

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POST-GRADO



FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL ACOCIL ROJO  
*Procambarus clarkii* (CRUSTACEA: DECAPODA):  
ESTABLECIMIENTO DEL CICLO DE MADURACION  
GONADAL Y EVALUACION DE SU POTENCIAL  
REPRODUCTIVO.

TESIS QUE PRESENTA

M.C. GABINO ADRIAN RODRIGUEZ ALMARAZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
CON ESPECIALIDAD EN ACUACULTURA

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L.  
FEBRERO DE 2001



G A R A

FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL ACOCIL ROJO *Procambarus clarkii* (CRUSTACEA  
DECAPODA): ESTABLECIMIENTO DEL CICLO DE MADURACION GONADAL  
Y EVALUACION DE SU POTENCIAL REPRODUCTIVO

TD  
QL444  
.M33  
R62  
2001  
c.1

2001



1080124478

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



PSICOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL KOOLWOTO  
*Procambarus clarkii* (CRUSTACEA: DECAPODA):  
ESTABLECIMIENTO DEL CICLO DE MADURACION  
GONADAL Y EVALUACION DE SU POTENCIAL  
REPRODUCTIVO

TESIS QUE PRESENTA

M.C. GAHINO ADRIAN RODRIGUEZ ALMAJAZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
CON ESPECIALIDAD EN ACUACULTURA

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L.  
FEBRERO DE 2001



TD

QL444

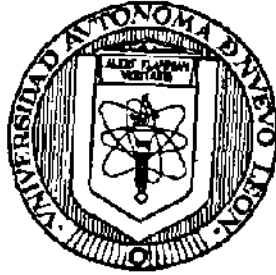
•M33

R62

2001



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL ACOCIL ROJO *Procambarus clarkii*  
(CRUSTACEA: DECAPODA): ESTABLECIMIENTO DEL CICLO DE  
MADURACION GONADAL Y EVALUACION DE SU POTENCIAL  
REPRODUCTIVO**

**TESIS QUE PRESENTA  
M.C. GABINO ADRIAN RODRIGUEZ ALMARAZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN  
CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ACUACULTURA**

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.**

**FEBRERO 2001**

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL ACOCIL ROJO *Procambarus clarkii*  
(CRUSTACEA: DECAPODA): ESTABLECIMIENTO DEL CICLO DE  
MADURACION GONADAL Y EVALUACION DE SU POTENCIAL  
REPRODUCTIVO

TESIS QUE PRESENTA  
M.C. GABINO ADRIAN RODRIGUEZ ALMARAZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN  
CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ACUACULTURA

COMITÉ DOCTORAL

  
DR. ROBERTO EDUARDO MENDOZA ALFARO  
DIRECTOR DE TESIS

  
DR. DENIS RICQUE MARIE  
SECRETARIO

  
DR. REYES S. TAMEZ GUERRA  
VOCAL

  
DRA. LUCIA ELIZABETH CRUZ SUAREZ  
VOCAL

  
DRA. JULIA VERDE STAR  
VOCAL

**Agradecimientos a las Instituciones que hicieron posible la realización de esta investigación:**

Al **CONACYT** a través del Programa **Cátedras Patrimoniales de Excelencia nivel II: Apoyo a Profesores e Investigadores para obtener el Doctorado**, por otorgarme una beca para la culminación de mis estudios de Doctorado.

Al Programa **SUPERA**, quien en los inicios de mis estudios de Doctorado proporcionó un apoyo parcial para este estudio.

Al Programa **PROMEP**, que igualmente otorgó un apoyo parcial para el desarrollo de esta investigación.

Al **Sistema Nacional de Investigadores-CONACYT (SNI)**, por el apoyo y estímulo recibido, al considerarme como Investigador Nacional nivel I (1999-2002).

A la **Universidad Autónoma de Nuevo León**, al otorgarme un apoyo económico parcial para la realización de este estudio.

A la **Administración de la Facultad de Ciencias Biológicas (1994-2000)**, quien a través de su Programa de Formación del Profesores apoyó el inicio y finalización de mis estudios de Doctorado.

A la **Subdirección de Estudios de Postgrado** de la Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L., por las atenciones y facilidades prestadas a un servidor.



## **Agradecimientos:**

**Al Dr. Roberto E. Mendoza Alfaro**, quién dirigió este estudio de una manera acertada a través de sus críticas y comentarios, y a la vez por enseñarme a descubrir otras áreas del conocimiento de la biología de los crustáceos.

**Al Dr. Denis Ricque Marie**, por sus valiosas sugerencias de la parte estadística y revisión del manuscrito.

**Al Dr. Reyes S. Tamez Guerra**, por su valiosa participación en el comité doctoral y comentarios durante la revisión del manuscrito. También quiero expresar mi profundo agradecimiento por su apoyo que me otorgo, al considerarme como miembro de la planta docente de la Facultad de Ciencias Biológicas, durante su gestión como Subdirector Académico.

**A la Dra. Elizabeth Cruz Suárez**, por sus comentarios y sugerencias para este estudio. Además, por la motivación que me dio hace años para interesarme en la producción y manejo de crustáceos.

