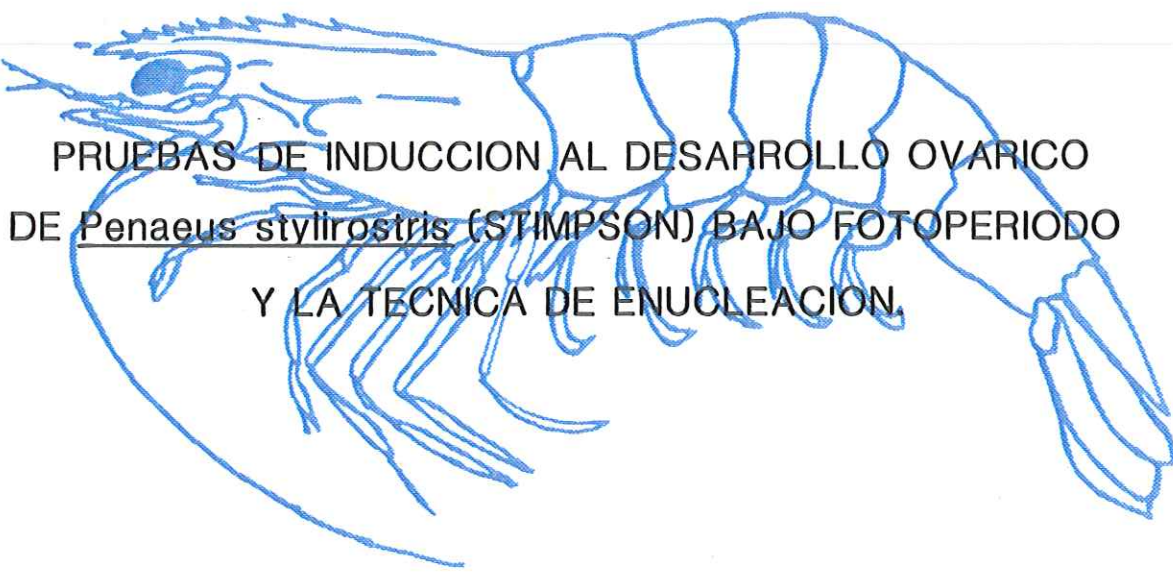




UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



PRUEBAS DE INDUCCION AL DESARROLLO OVARICO
DE Penaeus stylirostris (STIMPSON) BAJO FOTOPERIODO
Y LA TECNICA DE ENUCLEACION.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

IRMA GUADALUPE BETANCOURT VILLA

Ensenada, B.C., Noviembre de 1989.

RESUMEN.

Se efectuaron experimentos de inducción al desarrollo ovárico de camarón azul de *Penaeus stylirostris* en el período de septiembre a marzo de 1989, probándose la enucleación de dos grupos de organismos dentro de su fase de intermuda.

La efectividad de la inducción se evaluó en función al número de desoves por mes, la cantidad promedio de óvulos producidos y los rendimientos de fertilización y eclosión de los huevos.

En las evaluaciones realizadas no se encontró diferencia significativa entre los rendimientos de los grupos enucleados ($P > 0.05 \%$), el grupo utilizado como testigo no produjo resultados positivos de inducción en el período trabajado.

Se concluyó que es indispensable realizar la enucleación para lograr la maduración de organismos adultos de *Penaeus stylirostris* durante el período de otoño e invierno.

PRUEBAS DE INDUCCION AL DESARROLLO OVARICO DE
Panaeus stylirostris (STIMPSON) BAJO FOTOPERIODO Y LA
 TECNICA DE ENUCLEACION.

TESIS

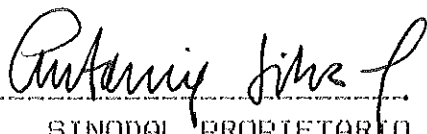
QUE PRESENTA:

IRMA GUADALUPE BETANCOURT VILLA.

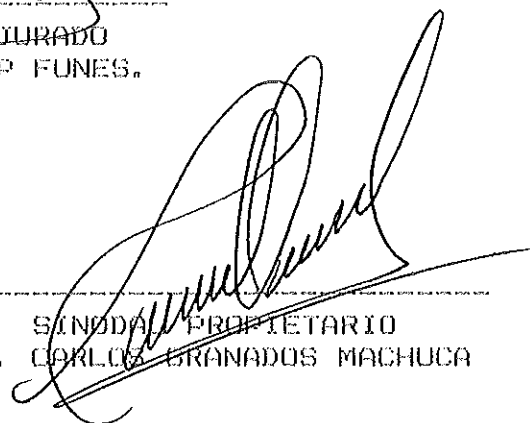
APROBADA POR



PRESIDENTE DEL JURADO
 OC. VICTOR GENDROP FUNES.



SINODAL PROPIETARIO
 M.C ANTONIO SILVA LOERA



SINODAL PROPIETARIO
 OC. CARLOS GRANADOS MACHUCA



SINODAL SUPLENTE
 M.C FRANCISCO LEY LOU



SINODAL SUPLENTE
 OC. ARTURO SIQUEIROS VALENCIA

DEDICATORIA.

A LA MEMORIA DE MI PADRE:

LEOPOLDO BETANCOURT MACHADO.

A MI MADRE:

JOSEFINA VILLA LOPEZ, POR SU CARINO, AMOR, ESFUERZO Y POR EL APOYO QUE SIEMPRE ME HA BRINDADO.

A MIS HERMANOS:

CLEOTILDE, LILIA, NOEMI, GEORGINA, MAYRA, Y LEOPOLDO, POR TODO AQUELLO QUE ME HAN DADO.

A MI SOBRINO ADORADO:

GILBERTO E. GRIGG BETANCOURT.

A MIS AMIGOS DE HOY MAÑANA Y SIEMPRE:

VICTOR GENDROP F. Y PATRICIA HINJOOSA.

A LA FAMILIA ROMERO LOPEZ.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas que en cuyas instalaciones se realizó el presente trabajo.

A mi director de tesis Dr. Victor Gendrop Funes por la gran ayuda que me brindo siempre .

A los sinodales M.C. Antonio Silva L., Dr. Carlos Granados M., M.C. Francisco Ley L., Dr. Arturo Siqueiros por su valiosas observaciones y sugerencias para la mejor presentación del trabajo.

A mis maestros de la Facultad de Ciencias Marinas por su enseñanza durante los 5 años . Y especialmente al M.C Guillermo Torres M. por el apoyo que siempre me ha brindado.

A mis amigos: Ana Bertha Rosales, Silvia Jimenez, Alexandra Gutierrez, Edgar Gil, Samuel Garcia, Vidal Rubio, Adrian Quero, Antonio Palacios, Kirke P.....y a todos aquellos que de una u otra forma me ayudaron en mi trabajo.

