

CAPITULO I.- INTRODUCCION GENERAL

1.1.- INTRODUCCION

En el continente Americano se han descrito 406 especies de acociles (Hobbs Jr., 1989; Crandall, 1999). Gran parte de esta biodiversidad corresponde al género *Procambarus*, con 16 subgéneros y 156 especies, que se distribuyen principalmente en el Sureste de los Estados Unidos, incluyendo los estados de Texas, Louisiana, Missouri, Illinois, Nuevo México y Oklahoma y la vertiente del Golfo de México y Cuba (Hobbs Jr., 1984).

En México, habitan 57 especies de acociles (Hobbs Jr., 1989; Villalobos-Hiriart *et al.*, 1993), más una nueva especie de *Procambarus* (*P. citlaltepelti*) descrita por Rojas *et al.* (1999), para el estado de Veracruz. Las especies mexicanas son consideradas de afinidad neártica (Villalobos-Hiriart *et al.*, 1993), y se localizan principalmente en la vertiente del Golfo de México, pero algunas especies son habitantes de ambientes dulceacuícolas del occidente de México (Hobbs Jr., 1984,1989; Villalobos-Figueroa,1982). La mayor parte de esta biodiversidad corresponde al género *Procambarus* (49 especies) y solamente se conocen 9 especies del género *Cambarellus* (Hobbs Jr., 1989). Se ha documentado la existencia de tres especies consideradas exóticas para México, *P. clarkii*, *Orconectes virilis* y *Cherax quadricarinatus* (Campos y Contreras-Balderas, 1985; Hobbs Jr., 1962; Rodríguez-Almaraz y Campos, 1994; Rodríguez-Almaraz y Mendoza-Alfaro, 1999).

El acocil *Procambarus clarkii*, como la mayor parte de las especies de este género, habita en medios lóticos y lénticos de agua dulce, tanto permanentes como temporales (Huner y Barr, 1984) y se ha adaptado a diferentes formas de vida, tales como: túneles que perforan bajo la tierra húmeda, bajo piedras con vegetación y también en las raíces de árboles riparios (Villalobos-Figueroa, 1955; Huner, 1976 Hobbs Jr., 1989; Campos y Rodríguez-Almaraz, 1992). Debido a la abundancia de las especies de acociles en los cuerpos de agua dulce se han considerado como la principal fauna macrobentónica, tanto por su aportación de biomasa a los ecosistemas, así como por la gran diversidad biológica que estos

representan (Momot, 1978; Momot, 1984; Hobbs III *et al.*, 1989). Esta especie es tolerante a las variaciones fisicoquímicas de los ecosistemas acuáticos, e inclusive a las sequías, para lo cual utilizan madrigueras (Hobbs Jr., 1984).

El interés particular que tiene *P. clarkii*, se refleja en su importancia dentro del contexto de la acuicultura y en las pesquerías, actividades que se efectúan en diversas partes del mundo, pero con un particular desarrollo y arraigo en el estado de Louisiana, Estados Unidos de America (Huner y Barr, 1984), no obstante, esta actividad se ha venido fomentando en diferentes partes del mundo, principalmente por su alta calidad proteica (Huner y Lindqvist, 1991).

La biología y ecología de *P. clarkii* es conocida principalmente en base a los estudios de las poblaciones del estado de Louisiana, en donde se utilizan grandes extensiones de terreno para su cultivo, lo que permite generar rendimientos de 500 a 4,497 kg/ha. Estos rangos de producción dependen del tipo de estanques, la estación del año, la disponibilidad de alimento, la presencia o ausencia de depredadores y de los factores fisicoquímicos (Chien y Avault, 1980; Chien y Avault, 1983; Huner y Avault, 1976a; Huner, 1978a; Huner, 1978b; Romaine y Lutz, 1989; Romaine, 2000). Independientemente de estas variables, la producción obtenida representa ganancias de hasta de 70 millones de dólares/año (Momot y Romaine, 1981; Culley *et al.*, 1985; Brankston *et al.*, 1988).

El éxito del acocil rojo es atribuible a varias características biológicas inherentes a la especie, entre las que se cuentan su voracidad y su eficiencia reproductiva. En efecto, esta especie se reproduce todo el año, presentando una frecuencia de copulas a finales de mayo y principio de junio (La Caze, 1976; Huner y Barr, 1984). La época de desove generalmente empieza en agosto y termina en octubre, sin embargo se han registrado desoves esporádicos en noviembre y diciembre (Dendy, 1978).

El panorama internacional nos muestra lo atractivo que resulta el acocil rojo, y es una de las razones que ha justificado no solo su producción, sino también el uso de especies de acociles exóticos. Nuestro país no puede ser la excepción, ya que hay planes ambiciosos para la producción de langosta de uña roja *Cherax quadricarinatus* y el propio acocil rojo *P. clarkii*, cuyo consumo es aún

limitado (Rodríguez-Almaraz y Mendoza-Alfaro, 1999), a pesar de que la expansión de esta última especie alcanza numerosos ambientes del norte de México.

A pesar de la importancia de *P. clarkii* en la industria acuacultural de los Estados Unidos de América, muy pocos estudios han sido desarrollados para entender la fisiología reproductiva de esta especie y su eventual control de reproducción (Daniels *et al.*, 1994). Por lo tanto resulta imperativo que para el aprovechamiento de *P. clarkii* y otras especies nativas de México, se analicen los aspectos fundamentales de su fisiología reproductiva, así como los principales parámetros biológicos, particularmente aquellos relativos a la reproducción y crecimiento, debido a su repercusión sobre la estructura y dinámica de sus poblaciones. Por lo anterior, este estudio tiene como metas principales caracterizar la biología y fisiología reproductiva, en particular del ciclo tipo de la vitelogénesis secundaria de una población de *P. clarkii* del estado de Nuevo León, así como los cambios temporales de la composición de sexos de su estructura poblacional.

Sobre este último aspecto, cabe mencionar que previamente a este estudio, se han venido realizando diversos esfuerzos encaminados a elucidar diferentes aspectos sobre la biología reproductiva de la población antes mencionada (Abdo de la Parra, 1991; Tobías-Chavana, 1991; González Aguilar, 1995).

1.2.- OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general de este estudio:

Estudiar y describir el ciclo de maduración sexual y en particular el de la vitelogénesis secundaria y otros aspectos implicados en las características fisiológicas y estructurales relativas a la reproducción del acocil rojo *P. clarkii*.

1.2.2. Objetivos particulares de cada capítulo:

- a) Establecer las tallas de madurez sexual
- b) Analizar la fecundidad de hembras de esta especie, comparando el Potencial Reproductivo, Reproducción Realizada y Reproducción Actual,

tanto de especímenes obtenidos en campo y aquellos mantenidos en laboratorio

- c) Determinar los índices gonadosomáticos (IGS) e índices hepatosomáticos (IHS) mensuales y por estadio de madurez ovárica
- d) Describir y caracterizar histoquímicamente los diferentes estadios de madurez de las gónadas
- e) Probar diferentes aproximaciones para llevar a cabo la purificación de la vitelogenina plasmática (VTG) y vitelina ovárica.
- f) Caracterizar dichas moléculas en función de su peso molecular, presencia de grupos prostéticos, y el rol fisiológico en hembras maduras.
- g) Relación de los niveles de VTG y VTL con otros índices reproductivos (GSI, IHS) y características histológicas de los ovocitos.

1.3. HIPOTESIS

La fecundidad (Producción de ovocitos y huevecillos) de las hembras estará en función de su talla y estado de desarrollo de la gónada o de los huevos liberados.

Se podrá diferenciar y establecer los diferentes estadios de maduración gonádica de las hembras utilizando técnicas histoquímicas.

Los valores del Índice Gonadosomático e Índice Hepatosomático estarán en función del estado de madurez ovárica y temporada de muestreo.

Mediante la utilización de diferentes técnicas bioquímicas será posible aislar y purificar la VTG y VTL en hembras maduras, a partir de muestras de hemolinfa y extractos de ovario, respectivamente. Y en base a las características estructurales de estas moléculas se podrá determinar su rol fisiológico.

1.4.- ANTECEDENTES GENERALES

1.4.1. DISTRIBUCIÓN DE *Procambarus clarkii*

El acocil rojo *Procambarus clarkii* en los Estados Unidos de América es nativo en los estados de Texas, Alabama, Louisiana, Mississippi, Florida, Arkansas, Tennessee, Missouri, Illinois, Nuevo México, Oklahoma). Sin embargo, hasta el momento ha sido introducido en Arizona, Nevada, California, Oregon, Maryland, Carolina del Norte y del Sur, Virginia, Georgia, Indiana y Ohio. Igualmente, existen poblaciones establecidas en otras regiones del continente americano, como Belice, Costa Rica, República Dominicana, Brasil, Nicaragua, Guatemala, Venezuela, Colombia y Ecuador. Así mismo, se ha introducido en países europeos como España, Francia, Gran Bretaña y Portugal. En Asia se le ha localizado en China, Taiwan, Hawaii y Japón, mientras que en el continente Africano esta especie se introdujo en Kenia, Uganda, Zambia, Zimbawe y Uganda (Huner y Barr, 1984; Hobbs III *et al.*, 1989; Campos y Rodríguez-Almaraz, 1992).

En México, *P. clarkii* se encuentra en todos los estados del norte, pero en algunas regiones de Nuevo León, Chihuahua y Coahuila es considerado como residente natural y se ha introducido en el Centro-Este de Tamaulipas, Sonora, Centro de Nuevo León, Baja California y en la cuenca del río Colorado dentro de la vertiente del Pacífico (Hobbs Jr., 1962; Hobbs Jr., 1976; Hobbs Jr., 1984; Hobbs Jr., 1989; Hobbs III, *et al.*, 1989; Campos y Rodríguez-Almaraz, 1992; Rodríguez-Almaraz y Campos, 1994).

La introducción del acocil rojo *P. clarkii* ha ocasionado un impacto ecológico de magnitudes considerables en los diversos ecosistemas acuáticos donde reside (Hobbs Jr., *et al.*, 1989). Dentro del contexto regional, la especie exótica *P. clarkii* ha originado un gran impacto ecológico, particularmente en el centro del estado de Nuevo León, ya que ha venido desplazando a la especie nativa *Procambarus regiomontanus*, por lo que sus poblaciones se han visto mermadas, hasta el grado en que actualmente la especie nativa está considerada como una especie en peligro de extinción (Rodríguez-Almaraz y Campos, 1994).

1.4.2. ESTADO ACTUAL DE LAS ESPECIES NATIVAS

La mayoría de las especies nativas de México solo son conocidas en su localidad tipo y áreas circunvecinas, y desde su hallazgo y descripción, han sido pocos los estudios de tipo bioecológico realizados con esta fauna, (e.g. Campos-González, 1982; Rodríguez-Almaraz y Campos, 1994; Rojas, 1999, Rodríguez-Virgen, 1999). Ante este desconocimiento parcial, se corre el riesgo que algunas especies lleguen a desaparecer y no se pueda obtener información bioecológica de estas. Ejemplo de lo anterior, son los siguientes casos, *Cambarellus areolatus*, especie endémica de Coahuila, que desde su descripción no ha sido observada o recolectada en su localidad tipo (Contreras-Balderas, *comunicación personal*). Al menos en el noreste de México, una especie esta en peligro (*P. regiomontanus*), que es una consecuencia de la alteración y modificación de su hábitat; y probablemente por la introducción y migración de *P. clarkii* en el centro de Nuevo León. *Cambarellus alvarezi* fue considerada una especie amenazada (Rodríguez-Almaraz y Campos, 1994), sin embargo, mas tarde se declaró extinta y solo era conocida para el ejido el Potosí, Galeana, Nuevo León (Contreras-Balderas y Lozano-Vilano, 1996).

En contraste, adicionalmente a la nueva especie de *Procambarus* de Veracruz (Rojas *et al.*, 1999); se han descubierto dos nuevas especies para el noreste de México, cada una perteneciente a *Procambarus* y *Cambarellus* que están siendo descritas (Observaciones personales). Así mismo, Rodríguez-Virgen (1999), menciona que una población de *P. bouvieri* de Uruapan, Michoacán, ha sufrido una notable reducción por la captura hecha por el hombre.

1.4.3. ECOLOGÍA E IMPACTO DE LOS ACOILES EN LOS ECOSISTEMAS

1.4.3.1. Hábitat

Los acociles, algunas especies de langostinos y cangrejos braquiuros (e.g. pseudotelefúsid) son habitantes bentónicos de ecosistemas de agua dulce, tanto en ríos, arroyos, canales de riego, lagos, presas e incluyendo los ambientes

temporales y cuerpos de agua de cavernas (Villalobos-Figueroa, 1955; Huner, 1997).

La mayoría de los acociles son de hábitos nocturnos, y en este momento es cuando deambulan para su reproducción y búsqueda de alimento, mientras que durante el día, se ocultan en sus madrigueras o cualquier refugio disponible (Villalobos-Figueroa, 1955; Huner y Barr 1984).

Algunas especies de acociles, como *P. clarkii*, están adaptadas para vivir en áreas que son alternadamente inundadas y secas, esto permite el crecimiento de vegetación que sirve de alimento y refugio (Huner y Barr, 1984). Además, se pueden localizar entre detritos, piedras, raíces de árboles riparios y madrigueras (Rodríguez-Almaraz y Campos, 1994; Hobbs Jr., 1989; Villalobos-Figueroa, 1955).

1.4.3.2. Madrigueras

Los acociles construyen estructuras simples o complejas denominadas madrigueras, de acuerdo a su uso y función, los cambáridos son clasificados como enmadrigadores primarios, secundarios y terciarios (Hobbs Jr., 1942; Huner y Barr, 1984).

Los enmadrigadores primarios.- Construyen madrigueras muy complejas (Huner y Barr, 1984) y están restringidos a este hábitat (Hobbs Jr., 1942) en donde pasan casi toda su vida dentro de ella y ocasionalmente salen a la superficie para copular, alimentarse o buscar nuevos territorios.

Los enmadrigadores secundarios.- Ocupan generalmente madrigueras que son simples y verticales, pero frecuentemente salen a aguas abiertas cuando las entradas de las madrigueras están inundadas.

Los enmadrigadores terciarios.- Viven exclusivamente en las madrigueras en épocas de sequía o en invierno, ocasionalmente, pero no necesariamente, las ocupan en épocas de reproducción (Huner y Barr, 1984; Hobbs Jr., 1989). Existe un grado de complejidad en la estructura de este tipo de madriguera, dependiendo si el hábitat es temporal o permanente. (Huner y Barr, 1984; Huner, 1990).

El acocil rojo *P. clarkii* (enmadrigador terciario) construye diferentes tipos de

madrigueras (Huner y Barr, 1984), igualmente, se ha observado a especímenes de esta especie *protegiéndose bajo piedras que presentan restos de humedad en el cauce de arroyos o ríos secos, durante los meses más cálidos (Junio-Agosto) en la parte central de Nuevo León (observaciones personales).*

1.4.3.3. Hábitos alimenticios y papel politrófico

El comportamiento alimenticio en el acocil rojo, se manifiesta porque es atraído por el alimento animal o artificial mediante el receptores de distancia (telereceptores), posteriormente, agitan las maxilas y maxilípedos vigorosamente para crear corrientes que conducen el alimento hacia los órganos sensoriales en la región anterior del cuerpo, de esta manera lo reconocen físicamente y puede ser consumido (Huner y Barr, 1984).

Los acociles son considerados politróficos, pero el grueso de su dieta consiste de detritos de plantas, siguiendo en orden de importancia las plantas y animales vivos (Miltner y Avault, Jr. 1981; Davis, 1983; Huner y Barr, 1984; Huner, 1990). El detrito es colonizado por organismos unicelulares descomponedores y epifíticos, el valor nutricional de este material está dado por esta colonización. Aunque los animales representan la menor contribución a la dieta, éstos proveen compuestos orgánicos esenciales, como colesterol y proteínas (Huner y Barr, 1984). Sin embargo, estudios previos sugieren que el material animal es más importante en la dieta de acociles juveniles que en los adultos (Huner, 1990). A este respecto, Hobbs III (1993), recopiló los estudios sobre las relaciones tróficas de acociles y langostinos de Norteamérica, que incluyen datos de ingestión de material vegetal y detritos, además de los principales macro y microinvertebrados que son ingeridos por estos crustáceos. Así mismo, menciona las diferentes especies de peces, anfibios, reptiles, aves o mamíferos que son depredadoras de los acociles.

Así de manera general los resultados de diversos estudios efectuados por ecólogos y acuacultores arrojan que los acociles son principalmente detritívoros-herbívoros, debido a la presencia a la presencia de material vegetal y los productos de su descomposición en sus estómagos, rechazando prácticamente la

ingestión de material fácilmente digerible como son los metazoarios de cuerpo suave. En contraste con esta premisa, Momot (1995), realizó estudios comparativos, donde analizó el papel de los acociles en los ecosistemas acuáticos, y los resultados demostraron que los acociles no son omnívoros indiscriminantes sino que presentan una predilección por la proteína animal, y que durante la búsqueda de alimento, ellos ingieren grandes cantidades de material herbáceo y detritos, ya que entre este material son localizadas las presas, de hecho, este grupo de animales se encuentra entre los principales carnívoros de ríos y lagos, pero la fuente de proteína animal puede estar limitada por diversos factores, por lo que los acociles tienen la capacidad de ingerir material herbáceo o detritos, convirtiéndose en herbívoros facultativos si la materia animal es ausente o carente.

1.4.3.4. Cambios o modificación del hábitat por la presencia de acociles

Numerosos estudios señalan que la materia vegetal favorece la producción de acociles en áreas naturales y de cultivo. El uso de pastos silvestres y otras plantas terrestres, incluyendo el arroz, son cultivadas o se permite que crezcan dentro de los estanques de cultivo para la formación de detritos (Huner y Barr, 1984; Huner, 1990). En áreas naturales el material vegetal alóctono y las macrofitas contribuyen en la producción y refugio de los acociles. Tanto la disminución de la vegetación natural que sirve de alimento, como la pobre calidad del agua, son dos de los principales problemas en el cultivo de acociles en Louisiana (Miltner y Avault Jr., 1981)

Por otra parte, se ha sugerido que los acociles juegan un papel importante en la estructura de las macrofitas y las comunidades de invertebrados que se refugian entre ellas. (Lodge y Lorman, 1987). En efecto, las comunidades de macrofitas son reducidas o eliminadas durante la actividad forrajera o búsqueda de presas por parte de los acociles (Momot, 1995). Por ejemplo, Lodge *et al.* (1994), mencionan que el acocil *O. rusticus* ejerce un efecto significativo en la reducción de las macrofitas, lo cual trae como consecuencia repercusión en el microhábitat, ya que estas plantas sirven como substrato para el crecimiento de

perifitón y refugio de muchos macroinvertebrados.

A este respecto, se ha reportado que las plantas acuáticas como *Elodea* (*Egeria densa*) y la planta Lagarto (*Althemanthera philoxeroides*) resultan adecuadas para incrementar la superficie del substrato y son a su vez una fuente de alimento para los acociles (Nelson y Dendy, 1979).

En el mismo sentido, Hill y Lodge (1995), señalan que los acociles afectan directamente a más de un nivel trófico (detritívoro, macroinvertebrados, herbívoros y macrofitas). Sin embargo, la actividad forrajera de los acociles podría controlarse a través de la biomanipulación, como sería en el caso de la introducción de peces depredadores de invertebrados, que contribuyen con este comportamiento alimenticio, en el crecimiento y abundancia de las macrofitas. Igualmente, Charbelois y Lamberti (1996), mencionan que algunos acociles, como *Orconectes rusticus*, afectan directa e indirectamente el bentos de un ambiente lótico, ocasionando un efecto de cascada trófica, ya que tienen un efecto multitrófico en las redes alimenticias de los arroyos, donde esta especie habita.

1.4.3.5. Calidad del agua en ambientes naturales y de cultivo

La alcalinidad, dureza, oxígeno, pH, salinidad y temperatura, se encuentran entre los principales parámetros fisicoquímicos que deben ser considerados durante el manejo de poblaciones naturales y de cultivo de acociles (Huner y Barr, 1984; Huner 1990). Así mismo, ha sido señalado que el incremento en la dureza del agua aumenta el promedio de peso ganado y supervivencia del acocil rojo (*P. clarkii*) (de la Bretonne et al., 1969; de la Bretonne Jr., y Avault Jr., 1971). Por otra parte, la reducción de oxígeno representa un gran problema para el cultivo de acociles de Louisiana, ya que valores menores de 3 ppm causan estrés, reducción en el crecimiento y mortalidad (Avault Jr. et al., 1974; Romaine, 1986; Culley y Duobinis-Gray, 1987).

La resistencia a los cambios en estos parámetros es en función de la especie. Así por ejemplo, el acocil australiano *Cherax destructor* es más tolerante a las bajas de oxígeno que *Cherax tenuimanus*, esta última especie trata de escapar de su hábitat buscando oxígeno atmosférico, como ocurre en otras

especies de acociles (Huner, 1986). Otro caso es el del acocil europeo *Astacus astacus* que puede tolerar concentraciones de oxígeno disuelto de 2 ppm durante el invierno en lagos de Finlandia (Avault Jr., 1976).

En lo que concierne al género *Procambarus*, de acuerdo a Romaine (1986) y Huner (1990), mencionan que los principales parámetros fisicoquímicos y sus respectivos rangos, que deben ser considerados durante el cultivo de los acociles *P. clarkii* y *P. zonangulus*:

Temperatura: 21-25 °C

O₂: >3 ppm

pH: 6.5-8.5.

Dureza (CaCO₃): 50-400 ppm

Alcalinidad 50 - 400 ppm

Salinidad (agua dulce): 10-15 ppm

Toxicidad: amplia a diferentes pesticidas, los insecticidas resultan más tóxicos que los herbicidas y fungicidas.

