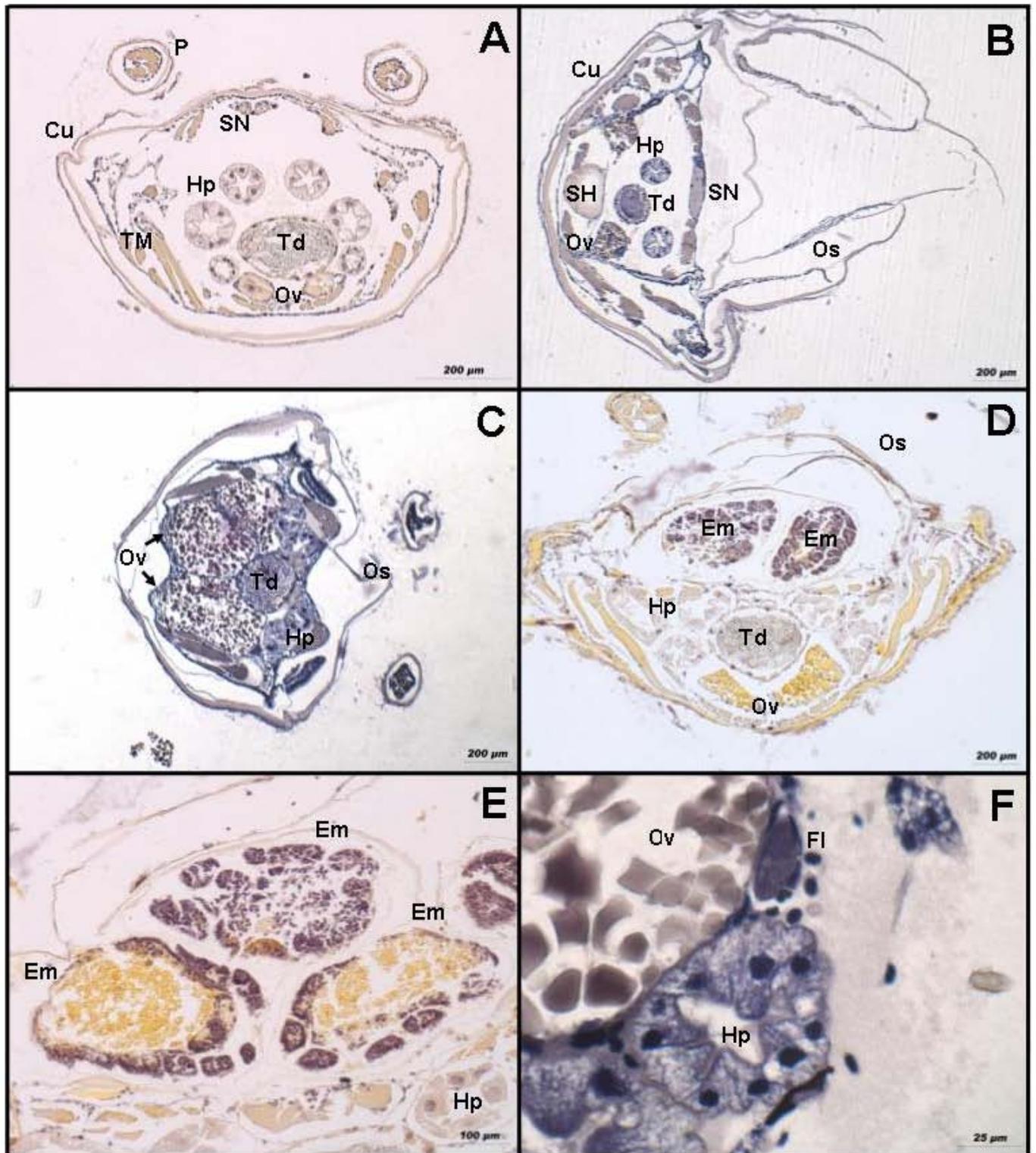


Figura 12

Figura 12.- Histología de hembras. A, D y E, cortes transversales espesor de 5 μm teñidos con técnica de Lendrum, B, C y F, cortes transversales con espesor de 5-7 μm con tinción H-E. A, se muestra un panorama general de la anatomía interna de una hembra con ovocitos en estado intermedio, en esta imagen se observa una configuración clásica de los órganos con la presencia de seis túbulos hepatopancreáticos, el pereiópodo (P) se ubica en la parte superior de la imagen; B, hembra que igualmente presenta ovocitos en desarrollo intermedio, pero que muestra el desarrollo de los osteguitos (Os); C, hembra con ovocitos en madurez avanzada, se destaca el aumento de talla de los ovocitos que ocupan un volumen considerable de la cavidad interna, los órganos como el tracto digestivo y los túbulos hepatopancreáticos se han desplazado y compactado, también se distingue el desarrollo de los osteguitos; D, hembra que presenta un estado de pospuesta a la vez de un estado transitorio de intermedio-avanzado internamente, se destaca la existencia de un marsupio bien conformado alojando a los embriones y de manera interna la compactación de los túbulos hepatopancreáticos y tracto digestivo; E, corte transversal con tinción de Lendrum, detalle del marsupio en el que se aprecia la presencia de tres embriones, en la parte interior derecha se observa un túbulo hepatopancreático; F, corte transversal con tinción H-E, en el que se observa un ovocito maduro y de manera adyacente un folículo primordial, también dos túbulos hepatopancreáticos que se muestran apenas compactados.

Machos

Con respecto al sistema reproductivo masculino, se estableció la existencia de un par de testículos ubicados dorsalmente a manera de tubos. Este par de testículos está compartimentado en regiones o cistos en donde se presentan distintas fases de desarrollo de la línea germinal. Esta compartimentación evidencia una maduración de la línea germinal en sentido longitudinal, que comienza con los estados más basales o iniciales en la parte anterior del organismo y que progresa hacia la parte posterior, zona en la que se encuentran los penes que eyacularán a los espermatozoides ya maduros. Estos compartimentos fueron denominados como testículo incipiente, intermedio o avanzado según sus características celulares, es decir el contenido (Figura 13).

Anatómicamente presentan prácticamente la misma organización que las hembras, se diferencian en el tamaño y tipo de las gónadas. En los machos dado que no existe un cambio notable en el volumen de la gónada durante el desarrollo, los órganos permanecen estables.

En aumentos mayores se observa la presencia de poblaciones celulares específicas en los testículos: espermatogonias, espermatoцитos primarios y secundarios, espermatidas y espermatozoides. También se aprecian células accesorias (Cac) que conforman el perímetro de los diferentes sectores de los testículos, a diferencia de las hembras en donde las FI cambian de tamaño y forma, las Cac no cambian de tamaño ni forma con respecto a la región testicular, se mantienen con una morfología rectangular u ovalada, (Figura 13).

Los compartimentos testiculares caracterizados como incipientes albergan a las espermatogonias y espermatoцитos, los intermedios a las espermatidas en espermiogénesis, y los avanzados a los espermatozoides.



Figura 13

Figura 13. Vistas generales del testículo. A, corte transversal teñido con H-E con espesor de 7 μ m, en el que se presenta el panorama general interno de *E. attenuata*, son apreciadas estructuras como la cutícula (Cu), túbulo hepatopancreático (Hp), sistema nervioso (SN), sistema hemal (SH), tracto digestivo (Td), paquetes musculares (Tm) y testículos (T); B, corte transversal teñido con H-E, es el que se aprecia la compartimentación del testículo y la relación con otras estructuras como el tejido muscular y los túbulo hepatopancreáticos, las regiones del testículo fueron asignadas como incipiente, intermedio y avanzado (T1, T2, T3).

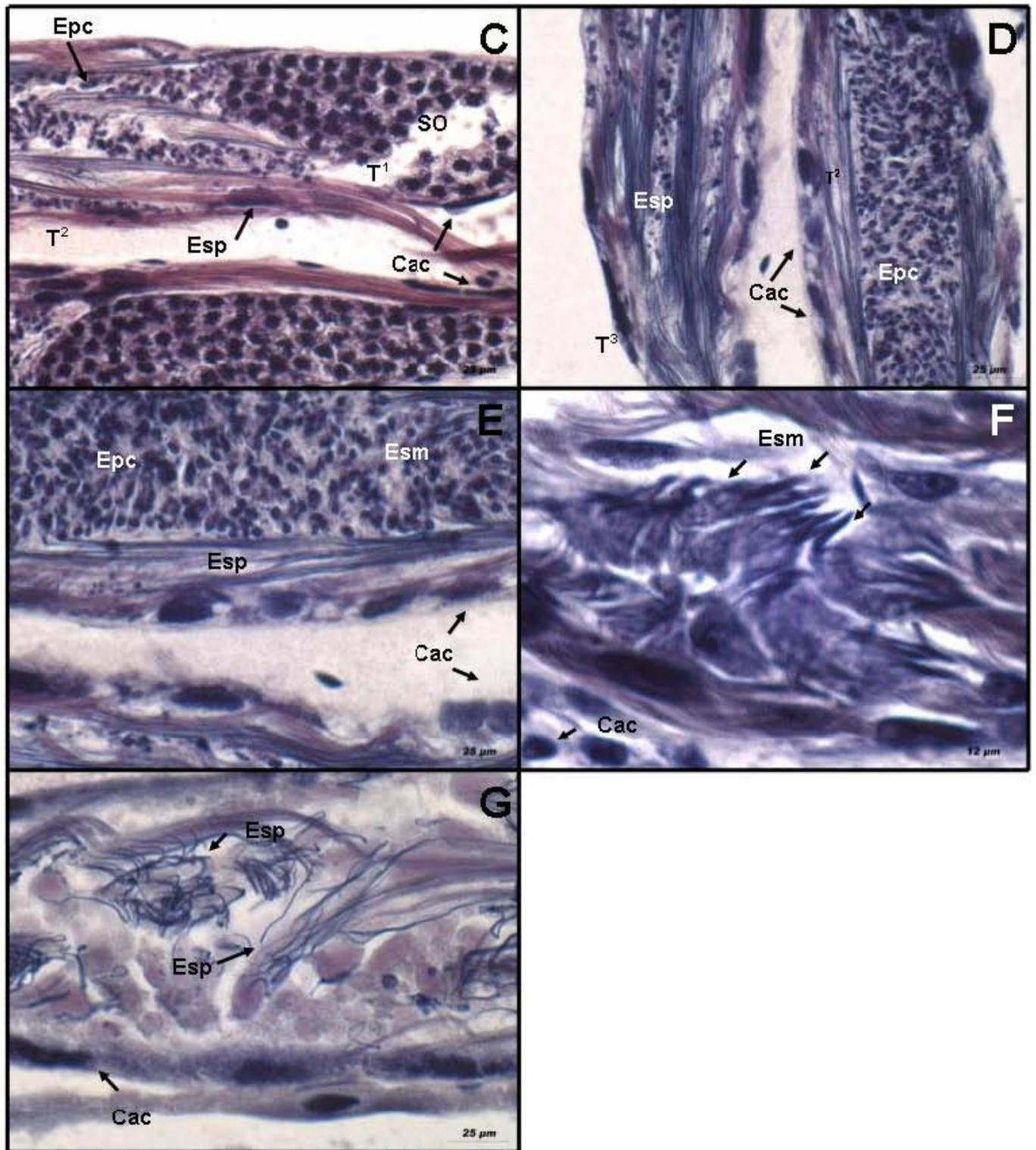


Figura 14

Figura 14.- Detalles de los cortes de testículo. C-G cortes longitudinales con espesor 5-7 μm teñidos con H-E. Acercamiento a sectores específicos del testículo. C, detalle de testículo incipiente, se observan principalmente una población de espermatogonias (SO) y espermatocitos primarios y secundarios (Epc). También se observan algunas regiones con espermatozoides (Esp) y las células accesorias (Cac); D, se muestran un testículo intermedio (T2) y uno avanzado (T3), en el primero se observa una población celular principalmente compuesta por espermatocitos y en el segundo la población es principalmente de espermatozoides; E, se muestra una región que se encuentra en transición intermedio- avanzado, se observan espermatocitos y espermátidas en proceso de diferenciación (Esm), también algunos espermatozoides; F, región de transición intermedio-avanzado, donde se aprecian principalmente espermátidas en proceso de espermiogénesis; G, región avanzada en la que se aprecian principalmente espermatozoides bien definidos.

