



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL
Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

CORRELACION DE LA IDENTIFICACION
MACROSCOPICA E HISTOLOGICA DE LOS
ESTADIOS DE MADURACION OVARICA EN
PENAEUS VANNAMEI

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:

ACUICULTOR

Presentada por:
Fernando García Abad

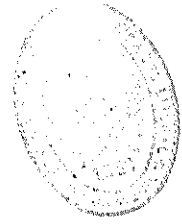
Guayaquil - Ecuador

1.992



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

A Jorge Calderón V., Ph. D. director de Tesis y al Dr Manuel Palacios, por su ayuda y colaboración para la realización de este trabajo. Al Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas "Edgar Arellano M.", por las facilidades prestadas para el desarrollo de la misma.



BIBLIOTECA
ING. ING.
MARÍTIMA

A MIS PADRES

A MIS ABUELOS

A MIS HERMANOS

A FELIPE.



BIBLIOTECA
ING. I. M. C. M.
EXAMINADA

ING. JORGE FAYTONG D.

Decano de la F. I. M. C. M.

Presidente del Tribunal

JORGE CALDERON V., Ph. D.

Director de Tesis

M. Sc. VICTOR OSORIO C.

Miembro Principal

Ac. JOSE JERRY LANDIVAR Z.

Miembro Principal



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

.....

JORGE CALDERON V., Ph.D.

Director de Tesis



ESPOL
Escuela Superior Politécnica del Litoral

" La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas
expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamen-
te; y, el patrimonio intelectual que contiene la misma, a la
ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".

Fernando García Abad
.....

Fernando García Abad.



BIBLIOTECA
FAC. AG.
COSTA RICA

RESUMEN

Un estudio cualitativo y cuantitativo de las características de maduración ovárica, en hembras de *Penaeus vannamei*, fue conducido con el objeto de establecer estadios definidos y observar la correlación entre las observaciones macroscópicas e histológicas. A nivel histológico se tomó como referencia tres de los cuatro estadios descritos para *Penaeus monodon*, con las siguientes modificaciones: en el estadio de bastones corticales se observó que dichos bastones aparecen del tamaño de 2μ para luego incrementar su tamaño hasta 9μ , al final del mismo; y se ha descrito un nuevo estadio, "maduro", que reemplaza al desovado. El estadio maduro se distingue porque los bastones corticales se desplazan hacia la membrana celular para luego sufrir una dehiscencia. Se determinó el valor del Índice Gonadal y el tamaño promedio de los oocitos por estadio para justificar los cuatro estadios. Diferencias macroscópicas en color, disposición, índice gonadal y apariencia; y diferencias histológicas de contextura, conformación celular y tamaño promedio de los oocitos en los cuatro estadios, muestran que estos son buenos indicadores del estado de maduración ovárica en *P. vannamei*.

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
INDICE GENERAL.....	III
INDICE DE FIGURAS.....	IV
INTRODUCCION.....	1
I. REFERENCIA PARA LA IDENTIFICACION DE ESTADIOS OVARICOS....	3
1.1 Identificación macroscópica.....	3
1.2 Identificación histológica.....	4
II. TECNICAS DE CORTES HISTOLOGICOS.....	5
2.1 Fijación de la muestra.....	5
2.2 Parafinado y preparación de bloques.....	6
2.3 Cortes histológicos y preparación de placas.....	7
2.4 Desparafinado, tinción y montaje de placas.....	8
III. CARACTERIZACION DE LOS REPRODUCTORES.....	11
3.1 Reproductores silvestres.....	11
3.1.1 Compra de reproductores silvestres.....	11
3.1.2 Acondicionamiento en acuarios.....	12
3.1.3 Registro de características macroscópicas.....	12
3.1.4 Disección y extracción del cordón ovárico.....	12
3.1.5 Análisis histológico.....	13
3.2 Reproductores de maduración.....	13
IV. DISCUSION Y RESULTADOS.....	15
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	23
BIBLIOGRAFIA.....	25



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1: Oocitos en estadio previtelogénico.....	18
FIGURA 2: Ampliación de figura 1.....	18
FIGURA 3: Oocitos en estadio vitelogénico.....	19
FIGURA 4: Ampliación de figura 2.....	19
FIGURA 5: Oocitos mostrando bastones corticales de 2 μ	20
FIGURA 6: Oocitos con bastones corticales de 9 μ	20
FIGURA 7: Oocitos antes de sufrir la dehiscencia de los bastones corticales.....	21
FIGURA 8: Oocito en estadio maduro mostrando la dehiscencia de los bastones corticales.....	22
FIGURA 9: Oocito en estadio maduro mostrando la presencia de oocitos primarios irregulares.....	22



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

INTRODUCCION

Las caracterización de cada estadio de desarrollo ovárico desde la inmadurez hasta la madurez revisten gran importancia en el manejo de los laboratorios de maduración de *P. vannamei*. Se han efectuado diferentes trabajos sobre el tema enfocados hacia la identificación macroscópica e histológica de dichos estadios.