1.4.4.- BIOLOGIA REPRODUCTIVA

1.4.4.1. Dimorfismo sexual

Los acociles cambáridos tienen un ciclo de vida distintivo que involucra una alternancia morfológica entre formas sexualmente activas e inactivas. La forma activa es nombrada como forma I, pero una vez que los adultos mudan nuevamente se transforman a una forma II, sin embargo, esta forma no puede ser distinguida de la forma inmadura (Huner,1990). El dimorfismo sexual en los acociles queda de manifiesto en la mayor talla de machos adultos en comparación con las hembras, además sus quelas son más largas y gruesas (Hobbs Jr. y Marchand, 1943; Huner y Barr, 1984; Huner y Lindqvist, 1991). La diferenciación sexual en *Procambarus*, es reconocida en las hembras por la presencia de los gonoporos en los coxopoditos del tercer par de pereiópodos y la existencia de una abertura en forma de herradura entre el 4° y 5° par de apéndices torácicos llamado *annulus ventralis*, en donde el macho deposita el espermátóforo. En el caso de los machos esta diferenciación morfológica se distingue por el desarrollo

de las quelas y la ornamentación y dureza de los pleópodos I (gonópodos) Hobbs Jr. (1989). Los gonoporos se ubican entre el 5º par de pereiópodos y sus primeros pleópodos están modificados para realizar la cópula; en *Procambarus clarkii* se presentan adicionalmente unos procesos a manera de ganchos en el izquierdo del 3º y 4º par de pereiópodos (Hobbs Jr. y Marchand, 1943; Huner y Barr, 1984). En la Fig. 1.1 se presentan dichos caracteres dimórficos de acuerdo a Huner y Barr (1984).

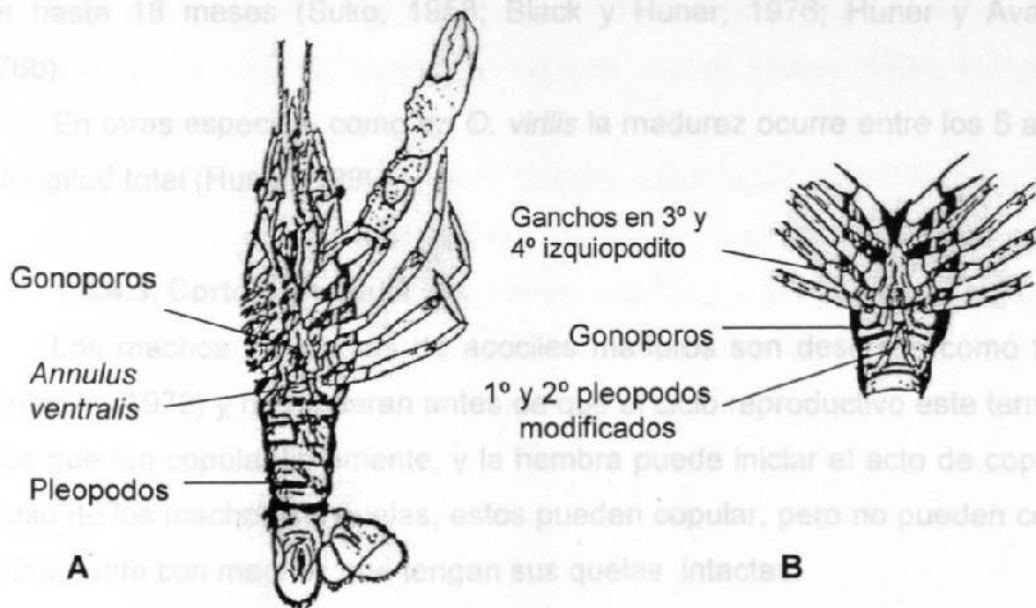


Fig. 1.1.- Dimorfismo sexual de *Procambarus clarkii* en base a caracteres externos, A) Hembra y B) Macho. (Tomado de Huner y Barr, 1984).

1.4.4.2. Maduración sexual

La talla a la cual llegan a su madurez sexual los acociles depende de la especie (existen variaciones interespecíficas e intraespecíficas), potencial genético de crecimiento y condiciones ambientales (Huner y Romaine, 1978; Momot, 1984; Lutz y Wolters, 1986). Sin embargo, se considera que la densidad de organismos es más importante que el factor genético en la determinación de la talla de madurez (Huner *et al.*, 1994). La talla promedio de madurez en los acociles es una buena indicación del crecimiento potencial de estos en un hábitat específico (Huner, ----). En las especies de *Procambarus* la talla de madurez varía

de 45 a 125 mm de longitud total, en particular, las hembras de *P. clarkii* pueden alcanzar su madurez desde los 50 mm, alcanzando tallas entre los 89 a 108 mm de longitud total (Huner y Barr, 1984; Huner, 1990; Corey, 1987a; Huner y Lindqvist, 1991; Aiken y Waddy, 1992). Estos cambáridos maduran en un amplio rango de talla, por lo que la talla no es un criterio adecuado para identificar a los acociles de forma II (Huner *et al.*, 1994). Esta especie alcanza su madurez sexual normalmente en 6 a 8 semanas, pero puede prolongarse hasta 6 meses y pueden vivir hasta 18 meses (Suko, 1958; Black y Huner, 1976; Huner y Avault Jr., 1976b).

En otras especies, como en *O. virilis* la madurez ocurre entre los 5 a 11 cm de longitud total (Huner, 1990).

1.4.4.3. Cortejo y cópula

Los machos y hembras de acociles maduros son descritos como forma I (Hobbs Jr., 1972) y no mudaran antes de que el ciclo reproductivo este terminado. Estos pueden copular libremente, y la hembra puede iniciar el acto de copula. En el caso de los machos sin quelas, estos pueden copular, pero no pueden competir exitosamente con machos que tengan sus quelas intactas.

Los acociles exhiben un comportamiento copulatorio distintivo (Huner y Barr, 1984; Huner, 1990). Este comportamiento se resume en encuentros de ambos sexos, previo a un reconocimiento químico y visual, que inicia con peleas entre ambos sexos, utilizando sus quelípedos, hasta que el macho sostiene firmemente a las hembras con estos apéndices, postrando a la hembra con su dorso en el substrato. Posteriormente el macho usa sus pléopodos modificados en gonópodos para dar inicio a la cópula, esta puede durar de unos cuantos minutos hasta una hora y media. Finalmente, los machos transfieren con gonopodos erectos un espermatóforo en un receptáculo seminal (*annulus ventralis*) de las hembras. El esperma queda almacenado, por un período que se puede extender hasta 8 meses, hasta que ocurre la ovulación, debido a que la fertilización es externa. (Huner y Barr, 1984).

El comportamiento reproductivo en los machos depende de su estado de

desarrollo, en el caso de *Procambarus clarkii* se presentan dos formas de acuerdo a esta característica. Una vez que los machos han alcanzado un desarrollo en el que se observa la presencia de ganchos en los pereiópodos, los gonopodios y quelas alargadas se dice que son forma I (sexualmente activos); posteriormente a la forma I se presenta una muda en la que se observa una apariencia de "juvenil", entonces se dice que han llegado a la forma II (inactivos sexualmente). Normalmente en una siguiente muda estos retornaran a la fase I (estado activo). Es común que los cambáridos alteren las formas activas y de apariencia juvenil (I y II respectivamente) a lo largo de su vida (Huner y Barr, 1984; Huner *et al.*, 1994).

El acocil rojo es una especie que se puede aparear durante todo el año (Lowery y Mendes, 1977; Huner y Barr, 1984; González-Aguilar, 1995); aunque la mayoría de las cópulas ocurren entre finales de Mayo y principios de Junio, siendo estas fertilizadas a finales del verano o principios de otoño (Avault, Jr. 1972; Hobbs Jr. y Marchand, 1943; La Caze, 1976; Huner y Barr, 1984; Huner y Lindqvist, 1991).

1.4.4.4. Desove e Incubación

Es prácticamente desconocido el ciclo reproductivo de la mayoría de las especies mexicanas de acociles, salvo por algunos estudios efectuados. En relación con esto, Campos-González (1982), describió aspectos del ciclo de vida de *P. regiomontanus* y otro hecho por Cruz y Civera (1982), quienes estudiaron el desove e incubación del acocil enano *Cambarellus montezumae*. Otros estudios han sido hechos con la especie ahora residente del norte de México, *P. clarkii*, para la cual se han caracterizado aspectos de la madurez sexual, fecundidad y ciclo vitelogénico (González-Aguilar, 1985; Abdo de la Parra, 1991; Tobías-Chavana, 1991).

Las especies de acociles del norte de los Estados Unidos de América y Canada desovan los huevos en otoño, cuando la temperatura del agua y longitud del día decrece rápidamente, pero estos son desovados principalmente en primavera (Huner, 1990; Huner y Lindqvist, 1991). En cambio, las especies de

latitudes más bajas, como *P. clarkii*, desovan durante todo el año (Huner, 1990), pero los "picos" de desove se registran a finales de verano u otoño (Avault Jr., 1972; Huner y Barr, 1984). Esta especie localizada en el centro de Nuevo León, presentan un patrón reproductivo similar al de las poblaciones de esta misma especie localizadas en áreas naturales y de cultivo de Louisiana (observaciones personales).

Las hembras de cambáridos se refugian en madrigueras o en otras áreas para desovar e incubar los huevecillos (Huner y Barr, 1991). Antes de ovipositar la hembra limpia su abdomen con los pereiópodos y una sustancia gelatinosa "clara" es liberada por glándulas de cemento localizada en el abdomen y urópodos. Estas glándulas se alargan y forman parches amplios de color blanco en el abdomen y urópodos (Huner *et al.*, 1994).

Posteriormente, los huevos salen de los oviductos que se abren en el tercer par de pereiópodos, conforme se van liberando se fertilizan con el esperma almacenado en el receptáculo seminal. Utilizando la "clara" y la propia pared adherente de los huevecillos estos quedan unidos en las setas de los pleópodos de tal manera que quedan protegidos (Cruz y Civera, 1982; Huner y Barr, 1984; Huner y Lindqvist, 1991; Huner *et al.*, 1994).

Una vez liberados los huevecillos permanecen adheridos en los pleópodos de las hembras para su incubación. El tiempo de incubación varía con la especie, la latitud y la estación. Al respecto, Corey (1991) menciona que los huevecillos producidos por hembras de acociles normalmente pueden eclosionar en un período de 4 a 6 semanas. Sin embargo, en *P. clarkii*, especie ampliamente estudiada sobre estos aspectos, el período de incubación depende de la temperatura y puede ser tan corto como 3 semanas durante el verano o a temperatura de 22 a 24 °C y tan largo como 2 a 6 meses, cuando son desovados entre el otoño o invierno, o si las poblaciones están ubicadas en latitudes norteñas (Avault Jr., 1972; Huner y Barr, 1984; Huner, 1990; Huner *et al.*, 1994). Al respecto, Suko (1954, 1956), menciona que el desarrollo de huevos fertilizados a temperaturas de 22.8 °C es de 17 días, mientras que a 9 °C el desarrollo se alarga hasta 162 días.

Durante la incubación, la hembra mantiene la circulación del agua, gracias a los movimientos de sus pleópodos, para aumentar la oxigenación y evitar el depósito de sedimentos (Auvergne, 1982); no obstante los huevecillos están propensos a infecciones causadas por el hongo *Saprolegnia parasitica*, que puede causar la muerte a estos (Avault Jr., 1972). La maduración y desarrollo de los huevecillos dependen primordialmente de la temperatura, las condiciones de las madrigueras y la ausencia de luz en estas (de la Bretonne y Avault Jr., 1976).

En el interior de los huevecillos ocurre un desarrollo interno pasando por varios estadios de crecimiento (mórula, gástrula, nauplios y embrión tardío), antes de su eclosión (Huner y Barr, 1984). Por lo tanto de la eclosión se obtienen juveniles y no larvas como ocurre en otros crustáceos decápodos, por lo cuál quedan reducidos los requerimientos necesarios para el buen desarrollo de los estadios larvales (Goyert y Avault Jr., 1978). Este tipo de desarrollo se denomina abreviado. Los juveniles permanecen con la madre hasta la segunda muda (Huner y Barr, 1984; Huner, 1990; Corey, 1991).

1.4.4.5. Fecundidad

Los estudios de fecundidad han sido reconocidos como un aspecto ecológico importante en las poblaciones de crustáceos (Corey y Reid, 1991). En los acociles, la producción de huevecillos es uno de los aspectos más significativos para su manejo en las pesquerías y acuacultura, ya que este parámetro es de transcendencia para la conservación del "stock" de las especies nativas (Huner y Lindquist, 1991).

El número de huevos producidos y liberados de los ovarios de las hembras en los cambáridos, es directamente proporcional a su talla. Por ejemplo, una hembra de 57 mm puede producir 100 huevecillos, una de 80 mm produce hasta 300, mientras que una de 98 mm llega a producir alrededor de 500 huevos. En cada puesta el número de huevos es generalmente menor al número de ovocitos producidos en el ovario (Huner y Barr, 1984). Se ha observado en hábitats favorables para *P. clarkii*, que las hembras obtienen una mayor talla y en condiciones desfavorables maduran, pero son más pequeñas y menos "fecundas"

(Huner y Lindqvist, 1991).

Huner y Lindqvist (op. cit.) encontraron una relación directa entre el número de huevecillos y la talla en hembras de *P. clarkii*, a los 70 mm de longitud total producen 325 huevecillos, mientras que a los 100 mm producen 605. Sin embargo, en la literatura se observa una variación importante en los valores de fecundidad. Por ejemplo, Avault Jr. (1972), registra para *P. clarkii* hasta 700 huevecillos por desove, mientras que Somer (1984), encontró un rango de 124 a 956 huevecillos. Por otra parte, Abdo de la Parra (1991), encontró en una población de *Procambarus clarkii* de Nuevo León, hembras grávidas con un rango de 149 a 495 huevecillos, cuya maduración varió de 6 a 32 semanas.

1.4.5. CRECIMIENTO

El crecimiento en los acociles, como en el resto de los crustáceos se produce a través del proceso de muda o ecdisis, el cual implica el desprendimiento del exoesqueleto y la formación de uno nuevo, esto permite que se expandan los tejidos con el consecuente incremento en tamaño y volumen (Huner y Barr, 1984; Aiken y Waddy, 1992). Durante este proceso, los individuos presentan cambios en su fisiología, bioquímica, conducta y anatomía. Los factores que pueden influir sobre el crecimiento desde la fase juvenil, incluyen la especie, densidad, temperatura, fotoperíodo, nutrición, condiciones hidrológicas y stress (Abrahamsson, 1972; Bittner y Kopanda, 1973; Black y Huner, 1976; Goyert y Avault, Jr. 1978; Romaire, et al, 1978; Huner y Barr, 1984; Aiken y Waddy, 1992). El crecimiento somático obtenido por la muda, se inhibe durante el proceso de reproducción, período durante el cual los organismos se resguardan en sus madrigueras o refugios (Huner, 1976).

Los juveniles recién eclosionados miden 7 mm aproximadamente, se alimentan del vitelo y permanecen unidos a la membrana del huevecillo mediante un filamento membranoso que se pierde después de varios días (Auvergne, 1982); este estadio primario, presenta algunas características como el cefalotórax engrosado y redondeado, el rostro plegado hacia la parte inferior, la cola en forma redondeada u oval y sin urópodos, el cuerpo es transparente y los ojos son

sésiles.

Los juveniles de especies de diferentes latitudes, permanecen con la madre hasta el estadio III, para posteriormente ser independientes (Corey, 1987 b; Momot, 1984; Huner *et al.*, 1994), por lo que es evidente un cuidado materno (Pollock, 1991). Así, si un juvenil o varios se separan de la madre, estos son atraídos por un feromona materna (Huner y Barr, 1984; Huner *et al.*, 1994).

Estas formas recién eclosionadas mudan varios días después para convertirse en juveniles más grandes, los cuales se caracterizan por presentar las mismas proporciones que los adultos; la cola se ensancha, los urópodos se van desarrollando, y el caparazón se endurece. Una vez que la hembra sale de la madriguera, los juveniles se pueden separar de la madre y nadar libremente, además de alimentarse, en esta etapa miden cerca de 8 mm de longitud total (LT) (Huner y Barr, 1984; Huner *et al.*, 1994).

Los juveniles de *P. clarkii* pueden ser encontrados durante todo el año (Penn, 1943; Suko, 1958) y llevan a cabo 11 mudas durante su crecimiento, hasta antes de alcanzar su madurez sexual (Suko, 1953; Black, 1966; Huner y Barr, 1984). Las primeras dos mudas se efectúan cuando aún están adheridos al abdomen de la madre, con un aumento en talla, que puede ser de hasta 6.3 mm por muda. El tiempo entre una muda y otra es de 5 a 6 días para los juveniles (Huner y Barr, 1984). La maduración sexual en los acociles puede darse en un tiempo breve que fluctúa de 8 semanas a casi tres meses, bajo condiciones ideales. Sin embargo, en general toma de 5 a 6 meses en latitudes sureñas y 10-18 meses en latitudes norteñas (Payne, 1978; Huner y Barr, 1984). La reproducción se puede iniciar cuando una generación tiene cuatro meses y medio de vida (Huner y Barr, 1984).

La tasa de crecimiento mensual es mayor en machos que en hembras debido a los periodos de incubación y cuidado de juveniles (Hazlett y Rittschof, 1985). En *Orconectes virilis* el crecimiento se ha relacionado con un aumento en la calidad de alimento, principalmente de larvas de insectos (Momot y Jones, 1977).

Se considera que los acociles son los miembros más grandes y longevos

de los crustáceos dulceacuicolas de Norteamérica (Momot *et al*, 1978). Muchas especies de acociles de latitudes bajas tienen una longevidad más corta, como las especies del género *Procambarus* que viven dos años o menos, mientras que las especies de cambáridos de latitudes altas y ambientes fríos, usualmente viven de 4 a 16 años, además que su madurez es más tardía (Momot, 1984). En un bioensayo de laboratorio, el crecimiento de *P. clarkii* alcanzó tallas de 74.60 mm, talla mucho menor a la observada en las poblaciones naturales de Nuevo León que alcanzan valores de hasta 108 mm (Rodríguez-Almaraz y Compean-Jimenez, 1991).

1.4.6. IMPORTANCIA DE LOS ACOCILES

1.4.6.1. Producción de acociles en áreas naturales y de cultivo

Anteriormente se discutió la importancia de las plantas y el significado de su posterior descomposición para la producción de acociles en áreas naturales y silvestres.

En años recientes, Momot (1995), presentó datos de la producción de acociles en áreas naturales de diferentes especies, que fluctúan de 17-670 Kg/ha en estanques y lagos; y de 64 a 505 kg/ha en ambientes lóticos. En lagos de Michigan, *Orconectes virilis* dominó la producción bentónica, con valores de 1,000–1,400 kg/ha (Momot *et al*, 1978).

Los acociles en los E.U.A. son cultivados en aproximadamente 46,000 ha de estanquería produciendo casi 25,000 toneladas métricas, el 90% de la producción se encuentran en Louisiana donde se cultiva principalmente *P. clarkii*, (Huner y Lindqvist, 1991; Lutz y Wolters, 1999). La producción comercial de acociles de Norteamérica, se basa principalmente en dos especies *P. clarkii* y *P. zonangulus*, la primera especie representa entre el 80% (Lutz y Wolters, 1999) y el 85% (Huner, 1997) de dicha producción.

La producción de acociles está determinada por las características de los estanques. Al respecto, Romaine y Lutz (1989) reportan una producción de 536-642 kg/ha, sin embargo, con un buen manejo la cosecha puede alcanzar valores de 800 a 1,000 kg/ha anuales, y en ausencia de depredadores puede haber

rendimientos de 2,200 kg/ha a 2,800 kg/h (Huner, 1978b; Avault Jr, y Huner, 1985). En campos de arroz o en estanques abiertos normalmente se registran cosechas de 1,000 a 1,200 kg/ha (Huner, 1990).

Los acociles pueden ser consumidos y bien aprovechados una vez que hayan alcanzado una talla de 100 mm (Huner y Lindqvist, 1991), no obstante, que solo se aproveche el músculo abdominal (cola) que representa entre el 12 al 15% del peso del animal (Culley *et al.*, 1985). Actualmente, se ha iniciado la comercialización del acocil en una forma denominada "acocil suave" (Soft shell), que ofrece como ventaja el poder consumir hasta un 95 % del peso corporal (Huner y Lindqvist, 1991).

1.4.6.2. Nutrición

En diferentes estudios se ha mencionado la importancia de la vegetación (alóctona y autóctona) como fuente de alimentación para los acociles que son cultivados en Norteamérica. En estos se plantea que la carencia o disminución de este tipo de alimento, detiene el crecimiento de los organismos en tallas *subcomerciales* (<75 mm de longitud total) y esto ocasiona pérdidas en la producción de acociles (Avault Jr. *et al*, 1974; Cauge *et al*, 1982). El detritos vegetal producido en los campos de arroz es considerado el principal nutrimento y es la base de las redes alimenticias de un estanque de cultivo de *P. clarkii*, (Huner, 1990). Se ha establecido que el detritos esta directamente relacionado a la proporción de C:N, una alta relación de C:N (17:1) es una medida indicativa del alto valor nutricional del detritos para acociles (Avault *et al*, 1983).

Sin embargo, Momot (1995) discutió el papel nutricional asignado al detritos vegetal, considera que del 30 al 50% del Nitrógeno encontrado en detritos de diferentes tiempos de descomposición, consiste de compuestos nitrogenados no proteicos, estos son resistentes a la degradación química y no son asimilados por los detritívoros. Los acociles no pueden digerir totalmente estos compuestos por lo que tienen que ingerir grandes cantidades de detritos para obtener un beneficio nutricional. Finalmente concluye que la relación C:N es de ligera utilidad como una medida del valor nutricional. El detritos solo sirve para proporcionar algo de

energía para el mantenimiento, pero es incapaz de sostener el crecimiento. En ambientes lóticos, el detritus puede ser ingerido accidentalmente porque constituye el substrato para complejas comunidades de insectos y metazoarios de cuerpo suave.

En México, no existen estudios dirigidos sobre aspectos alimenticios de las especies nativas, no obstante, hay reportes preliminares con la especie exótica *P. clarkii*, donde se probaron dietas naturales (Muñoz-Ortiz, 1993) y alimentos formulados (Re Araujo, 1985; Cordero-Esquivel, 1988). Uno de los aspectos ecológicos más importantes a estudiar, es el papel y efecto de las actividades alimenticias de las poblaciones de acociles mexicanos en los diferentes ecosistemas que habitan.

1.4.6.3. Especies exóticas

No obstante que la principal razón de la introducción de acociles, en particular de *P. clarkii*, sea de interés económico, existen ejemplos de diversas consecuencias negativas a nivel ecológico a raíz de la introducción de esta y otras especies (Avault Jr., 1976; Hobbs Jr., 1984; Hobbs Jr., 1989). Un ejemplo en nuestra región, es el posible desplazamiento de la especie *P. regiomontanus* nativa de Nuevo León, la cual hasta 1985 era dominante en la cuenca del Río San Juan (Campos y Rodríguez Almaraz, 1992; Rodríguez *et al.*, 1993; Rodríguez Almaraz y Campos, 1994).

