



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSEMINACION ARTIFICIAL EN POBLACIONES SILVESTRES

Y CULTIVADAS DE CAMARON AZUL Penaeus stylirostris



T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL  
TITULO DE  
**OCEANOLOGO**

PRESENTA

PEDRO MARTIN DOMINGUEZ VALDEZ

ENSENADA, B. C.

SEPTIEMBRE DE 1988

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSEMINACION ARTIFICIAL EN POBLACIONES SILVESTRES  
Y CULTIVADAS DE CAMARON AZUL Penaeus stylirostris

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
O C E A N O L O G O  
PRESENTA:  
PEDRO MARTIN DOMINGUEZ VALDEZ

ENSENADA, B.C., SEPTIEMBRE DE 1988.

## RESUMEN

Debido a la utilidad potencial de la inseminación artificial en la producción comercial de postlarvas y a su importancia como herramienta útil en trabajos genéticos, se implementó esta técnica para el camarón azul *Penaeus stylirostris* de poblaciones silvestres y cultivadas, evaluando, al mismo tiempo, su eficiencia. Se consideró, además, la influencia del Tamaño Gonadal de la hembra. El experimento se planificó como un arreglo factorial de tres vías con dos niveles cada una, resultando en 8 tratamientos con 10 replicas cada uno. Los factores y sus respectivos niveles fueron: Población (silvestre-cultivada), Tipo de Inseminación (natural-artificial) y Tamaño Gonadal (pequeña-grande). Se evaluó también los distintos métodos para la extracción del espermatóforo. Los resultados muestran: que el método de extracción más efectivo fue el eléctrico; que la inseminación artificial produjo menos nauplios y menores tasas de rendimiento que la natural; y, que debido a los riesgos de afectar la capacidad reproductora de los organismos utilizados, no se recomienda utilizar la técnica de inseminación artificial, salvo en los casos particulares que se mencionan.

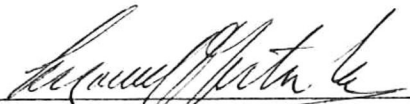
INSEMINACION ARTIFICIAL EN POBLACIONES SILVESTRES  
Y CULTIVADAS DE CAMARON AZUL Penaeus stylirostris

T E S I S  
QUE PRESENTA:  
PEDRO MARTIN DOMINGUEZ VALDEZ

Aprobada por:



Presidente del Jurado  
Dr. Alberto Carvacho Bravo



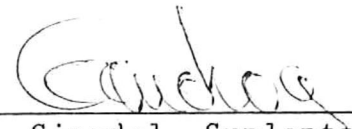
Sinodal Propietario  
M.C. Manuel Acosta Ruiz



Sinodal Propietario  
Oc. Luis Mc Anally Salas



Sinodal Suplente  
M.C. Guillermo Villarreal Ch.



Sinodal Suplente  
Oc. Victor Gendrop Funes

D E D I C A T O R I A :

A MIS PADRES

A TERE

A MIS HERMANOS

A DON PACO Y DOÑA CARMEN

## A G R A D E C I M I E N T O S

La realización de cualquier trabajo demanda el apoyo de mucha gente. Particularmente los trabajos de tesis son el resultado de la ayuda de varias personas que en nombre de la amistad nos brindan la mano. Tratar de enlistarlos a todos sería correr el riesgo de cometer omisiones imperdonables. Para todos ellos, mis más sinceros agradecimientos.

De manera muy especial quiero agradecer al Dr. Alberto Carvacho por todo el apoyo brindado y sus atinados comentarios al presente trabajo. Al M. en C. Manuel Acosta, al Oc. Luis Mc Anally, al M. en C. Guillermo Villarreal y al Oc. Victor Gendrop, porque el resultado final se logró gracias a sus observaciones. A las autoridades del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, por haberme permitido realizar el presente trabajo en dicho centro. Al Ph. D. Duk-In Hong, del Environmental Research Laboratory-University of Arizona, sin cuya asistencia y asesoría durante la fase experimental del trabajo, hubiera sido imposible realizarlo. A todo el personal que labora en la Unidad Experimental Peñasco del CICTUS, por su amistad y colaboración. A Teresa Gutiérrez Wing, por su valiosa asesoría en la parte estadística. Al Dr. Alain Walkowiak, por permitirme amablemente a utilizar su micro para la elaboración del escrito.

A TODOS ELLOS, GRACIAS.

## I N D I C E

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	8
LOCALIZACION DEL AREA DE ESTUDIO.....	9
MATERIALES Y METODOS.....	10
RESULTADOS.....	24
DISCUSION.....	33
CONCLUSION.....	41
RECOMENDACIONES.....	42
LITERATURA CITADA.....	43
APENDICE I.....	49

## L I S T A D E T A B L A S

TABLA I.-	Composición de la dieta usada en la UEP-CICTUS para maduración.....	12
TABLA II.-	Resultados obtenidos con los distintos métodos para la extracción del espermatóforo. Los valores entre ( ) corresponden a los preliminares de inseminación con el espermatóforo compuesto. Los valores en negrillas corresponden a las pruebas hechas con un segundo aparato.....	25
TABLA III.-	Producción de huevos por tratamiento.....	29
TABLA IV.-	Producción de nauplios por tratamiento.....	29
TABLA V.-	Tasa de Rendimiento por tratamiento.....	30
TABLA VI.-	Resultados del análisis de varianza de tres vías no paramétrico de Wilson para producción de huevos.....	30
TABLA VII.-	Resultados del análisis de varianza de tres vías no paramétrico de Wilson para producción de nauplios.....	32
TABLA VIII.-	Resultados del análisis de varianza de tres vías para tasa de rendimiento.....	32

## L I S T A   D E   F I G U R A S

Figura 1.- Diferentes grados de desarrollo ovárico de <i>Penaeus stylirostris</i> (tomado de CICTUS, 1984).....	5
Figura 2.- Diferentes Tamaños Gonadales de hembras grado G4.....	5
Figura 3.- Transportación de los organismos al Laboratorio de Incubación (tomado de CICTUS, 1984).....	15
Figura 4.- Método de marcado utilizado en la selección de machos.....	17
Figura 5.- Aparato utilizado para sujetar a los organismos. A, media caña de PVC; B, acojinamiento de hule espuma; C, tabla; D, tiras contraparte del cierre de contacto (velcro); E, tiras de enganche del cierre; F, tético de la hembra (tomado de Olivier y Salinger, 1984).....	17

## INTRODUCCION

La importancia del camarón como recurso pesquero, a la par de la crítica situación por la que atraviesa dicha pesquería, ha motivado que gran parte de los esfuerzos dentro de este sector se enfoquen al cultivo de este crustáceo como una opción viable para la producción (Ramírez-Wong, 1983).

Además del financiamiento, uno de los principales factores que frena el desarrollo de esta actividad es la falta de un suministro abundante de postlarvas a las granjas camaronícolas.

Existen tres métodos comúnmente usados para la obtención de dichas postlarvas para fines acuiculturales: a) la colecta de postlarvas silvestres de los sistemas estuarinos; b) la captura de hembras grávidas en altamar para, posteriormente, hacerlas desovar en el laboratorio; y, c) la inducción a la maduración y desove de organismos en cautiverio o cultivados. Estos tres métodos presentan una serie de desventajas que traen como consecuencia un abasto deficiente de postlarvas (Bray et al, 1982; Rodríguez-Marín et al, 1985). Por una parte, la colecta de postlarvas silvestres depende de la temporada, es decir, no es constante a lo largo del año, y está sometida a los efectos de las variaciones del clima y fenómenos ambientales; además de resultar inapropiada porque puede llegar a afectar la

captura de camarón en altamar y, a la larga, disminuir la producción natural de postlarvas (Rodríguez-Marín et al, 1985). Por su parte el método de captura de hembras apareadas silvestres depende de la disponibilidad de reproductores en altamar y, por lo tanto, es estacional; aunado a esto están los altos costos que implica el uso de una embarcación, así como la inseguridad de obtener las hembras reproductoras debido a los movimientos poblacionales y condiciones climáticas (Bray et al, 1982; Rodríguez-Marín et al, 1985). Otra desventaja importante que se presenta en los peneidos de télico abierto es la dificultad de capturar hembras maduras con el espermátforo adherido intacto (Bray et al, 1982). Por último, el método de inducción a la maduración y desove de hembras cultivadas o en cautiverio depende, entre otras cosas, de la cantidad de machos y hembras que se apareen. Es decir, se ha observado que en poblaciones de adultos reproductores de *Penaeus stylirostris*, con peso entre 40-65 g y proporciones de hembras y machos de 1:1 en poblaciones silvestres y cultivadas, no todos los machos se aparean con todas las hembras, a pesar de que éstas presenten un máximo desarrollo ovárico y que las condiciones sean las adecuadas para el apareamiento. También puede suceder que el espermátforo no quede bien colocado debido a choques en las paredes de los acuarios durante el apareamiento y, por consiguiente, los huevos no sean fertilizados (AQUACOP, 1977). Otra condición

que se observa comúnmente es la de hembras apareadas por dos y hasta tres machos durante la misma noche. En ocasiones estos espermátóforos superpuestos "desacomodan" al anterior y pueden terminar por desprenderse ambos fácilmente. Otro inconveniente que refleja esta situación es el que quedan hembras maduras sin aparear.