Brown y Patlan (1974), describen los cambios de color de los ovarios como determinantes del estado de madurez gonadal en *Penaeus aztecus* y *Penaeus setiferus*, definiendo 3 estadios de desarrollo. Duronslet et al. (1975), presentan información macroscópica e histológica del desarrollo ovárico en *P. aztecus* y *P. setiferus*, identificando 5 estadios de desarrollo sin considerar coloración para el estudio macroscópico. Motoh (1981), describe cinco estadios de desarrollo gonadal en *Penaeus monodon*. Yano et al. (1988), presenta cinco estadios macroscópicos y diez estadios histológicos de desarrollo ovárico. Bell y Lightner (1988), presentan desde el punto de vista histológico dos estadios de madurez ovárica que los denominan A y B. Por último Tan-Fermin y Pudadera (1989), describen 5 estadios macroscópicos y 4 histológicos de desarrollo ovárico en *P. monodon*. Todas éstas investigaciones han sido realizadas sobre diferentes clases de Penaeidos y cada una de ellas enfatiza un tema en particular, ya sea éste el histológico, tamaño de los oocitos y muy poco el aspecto macroscópico.

Para *Penaeus vannamei* existe solamente una breve descripción dada por Yano et al. (1988), en la cual considera 10 estadios histológicos de desarrollo ovárico atendiendo a pequeños cambios que sufren los oocitos según avanza su madurez; y describe 5 estadios



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

macroscópicos no relacionados con los histológicos.

El presente estudio describe y correlaciona los diferentes estadíos a nivel macroscópico e histológico, que obedecen a cambios que ocurren tanto en los oocitos como en el cordón ovárico de las hembras de *P. vannamei* de maduración.

Los criterios que se han usado como base son: 1) A nivel macroscópico: disposición, ancho, coloración y pigmentación del cordón ovárico, 2) identificación histológica, y 3) determinación de Índice Gonadal (IG) y promedios del diámetro de los oocitos por estadío.



BIBLIOTECA
UNIVERSIDADE DE MARÍLIA

CAPITULO I

REFERENCIA PARA LA IDENTIFICACION DE ESTADIOS OVARICOS

1.1 IDENTIFICACION MACROSCOPICA.

A nivel macroscópico se utilizó como referencia inicial la clasificación dada por Yano et al. (1988), para la identificación de los estadios de maduración ovárica, obedeciendo a que ésta clasificación es la más reciente y completa. Esta es como sigue:

ESTADIO I : El ovario es transparente no distinguible externamente.

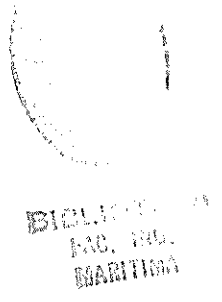
ESTADIO II : El ovario es visible como una delgada y opaca línea a lo largo del eje dorsal central.

ESTADIO III : El ovario es visible como una línea opaca más gruesa que en el estadio previo.

ESTADIO IV : El ovario es turgente y opaco. El cordón es notable.

ESTADIO V : El ovario es turgente, ancho y muy opaco. Claramente distinguible.

El apareamiento y desove son inminentes.



1.2 IDENTIFICACION HISTOLOGICA.

Las investigaciones histológicas son mucho más numerosas, pero al mismo tiempo cada trabajo realizado difiere mucho de otro en el número de estadíos de maduración ovárica que se definen según los cambios observados en los oocitos. Para el presente trabajo se ha tomado como referencia la clasificación dada por Tan-Fermin y Pudadera (1989), para *P. monodon* que describe:

ESTADIO PREVITELOGENICO : Está caracterizado por la presencia de oocitos primarios de forma redonda u ovalada, con el núcleo grande y central que contiene varios nucleólos fuertemente pigmentados en su interior.