En México se han registrado tres especies exóticas de acociles: *Orconectes virilis*, *Procambarus clarkii* y *Cherax quadricarinatus*. La primera especie ha sido ubicada al norte de Chihuahua (Campos-González y Contreras-Balderas, 1985), y podría compartir el hábitat con *P. clarkii*, que tiene una amplia distribución en el norte de México (Campos y Rodríguez-Almaraz, 1992).

La langosta de uña roja *Cherax quadricarinatus* nativa de Australia, es una especie que ha sido introducida en varios estados de México con la intención de producirla comercialmente (Rodríguez-Almaraz y Mendoza-Alfaro, 1999). Hasta el momento, no es conocido el efecto ecológico por la introducción de esta especie en nuestro país, no solo para los acociles nativos, sino también para otros grupos

de crustáceos decápodos de agua dulce y macroinvertebrados.

La introducción de especies acuáticas de una región geográfica a otra, se justifica por el bienestar económico que ofrecen, tanto en la acuicultura y pesquerías. La posible utilización en México del acocil rojo y de la langosta de uña roja, se basa por el aparente éxito que ha tenido la producción acuícola y demanda de estos crustáceos en diferentes partes del mundo. Además, para ambas especies se han logrado desarrollar las técnicas de producción y manejo, que conllevan a una facilidad relativa de su cultivo, lo cual viene a ser potencializado por el desconocimiento bioecológico y de producción de las especies nativas. En los Estados Unidos de América, los acuicultores han mostrado interés en cultivar la langosta de uña roja, sin embargo, las autoridades han sido muy cuidadosas en no permitir cultivar esta especie en estanquería abierta (Huner, 1997).

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

El aprovechamiento de las especies nativas es casi totalmente desconocido, salvo el consumo local del acocil enano *Cambarellus montezumae*, que es capturado de manera artesanal en diversos estados del centro del país. Esta especie ha sido consumida desde los antiguos pobladores del valle de México hasta su actual comercialización a baja escala en los mercados populares. (Rodríguez-Almaraz y Mendoza-Alfaro, 1999).

La pesquería de diversas especies mexicanas del género *Procambarus* es considerada artesanal, y no hay datos de los valores de producción (Huner, 1995). Ante esta situación, consideramos importante el estudio de diferentes poblaciones de acociles, particularmente las del género *Procambarus*, ya que alcanzan las tallas más atractivas para su producción y comercialización, de esta manera se podría determinar que especies y cuáles áreas geográficas son susceptibles para una producción armónica de este recurso sin mermar las poblaciones naturales.

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

2.1. INTRODUCCION

Los estudios de fecundidad han sido reconocidos como un aspecto ecológico importante en las poblaciones y el conocimiento del ciclo de vida de cualquier especie (Corey y Reid, 1991). El conteo de huevos es usado para describir el potencial de fecundidad en muchas especies acuáticas (Snyder, 1983). En los acociles, la producción de huevecillos es uno de los aspectos más significativos para su manejo en las pesquerías y acuicultura, además, este parámetro es de trascendencia para la conservación del "stock" de las especies nativas (Huner y Lindqvist, 1991). Estos crustáceos son los invertebrados bentónicos más importantes desde el punto de vista energético y son dominantes en muchas regiones templadas de Norteamérica, Europa y Australia (Momot, 1984; Corey, 1991). Esto se debe no solo a que estos ocurren en gran número, sino que se propagan rápidamente (Corey, 1991). Se considera que la alimentación, calidad del agua y refugio de los acociles contribuyen a la mayor producción de huevecillos (Huner y Lindqvist, 1991).

2.2. ANTECEDENTES

2.2.1. Estrategias y factores ambientales que influyen en la producción de huevos en acociles.

Los acociles no tienen un estado larval, probablemente en respuesta a las condiciones de los sistemas lóticos, donde ocurren normalmente, ahí la corriente del agua es unidireccional y constantemente removería las larvas de una población (Cobb y Wang, 1985). Los acociles pueden ser estrategias *r* o *K* de acuerdo al tamaño de huevo que produzcan. Un estrategia *r*, tiene una vida corta, crecen rápidamente y producen un alto número de pequeños huevecillos, de aquí que *P. clarkii* sea considerado un estrategia *r*, ya que sus huevos llegan a medir 2 mm de diámetro. Por otra parte, los estrategias *K*, viven por largo tiempo, crecen

lentamente y producen pocos huevos que son grandes, como en el caso de *Cambarus robustus*, cuyos huevos miden 3 mm de diámetro. Los estrategas *K*, viven en climas fríos y la incubación prolongada permite que los huevos contengan más reservas orgánicas, para asegurar un desarrollo viable de los juveniles durante la incubación (Huner y Lindqvist, 1991).

La luz y la temperatura como en otros organismos, afectan el ciclo ovárico de los acociles, esto permite a los acuacultores manipular el ciclo reproductivo, produciendo juveniles sobre una base predecible. Los acociles expuestos a un fotoperiodo corto y normal maduran rápidamente, en cambio cuando son mantenidos en fotoperiodo constante o días largos estos presentan un reciclamiento continuo, que afecta la maduración sexual (Huner y Lindqvist, 1991).

Existe un efecto de la nutrición sobre la reproducción de acociles, en *Cherax tenuimanus* bajo condiciones de cultivo, la producción de huevos se ve afectada negativamente por una pobre nutrición, los cuales son pequeños y escasos, en cambio cuando hay una disponibilidad importante de detritos las hembras fueron más productivas (Morrissy, 1975). Momot (1984), sugiere que la fecundidad de *O. virilis* es controlada por la disponibilidad de alimento para hembras adultas. France (1983), encontró en esta misma especie, que la relación talla-fecundidad, varía con la producción de los lagos, así, cuando son más productivos es más alta la fecundidad y mayor el crecimiento somático de las hembras. Otro factor que puede influir en la producción de huevecillos, son los pigmentos carotenoides que son depositados en altas concentraciones en los huevos, la deficiencia de estos, afecta la viabilidad de embriones y larvas (Castell y Kean, 1986).

2.2.2. Perdida de huevecillos

Los acociles, así como otros grupos de crustáceos decápodos pierden un gran número de huevecillos y larvas durante la embriogénesis, la eclosión y el desarrollo larval mientras están adheridos a la hembra (Corey, 1987; Corey, 1991; Kuris, 1991). Consiguientemente, en los estudios de fecundidad en crustáceos, es importante observar las diferencias en talla del huevo o cualquier cambio en el

número de huevecillos durante el desarrollo. Si existe alguna diferencia significativa, los estados de desarrollo deben ser considerados separadamente. La alta producción de huevos se considera como una estrategia ecológica-evolutiva, por ejemplo, el excesivo número de huevecillos desovados por algunos camarones alfeidos pudiera actuar como una reserva para compensar la pérdida de huevecillos durante el desarrollo, con el cuál maximizan el número de larvas eclosionadas (Corey y Reid, 1991; Corey, 1991). La pérdida de huevecillos en hembras de acociles durante la oviposición y la incubación puede variar de 0 a 69.8% (Corey, 1991). En *P. clarkii*, de acuerdo a Penn (1943), el porcentaje de pérdida es de 38.3% (Tabla 2.1). Por otra parte Kuris (1991), para esta misma especie registra una pérdida del 28%, y menciona que esta pérdida no tiene una asociación con la talla de la hembra. Estas pérdidas de huevecillos en acociles y en otras especies de crustáceos decápodos, se atribuyen a diferentes factores, por ejemplo, la fuerza de la corriente del agua (Corey, 1991), presencia de huevos infértiles (Corey, 1991; Kuris, 1991), una inadecuada adhesión de los huevecillos (Corey, 1991) y una pérdida durante la oviposición y fracaso en la eclosión (Kuris, 1991). En los acociles contrariamente a algunos camarones peneidos (e.g. *Litopenaeus setiferus*) no es común la retención de huevos atresicos, después de la extrusión de la masa de huevos (Kuris, 1991). En laboratorio se ha observado que las hembras tienen problemas para expulsar los huevos, y a veces estas mueren mientras reabsorben sus ovocitos maduros (Penn, 1943; Mason, 1970). Otras causas pueden deberse a procesos mecánicos, como el desprendimiento de huevos de las setas de los pleópodos, esta podría ser una consecuencia necesaria del desarrollo normal de los huevos, ya que la talla de estos se incrementa sustancialmente durante el desarrollo; además la pérdida se puede atribuir a la abrasión de la masa de huevos en las madrigueras y al manejo de hembras ovígeras (Kuris, 1991; Shields, 1991).

Entre otras pérdidas, se atribuye el crecimiento de juveniles aún sobre el cuerpo de la hembras, causando la separación de los mismos. Igualmente contribuye la talla de la hembra, lo cual al liberar un exceso de huevos, propicia que algunos pueden quedar fuera del área protectora. También se han atribuido

perdidas al parasitismo de *Crepidostomum cornutum* (Corey, 1991). En el caso de que los huevos no sean fertilizados, estos llegan a ser cubiertos por hongos y comidos por las hembras (Corey, 1987; Corey, 1991). Todas las especies de acociles de Norteamérica, incluyendo *P. clarkii*, son resistentes a la plaga del hongo *Aphonomices astaci*, pero son portadoras de la enfermedad (Vey et al., 1983). En algunos decápodos, puede existir un canibalismo materno, como una medida para separar huevos infectados (Aiken et al., 1985).

La extrusión incompleta de huevecillos en algunas especies de acociles, es seguida por la reabsorción de estos, así por ejemplo en *O. propinquus*, el porcentaje de ovocitos reabsorbidos varía de 5 a 75% (Corey, 1991).

La pérdida de huevecillos causada por la velocidad de la corriente de un río, se ha observado en *O. propinquus*, donde se determinó una relación negativa entre el número de huevecillos liberados y la corriente, la fuerza de esta durante las lluvias de primavera, tiene dos efectos: primeramente, el sustrato cambia y causa un incremento en el movimiento de las hembras ovígeras, consecuentemente hay pérdida de huevos. En segundo lugar, la corriente puede ser tan fuerte que evita la copula de primavera, que es importante para una exitosa fertilización y llega a intervenir en la adherencia de huevos (Corey, 1987). Otros factores que afectan la fecundidad en los crustáceos son la temperatura, salinidad, desecación y contaminación por metales pesados (Kuris, 1991; Shields, 1991).

Tabla 2.1.- Comparación interespecifica 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).

Espece	% de pérdida de huevecillos	Autor
<i>Cambarus longulus longulus</i>	Cerca de 50	Smart, 1962
<i>C. robustus</i>	58.9-69.7	Corey, 1991 ^a
<i>Procambarus clarkii</i>	38.3	Corey, 1991 ^a
<i>P. hayi</i>	41.3	Penn, 1943
<i>Orconectes virilis</i>	42	Momot, 1967
<i>O. virilis</i>	0-48.5 ³	Momot y Gowing, 1977
<i>O. rusticus</i>	0-30 ³	Reid y Corey (com. Pers.)
<i>O. rusticus</i>	0-23.1 ³	
	39-41 ³	
<i>O. propinquus</i>	13.8-47.0 ³	Corey, 1987
	44.0-69.8 ³	
<i>O. kentuckiensis</i>	6-15 ¹	Boyd y Page, 1978
<i>Pacifastacus leniusculus</i>	Casi 27 ²	Mason, 1977

¹Rango de pérdida debido a las diferentes tallas de las hembras

²Perdida de huevecillos abdominales de estadio II en hembras de acuario

³Rango de pérdida observada debido a diferentes años y/o localidades

2.2.3. Potencial reproductivo y reproducción realizada

De acuerdo a Corey (1991), hay varias formas de estimar la fecundidad en los acociles; potencial reproductivo (número de ovocitos), reproducción realizada (número de huevecillos adheridos al abdomen), producción actual (número de larvas en estadio III) y la eficiencia reproductiva (porcentaje de sobrevivientes que alcanzan el estadio III), estas relaciones varía interespecificamente e intraespecificamente en muchas especies de acociles.

2.2.3.1. Potencial Reproductivo

Dentro de los factores que afectan el potencial reproductivo y la capacidad bioenergética de los acociles se encuentran la densidad de animales, como ocurre en *O. virilis* (Momot y Gowing, 1977), la calidad del agua (oxígeno y temperatura) y alimento (calidad y cantidad) (Momot, 1984). En el caso particular de acociles los australianos se ha determinado que existe una relación directa entre el alimento disponible y el desarrollo ovárico. En ausencia de una adecuada nutrición, las hembras reabsorberán sus huevos (Mills *et al.*, 1994).

De acuerdo a Corey (1991), existe una relación positiva entre el número de ovocitos y la longitud del caparazón en hembras de cinco especies de acociles como en *C. robustus*, y *O. propinquus*, la tasa de incremento de la pendiente resulto más alta en en la segunda especie, debido a que los ovocitos eran más grandes (2.6 mm) en *C. robustus*.

2.2.3.2. Reproducción Realizada

Se han realizado diversos estudios sobre reproducción realizada en acociles, particularmente en las especies *Pacifastacus leniusculus*, *Orconectes limosus*, *O. propinquus* y *Cambarus robustus* (Abrahamsson y Goldman, 1970; Mason, 1977; Smith, 1981; Corey, 1987).

A este respecto, Penn (1943), encontró en *P. clarkii* una relación significativa al asociar el número de huevecillos adheridos a la hembra (reproducción actual) y la talla (longitud del caparazón). Adicionalmente, Huner y Lindqvist (1991), mencionan que en *P. clarkii* hay una relación directa del número de huevos ováricos y la talla, con 5-6 cm de LT se producen de 50 a 100 huevos, mientras que hembras de 11 a 12 cm producen de 500 a 600 huevos.

Además de existir una relación positiva entre el número de huevos y la talla de los acociles, adicionalmente, se ha encontrado una relación significativa entre el volumen del caparazón y el volumen de la masa de huevecillos (Corey, 1987).

Entre otros estudios, Huner y Lindqvist (1991), aportaron los valores del número de ovocitos y de huevecillos llevados por las hembras de distintas especies de acociles, por ejemplo, *P. clarkii*, presentó un rango de 325 a 605 ovocitos y de 100 a 535 huevecillos de acuerdo a la talla (Tabla 2.2).

La diferencia entre el número de ovocitos en el ovario y el número de huevecillos llevados sobre el abdomen ha sido descrita para *P. clarkii* (Penn, 1943), *P. hayi*, *Cambarus longulus longulus*, *Orconectes causeyi*, *O. kentuckiensis*, *O. rusticus* y *O. virilis* (Momot y Gowing, 1977).

Tabla 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).

Especie	# de Ovocitos		Autor	# de Huevecillos		Autor
	7 cm LT	10 cm LT		7 cm LT	10 cm LT	
<i>P. clarkii</i>	325	605	Delong (com. pers.)	100	535	Penn, 1943
<i>P. acutus</i>	280	420	Delong (com. pers.)	-	-	-
<i>P. hayi</i>	285	400	Payne, 1971	170	260	Payne, 1971
<i>O. limosus</i>	250	400	Kossakowski, 1966	110	220	Kossakowski, 1966
<i>O. rusticus</i>	270	460	Prins, 1968	190	320	Prins, 1968
<i>O. virilis</i>	-	-	-	280	480	Weagle y Ozburn, 1972

2.2.4. Producción actual y eficiencia reproductiva

La producción de acociles se puede definir como el número de juveniles en estadio II o III. Durante el crecimiento de los juveniles realizan dos mudas en el cuerpo de la hembra y el tiempo entre estas mudas depende de la temperatura, durante este período difícilmente sobreviven fuera de la protección de la madre (Huner *et al.*, 1994). La cuantificación de juveniles de acociles que sobreviven hasta su liberación de la madre es prácticamente desconocido en acociles. En *Cherax tenuimanus* el número de juveniles es generalmente menor al número de huevos ováricos (Morrissy, 1974; Mills *et al.*, 1994). Esta situación es normal en

muchos crustáceos, ya que no todos los huevos pueden ser extruidos (Morrisy, 1974). Pero en *Cherax destructor*, la mayoría de huevos contenidos dentro del ovario son liberados, por lo tanto la fecundidad (producción) actual es muy cercana al potencial reproductivo, este primer parámetro es mucho más importante que el potencial reproductivo (Mills *et al.*, 1994).

2.2.5. Métodos para evaluar la fecundidad en crustáceos

En los estudios de fecundidad de crustáceos, se han utilizado diversos modelos de regresión, desde la regresión lineal hasta la curvas asintóticas. Sin embargo, el uso indistinto de estos modelos puede contribuir a una ausencia relativa de comparación de la fecundidad entre crustáceos. Los modelos más utilizados son 1).- regresión simple de mínimos cuadrados 2).- modelo exponencial o regresión de mínimos cuadrados con la transformación logarítmica de la fecundidad 3).- modelo de la transformación de la raíz cuadrada 4).- regresión simple de los mínimos cuadrados de la fecundidad contra volumen de la hembra 5).- modelo alométrico (transformación logarítmica del número de huevos y la talla) y la 6).- regresión asintótica. El modelo alométrico o logarítmico de la fecundidad que es usado comúnmente en biología pesquera, resulta ideal para utilizarse en crustáceos. La fecundidad es una medida volumétrica que tiende a incrementarse exponencialmente con la talla de la hembra. La función potencial o modelo alométrico que se expresa $Y=aX^b$, llega a ser una simple regresión de mínimos cuadrados cuando la fecundidad y la talla son transformados logarítmicamente ($\log Y=\log a+\log Xb$). Este modelo alométrico tiene la característica de simplicidad e interpretabilidad. Además, representa los cambios proporcionales en la fecundidad con respecto a los cambios proporcionales en la talla de la hembra; como se emplean logaritmos, la pendiente es independiente de la escala original de medición. Las ventajas del modelo alométrico son: la transformación logarítmica, ya que así se elimina la correlación entre la variación de la fecundidad y la talla de la hembra. Igualmente, esta transformación permite que la pendiente de la regresión, tenga una escala independiente, permitiendo la comparación entre poblaciones o taxas y este modelo da una pendiente teórica (=3), implicando que

la fecundidad es una simple función volumétrica de la talla de la hembra (Somers, 1991).

El uso de los modelos ya mencionados, se presentan en la Tabla 2.3 con ejemplos de algunos estudios recientes sobre fecundidad en crustáceos decápodos.

Tabla 2.3.- Estudios recientes sobre el análisis de fecundidad en diferentes especies de crustáceos decápodos, que implican la relación talla y número de huevecillos.

Especie	Modelo	Comentario	Autor
<i>Leander tenuicornis</i> <i>Latreutes parvulus</i>	Alométrico	Utilizó hembras que recién desovaron sus huevos para minimizar el error por la pérdida de estos	Bauer, 1991
<i>Cancer spp.</i>	Alométrico, con transformación logarítmica	Algunas especies de <i>Cancer</i> no presentan relación entre la talla y fecundidad por varias razones, las hembras grandes pueden producir menos huevos que las más pequeñas que son más reproductivas, las hembras viejas no mudan anualmente y tienen menos esperma almacenado lo que provoca huevos infértiles	Shields, 1991
<i>Philocheiras trispinosus</i>	Regresión lineal	Isometría del número de huevos en función de la talla	Oh y Hartnoll, 1999
<i>Lithodes aequispina</i>	Alométrico	Encontraron una linealidad entre la talla y fecundidad	Jewett <i>et al.</i> , 1985
<i>Palaemon xiphias</i>	Alométrico	Usaron hembras con huevos de primer estadio, por la pérdida de huevecillos durante la incubación	Guerao <i>et al.</i> 1994
<i>Chionoecetes bairdi</i>	Alométrico	Analizaron fecundidad en huevos de primer estadio por la pérdida de estos	Sornerton y Meyers, 1983
<i>Ranina ranina</i>	Alométrico	De acuerdo al análisis la fecundidad oscila de 78,000 a 256,000 huevos	Kennelly y Watkins, 1994
<i>Platyxanthus patagonicus</i>	Alométrico	Consiste en el número de huevos de acuerdo a la talla	Carsen <i>et al.</i> , 1996

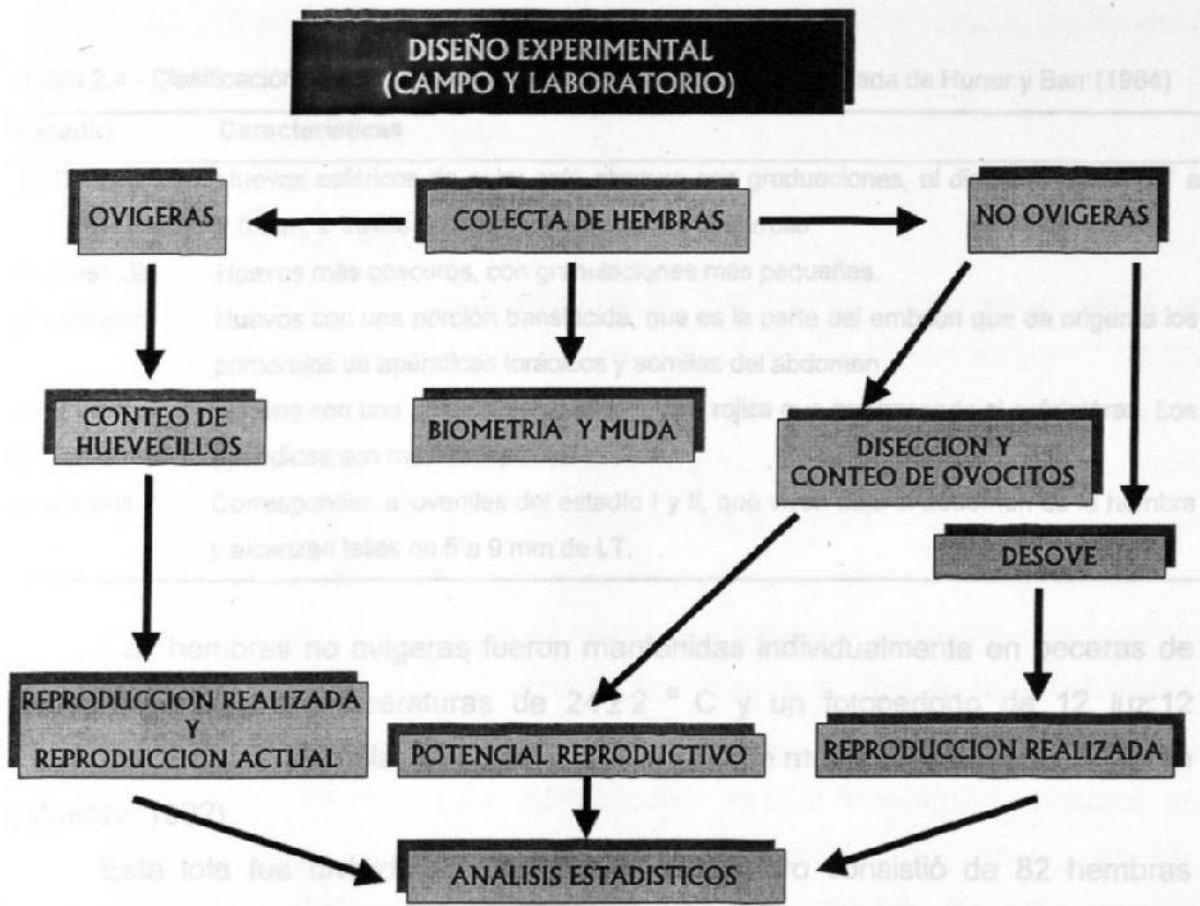
<i>Cangrejos Grapsidos</i>	Alométrico	Hay relación significativa entre el número huevos y talla, la fecundidad es de casi 200,000 huevos	Tsuchida y Watanabe, 1997
<i>Camarones carideos</i>	Alométrico	Encontraron una relación significativa de la fecundidad con varios parametros morfológicos	Anger y Moreira, 1998
<i>Metapenaeus joyneri</i>	Alométrico	El peso del ovario maduro se incrementó en razón de la longitud del caparazón	Chu, 1995
<i>Calcinus tibicen</i>	Alométrico	El número de huevos esta influenciado por la especie de concha ocupada	Medina-Mantelatto y Biagi-García, 1999
<i>Astacus leptodactylus</i>	Alométrico	Determinan que no hay relación del tamaño del huevo y la talla de la hembra	Harioglu y Turkgulu, 2000
<i>Procambarus llamas</i>	Lineal	El número de huevos producidos por la hembra depende de su talla, alcanzado valores de 700 huevos	Rodríguez-Serna et al., 2000

los siguientes capítulos. Todas las hembras fueron llevadas vivas en recipientes de plástico al laboratorio, en el caso particular de las hembras ovígeras (40 ejemplares), inmediatamente se procedió a separar, clasificar y contar los huevecillos que llevan

2.3.- METODOLOGIA

2.3.1. Diseño Experimental

La clasificación de los huevos se realizó básicamente de acuerdo al criterio establecido por Rodríguez-Almaraz y Campos (1994), quienes establecieron 5 estadios, además de algunas observaciones personales (Tabla 2.4).