Citología

Hembras

En el caso de las hembras, no fue posible observar fases meióticas, sin embargo, se caracterizó la madurez de los ovocitos por medio de la comparación del tamaño de estos y las características celulares que indican la transición de estados. Entre las características que se utilizaron para ello fueron principalmente las células foliculares adyacentes, que presentan cambios de morfología con relación a la maduración del ovocito. Dichos estados caracterizados fueron: folículo primordial, folículo primario, folículo secundario (Wägele, 1992; Schudlt, 1993). Conjuntamente se establecieron cuatro categorías de clasificación para coadyuvar a la caracterización de los estados de maduración de los ovocitos, los cuales son: ovocito incipiente, ovocito intermedio, ovocito avanzado y pospuesta, así como estados transitorios, estas clasificaciones se retomaron de aquellas que estableció Schudlt (1993), para las cuales también se empleó el tamaño del ovocito y características visibles. El estado de pospuesta se señaló por la existencia de embriones u ovocitos en desarrollo final entre los osteguitos, en el marsupio.

En las fases caracterizadas como incipientes, los folículos primordiales (FI) se encontraron acompañados de células foliculares (Cfl), las cuales aportan nutrientes para su maduración. Además del tamaño de los folículos, se utilizó la morfología de las células foliculares para identificar los estados de maduración, que en los estados más incipientes son esféricas, en los estadios intermedios son ovaladas en diferentes niveles y en los más avanzados son planas, hasta el punto que son a manera de una línea; debido al aumento de la presión interna dentro del ovario y el aporte de nutrientes que se está haciendo a las células en desarrollo (Wägele, 1992) (Figura 15).

El aumento de presión antes mencionado, que resulta útil para caracterizar los estados de desarrollo intermedio y avanzado. Se observó que conforme los ovocitos aumentan de tamaño y aumenta la presión, éstas células comienzan a invadir regiones correspondientes a otros órganos y estructuras como los túbulos hepatopancreáticos (Hp), tracto digestivo (Td), sistema hemal (SH), sistema nervioso (SN) o los paquetes

musculares (Tm), los cuales disminuyen el espacio que ocupan dentro de la cavidad corporal (Figura 15 y 16).

En el desove o pospuesta se observa una migración de los ovocitos fecundados al marsupio, que está compuestos por los osteguitos (Os), dentro de los Os se alberga a los embriones (Em), que son diferenciados por ser conglomerados de células de distintas formas que presentan una independencia con respecto a los otros Em (Figura 16).

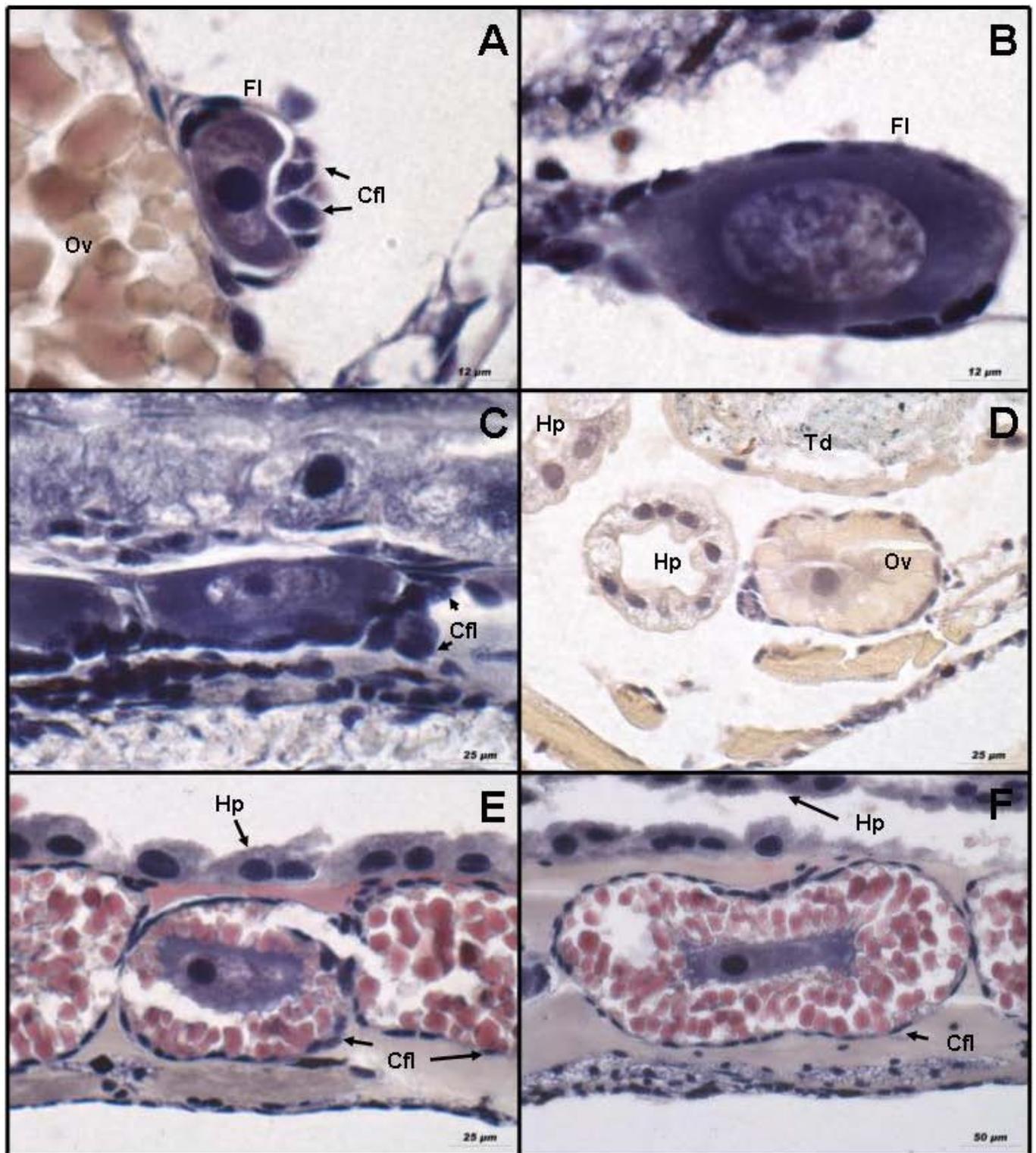


Figura 15

Figura 15.- Fases incipientes de maduración del ovocito. A y D cortes transversales con espesor de 5-7 μm teñidos con técnica H-E; B, C, E y F cortes longitudinales con espesor de 5-7 μm teñidos con técnica H-E. A, corte transversal en el cual se observa un folículo primordial (FI), rodeado por células foliculares (Cfl), del lado izquierdo se observa un ovocito (Ov) en desarrollo avanzado. B y C, cortes longitudinales; B, folículo primario (FI) rodeado por células foliculares (Cfl), estas últimas con forma cubica; C, folículo secundario, se observa un aumento en el tamaño además un cambio en la morfología de esta y de las células foliculares adyacentes (Cfl). Estados intermedios; D, corte transversal donde se observa un ovocito en transición de estado incipiente a intermedio rodeado de células foliculares aplanadas, se observan segmentos de túbulos hepatopancreáticos y tracto digestivo; E, corte longitudinal de ovocito intermedio, donde se observa un aplanamiento parcial de las células foliculares y segmentos adyacentes del hepatopáncreas (Hp); F, corte longitudinal donde se observan ovocitos en estado intermedio y las células foliculares adyacentes, además de un segmento de hepatopáncreas, es posible observar aumento en tamaño si se le compara con las células hepatopancreáticas.