ESTADIO VITELOGENICO : Está marcado por un aumento significativo del tamaño de los oocitos, por la aparición de yema; se distinguen vacuolas ligeramente teñidas que aparecen uniformemente distribuidas en todo el citoplasma. Se observan además cuerpos citoplasmáticos fuertemente teñidos alrededor de la membrana nuclear y en el citoplasma perinuclear. Durante éste estadío las células foliculares comienzan a rodear al oocito.

ESTADIO DE BASTONES CORTICALES : Está caracterizado porque el oocito incrementa nuevamente su tamaño, posee densas acumulaciones de lípidos de yema, pero la característica más importante es la aparición de inclusiones denominadas bastones corticales que se encuentran dispuestas uniformemente en la periferia del citoplasma y el oocito está rodeado de una capa de células foliculares.

ESTADIO DESOVADO ("SPENT") : Está constituido mayormente por oocitos primarios, pero puede ser distinguido de los del estadío previtelogénico por la presencia de oocitos remanentes con yema y/o cilindros corticales, y la presencia de oocitos primarios irregulares.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

CAPITULO II

TECNICA DE CORTES HISTOLOGICOS

2.1 FIJACION DE LA MUESTRA.

Una vez obtenida la muestra se procede a colocarla en recipientes plasticos (Técnica estandard), ésta inmersa en solución fijadora de Davidson donde permanecerán por un lapso de 24 a 48 horas antes de pasar a la deshidratación y parafinado de la misma.

La solución de Davidson (Ann Preece, 1972), contiene:

- | | |
|------------------|---------|
| - Etanol al 95% | 300 ml. |
| - Formalina | 200 ml. |
| - Acido acético | 100 ml. |
| - Agua destilada | 300 ml. |

Como es claro ver por los componentes de la solución, ésta tiene la función de preservar el tejido; el tiempo que la muestra debe permanecer en la solución está en función del tipo de tejido y el tamaño de la muestra, y será hasta que toda la muestra

esté impregnada de la solución fijadora. Esto es con el objeto de que la misma no se descomponga rápidamente de adentro hacia afuera una vez pasado el proceso de parafinado. La relación ideal muestra:fijador es de 1:3.

2.2 PARAFINADO Y PREPARACION DE BLOQUES.

La técnica para el parafinado fue tomada del *Manual of Histologic Technicians de Ann Preece (1972)*, usando inicialmente la aconsejada para muestras pequeñas, pero la constitución del tejido ovárico provocaba que la deshidratación repentina dañara el tejido, haciendo que las células perdieran su constitución normal y haciendo difícil distinguir las características de los oocitos e imposibilitando su medición; por lo que se aumentaron dos alcoholes al inicio del proceso (50% y 70%) y se suprimió un paso de xilol al final.

Con estos cambios los pasos a seguirse en la técnica de parafinado fueron los siguientes:

1) Alcohol de 50%	30 minutos
2) Alcohol de 70%	30 minutos
3) Alcohol de 90%	30 minutos
4) Alcohol de 99,8%	30 minutos
5) Alcohol de 99,8%	30 minutos
6) Xilol	60 minutos
7) Parafina (tissue prep) I	60 minutos
8) Parafina (tissue prep) II	60 minutos
9) Parafina (tissue prep) III	60 minutos



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MAR DEL PLATA

Tanto alcohol como xilol fueron colocados en recipientes plásticos con tapa, y la parafina fue colocada en una estufa en vasos de vidrio de 200 ml cada uno, a una



BIBLIOTECA
ING.
MARITIMA

temperatura entre 63 y 65 °C.

Es muy importante que no exista ningún residuo ni olor a xilol en la parafina III, para esto dependiendo de la cantidad de muestras trabajadas se debe cambiar el vaso de parafina III por otro con parafina nueva, entonces se elimina el primero que es el que más xilol contiene y los otros dos (II y III) pasan a ser I y II. Así se desperdicia la menor cantidad de material posible. De igual manera, los otros reactivos tienen que ser reemplazados si es necesario.

Una vez que la muestra está por salir de parafina III, se preparan moldes con papel aluminio en donde se va a formar el bloque de parafina con la muestra dentro. El proceso debe ser lo suficientemente rápido para que la parafina no solidifique; se toma el recipiente y se coloca una ligera lámina de parafina primero, luego con la ayuda de una pinza se coloca la muestra en el centro del molde e inmediatamente se llena el molde con parafina; al final se coloca una cinta de papel con parte de ella inmersa en la parafina líquida con el fin de identificar las muestras. Luego de aproximadamente 10 minutos en que el bloque está completamente frío, se retira el papel aluminio y el bloque queda conformado.