2.3.2. Recolección y acondicionamiento de las hembras en laboratorio

Las hembras ovígeras y no ovígeras de *P. clarkii* fueron recolectadas mensualmente en una porción del lecho del Río San Juan, Congregación La Boca (25°27'11"; 100°05'12"), Santiago, Nuevo León. Los muestreos fueron nocturnos de acuerdo a las técnicas recomendadas por Rodríguez-Almaraz y Campos (1994). Estas hembras pertenecen a lotes distintos de los especímenes utilizados para el estudio de histología, Índices Gonadosomáticos y Vitelogénesis que se presentan en

los siguientes capítulos. Todas las hembras fueron llevadas vivas en recipientes de plástico al laboratorio, en el caso particular de las hembras ovígeras (40 ejemplares), inmediatamente se procedió a separar, clasificar y contar los huevecillos que llevan bajo el abdomen. La clasificación de los huevos se realizó básicamente de acuerdo al criterio de Huner y Barr (1984), quienes establecen 5 estadios, además de algunas observaciones personales (Tabla 2.4).

Tabla 2.4.- Clasificación de los huevecillos de *P. clarkii* tomada y modificada de Huner y Barr (1984)

Estadio	Características
I.- Blástula	Huevos esféricos de color café oscuro con graduaciones, el diámetro es de 1.7 a 2.0 mm, a través de todos los estados de desarrollo.
II.- Gástrula	Huevos más oscuros, con granulaciones más pequeñas.
III.- Nauplio	Huevos con una porción translúcida, que es la parte del embrión que da origen a los primordios de apéndices torácicos y somitas del abdomen.
IV.- Embrión tardío	Huevos con una porción translúcida y café rojiza que corresponde al cefalotórax. Los apéndices son más conspicuos.
V.- Juvenil	Corresponden a juveniles del estadio I y II, que viven bajo el abdomen de la hembra y alcanzan tallas de 5 a 9 mm de LT.

Las hembras no ovígeras fueron mantenidas individualmente en peceras de vidrio, expuestas a temperaturas de 24 ± 2 ° C y un fotoperíodo de 12 luz:12 oscuridad. En cada ejemplar se determinó el estado de muda por setogénesis (Aiken y Waddy, 1992).

Este lote fue dividido en dos partes, el primero consistió de 82 hembras colectadas en distintos muestreos, las cuales después de 3-5 días, fueron disecadas para separar, clasificar y pesar el ovario. Una porción del tejido ovárico fue pesado nuevamente y se contó el número de ovocitos contenidos en la muestra, con el fin de estimar el número de ovocitos totales contenidos en cada ovario de cada ejemplar. La clasificación de los ovarios se llevó a cabo de acuerdo a de la Bretonne y Avault, Jr. (1976). Las características de cada estadio se presenta con detalle en el capítulo 3.

El segundo lote de hembras fue mantenido de forma aislada y en oscuridad total por un tiempo indefinido, con el propósito de inducir el desove en laboratorio. En

el caso que el desove fuera exitoso, los huevos (estadio I) fueron separados inmediatamente y contados para su posterior análisis con los datos de peso o talla de las hembras.

2.3.3. Datos biométricos de las hembras

Para cada hembra recolectada fueron registrados los siguientes valores morfométricos: Longitud Total (LT en mm), Longitud del cefalotórax (LC en mm) y Peso Total (PT en g). Estos datos fueron relacionados con el número de ovocitos, número de huevos o número de juveniles mediante análisis estadísticos, que en la sección siguiente serán explicados.

2.4.4. Métodos para describir la fecundidad

Para el análisis de la fecundidad de las hembras de *Procambarus clarkii*, se dividió este parámetro biológico en tres fases de acuerdo al criterio de Smart (1962), Abrahamsson (1971), Corey (1987) y Corey (1991): a).- Potencial Reproductivo (número de ovocitos por ovario) b).- Reproducción realizada (número de huevecillos llevados bajo el abdomen) y c).- Reproducción actual (número de juveniles llevados por la hembra).

Para cada fase fue utilizado el modelo de regresión potencial, relacionando los datos de fecundidad y biométricos de cada hembra. Este análisis estadístico permite asociar ambas variables y determina el tipo de crecimiento alométrico de la fecundidad en función de la talla. Este modelo ha sido ampliamente utilizado en estudios biológicos de crustáceos (Teisser, 1960; Hartnoll, 1982; Aiken y Waddy, 1992). El término alométrico se refiere a que una variable (en este caso la fecundidad) se incrementa más o menos rápido con respecto a otra variable de referencia (talla o peso). Los valores del coeficiente de regresión (b), indican el tipo de crecimiento. La isometría corresponde a valores de $b = 1$ o 3 , si corresponden a una relación con la talla o peso, respectivamente. La alometría negativa o positiva se presenta cuando $b < 1$ o 3 o $b > 1$ o 3 , respectivamente. El primer paso fue determinar la significancia de la regresión, probando las siguientes hipótesis mediante un ANOVA y una prueba de F

$$H_0: \beta = 0$$

$$H_a: \beta \neq 0$$

La decisión estadística fue si F calculada es mayor que la F tabulada $[0.05 (1), v_1, v_2]$, donde v_1 y v_2 , son los grados de libertad (GL) de la regresión (=1) y residual ($n-2$)), se rechaza H_0 .

Para determinar el tipo de crecimiento en cada regresión, se utilizó una prueba de " t " de student para probar las siguientes hipótesis:

$$H_0: \beta = 1 \text{ (o 3) Isometría}$$

$$H_a: \beta \neq 1 \text{ (o 3) Alometría negativa o positiva}$$

Para calcular la " t " se utilizó la siguiente ecuación:

$$t = \frac{(\text{Parámetro estimado}) - (\text{Valor hipotético de } b)}{\text{Error típico del parámetro estimado}}$$

Donde: si t calculada es mayor que t tabulada $0.05(2), n-2$, se rechaza H_0 , debido a que se determinaron diferentes estadios para el Potencial reproductivo, Reproducción realizada y Reproducción actual, los análisis de regresión se llevaron a cabo de manera independiente y más aún, considerando dos variables de referencia (LC y PT). Esto permitió la obtención de diferentes ecuaciones de regresión, para lo cual, se utilizaron pruebas de comparación múltiple de pendientes y comparación de dos pendientes de acuerdo a Zar (1996). En el caso de que las pendientes resultaron iguales se comparó la elevación de las pendientes. Adicionalmente, para cada regresión se obtuvieron las estadísticas descriptivas (Promedio, mínimo, máximo y desviación estándar).

Por otra parte, se determinó el porcentaje promedio de pérdida de ovocitos de un estadio a otro, y el porcentaje de pérdida de ovocitos del cuarto estadio a huevos recién desovados (estadio I). Esto fue hecho con la finalidad de conocer la dinámica de producción y pérdida de huevos, así como el número de huevos que llegaban a lograrse como juveniles. Se elaboró una base de datos en EXCEL 97 (Microsoft®) y SPSS (versión 8 para Windows®), que incluye los valores de cada una de las variables para poder realizar los análisis estadísticos anteriormente mencionados.

2.4.- RESULTADOS

2.4.1. Datos del estado de la muda, talla (LC) y peso (PT) de las hembras

De las hembras recolectadas ($n= 155$) el 90% estuvieron en el estado C (intermuda) y el resto en estado D (premuda). La LC y LT promedio fue de 40.18 (± 3.56) y 84.38 mm (± 7.01), respectivamente. El PT promedio fue de 15.77 g (± 4.56), y los valores mínimo y máximo fueron de 6.80 y 35.90 g, respectivamente. Los datos de LC, LT y PT fueron agrupados por estadio gonadal o desarrollo embrionario de los huevecillos (nueve grupos), con la finalidad de determinar diferencias significativas de estos parámetros morfométricos (Tabla 2.5). En el caso de la LC el ANOVA indicó de diferencias significativas de este parámetro por grupo ($F=2.313$, $P<0.05$) y la prueba de Duncan determinó que las hembras de estadio gonadal IV, con un promedio de LC 42.22 mm, eran significativamente diferentes a los seis grupos de hembras restantes. Igualmente, se encontró una diferencia entre los valores promedio de LT entre los diferentes grupos ($F= 2.928$, $P<0.05$). El ANOVA para los datos de PT no mostró diferencias significativas ($F=1.804$, $P>0.05$), entre los grupos de hembras.

Al asociar PT, LT y LC mediante un análisis de regresión potencial para determinar el tipo de crecimiento alométrico de estas variables, se determinó que el crecimiento de PT en función de LC y LT era isométrico ($t=1.645$, $P>0.05$ para LC) ($t=0.2032$, $P>0.05$ para LT). En el caso de LC en función de LT se obtuvo un crecimiento alométrico positivo ($t=3.000$, $P<0.05$). En los tres análisis de regresión los coeficientes de regresión (b) fueron significativos (Prueba F , $P<0.05$). En la gráfica 2.1 se presentan las ecuaciones y los valores del coeficiente de determinación (r^2) para cada análisis. Se encontró, en la relación LC vs. LT, el mayor valor de r^2 (0.965).

Tabla 2.5.- Valores promedio, mínimo y máximo de LC, PT y LT de las hembras utilizadas para el análisis de fecundidad

Estadio [†]	LC	LC	LC	PT	PT	PT	LT	LT	LT	N
	Prom	Min	Max	Prom	Min	Max	Prom	Min	Max	
II	39.85	37.00	44.00	13.64	11.10	20.00	84.19	79	92	21
III	40.77	36.00	49.00	15.47	11.40	25.60	86.72	78	104	18
IV	42.22	34.00	49.00	17.10	9.20	27.30	88.48	74	102	31
Blástula	38.58	33.00	43.00	15.48	7.60	21.30	80.67	68	92	12
Gástrula	39.60	36.00	42.00	15.26	10.70	20.70	82.70	76	90	10
Nauplio	38.57	36.00	41.00	14.10	10.30	19.30	81.14	76	89	7
Embrión	38.77	35.00	45.00	14.16	10.30	20.10	81.22	74	92	9
Juveniles	39.28	31.00	45.00	15.10	6.80	23.90	82.57	67	94	14
Blástula*	40.00	31.00	49.00	17.37	7.00	35.90	83.55	67	100	33

[†]Incluye los estadios de la gónada y el estado de desarrollo de los huevecillos

*Huevecillos recién desovados (blástula) en laboratorio

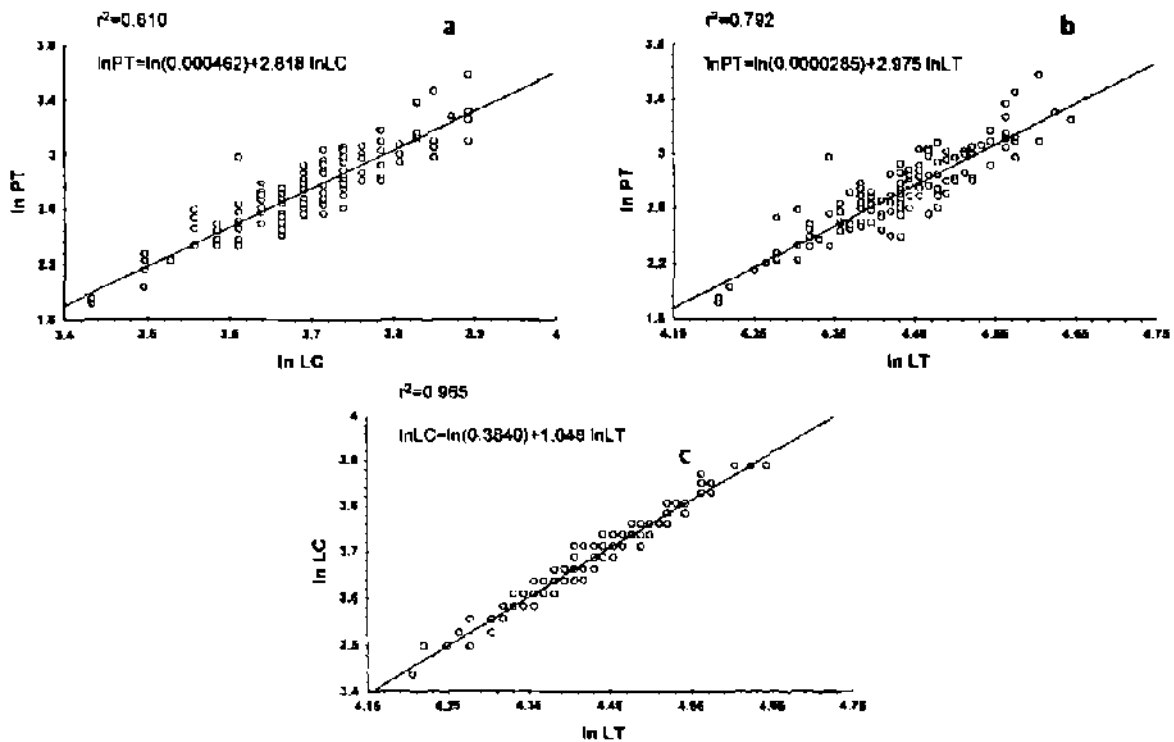


Figura 2.1.- Relación morfométrica de las hembras utilizando LC, LT y PT

2.4.2. POTENCIAL REPRODUCTIVO

2.4.2.1. Valores del número de ovocitos por estadio gonadal

El número promedio y los rangos de ovocitos producidos por estadio gonadal de las hembras recolectadas en campo son presentados en la Tabla 2.6. Para su análisis solamente se consideraron los estadios II, III y IV del ovario. El estadio I no fue incluido ya que los ovocitos fueron inconspicuos, y debido al pequeño tamaño de la gónada, por lo cuál resultaba difícil de manipular y contabilizar los ovocitos. El número promedio de ovocitos fue mayor en el estadio II con un valor de 621.66 (± 127.09), sin embargo, el valor máximo se observó en estadio IV con 1,038 ovocitos. El ANOVA mostró que los valores promedio de los ovocitos por estadio no eran significativamente diferentes ($F=0.3419$, $P>0.05$) entre los tres estadios.

Tabla 2.6.- Valores mínimos, máximos y promedio del número de ovocitos por estadio gonadal de las hembras de *Procambarus clarkii*

Estadio	n	\bar{X}	Mínimo	Máximo	CV
II	21	621.66 (+127.09)	440	838	20.44
III	18	579.44 (+ 151.07)	371	1,024	26.07
IV	31	604.67 (+ 181.90)	375	1,038	30.08

2.4.2.2. Análisis estadísticos del número de ovocitos en función a las variables morfométricas

Los datos de número de ovocitos (NO) por estadio fueron analizados en función de LC y PT usando la regresión potencial ($Y = aX^b$), las ecuaciones y los valores del coeficiente de determinación se presentan en la Tabla 2.7 y en las Figuras 2.2 y 2.3. En el caso de cada regresión los coeficientes de regresión (b) fueron estadísticamente significativos de acuerdo al ANOVA y la prueba de F (Tabla 2.7). Las ecuaciones de regresión permitieron calcular el número de ovocitos por estadio en función de LC o PT. Los valores de correlación (r) y el coeficiente de determinación (r^2) fueron mayores en el estadio III tanto para la relación NO vs. LC, como para NO vs. PT. Utilizando los valores de b se estimó el tipo de crecimiento alométrico que presentaba el NO en función de LC y PT. En el estadio II el crecimiento fue alométrico positivo y negativo en función de LC y PT, respectivamente. En el estadio III se presenta una alometría positiva y en el estadio IV, un crecimiento alométrico negativo para ambas variables morfométricas (Tabla 2.8).

Tabla 2.7.- Parámetros de la regresión potencial del número de ovocitos (NO) por estadio en función de LC y PT

Edio.	n	r	r^2	Ecuación	Intercepto	b	Significancia
II	21	0.8230	0.6774	$NO = 0.0093LC^{3.006}$	-4.6743	3.0095	F=39.9032 P<0.05
II	21	0.5991	0.3589	$NO = 71.639PT^{0.8225}$	4.2716	0.8225	F=10.6397 P<0.05

III	18	0.9010	0.8182	NO=0.0072LC ^{3.0373}	-4.9216	3.0373	F=69.022
							P<0.05
III	18	0.9159	0.8389	NO=29.5229PT ^{1.0845}	3.3851	1.0845	F=83.33
							P<0.05
IV	31	0.8471	0.7176	NO=0.0358LC ^{2.5927}	-3.3294	2.5927	F=73.71
							P<0.05
IV	31	0.8524	0.7266	NO=42.7866PT ^{0.9290}	3.7562	0.9290	F=77.08
							P<0.05

Tabla 2.8.- Tipo de crecimiento relativo de NO en función de LC y PT por estadio gonadal

Estadio	Relación	B	t*	P	Tipo de crecimiento
II*	NO vs. LC	3.0095	4.2179	<0.001	Alometría +
II**	NO vs. PT	0.8225	-8.6350	<0.001	Alometría -
III*	NO vs. LC	3.0373	5.5628	<0.001	Alometría+
III**	NO vs. PT	1.0845	-16.122	<0.001	Alometría +
IV*	NO vs. LC	2.5927	5.2742	<0.001	Alometría -
IV**	NO vs. PT	0.9290	-19.572	<0.001	Alometría -

Para probar $H_0: b=1^* \text{ o } b=3^{**}$

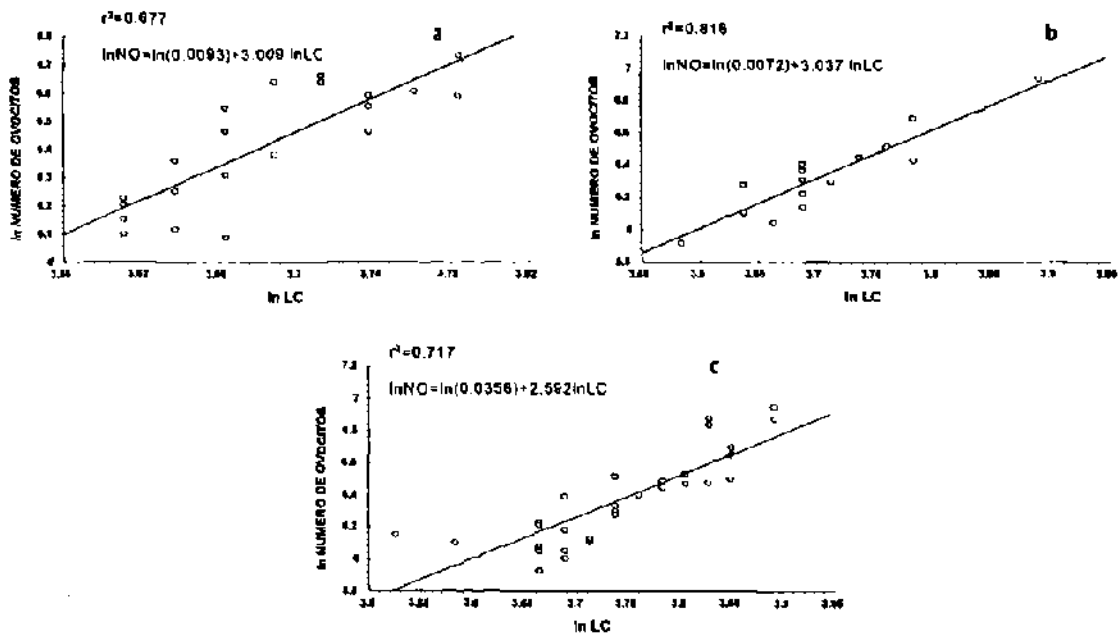


Figura 2.2.- Relación del número de ovocitos (NO) en función de LC. a) Estadio II, b) Estadio III, c) Estadio IV