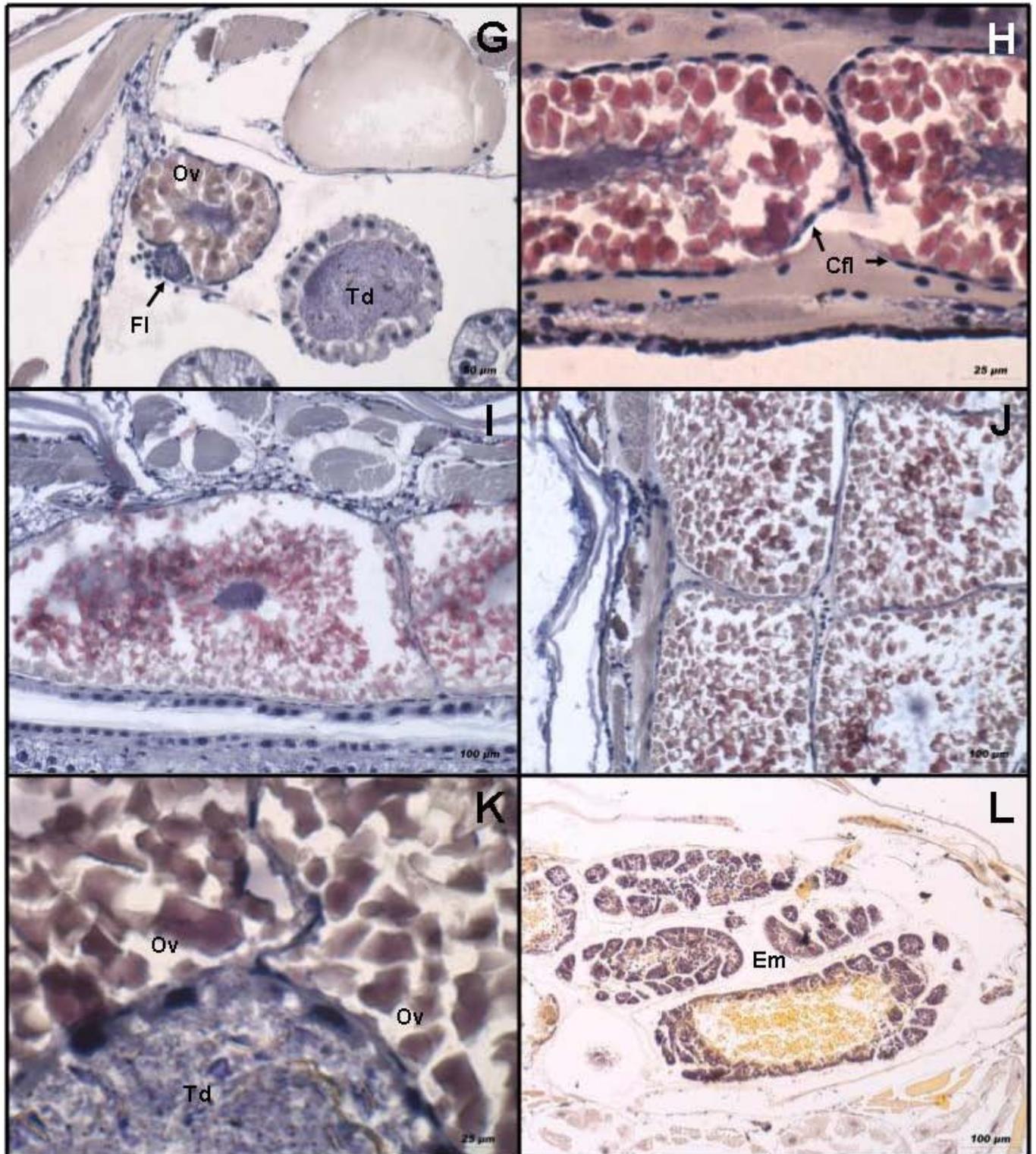


Figura 16

Figura 16.- Fases intermedias y avanzadas de maduración del ovocito. G y K cortes transversales con espesor de 5-7 μm teñidos con técnica H-E. H, I y J cortes transversales con espesor de 5-7 μm teñidos con técnica H-E. L Corte transversal con espesor de 5 μm teñido con técnica de Lendrum. G, corte transversal en el que se aprecia un ovocito intermedio (Ov) que presenta un folículo primordial adyacente (Fl), también existen células foliculares aplanadas circundando al ovocito y cubicas al folículo. Como referencia se aprecia el tracto digestivo (Td); H, acercamiento a corte longitudinal de ovocitos intermedio, en el cual se aprecia el aplanamiento parcial de las células foliculares; I, corte longitudinal de ovocito en transición de intermedio-avanzado, es evidente el aumento en tamaño y la compresión de otras estructuras internas del organismo. Las células foliculares han alcanzado un grado de aplanamiento tal que es difícil distinguirlas; J, corte longitudinal en el que se observa una población de ovocitos en estado de madurez avanzada, las células foliculares se encuentran aplanadas debido al aumento de presión interna; K, corte transversal de un par de ovocitos maduros a detalle en el que se aprecia el aplanamiento de las células foliculares entre los ovocitos (Ov), en la parte inferior se observa el tracto digestivo (Td); L, corte transversal teñido con técnica de Lendrum, en la cual se observa el panorama general de un marsupio en el cual se encuentran los embriones (Em), esto en un estado de pospuesta.

Machos

A partir de la observación de las laminillas histológicas, observaron algunas de las fases de la meiosis I, la espermatogénesis y espermiogénesis. La meiosis II no pudo ser observada, sin embargo, los al observar estados iniciales, espermatogonias, y finales, espermatozoides, permiten asegurar la existencia del ciclo completo de la línea germinal masculina. Las fases de la meiosis I fueron ubicadas en la región del testículo caracterizada como testículo inicial.

El testículo de *E. attenuata* presenta una regionalización que puede ser caracterizada en tres estados: incipiente, intermedio y avanzado.

En la zona de desarrollo incipiente se presentan todas las fases de la meiosis, es importante destacar que se observaron poblaciones de células en fases similares o iguales a un mismo tiempo. En las figuras 17 y 18 se observaron los estados de la meiosis I, que se pudieron caracterizar dentro de un testículo inicial, en el cual se visualizaron diversas fases dentro de una misma población celular.

La figura 19 corresponde a lámina en la cual se observan y caracterizan los estados de la espermatogénesis en el testículo de *E. attenuata*. Dichos estados se manifiestan en diferentes compartimentos de la gónada. Estos estadios celulares se caracterizaron por morfología. También aquí es importante mencionar que las espermatogonias y espermatocitos primarios y secundarios se encuentran en el testículo incipiente/inicial, las espermátidas en el intermedio y los espermatozoides en el avanzado.

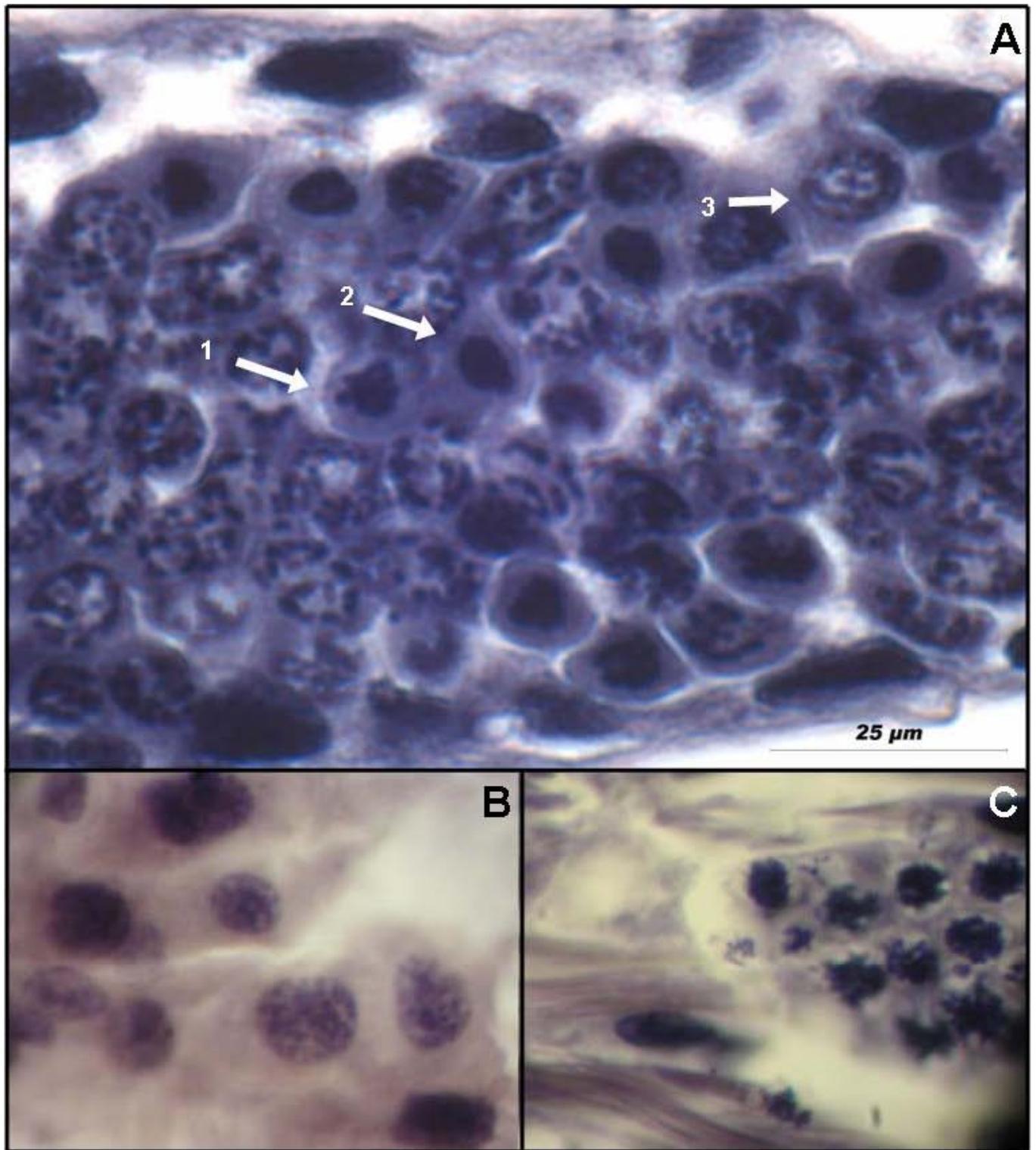


Figura 17

Figura 17.- Fases de la meiosis I en el testículo. Cortes longitudinales con espesor de 5-7 μm teñidos con técnica H-E. B y C en 100x. A; testículo inicial en el cual se observa una población de espermatocitos primarios y las diferentes fases que se presencian en estos. 1. Metafase. 2. Interfase. 3. Bivalente; B, espermatocitos primarios en leptoteno; C, células principalmente en cigoteno.