INDICE

1	INTRODUCCION.....	1
	1.1 OBJETIVO.....	6
2	MATERIALES Y METODOS.....	7
	2.1 OBTENCION DE ORGANISMOS.....	7
	2.2 INSTALACIONES PARA MADURACION.....	8
	2.3 TRATAMIENTO DE LOS ORGANISMOS.....	9
	2.4 OBTENCION DE HEMBRAS GRAVIDAS.....	9
	2.5 ANALISIS ESTADISTICOS.....	13
3	RESULTADOS.....	15
	3.1 PARAMETROS FISICOQUIMICOS.....	15
	3.2 PESO DE LOS ORGANISMOS.....	15
	3.3 SOBREVIVENCIA.....	18
	3.4 NUMERO DE DESOVES.....	18
	3.5 PRODUCCION DE OVULOS.....	22
	3.6 RENDIMIENTO DE LOS DESOVES.....	27
4	DISCUSION.....	29
5	CONCLUSIONES.....	37
6	LITERATURA CITADA.....	38

LISTA DE TABLAS

Tabla I	.- Muestra el momento de la fase intermuda en la que fueron operado los organismos en cada grupo experimental.....	9
Tabla II	.- Composición de la dieta usada durante el desarrollo experimental. (Tomado de CICTUS, 1985).....	11
Tabla III.-	Peso inicial promedio de <i>Penaeus stylirostris</i> registrado por los tres grupos experimentales.	16
Tabla IV.-	Análisis de varianza de los pesos iniciales de los grupos en tratamiento.....	16
Tabla V.-	Análisis de varianza de los valores de la razón de incremento diario de los grupos (A,B,C)...	17
Tabla VI.-	Valores de peso final de los grupos experimentales.....	17
Tabla VII.-	Análisis de varianza para los valores de peso final de los grupos experimentales.....	19
Tabla VIII.-	Análisis de varianza de los valores promedio de desoves por mes de los grupos operados (A y B).....	23
Tabla IX.-	Valores promedio de producción de óvulos por hembra en sus respectivos tratamientos.....	26
Tabla X.-	Análisis de varianza de una vía para los valores de producción de ovulos en los grupos	

	operados.....	26
Tabla	XI.- Análisis de varianza de una vía para los rendimientos de los desoves de los grupos operados.....	28
Tabla	XII.- Análisis de varianza de una vía para la eclosión de desoves fertilizados de los grupos operados.....	28

LISTA DE FIGURAS.

Figura	1.- Número de desoves acumulativos de hembras operadas (A y B) y no operadas (C).....	20
Figura	2.- Número de desoves totales por mes de hembras operadas (A y B) y no operadas (C).....	21
Figura	3.- Número de óvulos acumulativos por grupo. (A y B hembras operadas, C no operadas).....	24
Figura	4.- Número de óvulos totales por grupo por mes. (A y B hembras operadas, C no operadas).....	25

1 INTRODUCCION

En todo el mundo el cultivo de los Peneidos se ha incrementado cada vez más por su gran demanda alimenticia y precio en el mercado.

A lo largo de las costas mexicanas hay un millón y medio de hectáreas de lagunas litorales, bahías someras y zonas estuarinas y de las cuales un alto porcentaje resultan ideales para el desarrollo de programas de acuacultura.

Uno de los factores claves para que un cultivo de camarón tenga éxito a nivel comercial es la disponibilidad de postlarva durante todo el año.

En algunos lugares del mundo, éstas se obtienen del medio natural, sin embargo, este método resulta inapropiado porque puede llegar a afectar la captura de camarón en alta mar y a la larga disminuir la producción natural de postlarvas, (Rodríguez-Marin *et al.* 1985).

La camaronicultura mexicana en la mayoría de sus unidades de producción ha seguido hasta el momento un esquema de desarrollo basado en la extracción de postlarvas del medio natural y en pocos casos con la utilización de las producidas

en laboratorio. Como consecuencia de esto, es de esperarse que la extracción masiva incontrolada de postlarva del medio ocasione en un futuro mediato un grave desequilibrio ecológico.

Una de las soluciones para este problema es el establecimiento de laboratorios productores de postlarvas, y hasta el momento no existen. Sin embargo en otras áreas del mundo como Panamá, Nicaragua, Costa Rica, Ecuador, Japón, E.U.A., Hawaii, ya se ha logrado un considerable desarrollo sobre las técnicas de producción de postlarvas a escala masiva (Morales, 1982).

Sin embargo, en nuestro país aún no se tiene un nivel seguro sobre el dominio de las técnicas de producción de postlarvas, para obtener las cantidades suficientes que satisfagan la demanda potencial. Por lo que es necesario realizar trabajos experimentales encaminados al afinamiento de la biotecnia específica para que pueda ser lograda de manera segura la maduración de organismos adultos durante todo el año y por ende sus consecuentes desoves. Con el objeto de mejorar así la disponibilidad efectiva de postlarvas sin la dependencia del medio natural.

En general la maduración de camarones *Peneidos* en laboratorios ha sido basada en la identificación y

mantenimiento de condiciones fisicoquímicas óptimas del agua (Aquacop, 1975). El suministro de una dieta a base de productos frescos (calamar, almeja, poliqueto,) Aquacop (1979); Chamberlain y Lawrence (1981). La utilización de un fotoperíodo e intensidades reguladas (Chamberlain y Lawrence, 1981). Y la aplicación de un estímulo para la inducción del desarrollo ovárico en las hembras, este estímulo es logrado mediante la extirpación de la cápsula ocular del pedúnculo de los organismos y se ha denominado enucleación unilateral ó ablación (Primavera, 1978).

El método del efecto de la ablación u oculotomía sobre la reproducción de los crustáceos decápodos (Parouse, 1943) empezó a ser utilizada desde 1970 y en sus inicios se usó la ablación bilateral del pedúnculo ocular. Esta fue una estimulación rápida para la maduración de los ovarios. Pero las hembras operadas tuvieron mortalidades muy altas y los óvulos eran usualmente reabsorvidos durante la maduración (Caillouet, 1972; Duronslet *et al.* 1975). Este problema posteriormente fue solucionado con el uso de la ablación unilateral del pedúnculo ocular, disminuyendo así la reabsorción de óvulos y bajas mortalidades (Aquacop, 1975; Wear y Santiago 1976).

La técnica de ablación ha sido aplicada frecuentemente en experimentos donde se practica la remoción

del pedúnculo ocular tales como separar con tijeras (Caillouet, 1972), cauterizar (Duronslet et al 1975), enuclear (Primavera, 1978) y ligar (Schade y Shivers, 1980).

La ablación se aplica generalmente en hembras para facilitar la maduración, pero en los machos muy poco (Adiyodi y Adiyodi, 1970; Young, 1974; Lawrence et al 1979).

El principio de la estimulación por proceso de enucleación se basa en que los camarones en su hábitat natural se alimentan de manera selectiva y a medida que se aproxima el tiempo de reproducción las reservas alimenticias se concentran en el hepatopáncreas, de donde son transferidas al ovario para formar el vitelo de los óvulos. Normalmente en épocas no reproductivas la transformación de nutrientes y el desarrollo de los óvulos son bloqueados por una sustancia inhibidora de origen neural que actúa sobre el cerebro y evita la síntesis de una hormona que estimula la transferencias de material nutritivo. Esta condición es continua hasta que una combinación de estímulos (fotoperiodo, cantidad y calidad de luz, temperatura del agua, calidad de la misma y alimento) son detectados por el centro sensor del complejo glandular del órgano-X localizado en el pedúnculo ocular, el cual ante el conjunto de estímulos comienza a suprimir la síntesis del inhibidor y se inicia así el desarrollo ovárico (Adiyodi y Adiyodi, 1970; Kulkarni y

Nagabhushnam, 1979; Oceanic Institute Sea Grant College Program, 1981).

Los efectos de la ablación del pedúnculo ocular varían con la estación del año y el estado del ciclo de muda. Si se ablacionan organismos que están entrando a su pico reproductivo, éstos responden mejor a la maduración que aquéllos que no están en un período reproductivo (Bliss, 1966; Adiyodi y Adiyodi, 1970). Además dentro del ciclo de muda, la ablación efectuada inmediatamente después de la muda causa la muerte, durante la postmuda causa la muda y la ablación durante la intermuda induce a la maduración (Aquacop, 1977).