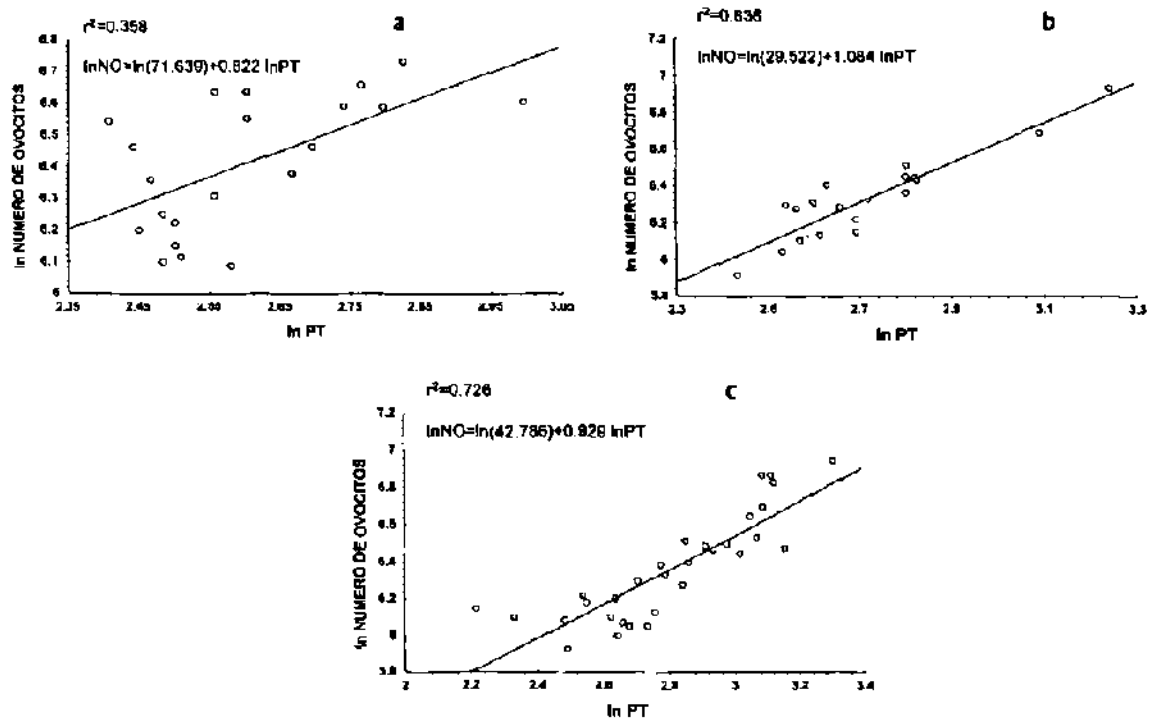


Figura 2.3.- Relación del número de ovocitos (NO) en función de PT. a) Estadio II, b) Estadio III, c) Estadio IV

Utilizando el método de comparación de pendientes (Zar, 1996), para determinar la existencia de diferencias entre los coeficientes de regresión (b), de los tres estadios en las dos relaciones (NO vs. LC y NO vs. PT), se encontró que estos coeficientes para cada estadio no presentaban diferencias significativas (Para PT; $F=0.4962$, $P>0.05$) (Para LC; $F=0.4036$, $P>0.05$) (Tabla 2.9 y 2.10). Como los coeficientes de regresión (b) obtenidos de NO vs. LC o PT fueron iguales, se comparó la elevación de las pendientes mediante una Prueba de F (Zar,1996). En ambos casos se observó que las pendientes de los tres estadios tenían diferentes elevaciones (Para LC $F=11.4637$, $P<0.05$)(Para PT $F=16.9305$, $P<0.05$).

Tabla 2.9.- Prueba de comparación de las pendientes obtenidas en la relación NO vs. PT de los tres estadios gonadales.

Estadio	Σx^2	Σxy	Σy^2	n	B	S.C. Residual	G.L. Residual
II	0.4679	0.3837	0.8756	21	0.8200	0.56099	19
III	0.6865	0.7440	0.9569	18	1.0836	0.1506	16
IV	2.0137	1.8698	2.3826	31	0.9285	0.6461	29
Regresión Mancomunada						1.3577	64
Regresión Común	3.1682	2.9976	4.2149		0.9461	1.3788	66
Regresión Total	3.6945	2.8872	4.3425	70		2.0862	68

F calculada=0.4962; $F_{0.05}(1)2,64=3.15$ Ho: $B_1=B_2=B_3$

Tabla 2.10.- Prueba de comparación de las pendientes obtenidas en la relación NO vs. LC de los tres estadios gonadales.

Estadio	Σx^2	Σxy	Σy^2	n	b	S.C.	G.L.
						Residual	Residual
II	0.0872	0.2881	0.9569	18	2.9606	0.1925	16
III	0.0672	0.1982	0.8756	21	2.9494	0.2910	19
IV	0.2582	0.66232	2.3823	31	2.5651	0.6833	209
Regresión mancomunada						1.1670	64
Regresión Común						2.7111	66
Regresión						1.1817	66
Regresión						1.5922	68
Total							

F calculada=0.4036; $F_{0.05}(1)2,64=3.15$ $H_0: B_1=B_2=B_3$

2.4.2.3.- Valores estimados del número de ovocitos por talla (LC) y peso (PT)

Considerando que todas las ecuaciones de regresión fueron significativas, se calculó el NO por estadio en diferentes clases de talla y peso (Tabla 2.11 y 2.12). Los resultados mostraron un aumento del número de ovocitos a medida que se incrementaba la talla o peso por estadio. La selección de estas clases de talla y peso, se basó en su pertenencia dentro del rango que presentó el material recolectado en campo. Los valores mínimos y máximos del NO estimados en función de LC fueron 223.37 y 1605.29, respectivamente. Considerando el PT de las hembras se estimaron 358.61 y 1395.91 ovocitos como valores mínimos y máximos, respectivamente.

Tabla 2.11.- Valores estimados de NO utilizando las regresiones obtenidas en cada estadio, en función de LC.

E	Ecuación	LC (mm)					
		30	35	40	45	50	55
II	$\ln NO = \ln(0.0093) + 3.009 \ln LC$	259.09	411.71	615.72	886.47	1204.20	1605.29
III	$\ln NO = \ln(0.0072) + 3.037 \ln LC$	223.37	356.75	535.19	765.38	1054.04	1391.13
IV	$\ln NO = \ln(0.0358) + 2.592 \ln LC$	241.98	360.88	510.17	692.37	909.87	1164.84

Tabla 2.12.- Valores estimados de NO utilizando las regresiones obtenidas en cada estadio, en función de PT.

E	Ecuación	PT (g)					
		10	15	20	25	30	35
II	$\ln NO = \ln(71.639) + 0.822 \ln PT$	476.02	664.45	841.83	1011.43	1175.07	1333.91
III	$\ln NO = \ln(29.522) + 1.084 \ln PT$	358.61	556.67	760.49	968.71	1180.50	1395.31
IV	$\ln NO = \ln(42.786) + 0.929 \ln PT$	363.32	529.52	691.75	851.10	1008.19	1163.41

Los valores estimados de NO presentados anteriormente fueron utilizados para determinar la diferencia porcentual de pérdida de ovocitos (DPP) entre dos estadios por cada clase de talla (LC) (Tabla 2.13). El valor promedio total de DPP fue 13.27, entre el estadio II y III. Los valores de DPP entre los estadios II y IV presentaron incrementos significativos a medida que aumentaba la talla de la hembra. Entre el estadio III y IV los valores de DPP no tuvieron relación con la talla, incluso los valores estimados de NO para las tallas de 30 y 35 mm, fueron mayores en el estadio IV.

Tabla 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.

Talla (mm)	Relación Estadio II-III		Relación Estadio II-IV		Relación Estadio III-IV	
	Relación	DPP	Relación	DPP	Relación	DPP
30	259.09-223.37	13.78	259.09-241.98	6.60	223.37-241.98	7.69
35	411.71-356.75	13.34	411.71-360.88	12.34	356.75-360.88	1.14
40	615.72-535.19	13.07	615.72-510.17	17.14	535.19-510.17	4.67
45	886.47-765.38	13.65	886.47-692.37	21.89	765.38-692.37	9.53
50	1204.2-1054.04	12.46	1204.2-909.87	24.44	1054.04-909.87	13.67
55	1605.2-1391.13	13.34	1605.2-1164.84	27.43	1391.1-1164.84	16.26
	Promedio	13.27	Promedio	18.30	Promedio	16.26

2.4.3. - REPRODUCCIÓN REALIZADA Y REPRODUCCIÓN ACTUAL

2.4.3.1.- Valores del número de huevecillos llevados por las hembras por fase de desarrollo embrionario, incluyendo a los juveniles.

Las hembras ovígeras recolectadas en campo fueron separadas de acuerdo al desarrollo embrionario de los huevecillos, que incluyó cinco estados. El rango de producción de huevecillos por las hembras recolectadas en campo fue de 106 a 495, sin considerar el estado embrionario. El valor promedio por fase embrionaria fue mayor en blástula (307.75), y estos valores fueron decreciendo conforme pasaban los huevecillos de un estado a otro hasta la fase juvenil (Tabla 2.14).

Por otra parte, las hembras que desovaron en laboratorio presentaron producciones de 138 a 719 huevecillos en blástula, con un promedio de 318.78 (\pm 140.145). De acuerdo al ANOVA y la prueba de Duncan, los valores promedio fueron significativamente diferentes entre los estados de blástula y juveniles; y el valor promedio de huevecillos desovados en laboratorio fue significativamente diferente a los valores de huevos en estado de embrión y juveniles ($F=3.63$; $P<0.05$).

Tabla 2.14.- Valores mínimos, máximos y promedio del número de huevecillos por fase de desarrollo embrionario llevados por hembras de *Procambarus clarkii*

Fase de Desarrollo	n	Promedio	Mínimo	Máximo	CV
Blástula	12	307.75 (\pm 84.13)	180	473	27.33
Gástrula	10	266.90 (\pm 45.34)	224	361	16.98
Nauplio	7	250.71 (\pm 119.22)	144	495	47.55
Embrión	8	213.00 (\pm 48.76)	138	281	22.89
Juveniles	14	194.07 (\pm 64.57)	106	360	33.27
Blástula*	33	318.78 (\pm 140.45)	138	719	44.05

*Huevecillos obtenidos en laboratorio

2.4.3.2.- Análisis estadístico del número de huevecillos en función de las variables morfométricas.

Este análisis permitió establecer la relación del número de huevecillos y juveniles en diferentes fases de desarrollo embrionario, incluyendo a juveniles, que son llevados en el abdomen de las hembras con respecto a LC y PT. Para este análisis se utilizó el mismo procedimiento aplicado para determinar el **Potencial Reproductivo**. Estas relaciones fueron solamente significativas (ANOVA y prueba de F, $P < 0.05$) en la fase de blástula, juveniles y huevecillos desovados en laboratorio (blástula) (Tabla 2.15). Los valores de correlación (r) y del coeficiente de determinación (r^2) fueron más altos en la fase de blástula tanto de hembras recolectadas en campo y como en aquellas que desovaron en laboratorio y la más baja correlación se presentó en gástrula, nauplio y embrión (Tabla 2.15; figs. 2.4 y 2.5). Utilizando los valores del coeficiente de regresión (b), se estimó que el crecimiento relativo del número de huevecillos en estado de blástula (tanto de campo y laboratorio) fue alométrico positivo y negativo (prueba t , $P < 0.05$) con respecto a LC y PT, respectivamente. El crecimiento del número de juveniles con respecto a LC fue isométrico y alométrico negativo con PT (tabla 2.16).

Tabla 2.15.- Parámetros de la regresión potencial del número de huevecillos (NH) por estadio en función de LC y PT

Fase	n	R	r^2	Ecuación	Intercepto	b	Significancia
Blástula	12	0.9344	0.8732	NH=0.0130LC ^{2.7498}	-4.3390	2.7498	F=68.904 P<0.05
Blástula	12	0.8980	0.8065	NH=39.429PT ^{0.7498}	3.6745	0.7499	F=41.690 P<0.05
Gástrula	10	0.6109	0.3732	NH=0.4533LC ^{1.7311}	-0.7911	1.7311	F=4.7644 P>0.05*
Gástrula	10	0.5556	0.3087	NH=94.642PT ^{0.3793}	4.5501	0.3793	F=3.5723 P>0.05*
Nauplio	7	0.6645	0.4416	NH=0.22x10 ⁻⁸ LC ^{5.688}	-15.3296	5.6887	F=3.9550

							P>0.05*
Nauplio	7	0.5357	0.2869	NH=15.287PT ^{1.094}	2.7270	1.0342	F=2.0123
							P>0.05*
Embrión	9	0.6314	0.3987	NH=0.4901LC ^{1.6604}	-0.7131	1.6604	F= 4.6420
							P>0.05*
Embrión	9	0.5407	0.2924	NH=48.476PT ^{0.5606}	3.8810	0.5606	F=2.8926
							P>0.05*
Juveniles	14	0.6756	0.4565	NH=0.0467LC ^{2.2594}	-3.0637	2.2594	F= 10.0810
							F<0.05
Juveniles	14	0.5379	0.2894	NH=46.391PT ^{0.5187}	3.8371	0.5187	F=4.8879
							P<0.05
Blástula*	33	0.8764	0.7682	NH=0.00077LC ^{3.4849}	-7.1605	3.4849	F=102.75
							P<0.05
Blástula*	33	0.8513	0.7248	NH=2.8690PT ^{1.0050}	2.8690	1.0050	F= 81.6451
							P<0.05

*relaciones no significativas

Tabla 2.16.- Tipo de crecimiento relativo de NH en función de LC y PT por fase de desarrollo embrionario

Fase	Relación	b	t*	P	Tipo de crecimiento
Blástula*	NH vs. LC	2.7498	5.2821	<0.001	Alometría +
Blástula**	NH vs. PT	0.7499	-19.3707	<0.001	Alometría -
Juvenil*	NH vs. LC	2.2594	1.7698	>0.05	Isométrico
Juvenil**	NH vs. PT	0.5187	-10.576	<0.001	Alometría -
Blástula*	NH vs. LC	3.4849	7.2279	<0.001	Alometría +
Blástula**	NH vs. PT	1.0050	-17.93343	<0.001	Alometría -

Para probar Ho: b=1* o b=3**

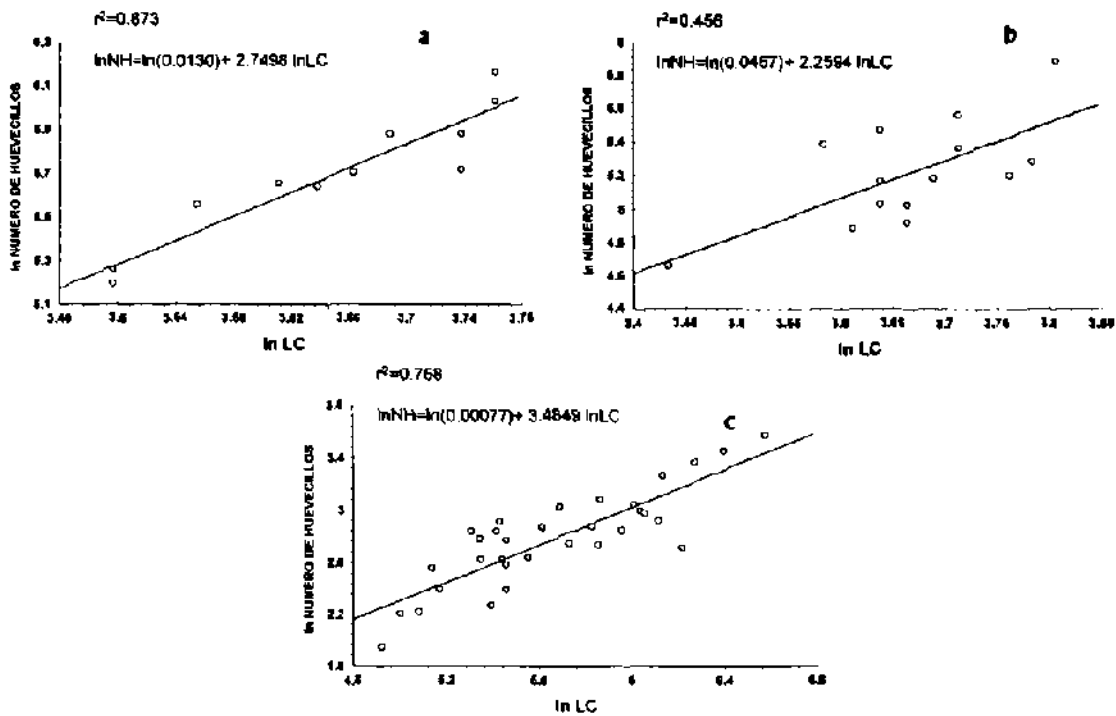


Figura 2.4.- Relación del número de huevecillos (NH) en función de LC. a) blastula, b) juveniles, c) blastula (laboratorio)

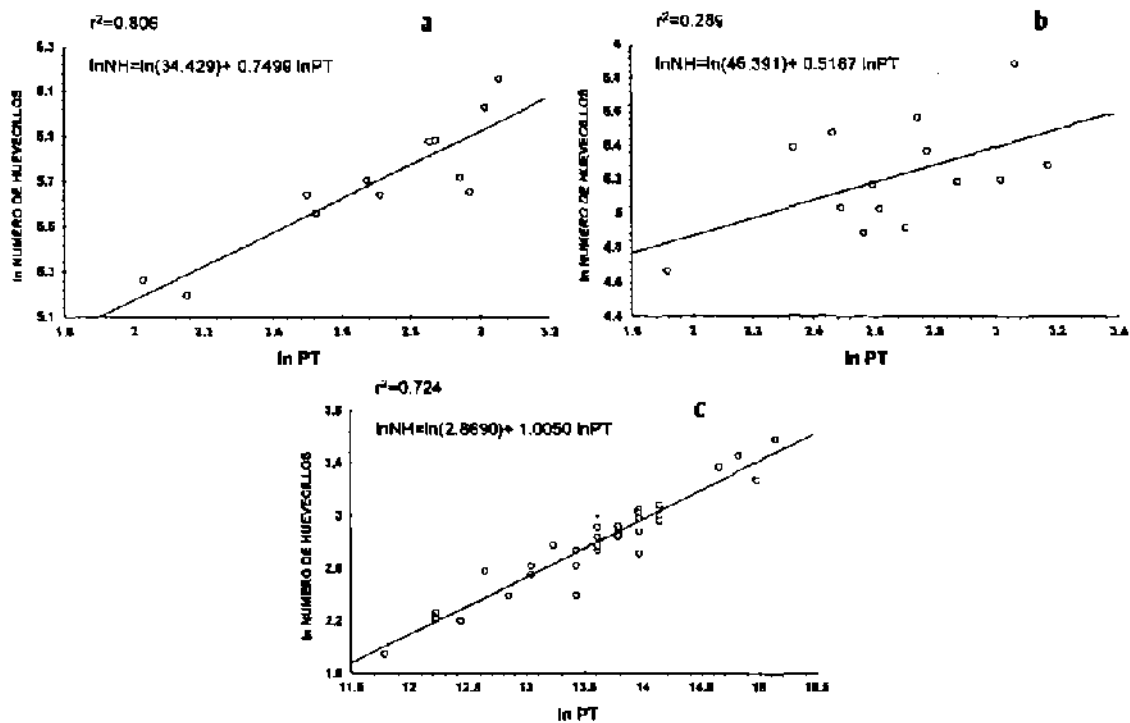


Figura 2.5.- Relación del número de huevecillos (NH) en función de PT. a) blastula, b) juveniles, c) blastula (laboratorio)

2.4.3.3.- Valores estimados del número de huevecillos por talla (LC)

Los valores calculados del número de huevecillos (NH) en función de LC, de los estadios de desarrollo embrionario donde las regresiones fueron significativas se presentan en la Tabla 2.17. La fase de blástula representa a la reproducción realizada y los juveniles a la reproducción actual. Al comparar el NH en blástula de hembras de campo y laboratorio, los valores resultaron mayores en las hembras de campo con tallas de 30 a 45 mm de LC, pero en las tallas de 50-55 mm, estos valores fueron más altos en las hembras que desovaron en laboratorio. El valor máximo calculado de huevecillos en blástula fue de 902.01 huevecillos. Los valores calculados de juveniles con respecto a hembras de 30 a 55 mm de LC, presentaron un rango de 101.59 a 399.67, estos valores presentan una similitud al valor mínimo y máximo de huevecillos en embrión tardío, que es la fase previa a la eclosión, cuyos valores fueron 138 y 281 huevecillos (Tabla 2.14).

Tabla 2.17.- Valores estimados de NH utilizando las regresiones obtenidas en cada estadio (HBC, HBL, JUV), en función de LC (mm).

Est.	Ecuación	30	35	40	45	50	55
HBC	$\ln NH = \ln(0.0130) + 2.749 \ln LC$	150.43	229.85	331.82	458.74	612.90	796.55
HBL	$\ln NH = \ln(0.00077) + 3.4849 \ln LC$	109.10	186.70	297.33	448.23	647.09	902.01
JUV	$\ln NH = \ln(0.046712) + 2.2594 \ln LC$	101.59	143.93	194.61	253.95	322.24	399.67

La diferencia porcentual de pérdida (DPP) entre OIV (potencial Reproductivo) y HBC (Reproducción Realizada) fue menor a medida que se incrementaba la talla de las hembras y presentó un valor promedio de 34.51. Esta misma relación se presenta al comparar OIV y HBL, pero el rango de DPP fue mayor (54.91-22.56 %) y el promedio porcentual fue 38.59 (Tabla 2.18).

La DPP entre HBC y HBL, HBC y JUV; y HBL y JUV, se incrementa a medida que aumenta de talla de las hembras, excepto entre HBC y HBL donde a tallas de 45 mm se presentó un decremento (0.97) y posteriormente un incremento (5.28). En esta misma relación la DPP de huevecillos promedio fue menor, que al

comparar los huevecillos en blástula de campo y laboratorio con juveniles (Tabla 2.19).

Tabla 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.

LC (mm)	OIV	HBC	DPP	HBL	DPP
30	241.98	150.43	37.83	109.10	54.91
35	360.88	229.85	36.30	186.70	48.26
40	510.17	331.82	34.95	297.33	41.71
45	692.37	458.74	33.74	448.23	35.26
50	909.87	612.90	32.63	647.09	28.88
55	1164.84	796.55	31.61	902.01	22.56
		Promedio	34.51		38.59

Tabla 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.