Los éxitos obtenidos recientemente con la inseminación artificial en camarones de télico abierto sugieren su utilidad potencial para incrementar la producción de postlarvas en organismos cultivados o en cautiverio. Persyn (1977) patentó un método para inseminar artificialmente camarones de télico abierto, el cual consiste básicamente en extraer el espermátóforo mediante disección, separar la masa espermática y colocarla en el télico de la hembra, y obtuvo tasas de fertilización de 15-75 % para *Penaeus stylirostris*, *P. vannamei*, *P. occidentalis*, y *P. setiferus*. Tave y Brown (1981) lograron fertilizar hembras de peneidos mediante la transferencia del espermátóforo completo, pero no reportan tasas de fertilización. Bray et al (1982) inseminaron artificialmente hembras maduras de *P. setiferus* colectadas en altamar como una medida para incrementar la producción postlarval, logrando triplicar la producción total de nauplios; no obstante, la tasa de eclosión promedio fue mucho menor que la de inseminación natural. Diferencias similares entre las tasas de eclosión de ambos métodos son

reportadas por Bray et al (1983), quienes además discuten las posibles causas. Mas recientemente Bray y Lawrence (1984) declaran haber obtenido las mismas tasas de eclosión con ambos métodos de inseminación.

Un considerando importante para realizar la inseminación artificial es la selección de hembras maduras próximas al desove; es decir, hembras con alto grado de madurez. El criterio se basa en la forma, tamaño, color y textura de la gónada (CICTUS, 1984). Los diferentes grados de desarrollo ovárico de *P. stylirostris* se han dividido en cinco categorías de menor a mayor desarrollo: G1, G2, G3, G4 y G5 (ver Apéndice I); el grado G5 es posterior al desove y en él comienza a haber reabsorción de tejido (fig. 1) (CICTUS, 1984). Esto coincide con lo señalado por King (1948) para *P. setiferus* y por Primavera (1978) para *P. monodon*.

En la Unidad Experimental Peñasco (UEP) del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (CICTUS) es común observar desoves de hembras cuyas gónadas, aun teniendo la forma, color y textura características de una hembra grado G4, no presentan el tamaño de gónada que correspondería a dicho grado de madurez.

Debido a la similitud entre los tamaños gonadales que exhiben estas hembras y los tamaños gonadales de los diferentes grados de madurez, se ha venido denominando a las

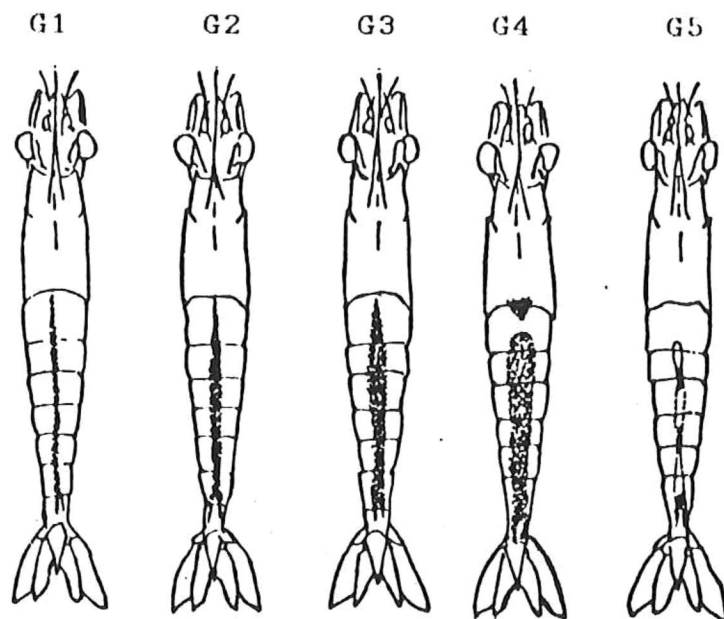


Figura 1. Diferentes grados de desarrollo ovárico de *Penaeus stylirostris* (tomado de CICTUS, 1984).

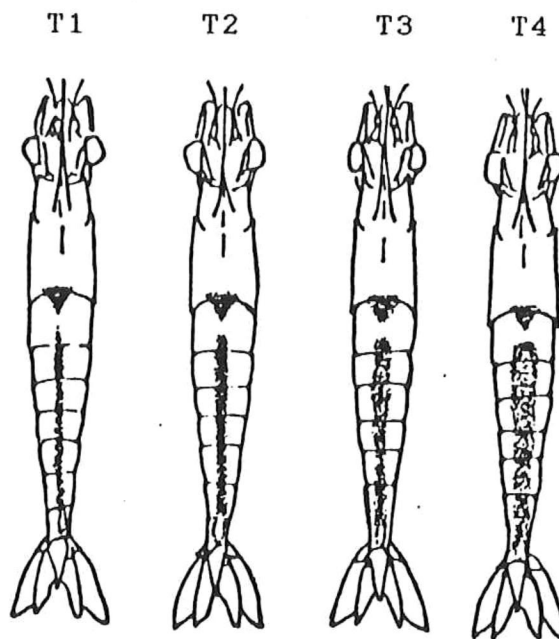


Figura 2. Diferentes Tamaños Gonadales de hembras grado G4.

primeras con los mismos valores que a las segundas. Este uso indiscriminado de los valores de Grado de Madurez para designar a los distintos Tamaños Gonadales de las hembras G4 es erróneo ya que se refieren a conceptos totalmente distintos. Para evitar esta confusión, se han designado los distintos Tamaños Gonadales de hembras G4 como: T1, T2, T3 y T4 (fig. 2).

Mendoza-Alfaro (1985) menciona que uno de los principales factores que influye en la cantidad de huevos y nauplios producidos por *P. stylirostris* es el "Grado de Madurez". Al considerar dicho factor en su análisis estadístico este autor decide, en base a evidencia histológica y estadística, agrupar los desoves obtenidos de hembras G1 y G2 como desoves de hembras con Grado de Madurez Bajo (GMB) y los de hembras G3 y G4 como desoves de hembras con Grado de Madurez Alto (GMA). Al reportar desoves de hembras G1, G2 y G3 es evidente que el autor, confundiendo ambos conceptos, se está refiriendo a los distintos Tamaños Gonadales de hembras G4.

Considerando lo anterior, el presente trabajo pretende implementar, a nivel bioensayo, la técnica de inseminación artificial para *Penaeus stylirostris*, debido a su utilidad potencial en la producción comercial de postlarvas y a su importancia como herramienta útil en futuros trabajos genéticos que se realizarán en la UEP del CICTUS.

Se eligió al camarón azul para este trabajo debido a su importancia comercial, su adaptación al cultivo intensivo, su resistencia a las enfermedades, y por el hecho de ser una especie que ya se cultiva en forma integral en la Unidad Experimental Peñasco (UEP) del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (CICTUS), donde se dispone de poblaciones de reproductores silvestres y cultivados.

## OBJETIVOS

1) Implementar la técnica de inseminación artificial para *Penaeus stylirostris* de poblaciones silvestres y cultivadas, adecuando los diferentes métodos documentados para realizarla.

2) Evaluar la eficiencia de esta técnica por comparación con la inseminación natural, para ambas poblaciones.

3) Observar las diferencias que puedan resultar de utilizar hembras con distintos tamaños gonadales, también en ambas poblaciones.

## DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO

El presente trabajo se llevó a cabo en la Unidad Experimental Peñasco (UEP) del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (CICTUS), sita en Carretera a Caborca s/n, Puerto Peñasco, Sonora. En esta Unidad se viene realizando investigación sobre cultivo de camarón en ambiente controlado desde 1973 (CICTUS, 1984), contando actualmente con una gran experiencia en este tipo de cultivo, además de las instalaciones y equipo necesarios para la realización del presente trabajo.

## MATERIALES Y METODOS

### DISEÑO EXPERIMENTAL

Con el fin de considerar el factor Tamaño Gonadal en el presente trabajo, se siguió, por analogía, el criterio utilizado por Mendoza-Alfaro (1985), dividiéndose los 4 tamaños en dos grupos: Tamaño Gonadal Pequeño (TGP) y Tamaño Gonadal Grande (TGG) (agrupando T1-T2 y T3-T4, respectivamente).