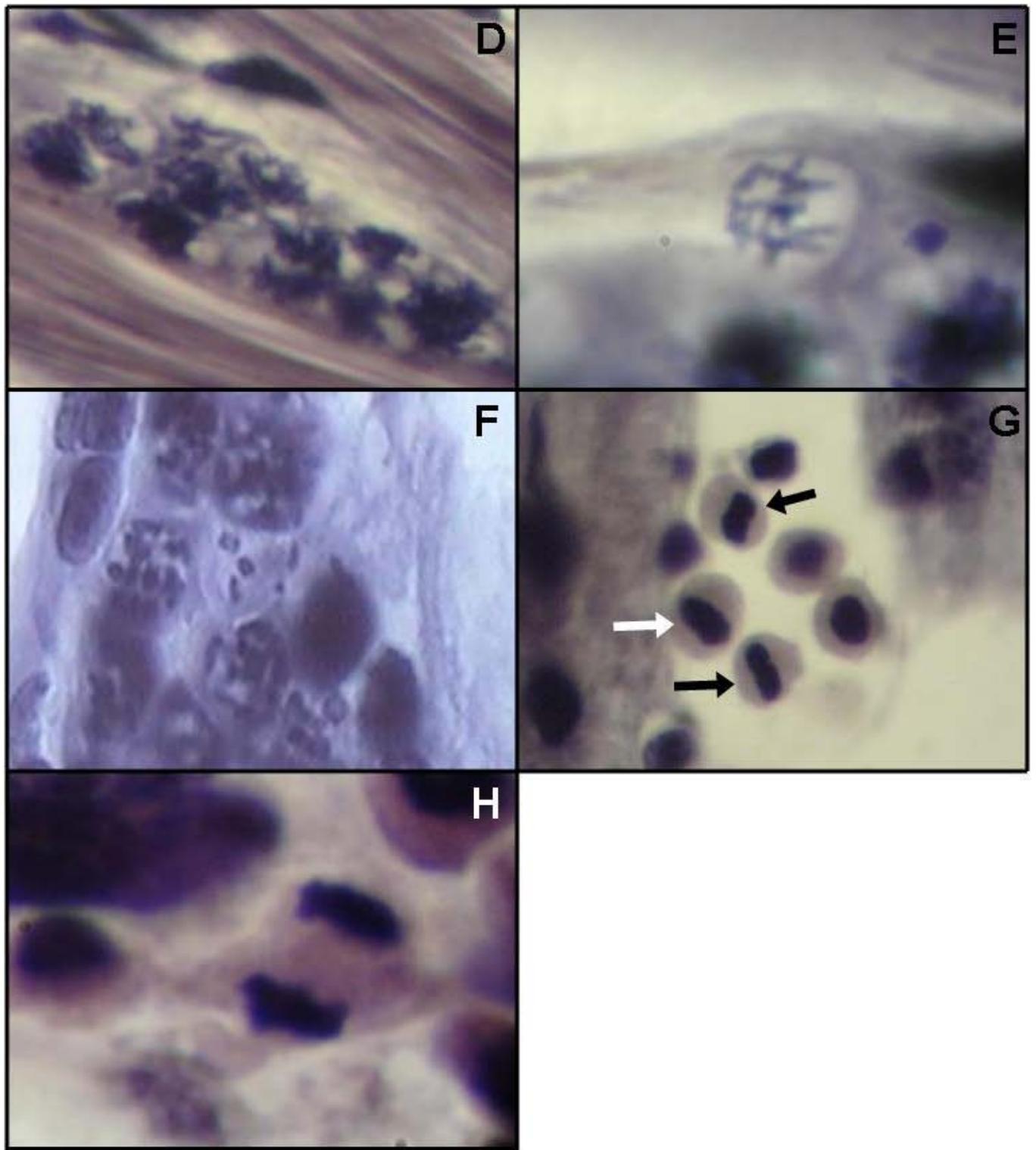


Figura 18

Figura 18.- Fases de la profase I en el testículo. Cortes longitudinales con espesor de 5-7 μm teñidos con técnica H-E. Imágenes en 100x. D, población de células principalmente en paquiteno; E, célula en diploteno; F, población de células en las cuales se observan arreglos de cromosomas similares a figuras meióticas de dona, lo cual está indicando una diacinesis; G, población de células en metafase I; H, se observa una célula en un estado transitorio entre anafase tardía y telofase temprana.

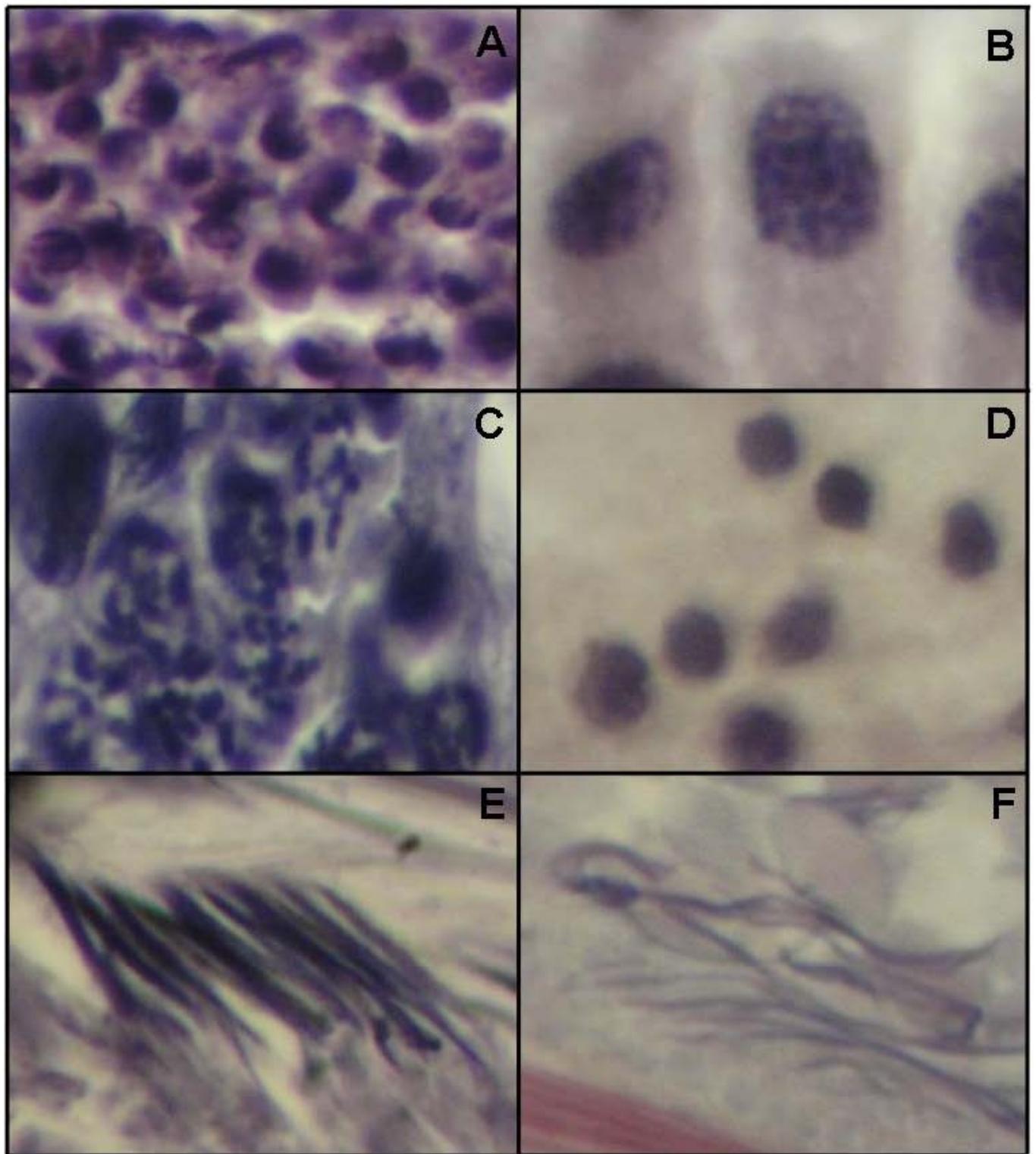


Figura 19

Figura 19.- Espermatogénesis y espermiogénesis. Cortes longitudinales con espesor de 5-7 μm teñidos con técnica H-E. Imágenes en 100x. A, población de espermatogonias, se observan núcleos con la cromatina en estado laxo; B, población de espermatocitos primarios en interfase; C, espermatocitos primarios en leptoteno, estos se pueden diferenciar esencialmente por la disminución del tamaño y el cambio en la estructura de los núcleos; D, espermatocitos secundarios; E, población de espermátidas en espermiogénesis, comienzan a tener una apariencia más ahusada; F, espermatozoides los flagelos se observan como estructuras elongadas y teñidas en color morado, lo cual indica una reacción a la hematoxilina.

Discusión.-

Análisis poblacional

Con base en los resultados obtenidos, se asume que *E. attenuata* presenta una reproducción continua durante todo el ciclo anual, ya que en todas la fechas de colecta se observaron hembras ovígeras. Además los datos muestran que las proporciones de ♂, ♀ NO y ♀ O, varían muy poco en cada época de colecta (<5%), lo cual indica una constante en la proporción de los subgrupos en los cuales fue dividida la población, para respaldar esta afirmación se puede citar los trabajos de Furota e Ito, 1999; Johnson *et al.* 2001; Sparkes *et al.* 2002; Haldfiel, 2009; Kashani *et al.*, 2011, que mencionan la existencia de dos tipos de estrategias reproductoras en los isópodos marinos y terrestres: la primera en donde se presentan hembras ovígeras en cualquier época del año y las segundas, aquellas que tiene como característica presentar marcadas épocas de reproducción en donde solo se encontrarán hembras ovígeras en determinadas épocas del año; *E. attenuata*, corresponde entonces a las especies que tienen una reproducción continua.

De acuerdo con Sastry, (1983); Ashton *et al.*, (2003) y Litulo, (2005), en regiones tropicales como subtropicales la reproducción se observa durante los meses de tibios (24-31 °C) y calientes (31-45 °C) del año cuando el alimento es más abundante de manera general.

Pero otros aspectos propios de las relaciones ecológicas afectan directamente a los hábitos reproductivos de las especies. En el caso de presentar una estacionalidad en regiones tropicales o subtropicales, esta se puede deber a la influencia de corrientes marinas en el transporte de nutrientes, hábitos migratorios, cambios en la producción primaria ocasionada por las variaciones de energía solar durante el año, presencia de depredadores estacionales, composición bioquímica de las aguas que afecta directamente el desarrollo gonadal, entre otros factores (Rokop, 1977; Sastry, 1983; Bishop y Shalla, 1994; Aguzzi, *et al.*, 2013; Thongda, *et al.*,2015).

Los organismos nectónicos son aquellos que en regiones tropicales y subtropicales muestran mayor incidencia de hábitos reproductivos estacionales; mientras que los bentónicos presentan una reproducción continua a lo largo del año,

esto se explica porque los nutrientes en el bentos presentan una variabilidad relativamente baja a lo largo del año, además de que los ambientes bentónicos son menos dependientes del acarreo de nutrientes por corrientes marinas y mientras el aporte de energía solar se mantenga dentro de un umbral, es posible mantener una estabilidad determinada en las condiciones ambientales (Rokop, 1977; Sastry, 1983; Bishop y Shalla, 1994; Aguzzi, *et al.*, 2013).

Con respecto a las tallas, la existencia de un patrón en la población de ♀O, como se mostró en las figuras 8 y 9, indica que las hembras deben de tener una talla mínima de 1.21 cm para ser reproductoras, con esto, se muestra que la talla de las hembras además de favorecer una maduración fisiológica para reproducirse, tendrá una implicación en la capacidad de alojamiento en el marsupio, que se verá reflejado en un incremento del número de embriones (1.41) con el incremento de cada unidad de LT (mm) que se observe.

Al comparar los subconjuntos de ♂ y ♀, se aprecia que ambos inician el ciclo de vida con tallas similares, sin embargo en la edad adulta los machos alcanzan tallas mayores, ya que mientras las hembras alcanzan tallas máximas de 2.61-2.80 mm de LT los machos alcanzan el intervalo 2.81-3.00 mm de LT, esto puede explicarse por la utilización diferencial de la energía para producir gametos y crecer; es decir, mientras que los machos utilizan una cantidad de energía determinada para la producción de espermatozoides, las hembras utilizan una mayor cantidad de energía para producir ovocitos, es por ello que los machos alcanzarían tallas mayores dentro de la población.

En relación a las fechas de colecta, se observa un mayor número de individuos en las fechas de mayo y agosto, sin embargo esto podría ser atribuido a cuestiones propias de la colecta por una mayor unidad de esfuerzo, más allá de un efecto biológico o ambiental, sin embargo, independientemente de la fecha de colecta, las proporciones de los tres subgrupos se mantienen con cambios no significativos, lo que demuestra una estructura poblacional estable a lo largo del ciclo anual (Tabla 3, 4 y Figura 10).

El análisis de los valores de fecundidad indica que el 29.81% de la población es fecunda, lo cual refleja un valor relativamente alto en comparación con otras especies de crustáceos o invertebrados marinos (Ramírez, 2002; Gjedrem, 2005; Longhurst, 2010), con un promedio de 11.97 embriones por hembra, lo cual podría ser considerado

un indicador bajo dentro de los valores promedio de invertebrados, sin embargo debe de considerarse que el resguardo de los embriones en el marsupio está actuando como un cuidado parental, hecho que favorece a la supervivencia de los embriones, ya que parte de la energía se dirige hacia el resguardo de la descendencia y no a la producción de gametos (Thiel, 2000; Ramírez, 2002; Montesanto; 2012).