**A la Dra. Julia Verde Star**, por la revisión y sugerencias hacia este trabajo, y su apoyo durante mis estudios de postgrado.

**Al Dr. Roberto Mercado Hernández**, por su invaluable asesoría para el manejo estadístico de los datos e interpretación de los resultados.

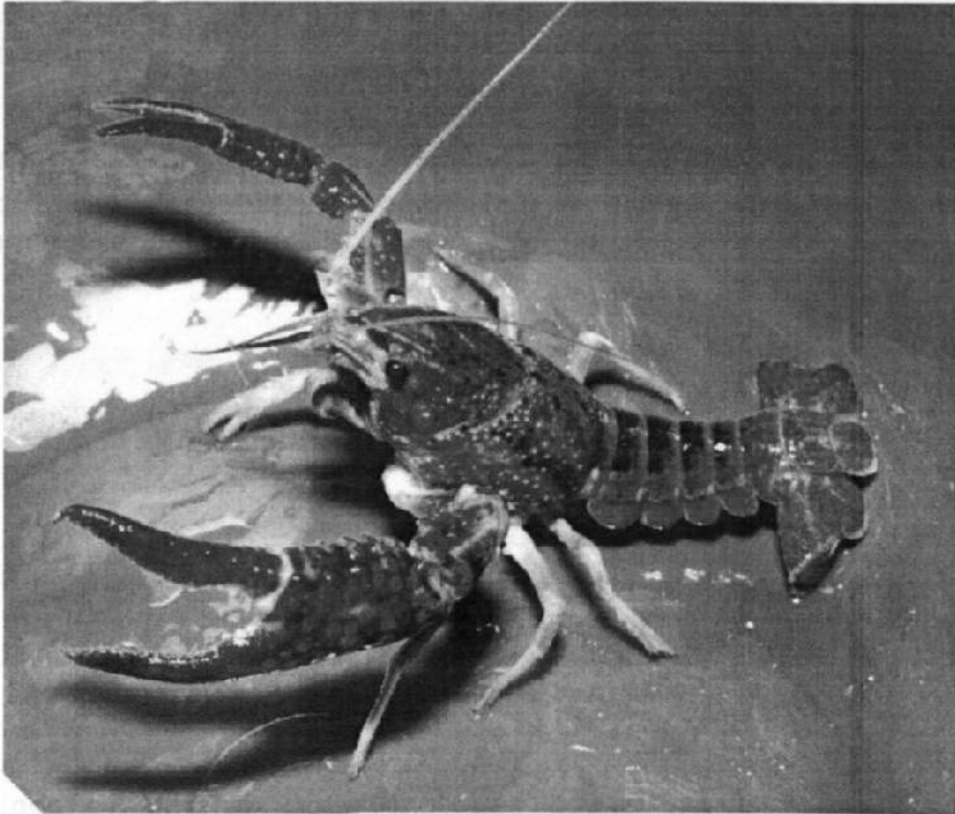
**A todos mis estudiantes y tesistas del Lab. de Artrópodos y Entomología**, en particular quienes en diferentes tiempos han colaborado en los estudios sobre acociles: Isabel, Chavana, Alfredo, Alejandro, Esteban, Nancy, Carlos, Walter, Elena y Víctor.

**A los miembros del grupo de Ecofisiología**, quienes ayudaron y colaboraron de manera extraordinaria para este estudio.

**A los compañeros profesores del laboratorio:** Dra. María Luisa Rodríguez, Dr. Raúl Torres, Dr. Humberto Quiroz y Dr. Carlos Solís.

## DEDICATORIA A MI FAMILIA:

Dedico esta tesis, con gran amor para mi esposa Rosy, quien  
pacientemente ha comprendido el esfuerzo y dedicación que le di a este trabajo y  
a otras cosas siempre.  
Ojalá y



**Acocil rojo**

***Procambarus clarkii***

A mis hermanos:

Porque siempre han sido de distinta forma de actuar y pensar, a todos los  
quiero y los respeto: Laura, Miriam, Javier, David y Fina.

*En recuerdo de tres grandes carcinólogos: esta tesis a mi abuelita.*

Dr. Horton H. Hobbs Jr. (†)  
Dr. Alejandro Villalobos-Figueroa (†)  
Dr. Thomas E. Bowman (†)

## **DEDICATORIA A MI FAMILIA:**

Dedico esta tesis, con gran amor para mi esposa **Rosy**, quien pacientemente ha comprendido el esfuerzo y dedicación que le di a este trabajo y a otras actividades propias que realizó como profesor de la Universidad. Ojalá y siempre seas así.

A mis tres grandes amores, que con su particular forma de ser, me han motivado para desarrollarme moralmente y profesionalmente, además por enseñarme a ser padre:

**Ana Karen "Mi cangrejita"**  
**Gabinito "El gordo"**  
**Gabriela Elaine "Mi hediondilla"**

*A mis padres:*

**Javier Rodríguez**, aunque siempre hemos estado lejos, te respeto y te quiero. Espero en dios, te de las fuerzas para recuperarte.