Para conocer la respuesta de organismos adultos Penaeus stylirostris al proceso de inducción a la madurez en época no reproductiva, se realizó este trabajo utilizando las condiciones apropiadas para la inducción a la madurez, tales como fotoperíodo, intensidad de luz, factores físico-químicos, alimentación, talla (Chamberlain y Lawrence, 1981) y se consideró el proceso de enucleación en dos diferentes períodos dentro de la fase intermuda.

1.1 OBJETIVO

Lograr la inducción al desarrollo ovárico en Penaeus stylirostris (adultos) bajo condiciones controladas de laboratorio, utilizando un fotoperíodo, una intensidad de iluminación y la técnica de enucleación unilateral aplicada en dos días diferentes de la fase de intermuda.

2 MATERIALES Y METODOS

2.1 Obtención de organismos.

Para la obtención de los organismos del experimento se efectuó un viaje de colecta al Golfo de California el 9 de septiembre de 1988. Los organismos se capturaron con una red de deriva de monofilamento de 35 mm de luz de malla y dos brazas de amplitud. El tiempo por cada lance no fue mayor de 15 minutos para evitar la pérdida de organismos, en la embarcación se mantuvieron en hieleras de 35 l de capacidad en grupos no mayores de 20 organismos. Para conservar los niveles de oxígeno de 4-6 ppm se hicieron cambios del 50 % del volumen de agua cada 10 minutos.

En el transporte de la zona de captura a las instalaciones del laboratorio se utilizó un tanque de fibra de vidrio de 900 l de capacidad, provisto de un sistema de recirculación de agua constituido por una bomba sumergible de 12 V de 1/3 H.P con capacidad de 36 l/min. y manguera flexible de plástico de 25 mm de diámetro, el sistema se utilizó para mantener los niveles de oxígeno (4-6 ppm).

Se transportaron un total de 168 organismos (50 % hembras y un 50% machos) a partir de los cuales se realizó la integración de los grupos de prueba en las instalaciones de laboratorio.

2.2 Instalaciones para maduración

Para el mantenimiento de los organismos en el laboratorio se utilizaron tres sistemas de flujo continuo. Cada uno de los sistemas lo constituyó un estanque circular de plástico polietileno negro de 5000 l de capacidad con dimensiones de 3.5 m de diámetro y .74 m de altura, a cada uno de ellos se les colocó cobertura de polietileno negro con el propósito de evitar la pérdida de organismos, ayudar en la conservación de la temperatura y mantener un control de la incidencia de la luz en los estanques.

A cada uno de los estanques se le suministró un flujo continuo de agua de mar (34.5 ‰) a una razón de 5 l/min. filtrada (50 μ) y a una temperatura de $28 \pm .5^{\circ} \text{C}$. Los niveles de oxígeno disuelto se mantuvieron con aireación entre 4 y 6 ppm diariamente cada 8 horas se midieron y ajustaron los sistemas.

Para lograr la intensidad de luz necesaria de $.6 \mu\text{Es}/\text{m}^2\text{s}^1$ (Chamberlain, 1981) se instalaron cuatro tubos de luz fluorescente de 40 watts en cada estanque. La intensidad en la superficie del agua se calibró con ayuda de un fotómetro Mod. QSL-100. Cada semana se efectuó la verificación de la intensidad de luz en cada estanque y se cambiaron lámparas cuando hubo una variación de más del 10 %. Se aplicó un

fotoperíodo de 13 horas luz y 11 horas oscuridad (Chamberlain y Lawrence 1981).

2.3 Tratamiento de los organismos.

Al inicio del experimento en septiembre 11 de 1988, los organismos fueron pesados de manera individual y regularmente cada 30 días se les determinó su incremento de peso. Los organismos se distribuyeron en los estanques a una densidad de 6 org./m², bajo una proporción de sexo de 1:1. Todas las hembras fueron marcadas con un anillo plástico numerado colocado en el pedúnculo ocular a manera de marca permanente, y una etiqueta plástica también numerada pegada al cefalotórax. Esta última fue con el fin de identificar la muda y fue reemplazada con una etiqueta nueva a las 24 horas siguiendo el registro de la misma. En cada uno de los estanques se integraron tres grupos de hembras (Tabla I).

Tabla I.- Muestra el momento de la fase intermuda en la que fueron operados los organismos en cada grupo experimental.

Grupo	No. Hembras	Condición	Fase intermuda
A	8	Enucleados.	Primera mitad (0-24 h)
B	8	Enucleados.	Segunda mitad (25-48 h)
C	8	Intactos.	

Para definir la fase intermuda individual se siguió a los organismos durante dos ciclos. Teniendo ya definido la fase intermuda se hizo la enucleación, acorde al procedimiento de Primavera, (1978), y bajo la condición de cada grupo experimental.

Para mantener al mínimo la pérdida de organismos durante la operación de cada hembra, se utilizaron las recomendaciones de Callinquet, (1972) de mantener a los organismos en agua de mar a una temperatura de 19-20 °C 24 horas antes y después de la operación.

A los organismos se les suministró una dieta combinada de calamar fresco congelado, cabeza de camarón picada y alimento preparado en presentación peletizada (Tabla II) mezcladas en una porción de 1:2:1 del 10 % del peso total de la biomasa de cada estanque, repartida diariamente en 4 horarios (8:00, 12:00, 16:00, 22:00, hrs.).

Antes de cada alimentación se removieron los residuos de alimento, desechos y mudas presentes.

2.4 Obtención de hembras grávidas.

Los estanques fueron revisados diariamente en búsqueda de hembras grávidas, desde las 19:00 hrs. hasta las 24:00

Tabla II . Composición de la dieta usada durante el desarrollo experimental. (Tomado de CICTUS , 1985) .

Ingredientes .	Porcentaje. (%).
Harina de trigo	22.3
Harina de soya	7.5
Harina de calamar	49.0 ^a
Harina de camarón	7.5
Harina de pescado	9.0
Solubles de pescado	1.0
Mezcla de minerales	1.5 ^b
Mezcla de vitaminas	0.5 ^c
Acido ascórbico	0.2
Aceite de pescado	1.0
Aceite de soya	0.5

a. Calamar escaldado a 90 C por dos min.

b. Fosfato monocalcico-dicalcico .

c. Mezcla comercial (Peterson) .

hrs., con la ayuda de una lámpara sumergible. Las hembras con el espermatóforo adherido y bien colocado se transfirieron individualmente a los estanques de desove de fibra de vidrio de 180 l con agua de mar filtrada ($10\ \mu$, $5\ \mu$, $1\ \mu$) irradiada con luz ultravioleta y a una temperatura de $29 \pm 1^\circ\text{C}$.

En estos estanques se obtuvieron los desoves y a la mañana siguiente las hembras fueron retiradas y colocadas en sus respectivos estanques. Se les determinó el tipo de desove (total ó parcial) para iniciar el conteo y la determinación de viabilidad de los huevos obtenidos.

Los huevos fueron sifoneados suavemente a un concentrador con dos series de mallas, una de $300\ \mu$ para retener el material folicular y otra de $100\ \mu$ para retener los huevos, similar al descrito por Mendoza-Alfaro, (1985.). Luego se pasaron a un volumen de 2 l donde la muestra fué agitada para homogenizarla, se tomaron 5 muestras de 1 ml. cada una, para el conteo de óvulos totales, así como el número de óvulos fertilizados para determinar el porcentaje de fertilidad. El porcentaje de fertilidad fué determinado utilizando el total de huevos fertilizados $\times 100/\text{número de huevos totales}$.