Los valores de TGF y TFG son muy similares, lo que revela una estructura reproductiva estable de la población (Brass, 1974; Bertrand, 1994; Ramírez, 2002).

Relativo a las tallas, el intervalo que posee el menor valor de fecundidad se encuentra entre 1.00-1.20 cm de LT con un 0.43% con respecto a la población total, además de ser el primer intervalo en el que se encuentran ♀O; del intervalo 7 a 9 (1.41-2.40 cm de LT) se concentra el 11.40% de hembras ovígeras con relación a la población total y, aun cuando hay ♀O de mayor talla (intervalo 10), en donde solo observamos el 0.43% con respecto a la población total, y en los últimos tres intervalos que van de 2.21 a 3.0 cm de LT no se observan ♀O. Por otro lado, existe una relación positiva entre la talla de las hembras y el número de embriones presentes en el marsupio, aspecto que ha sido documentado para otras especies de isópodos terrestres (Sutton *et al.*, 1984; Achouri *et al.*, 2003; Quadros *et al.*, 2009).

Análisis histo-citológico

Desde el punto de vista histológico y de acuerdo con Wilson (1991) y Schuldt (1993), se observó que *E. attenuata* posee un par de testículos los cuales se encuentran ubicados de manera longitudinal al cuerpo con los gonoporos ubicados hacia la parte posterior del cuerpo. Los testículos se encuentran compartimentados en tres cistos o lóbulos, cada cisto está separado del otro por medio de una membrana epitelial muy delgada apenas apreciable. Esto podría ser confuso, ya que la literatura indica que la mayoría de los isópodos de vida libre poseen tres pares de testículos, sin embargo la presencia de la membrana epitelial entre los cistos y la continuidad de la estructura lleva a concluir que en este grupo de isópodos, cada compartimento corresponde a un testículo independiente (Wägele, 1992; Schlatt y Ehmcke, 2014).

Esta diferencia posiblemente está determinada por las características específicas y anatómicas de *E. attenuata*, ya que es de un tamaño reducido y cuerpo alargado,

además de estar sujeto a una reproducción continua, lo que pudo haber llevado a un proceso de modificación orgánica interna que llevó a la fusión de tres testículos en uno solo compartimentado, un proceso que no sería raro dentro de la historia evolutiva (Roosen-Runge, 1969; Roosen-Runge, 1997; White-Cooper y Bausek, 2010; Schlatt y Ehmcke, 2014). El resto de la anatomía resulta estar de acuerdo con el resto de los isópodos, la posesión de un par de cordones nerviosos en la región ventral, un tubo digestivo que recorre al todo el organismo por el centro del cuerpo, seis túbulos hepatopancreáticos rodeando al tubo digestivo, los cuales se pueden observar en menor cantidad debido al nivel del corte con relación al cuerpo, y un tracto hemal en la región dorsal, además de los paquetes musculares (Holdich, 1971) (Figura 20).

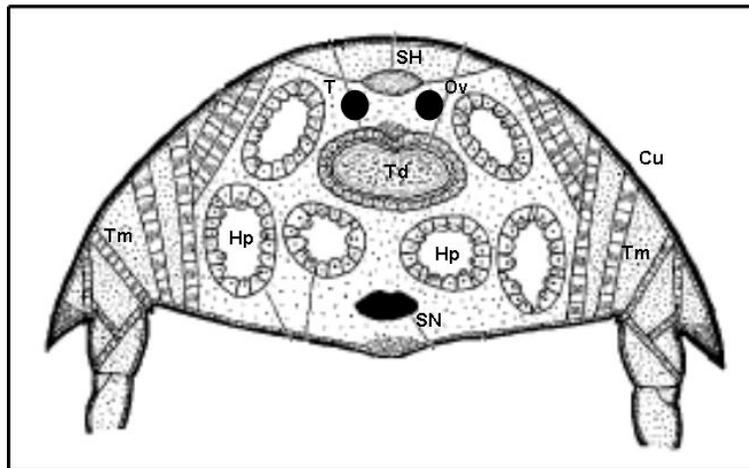


Figura 20.- Anatomía interna común de los isópodos de vida libre. Esquematación de un organismo hipotético con un ovario (Ov) y un testículo (T) en el que se observa la disposición interna de los órganos (SH, Sistema hemal; Hepatopáncreas, Hp; Sistema nervioso, SN; Tejido muscular, Tm; Tracto digeritivo, Td). Tomado y modificado de Holdich 1971.

Con respecto a las estructuras reproductivas externas, *E. attenuata* no resulta ser muy diferente a los demás isópodos, posee un par de penes entre el final del último segmento corporal y en la base del pleón, y un par de estiletes ornamentados detrás del segundo par de pleópodos, estructuras que permiten la fecundación interna (Figura 6). Los estiletes poseen una ornamentación funcional que permite el anclaje a los gonoporos de las hembras; una vez anclados, los penes eyaculan y los estiletes funcionan como canales que transportan el contenido seminal al interior del tracto reproductor de la hembra (Wilson, 1991).

La información obtenida de Wilson (1991) y Schuldt (1993), concuerda con la anatomía de las hembras de *E. attenuata* en la cuales se observaron ovarios localizados de manera dorsal con los gonoporos ubicados en el sexto segmento corporal (tórax), estructuras que son ovaladas y pareadas (Figura 6), los ovarios están formados por una membrana epitelial en la cual están ancladas tanto las células foliculares, folículos en desarrollo y ovocitos en desarrollo, éstos últimos se encuentran dispuestos a manera de collar de perlas (Wilson, 1991; Jaglarz *et al.* 2014).

A través del análisis histológico se pudo observar que en las hembras ovígeras existen al menos dos generaciones de ovocitos en diferentes etapas, es decir, existe una cohorte de ovocitos maduros y de forma adyacente folículos en desarrollo, en la región más dorsal del ovario, como se menciona en la literatura (Wilson, 1991; Wägele, 1992; Jaglarz, *et al.* 2014), o bien, de manera extraordinaria, se pueden encontrar embriones en el marsupio y al interior de los ovarios se pueden observar ovocitos en desarrollo y folículos en desarrollo incipiente, lo cual confirma la existencia de la continuidad en la reproducción de la especie a lo largo del ciclo anual, y la coexistencia de al menos dos generaciones o incluso tres generaciones potenciales de organismos en una sola hembra a un tiempo.

El desarrollo de los osteguitos ocurre de forma simultánea a la maduración de los ovocitos, no observándose osteguitos desarrollados en hembras sin embriones ni en hembras con desarrollo de ovocitos o folículos incipientes. La literatura afirma que algunas especies de isópodos presentan una ecdisis pos-desove, lo cual activa un mecanismo hormonal que incide en el crecimiento del organismo y la maduración de los gametos de las próximas generaciones, así como en el desarrollo de estructuras como el marsupio (Charniaux-Cotton, 1985; Suzuki, 1986, 1987), lo cual se observa en *E. attenuata*, como un factor determinante para la maduración consecutiva de generaciones de ovocitos y el aumento de la capacidad de alojamiento dentro del marsupio.

La distribución de la anatomía visceral en las hembras es semejante a la de los machos en cuanto a su ubicación (Figura 20), sin embargo en éstas es evidente la transformación y disminución de tamaño que presentan correspondiente al instar de desarrollo de las estructuras reproductivas, especialmente los ovarios, esto obedece al

aumento de presión, lo que lleva a una compactación y migración hacia la pared del cuerpo principalmente de los túbulos hepatopancreáticos, tracto hemal y tracto digestivo.

Para el caso del análisis citológico, en machos se pudo llevar a cabo la identificación de la mayoría de las fases de la meiosis I y profase I en las diferentes secciones del testículo, así como todos los estadios de la espermatogénesis a diferencia de las hembras, en las cuales debido al tipo de células que presenta, fue menor el número de estadios que se pudieron identificar.

Las fases de la meiosis II no fueron observadas, lo cual puede ser atribuido a diferentes causas como el espesor de los cortes histológicos, el tipo de fijador que se utilizó así como el tiempo en este, la conservación de los organismos que se llevó a cabo en EtOH 70% por un largo periodo, y la propia dificultad conocida para observar estas fases en animales.

La existencia de todas las fases de la espermatogénesis, desde las espermatogonias hasta los espermatozoides, que fueron observadas en las diferentes épocas del año y en diferentes tamaños de los machos, reafirma la existencia de un ciclo reproductivo a todo lo largo del periodo anual, confirmando una reproducción continua. Una característica estructural que debe ser mencionada es que los espermatozoides son aflagelados como en el resto de los isópodos, información que señalan autores como Wilson (1991) y Wägele (1992), lo cual se confirma por la reacción positiva a la tinción H-E, ya que se estas estructuras pueden observarse como filamentos completamente teñidos con hematoxilina obteniendo coloraciones púrpuras

En las hembras las fases de la meiosis se observaron, sin embargo las etapas de maduración pudieron ser caracterizadas por la morfología de los ovocitos en desarrollo dentro del ovario y las células foliculares adyacentes.

Con base en las observaciones es posible reafirmar que esta especie posee una reproducción continua, lo cual se evidencia al observar la presencia de ovocitos (Ov) en desarrollo avanzado junto con células en estados de desarrollo inferiores. El aumento de tamaño de los FI y Ov es una variante importante a considerar para identificar los estados de maduración, ya que no fue posible observar estructuras meióticas que ayudarán a este propósito; el aumento en tamaño indica una mayor cantidad de

nutrientes y el acontecimiento de procesos celulares que permitirán la maduración de estas células (Wägele, 1992; Gilbert, 2010).

Conclusiones.-

Poblacionales

- La población de *E. attenuata* en la laguna de Tamiahua, Veracruz, México; posee un 52.87% de machos, 35.16% de hembras no ovígeras y 11.96% de hembras ovígeras, que de manera general resultan en 52.87% de machos y 47.13% de hembras, o una proporción 1.12:1 de machos a hembras.
- Los valores principales de fecundidad obtenidos para *E. attenuata* fueron:
Hipotéticos: TFG=3.57; TGF=3.314
Reales: TFG=68; TGF=11.97
- Se encontró una relación entre talla y número de huevos que se ajusta para el 74.5% de la población de hembras ovígeras con un aumento de 1.41 embriones por cada milímetro de LT. Que sustenta un aumento del número de embriones a mayor LT.

Histológicas

- El tejido gonadal de *E. attenuata* se encuentra localizado para ambos sexos de forma pareada dorso-lateralmente, por encima del tracto digestivo y perpendicular a los tubos hepatopancreáticos. Los testículos en corte transversal se observan como dos tubos delgados de tamaño pequeño y los ovarios como estructuras delgadas al principio de su desarrollo pero que aumentan en tamaño conforme aumentan los ovocitos que se encuentran en su interior.
- Los testículos de *E. attenuata* a diferencia de otras especies como *Armadillium vulgare* están compuestos por un par de estructuras, cada uno de ellos está a su vez compuesto por tres cistos o lóbulos, posiblemente resultado de una fusión que optimiza la relación espacio y capacidad de producción de gametos. Los cistos están separados por una delgada membrana epitelial y el testículo está compuesto por un recubrimiento más grueso de células accesorias.