**Josefina Almaraz "Doña Fina"**, una vez más te agradezco por quererme y educarme desde mi niñez hasta hoy en día.

*A mis hermanos:*

Aunque siempre, han sido de distinta forma de actuar y pensar, a todos los quiero y los respeto: **Laura, Miriam, Javier, David y Fina**.

Como un recuerdo especial quiero dedicar esta tesis a mi abuelita:

**Ana María (†)**

## INDICE

INDICE DE TABLAS .....	i
INDICE DE FIGURAS .....	v
RESUMEN.....	viii
<b>CAPITULO 1. - INTRODUCCION GENERAL</b>	
<b>1.1 INTRODUCCION .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
1.2.1 <i>Objetivo general de este estudio .....</i>	<i>3</i>
1.2.2 <i>Objetivos particulares de cada capítulo .....</i>	<i>3</i>
<b>1.3 HIPOTESIS .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 ANTECEDENTES GENERALES .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4.1 <i>Distribución de Procambarus clarkii .....</i></b>	<b>5</b>
<b>1.4.2 <i>Estado actual de las especies nativas .....</i></b>	<b>6</b>
<b>1.4.3 <i>Ecología e impacto de los acociles en los ecosistemas .....</i></b>	<b>6</b>
1.4.3.1 <i>Hábitat .....</i>	<i>6</i>
1.4.3.2 <i>Madrigueras .....</i>	<i>7</i>
1.4.3.3 <i>Hábitos alimenticios y papel politrófico .....</i>	<i>8</i>
1.4.3.4 <i>Cambios o modificación del hábitat por la presencia de acociles .....</i>	<i>9</i>
1.4.3.5 <i>Calidad del agua en ambientes naturales y de cultivo .....</i>	<i>10</i>
<b>1.4.4 <i>Biología reproductiva .....</i></b>	<b>11</b>
1.4.4.1 <i>Dimorfismo sexual .....</i>	<i>11</i>
1.4.4.2 <i>Maduración sexual .....</i>	<i>12</i>
1.4.4.3 <i>Cortejo y cópula .....</i>	<i>13</i>
1.4.4.4 <i>Desove e incubación .....</i>	<i>14</i>
1.4.4.5 <i>Fecundidad .....</i>	<i>16</i>
<b>1.4.5 <i>Crecimiento .....</i></b>	<b>17</b>
<b>1.4.6 <i>Importancia de los acociles .....</i></b>	<b>19</b>
1.4.6.1 <i>Producción de acociles en áreas naturales y de cultivo .....</i>	<i>19</i>
1.4.6.2 <i>Nutrición .....</i>	<i>20</i>
1.4.6.3 <i>Especies exóticas .....</i>	<i>21</i>



1.4.6.4	Mercado y uso actual de las especies nativas y exóticas .....	22
---------	---	----

**CAPITULO 2.- ANALISIS DE LA FECUNDIDAD EN HEMBRAS DE *Procambarus clarkii***

<b>2.1</b>	<b>INTRODUCCION .....</b>	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>23</b>
2.2.1	<i>Estrategias y factores ambientales que influyen en la producción de huevo en Acociles .....</i>	23
2.2.2	<i>Pérdida de huevecillos .....</i>	24
2.2.3	<i>Potencial reproductivo y reproducción realizada .....</i>	27
2.2.4	<i>Producción actual y eficiencia reproductiva .....</i>	29
2.2.5	<i>Métodos para evaluar la fecundidad en crustáceos .....</i>	30
<b>2.3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>33</b>
2.3.1	<i>Diseño experimental .....</i>	33
2.3.2	<i>Recolección y acondicionamiento de las hembras en laboratorio .....</i>	33
2.3.3	<i>Datos biométricos de las hembras .....</i>	35
2.3.4	<i>Métodos para describir la fecundidad .....</i>	35
<b>2.4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
2.4.1	<i>Datos de talla (LC) y peso (PT) de las hembras .....</i>	37
2.4.2	<i>Potencial reproductivo .....</i>	39
2.4.2.1	Valores del número de ovocitos por estadio gonadal .....	39
2.4.2.2	Análisis estadísticos del número de ovocitos en función a las variables morfológicas .....	40
2.4.2.3	Valores estimados del número de ovocitos por talla (LC) y peso (PT).....	44
2.4.3	<i>Reproducción realizada y reproducción actual .....</i>	46
2.4.3.1	Valores del número de huevecillos llevados por las hembras por fases de desarrollo embrionario .....	46
2.4.3.2	Análisis estadístico del número de huevecillos en función a las variables morfológicas .....	47
2.4.3.3	Valores estimados del número de huevecillos por talla (LC).....	50

2.4.3.4	Comparación de las regresiones entre Potencial Reproductivo y Reproducción Realizada .....	51
2.5	DISCUSION .....	57
2.6	CONCLUSION .....	63