Posteriormente para lograr la eclosión, los huevos fueron transferidos a un volumen de 18 l. con agua de mar

filtrada e irradiada por U.V. a una temperatura de 29 ± 1 °C y se le agregó EDTA (.01g/l.) , fosfato de Eritromicina (5 mg/l.) con el objeto de asegurar una mayor eclosión (Mendoza-Alfaro, 1985).

A las 36 h. después del desove se procedió a la cosecha de nauplios, se concentraron en un recipiente con una capacidad de 2 l. Se homogeneizó la muestra y se tomaron 5 muestras de 1 ml, para la determinación del número de nauplios.

El porcentaje de eclosión se obtuvo de manera similar al porcentaje de fertilidad, (número de nauplios X 100 / número de huevos fertilizados).

La efectividad de la inducción en los organismos en cada uno de los tratamientos se evaluó en función del número de desoves promedio por mes, la producción de huevos promedio por hembra y los porcentajes de fertilización y eclosión de los productos obtenidos.

5.2 Análisis estadísticos.

A los datos de peso, número de desoves promedio por mes, producción de huevos, porcentaje de fertilidad y eclosión, se les aplicó la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-

Smirnov. Además para comparar la homogeneidad de varianza de cada grupo de datos, se utilizó la prueba de Bartlett. Posteriormente se realizaron análisis de varianza de una vía.

3. Resultados.

3.1 Parámetros físicosquímicos.

En el periodo de 153 días de duración del experimento la temperatura de los estanques de maduración varió diariamente de un mínimo de $28 \pm .5^{\circ} \text{C}$ a un máximo de $29 \pm .5^{\circ} \text{C}$. Los valores de pH se mantuvieron entre 7.5 - 8.5 y los niveles de oxígeno variaron de un mínimo de 4.8 ppm a un máximo de 6.3 ppm.

3.2 Peso de los organismos.

Los grupos integrados para cada tratamiento fueron comparados en sus pesos mínimos iniciales (Tabla III), mediante un análisis de varianza, (Tabla IV), los grupos no fueron significativamente diferentes ($P > 0.05 \%$).

Los organismos operados crecieron a un razon diaria (g/día) A de 0.10 ± 0.022 , (B) 0.091 ± 0.038 , y los intactos (C) 0.11 ± 0.051 . Las razones de crecimiento de los tres grupos no fueron significativamente diferentes entre sí ($P > 0.05 \%$), (Tabla V).

En la tabla (VI) se muestran los valores promedios, y la desviación estandar de los pesos finales de los grupos en

Tabla III. -- Peso inicial promedio de Penaeus stylirostris registrado por los tres grupos experimentales.

Tratamiento	No. organismos	Peso (g)	
		$\bar{X}$	D. S.
A	24	37.38	± 4.53
B	24	38.70	± 4.51
C	24	38.83	± 5.13

Tabla IV. -- Análisis de varianza de los pesos iniciales de los grupos en tratamiento.

Fuente de variación.	G.L.	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F
Tratamiento	2	30.66	15.33	.662
Error	69	1597.68	23.15	
Total	71	1628.34		

F crítica (P > 0.05 %) : 3.01

Tabla V.- Análisis de varianza de los valores de la razón de incremento diario de los grupos (A , B , C).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F
Tratamiento	2	.00471	.002355	1.51
Error	62	.0966	.001558	
Total	64	.1013		

F crítica. (P) 0.05 %) : 3.01

Tabla VI.- Valores de peso final de los grupos experimentales.

Grupo	No. Hembras	Peso (g.)
	N	$\bar{X}$ D.S
A	23	54.53 $\pm$ 3.84
B	19	52.79 $\pm$ 4.83
C	24	55.79 $\pm$ 5.70

tratamiento A, B, y C, los valores de los pesos finales de los grupos también fueron comparados mediante un análisis de varianza, no se encontró diferencia significativa entre los organismos operados y no operados ($P > 0.05$) (Tabla VII).

3.3 Sobrevivencia.

Los valores finales de sobrevivencia fueron del 95 % para el grupo A, un 79 % para el grupo B y un 95 % para el grupo C.

3.4 Número de desoves.

Se colectaron un total de 179 desoves de los cuales correspondió el 53.0 % al grupo A, 44.13 % al grupo B y 2.79 % al grupo C. En la figura 1 se muestra el número de desoves acumulativos de hembras operadas y no operadas.

La mayor incidencia de desoves del experimento se presentó en el mes de Diciembre con un total de 55 desoves, y la menor incidencia se observó en el mes de Febrero, con un total de 15 desoves, estos desoves fueron producidos sólo por organismos operados (grupo A y B) (figura 2).

El promedio de desoves por mes para el grupo A fue de 6.3 ± 3.24 , en el grupo B de 5.2 ± 3.13 y para el C $0.33 \pm$

Tabla VII .- Análisis de varianza para los valores de peso final de los grupos experimentales.

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F
Tratamiento	2	116.03	58.01	2.44
Error	62	1473.81	23.77	
Total	64	1589.84		

F crítica (P > 0.05 %) : 3.01

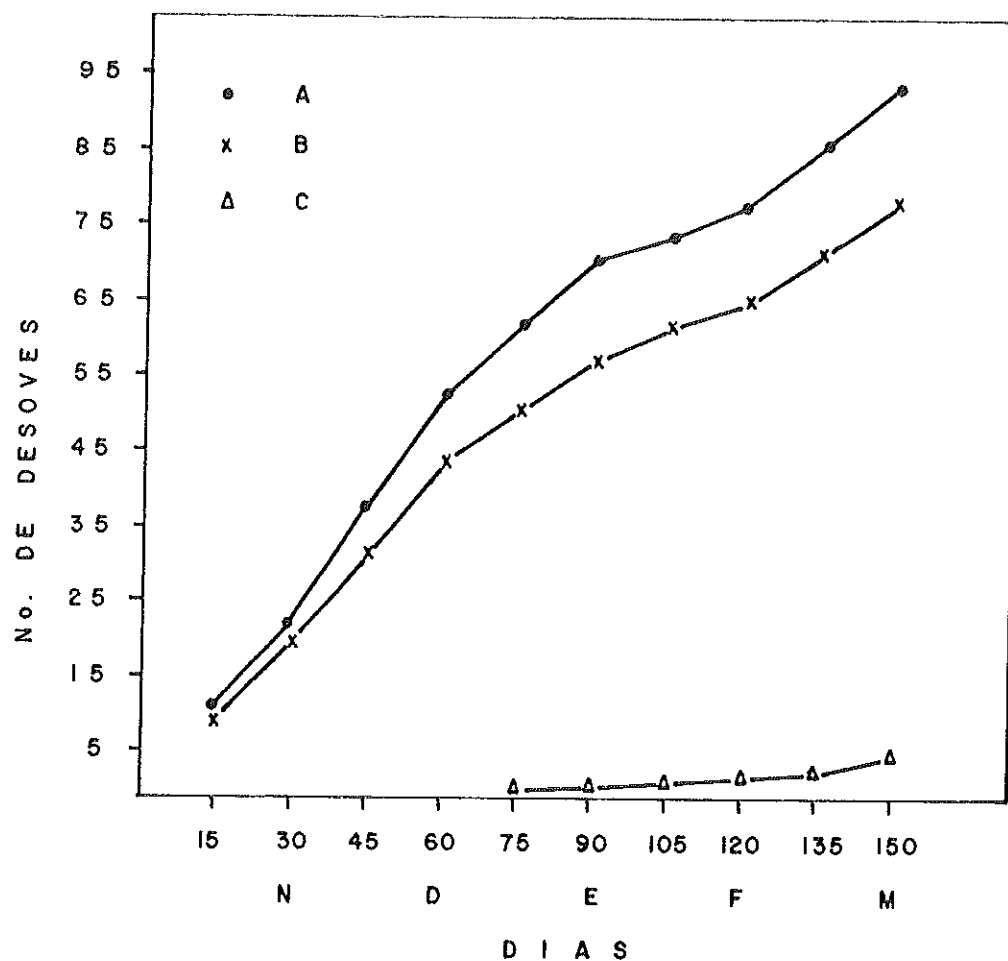


Fig 1.- Número de desoves acumulativos de hembras operadas (A y B) y no operadas (C).