Así, el experimento se realizó de acuerdo al siguiente diseño:

		Ins. Art.	Ins. Nat.	
SILVESTRES	TGP	10	10	TGP: Tamaño Gonadal Pequeño. TGG: Tamaño Gonadal Grande.
	TGG	10	10	
CULTIVADOS	TGP	10	10	10: Número de desoves.
	TGG	10	10	

La inseminación artificial es el tratamiento a evaluar y la natural, el control. Los valores principales que se consideraron fueron: número de huevos, número de nauplios y tasa de rendimiento (cantidad de Nauplios, subestadios V y VI, producidos por desove).

### OBTENCION Y MANTENIMIENTO DE LOS ORGANISMOS

Los organismos silvestres utilizados durante el presente trabajo fueron colectados frente a las costas de

San Felipe, B.C., en cruceros efectuados en los meses de Enero y Octubre de 1987, siendo transportados a las instalaciones en hieleras con agua de mar y aireación suplementaria de acuerdo a la técnica descrita por CICTUS (1984).

Una vez instalados los organismos en los acuarios de maduración, pasaron por un periodo de aclimatación de 10 días durante el cual se les suministró la dieta utilizada para maduración (tabla I) adicionada con Oxitetraciclina (Terramicina) a razón de 1.0 g/Kg de alimento. Este alimento se suministró en una proporción diaria del 3 % de la biomasa total, dividida en tres raciones (40, 30 y 30 %).

Los organismos cultivados utilizados corresponden a las generaciones primera (segundo linaje: F1') y novena (primer linaje: F9) producidas en las instalaciones de la UEP del CICTUS y se obtuvieron de la reproducción de organismos silvestres, la primera, y de la octava generación, la segunda, en Junio y Diciembre de 1986, respectivamente.

Para el mantenimiento de los reproductores se utilizaron los acuarios de maduración de la UEP-CICTUS los cuales son estanques de 66 m<sup>2</sup> aproximadamente (23 x 2.9 m), con un tirante de agua de aproximadamente 0.32 m. Los acuarios están protegidos por una estructura inflada de polietileno como la descrita por Mahler et al (1974). La

TABLA I. Composición de la dieta usada en  
la UEP-CICTUS para maduración.

INGREDIENTES	%
Trigo entero molido	38.0
Harina de soya	15.6
Harina de camarón	15.0
Harina de pescado (1)	20.0
Solubles de pescado	2.0
Aceite de pescado	2.0
Aceite de soya	1.0
Mezcla de Vitaminas (2)	1.0
Acido Ascórbico	0.4
Mezcla de Minerales (3)	3.0
Ligadores (4)	2.0
 T O T A L	 100.0

(1) Anchoveta.

(2) Mezcla Peterson.

(3) Dynafos (fosfato monocálcico-fosfato dicálcico).

(4) Alginato de Sodio y Hexametafosfato de Sodio.

distribución del agua es a través de una tubería con perforaciones que permite que caiga en forma de chorro y tenga así una buena aireación. El flujo de agua, suministrado las 24 horas, permite obtener una tasa de recambio de 400 % al día, lo que contribuye a mantener un nivel alto de oxígeno y a evitar la concentración excesiva de desechos orgánicos. No se utilizaron filtros biológicos ni recirculación. El suministro de agua proviene de un pozo que abastece a toda la UEP del CICTUS.

Los organismos se mantuvieron en estos acuarios con una proporción de machos y hembras de 1:1 y a densidades no mayores de 5 organismos/m<sup>2</sup>.

Los pesos promedio de los organismos utilizados en el presente proyecto fueron los siguientes:

Hembras Silvestres: 64.11 g (45.5 - 86.3 g; n = 39)

Machos Silvestres: 48.09 g (34.7 - 59.2 g; n = 40)

Hembras Cultivadas: 58.46 g (36.3 - 83.4 g; n = 38)

Machos Cultivados: 50.42 g (35.5 - 68.7 g; n = 39)

En general, los parámetros físicoquímicos fueron los siguientes: Temperatura, 25-28 °C; Salinidad, 38 ‰; Oxígeno disuelto, 5-8 ppm; pH, 7.5-8.5; y Amoníaco disuelto en concentraciones menores de 0.1 ppm.

Se aplicaron tratamientos quimicoprofilácticos cada 10 días con un alguicida comercial a base de cobre y formaldehído (2.8 ppm y 25.0 ppm, respectivamente), para evitar enfermedades producidas por algas y bacterias

(comunicación personal, Area de Patología-CICTUS). Se realizaron además biopsias semanales y necropsias, para detectar el estado de salud de los organismos y las posibles causas de muerte.

Durante todo el experimento se suministró la dieta utilizada en la UEP para maduración, más un complemento de calamar fresco molido, en una proporción diaria del 3 % de la biomasa total. La formulación de esta dieta se puede observar en la tabla I.

El alimento se suministró diariamente en tres raciones con proporciones de: 40, 30 y 30 % ; mientras que el calamar, en dos raciones: 50 y 50 % .

La siguiente metodología se aplicó tanto a poblaciones silvestres como cultivadas:

#### **INSEMINACION NATURAL**

Para la obtención de hembras fecundadas se revisaron los acuarios durante el atardecer. Con ayuda de una lámpara submarina se seleccionaron las hembras fecundadas, se les determinó su Tamaño Gonadal y estado del espermátforo, y se transportaron al Laboratorio de Incubación en tubos de PVC de dos pulgadas de diámetro, con ranuras en los lados y tapones de malla mosquitera en los extremos (fig. 3), acarreados en cubetas con agua de mar; de acuerdo a la técnica descrita por CICTUS (1984).

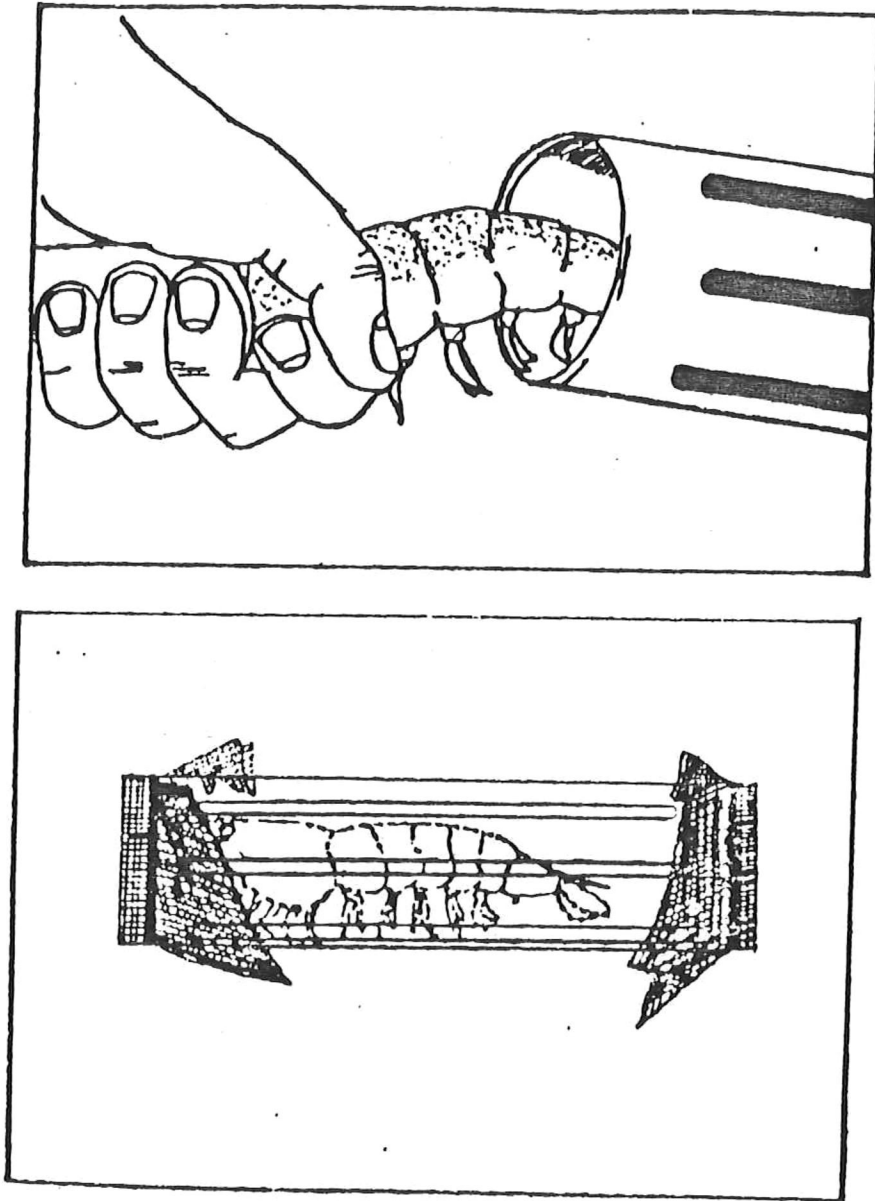


Figura 3. Transportación de los organismos al Laboratorio de Incubación (tomado de CICTUS, 1984).