LC (mm)	HBC	HBL	DPP (%)	HBC	JUV	DPP (%)	HBL	JUV	DPP (%)
30	150.43	109.10	27.47	150.43	101.59	32.46	109.10	101.59	6.88
35	229.85	186.70	18.76	229.85	143.93	37.38	186.70	143.93	22.90
40	331.82	297.33	10.39	331.82	194.61	41.35	297.33	194.61	34.54
45	458.74	448.23	0.97	458.74	253.95	55.35	448.23	253.95	43.34
50	612.90	647.09	*5.28	612.90	322.24	47.42	647.09	322.24	50.20
55	796.55	902.01	*11.69	796.55	399.67	49.82	902.01	399.67	55.69
		Prom.	12.42			43.96			35.59

2.4.3.4.- Comparación de las regresiones entre Potencial Reproductivo y Reproducción Realizada

Se utilizó el método de comparación de dos pendientes de regresión (Zar, 1996), de las relaciones obtenidas con LC: Huevecillos en blástula de campo (HBC)

vs. Huevecillos en blástula de laboratorio (HBL), HBC vs. Ovocitos en estadio IV (OIV) y HBL vs. OIV. En todos los casos las pendientes fueron estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba t . En las tablas 2.20, 2.21 y 2.22 se presentan los estadísticos calculados y los resultados obtenidos.

Tabla 2.20.- Análisis de comparación de las pendientes de regresión de los huevecillos en blástula de campo y blástula de laboratorio con LC

Estadístico	Blástula	Blástula (lab.)	Conclusión
Σx^2	0.097483	0.3661	
Σxy	0.272912	1.274898	
Σy^2	0.86659	5.77884	
N	12	33	
B	2.7995	3.482376	
SC residual	0.102559	1.339166	
GL residual	10	31	
CM residual mancomunada			0.035164
$S_{b_1-b_2}$			0.675847
V (grados de libertad)			41
t calculada			1.010400
$t_{0.05(2), v}$			2.020
Prueba			Ho: $b_1 = b_2$
Decisión			Se acepta Ho:

Tabla 2.21.- Análisis de comparación de las pendientes de regresión de los huevecillos en blástula de campo y ovocitos en estadio IV con LC

Estadístico	Blástula	Estadio IV	Conclusión
ΣX^2	0.097483	0.258206	
Σxy	0.272912	0.662334	
Σy^2	0.86659	2.382322	
N	12	31	
B	2.7995	2.5651	
SC residual	0.102559	0.683345	
GL residual	10	29	
CM residual mancomunada			0.020151
S_{b1-b2}			0.533621
V (grados de libertad)			39
t calculada			0.439263
$t_{0.05 (2), v}$			2.023
Prueba			Ho: b1 = b2
Decisión			Se acepta Ho:

Tabla 2.22.- Análisis de comparación de las pendientes de regresión de los huevecillos en blástula de laboratorio y ovocitos en estadio IV con LC

Estadístico	Blástula (lab)	Estadio IV	Conclusión
ΣX^2	0.3661	0.258206	
Σxy	1.274898	0.662334	
Σy^2	5.77884	2.382322	
N	33	31	
B	3.482376	2.5651	
SC residual	1.339165	0.683345	
GL residual	31	29	
CM residual mancomunada			0.033708
S_{b1-b2}			0.471826
V (grados de libertad)			60
t calculada			1.94409
$t_{0.05 (2), v}$			2.000
Prueba			Ho: b1 = b2
Decisión			Se acepta Ho:

Debido a la similitud entre las pendientes, se compararon las elevaciones de dos pendientes (Zar, 1996), en las mismas relaciones mencionadas: HBC vs. HBL, HBC vs. OIV, HBL vs. OIV. En todos los casos se determinó que las pendientes tenían diferente elevación, de acuerdo a la prueba t. En las Tablas 2.23., 2.24, y 2.25 se presentan los estadísticos calculados y los valores de t.

Tabla 2.23.- Comparación de las elevaciones de dos pendientes (HBL y HBC), utilizando LC, como variable de referencia.

Estadístico	HBL vs. HBC	Comentarios
Suma de cuadrados de X para la "regresión común" (A_c)	$A_c = (\sum X^2)_1 + (\sum X^2)_2$ $A_c = 0.46358$	
Suma de los productos cruzados para la "regresión común" (B_c)	$B_c = (\sum xy)_1 + (\sum xy)_2$ $B_c = 1.54781$	
Suma de cuadrados de Y para la "regresión común" (C_c)	$C_c = (\sum y^2)_1 + (\sum y^2)_2$ $C_c = 6.64543$	
Suma de cuadrados residual para la "regresión común" (SS_c)	$SS_c = C_c - B_c^2/A_c$ $SS_c = 1.4775$	
Grados de libertad residual para "regresión común" (DF_c)	$DF_c = n_1 + n_2 - 3$ $DF_c = 42$	
MS residual para la "regresión común" ($S^2_{y,x})_c = SS_c/DF_c$	$(S^2_{y,x})_c = 0.03518$	
b_c	$b_c = 3.3388$	
Prueba estadística t	$t = 2.05783$ $t_{0.05(2), 42} = 2.018$	Se rechaza $H_0: b_1 = b_2$, las pendientes tienen diferente elevación

Tabla 2.24.- Comparación de las elevaciones de dos pendientes (HBC y OIV), utilizando LC, como variable de referencia.

Estadístico	HBC vs. OIV	Comentarios
Suma de cuadrados de X para la "regresión común" (A_c)	$A_c = (\sum X^2)_1 + (\sum X^2)_2$ $A_c = 0.35568$	
Suma de los productos cruzados para la "regresión común" (B_c)	$B_c = (\sum xy)_1 + (\sum xy)_2$ $B_c = 0.935246$	
Suma de cuadrados de Y para la "regresión común" (C_c)	$C_c = (\sum Y^2)_1 + (\sum Y^2)_2$ $C_c = 3.24891$	
Suma de cuadrados residual para la "regresión común" (SS_c)	$SS_c = C_c - B_c^2/A_c$ $SS_c = 0.78971$	
Grados de libertad residual para "regresión común" (DF_c)	$DF_c = n_1 + n_2 - 3$ $DF_c = 40$	
MS residual para la "regresión común" ($S^2_{y,x})_c = SS_c/DF_c$	$(S^2_{y,x})_c = 0.01974$	
b_c	$b_c = 2.62945$	
Prueba estadística t	$t = -1212.2523$ $t_{0.05(2), 40} = 2.021$	Se rechaza $H_0: b_1 = b_2$, las pendientes tienen diferente elevación

Tabla 2.25.- Comparación de las elevaciones de dos pendientes (HBL y OIV), utilizando LC, como variable de referencia.

Estadístico	HBL vs. OIV	Comentarios
Suma de cuadrados de X para la "regresión común" (A_c)	$A_c = (\sum x^2)_1 + (\sum x^2)_2$ $A_c = 0.62430$	
Suma de los productos cruzados para la "regresión común" (B_c)	$B_c = (\sum xy)_1 + (\sum xy)_2$ $B_c = 1.93723$	
Suma de cuadrados de Y para la "regresión común" (C_c)	$C_c = (\sum y^2)_1 + (\sum y^2)_2$ $C_c = 8.16116$	
Suma de cuadrados residual para la "regresión común" (SS_c)	$SS_c = C_c - B_c^2/A_c$ $SS_c = 2.14985$	
Grados de libertad residual para "regresión común" (DF_c)	$DF_c = n_1 + n_2 - 3$ $DF_c = 61$	
MS residual para la "regresión común" ($S^2_{y,x})_c = SS_c/DF_c$	$(S^2_{y,x})_c = 0.03524$	
b_c	$b_c = 3.10304$	
Prueba estadística t	$t = 4.13043$ $t_{0.05(2), 61} = 2.000$	Se rechaza $H_0: b_1 = b_2$, las pendientes tienen diferente elevación

2.5. DISCUSION

2.5.1. Talla de las hembras

La talla de maduración sexual de *P. clarkii* es de 50 mm de LT y puede alcanzar una longitud de hasta 108 mm (Huner y Barr, 1984; Corey, 1987; Huner, 1990; Aiken y Waddy, 1992). Las hembras recolectadas presentaron un rango de 67 a 104 mm de LT, que coincide con el rango de madurez sexual de esta especie. Las posibles variaciones en talla entre poblaciones de una misma especie de acociles, depende de su potencial genético y condiciones ambientales (Momot, 1984; Lutz y Wolters, 1986), y es reconocido en estos crustáceos, el amplio rango de talla a la cuál maduran (Huner, *et al.*, 1994). Al respecto, Sommer (1984) y Huner y Lindqvist (1991), registraron hembras grávidas de *P. clarkii*, a partir de los 70 mm de LT, para este estudio se encontró una ligera diferencia a lo anterior, ya que la talla inferior para una hembra grávida fue de 67 mm. La talla de maduración en otras especies del género *Procambarus* varía de 45 a 125 mm (Huner y Barr, 1984; Huner, 1990; Aiken y Waddy, 1992). Pero recientemente, Rodríguez-Serna *et al.* (2000), reporto para *P. llamasii* que el comportamiento reproductivo se inicia cuando las hembras alcanzan una talla de 31 mm, pero solamente ovipositan sus huevos cuando alcanzan tallas entre los 40 y 60 mm.

2.5.2. Potencial Reproductivo

2.5.2.1. Producción de ovocitos

El estudio de Huner y Lindqvist (1991), menciona que *P. clarkii* produce de 325 a 605 ovocitos dependiendo de la talla entre un rango de 70 a 100 mm de LT (35 a 50 mm de LC). En este estudio, las hembras con las mismas tallas produjeron entre 371 a 1038 ovocitos, lo cual es mayor a lo previamente señalado. En otras especies de acociles, como *P. acutus* y *Orconectes rusticus*, se han registrado una producción hasta 460 ovocitos, como los valores máximos (Huner y Lindqvist, 1991). De acuerdo a los valores promedio de ovocitos por estadio gonadal, se presentó un mayor potencial reproductivo en los ovocitos tempranos que en los ovocitos tardíos. Este hallazgo es similar a lo reportado por

Corey (1987), para diferentes poblaciones de *O. propinquus*. Al respecto, se considera que la densidad, la calidad del agua (oxígeno y temperatura), el alimento y la talla de las hembras (Momot y Gowing, 1977; Mommot, 1984; Corey, 1991), actúan como los principales factores que afectan el potencial reproductivo de acociles.

2.5.2.2. Relación Número de ovocitos-Talla de las hembras

En diversas especies de acociles como *P. hayi*, *Cambarus longulus*, *C. robustus*, *O. rusticus*, *O. virilis*, *O. propinquus* y la especie de referencia en este estudio, se ha observado una relación positiva entre el número de ovocitos maduros y la talla (LC) de las hembras (France, 1987; Corey, 1991; Huner y Lindqvist, 1991). Esta misma relación fue observada en las hembras utilizadas, pero no solamente con los ovocitos maduros, sino también con ovocitos inmaduros. Incluso, la relación no solo fue significativa con LC, sino también con el PT de las hembras. Pero además, los valores de correlación (r) de los ovocitos en III y IV estadio fueron mayores a los determinados en las especies anteriormente mencionadas.

2.5.2.3. Crecimiento alométrico de los ovocitos

Se determinó que la velocidad de incremento de los ovocitos (alometría positiva) fue mayor a medida que se incrementa la talla (LC) de las hembras en los estadios II y III. En cambio en el estadio IV se presentó una alometría negativa. Esta diferencia en el tipo de crecimiento puede atribuirse a diferentes factores, por ejemplo, los ovocitos del estadio IV tuvieron una talla mayor a un mm. Durante este estadio, la gónada ocupó gran parte del caparazón, por el notable incremento en volumen de los ovocitos, pero con una consiguiente reducción en el número de estos. Esta misma observación fue hecha por Corey (1991), al determinar una pendiente de regresión más alta en la relación talla-ovocitos de *O. propinquus* que en *C. robustus*, esta última especie presentó ovocitos de mayor talla. Esto ocasionó que ocupen totalmente el espacio del cefalotórax que está destinado para el crecimiento ovárico. Además, que existió una reabsorción de ovocitos que ocurrió durante el desarrollo gonadal. La anterior aseveración es respaldada por

los resultados de este estudio, al encontrar diferente elevación de las pendientes por estadio al considerar NO vs LC o PT.

2.5.2.4. Estimación del número de ovocitos por estadio gonadal

La utilidad de relacionar el NO con la talla de las hembras (LC o PT), permitió obtener ecuaciones para estimar el NO por talla, en este caso, fue observado una mayor producción de ovocitos a través de su desarrollo. Al respecto, Huner y Lindqvist (1991), señalaron la importancia de estimar la producción de huevecillos u ovocitos en función de la talla, para diferentes especies de acociles de importancia comercial.

2.5.2.5. Pérdida de ovocitos por estadio gonadal

De acuerdo al porcentaje de pérdida de ovocitos entre un estado gonadal y otro, la mayor pérdida fue entre el estadio II y IV (18.30%) y la menor pérdida entre el estadio II y III (13.27%). Esta pérdida de ovocitos fue inferior a lo registrado para el acocil *O. propinquus*, quien presentó una pérdida de ovocitos durante el desarrollo de la gónada del 15 al 75% (Corey, 1991).

2.5.3. -Reproducción Realizada y Reproducción actual

2.5.3.1. Valores del número de huevecillos

En los acociles, como en *O. virilis* el promedio de huevos adheridos a la hembra, es usualmente inferior al promedio de número de ovocitos (Momot y Gowing, 1977). En el caso del acocil rojo *P. clarkii*, las hembras producen de 12 a 956 huevecillos y existe una notoria relación de esta producción con la talla (Penn, 1943; Avault, Jr., 1972; Huner, 1978a; Sommer, 1984; Huner y Lindqvist, 1991). En este estudio, la fecundidad observada para las hembras de campo y laboratorio, quedó dentro del rango mencionado. En el primer grupo fue observado valores de 138 hasta 495 huevecillos adheridos. Mientras que las hembras mantenidas en el laboratorio, presentaron una mayor fecundidad, con un valor máximo de 719 huevecillos.

2.5.3.2. Relación fecundidad-talla

Con respecto, a la relación del número de huevecillos con la talla, esta fue solamente significativa en los huevos recién desovados (campo y laboratorio) e incluyendo la fase juvenil. Este tipo de relación, también ha sido estudiada en los acociles de las especies *Pacifastacus leniusulus*, *Orconectes limosus*, *O. propinquus*, *C. robustus* (Abrahamsson y Goldman, 1970; Corey, 1987; Smith, 1981), *O. virilis* (Momot, 1981), *P. llamasí* (Rodríguez-Sandoval *et al.*, 2000) y *Cherax quadricarinatus* (Showalter, 1996); además de otras especies de crustáceos decápodos (e. g. Jewett, *et al.*, 1985; Corey, 1987; Oh y Hartnoll, 1999; Tsuchida y Watanabe, 1997), en todos ellos se encontró una relación significativa entre ambos parámetros. A este respecto, Somers (1991), consideró que la fecundidad es una medida volumétrica que tiende a incrementarse exponencialmente con la talla de las hembras.

Sin embargo, es importante resaltar que al momento de analizar este tipo de relación biométrica, se debe considerar la edad de las hembras. Por ejemplo, Shields (1991), encontró que puede no existir una relación fecundidad-talla en las especies del cangrejo *Cancer*, atribuyendo esto a que las hembras de mayor talla pudieron estar en senectud y por lo tanto, produzcan menos huevos que las hembras más pequeñas, que presentaron un mayor potencial reproductivo.

2.5.3.3. Estados de desarrollo de los huevecillos

En los estudios sobre reproducción realizada con el acocil rojo (e.g. Sommer, 1984; Huner y Lindqvist, 1991), no se menciona si fue considerado el estado de desarrollo embrionario de los huevecillos, ya que de un estado a otro, se puede presentar diferencias significativas en los valores de fecundidad. En cambio, Bauer (1991) y Guerao *et al.* (1994), al estudiar la fecundidad de diferentes especies de camarones carideos, solamente consideraron aquellas hembras que presentaban huevecillos de los primeros estados, ambos argumentaron que existe una pérdida significativa de huevecillos en etapas más tardías de su desarrollo.

En este estudio, las hembras ovígeras si fueron separadas de acuerdo a la fase de desarrollo de los huevecillos propuesta por Huner y Barr (1984). Pero, como se indicó anteriormente la relación fecundidad-talla, solo fue significativa para las hembras con huevecillos en blástula (estado I) y hembras que llevaron juveniles. Por lo tanto, solo estos lotes de hembras fueron consideradas para analizar el tipo de crecimiento alométrico de los huevecillos y/o juveniles en función de la talla.

2.5.3.4. Crecimiento Alométrico y estimación del número de huevecillos

El crecimiento de los huevecillos fue alométrico positivo y negativo al asociarse con la LC y el PT, respectivamente. En cambio la fase juvenil presentó isometría con respecto a LC.

Huner y Lindqvist (1991), al utilizar ecuaciones de regresión estimaron el número de huevos que puede producir las hembras de *P. clarkii* y otros acociles, de acuerdo a su talla. Para la primera especie fue estimado hasta 535 huevecillos a tallas de 100 mm de LT (50 mm LC). En este estudio, se estimó que las hembras a esta misma talla producen 612.90 y 647.09 huevos en blástula (recién desovados), para los especímenes de campo y laboratorio, respectivamente.

2.5.3.5. Factores que afectan la Reproducción Realizada y la Reproducción actual

Las diferencias observadas en los valores de fecundidad para *P. clarkii*, están íntimamente ligadas a diversos factores como calidad del agua, disponibilidad de refugio y alimento (Huner y Lindqvist, 1991). En este último aspecto, Fernández *et al.* (1994), señalo que las hembras de esta especie requieren gran cantidad de energía para la producción de huevecillos. Por ejemplo, en el acocil *O. virilis* la relación fecundidad-talla es más alta en los lagos productivos (Momot, 1978).

La pérdida significativa de huevecillos y larvas que ocurre mientras están adheridos a las hembras, es otra causa de la variabilidad en la fecundidad en las especies de acociles y otros grupos de crustáceos (Corey, 1987, 1991). De

acuerdo a Corey (1987), la velocidad de la corriente del agua es el principal factor ambiental que origina la pérdida de huevecillos en los acociles.

De acuerdo a Penn (1943) y Corey (1991), los porcentajes de pérdida que ocurre de ovocitos maduros a huevecillos recién liberados, varía con la especie de acociles, y alcanzan valores máximos del 69.8 %. Para *P. clarkii*, esta pérdida fue de 38.3 %. En este estudio, los resultados fueron casi similares, la pérdida estimada fue de 34.51 y 38.59%, para hembras de campo y laboratorio, respectivamente. En otras especies de crustáceos decápodos, también fue calculado el porcentaje de pérdida de huevecillos, por ejemplo, las langostas pierden del 30 al 50% (Talbot, 1991) y la langosta de uña roja (*Cherax quadricarinatus*) del 20 al 40% (Showalter, 1996).

La pérdida porcentual de la reproducción actual (número de juveniles) al compararse con los huevecillos en blástula (estado I), tanto de hembras de campo y laboratorio, fue 43.96 y 35.59, respectivamente. Estos valores son mayores a lo reportado por Penn (1943), quien registro una pérdida de 28% de crías, pero no encontró una asociación con la talla de la hembra. En este estudio si existió una relación significativa entre el número de juveniles y la talla de los especímenes revisados.

2.6. CONCLUSIÓN

Talla de las hembras

Las hembras presentaron un amplio rango en la talla de madurez sexual, que es característico de esta especie.

Potencial Reproductivo

Las hembras utilizadas en este estudio presentaron un mayor potencial reproductivo, con respecto a lo registrado en otros estudios similares para *Procambarus clarkii*.

Se encontró una relación lineal positiva entre la talla o peso de las hembras con respecto al número de ovocitos inmaduros y maduros producidos por el ovario. Sin embargo, el tipo de crecimiento alométrico de los ovocitos fue diferente de acuerdo a su estado de desarrollo.

De acuerdo a las observaciones y el análisis de los ovarios de distinto estado gonadal. Se encontró que durante el desarrollo del ovario se pierde una cantidad significativa de ovocitos, y de acuerdo a las estimaciones hechas fue mayor entre los estadios II y IV, con valores de hasta 27%.

Reproducción realizada y Reproducción actual

La reproducción realizada fue inferior al potencial reproductivo.

Los valores de fecundidad obtenidos para hembras recolectadas en campo y las mantenidas en laboratorio, se ajustan al rango establecido para esta especie. Sin embargo, el número de huevecillos o juveniles fue significativamente diferente de acuerdo al desarrollo de los mismos.

Para establecer una mejor relación entre la talla y número de huevecillos adheridos, es más adecuado hacer la estimación de fecundidad, cuando los huevecillos hayan sido recién desovados (en blástula). Considerando que hay una pérdida significativa de estos durante la incubación.

Los valores estimados de pérdida de huevecillos son mayores a medida que se incrementa la talla de las hembras y cuando los huevecillos pasan de un estadio de desarrollo a otro.

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

3.1. ANTECEDENTES

3.1.1.- Anatomía y descripción de los ovarios en crustáceos decápodos

En los crustáceos, los ovarios están localizados ya sea dorsal o dorsolateralmente al intestino como en otros artrópodos mandibulados (Adiyodi y Subramoniam, 1983). En los verdaderos cangrejos (*Brachyura*), el ovario tiene forma de H, conectándose a un cuerpo central de tejido ovárico (Payen, 1974), mientras que en los camarones, los ovarios son pareados fusionándose con cuerpos bilaterales, extendiéndose así desde la región cardíaca del estomago hasta el telson. Existe una serie de lóbulos de cada lado del ovario, los primeros lobulos anteriores se extienden a lo largo del cefalotórax, estos son llamados lóbulos anteriores, enseguida se localizan los lóbulos medios, situados al lado del hepatopáncreas y finalmente los abdominales que se extienden hacia el telson (Adiyodi y Subramoniam, 1983). En el langostino *Macrobrachium lanchesteri*, los ovarios se encuentran confinados solamente al cefalotórax y no se extienden posteriormente (Woo-Khoo, 1988). En las langostas espinosas y homáridas los ovarios se presentan a manera de bastones cilíndricos pareados, localizados entre el corazón y el tracto alimenticio (Aiken y Waddy, 1980).