2.3 CORTES HISTOLOGICOS Y PREPARACION DE PLACAS.

Utilizando un micrótopo con cuchillas descartables se realizaron cortes de 5 y 6 μ , la capa de parafina con tejido que es cortada se la coloca sobre agua para la hidratación del tejido.

Para mayor fijación del tejido a la placa se usó clara de huevo sobre la superficie de la placa porta-objetos, antes de tomar la lámina de parafina con tejido del agua

donde fue puesta. Una vez hecho esto, las placas son puestas a secar sobre una mesa de calentamiento.

2.4 DESPARAFINADO, TINCIÓN Y MONTAJE DE PLACAS

Las técnicas y pasos seguidos para estos tres procesos se tomaron también del *Manual of Histologic Technicians* de Ann Prece (1972) y se detallan a continuación:

DESPARAFINADO: Una vez secas las placas porta objetos, éstas van pasando por recipientes plásticos que contienen xilol, alcohol y agua destilada, en el orden que sigue y durante los tiempos especificados:

- | | |
|-------------------|-----------|
| 1) Xilol | 5 minutos |
| 2) Xilol | 5 minutos |
| 3) Xilol | 5 minutos |
| 4) Alcohol 99,8% | 3 minutos |
| 5) Alcohol 99,8% | 3 minutos |
| 6) Alcohol 90 % | 3 minutos |
| 7) Alcohol 80% | 3 minutos |
| 8) Alcohol 50% | 3 minutos |
| 9) Agua destilada | 2 minutos |



BIBLIOTECA
ING. ING.
MARITIMA

La función del xilol es la de eliminar la lámina de parafina adherida a la placa junto con el tejido. El alcohol y el agua destilada rehidratan el tejido devolviendole así su constitución original para que en el siguiente paso se obtenga una buena tinción.

Es importante que toda la sección de la placa que contenga parafina y/o tejido este cubierta por los respectivos químicos.

TINCION: En esta sección se utilizan colorantes con el solo objetivo de teñir los constituyentes de los oocitos. Las placas pasarán de la misma manera por cada uno de los siguientes pasos:

1) Hematoxilina	12 minutos
2) Agua potable	Hasta que se torne azulado
3) Agua destilada	1-2 inmersiones
4) Eosina	8-10 inmersiones
5) Agua destilada	2 inmersiones (10 seg.)
6) Alcohol 90%	1 minuto
7) Alcohol 99,8%	1 minuto
8) Alcohol 99,8%	1 minuto
9) Alcohol 99,8%	1 minuto
10) Xilol	5 minutos
11) Xilol	5 minutos



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

MONTAJE: Antes de proceder al montaje de la placa es necesario limpiar los bordes con papel secante, inmediatamente después de que la placa haya salido del último xilol, para quitar el colorante que se pega a la placa por la clara de huevo. Una vez hecho esto hay que dejar evaporar el xilol y la metodología es la que sigue:

- 1) Colocar el líquido montante (Entellan de MERCK), sobre la placa y poner el cubre-objeto; evitando que queden burbujas de aire entre el cubre y porta-objetos.
- 2) Presionar sobre papel filtro y dejar secar.

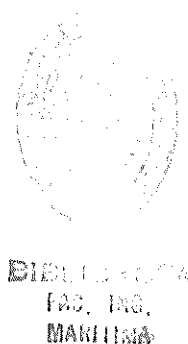
3) Con xilol y algodón limpiar la placa con cuidado, y así queda lista para su observación al microscopio.

Los reactivos usados fueron todos de MERCK, la preparación de la eosina y hematoxilina se detalla a continuación:

Eosina: 5 gramos en 1 litro de agua destilada, más 0.5 ml de ácido acético glacial por cada 100 ml.

Hematoxilina de Mayer:

Hematoxilina	1 g.
Agua destilada	1.000 ml
Iodato de sodio	0,2 g
Alumbre de amonio o Potasio	50 g
Acido citrico	1 g
Hidrato de cloral	50 g



Tanto la hematoxilina como la eosina preparadas, fueron guardadas en recipientes de vidrio oscuros hasta el momento en que sea necesario reemplazarlas. En esta sección el recipiente con agua potable inmediatamente después de la hematoxilina es removida después de cada cuatro placas trabajadas.