## INSEMINACION ARTIFICIAL

Para esta etapa se seleccionaron hembras maduras próximas al desove, determinándoseles su Tamaño Gonadal, y machos con las ámpulas terminales blancas y grandes, símbolo de madurez gonadal (King, 1948; Malek y Bawab, 1974).

Para la obtención de los machos se revisaron los acuarios durante el día y se marcaron aquellos organismos que se encontraron adecuados. El marcado fue mediante una pequeña etiqueta plástica, color amarillo, adherida dorsolateralmente en el cefalotórax con un pegamento comercial a base de cianoacrilato, secando previamente el área de colocación (fig. 4). Este método se implementó para optimizar la tarea nocturna y no someter a los organismos a una manipulación excesiva.

Para el caso de las hembras, éstas se buscaron siguiendo el método descrito en el apartado anterior.

Una vez seleccionados los organismos, fueron llevados al Laboratorio de Incubación de la manera ya descrita, en donde se les mantuvo con aireación hasta el momento de la extracción del espermatóforo a los machos e inseminación de las hembras.

Existen varios métodos para la extracción del espermatóforo: disección con bisturí (Persyn, 1977), expulsión por presión (King, 1948) y estímulos eléctricos (Sandifer et al, 1984). Debido a que el primero supone el

## ETIQUETA PLASTICA

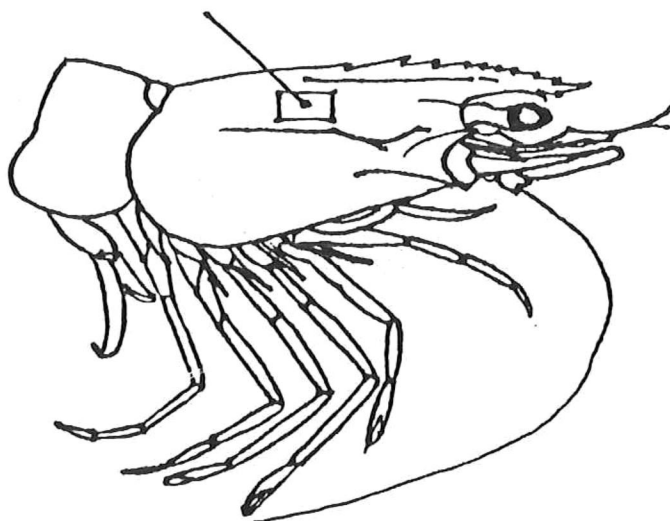


Figura 4. Método de marcado utilizado en la selección de machos.

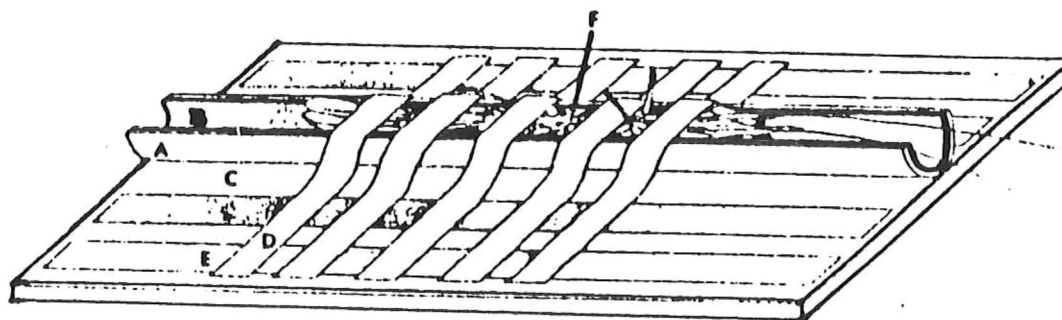


Figura 5. Aparato utilizado para sujetar a los organismos. A, media caña de PVC; B, acojinamiento de hule espuma; C, tabla; D, tiras contraparte del cierre de contacto (velcro); E, tiras de enganche del cierre; F, tético de la hembra (tomado de Olivier y Salinger, 1984).

sacrificio del macho, únicamente se probaron los dos últimos.

Para el método manual se aplicó una pequeña presión a nivel del quinto par de pereiópodos. Una vez que empezaba a salir el espermatóforo se extraía suavemente con ayuda de unas pinzas de disección (King, 1948).

Para el método eléctrico se aplicaron estímulos alrededor de las coxas del quinto par de pereiópodos. Inicialmente se utilizó un aparato similar al descrito por Sandifer et al (1984), con el que se probaron voltajes de 6, 8, 10 y 12 Voltios (corriente alterna), a través de un par de electrodos. Hacia la parte final del experimento se empleó un segundo aparato con un voltaje de 2-4 Voltios y amperaje de 0.3-0.5 Amperes, similar al descrito por Leung-Trujillo y Lawrence (1987).

Después de la extracción del espermatóforo, los machos fueron colocados bajo observación en tanques individuales de 80 litros, con aireación, por un período de 12 horas aproximadamente, al término del cual se hicieron observaciones sobre su estado físico, fueron pesados, medidos y marcados con un anillo metálico numerado en el pedúnculo ocular para, posteriormente, regresarlos al acuario correspondiente.

Para realizar la inseminación artificial existen básicamente dos métodos: 1) mediante la colocación del espermatóforo completo (Lumare, 1981; Tave y Brown, 1981) y

2) mediante la colocación de las masas espermáticas sólomente (Persyn, 1977; Bray et al, 1982, 1983; Bray y Lawrence, 1984). El primer método consiste básicamente en unir los espermatoóforos extraídos al macho, para formar el espermatoóforo compuesto ó completo (Pérez-Farfante, 1975), el cual a su vez es colocado en el télico de la hembra, entre el tercer y quinto par de pereioópodos, con su matriz adhesiva en el esternito XIII, tal como se ve en una transferencia natural (Pérez-Farfante, 1975). Con este método es necesario emplear un pegamento comercial de secado instantáneo, a base de cianoacrilato, como auxiliar en la fijación del espermatoóforo, tal como lo sugiere Chow (1982) y Sandifer et al (1984). El segundo método consiste en separar las masas espermáticas de cada uno de los espermatoóforos extraídos y colocárselas a la hembra en las concavidades pares del esternito XIII, cerca de los gonoporos, de acuerdo a lo descrito por Pérez-Farfante (1975).

Mediante un ensayo preliminar se probaron ambos métodos, optándose por el segundo por ser más rápido, eficiente y presentar menos problemas.

Como ayuda en la sujeción de los organismos durante las pruebas de eyaculación eléctrica e inseminación artificial, se utilizó un aparato similar al descrito por Olivier y Salinger (1984) el cual consiste en un tubo de PVC de cuatro

centímetros de diámetro y aproximadamente 30 cm de longitud, cortado a lo largo por la mitad para formar una media caña, la cual está adherida con silicona a una tabla de 30 x 15 x 2 cm. El interior de la media caña se encuentra recubierto con un hule espuma muy compacto, similar al neopreno, de aproximadamente 7 mm de espesor. Sobre la tabla, paralelas a ambos lados de la media caña, se encuentran las tiras de enganche de un cierre de contacto tipo Velcro. Posteriormente, al colocarse el organismo, este es sujetado con las tiras contraparte del cierre (fig. 5).

#### OBTENCION DE LOS DESOVES

Para los desoves se utilizaron tanques individuales de fibra de vidrio de 0.50 x 0.50 x 0.49 m, los cuales fueron llenados a un volumen de 80 litros; este volumen se mantuvo estático durante el desove y la eclosión. Los parámetros físicoquímicos fueron los siguientes: Temperatura, 27-29 °C; Salinidad, 38 ‰; pH, 7.4-8.0. La aireación se mantuvo mediante un sifón durante el desove y directamente, con una piedra de aireación, durante la eclosión y desarrollo de los nauplios.

La metodología para los desoves fue la siguiente:

Previo a su introducción al tanque de desove, las hembras inseminadas tanto natural como artificialmente, fueron sometidas a un tratamiento profiláctico con un alguicida comercial a base de cobre (10 ppm) y formaldehído comercial (100 ppm) durante 2 minutos. Este tratamiento se

aplica rutinariamente en el CICTUS con el objeto de evitar introducir cualquier posible infección al Laboratorio de Incubación. Posteriormente las hembras fueron liberadas en los tanques de desove.