En los cambáridos (acociles) las gónadas en ambos sexos son trilobuladas y se sitúan entre el corazón (inmediatamente abajo y delante de él) y el tubo digestivo. Estas se dividen en dos lóbulos anteriores y un lóbulo posterior. En las hembras los oviductos (uno a cada lado) desembocan en las aberturas de las papilas genitales que se encuentran en la base del 3er. par de pereiópodos. Antes y después de ovipositar, estas papilas son cubiertas por una capa muy fina de exoesqueleto. En el macho existen dos canales deferentes enrollados (uno a cada lado del testículo) muy largos y estrechos, que desembocan en las aberturas de

las papilas fálicas localizadas en la base del 5º par de pereiópodos (Huner y Barr, 1984). De la Bretonne y Azaul (1975), consideran cuatro estadios de desarrollo, cuyas características corresponden a la siguiente descripción:

i) Condición gestada, las gonádas son blancas y pequeñas, no se distinguen los ovocitos.

ii) Gonádas de color crema, se empieza a distinguir los ovocitos.

iii) Gonádas de color rosa, los ovocitos son más numerosos y se distinguen los huevos.

iv) Gonádas de color rojo, los ovocitos son muy numerosos y se distinguen los huevos.

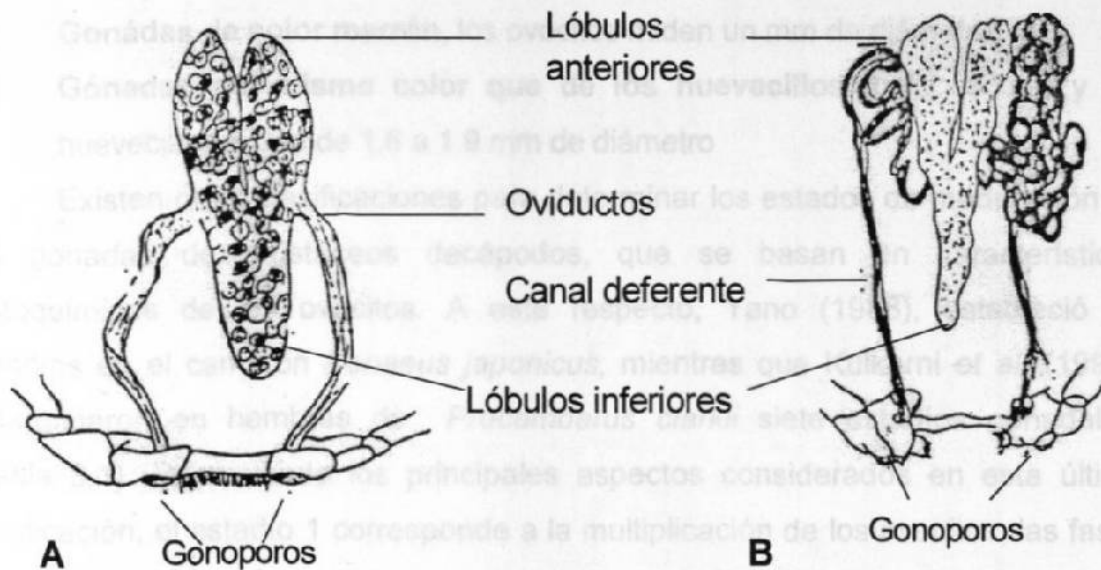


Fig. 3.1.- Estructuras gonadales de *Procambarus clarkii*. A) Hembra y B) Macho (Tomado de Arrignon, J., 1979).

3.1.2.-Clasificación de las gonádas de acuerdo a sus características morfológicas e histoquímicas

Durante el desarrollo de los ovarios de los decápodos, estos cambian en talla y color, desde su inicio hasta la madurez, variando durante los ciclos de vitelogénesis y oviposición (Aiken y Waddy, 1980). Estos cambios en la morfología y el color han propiciado que se establezcan diversas clasificaciones tomando en cuenta estos criterios (Woo-Khoo, 1988).

El número de estados ováricos, varía de especie a especie, por ejemplo en las langostas de los géneros *Jasus*, *Panulirus* y *Nephrops*, se han establecido siete, seis y 5-6 estados de desarrollo, respectivamente (Aiken y Waddy, 1980). Mientras que el camarón *Penaeus merguensis* y otros peneidos, así como en el langostino *Macrobrachium lanchesteri* se diferencian cuatro estadios (Woo-Khoo, 1988).

En el caso particular de *Procambarus clarkii*, especie de interés en este estudio, De la Bretonne y Avault (1976), consideran cuatro estadios de desarrollo, cuyas características corresponden a la siguiente descripción:

- I) **Condición gastada**, las gónadas son blancas y pequeñas, no se distinguen los ovocitos.
- II) **Gonádas de color crema**, se empieza a distinguir los ovocitos.
- III) **Gonádas de color marrón**, los ovocitos miden un mm de diámetro
- IV) **Gónadas del mismo color que de los huevecillos** (café oscura) y los huevecillos miden de 1.6 a 1.9 mm de diámetro

Existen otras clasificaciones para determinar los estados de maduración de las gónadas de crustáceos decápodos, que se basan en características histoquímicas de los ovocitos. A este respecto, Yano (1988), estableció 10 estadios en el camarón *Penaeus japonicus*, mientras que Kulkarni *et al.* (1991), determinaron en hembras de *Procambarus clarkii* siete estadios gonadales, (Tabla 3.1). Resumiendo los principales aspectos considerados en esta última clasificación, el estadio 1 corresponde a la multiplicación de los ovocitos, las fases inmadura y avitelogénica se presentan en los estadios 2 y 3 respectivamente, y del 4 al 5 corresponden a la fase vitelogénica, acomodándose las células foliculares alrededor de los ovocitos a partir del estadio 3. En los estadios del 4 al 6 se desarrollan gránulos de vitelo en el citoplasma.

Desde un punto de vista general los estudios sobre maduración gonadal de los crustáceos ha sido ampliamente revisada por Adiyodi y Subramoniam (1983), Meusy y Charniaux-Cotton (1984), Charniaux-Cotton, (1985) y Meusy y Payen (1988).

Tabla 3.1.- Comparación de los diferentes estadios gonadales basados en sus características histoquímicas y desarrollo de ovocitos, de acuerdo a Kulkarni *et al.* (1991).

Característica	Oogonial (1)	Inmaduro (2)	Avitelogénico (3)	Vitelogénico temprano (4)	Vitelogénico intermedio (5)	Vitelogénico tardío (6)	Postvitelogénico (7)
Diámetro del ovocito	< 10 μ m	10 - 50 μ m	66-160 μ m	161-245 μ m	246-455 μ m	456-980 μ m	Degenerados
Diámetro del núcleo	-----	6.5-48 μ m Muy desarrollado	30-42.5 μ m	32-43.5 μ m	28.5-34.5 μ m	24-30 μ m	Degenerados
Forma del ovocito	-----	Esféricos	Esféricos, elípticos	Esféricos	Esféricos	Cuadrados	Degenerados
Presencia de folículos alrededor	-----	No	Si	Si	Si	Si	Menor cantidad y forman espacios
Zona perinuclear	-----	No	No	No	Presente	Presente	No se aprecia
Posición del núcleo	-----	Central	Central	Central	Central	No siempre es central	Deforme
Presencia de nucléolos	-----	No	Generalmente 1 (Periférico)	2-3, casi nunca más (periféricos)	3-4 y a veces más periféricos	Más que el anterior	-----
Presencia de vitelo	-----	No	No	Si	En gran cantidad	Si	Empezan a desaparecer
Presencia de vacuola	-----	No	No	No	Si, única y distintiva	No	-----
Presencia de cromatina	-----	No	Si	Si	Si	Si	Más compacta
Presencia de membrana	-----	No bien definida	Bien definida	Bien definida	Bien definida	Bien definida	No

3.1.3.- Estudios sobre histología gonadal en crustáceos decápodos

En los estudios de reproducción, las técnicas histoquímicas han sido una herramienta muy útil en la determinación de las características del ciclo de maduración gonadal de muchas especies de crustáceos, como se señala en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2.- Antecedentes sobre el uso de técnicas histológicas para el estudio del ciclo gonadal de hembras en diferentes especies de crustáceos.

Autor, Año	Especie	Técnica Histológica	# de estadios	Propósito del estudio	Método de observación
Perryman (1969).	<i>Procambarus simulans</i>	Hematoxilina y Eosina de Delafield Aldehído-fucsina de Gomori	-----	Cambios en el ciclo ovárico inducidos por la luz	Microscopía óptica
Duronslet et al. (1975).	Camarones peneidos	*Uranil Metanólico acetato de uranilo **Azul de metileno acuoso	V	Crecimiento del huevo	*M. Electrónica **M. óptica
Fauvel (1981).	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Tricromo de Gabe PAS, Hematoxilina de Groat	-----	Determinación del ciclo reproductivo	Microscopía óptica
Pochon-Mason, et al. (1984).	<i>Carcinus maenas</i>	Tricromo de Gabe o eosina-hemalun	-----	[] de taurina en ovarios y hepatopáncreas	Microscopía óptica
Tom, et al. (1987*).	<i>Parapenaeus longirastris</i>	Feulgen picro metil azul Black Sudan B	-----	Caracterización de la vitelina	Microscopía óptica
Paulus y Laufer (1987).	<i>Carcinus maenas</i> y <i>Libinia emarginata</i>	Hematoxilina y eosina de *Gill **PAS contrastado con verde rápido	III	Determinación de vitelogénesis	*Ovario y hepatopáncreas **Hepatopáncreas Microscopía de luz
Yano y Chinzei (1987).	<i>Penaeus japonicus</i>	Delafield Hematoxilina Eosina Plus	VI	Determinación del sitio de síntesis de la vitelogenina	Microscopía de luz
Yano (1988).	<i>Penaeus japonicus</i>	Delafield Hematoxilina y Eosina Plus Black Sudan B	X	Desarrollo de los Ovocitos	Microscopía de luz
Tsumura y Nakagawa. 1989	<i>Palaemon paucidens</i>	Hematoxilina y Eosina	III	Acumulación de vitelina	Microscopía óptica
Sandoval-Quintero y	<i>Penaeus brasiliensis</i>	Hematoxilina y Eosina	V	Estado de desarrollo gonadal	Microscopía óptica

Gracia (1998).					
-------------------	--	--	--	--	--

3.1.4.- Índices Gonadosomáticos

Los índices gonadosomáticos (IGS) establecen la relación proporcional que existe entre el peso del ovario y el peso de la hembra. Considerando que el peso del ovario puede ser usado como indicador de la maduración del mismo, dicho peso va a caracterizar un estado de desarrollo ovárico en particular; incrementándose proporcionalmente al volumen corporal (De Vlaming, *et al.*, 1982; Aiken y Waddy, 1980). La utilización de Índices gonadosomáticos en casi todos los decápodos para el estudio de su reproducción, ha sido de gran beneficio científico, ya que así se ha podido conocer la maduración gonadal y épocas de desove (Gonor, 1972 y De Vlaming *et al.*, 1982). El uso de los métodos de relación para normalizar la talla gonadal supone que, en una población dada, los animales de diferente talla, mantienen la relación talla gonadal-talla corporal. Además, el índice gonadal es útil en la comparación de animales de la misma talla a través del tiempo en una población o de diferentes hábitats (Gonor, 1972).

El peso del ovario puede ser usado como un indicador de la maduración de este, sin embargo, este peso debe ser utilizado para un particular estado de desarrollo ovárico, por ejemplo, el ovario de una langosta de gran talla contiene más ovocitos que las langostas más pequeñas, es decir que el peso del ovario en cualquier estadio, se incrementa en proporción al volumen corporal (Aiken y Waddy, 1980).

El Índice Gonadosomático (IGS):

$$IGS = \text{Peso del ovario} / \text{Peso total de la hembra} \times 100$$

Es de uso común para evaluar el crecimiento gonadal. Sin embargo, Grant y Tyler (1983), consideran que los índices gonádicos solamente son satisfactorios en especies de peces con una reproducción estacional marcada. Por otra parte, Erickson *et al.*, (1985), mencionan que los IGS al ser usados para cuantificar la condición reproductiva de peces, pueden resultar inapropiados con ejemplares de

diferentes tallas, sin embargo, el crecimiento gonadal es frecuentemente alométrico. De aquí que este autor haya desarrollado otro índice denominado Índice Gonadal Relativo (IGR), el cual cuantifica la condición reproductiva de un animal independientemente de la talla de estos. En este índice se considera una relación del peso gonadal y la talla del ejemplar (menos el peso gonadal), de acuerdo a la siguiente ecuación de regresión: $W = a S^b$. Al menos en las tres especies de peces que utilizó, el IGR fue más satisfactorio que el IGS.

Los estudios sobre IGS en acociles han sido realizados por Kulkarni *et al.* (1991), quienes observaron para *Procambarus clarkii*, que los IGS se incrementaban hasta el estadio 6, sin embargo, para el 7 (Fase Postvitelogénica) este índice decreció. Por otra parte, Tobias-Chavana (1991), realizó un estudio de ablación unilateral del pedúnculo ocular en *P. clarkii*, observando que con este método, se acelera el desarrollo gonadal en organismos que no habían mudado, y encontró que las hembras que mudaron presentaban IGS más bajos, presumiblemente a causa de la exclusión mutua de los procesos de muda y reproducción, como se mencionó anteriormente. También encontró una correlación positiva al estudiar la relación existente entre la talla de la hembra y la longitud de la gónada de los acociles en laboratorio.

Otros factores tienen influencia determinante en el desarrollo gonadal. Así, Daniels *et al.* (1994), evaluó los índices gonadosomáticos y hepatosomáticos en *Procambarus clarkii* en función de la temperatura y fotoperíodo, los valores máximos del IGS se realizaron en especímenes sometidos a fotoperíodo corto (10 horas-luz: 14 horas-oscuridad) y a una temperatura de 29 ° C. En relación con lo anterior, González-Aguilar (1995), para una población de *P. clarkii* en Santiago, Nuevo León, encontró que los IGS tuvieron los valores más altos en el estadio IV y durante el mes de Agosto.

El estudio concerniente a reproducción de crustáceos ha generado cierto cúmulo de información sobre la determinación de IGS en varias especies de decápodos, algunos de los cuales se presentan en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3.- Antecedentes sobre el uso de Índices Gonadosomáticos para estudios de reproducción en crustáceos.

Año	Autor	Especie	Estadio	Valor IGS	Observaciones
1974	Bomirski y Klek	<i>Rhithropanopeus harrisi</i> (sin IGS), <i>Crangon crangon</i>	-----	0.29 - 1.78* 0.30 - 1.06**	*IGS para <i>C. Crangon</i> con extirpación de pedúnculos oculares. **IGS, misma especie, hembras inyectadas con extracto de pedúnculo ocular.
1981	Quackenbush y Herrnkind	<i>Panulirus argus</i>	-----	1.22 - 4.518* 0.259 - 1.15**	*IGS de hembras inyectadas con extracto de pedúnculo ocular de <i>Uca pugilator</i> . **Hembras intactas.
1982	Nakagawa <i>et al.</i>	<i>Palaemon paucidens</i>	-----	1.0 - 14.5*	*IGS; el diámetro del ovocito fue de 160 a 1210 μm , no aumentó proporcionalmente con el IGS. Crecimiento discontinuo.
1989	Tsumura y Nakagawa	<i>Palaemon paucidens</i>	I - III	$\leq 1.5 - \geq 4.5$	I.- IGS < 1.5, II.- IGS de 1.5 a 4.5; III.- IGS > 4.5.
1991	Kulkarni <i>et al.</i>	<i>Procambarus clarkii</i>	I - VII	0.006* - 2.622**	* Ovario inmaduro; **Ovario en vitelogénesis tardía.
1993	Chang, <i>et al.</i>	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	-----	≥ 5	Solamente usaron hembras con IGS ≥ 5 y ovocitos ≥ 0.35 mm de diámetro (hembras maduras).
1993	Haefner, Jr. y Spaargaren	<i>Crangon crangon</i>	I - VIII	0.483 (I) 5.978 (VII)	Incremento en peso, 69% de desarrollo ovárico hasta previtelogénesis; 282% de pre a vitelogénesis.
1993	McClintock <i>et al.</i>	<i>Callinectes sapidus</i>	-----	* 0.8 - 1.7	* Los IGS se realizaron en hembras y machos
1994	Daniels <i>et al.</i>	<i>Procambarus clarkii</i>	-----	0.079 - 1.225	Hembras maduras, con 2 tratamientos a diferente T°C y fotoperiodo.
1995	Chu	<i>Metapenaeus ioxneri</i>	V	0.6 - 7.9	Ovarios de 15 individuos
1995	Courtney <i>et al.</i>	<i>Penaeus plebejus</i>	-----	≤ 0.15	Concluyen que el IGS no es un buen indicador de reproducción en camarón.

1996	Medina et al.	<i>Penaeus kerathurus</i>	I - V	1.0 - 2.8* 1.4 - 3.7**	*IGS mensuales de hembras silvestres. **IGS de hembras mantenidas en estanques.
1996	Sagi et al.	<i>Cherax quadricarinatus</i>	-----	0.42* - 2.15**	*Hembras previtelogénicas, ovocitos 287µm **Hembras vitelogénicas, ovocitos de 1020µm
1997	Lee y Chang	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	I - V	0.48 - 7.42 (I - V)	El IGS se incrementa con el desarrollo del ovario.
1998	Alunno-Bruscia y Sainte-Marie	<i>Chionoecetes opilio</i>	I - III	Los valores se expresan en ln	Sólo consideran hembras de \geq 28.9 mm de LC
1998	Spaargaren & Haefner	<i>Crangon crangon</i>	I - VIII	0.483*, 5.978**	*Mínimo; **Máximo.
1999	Chu-Woong y Hartnoll	<i>Philocheras trispinosus</i>	V	7 - 9	-----

3.1.5.- Índices Hepatosomáticos (IHS)

En muchos crustáceos decápodos, el hepatopáncreas es una masa glandular pareada larga y compacta, que ocupa gran parte de la cavidad del cefalotórax y se localiza a los lados del estómago e intestino anterior. Esta glándula se une al intestino medio a través de un par de conductos primarios, y estos se ramifican en cientos de tubulos secundarios, los cuales se conectan a la masa lobular de este tejido. En *Procambarus clarkii*, los tubos primarios se unen en la parte ventrolateral del intestino medio (Gibson y Barker, 1979; Ceccaldi, 1998).

El patrón de coloración presente en el hepatopáncreas es variable entre los distintos grupos de decápodos, dando tonalidades de café amarillento en las especies *Cancer pagurus*, *Paratelphusa hydrodromus*, *Metapenaeus bennettiae* y *Scylla serrata* o verde amarillento en *Homarus gammarus* y *Cambarus virilis*. Otros colores observados son el amarillo naranja (*Panulirus polyphagus*), rojo-naranja (*Palaemon macolmsonii*), amarillo o café (*Astacus fluviatilis*, *Cambarus virilis*, *Cancer pagurus* y *Nephrops*) (Gibson y Barker, 1979). En *Astacus leptodactylus*,

se han observado cambios de coloración del hepatopáncreas durante el ciclo de muda, dando tonalidades de verde a amarillo (Durliat y Vranckx, 1982).

El β caroteno es el principal pigmento en los crustáceos decápodos, con un 42-90% del contenido total de carotenoides. Otros pigmentos identificados son la astaxantina, luteína, flavoxantina y la 4-keto-zeaxantina (Gibson y Barker, 1979). Estos pigmentos pueden estar presentes en el ovario, pero previamente se concentran en el hepatopáncreas y pasan posteriormente a la hemolinfa durante la vitelogénesis (Varadarajan y Subramonian, 1980).

El hepatopáncreas es un órgano vital de los crustáceos, ya que es responsable de diversas funciones, como las síntesis y secreción de enzimas digestivas y la subsiguiente toma de nutrientes, pero también está implicado en la excreción, ciclo de muda, almacenamiento de reservas inorgánicas y el metabolismo de lípidos y carbohidratos, y al menos una porción de sus funciones están bajo un control neuroendocrino (Gibson y Baeker, 1979). Las diversas funciones del hepatopáncreas están relacionadas a los diferentes tipos de células epiteliales que se presentan en el ápice de los tubulos (Ceccaldi, 1998). La nomenclatura y función de cada célula fue propuesta por Hirsch y Jacobs (1930), y posteriormente utilizada por Gibson y Barker (1979) y Dall y Moriarty (1983). Las células E, estas tienen características embrionarias; las células R, tienen una función de almacenamiento; las células F, presentan una apariencia fibrosa y las células B, tienen una función secretora (Ceccaldi, 1998; Paulus y Laufer, 1987). Las células R son abundantes y contienen numerosas vacuolas llenas de lípidos y elementos inorgánicos, pero también hay pequeños depósitos calcáreos y partículas de glicógeno. En *P. clarkii*, estas células contienen gránulos de cobre, sulfuro y otros elementos menos abundantes (Gibson y Barker, 1979; Ceccaldi, 1998).

El tamaño del hepatopáncreas varía de acuerdo a la especie y en los machos puede ser más grande que en las hembras. En el cangrejo *Arenaeus cribrarius*, el estadio IV gonadal de ambos sexos, se distingue porque los machos presentan un hepatopáncreas cuatro veces mayor en tamaño que la gónada, mientras que el hepatopáncreas de las hembras solamente llega a ser del doble

del tamaño del el ovario (Amaro-Pinheiro y Fransozo, 1998). En las hembras del camarón *Crangon crangon*, el hepatopáncreas es casi del doble de talla que el ovario en los primeros estadios gonadales (I-IV), pero posteriormente decrece en tamaño durante la vitelogenésis. Estos cambios en volumen de ambos órganos están asociados al transporte de reservas desde el hepatopáncreas, absorción y síntesis por el ovario (Haefner y Spaargaren, 1993; Spaargaren y Haefner, 1994).

El hepatopáncreas esta relacionado en la producción de vitelo exógeno necesario para el desarrollo del ovario (Paulus y Laufer, 1987; Quackenbush, 1986). En las hembras adultas, el hepatopáncreas puede ser más pequeño debido a la maduración del ovario, al tiempo que se drenan las reservas metabólicas hacia este órgano (Gibson y Barker, 1979). En el acocil *Orconectes nais*, el contenido de lípidos en gónadas se incrementa mientras que los lípidos del hepatopáncreas declinan (Armitage *et al.*, 1972; Armitage *et al.*, 1973), esto ocurre principalmente durante la maduración ovocitaria (Mourente y Rodríguez, 1991).