- El ovario de *E. attenuata* está organizado longitudinalmente a manera de collar de perlas con la existencia de al menos dos cohortes de ovocitos o folículos en diferentes estados de desarrollo, además de estar recubiertos por una membrana compuesta por células foliculares que modifican su morfología con respecto a el desarrollo de los gametos. A diferencia de los testículos, los ovarios no se compartimentan en cistos, son un solo espacio que contiene a los ovocitos, células foliculares y fluidos.

Citológicas

- Se caracterizaron las fases de la meiosis I en machos de *E. attenuata*, y algunas fases de la profase I. Así como todos los estadios de la espermatogénesis.
- No fue posible observar las fases de la meiosis en hembras, sin embargo, se caracterizaron las fases del desarrollo como incipiente, intermedio, avanzado y post-puesta, por medio de los cambios observados en los ovocitos, células foliculares y en órganos o estructuras adyacentes.

Generales

- Al conjuntar la información poblacional, citológica e histológica se afirma que *E. attenuata* en la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México, posee una reproducción continua, internamente se manifiesta como la consecución de cohortes de gametos tanto masculinos como femeninos.

Recomendaciones.-

- ✓ Al considerar la información previamente analizada en la literatura científica, *E. attenuata* podría ser estudiada en el futuro para entender el papel que juega en diferentes ambientes con diferentes niveles de perturbación dentro de la Laguna de Tamiahua, considerándolo como un organismo en estudios de restauración ecológica.

- ✓ Con la aplicación de técnicas adecuadas y aplicadas a éste fin, podría ser descrita completamente la meiosis de esta especie, además de elaborar el cariotipo correspondiente, el cual es inexistente.

- ✓ Dado la resistencia que posee a diversas condiciones ambientales y el tamaño de los gametos en ambos sexos, podría ser propuesto como un organismo modelo para protocolos específicos como observación del ciclo meiótico.

Literatura.-

Aguzzi, J.; J. Company; N. Bahamon; M. Flexas; S. Tecchio; U. Fernandez-Arcaya; J. García; A. Mechó; S. Köenig y M. Canals. 2013. Seasonal bathymetric migrations of deep-sea fishes and decapod crustaceans in the NW Mediterranean Sea. *Progress in Oceanography*, 118: 210-221.

Alberts, G.; D. Bray; K. Hopkin; A. Johnson; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts y P. Walter. 2006. *Introducción a la Biología Celular*. Médica Panamericana, 2° Edición. Madrid, España. 842 pp.

Alberts, G.; D. Bray; K. Hopkin; A. Johnson; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts y P. Walter. 2008. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, 5° Edición. USA. 1392 pp.

Achouri, M.; F. Charfi-Cheikhrouha y J. Marques. 2002. Biology, population structure and field-growth rates of *Porcellionides pruinosus* (Brandt, 1833)(Isopoda, Oniscidea) at Garatnaam (Kasserine, Tunisia). *Crustaceana*, 75(10): 1241-1262.

Anderson, T. 1984. *An Introduction to Multivariate Statistical Analysis*. 2° Edición. John Wiley & Sons New York. USA. 752 pp.

Appeltans, W.; S.T. Ahyong; G. Anderson; M. V. Angel; T. Artois; N. Bailly; R. Bamber; A. Barber; I. Bartsch; A. Berta; M.B. Elazewicz-Paszkowycz; P. Bock; G. Boxshall; C.B. Boyko; S.N. Branda; R.A. Bray; N. L. Bruce; S.D. Cairns; T.Y. Chan; L. Cheng; A.G. Collins; T. Cribb; M. Curini-Galletti; F. Dahdouh-Guebas; P.J.F. Davie; M.N. Dawson; O. De Clerck; W. Decock; S. De Grave; N.J. de Voogd; D.P. Domning; C.C. Emig; C. Erseus; W. Eschmeyer; K. Fauchald; D.G. Fautin; S.W. Feist; C.H.J.M. Fransen; H. Furuya; O. Garcia-Alvarez; S. Gerken; D. Gibson; A. Gittenberger; S. Gofas; L. Gómez-Daglio; D.P. Gordon; M.D. Guiry; F. Hernandez; B.W. Hoeksema; R.R. Hopcroft; D. Jaume; P. Kirk; N. Koedam; S. Koenemann; J. Kolb; R.M. Kristensen; A. Kroh; G. Lambert; D. B. Lazarus; R.

Lemaitre; M. Longshaw; J. Lowry; E. Macpherson; L.P. Madin; C. Mah; G. Mapstone; P.A. McLaughlin; J. Mees; K. Meland; C.G. Messing; C.E. Mills; T.N. Molodtsova; R. Mooi; B. Neuhaus; P.K.L. Ng; C. Nielsen; J.Norenburg; D.M. Opresko; M. Osawa; G. Paulay; W. Perrin; J.F. Pilger; G.C.B. Poore; P. Pugh; G.B. Read; J.D. Reimer; M. Rius; R.M. Rocha; J.I. Saiz-Salinas; V. Scarabino; B. Schierwater; A. Schmidt-Rhaesa; K.E. Schnabel; M. Schotte; P. Schuchert; E. Schwabe; H. Segers; C. Self-Sullivan; N. Shenkar; V. Siegel; W. Sterrer; S. Stöhr; B. Swalla; M.L. Tasker; E.V. Thuesen; T. Timm; M.A. Todaro; Xavier Turon; S. Tyler; P. Uetz; J. van der Land; B. Vanhoorne; L.P. van Ofwegen; R.W.M. van Soest; J. Vanaverbeke; G. Walker-Smith; T.C. Walter; A. Warren; G.C. Williams; S.P. Wilson; y M.J. Costello. 2012. The Magnitude of Global Marine Species Diversity. *Current Biology*, 22: 2189–2202.

Aprajita, K.; Pandey; R. Singh y U. Chauhan. 2014. Reproductive Endocrinal Regulation in Decapod Crustaceans: A review. *Journal of Ecophysiology & Occupational*, 14(2):55-65.

Ashton, E.; D. Macintosh y P. Hoghart. 2003. A baseline study of the diversity and community ecology of crab and molluscan macrofauna in the Sematan mangrove forest, Sarawak, Malaysia. *Journal of Tropical Ecology*, 19: 127–142.

Bakenhaster, M.; R. McBride y W. Price. 2006. Life history of *Glossobius hemiramphi* (Isopoda: Cymothoidae): development, reproduction, and symbiosis with its host *Hemiramphus brasiliensis* (Pisces: Hemiramphidae). *Journal of Crustacean Biology*, 26(3): 283-294.

Bell, T. y Lightner, D. 1988. A handbook of normal penaeid shrimp histology. Publication of the World Aquaculture Society. Baton Rouge. USA. 144 pp.

Bertrand, J.; R. Magnani y N. Rutenberg. 1994. Handbook of Indicators for Family Planning Program Evaluation. Evaluation Project. USAID. USA Government.

Disponible a través de: <http://www.cpc.unc.edu/measure>. Sitio web de "Measure Evaluation Project. Acceso en marzo 4, 2015.

Bishop, J. y S. Shalla. (1994). Discrete seasonal reproduction in an abyssal peracarid crustacean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 41(11): 1789-1800.

Blake, R. E. y J. E. Duffy. 2010. Grazer diversity affects resistance to multiple stressors in an experimental sea grass ecosystem. *Oikos* 119: 1625–1635.

Bortolini, R. J. L. 2003. Histological demonstration of (WSSV) on *L. vannamei* by different staining techniques. *Nauplius*. 11(2): 83-89.

Bortolini, J.L., Alvarez, F. 2008. Hepatopancreas alteration of the blue crab *Callinectes sapidus* by the rhizocephalan barnacle *Loxothylacus texanus*. *J. Invertebr. Pathol.* 99: 354-356.

Bortolini, J.L., Reyes-Aldana, H.; Gonzáles, A.; Gaspar R. 2012. Estructura poblacional de *Erichsonella attenuata* (Crustacea; Isopoda) en la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México, VIII Reunión Nacional Alejandro Villalobos, Presentación en cartel, Puerto Ángel, Oaxaca.

Bortolini, J. L., H. Reyes-Aldana, R. Gaspar, A. González and M. P. Alonso. 2013. *Erichsonella attenuata* (Crustacea: Isopoda) population structure in Tamiahua Lagoon, Veracruz. Thirteenth International Congress on Invertebrate Reproduction and Development. Detroit, Michigan, USA

Boström, C. y J. Mattila. 1999. The relative importance of food and shelter for sea grass associated invertebrates: A latitudinal comparison of habitat choice by isopods grazers. *Oecologia*. 120: 162-170.

- Boström, C. y J. Mattila. 2005. Effects of Isopod Grazing: An Experimental Comparison in Temperate (*Idotea balthica*, Baltic Sea, Finland) and Subtropical (*Erichsonella attenuata*, Gulf of Mexico, U.S.A.) Ecosystems. *Crustaceana*. 78(2): 185-200.
- Bradshaw, C. y McMahon C. Fecundity. *Encyclopedia Of Ecology, Five-Volume Set*. January 1, 2008. 1535-1543. Disponible: ScienceDirect, Ipswich, MA. Acceso en Febrero 25, 2015.
- Brooker, Robert. 2008. *Genetics: Analysis & Principles*. Mc Graw-Hill. 3° Edición. USA. 884 pp.
- Brass, W. 1974. Métodos para estimar la fecundidad y la mortalidad en poblaciones con datos limitados: selección de trabajos. Chile. Consejo Latinoamericano de Demografía. 224 pp.
- Brusca, R. C, y E.W. Iverson. 1985. A Guide to the Marine Isopod Crustacea of Pacific Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 33 (Supl. 1).
- Brusca, R. C.; V. Coelho y S. Taiti. 2001. A guide to the coastal isopods of California. Internet address: <http://tolweb.org/notes>. Acceso en febrero 15, 2015.
- Brusca, R.C. y G. J. Brusca. 2003. *Invertebrates*. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, USA. 936 pp.
- Charniaux-Cotton, H. 1985. Vitellogenesis and its control in malacostracan Crustacea. *American Zoologist*, 25(1): 197-206.
- Cladera, Jorge Luis. 1981. Absence of recombination in the male of *Ceratitidis capitata*. *Experientia*, 37(4): 342-343.