**CAPITULO 3.- ESTUDIO HISTOQUIMICO DEL OVARIO E INDICES SOMATICOS INVOLUCRADOS EN EL CICLO DE MADURACION GONADAL DE *Procambarus clarkii***

3.1	ANTECEDENTES .....	64
3.1.1	<i>Anatomía y descripción de los ovarios en crustáceos decápodos</i> .....	64
3.1.2	<i>Clasificación de las gónadas de acuerdo a sus características morfológicas e histoquímicas</i> .....	65
3.1.3	<i>Estudio sobre histología gonadal en crustáceos decápodos</i> .....	68
3.1.4	<i>Indices Gonadosomáticos</i> .....	70
3.1.5	<i>Indices Hepatosomáticos</i> .....	73
3.2	METODOLOGIA .....	76
3.2.1	<i>Colecta del material biológico</i> .....	76
3.2.2	<i>Acondicionamiento de los especímenes en laboratorio</i> .....	76
3.2.3	<i>Biometría</i> .....	77
3.2.4	<i>Estado de muda</i> .....	77
3.2.5	<i>Disección</i> .....	77
3.2.6	<i>Técnicas histológicas</i> .....	78
3.2.6.1	Histología para caracterización morfométrica de los ovocitos mediante la Técnica de Hematoxilina de Harris y Eosina (H y E) .....	78
3.2.6.2	Histoquímica para la determinación de glicoproteínas, con la técnica de Acido Periódico- Reacción de Schiff (PAS) .....	79
3.2.6.3	Histoquímica para determinar la presencia de lípidos mediante la técnica de Black Sudan B (BSB) .....	79
3.2.7	<i>Indices gonadosomáticos</i> .....	80
3.2.8	<i>Indices Hepatosomáticos</i> .....	81
3.2.9	<i>Análisis estadísticos</i> .....	81

<b>3.3</b>	<b>RESULTADOS</b>	83
3.3.1	<i>Clasificación de las gónadas</i>	83
3.3.2	<i>Estado de la muda</i>	85
3.3.3	<i>Datos morfométricos (LC y PT)</i>	86
3.3.4	<i>Peso del ovario</i>	87
3.3.5	<i>Indices gonadosomáticos</i>	89
3.3.5.1	IGS por estadio gonadal	89
3.3.5.2	IGS mensual	90
3.3.6	<i>Índice Gonadal Relativo (IGR)</i>	92
3.3.7	<i>Color y Peso del Hepatopáncreas</i>	93
3.3.8	<i>Indices Hepatosomáticos (IHS)</i>	97
3.3.8.1	Indices Hepatosomáticos por estadio gonadal	97
3.3.8.2	Indices Hepatosomáticos mensuales	98
3.3.9	<i>Comparación y relación de los IGS e IHS por mes y estadio gonadal</i>	99
3.3.10	<i>Histología gonadal</i>	101
3.3.11	Descripción histológica de las gónadas mediante la técnica de H y E	101
3.3.12	<i>Características histoquímicas de los ovocitos</i>	112
3.3.11.1.	Observación de glicoproteínas	112
3.3.11.2.	Observación de lípidos	113
3.3.11.3.	Comparación de las técnicas de PAS y BSB	113
<b>3.4</b>	<b>DISCUSIONES</b>	115
3.4.1	<i>Caracterización de las gónadas</i>	115
3.4.2	<i>Muda</i>	117
3.4.3	<i>Datos morfométricos</i>	118
3.4.4	<i>Peso ovárico</i>	120
3.4.5	<i>Indices Gonadales</i>	122
3.4.5.1	Índice Gonadosomático (IGS)	122
3.4.5.2	Índice Gonadal Relativo (IGR)	125
3.4.6	<i>Peso hepatopáncreas</i>	125

<b>3.4.7</b>	<b>Indices Hepatosomáticos (IHS)</b>	126
<b>3.4.8</b>	<b>Relación de IGS e IHS</b>	127
<b>3.4.9</b>	<b>Histología Gonadal</b>	128
3.4.9.1	Células foliculares (CF)	128
3.4.9.2	Diámetro de ovocitos	128
3.4.9.3	Diámetro de los núcleos	129
3.4.9.4	Forma de los ovocitos	130
3.4.9.5	Número de nucléolos	130
3.4.9.6	Presencia de vacuola y zona perinuclear	130
3.4.9.7	Espacios citoplasmáticos	131
<b>3.4.10</b>	<b>Técnicas histoquímicas</b>	131
3.4.10.1	Determinación de glicoproteínas por la técnica de PAS	132
3.4.10.2	Determinación de lípidos por la técnica de BSB	133
<b>3.5</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	134
<b>CAPITULO 4.- PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE LA VITELOGENINA PLASMATICA Y VITELINA OVARICA DEL ACOCIL ROJO <i>Procambarus clarkii</i></b>		
<b>4.1</b>	<b>INTRODUCCION</b>	135
<b>4.2</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	135
4.2.1	<i>Recrudescimiento gonadal</i>	135
4.2.2	<i>Vitelogénesis</i>	136
4.2.3	<i>Tipos de vitelo</i>	140
4.2.4	<i>Origen y síntesis de vitelo</i>	142
4.2.5	<i>Factores que influyen en la vitelogénesis de crustáceos</i>	145
4.2.5.1	Factores externos (ambientales)	145
4.2.5.2	Factores internos	147
4.2.5.2.1	Control Endocrino de la Muda y la Reproducción	147
4.2.5.2.2	Hormonas involucradas en el proceso de la Muda	149
4.2.5.2.3	Hormonas involucradas en la Reproducción	151
4.2.5.2.4	Control Hormonal	153
4.2.5.3	Ablación peduncular	157
4.2.6	<i>Técnicas y métodos utilizados en el estudio de la vitelogénesis</i>	157