A la mañana siguiente las hembras fueron retiradas del tanque, se les determinó el tipo de desove (total ó parcial), se pesaron, se midieron y se marcaron con un anillo metálico numerado en el pedúnculo ocular para reintegrarlas, posteriormente, al acuario correspondiente.

Acto seguido los huevos fueron sifoneados suavemente a un concentrador de huevos con dos series de mallas (una de 300  $\mu$  de abertura para remover el material folicular y otra de 110  $\mu$  para retener los huevos), similar al descrito por Mendoza-Alfaro (1985), de donde se lavaron suavemente a una cubeta aforando a un volumen de 18 litros. De este volumen, tras de agitar manualmente con el fin de homogeneizar, se tomaron 3 muestras, de 20 ml cada una, para la determinación del número de huevos.

Posteriormente los huevos fueron transferidos a otro tanque de desove con agua de mar limpia a la que se agregó EDTA (sal disódica) (0.01 g/l) y fosfato de Eritromicina (5 mg/l) con el objeto de asegurar una mayor eclosión (Mendoza-Alfaro, 1985). Este tratamiento se utiliza rutinariamente en el CICTUS.

Aproximadamente 32 horas después del desove se procedió

a la cosecha de los nauplios (subestadios V y VI) aprovechando su comportamiento fototáctico positivo, realizándose de la siguiente manera:

Tras retirar la aireación, el tanque se cubrió con un plástico negro dejando un pequeño hueco en una de las esquinas en la cual se colocó una fuente de luz. Una vez concentrados los nauplios fueron sifoneados suavemente a una cubeta. Terminada la cosecha se aforó el volumen a 18 litros y se procedió a tomar 3 muestras, de 20 ml cada una, para la determinación del número de nauplios.

En base a ambas determinaciones (huevos y nauplios) se calculó la tasa de rendimiento (T.R.) la cual está dada por:

$$T.R. = (\text{Número de Nauplios V y VI} / \text{Número de Huevos}) \times 100$$

#### PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Con el objeto de encontrar diferencias significativas en la producción de huevos, nauplios y tasa de rendimiento entre cada uno de los tratamientos, se procesaron los datos mediante Análisis de Varianza de 3 vías considerando los siguientes factores y niveles:

1) Población.- Los niveles de este factor fueron: silvestres y cultivados.

2) Tipo de Inseminación.- niveles: natural y artificial.

3) Tamaño Gonadal.- niveles: Tamaño Gonadal Pequeño (TGP) y Tamaño Gonadal Grande (TGG).

#### TRATAMIENTOS ESTADISTICOS

Los valores de producción de huevos y nauplios,

distribuidos en sus respectivos tratamientos, fueron sometidos a la prueba de Kolmogorov-Smirnof para determinar si presentaban o no una distribución normal. Posteriormente se les aplicó el análisis de varianza de 3 vías no paramétrico de Wilson (1956)

A los valores de tasa de rendimiento se les aplicó la transformación arco seno. Posteriormente, distribuidos en sus respectivos tratamientos, fueron sometidos a las pruebas de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnof y homogeneidad de varianzas de Bartlett. Por último se realizó un análisis de varianza paramétrico de 3 vías.

Todos los análisis estadísticos mencionados anteriormente se realizaron con los paquetes estadísticos ESIMSL y SPSS de la computadora del Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE).

## RESULTADOS

Durante el desarrollo del presente proyecto se seleccionaron, para la parte de inseminación artificial, un total de 86 machos silvestres y 79 cultivados.

En la tabla II se presentan los resultados de la utilización de los métodos eléctrico y por presión para la extracción del espermátforo a los 165 machos. En dicha tabla se hace mención de un tercer método denominado MIXTO que se refiere a todos aquellos casos en los que el organismo fue sometido primeramente a toques eléctricos pero, debido a los resultados negativos, la extracción fue concluida por el método de presión; es decir, el número de organismos sometidos al método "mixto" se puede interpretar como fracasos del método eléctrico.

La primera parte de la tabla II muestra el número de organismos utilizados en cada método de extracción divididos a su vez en tres categorías, dependiendo del número de espermátforos que fue posible extraerles: i) Ninguno, ii) Sólo uno, iii) Ambos. Los valores entre paréntesis corresponden a los organismos utilizados preliminarmente para las pruebas de inseminación artificial utilizando el espermátforo completo. Los valores en negrillas corresponden a las pruebas en que se utilizó un aparato similar al descrito por Leung-Trujillo y Lawrence (1987) (ver "Materiales y Métodos") con el cual, como se puede

TABLA II. Resultados obtenidos con los distintos métodos para la extracción del espermatozoido. Los valores entre ( ) corresponden a los preliminares de inseminación con el espermatozoido completo. Los valores en **negrillas** corresponden a las pruebas hechas con un segundo aparato.

a) Número de organismos por método y cantidad de espermatozoidos extraídos (N = Ninguno, SU = Sólo Uno, A = Ambos).

POBLACION	METODO DE EXTRACCION								
	Eléctrico			Mixto			Presión		
	N	SU	A	N	SU	A	N	SU	A
Silvestres	(2)			(1)	14	37	(3)	(12)	6
				1	<b>6</b>	<b>4</b>			
Cultivados		3	8	10	14	20		2	2
					<b>15</b>	<b>5</b>			

b) Porcentaje de organismos inutilizados.

POBLACION	METODO DE EXTRACCION								
	Eléctrico			Mixto			Presión		
	N	SU	A	N	SU	A	N	SU	A
Silvestres	(0.0)			(100)	71.4	32.4	(33.3)	(33.3)	33.3
					<b>50.0</b>	<b>25.0</b>			
Cultivadas		0.0	0.0	100	28.6	10.0		0.0	0.0
					<b>46.7</b>	<b>40.0</b>			

apreciar, se obtuvieron mejores resultados. El número total de machos tratados con este segundo aparato (41) es menor que los tratados con el primero (99) debido a que se implementó en la parte final del experimento.

La segunda parte de la tabla II muestra, para cada método de extracción y categoría, el porcentaje de organismos que quedaron inutilizados como reproductores por efecto del manejo al que se vieron sometidos; es decir, organismos que murieron o quedaron lastimados de las ámpulas terminales. Se puede apreciar que, a diferencia de los otros métodos, únicamente el método eléctrico no tuvo efectos negativos sobre los reproductores. En cuanto a los efectos de los otros métodos, se puede apreciar que, en general, los porcentajes de machos inutilizados son menores en aquellos a los que fue posible extraer ambos espermatozoides.

En un análisis preliminar de los datos de producción de huevos se observó que tres de los desoves obtenidos con la inseminación artificial (uno de silvestres y dos de cultivados) produjeron menos de 5,000 huevos. Debido a que estos desoves fueron de los primeros obtenidos con inseminación artificial, siendo atribuible el bajo número a un manejo excesivo o inadecuado de los organismos, se siguieron los criterios utilizados por Bray et al (1983) y estos datos fueron eliminados del análisis. A los datos restantes (77) se les aplicó el análisis de varianza de 3

vías no paramétrico de Wilson (1956) debido a que la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnof resultó negativa para 3 de los 8 tratamientos.

Para el caso de la producción de nauplios, en los 77 valores de los desoves considerados anteriormente se observaron 9 desoves anómalos correspondientes a inseminación artificial. En cuatro de ellos no se produjo ningún nauplio, mientras que en los otros cinco la producción fue de menos de 300 larvas. Nuevamente, debido a que cinco de estos desoves coinciden con los primeros intentos de inseminación artificial y los otros cuatro con condiciones patológicas observadas en las ámpulas terminales y espermatóforos de los machos utilizados, los nueve fueron eliminados del análisis. Las alteraciones de las ámpulas terminales y espermatóforos fueron similares a las señaladas por Leung-Trujillo y Lawrence (1987). A los 68 datos restantes se les aplicó el análisis de varianza de 3 vías no paramétrico de Wilson (1956) debido a que la prueba de Kolmogorov-Smirnof resultó negativa para 2 de los 8 tratamientos.

Para el análisis de la tasa de rendimiento se utilizaron los 68 valores de los desoves considerados anteriormente. Se aplicó el análisis de varianza de tres vías paramétrico debido a que las pruebas de bondad de ajuste y homogeneidad de varianzas resultaron positivas para todos los tratamientos.

En las tablas III, IV y V se muestran los resultados obtenidos en cada tratamiento para la producción de huevos, nauplios y tasa de rendimiento, respectivamente. (Para tasa de rendimiento se presentan los valores sin la transformación arco seno).