- Conover, W. 1999. Practical Nonparametric Statistics. 3° Edición. John Wiley & Sons New York. USA. 592 pp.
- Cruz, R.; A.L. Cupul-Magaña; M.E. Hendrickx y A.P. Rodríguez-Troncoso. 2013. Abundance of three species of isopoda (Peracarida: Isopoda) associated with a coral reef environment in Pacific Mexico. *Crustaceana*. 86(13-14): 1664-1674.
- Curtis, H.; N. S. Barnes; A. Schnek; y A. Massarini. 2008. Biología. 7° Edición. Médica Panamericana. Madrid, España. 1160 pp.
- Dana, J. D. 1849. Conspectus Crustaceorum. Conspectus of the Crustacea of the Exploring Expedition. *Crustacea Isopoda*. *American Journal of Science and Arts*, II, 8, 42:428.
- Daniel, W. 2008. Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa Wiley. 4° Edición, México, 485 pp.
- Darcy, M. C. y D. B. Eggleston. 2005. Do habitat corridors influence animal dispersal and colonization in estuarine systems? *Landscape Ecology*. 20: 841-855.
- De Grave, S.; N. D. Pentcheff; S. T. Ahyong; T. Y. Chan; K. A. Crandall; P. C. Dworschak; D. L. Felder; R. M. Feldmann; C. H. J. M. Fransen; L. Y. D. Goulding; R. Lemaitre; M. E. Y. Low; J. W. Martin; P. K. L. Ng; C. E. Schweitzer; S. H. Tan; D. Tshudy y R. Wetzer. 2009. A classification of living and fossil genera of decapod crustaceans. *Raffles bulletin of zoology*. Supplement. 21: 1-109
- Draper, N. y Smith, H. 1966. Applied Regression Analysis. Second Edition. John Wiley & Sons New York. USA. 736 pp.

- Encina, L. y C. Granado-Lorencio. 1997. Seasonal changes in condition, nutrition, gonad maturation and energy content in barbel, *Barbus sclateri*, inhabiting a fluctuating river. *Environmental Biology of Fishes*, 50(1): 75-84.
- Fee, A. R. 1926. No. 2: The Isopoda of Departure Bay and Vicinity, with descriptions of new species, variations, and colour notes. *Contributions to Canadian Biology and Fisheries*, 3(1): 13-46.
- Ferguson, R. L.; Pawlak, B.T. and Wood L.L. 1993. Flowering of the seagrass *Halodule wrightii* in North Carolina, USA. *Aquatic Botany*. 46: 91-98
- Fogarty, M. 1995. Chapter 6: Populations, Fisheries and Management. *Biology Of The Lobster*. Editorial y pais. 111-137
- Fonseca, D.; V. Veloso y R. Cardoso. 2000. Growth, mortality, and reproduction of *Excirolana braziliensis* Richardson, 1912 (Isopoda, Cirolanidae) on the Prainha beach, Rio de Janeiro, Brazil. *Crustaceana*, 73(5): 535-545.
- Franco, J. y Chávez R. 1992. Síntesis sobre el conocimiento de la ictiofauna de la Laguna de Tamiahua. Veracruz, México. *Hidrobiológica*, 2(1-2): 53-63.
- Fredette, J. T.; R. Diaz; J. Montfrans y Orth R. 1990. Secondary Production Within a Seagrass Bed (*Zostera marina* and *Ruppia maritima*) in Lower Chesapeake Bay. *Estuaries* 13(4): 431-440.
- Furota, T., y T. Ito. 1999. Life cycle and environmentally induced semelparity in the shore isopod *Ligia cinerascens* (Ligiidae) on a cobble shore along Tokyo Bay, Central Japan. *Journal of Crustacean Biology*, 19(4): 752-761.
- Gilbert, S.F. 2010. *Developmental Biology*. 9° Edición. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachussets, USA. 711 pp.

- Gjedrem, T. 2005. Selection And Breeding Programs In Aquaculture. Dordrecht: Springer; 364 pp.
- Grutter, A. 1999. Infestation dynamics of parasitic gnathiid isopod juveniles on a coral reef fish *Hemigymnus melapteru*. Mar. Biol. 135: 545-552
- Hadfield, K. A.; N.J. Smit, y A. Avenant-Oldewage. 2009. Life cycle of the temporary fish parasite, *Gnathia pilosus* (Crustacea: Isopoda: Gnathiidae) from the east coast of South Africa. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 89(7): 1331-1339.
- Harrison, Frederick W., and Humes Harrison. 1991A. Microscopic anatomy of invertebrates: Volume 9: Crustacea. Wiley-Liss Inc. 672 pp.
- Harrison, Frederick W., and Humes Harrison. 1991B. Microscopic anatomy of invertebrates: Volume 10: Decapod crustacea. Wiley-Liss Inc. 474 pp.
- Hauxwell, J.; J. Cebrián y I. Valiela. 2003. Eelgrass *Zostera marina* loss in temperate estuaries: relationship to land-derived nitrogen loads and effect of light limitation imposed by algae. Marine ecology. Progress series, 247: 59-73.
- Highnam, K. 1977. Control of Ovarian Development in Invertebrates. En: Suckerman, S y B. Weir. The Ovary II: Physiology. Academic Press Inc. USA. 565 pp.
- Holdich, D. M. 1971. Changes in physiology, structure and histochemistry occurring during the life history of the sexually dimorphic isopod *Dynamene bidentata* (Crustacea: Peracarida). Marine Biology. 8: 35-47.

- Jay, C. V. 1989. Prevalence, size and fecundity of the parasitic isopod *Argeia pugettensis* on its host shrimp *Crangon franciscorum*. *American Midland Naturalist*, 68-77.
- Jaglarz, M. K.; J. Kubrakiewicz y S. Bilinski. 2014. The ovary structure and oogenesis in the basal crustaceans and hexapods. Possible phylogenetic significance. *Arthropod structure & development*, 43(4): 349-360.
- John, B. 1990. *Meiosis* (Vol. 22). Cambridge University Press. Londres, Inglaterra. 396 pp.
- Johnson, W. S.; M. Stevens y L. Watling. 2001. Reproduction and development of marine peracaridans. *Advances in Marine Biology*, 39: 105-260.
- Karp, G. 2009. *Biología celular y molecular: conceptos y experimentos*. 5° Edición. Mc Graw-Hill. México. 853 pp.
- Kashani, G. M.; A. Sari; S. Hosseinie; M. Malek y E. Entezari. 2011. Life cycle and population structure of the terrestrial isopod *Hemilepistus klugii* (Brandt, 1833) (Isopoda: Oniscidea) in Iran. *Journal of Natural History*, 45(33-34): 2081-2094.
- Kautsky, N. 1982. Quantitative studies on gonad cycle, fecundity, reproductive output and recruitment in a Baltic *Mytilus edulis* population. *Marine Biology*, 68(2): 143-160.
- Kensley, B. Y M. Schotte. 1989. *Guide to the marine isopod crustaceans of the Caribbean*. Smithsonian Institution Press. Washington D. C. USA. 308 pp.
- Kensley, B.; W. G. Nelson y M. Schotte. 1995. Marine isopod biodiversity of the Indian River lagoon, Florida. *Bulletin of Marine Science*, 57(1): 136-142

- Kight, S. y M. Nevo. 2004. Female Terrestrial Isopods, *Porcellio laevis* Latreille (Isopoda: Oniscidea) Reduce Brooding Duration and Fecundity in Response to Physical Stress. *Journal of the Kansas Entomological Society*. 285. Available from: JSTOR Journals, Ipswich, MA. Acceso en Febrero 25, 2015.
- Kindsvater, H. K., y Otto, S. P. 2014. The Evolution of Offspring Size across Life-History Stages. *The American Naturalist*, (5): 543-555.
- Larkum, W.D.; R. J. Orth y C. M. Duarte, editores. 2006. *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation*. Springer. Dordrecht, Países Bajos. 691 pp.
- Laufer, H., Ahl, J. S., y A. Sagi. 1993. The role of juvenile hormones in crustacean reproduction. *American Zoologist*, 33(3), 365-374.
- Lawless, A. S. y R. D. Seitz. 2014. Effects of shoreline stabilization and environmental variables on benthic infaunal communities in the Lynnhaven River System of Chesapeake Bay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 457: 41–50.
- Lefebvre, F. y Caubet. 1999. On the male-effect in the terrestrial Crustacean *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804). *Invertebrate reproduction & development*, 35(1): 55-64.
- Lewis, J.J. 2009. "Isopoda (Aquatic Sowbugs)." *Encyclopedia Of Inland Waters*. 346-355. ScienceDirect, EBSCOhost. Acceso en febrero 21, 2015.
- Litulo, C. 2005. Population biology of the fiddler crab *Uca annulipes* (Brachyura: Ocypodidae) in a tropical East African mangrove (Mozambique). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 62: 283–290.

- Longhurst, A. R. 2010. Mismanagement of marine fisheries / Alan Longhurst. Cambridge, UK ; New York : Cambridge University Press.
- Longo, G.; R. Musmeci; R. Privitera y L. Sottile. 1998. Ultrastructural organization of seminal receptacle and sperm storage in *Porcellio laevis* Latreille (Crustacea: Isopoda: Oniscidea). *Tissue & Cell*, 30 (4): 464-474
- López, B.; M. Ortiz; I. Winfield y S. Cházaro. 2012. Isópodos (Crustácea: Peracarida) asociados al área natural protegida Sistema Arrecifal Tuxpan-Lobos, Veracruz: 29. (VIII Reunión Alejandro Villalobos, Puerto Ángel, Oaxaca, México).
- Manship, B.; A. Walker, y A. Davies. 2011. Brooding and embryonic development in the crustacean *Paragnathia formica* (Hesse, 1864)(Peracarida: Isopoda: Gnathiidae). *Arthropod structure & development*, 40(2): 135-145.
- Marques, J.; I Martins; C Teles-Ferreira y S. Cruz. 1994. Population dynamics, life history, and production of *Cyathura carinata* (Krøyer)(Isopoda: Anthuridae) in the Mondego estuary, Portugal. *Journal of Crustacean Biology*, 14(2): 258-272.
- Millaku, A.; V. Lešer; D. Drobne; M. Godec; M. Torkar; M. Jenko; M. Milani y F. Tatti. 2010. Surface characteristics of isopod digestive gland epithelium studied by SEM. *Protoplasma*. 241:83–89.
- Mittal, O. y Pahwa, S. 1981. Germ cell chromosomes in two species of terrestrial isopods from India. *Experientia*, 37(4): 343-345.
- Montesanto, G.; G. Pizzo; D. Caruso y B. Lombardo. 2012. The postmarsupial development of *Porcellio siculoccidentalis*, with some data on reproductive biology (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *ZooKeys*, 176: 87-101.

- Montgomery, D. y Peck, E. 1992 Introduction to Linear Regresión Analysis. 2° edición. Wiley. New York. USA. 762 pp.
- Nagaraju, G. P. C. 2011. Reproductive regulators in decapod crustaceans: an overview. The Journal of experimental biology, 214(1), 3-16.
- Pirés, A. N. S. 1984. Taxonomic revision and phylogeny of the genus *Erichsonella* with a discussion on *Ronalea* (Isopoda, Valvifera). Journal of Natural History, 18(5): 665-683.
- Poore, G.C.B., y N. L. Bruce. 2012. Global Diversity of Marine Isopods (Except Asellota and Crustacean Symbionts). PLoS One 7, e43529.
- Poore, G. y Schotte, M. 2014. *Erichsonella* Benedict in Richardson, 1901. en: Schotte, M.; Boyko, C.B; Bruce, N.L.; Poore, G.C.B.; Taiti, S. y Wilson, G.D.F. Editores. 2014 World Marine, Freshwater and Terrestrial Isopod Crustaceans database. Accessed through: World Register of Marine Species en:<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=157886> on 2015-02-22
- Poulin, R. 1995. Evolutionary influences on body size in free-living and parasitic isopods. Biological Journal of the Linnean Society, 54(3):231-244.
- Quadros, A.; Y. Caubet y P. Araujo. 2009. Life history comparison of two terrestrial isopods in relation to habitat specialization. Acta Oecologica. 35: 243-249.
- Ramirez, E. 2002. Fecundity and life history strategies in marine invertebrates. Advances in Marine Biology, 43: 87-170.
- Reyes-Aldana, H.; Gonzáles, A.; Gaspar R.; Bortolini J.L. 2011. Estructura poblacional de *Erichsonella attenuata* (Crustacea; Isopoda) en la Laguna de Tamiahua,

Veracruz, México, XX Congreso Nacional de Zoología, Presentación en cartel, Cuernavaca, Morelos.