4.2.6.1	Caracterización y purificación .....	157
4.2.6.2	Cromatografía .....	158
4.2.6.3	Electroforesis .....	158
4.2.6.4	Ultracentrifugación .....	158
<b>4.3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>161</b>
<b>4.3.1</b>	<b><i>Caracterización y purificación de la VTG y VTL</i> .....</b>	<b>161</b>
4.3.1.1	Obtención de hemolinfa .....	162
4.3.1.2	Preparación del extracto de ovario .....	162
4.3.1.3	Ultracentrifugación .....	162
4.3.1.4	Filtración en gel .....	163
4.3.1.5	Cromatografía de intercambio iónico .....	163
4.3.1.6	Determinación de lípidos .....	163
4.3.1.7	Determinación de carotenoides .....	164
4.3.1.8	Determinación de proteínas .....	164
4.3.1.9	Concentración de proteínas .....	164
<b>4.3.2</b>	<b><i>Determinación del peso molecular</i> .....</b>	<b>164</b>
<b>4.4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>165</b>
<b>4.4.1</b>	<b><i>Caracterización y purificación de la VTG y VTL</i> .....</b>	<b>165</b>
4.4.1.1	Ultracentrifugación .....	165
4.4.1.2	Filtración en gel .....	168
4.4.1.3	Intercambio de iones .....	171
<b>4.4.2</b>	<b><i>Determinación del peso molecular</i> .....</b>	<b>172</b>
<b>4.5</b>	<b>DISCUSION .....</b>	<b>176</b>
<b>4.5.1</b>	<b><i>Purificación de la VTG y VTL</i> .....</b>	<b>176</b>
<b>4.5.2</b>	<b><i>Caracterización</i> .....</b>	<b>178</b>
4.5.2.1	Evaluación del peso molecular .....	178
4.5.2.2	Caracterización de la VTG y VTL por sus grupos prostéticos .....	182
4.5.2.3	Caracterización por el rol fisiológico de las moléculas .....	183
4.5.2.4	Corolario .....	185
<b>4.6</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>186</b>
<b>APENDICE 1</b>	<b>.....</b>	<b>187</b>

<b>APENDICE 2</b> .....	188
<b>APENDICE 3</b> .....	189
<b>5.- LITERATURA CITADA</b> .....	190

## INDICE DE TABLAS

### CAPITULO 2.- ANÁLISIS DE LA FECUNDIDAD EN HEMBRAS DE *Procambarus clarkii*

2.1 Comparación interespecífica del porcentaje de pérdida entre el número de ovocitos en el ovario y el número de huevecillos abdominales o juveniles del estadio III (Tomado y modificado de Corey, 1991).....	27
2.2 Producción de ovocitos (Potencial reproductivo) y huevecillos (reproducción realizada) en algunas especies de acociles cambáridos (Tomada y modificada de Huner y Lindqvist, 1991). .....	29
2.3 Estudios recientes sobre el análisis de fecundidad en diferentes especies de crustáceos decápodos, que implican la relación talla y número de huevecillos. ....	31
2.4 Clasificación de los huevecillos de <i>P. clarkii</i> (Tomada de Huner y Barr, 1984). .....	34
2.5 Valores promedio, mínimo y máximo de LC, PT y LT de las hembras utilizadas para el análisis de fecundidad.....	38
2.6 Valores mínimos, máximos y promedio del número de ovocitos por estadio gonadal de las hembras de <i>Procambarus clarkii</i> . ....	40
2.7 Parámetros de la regresión potencial del número de ovocitos (NO) por estadio en función de LC y PT. ....	40
2.8 Tipo de crecimiento relativo de NO en función de LC y PT por estadio gonadal. ....	41
2.9 Prueba de comparación de las pendientes obtenidas en la relación NO vs. PT de los tres estadios gonadales. ....	43
2.10 Prueba de comparación de las pendientes obtenidas en la relación NO vs. LC de los tres estadios gonadales. ....	44
2.11 Valores estimados de NO utilizando las regresiones obtenidas en cada estadio, en función de LC. ....	44
2.12 Valores estimados de NO utilizando las regresiones obtenidas en cada estadio, en función de PT. ....	45
2.13 Comparación de la diferencia porcentual de pérdida (DPP) del NO estimados por estadio gonadal en función de diferentes clases de talla (LC) de las hembras. ....	45