El tratamiento con mayor producción promedio de huevos fue el de Silvestres-Ins.Nat.-TGG con 177,720 huevos; por el contrario, el tratamiento con menor producción promedio de huevos fue Cultivados-Ins.Art.-TGP con 62,062 huevos (tabla III).

Para el caso de la producción de nauplios los tratamientos con mayor y menor promedio coinciden con los de producción de huevos, mostrando valores de 116,200 y 8,150 nauplios, respectivamente (tabla IV). En general, comparando las medias de producción de nauplios, la inseminación artificial produjo alrededor de 37.9 % de los nauplios producidos por la inseminación natural.

Por su parte la tasa de rendimiento presenta el mayor y menor promedio en los tratamientos Silvestres-Ins.Nat.-TGP (72.61 %) y Cultivados-Ins.Art.-TGP (13.88 %), respectivamente (tabla V).

Cabe mencionar que aun cuando se utilizaron organismos cultivados correspondientes a generaciones de distintos linajes, no se apreciaron diferencias entre los valores obtenidos con cada una de ellas. Esto concuerda con lo observado por AQUACOP (1983).

TABLA III. Producción de huevos por tratamiento.

TRATAMIENTOS		N	Media	Desv. Est.	Rango
Silv.	Ins.Nat. TGP	10	153,660	56,160.4	92,400-230,400
	TGG	10	177,720	82,727.5	91,800-289,800
	Ins.Art. TGP	9	93,300	56,092.8	14,700-174,000
	TGG	10	153,690	69,313.2	49,200-267,600
Cult.	Ins.Nat. TGP	10	64,980	46,524.9	30,600-162,000
	TGG	10	137,805	42,907.1	67,800-205,650
	Ins.Art. TGP	8	62,062	21,431.7	38,100-101,400
	TGG	10	109,410	33,988.2	32,700-150,900

TABLA IV. Producción de nauplios por tratamiento.

TRATAMIENTOS		N	Media	Desv. Est.	Rango
Silv.	Ins.Nat. TGP	10	110,316	51,485.4	30,000-207,300
	TGG	10	116,200	57,467.6	41,100-199,200
	Ins.Art. TGP	6	28,250	18,217.1	2,400- 54,000
	TGG	7	57,471	48,495.8	6,000-136,500
Cult.	Ins.Nat. TGP	10	39,780	40,602.8	10,200-131,100
	TGG	10	62,380	33,052.7	23,700-117,300
	Ins.Art. TGP	6	8,150	2,659.1	4,800- 11,400
	TGG	9	30,633	13,879.2	7,800- 44,100

TABLA V. Tasa de Rendimiento por tratamiento.

TRATAMIENTOS		N	Media	Desv. Est.	Rango
Silv.	Ins.Nat. TGP	10	70.8	19.203	32.46-94.14
	Ins.Nat. TGG	10	66.34	16.107	29.27-83.66
	Ins.Art. TGP	6	25.64	13.073	1.48-37.02
	Ins.Art. TGG	7	31.53	24.980	12.19-82.87
Cult.	Ins.Nat. TGP	10	53.77	20.100	20.60-80.92
	Ins.Nat. TGG	10	45.14	17.500	15.31-74.16
	Ins.Art. TGP	6	14.53	6.622	4.73-22.04
	Ins.Art. TGG	9	26.06	11.209	7.40-40.41

TABLA VI. Resultados del análisis de varianza de tres vías no paramétrico de Wilson para producción de huevos.

FACTORES	g.l.	Valor de $J_i^2$	Probabilidad
Población	1	6.858	0.0088 (**)
Tipo de Inseminación	1	1.027	0.3106 (ns)
Tamaño Gonadal	1	8.065	0.0045 (**)
Población-Inseminación	1	0.280	0.5964 (ns)
Población-T. Gonadal	1	2.147	0.1428 (ns)
Inseminación-T. Gonadal	1	0.769	0.3805 (ns)
Pobl.-Insem.-T. Gonadal	1	0.875	0.3495 (ns)

Los resultados obtenidos con el análisis de varianza de 3 vías no paramétrico de Wilson para los valores de producción de huevos, muestran que únicamente los factores principales Población y Tamaño Gonadal fueron significativos ( $P < 0.01$ ) (tabla VI).

La tabla VII muestra los resultados del análisis de varianza de 3 vías no paramétrico de Wilson para producción de nauplios. Se puede observar que únicamente los factores principales Población y Tipo de Inseminación fueron significativos ( $P < 0.01$ ).

Finalmente, el análisis de varianza de 3 vías para la tasa de rendimiento muestra que únicamente los factores principales Población y Tipo de Inseminación fueron significativos ( $P < 0.01$ ) (tabla VIII).

TABLA VII. Resultados del análisis de varianza de tres vías no paramétrico de Wilson para producción de nauplios.

FACTORES	g.l.	Valor de $J_i^2$	Probabilidad
Población	1	13.246	0.0003 (***)
Tipo de Inseminación	1	11.900	0.0006 (***)
Tamaño Gonadal	1	2.125	0.1449 (ns)
Población-Inseminación	1	0.612	0.4340 (ns)
Población-T. Gonadal	1	1.116	0.2906 (ns)
Inseminación-T. Gonadal	1	0.958	0.3276 (ns)
Pobl.-Insem.-T. Gonadal	1	0.028	0.8663 (ns)

TABLA VIII. Resultados del análisis de varianza de tres vías para tasa de rendimiento.

FACTORES	g.l.	Valor de F	Probabilidad
Población	1	10.996	0.002 (***)
Tipo de Inseminación	1	60.042	0.000 (***)
Tamaño Gonadal	1	0.002	0.966 (ns)
Población-Inseminación	1	1.608	0.210 (ns)
Población-T. Gonadal	1	0.008	0.929 (ns)
Inseminación-T. Gonadal	1	3.829	0.055 (ns)
Pobl.-Insem.-T. Gonadal	1	0.245	0.622 (ns)

## DISCUSION

La madurez gonadal de los machos es un proceso que finaliza en las ámpulas terminales de los vasos deferentes ya que en éstas el espermátóforo es moldeado a su forma final y subsecuentemente endurecido (King, 1948; Malek y Bawab, 1974). Aun cuando en el macho maduro los cuerpos geminados de los espermátóforos maduros son visibles ventralmente en las ámpulas terminales, puede ocurrir que se seleccionen machos cuyos espermátóforos no hayan completado el proceso de endurecimiento. Este hecho dificulta o imposibilita el proceso de extracción de los espermátóforos debido a la falta de consistencia de los mismos. Lo anterior explica la ocurrencia de casos en los que sólo fue posible extraer uno o ningún espermátóforo. Esto coincide con lo descrito por Sandifer et al (1984) para el método eléctrico, quien atribuye los fracasos en la extracción a la inmadurez de los machos. Cabe agregar que aun cuando el método de extracción por presión ha sido utilizado por varios autores, ninguno menciona la ocurrencia de estos casos (Bray et al, 1982; 1983; Bray y Lawrence, 1984).

Las diferencias de voltaje y amperaje entre el primer y segundo aparato utilizados para las pruebas de extracción por el método eléctrico podrían explicar los diferentes resultados obtenidos con cada uno. Dilucidar de qué manera estas diferencias actúan para lograr tal o cual resultado

está fuera del alcance e interés del presente trabajo. Simplemente habrá que hacer notar que con un voltaje de 2-4 Voltios y amperaje de 0.3-0.5 Amperes se obtuvieron los mejores resultados.

De los métodos de extracción del espermátforo implementados en el presente proyecto, únicamente el método eléctrico, debido probablemente a la ausencia de manipulación mecánica del macho, no tuvo efectos negativos sobre los reproductores, lo cual concuerda con Lumare (1981), Chamberlain et al (1983) y Sandifer et al (1984).

El método mixto, como caso particular del método por presión, no mostró ninguna ventaja con respecto a este último, en lo que a porcentajes de inutilización se refiere, por lo que se pueden considerar ambos métodos como uno solo.

Son varios los autores que coinciden en señalar como principal desventaja del método de extracción por presión el dañar frecuentemente la porción distal de los vasos deferentes del macho, inutilizándolo como reproductor al hacerlo esencialmente estéril (Lumare, 1981; Chamberlain et al, 1983; Sandifer et al, 1984). Sin embargo, ningún autor proporciona cifras de machos inutilizados que permita evaluar la efectividad del método. En el caso del presente trabajo un promedio del 42.4 % de los machos (0-100 %) quedaron inutilizados con este método. En general, los porcentajes de inutilización son mayores en los casos donde

sólo fue posible extraer uno o ningún espermátforo (Tabla II-b). Considerando de nuevo el factor inmadurez mencionado anteriormente, éste provocó una mayor manipulación de estos machos y, consecuentemente, mayores porcentajes de inutilización.