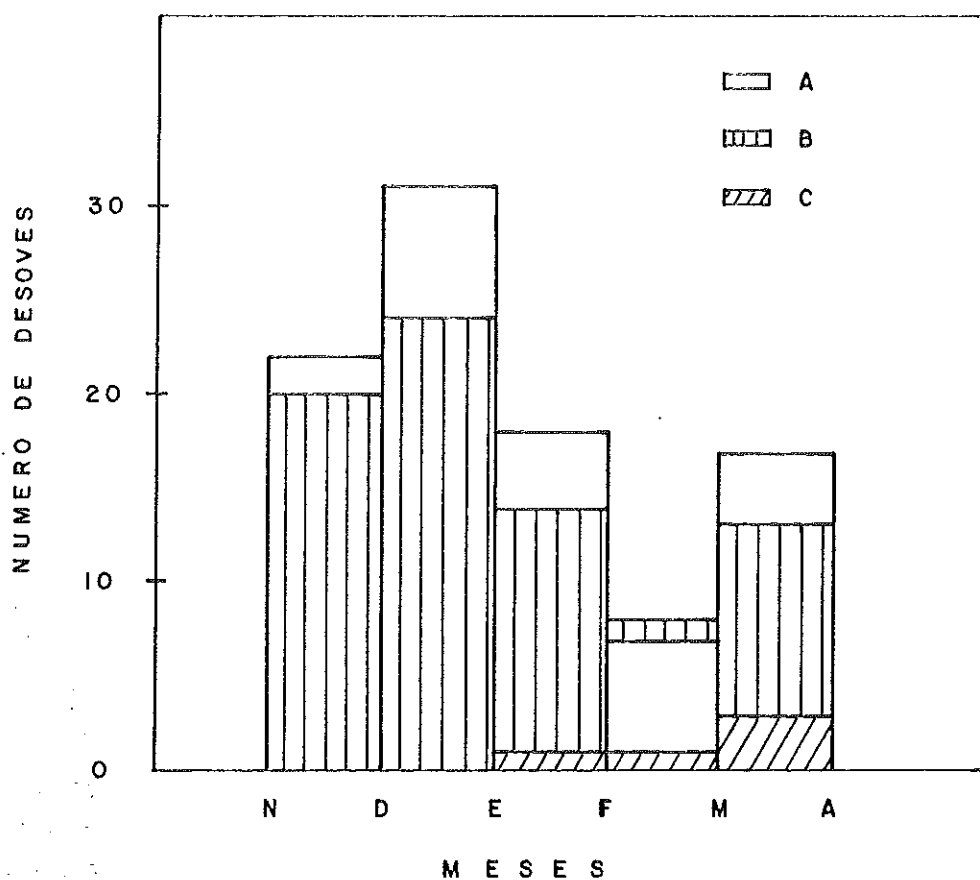


Fig 2.- Número de desoves totales por mes de hembras operadas (A y B) y no operadas (C).

0.50. La comparación de los valores promedio mediante anova para la determinación de diferencias mostró que entre grupos operados no existieron diferencias significativa ($P > 0.05 \%$) (Tabla VIII). Debido a que el grupo C utilizado como testigo sólo produjo 5 desoves en los 153 días de duración del experimento y su promedio mensual de 0.33 ± 0.50 , es evidentemente menor que los promedios de los grupos A y B, no se utilizó ninguna prueba estadística.

3.5 Producción de óvulos.

Se obtuvieron un total de 30,737,256 óvulos de los que corresponde el 55.81 % al grupo A, 39.93 % al grupo B y 4.25 % al grupo control (C). En la figura 3, se muestra el número de óvulos acumulativos por grupo.

El máximo de producción de óvulos se presentó en el mes de Marzo con un total de 10,124,465. El mínimo para el grupo A se presentó en Febrero con un total de 2,073,500, para el grupo B se presentó en el mes de Noviembre con un mínimo de 976,000 y para el grupo C en el mes de Febrero con un total de 240,000 (figura 4).

En la tabla IX se presentan, los promedios de producción por hembras, los valores fueron comparados mediante un anova donde se comprobó que ambos grupos operados no produjeron cantidades significativamente diferentes por desove ($P > 0.05$

Tabla VIII.- Análisis de varianza de los valores promedio de desoves por mes de los grupos operados (A y B).

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F
Tratamiento	1	.9579	.9579	.406
Error	36	85.0420	2.3622	
Total	37	86.000		