<i>2.14 Valores mínimos, máximos y promedio del número de huevecillos por fase de desarrollo embrionario llevados por hembras de <i>Procambarus clarkii</i>.</i>	46
<i>2.15 Parámetros de la regresión potencial del número de huevecillos (NH) por estadio en función de LC y PT.</i>	47
<i>2.16 Tipo de crecimiento relativo de NH en función de LC y PT por fase de desarrollo embrionario.</i>	48
<i>2.17 Valores estimados de NH utilizando las regresiones obtenidas en cada estadio (HBC, HBL, JUV), en función de LC (mm).</i>	50
<i>2.18 Comparación de la diferencia porcentual de pérdida (DPP) del número de ovocitos (NO) estimados en estadio IV (OIV), con respecto al número de huevecillos (NH) estimados en los estadios HBC y HBL, utilizando la LC (mm) como variable de referencia.</i>	51
<i>2.19 Comparación de la diferencia porcentual de pérdida (DPP) del número de huevecillos (NH) estimados entre los estadios HBC, HBL y JUV, utilizando la LC (mm) como variable de referencia.</i>	51
<i>2.20 Análisis de comparación de las pendientes de regresión de los huevecillos en blástula de campo y blástula de laboratorio con LC.</i>	52
<i>2.21 Análisis de comparación de las pendientes de regresión de los huevecillos en blástula de campo y ovocitos en estadio IV con LC.</i>	53
<i>2.22 Análisis de comparación de las pendientes de regresión de los huevecillos en blástula de laboratorio y ovocitos en estadio IV con LC.</i>	53
<i>2.23 Comparación de las elevaciones de dos pendientes (HBL y HBC), utilizando LC, como variable de referencia.</i>	54
<i>2.24 Comparación de las elevaciones de dos pendientes (HBC y OIV), utilizando LC, como variable de referencia.</i>	55
<i>2.25 Comparación de las elevaciones de dos pendientes (HBL y OIV), utilizando LC, como variable de referencia.</i>	56

**CAPITULO 3.- ESTUDIO HISTOQUÍMICO DEL OVARIO E ÍNDICES SOMÁTICOS INVOLUCRADOS EN EL CICLO DE MADURACIÓN GONADAL DE *Procambarus clarkii***

<i>3.1 Comparación de los diferentes estudios gonadales basados en sus características histoquímicas y desarrollo de ovocitos, de acuerdo a Kulkarni, et al. (1991).</i>	67
--	----



3.2 Antecedentes sobre el uso de técnicas histológicas para el estudio del ciclo gonadal de hembras en diferentes especies de crustáceos. ....	69
3.3 Antecedentes sobre el uso de Índices Gonadosomáticos para estudios de reproducción en crustáceos. ....	72
3.4 Valores de IHS en algunas especies de crustáceos decápodos. ....	75
3.5 Composición del alimento ofrecido a las hembras. ....	77
3.6 Relación del estado de la muda con respecto al estadio gonadal. ....	85
3.7 Datos morfométricos por estadio gonadal de hembras de <i>P. clarkii</i> . ....	86
3.8 Valores del peso ovárico para cada estadio gonadal. ....	88
3.9 Datos del peso del ovario de las hembras recolectadas durante 1998. ....	88
3.10 Valores de Indices Gonadosomáticos por estadio gonadal. ....	90
3.11 Indices Gonadosomáticos por mes de colecta. ....	91
3.12 Ecuaciones y valores de <i>a</i> y <i>b</i> obtenida de la relación <i>W</i> (Peso del ovario) en función de <i>S</i> (Peso de la hembra - Peso del ovario). ....	92
3.13 Análisis de Covarianza de las regresiones de los cuatro estadios gonadales, para calcular el coeficiente de regresión común. ....	92
3.14 Ecuación de $IGR = aW/S^b$ para cada estadio gonadal. ....	93
3.15 Valores de Índice Gonadal Relativo (IGR) por estadio gonadal. ....	93
3.16 Valores del peso del hepatopáncreas (PH) para cada estadio gonadal. ....	94
3.17 Datos del peso del hepatopáncreas (PH) por mes de recolección. ....	95
3.18 Valores de los Índices Hepatosomáticos (IHS) por estadio gonadal. ....	98
3.19 Valores de los Índices Hepatosomáticos por mes de recolección. ....	99
3.20 Valores promedio y desviación estándar de los IGS e IHS por estadio gonadal de las hembras de <i>Procambarus clarkii</i> , colectadas en 1998. ....	100
3.21 Diámetros de los ovocitos por estadio gonadal (en $\mu\text{m}$ ). ....	101
3.22 Diámetro de núcleos por estadio gonadal. ....	105

<i>3.23 Relación núcleo-citoplasma en los diferentes estadios gonadales.</i>	106
<i>3.24 Comparación de las formas de los ovocitos para cada estadio gonadal.</i>	106
<i>3.25 Comparación del número de nucleolos por estadio gonadal.</i>	108
<i>3.26 Presencia de zona perinuclear y vacuola por estadio gonadal.</i>	109
<i>3.27 Comparación de las principales características histológicas de los ovocitos por estadio gonadal.</i>	112
<i>3.28 Reacciones histoquímicas para cada estadio gonadal.</i>	114