Los organismos cultivados produjeron menos huevos, menos nauplios y menores tasas de rendimiento que los silvestres, siendo estas diferencias significativas en los tres casos. En conjunto, esta situación refleja diferencias tanto cuantitativas como cualitativas en su capacidad de producción con respecto a los silvestres. Por una parte, la menor producción de huevos se refleja en una menor producción de nauplios. Por la otra, el que presenten menores tasas de rendimiento sugiere que existe además una menor calidad en los huevos desovados. Lo anterior coincide con lo observado por Lumare (1981) y Mendoza-Alfaro (1985) quienes lo asocian con deficiencias nutricionales concomitantes al hecho de que los organismos cultivados pasan todas las fases de su desarrollo en condiciones artificiales. Cabe agregar que además de las características cualitativas de los huevos, otro factor que podría influir sobre la tasa de rendimiento sería una menor cantidad y/o calidad de esperma por parte del macho cultivado, tal como lo sugieren los resultados presentados por Mendoza-Alfaro (1985).

La influencia del Tamaño Gonadal en la producción de

huevos se comprende fácilmente: a mayor tamaño o volumen de la gónada, mayor número de huevos. Curiosamente, la diferencia en la cantidad de huevos provocada por este factor no se ve reflejada, como podría esperarse, en la producción de nauplios. Por último, la no significación del factor Tamaño Gonadal en la tasa de rendimiento señala que la diferencia entre la producción de ambos tamaños es meramente cuantitativa; es decir, un menor tamaño gonadal no significa menor calidad de los huevos desovados.

El hecho de que el factor Inseminación no influyera en la producción de huevos coincide con lo observado por Lumare (1981) y Bray et al (1982, 1983). Lo anterior se corrobora además con las observaciones de otros autores que mencionan la ocurrencia de desoves de hembras maduras que no fueron previamente apareadas, lo que comprueba que el desove es consecuencia de la madurez y no del apareamiento o tipo de inseminación (Conte et al, 1977; Brown et al, 1979; Lawrence et al, 1980; Chamberlain y Gervais, 1984; Yano, 1985). Por lo tanto, los tres desoves anómalos observados con la inseminación artificial no son consecuencia del tipo de inseminación mismo sino de la manipulación excesiva a la que se vieron sometidos, lo que justifica que fueran eliminados del análisis. Lo anterior concuerda con lo señalado por Bray et al (1983).

La inseminación artificial produjo menos nauplios y

presentó menores tasas de rendimiento que la inseminación natural, siendo estas diferencias significativas en ambos casos, lo cual coincide con los resultados de Lumare (1981) y de Bray et al (1982, 1983). Por el contrario, Bray y Lawrence (1984) han reportado tasas de rendimiento similares para ambas técnicas de inseminación; sin embargo, para el cálculo del promedio general de la tasa de rendimiento obtenida con inseminación artificial, utilizan dos valores por encima del 100 % (153.9 y 111.8 %), lo que hace dudar de la confiabilidad de sus resultados.

Para explicar los resultados obtenidos con la inseminación artificial, Bray et al (1982, 1983) mencionan los siguientes factores: la selección subjetiva de las hembras maduras, la hora de la inseminación, la colocación exacta de las masas espermáticas, la pérdida o desprendimiento de la masa espermática antes del desove, el estrés por la manipulación y la posible obstrucción de la fertilización por parte del fluido presente en el espermátforo, que en ocasiones acompaña a la masa espermática, el cual se endurece al contacto con el agua. En el caso del presente trabajo las inseminaciones se realizaron entre las 20:00 y 23:00 hrs, tal como lo sugiere Bray et al (1982), por lo que no se considera que este factor haya influido sobre los resultados.

Un último punto sería el considerar si el método eléctrico para la extracción del espermátforo afecta la

calidad del esperma, lo cual se reflejaría en la tasa de rendimiento. Aun cuando la información disponible para esta comparación no sea suficiente para un análisis estadístico, debido principalmente a que no en todos los ensayos de extracción e inseminación ocurrió el desove, si proporciona indicios que sugieren la no afectación de la calidad del esperma por parte del método de extracción. Por una parte, las tasas de rendimiento obtenidas con masas espermáticas de espermátóforos extraídos por presión presentaron valores muy similares a los obtenidos con los otros métodos. Por la otra, los valores de tasa de rendimiento obtenidos con masas espermáticas de espermátóforos extraídos con los otros dos métodos, en los cuales se utilizó toques eléctricos, se distribuyen ampliamente por arriba y por debajo de las medias obtenidas. De hecho, los mas altos valores obtenidos coinciden con los casos en que se utilizó ya sea el método eléctrico ó el mixto.

El hecho de que la inseminación artificial produjera alrededor de 37.9 % de los nauplios producidos por la inseminación natural significa que si pretendiésemos producir postlarva a nivel comercial mediante la inseminación artificial, necesitaríamos inseminar 5 hembras, aproximadamente, para obtener lo que producirían dos hembras inseminadas naturalmente. Lo anterior da una idea de la manipulación a la que se vería sometida la población de

reproductores, misma que provocaría, sin lugar a dudas, enfermedades y/o mortalidades masivas; lo que se traduciría en un incremento de los costos de producción.

La técnica de inseminación artificial para camarón fue desarrollada originalmente para aprovechar las hembras maduras no fecundadas colectadas en cruceros cuya finalidad era llevar hembras con el espermátforo adherido a desovar a laboratorios de producción de postlarva (Persyn, 1977; Bray et al, 1982, 1983; Bray y Lawrence, 1984). Posteriormente, esta técnica fue utilizada con éxito por laboratorios que utilizaban organismos madurados en cautiverio que, por razones no definidas, no se apareaban (AQUACOP, 1983). De hecho, Bray y Lawrence (1984) mencionan que en Ecuador un laboratorio de producción comercial ha obtenido alrededor de un 80 % de su producción postlarval de *Penaeus vannamei* mediante inseminación artificial.

Considerando lo anterior, es evidente la utilidad de la inseminación artificial en la producción postlarval, aun cuando los resultados obtenidos con esta técnica son cuantitativamente menores que los logrados con la inseminación natural.

En el caso particular del Laboratorio de Producción del CICTUS, el apareamiento en cautiverio no representa un problema que afecte seriamente su capacidad de producción. Considerando ésto, además del riesgo de inutilizar alrededor de un 40 % de los machos al extraerles los espermátforos y

de propiciar enfermedades por la manipulación excesiva de los reproductores, la posibilidad de implementar la técnica de inseminación artificial para la producción postlarval se reduce a casos muy específicos, tales como el de hembras maduras próximas al desove que por falta de apareamiento (ó apareadas pero con el espermátforo mal colocado), darán lugar a desoves que, si no son inseminadas artificialmente, producirán huevos sin fertilizar, lo que representa una pérdida de energía en el sistema.

Mención aparte merece la utilidad indiscutible de la inseminación artificial en trabajos sobre genética. La facultad de seleccionar a los progenitores hará posible desarrollar cepas de crecimiento rápido, mayor peso y mejor presentación logradas no sólo a partir de hibridaciones intraespecíficas sino también de interespecíficas, como lo muestra la hibridación exitosa de *Penaeus stylirostris* X *Penaeus setiferus* lograda por Lawrence et al (1984) (citado en Bray y Lawrence, 1984) mediante el uso de la inseminación artificial.

## CONCLUSION

- 1) De los métodos para la extracción del espermatóforo probados en el presente proyecto, únicamente el método eléctrico no afectó la capacidad reproductora de los machos.
- 2) Alrededor del 40 % de los machos sometidos al método de extracción por presión quedaron inutilizados como reproductores.
- 3) El método eléctrico de extracción dió mejores resultados utilizando un voltaje de 2-4 Voltios y amperaje de 0.3-0.5 Amperes.
- 4) Los organismos cultivados produjeron menos huevos, nauplios y menores tasas de eclosión que los silvestres.
- 5) El Tamaño Gonadal influye únicamente en la cantidad y no en la calidad de los huevos desovados.
- 6) El número de huevos desovados es independiente del tipo de Inseminación.
- 7) La inseminación artificial produjo menos nauplios y menores tasas de eclosión que la inseminación natural.
- 8) No es conveniente implementar la técnica de inseminación artificial de manera rutinaria en la producción postlarval del Laboratorio del CICTUS, salvo en los casos que sea necesario, debido a las desventajas que presenta.

## RECOMENDACIONES

- 1) Utilizar preferentemente el método eléctrico para la extracción del espermátóforo para reducir el riesgo de inutilización de los machos al mínimo.
- 2) Al pretender implementar la técnica de inseminación artificial de manera rutinaria en la producción de un laboratorio deberá considerarse el riesgo de inutilización de los machos por efecto del método de extracción del espermátóforo y la posibilidad de infecciones masivas en los reproductores por efecto de la manipulación a la que se verán sometidos.