En algunos estudios sobre el ciclo de maduración ovarica de crustáceos decápodos, además de determinar los Indices Gonadosomáticos (IGS), se ha calculado la relación existente entre el peso del hepatopáncreas y el peso total de la hembra, que es conocida como Índice Hepatosomático (IHS).

En la tabla 3.4, se presentan los valores de IHS obtenidos para algunas especies de crustáceos decápodos.

Tabla 3.4.- Valores del IHS en algunas especies de crustáceos decápodos

Especie	Rango de los IHS por estadio gonadal	Fuente
<i>Penaeus kerathurus</i>	3.2-4	Mourente y Rodríguez, 1991
<i>Procambarus clarkii</i>	6.78-8.99	Daniels <i>et al.</i> , 1994
<i>Metapenaeus joyneri</i>	3.3-4.4	Chu, 1995
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	3.58-6.17	Lee y Chang, 1997

3.2. METODOLOGIA

3.2.1.- Colecta del material biológico

Los especímenes (hembras) de *Procambarus clarkii* se obtuvieron en un transecto del Río San Juan, ubicado en la Congregación "La Boca", en Santiago, Nuevo León (25° 27'11" N: 100°05'12" W), utilizando la técnica de colecta mencionada por Campos y Rodríguez Almaraz (1992), consistente en el uso de cebos (higado de res), redes entomológicas y captura manual durante la noche. Los muestreos fueron mensuales durante 1998. En cada visita se obtuvieron hembras de diferentes tallas (26-36 mm de Longitud del cefalotórax o LC) con el fin de obtener hembras de diferente estado de madurez sexual, estas fueron trasladadas vivas en cajas de plástico de 42x33x27 cm, para su estudio en laboratorio.

3.2.2.- Acondicionamiento de los especímenes en laboratorio

Los animales colectados se colocaron individualmente en peceras de 15x15x25 cm, con un nivel de agua de 4 cm, la temperatura se mantuvo entre los 24°-26°C y un fotoperíodo de 14 horas luz: 10 horas oscuridad como lo sugiere Daniels *et al.* (1994).

El agua de dichos contenedores se cambió cada tercer día. El alimento que se proporcionó diariamente a los animales consistió en una dieta balanceada basada en harina de pescado como fuente principal de proteína y soya, proporcionada por tesis de las tesis del Laboratorio de Maricultura, sus características nutricionales se indican en Pelcastre (1996), y se detallan en la Tabla 3.5. Estas condiciones de laboratorio se mantuvieron hasta la disección de los ejemplares, generalmente de 5 a 6 días.

Tabla 3.5.- Composición del alimento ofrecido a las hembras

Ingredientes	%	Ingredientes	%
Coe 50s:50p	45.000	▪ Premix Mineral	0.500
Sorgo	43.379	Vitamina C	0.200
Harina de Subproducto Animal	7.000	Cloruro de Colina	0.080
Harina de Sangre	2.000	Antioxidante Redox	0.013
Aceite de Soya	1.378	Antifúngico	0.250
▪ Premix Vitamínico	0.200		

- Premix Vitamínico: Vit.A 10,000,000 U.I.; Vit D3 1,200,000 U.I.; Vit E 50,000 U.I.; Vit. K3 5 g; Tiamina 12 g; Riboflavina 20 g; Piridoxina 10 g; Vit. B12 20 g; Biotina 600 g; Acido fólico 2.5 g; Niacina 100 g; D-Pantotenato de Calcio 40 g; Vit. C 200 g. Exc. cbp. 1000 g.
- Premix Mineral: Zinc 80 g; Manganeso 50 g; Yodo 2.5 g; Cobre 10 g; Cobalto 0.300 g; Fierro 100 g; Exc. cbp. 1000 g; Vit. C como Ascorbil Polifosfato; Cloruro de Colina 60%.

3.2.3.- Biometría

A cada uno de los acociles se le tomaron datos de longitud total (LT) y longitud del cefalotórax (LC) con un Vernier Scala con una precisión de 0.1 mm y de manera adicional se registró el peso total (PT) en una balanza electrónica OHAUS Modelo C305P. La LT se consideró desde la parte anterior del rostro hasta la parte terminal del urópodo, mientras que la LC solamente se consideró hasta la unión con el primer segmento abdominal. Estos valores (talla y peso) fueron incluidos en una base de datos generada en Excel y SPSS para Windows 1998.

3.2.4.- Estado de muda

Para la determinar el estado de muda de cada ejemplar se utilizó la técnica de setogénesis de los urópodos siguiendo los criterios de Aiken y Waddy (1992).

3.2.5.- Disección

Previamente a la disección de los especímenes, cada uno fue colocado en el interior de un frasco que contenía un algodón impregnado con cloroformo, esto con la finalidad de mantenerlos inertes. Posteriormente, a los acociles se les quito el cefalotórax por ambos lados para llevar a cabo la disección con pinzas y agujas

para la extracción de gónadas y hepatopáncreas. Ambos tejidos húmedos fueron pesados en una báscula MARCA, con una precisión de 0.00001g. Para cada gónada disecada se determinó el estadio gonadal según la clasificación de De la Bretonne y Avault Jr. (1976). Los datos de peso húmedo del ovario y peso húmedo del hepatopáncreas fueron también incluidos en la base de datos, para su análisis y relación con otras variables seleccionadas.

La gónada fue seccionada y conservada en tubos eppendorf a una temperatura de -20°C . Una de las secciones se tomó para realizar cortes histológicos y el resto fueron utilizadas en un estudio colateral destinado a la caracterización y purificación de los tipos de vitelo.

3.2.6.- Técnicas histológicas

3.2.6.1.- Histología para caracterización morfométrica y morfológica de los ovocitos mediante la Técnica de Haematoxilina de Harris y Eosina (H y E)

a).- Fijación

Las muestras de ovario obtenidas de cada ejemplar fueron fijadas en líquido de Bouin durante 24 horas, posteriormente se deshidrataron en alcohol etílico de 50 a 100% con baños de 3 horas cada uno y se mantuvieron inmersas en butanol por tiempo indefinido. Posteriormente, se colocaron en benceno durante media hora y se realizó la inclusión en parafina de 52°C de punto de fusión (Control Técnico y Representaciones®).

b).- Microtomía

Habiéndose realizado la inclusión de las muestras de gónadas, se realizaron cortes histológicos con un espesor de $8\mu\text{m}$ usando un microtomo (American Optical Company); estos se colocaron en portaobjetos para teñirlos con Hematoxilina de Harris y Eosina.

c).- Tinción

Esta técnica se utilizó para realizar la descripción de las gónadas por estadio, considerando el diámetro, forma de ovocitos, diámetro del núcleo, número de nucleolos; presencia de células foliculares y de vitelo, de acuerdo al criterio de Kulkarni *et al.* (1991). El procedimiento para llevar a cabo la tinción fue el propuesto por Humason (1972), modificado por técnicos del Laboratorio de Histología de la F.C.B. (Apéndice 1).

3.2.6.2.- Histoquímica para la determinación de glicoproteínas, con la técnica de Acido Periódico-Reacción de Schiff (PAS)

a).- Fijación y microtomía

Para esta técnica se realizó el mismo procedimiento de fijación e inclusión en parafina utilizado en la técnica de H y E, los cortes también fueron de un espesor de 8µm.

b).- Tinción

Esta técnica de tinción se utilizó para determinar la presencia de carbohidratos (glicoproteínas) en el citoplasma, siguiendo las técnicas descritas por Putt (1972) y Humason (1972), modificando algunos de los tiempos de permanencia en los reactivos con la finalidad de obtener mejores resultados. Los pasos de la tinción se enumeran en el Apéndice 2.

Los cortes de gónadas que contienen glicoproteínas dan como PAS positivo gránulos de color rosa a rojo púrpura

3.2.6.3.- Histoquímica para determinar la presencia de lípidos mediante la técnica de Black Sudan B (BSB)

a).- Fijación y microtomía

Para la técnica de BSB los tejidos fueron fijados en formalina al 10 %, realizando 3 cambios cada 24 horas. Las gónadas se conservaron en butanol para

incluirlos en parafina posteriormente. La inclusión y obtención de los cortes se realizó de la misma forma mencionada en las técnicas de H y E, y PAS.

b).- Tinción

La determinación de lípidos por medio de la técnica de BSB se llevó a cabo en base al procedimiento utilizado por Johnson 1980 y las modificaciones realizadas por Tom *et al.* (1987a), (*comunicación personal*, Apéndice 3).

Los lípidos combinados con algunas otras moléculas, así como otros lípidos neutros exhiben una reacción positiva a esta técnica obteniendo una coloración negra, azul-grisácea o parduzca.

3.2.7.- Índices Gonadosomáticos

La determinación de los Índices Gonadosomáticos (IGS) por estadio y mes de muestreo, fue de acuerdo a la relación ya mencionada. Este índice ha sido utilizada en diversas especies de crustáceos decápodos (Quackenbush y Herrnkind, 1981; Nakagawa *et al.*, 1982; Kulkarni *et al.*, 1991; Haefner y Spaargaren, 1993; Daniels *et al.*, 1994; Lee y Chang, 1997; Spaargaren y Haefner, 1998):

Adicionalmente se utilizó el Índice gonadal Relativo (IGR) propuesto por Erickson *et al.* (1985), donde se utilizó primeramente la siguiente ecuación $W = aS^b$ para cada estadio gonadal, donde W es el peso del ovario, S es la diferencia del peso somático total menos el peso del ovario de cada hembra, a y b son constantes de la ecuación. Posteriormente, se utilizó una comparación múltiple de pendientes, para probar si las pendientes (b) de cada regresión presentaban diferencias significativas entre los estadios gonadales (Zar, 1996). En este caso como las pendientes no fueron diferentes, se procedió a calcular un coeficiente de regresión (b) común para cada regresión, de esta manera el IGR quedó expresado como:

$$IGR = aW/S^b$$

Donde a es el valor del intercepto de cada regresión, en este caso por estadio y b es el coeficiente de regresión común.

3.2.8. Índices Hepatosomáticos (IHS)

Para la construcción de los IHS por estadio gonadal y mes de muestreo, se utilizó la relación entre el peso húmedo del hepatopáncreas (PHP) y el peso húmedo de las hembras (PHE):

$$IHS = (PHP/PHE) \times 100$$

3.2.9. Análisis estadísticos

Los valores promedio del peso de las hembras (PT), longitud del cefalotórax (LC), peso del ovario, peso del hepatopáncreas, IGS, IGR, IHS y el diámetro de los ovocitos fueron sometidos a la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar si presentaban una distribución normal. Para estas mismas variables, se determinó si existían diferencias significativas entre sus valores promedio, ya sea por estadio gonadal o mes de muestreo, mediante un ANOVA (F -, $P < 0.05$) y la prueba de Duncan (Prueba t ; $P < 0.05$). Adicionalmente, se obtuvieron las estadísticas descriptivas de las variables mencionadas por mes y estado de madurez (Promedio, Desviación estándar, Error estándar, valor mínimo y máximo, así como el coeficiente de variación).

Todas las pruebas y análisis estadísticos fueron hechos con el programa SPSS versión 5, 1992 y Zar (1996). Las gráficas de cada análisis se editaron con el programa Statistica y Excel para Windows 98.

DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3. RESULTADOS

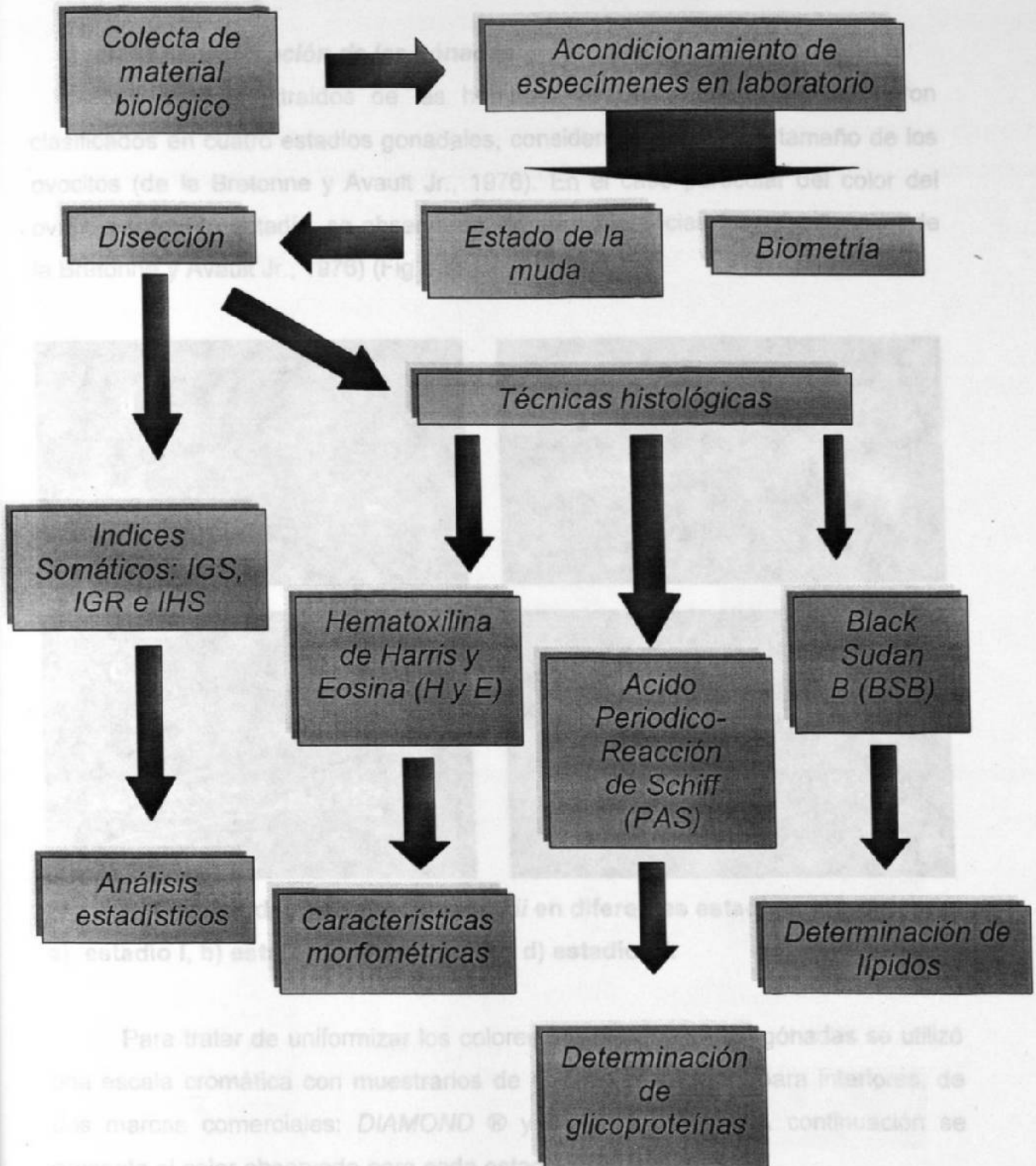


Fig. 3.2.- Diagrama de flujo del diseño experimental

3.3. RESULTADOS

Son ovarios de color blanco a amarillo claro.

Diamond®
Mayonnaise

3.3.1.- Clasificación de las gónadas

Los ovarios extraídos de las hembras de *Procambarus clarkii*, fueron clasificados en cuatro estadios gonadales, considerando el color y tamaño de los ovocitos (de la Bretonne y Avault Jr., 1976). En el caso particular del color del ovario para cada estadio, se observaron algunas diferencias (ver clasificación de la Bretonne y Avault Jr., 1976) (Fig.3.3).

Surfspray

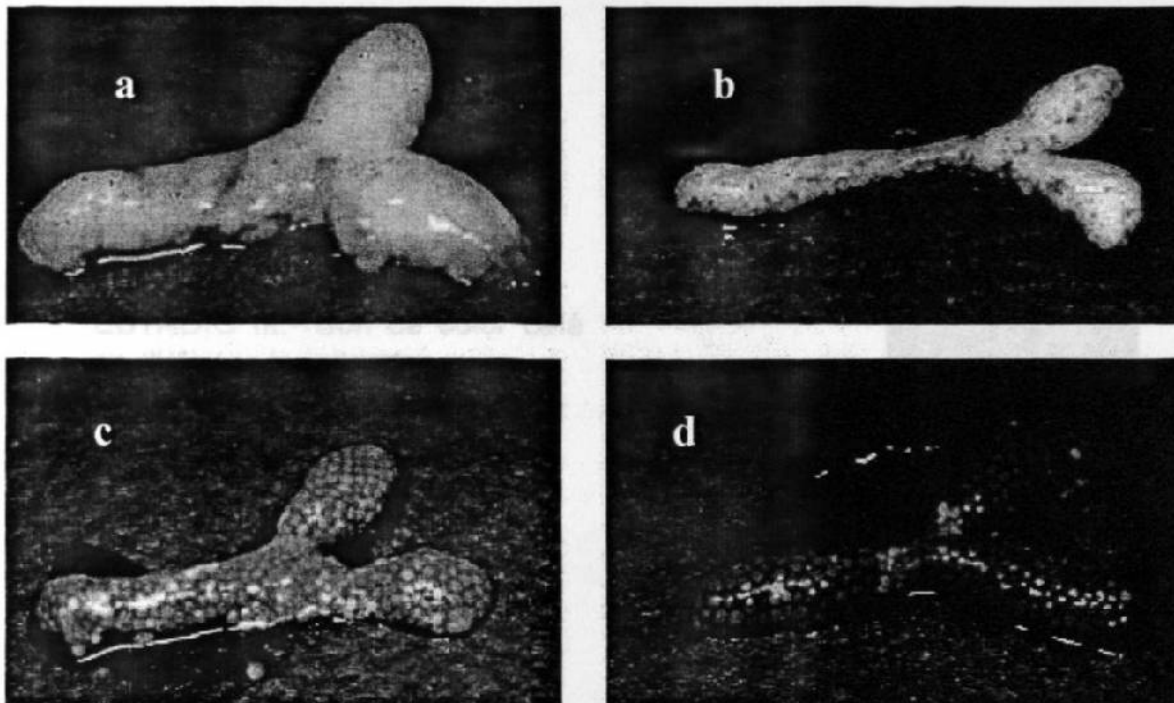


Fig. 3.3.- Ovarios de *Procambarus clarkii* en diferentes estadios gonadales; a) estadio I, b) estadio II, c) estadio III y d) estadio IV.

Para tratar de uniformizar los colores observados en las gónadas se utilizó una escala cromática con muestrarios de colores de pinturas para interiores, de dos marcas comerciales: *DIAMOND*® y *DUTCH BOY*®. A continuación se presenta el color observado para cada estadio (Fig. 3.4).

ESTADIO I.- Son ovarios de color blanco a amarillo claro.

Diamond®
Mayonnaise

Se colectaron 291 ejemplares hembras para este estudio, de las cuales de acuerdo al criterio de setogénesis correspondieron en un 79.76 % y 19.24 %, a los estadios de muda C y D, respectivamente. En la tabla 3.6 se presenta una relación del número de organismos por muda. La Fig. 3.5 muestra la observación al

ESTADIO II.- El color característico es crema.

Diamond®
Surfspray

Tabla 3.6.- Relación del estado de la muda con respecto al estadio gonadal.

ESTADIO GONADAL	ESTADO DE LA MUDA		
	A	B	Inter
	Post-muda	Post-muda	Inter
	2	25	21
	1	75	29
		60	5
		68	65

ESTADIO III.- Son de color café en distintas tonalidades

Dutch Boy®
Fiddler

Dutch Boy®
Nutwood

Dutch Boy®
Aw Nuts

ESTADIO IV.- Los ovocitos son de color de los huevecillos; presentan un color café oscuro.

Dutch Boy®
Buffalo

Fig. 3.5.- Margen del urópodo que representa las características de un espécimen en estadio D (las flechas indican la presencia de nuevas setas).

3.3.2.- Estado de la muda

Se colectaron 291 ejemplares hembras para este estudio, de las cuales de acuerdo al criterio de setogénesis correspondieron en un 79.76 % y 19.24 %, a los estadios de muda C y D, respectivamente. En la tabla 3.6 se presenta una relación del número de organismos por muda. La Fig. 3.5 muestra la observación al microscopio del urópodo de una hembra en estado D.

Tabla 3.6.- Relación del estado de la muda con respecto al estadio gonadal.

ESTADÍO GONADAL	ESTADO DE LA MUDA				Total
	A Post-muda	B Post-muda	C Intermuda	D Premuda	
I	2		26	21	49
II	1		78	29	108
III			60	5	65
IV			68	1	69
Total	3	0	232	56	291

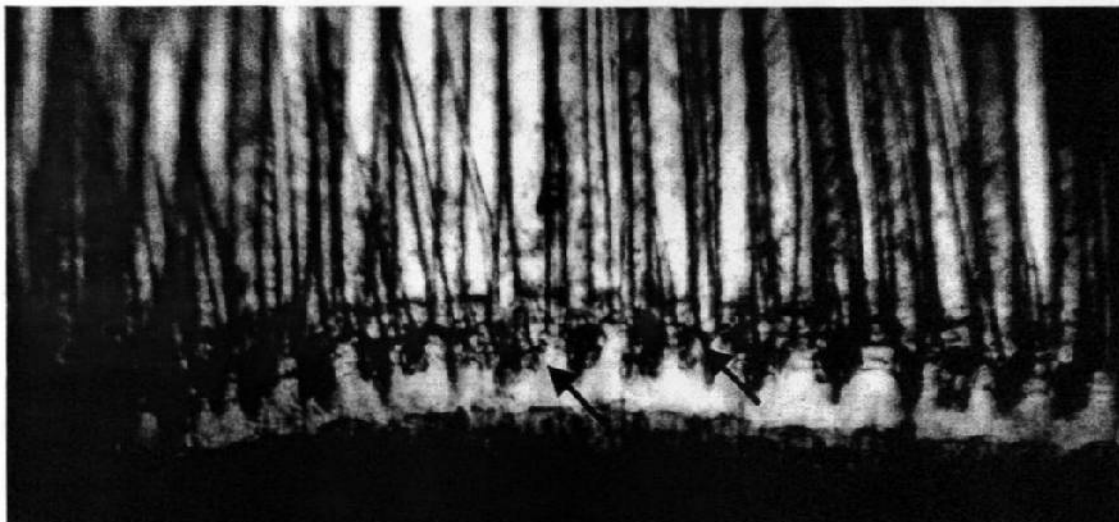


Fig. 3.5.- Margen del urópodo que representa las características de un espécimen en estadio D (las flechas indican la presencia de nuevas setas).