F crítica (P > 0.05 %) : 4.08

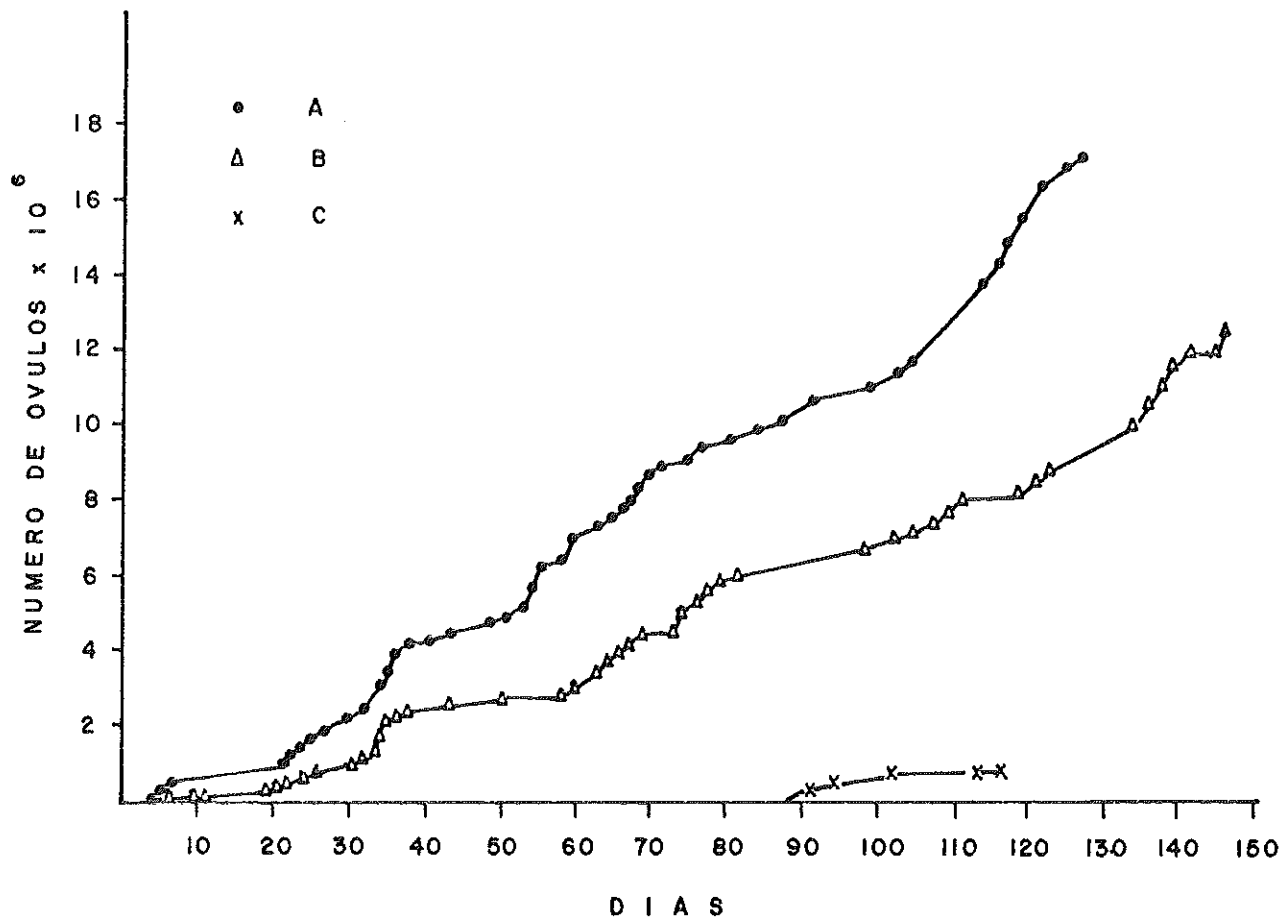


Fig 3.- Número de óvulos acumulativos por grupo.
(A y B hembras operadas, C no operadas).

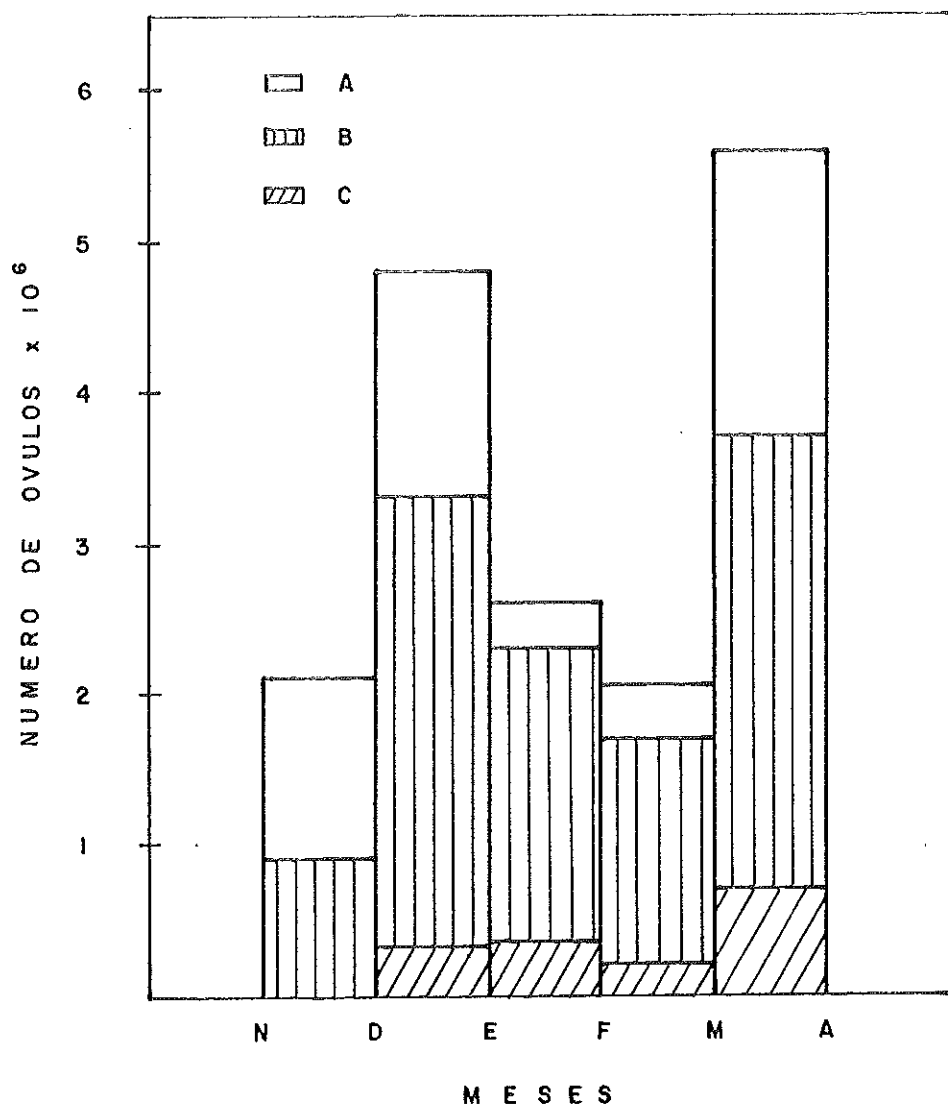


Fig 4.- Número de óvulos totales por grupo por mes.
(A y B hembras operadas, C no operadas).

Tabla IX.- Valores promedio de la producción de ovulos por hembra en sus respectivos tratamientos.

Tratamiento	No. hembra que desovarón	No. $\bar{X}$	ovulos D. S
A	21	201.667 $\pm$	80.690
B	17	205.647 $\pm$	60.860
C	5	261.400 $\pm$	68.105

Tabla X.- Análisis de varianza de una via para los valores de producción de ovulos en los grupos operados.

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F
Tratamiento	1	148.85	148.85	.028
Error	36	189480.55	5623.34	
Total	37	189629.39		

F critica (P > 0.05) : 4.084

%) (Tabla X).

3.6 Rendimiento de los desoves .

De los desoves fertilizados se realizó la cuantificación del número de óvulos fertilizados, los rendimientos del grupo A fueron de un 66.76 ± 29.94 % y para el grupo B 73.02 ± 24.62 % . Los rendimientos de los desoves de ambos grupos operados no fueron significativamente diferentes ($P > 0.05$ %) (Tabla XI) .

Los porcentajes de eclosión para los desoves fertilizados fueron , para el grupo A 72.97 ± 23.95 % para el grupo B 71.80 ± 23.78 % los cuales no fueron significativamente diferentes ($P > 0.05$ %) (Tabla XII).

Cabe mencionar que de los 5 desoves obtenidos durante el experimento de las hembras controles sólo 3 fueron fertilizados con un porcentaje muy bajo de un 22.3 % por lo que no se aplicó ninguna prueba estadística.

Tabla XI.- Análisis de varianza de una vía para los rendimientos de los desoves de los grupos operados.

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F
Tratamiento	1	448.47	448.47	0.586
Error	44	33657.12	764.93	
Total	45	34105.59		

F crítica (P > 0.05 %) : 4.001

Tabla XII.- Análisis de varianza de un vía para la eclosión de desoves fertilizados de los grupos operados.

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F
Tratamiento	1	15.338	15.338	.027
Error	44	24509.583	557.037	
Total	45	24524.932		

F crítica (P > 0.05 %) : 4.001

4 DISCUSION.

En la mayor parte del experimento la constancia en la conservación de la temperatura (29°C) y la tasa de renovación diaria del agua de los estanques de experimentación permiten considerar que las condiciones de mantenimiento para los organismos durante el trabajo fueron óptimas. La oscilación de la temperatura no fué mayor de 1°C , los niveles de oxígeno (5 ppm) y amoníaco ($> .1$ ppm) nunca se registraron valores que excedieran las concentraciones consideradas como seguras (Chamberlain y Lawrence 1981).