Richardson, H. 1905. A monograph on the isopods of North America. Bulletin of the United States National Museum 54: liii + 727 pp.

Rocchi, A., G. Prantera; V. Lanza y M. Di Castro. 1984. Incipient sex chromosome differentiation in an isopod crustacean species, *Asellus aquaticus*. Chromosoma, 89(3): 193-196.

Rocha, A.; R. Román, y S. Cházaro. 2002. Population structure and fecundity of *Anopsilana oaxaca* Carvacho & Haasmann, 1984 (Isopoda, Cirolanidae) of the Pacific coast of Mexico. Crustaceana, 75(2): 97-109.

Rodríguez, R.; A. Castañeda y M.G. Ordáz. 2009. Conceptos básicos de genética. Las prensas de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 279 pp.

Rokop, F. 1977. Patterns of reproduction in the deep-sea benthic crustaceans: a re-evaluation. Deep Sea Research, 24(7): 683-691.

Romero, J. y R. Román. 2008. Aspects of the reproduction of *Bopyrinella thorii* (Richardson, 1904) (Isopoda, Bopyridae), a branchial parasite of *Thor floridanus* Kingsley, 1878 (Decapoda, Hippolytidae) in Bahía de la Ascensión, Mexican Caribbean. Crustaceana, 81(10): 1201-1210.

Romero, J. y R. Román. 2013. Prevalence and reproduction of *Bopyrina abbreviata* (Isopoda, Bopyridae) in Laguna de Términos, SW Gulf of Mexico. Journal of Crustacean Biology, 33(5): 641-650.

- Romero, J. Sustentante. 2014. Ecología poblacional y reproductiva de *Bopyrina abbreviata* (isopoda, bopyridae) en laguna de términos, Campeche. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. 139 pp.
- Roosen-Runge, E.C. 1969. Comparative aspects of spermatogenesis. *Biology of reproduction*, 1(Supplement 1): 24-39.
- Roosen-Runge, E.C. 1997. The process of spermatogenesis in animals. Vol. 5. Cambridge University Press. Londres, Inglaterra. 214 pp.
- Ryer, C. H. y R. J. Orth. 1987. Feeding Ecology of the Northern Pipefish, *Syngnathus fuscus*, in a Seagrass Community of the Lower Chesapeake Bay. *Estuaries*. 10(4): 330-336 pp.
- Sastry, A. N. 1983. Ecological aspects of reproduction (179–270 p.). In: Vernberg, F.J., Vernberg, B. (Eds.). *The Biology of Crustacea*, Vol. 8. Academic Press, New York. Pp. 179–270.
- Schlatt, S. y Ehmcke, J. 2014. Regulation of spermatogenesis: an evolutionary biologist's perspective. In *Seminars in cell & developmental biology*. 29: 2-16.
- Schuldt, M. 1993. Ovarian cycle of *Probopyrus ringueleti* (Verdi y Schuldt, 1998) (Isopoda: Epicaridea: Bopyridae). *Gayana zool.* 57(1): 89-104.
- Schotte, M.; G. D. F. Wilson y J. Markham. 2009. Isopods of the Gulf of Mexico. En D.L. Felder y D.K. Camp, editores. *Gulf of Mexico: Its Origins, Waters and Biota. I. Biodiversity*. A&M University Press, College Station. Texas, USA. 973-986
- Seber, G. 1984. *Multivariate Observations*. John Wiley & Sons New York. USA. 686 pp.
- Sheridan P. 2004. Comparison of restored and natural sea grass beds near Corpus Cristi, Texas. *Estuaries*. 27(5): 781-792.

- Singer, S. Crustaceans. Salem Press Encyclopedia Of Science [Recurso en línea]. Octubre 2013; Disponible desde: Research Starters, Ipswich, MA. Accedido en enero 7, 2015.
- Sokolowicz, C. y P. Araujo. 2013. Reproductive pattern of the neotropical terrestrial isopod *Benthana cairensis* (Isopoda: Philosciidae). *Journal of Crustacean Biology*, 33(2): 210-217.
- Soong, K., y Mok, H. K. 1994. Size and maturity stage observations of the deep-sea isopod *Bathynomus doederleini* Ortmann, 1894 (Flabellifera: Cirolanidae), in eastern Taiwan. *Journal of crustacean biology*. 14: 72-72.
- Sparkes, T.; D. Keogh, y T. Orsburn. 2002. Female resistance and mating outcomes in a stream-dwelling isopod: effects of male energy reserves and mating history. *Behaviour* 139(7): 875-895.
- Sprente, P. and Smeeton, N. C. 2007. *Applied Nonparametric Statistical Methods*. Chapman & Hall/CRC. New York. USA. 544 pp.
- Staiger, H., y C. Bocquet. 1954. Cytological demonstration of female heterogamety in isopods. *Experientia*, 10(2): 64-66.
- Sutton, M.; Hassall, R.; Willows, R.; C. Davis; A. Grundy y K. D. Suderland. 1984. Life histories of terrestrial isopods: a study of intra and interspecific variation. *Symposia of the Zoological Society of London* 53: 269-294.
- Suzuki, S. 1986. Effect of Y-organ ablation on oocyte growth in the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*. *The Biological Bulletin*, 170(2): 350-355.

- Suzuki, S. 1987. Vitellins and vitellogenins of the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*. *The Biological Bulletin*, 173(2): 345-354.
- Suzuki, S. y Ziegler A. 2005. Structural investigation of the female genitalia and sperm-storage sites in the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Crustacea, Isopoda). *Arthropod Structure & Development* 34: 441–454
- Tsai, M. y C. Dai. 2003. Cannibalism within mating pairs of the parasitic isopod, *Ichthyoxenus fushanensis*. *Journal of Crustacean Biology*, 23(3): 662-668.
- Thiel, M. 2000. Extended parental care behavior in crustaceans: A comparative overview. *Crustacean Issues*, 12: 211-226.
- Thongda, W., J. Chung; N. Tsutsu; N. Zmora y A. Katenta. 2015. Seasonal variations in reproductive activity of the blue crab, *Callinectes sapidus*: Vitellogenin expression and levels of vitellogenin in the hemolymph during ovarian development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 179; 35-43.
- Vittori, M.; N. Znidarsic, R. Kostanjsek y Strus J. 2012. Microscopic anatomy of male tegumental glands and associated cuticular structures in *Titanethes albus* (Crustacea: Isopoda). *Arthropod Structure & Development* 41: 133-144.
- Wägele, J. W. 1987. On the reproductive biology of *Ceratoserolis trilobitoides* (Crustacea: Isopoda): latitudinal variation of fecundity and embryonic development. *Polar Biology*, 7(1): 11-24.
- Wägele, J.W. 1992. Isopoda. En Humes, G.H. *Microscopic Anatomy of Invertebrates, Crustacea*, Vol. 9. University of Michigan-Wiley, USA. 672 pp.

- Wang, Q. T. Zhang, J.F. Hamel y A. Mercier. 2015. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Reproductive Biology. Elsevier inc. Volume 39, 478 pp.
- Warburg, M. R. 2012. The oniscid isopod female reproductive system and gestation, with a partial review. *Invertebrate Reproduction & Development*, 56(2): 87-110.
- Ziegler, A., H. Fabritius y M. Hagedorn. 2005. Microscopical and functional aspects of calcium-transport and deposition in terrestrial isopods. *Micron* 36:137–153.
- Watling, L. 1981. An alternative phylogeny of peracarid crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*, 1(2): 201-210.
- White-Cooper, H. y N. Bausek. 2010. Evolution and spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 365 (1546): 1465-1480.
- Williams, J.D. y C.B. Boyko. 2012. The Global Diversity of Parasitic Isopods Associated with Crustacean Hosts (Isopoda: Bopyroidea and Cryptoniscoidea). *PLoS ONE*, 7: e35350.
- Wilson, G. 1991. Functional morphology and evolution of isopod genitalia. En Bauer R. y Martin J. *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, 355 pp.
- Ziegler, A.; H. Fabritius y Hagedorn, M. 2005. Microscopical and functional aspects of calcium-transport and deposition in terrestrial isopods. *Micron*. 36(2): 137-153.
- Ziegler, A. y S. Suzuki. 2011. Sperm storage, sperm translocation and genitalia formation in females of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Crustacea, Peracarida, Isopoda). *Arthropod Structure & Development* 40: 64-76.

Anexos.**Anexo I. Fijador Davidson's*.**

Formalina al 100%	220 ml
Etanol 95%	330 ml
H ₂ O destilada	335 ml
Ácido acético	115 ml
Hidróxido de amonio	22 g

*Para preparar 1 litro de fijador.

Anexo 2. Deshidratación para inclusión en paraplast.

Colocar muestras en cassettes	
EtOH 70%	90 min
EtOH 83%	90 min
EtOH 96%	90 min
EtOH 100%	90 min
Xilol-EtOH 100%	90 min
Xilol	90 min
Inclusión en paraplast (Punto de fusión 56-58°C)	6 hr

Anexo 3. Técnica de tinción de Hematoxilina-Eosina.

Calentar portaobjetos con los cortes a en la estufa a 56-58°C	15 min
Xilol	5 min
Xilol	5 min
EtOH 100%	5 min
EtOH 96%	5 min
EtOH 85%	5 min
EtOH 70%	5 min
EtOH 50%	5 min
H ₂ O destilada	5 min
Hematoxilina de Harris	9 min
H ₂ O destilada	5 min
H ₂ O corriente	5 min
EtOH 50%	5 min
Eosina alcohólica	7min
EtOH 70%	5 min
EtOH 70%	5 min
EtOH 96%	5 min
EtOH 100%	5 min
Xilol	5 min
Montaje con resina sintética	
Etiquetado	

Anexo 4. Tinción de Lendrum.

Calentar portaobjetos con los cortes a en la estufa a 56-58°C	15 min
Xilol	5 min
Xilol	5 min
EtOH 100%	5 min
EtOH 96%	5 min
EtOH 85%	5 min
EtOH 70%	5 min
EtOH 50%	5 min
H ₂ O destilada	5 min
Hematoxilina de Harris	9 min
H ₂ O destilada	5 min
H ₂ O corriente	Segundos
Floxina	30 min
H ₂ O destilada	Enjuagar
Tartrazina	Minutos a horas
H ₂ O destilada	Lavar
EtOH 70%	5 min
EtOH 70%	5 min
EtOH 96%	5 min
EtOH 100%	5 min
Xilol	5 min
Montaje con resina sintética	
Etiquetado	