**CAPITULO 4.- PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA VITELOGENINA PLASMÁTICA Y VITELINA OVÁRICA DEL ACOCIL ROJO *Procambarus clarkii***

<i>4.1 Estimaciones del peso molecular de las subunidades de VTL, en diferentes especies de crustáceo.</i>	142
<i>4.2 Síntesis de la VTL y VTG, en diferentes especies de crustáceos.</i>	145
<i>4.3 Técnicas empleadas para la purificación y caracterización de la VTL y la VTG en diferentes especies de crustáceos.</i>	159
<i>4.4 Valores utilizados en el análisis de regresión lineal.</i>	172

## INDICE DE FIGURAS

### CAPITULO 2.- ANÁLISIS DE LA FECUNDIDAD EN HEMBRAS DE *Procambarus clarkii*

2.1 Relación morfométrica de las hembras utilizando LC, LT y PT. ....	39
2.2 Relación del número de ovocitos (NO) en función de LC. a) Estadio II, b) Estadio III, c) Estadio IV. ....	42
2.3 Relación del número de ovocitos (NO) en función de PT. a) Estadio II, b) Estadio III, c) Estadio IV. ....	42
2.4 Relación del número de huevecillos (NH) en función de LC. a) blástula, b) juveniles, c) blástula (laboratorio). ....	49
2.5 Relación del número de huevecillos (NH) en función de PT. a) blástula, b) juveniles, c) blástula (laboratorio). ....	49

### CAPITULO 3.- ESTUDIO HISTOQUÍMICO DEL OVARIO E ÍNDICES SOMÁTICOS INVOLUCRADOS EN EL CICLO DE MADURACIÓN GONADAL DE *Procambarus clarkii*

3.1 Estructuras gonadales de <i>Procambarus clarkii</i> . A) Hembra y B) Macho (Tomado de Arrignon, J., 1979). ....	65
3.2 Diagrama de flujo del diseño experimental. ....	82
3.3 Ovarios de <i>Procambarus clarkii</i> en diferentes estadios gonadales; a) estadio I, b) estadio II, c) estadio III y d) estadio IV. ....	83
3.4 Escala cromática. ....	84
3.5 Margen del urópodo que representa las características de un espécimen en estadio D (las flechas indican la presencia de nuevas setas). ....	85
3.6 Relación de PT y LC de las hembras colectadas en 1998. ....	87
3.7 Relación de POV y PT de las hembras colectadas en 1998. ....	89
3.8 Índices Gonadosomáticos por estadio gonadal. ....	90
3.9 Comparación mensual de Índices Gonadosomáticos. ....	91
3.10 Relación de PH y PT de las hembras colectadas en 1998. ....	96

<b>3.11 Relación del POV y PH de las hembras colectadas en 1998.</b> .....	97
<b>3.12 Índices Hepatosomáticos por estadio gonadal.</b> .....	98
<b>3.13 Índices Gonadosomáticos (IGS) en azul e Índices Hepatosomáticos (IHS) en rojo para hembras colectadas en 1998.</b> .....	100
<b>3.14 Comparación del diámetro de los ovocitos por estadio gonadal.</b> .....	102
<b>3.15 Cortes transversales (10 X) de ovario en estadio I donde se puede observar el Núcleo (N) y Tejido Ovárico (TO) (Hematoxilina de Harris y Eosina).</b> .....	102
<b>3.16 Corte transversal de ovario, a) Estadio II (4.1X) - La flecha indica las células foliculares (Cf) alrededor del ovocito (barra de calibración = 129.65 <math>\mu</math>m); b) Estadio III (10X).- ovocito con vacuola (V), característica distintiva de este estadio (Barra de calibración = 52.6402 <math>\mu</math>m), (Hematoxilina de Harris y Eosina).</b> .....	103
<b>3.17 Corte de ovario (10 X) en Estadio IV: Se observan los nucleolos (Nc), algunas gotas de vitelo (V) y presencia de espacios blancos (Eb) intracelulares como característica de una reabsorción del ovario (Hematoxilina de Harris y Eosina). Barra de calibración = 60.8511 <math>\mu</math>m.</b> .....	104
<b>3.18 Comparación del diámetro del núcleo por estadio gonadal.</b> .....	105
<b>3.19 Formas de los ovocitos por estadio gonadal.</b> .....	107
<b>3.20 Cortes de ovario (10 X) con diferentes formas de ovocitos que se presentan en diversos estadios. a) ovoide, b) semiesférico, c) rectangular y d) cuadrado. (a, Acido Periódico-Reacción de Schiff; b, c y d Hematoxilina de Harris y Eosina).</b> .....	107
<b>3.21 Número de nucléolos por estadio gonadal.</b> .....	108
<b>3.22 Presencia de zona perinuclear y vacuola en los diferentes estadios gonadales.</b> .....	109
<b>3.23 Cortes de ovario (10 X) en estadio III. Presencia de vacuolas, distintivo de este estadio (Hematoxilina de Harris y Eosina). Barra de calibración = 52.6402.</b> .....	110
<b>3.24 a) Corte de ovario en estadio III (10 X, Acido Periódico-reacción de Schiff); b) Ampliación de la zona perinuclear (Zp) (40 X), (Acido Periódico-Reacción de Schiff). Barra de calibración = 52.6402.</b> .....	110
<b>3.25 Corte de ovario en estadio IV donde se pueden observar una gran cantidad de espacios. a) 40X; b) 10X (Acido Periódico-Reacción de Schiff).</b> .....	111