El determinar el comportamiento de la presencia de poblaciones bacterianas de tipo *Vibrio* sp. no fué contemplado como parte de objetivo del presente trabajo. No obstante muestreos efectuados mostraron que la concentración de las poblaciones presentes nunca fueron elevadas ($< 2 \times 10^2/\text{ml}$) (Dr. Lizárraga . Comunicación personal), lo cual permite afirmar que no hubo interferencias por poblaciones de bacterias en el proceso de inducción . Generando problemas como la melanización de las ámpulas terminales de los machos b provocando la proliferación de la enfermedad de la "pleura blanca " , que ha sido detectada en otros experimentos de inducción (Aquacop , 1979).

Dr. Leonardo Lizárraga P. CICESE. Depto. de Bacteriología.

Browdy y Samocha (1985) afirmaron que la práctica de la enucleación estará acompañada indudablemente de mortalidad . Contrario a esto, durante el desarrollo del experimento la sobrevivencia fue considerablemente alta en todos los grupos (95 % A , 79 % B , 95 % C) . No se registró ninguna pérdida de organismos en los primeros días posteriores a la enucleación . Esto se podría atribuir principalmente al seguimiento individual ejercido en la determinación del periodo intermuda de los organismos (Robertson *et al* 1987) para efectuar la enucleación , así como las precauciones tomadas antes y después de la operación (Caillouet , 1972) .

La diferencia registrada en la sobrevivencia del grupo B con respecto a los dos restantes grupos no fue posible evaluarla con precisión ya que los factores de manipulación , desgaste por efecto de la enucleación y canibalismo en organismos recién mudados fue relativamente imposibles de cuantificar de manera precisa . Es interesante que en comparación a lo observado en nuestro experimento , Aquacop (1979) reporte como porcentaje de pérdida un 10 % en tres meses , valor que solo fue rebasado por el grupo B en un periodo de 5 meses .

El crecimiento de todos los grupos de organismos, tanto operados como no operados presentó una tasa diaria promedio de valores casi idénticos (Tabla VI) , se podría presumir

que las hembras bajo el efecto de la enucleación pudieron mantener su ritmo de crecimiento , a través de la diversidad del alimento ofrecido , a pesar de la demanda energética que ejerció la mayor frecuencia de maduraciones de estos en comparación a los organismos intactos .

En la búsqueda del máximo porcentaje de respuesta de los organismos a la influencia de enucleación se utilizaron individuos que cumplieran con la máxima talla (Otogalli *et al* 1988) de 35 gr (Tabla III). No obstante los rendimientos muestran que solo el 91.5 % del grupo A , el 86 % del grupo B y sólo el 20.8 % del grupo C respondieron a las condiciones de inducción , éstos resultados son difíciles de explicar de manera precisa ya que existen un número de variables que no es posible controlar como es el caso de factores hereditarios que pudieron influir en la respuesta del organismos o bien la misma variabilidad de las concentraciones de los componentes involucrados en el proceso de muda y maduración , que tal vez al momento de efectuar la enucleación no se logró eliminar la presencia de las hormonas inhibidoras y por ende no se produjera la inducción a la madurez.

En el experimento realizado se aplicaron todos los factores que han demostrado ser fundamentales y de influencia específica para lograr la inducción de organismos adultos de *Bemisia tabaci* bajo condiciones de laboratorio sin la

utilización de enucleación (Chamberlain y Lawrence , 1981) . Sin embargo los resultados obtenidos en los organismos no operados no fueron buenos, de las 24 hembras que se utilizaron como testigos solo 5 de ellas respondieron a la inducción , con una producción promedio de huevos ($261,400 \pm 60,105$) que está dentro de los rangos previamente reportados (Brown *et al*, 1980) , (Aquacop , 1983).

Por otro lado, los rendimientos de los organismos operados fueron notablemente mejores en los dos grupos (A , B) incluso los desoves promedio y la cantidad promedio de óvulos (Tabla IX) no fueron significativamente diferentes entre los grupos. El número de desoves por mes se vió afectado en su distribución particularmente durante el mes de Febrero. Esta variación en el número de desoves fué ocasionada por el descenso de la temperatura en los estanques de maduración de 28 ± 1 a 22°C debido a una falla en el sistema de calentamiento que duró aproximadamente seis días. Sin embargo se puede considerar de manera específica que la aplicación de la enucleación en cualquier momento de la fase de intermuda tendrá aparentemente el mismo efecto en el rendimiento de los organismos .

Respecto a la producción acumulativa de desoves y óvulos (figuras 1 y 3) el grupo A produjo aproximadamente un 9 y un 15 % respectivamente mas que el grupo B , una

ligera diferencia que podría ser explicada si se considera que el número de organismos del grupo A presentes hasta el final del experimento fue también un poco mayor (95 % vs 79 %).

Los porcentajes de fertilización obtenidos de ambos grupos operados (A 66.7 % , B 73.0 %) son mayores que los reportados por otros autores los cuales se encuentran en un rango 10 - 50 % (Aquacop , 1979 ; Brown , *et al* , 1980 ; Otogalli , *et al* 1988). El porcentaje de fertilidad regularmente es atribuido a la calidad del esperma , la edad del macho , y además en algunas especies como Penaeus vannamei al proceso de enucleación , que ha demostrado incrementar significativamente el tamaño de las ampulas terminales y una duplicación en la frecuencia de apareamiento (Chamberlain , *et al* 1985) , no obstante es indiscutible que la calidad de los productos de ambos sexos es de igual importancia para obtener los más altos valores posibles de fertilización .

De manera similar a los porcentajes de fertilización los valores de eclosión fueron considerablemente elevados con respecto a de Chamberlain y Lawrence (1981) de 40 % los obtenidos se encuentran por arriba de estos.

Es muy probable que se hubiera mejorado los porcentajes

hasta un 90 % (Otogalli , *et al* , 1988), si además de la adición de EDTA se hubiera mantenido un control preciso sobre la temperatura de los estanques de eclosión que invariablemente tendían hacia la pérdida de temperatura llegándose en ocasiones hasta los 23°C , y como condición indispensable se requieren $28 \pm .5^{\circ}\text{C}$ constantes para lograr una máxima eficiencia en la eclosión (Aquacop , 1983) .

El efecto de la enucleación sobre la respuesta a la primera maduración de los organismos puede ser rápida , algunas hembras desarrollan sus ovarios casi inmediatamente y desovan en tres ó cuatro días , en otros casos las hembras mudan y les toma de dos a tres semanas llegar a iniciar su desarrollo en los ovarios (Aquacop , 1979, 1983) . Para ambos grupos operados se presentó la segunda condición en los organismos teniendo un tiempo promedio de respuesta de 21 ± 2 días para el grupo A y 19 ± 3 días para el grupo B .

Las causas que producen una respuesta de los organismos con tal amplitud en el tiempo no han sido determinadas con exactitud se presume que la condición individual del organismos en lo que respecta a nivel de reservas energeticas influyen en el tiempo de respuesta, la edad del organismo y la época del año tiene también un efecto directo en la respuesta del organismo , (Adiyodi y Adiyodi , 1970) .