## LITERATURA CITADA

- AQUACOP. 1977. Observations sur la maturation et la reproduction en captivite des crevettes peneids en miliev tropical. Groupe de travail aquaculture. ICES 10-13 Mai 1977. Brest, France. p. 1-34.
- 1979. Penaeid reared brood stock: closing the cycle of *P. monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. Proc. World Maricul. Soc. 10:445-452.
- 1983. Constitution of broodstock, maturation, spawning and hatching systems for penaeid shrimps in the Centre Oceanologique du Pacifique. IN: Mc Vey, J.P. & J.R. Moore (Eds). CRC Handbook of Mariculture. Volume I. Crustacean Aquaculture. CRC Press, Inc. USA. 105-122.
- Bray, W.A. and A.L. Lawrence. 1984. Sourcing *Penaeus setiferus*: a summary of larval production, incidence of capture of mated females, and mating incidence by time of the day on research cruises 1981-1983. J. World Maricul. Soc. 15:11-28.
- Bray, W.A., Chamberlain, G.W. and A.L. Lawrence. 1982. Increased larval production of *Penaeus setiferus* by artificial insemination during sourcing cruises. J. World Maricult. Soc. 13: 123-133.
- Bray, W.A., Chamberlain, G.W., and A.L. Lawrence. 1983. Observations on natural and artificial

- insemination of *Penaeus setiferus*. First International Conference on Warm Water Aquaculture-Crustacea. Hawaii. February 9, 10 & 11. 392-405.
- Brown, A.Jr., Mc Vey, J., Middleditch, B.S. and A.L. Lawrence. 1979. Maturation of white shrimp (*Penaeus setiferus*) in captivity. Proc. World Maricul. Soc. 10:435-444.
- Conte, F.S., Duronslet, M.J., Clark, W.H. and J.C. Parker. 1977. Maturation of *Penaeus stylirostris* (STIMPSON) and *Penaeus setiferus* (LINN.) in hypersaline water near Corpus Christi, Texas. Proc. World Maricul. Soc. 8:327-334.
- Chamberlain, G.W. and N.F. Gervais. 1984. Comparison of unilateral eyestalk ablation with environmental control for ovarian maturation of *Penaeus stylirostris*. J. World Maricul. Soc. 15:29-30.
- Chamberlain, G.W. and A.L. Lawrence. 1981a. Maturation, reproduction and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets. J. World Maricul. Soc. 12(1):209-224.
- 1981b. 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, G.W., Johnson, S.K. and D.H. Lewis. 1983. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult penaeid shrimp. J. World Maricul. Soc. 14:135-136.
- Chow, S. 1982. Artificial insemination using preserved spermatophores in the palaemonid shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 48(12): 1693-1695.
- CICTUS. 1984. El Cultivo del Camarón Azul *Penaeus stylirostris* STIMPSON. Universidad de Sonora. 126 Pp.
- Galicia-Xicohténcatl, R. 1976. Nota acerca del periodo diario de acoplamiento y desove en camarón azul (*Penaeus (L) stylirostris* Stimpson). Mem. Simp. sobre Biol. y Din. Pobl. de Camarones. S.I.C./Inst. Nal. de Pesca. Guaymas, Son. 8 al 13 de Agosto. Tomo I:153-161.
- King, J.E. 1948. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus). Biol. Bull., Woods Hole (Mass.). 94 (3): 244-262.
- Lawrence, A.L., Akamine, Y., Middleditch, B.S., Chamberlain, G. and D. Hutchins. 1980. Maturation and reproduction of *Penaeus setiferus* in captivity. Proc. World Maricul. Soc. 11:481-487.

- Leung-Trujillo, J.R. and A.L. Lawrence. 1987. Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions. *Aquaculture*. 65:363-370.
- Lumare, F. 1981. Artificial reproduction of *Penaeus japonicus* BATE as a basis for the mass production of eggs and larvae. *J. World Maricul. Soc.* 12 (2):335-344.
- Mahler, L., Gorh, J. and C. Hodges. 1974. Controlled environment aquaculture. *Proc. World Maricul. Soc.* 5:379-384.
- Malek, S.R.A. and F.M. Bawab. 1974. The formation of the spermatophore in *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) (Decapoda, Penaeidae). I. The initial formation of a sperm mass. *Crustaceana*. 26 (3): 273-285.
- Mendoza-Alfaro, R. 1985. Observaciones sobre la producción de Nauplios a partir de poblaciones Cultivadas, Silvestres y Mixtas de Camarón Azul (*Penaeus stylirostris*). Tesis de Licenciatura. Univ. Nal. Autón. de México. 63 Pp.
- Olivier, L.S. and M.A. Salinger. 1984. A simple restraining device for the study and manipulation of live penaeid shrimp. *Progressive Fish Culturist*. 46 (3):205-206.

- Pérez-Farfante, I. 1975. Spermatophores and thelyca of the american white shrimps, genus *Penaeus*, subgenus *Litopenaeus*. Fish. Bull. 73 (3): 463-486.
- Persyn, H.O. 1977. Artificial insemination of shrimp. U.S. Patent 4,031,855. June 28, 1977. 4 Pp.
- Primavera, J.H. 1978. Induced maturation and spawning in five-month-old *Penaeus monodon* Fabricius by eyestalk ablation. Aquaculture. 13: 355-359.
- Ramírez-Wong, B. 1983. Optimización de las Condiciones de Cultivo para Aumentar la Producción de Camarón (*Penaeus stylirostris*). Tesis Maestría. CINVESTAV-IPN. México, D.F. 134 Pp.
- Rodríguez-Marín, 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. 57 Pp.
- Sandifer, P.A., Lawrence, A.L., Harris, S.G., Chamberlain, G.W., Stokes, A.D. and W.A. Bray. 1984. Electrical stimulation of spermatophore expulsion in marine shrimp, *Penaeus* spp. Aquaculture. 41:181-187.
- Tave, D. and A. Brown, Jr. 1981. A new device to help facilitate manual spermatophore transfer in penaeid shrimp. Aquaculture. 25: 299-301.

- Wilson, K.V. 1956. A distribution-free test of analysis of variance hypothesis. Psychological Bull. 53 (1): 96-101.
- Yano, I. 1985. Induced ovarian maturation and spawning in greasy-back shrimp, *Metapenaeus ensi*, by progesterone. Aquaculture. 47:223-229.

## APENDICE I

Características de los distintos Grados de Madurez de las hembras de *Penaeus stylirostris*.

- G1: Inmadura.- La gónada se encuentra ocupando la cavidad abdominal (lóbulo abdominal), semeja un hilo transparente y en la región torácica se insinua ya la porción media con sus lóbulos, los cuales se ven ligeramente opacos. Al microscopio se observan ovocitos cuyo diámetro promedio es de 0.07 mm.
- G2: Desarrollo.- La gónada ha aumentado de tamaño, diferenciándose la porción central e insinuándose el lóbulo anterior; de transparente cambia a opaca. El tamaño de los ovocitos fluctúa entre 0.11 a 0.23 mm con una media de 0.17 mm. El citoplasma se ve ocupado por pequeñas granulaciones.
- G3: Desarrollo próximo a la madurez.- La gónada ha aumentado de tamaño y ocupa casi toda la cavidad, pero aún no está totalmente desarrollada. Presenta un color crema. Los gránulos observados en el citoplasma han aumentado de tamaño y el diámetro de los óvulos varía de 0.16 a 0.28 mm con un promedio de 0.22 mm.
- G4: Madura.- El ovario se encuentra totalmente desarrollado y ocupa toda la cavidad del cuerpo. El color observado en la fase anterior se intensifica

apreciándose a través del exoesqueleto una coloración anaranjado-rojizo. El tamaño de los óvulos varía de 0.20 a 0.33 mm con promedio de 0.26 mm. Se observan unos glóbulos denominados "cuerpos periféricos", característicos de esta fase.

- G5: Desovada.- Esta condición se diferencia de la anterior en que la gónada se torna flácida desapareciendo el color anaranjado-rojizo para dar paso a un color rosa opaco. Los óvulos remanentes presentan un tamaño idéntico a la fase madura, diferenciándose de ésta en que se tornan transparentes.

modificado de:

García-Gómez, M. 1976. Fecundidad del camarón café *Penaeus californiensis* y camarón azul *Penaeus stylirostris*, de Puerto Peñasco y Guaymas, Son. Mem. Simp. sobre Biol. y Din. Pobl. de Camarones. S.I.C./Inst. Nal. de Pesca. Guaymas, Son. 8 al 13 de Agosto. Tomo I:131-139.