<b>3.26</b> <i>Cortes de ovario (10 X) con reacción positiva al Acido Periódico- Reacción de Schiff. Gránulos de glicoproteínas indicado por flechas; a) Estadio III, Barra de calibración = 52.6402; b) Estadio IV, Barra de calibración = 60.8511; (Acido Periódico- Reacción de Schiff).</i> .....	113
---	-----

**CAPITULO 4.- PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA VITELOGENINA PLASMÁTICA Y VITELINA OVÁRICA DEL ACOCIL ROJO *Procambarus clarkii***

<b>4.1</b> <i>Diagrama esquemático del control hormonal (Tomado de Mendoza, 1992).</i> .....	156
<b>4.2</b> <i>Diagrama de flujo para la purificación de la VTG y de la VTL.</i> .....	161
<b>4.3</b> <i>Representación de las fases obtenidas de la ultracentrifugación (120,000 g X 24h) de extracto de ovario maduro.</i> .....	166
<b>4.4</b> <i>Barrido longitudes de onda de 300-700 nm de la fase Eov5, observándose un pico a una absorbancia de 466 nm.</i> .....	167
<b>4.5</b> <i>Concentración de proteína en las fases de la centrifugación de ovario maduro.</i> .....	168
<b>4.6</b> <i>Fracciones proteicas del extracto de ovario maduro a 280 nm (azul) después de filtración en Sephacryl 300, absorbancia a 466 nm (rojo) y reacción positiva de las fracciones con Negro Sudan (•).</i> .....	169
<b>4.7</b> <i>Comparación de las fracciones del extracto de ovario maduro (azul), hemolinfa de hembra madura (rojo) y fase Eov5 (verde) en Sephacryl 300 a 280 nm.</i> .....	170
<b>4.8</b> <i>Fracciones de extractos de ovario maduro (azul), ovario impúber (rojo) y extracto de testículo (verde) en Sephacryl 300.</i> .....	170
<b>4.9</b> <i>Fracciones de pool de ovario maduro (EOv5) después de someterlos a cromatografía de intercambio iónico (DEAE-Sephacel) (.). Gradiente lineal de 1M en buffer TRIS-HCL a un flujo de 1 ml/min.</i> .....	171
<b>4.10</b> <i>Estimación del logaritmo del peso molecular de proteínas, mediante el análisis de regresión lineal del Kav y LogMW.</i> .....	173
<b>4.11</b> <i>Determinación de los radios de stokes de la VTL y VTG.</i> .....	174
<b>4.12</b> <i>Determinación del peso molecular de la VTL y VTG mediante los radios de stokes.</i> .....	175

## RESUMEN

Se estudió aspectos de la biología y fisiología del acocil rojo *Procambarus clarkii*, especie exótica en el norte de México. Esta especie es de gran interés en la acuacultura de varios países del mundo. Sin embargo, en México no ha sido un recurso atractivo para su explotación, a pesar de que pudo haber sido introducida para estos fines. Los especímenes fueron recolectados en el Río San Juan, Santiago, Nuevo León. La producción de ovocitos (Potencial reproductivo) no presentó diferencias significativas por estadio gonadal, y el máximo valor fue de 1,038 ovocitos. La reproducción realizada (Número de huevecillos adheridos) presentó un valor máximo de 719 huevecillos, existiendo diferencias en el número de huevecillos producidos por las hembras grávidas recolectadas en campo y las mantenidas en el laboratorio. El porcentaje de pérdida de fecundidad que ocurrió de ovocitos maduros a huevecillos recién liberados, para hembras obtenidas en campo y las mantenidas en laboratorio, fue de 34.51 y 38.59%, respectivamente. Se determinó las características morfológicas e histológicas de los ovocitos de cada estadio gonadal. Los índices gonadales fueron significativamente diferentes entre cada estadio, con sus valores máximos en el estadio IV. Por otra parte, el índice hepatosomático fue significativamente diferente en el estadio III, con respecto a los otros tres estadios. Mediante técnicas de cromatografía, como filtración en gel e intercambio iónico se estimó el peso molecular de la vitelina (VTL) y la vitelogenina (VTG), con valores de 512.6 y 521.8 kDa, respectivamente. Ambos tipos de vitelo fueron característicos de ovarios considerados maduros de acuerdo a sus características morfológicas e histológicas. La VTL y VTG, presentaron valores cercanos al peso molecular estimado de la VTL de hembras del género *Procambarus*, que fue de 500 kDa.