Uno de los problemas detectados con otras especies como Penaeus monodon durante la inducción a través de enucleación ha sido la regresión de ovarios en desarrollo, en Penaeus stylirostris y Penaeus vannamei la regresión rara vez se presenta y regularmente es atribuida a la tensión fisiológica debido al manipuleo (Aquacop, 1979).

En los organismos utilizados no se presentaron regresiones de ovarios a pesar de la manipulación diaria de la hembras para revisión o traslado a los estanques de desove prácticamente todo estadio de gravidez 3 y 4 detectado culminó en desove que aunque rara vez fue parcial, cuando se presentó se tuvo el cuidado en el seguimiento del organismo y en un periodo máximo de 5 días se obtuvo un segundo desove total.

El proceso de inducción en Penaeus stylirostris en época no reproductiva parece ser que aún no es posible lograrlo con la eficiencia deseada con tan solo el manejo de condiciones fisicoquímicas, alimentación e iluminación ya que los rendimientos registrados en el grupo no operado en el número de desoves producidos fue extremadamente bajo (Tabla IX) en comparación con los obtenidos de los grupos operados.

De hecho en otros experimentos se ha logrado también inducir a organismos a la madurez (Chamberlain 1981), con

solo la manipulaci3n de las condiciones mencionadas sin la influencia de la aplicaci3n de la enucleaci3n , y aunque los resultados son mejores que los obtenidos en el presente trabajo tampoco garantizan una respuesta efectiva de los progenitores para obtener la producci3n masiva de postlarvas.

5 CONCLUSIONES .

La aplicación de la enucleación en los periodos 0-24 h y 25-48 h, dentro de la fase de intermuda, no produjeron rendimientos significativamente diferentes en el número promedio de desoves por hembra ni en la cantidad promedio de óvulos liberados .

Se logro inducir el desarrollo ovárico de camarones adultos mediante la enucleación unilateral en temporada otoño-invierno.

6 LITERATURA CITADA.

Adiyodi, K.G. , and R.G. Adiyodi , 1970. Endocrine of reproduction in decapod crustacea. Biological Review 45: 121-165.

Aquacop, 1975. Maturations and spawning in captivity of shrimp: *Penaeus merguensis*, *P. japonicus*, *P. aztecus*, *Metapenaeus ensis* and *P. semisulcatus*. World Mariculture Society. 6: 123-132.

Aquacop, 1977. Observation on the maturation and reproduction of penaeid shrimp in captivity in a tropical medium. Aquaculture Workshop, ICES, May 10-13, Brest, France, 34 pp.

Aquacop, 1979. Penaeid reared broodstock: closing the cycle of *P. monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. Proc. World Maricul. Soc. 10: 445-452.

Aquacop, 1983. Constitution of broodstock, maturation, spawning and hatching system for Penaeid shrimps. in the C.O.P. in C.R.C. Handbook of Mariculture. Vol. 1, Crustacean aquaculture, Boca Raton. Florida. p.p 105-122.

- Bliss, D. E., 1966. Relation between reproduction and growth in decapod crustaceans. Am. Zool. 6: 231-233.
- Brown, A., Jr., J. McVerry, B.M. Scott, T.D. Williams B.S. Middleditch and A.L. Lawrence 1980. The maturation and spawning of Penaeus stylirostris. Undercontrolled laboratory conditions. Proc. World Maricul. Soc. 11: 488-499.
- Browdy C.L and T.M Samocha. 1985. The effect of eyestalk ablation on spawning, molting and mating of Penaeus semisulcatus de Haam. Aquaculture, 49: 19-29.
- Caillouet, C.W. 1972. Ovarian maturation induced by eyestalk ablation in pink shrimp Penaeus duorarum Buekenroad. Proc. World Maricul. Soc. 3:205-225.
- CICTUS. 1985. Informe final. Influencia de la nutrición sobre la maduración sexual de hembras de Penaeus stylirostris silvestre y cultivadas.
- Chamberlain W. and L. Lawrence 1981. Effect of light intensity and male and female eyestalk ablation on reproduction of Penaeus stylirostris and P. vannamei. J World Maricul. Soc. 12 (2) : 357-372.

- Chamberlain W., M.G. Haby. and J.M Russell J. Miget, 1985. Texas shrimp farming manual an update on current technology. p.p 359.
- Duronslet, M.M., Yudin, A.I., Wheller, R.S. and Clark, W.H., Jr. 1975. Light and fine structural studies of natural and artificially induced egg growth of penaeid shrimp. Proc. World. Marc. Soc. 6:105-122.
- Kulkarni, G.K. and Nagabhushanam, R., 1979. Mobilization of organic reserves during ovarian development in a marine penaeid prawn *Parapenaeopsis hardwickii* (Penaeidae). Aquaculture 18 (4): 373-378 .
- Lawrence, A.L., D. Ward, S. Missler, A. Brown, J. McVery, and B.S Middletich. 1979. Organ indice and biochemical level of ova from Penaeid shrimp maintained in captivity vernus those captured in the wild. Proc. World Maircul. Soc. 10:453-463.
- Morales. 1982. El cultivo del camarón . Técnica Pesquera. México D.F. 171:12-17.
- Mendoza-Alfaro, R 1985. Observaciones sobre la producción de nauplios a partir de poblaciones azul (*Penaeus stylirostris*) Tesis de licenciatura. Univ. Nal.

Autón. de México . 63 p.p

Oceanic Institute, (1981), "A proposal to develop a penaeid shrimp farm in Hawaii". University of Hawaii Sea Grant College Program. (internal document) . 32 p.p.

Ottogalli, L., C. Galinie, D. Goxe , 1988. Reproduction in captivity of Penaeus stylirostris over ten generation in New Caledonia. J. Aqua. Trop., 3:111-125 p.p.

Panouse, J.B. 1943. Influence de l'ablation de pedoncule , oculaire sur la croissance de l'ovaire chez la crevette leander serratus. C.R acad. Sci., Paris, T. 217:553-555.

Primavera, J.H., 1978. Induced maturation and spawning in fivemonthold El monodon Fabricius by eyestalk ablation. Aquaculture, 13: 355-359.

Rodriguez-Marin , M.F. , Jaime Vazquez, J. y R-Mendoza Alfaro 1985. Influencia de la nutrición sobre la maduración sexual de hembras de Penaeus stylirostris silvestres y cultivadas. Informe Final del proyecto. CICTUS.

Roberson L., B. William, Trujillo J. and A. Lawrence. 1987.

Practical molt staging of *Penaeus stiferus* and *P. stylirostris*. J. World Marcul. Soc. Vol.18, No. 3:180-185.

Schade, M.L. and Shivers, R.R 1980. Structural modulation of the surface and cytoloplasm of oocytes during vitellogenesis in the lobster, *Homarus americanus*. An electron microscopeprotein trace study. J. Morphol. 163:13-26.

Sokal, R.R and Rohlf F.J. 1981. Biometry. The principles and practice of statistics in Biological Research. W. H. Freeman and company. 859 p.p.

Steel-Torrie. 1988. Bioestadística: Principios y procedimientos . Segunda edición. McGraw-Hill/Interamericana de México, D.F. 622 p.p.

Young, J.E. 1974. Variations in the timing of spermatogenesis in *Uca pugnax* (Smith) and possible effects (Decapoda, Brachyura, Ocypodidae) Crustaceana 27: 68-72.

Wear, R.G. and Santiago, A., Jr. 1976. Induction of maturity and spawning in *Penaeus monodon* Fabricius, 1978, by unilateral eyestalk ablation (Decapoda: Natantia). Crustaceana, 31 (2):218-220.