UNIVERSIDAD DE LA
GUAYANA
TRINIDAD
TABARUA

CAPITULO III

CARACTERIZACION DE LOS REPRODUCTORES

3.1 FUENTE DE REPRODUCTORES SILVESTRES.

3.1.1 COMPRA DE REPRODUCTORES SILVESTRES: Con el propósito adicional de verificar si las características tanto macroscópicas como histológicas en los diferentes estadios de maduración, se mantenían iguales tanto en hembras maduras capturadas del medio natural como en hembras maduras en cautiverio, se compraron 24 reproductores silvestres producto de la pesca artesanal realizada en San Pedro de Manglar alto, obteniendo reproductores en los diferentes estadios de desarrollo ovárico, usando como criterio para su compra sus características morfológicas externas y la clasificación dada por Yano et al. (1988).

Los reproductores fueron comprados gradualmente en verano en el período



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

comprendido entre los meses de octubre y diciembre de 1991.

3.1.2 ACONDICIONAMIENTO EN ACUARIOS: Una vez adquiridos, fueron transportados al laboratorio, con aireación, en el menor tiempo posible para evitar el estrés excesivo y se estableció como criterio de metodología mantenerlas en acuarios individuales con aireación, por un período no mayor a 12 horas; ésto por dos motivos, el primero para darle tiempo al reproductor a reponerse del estrés provocado por la captura y segundo, no más de 12 horas para no alimentar y correr la prueba con el animal totalmente en condiciones silvestres.

3.1.3 REGISTRO DE CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS:

Inmediatamente después de transcurridas las 12 horas de acondicionamiento, los reproductores fueron tomados uno a uno de sus respectivos acuarios, y durante el proceso de la estimación macroscópica de sus estadíos se fueron registrando características adicionales para cada uno.

En vista de que la clasificación dada por Yano era demasiado subjetiva sobre todo para sus estadíos III y IV, la mayoría de los reproductores fueron comprados entre estos dos estadíos alcanzando un número de 12; 5 se compraron en estadío I, 4 en estadío II y 3 en estadío V; según la clasificación antes mencionada.

3.1.4 DISECCION Y EXTRACCION DEL CORDON OVARICO: Luego de haber



BIBLIOTECA
ING.
M. MARITIMA

registrado todas sus características macroscópicas, cada reproductor fue pesado y fotografiado. Con un equipo de disección se extrajo el cordón ovárico íntegro, el mismo que también fue pesado y fotografiado. El promedio del Índice Gonadal (IG) por estadio fue calculado en ésta información dividiendo el peso de la hembra para el peso de la gónada..

3.1.5 ANALISIS HISTOLOGICO: Una vez extraídos los cordones ováricos, estos fueron fijados y sometidos al proceso de parafinado, cortes, desparafinado, tinción y montaje de placas ya descrito, para entonces realizar la identificación histológica de los oocitos, atendiendo a la clasificación dada y correlacionando cada uno con la macroscopía.

El diámetro de los oocitos fue medido en cada estadio de desarrollo ovárico, tomando 100 células de cada uno y obteniendo un promedio, citando a Tan Fermín y Pudadera (1989), se usó un perfilador Mitutoyo con escala automática.

3.2 REPRODUCTORES DE MADURACION.

En concordancia con los estudios previos y las características encontradas tanto macroscópica como histológicamente en las hembras silvestres, se tomaron 25 hembras adultas de *P. vannamei* del sistema de maduración del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas "Edgar Arellano" (CENAIM) en diferentes estadios de desarrollo.

Estos animales estuvieron bajo las siguientes condiciones: todos fueron

ablacionados, mantenidos a 28°C, con una salinidad de 35 ‰ y un fotoperíodo de luz:oscuridad (14:10), utilizando luz artificial con un sistema que simula condiciones naturales.

Con la nueva información se procedió a la evaluación histológica y a verificar la correlación existente entre la macroscopía y la histología. Al mismo tiempo se tomó una secuencia de fotografías a nivel histológico.

En este caso se obtuvo también el tamaño promedio de los oocitos por estadío.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMO

CAPITULO IV

DISCUSION Y RESULTADOS

La clasificación dada por Yano et al. (1988), para la identificación macroscópica de los diferentes estadíos de madurez ovárica, además de tener muy poca información para los primeros estadíos es subjetiva especialmente para los estadíos III y IV, lo que hace que en la práctica sea muy imprecisa la estimación real de estos dos estadíos.

La información obtenida en este estudio muestra que la diferencia entre los IG y las medias de los tamaños de los oocitos de estadíos III y IV (tablas I y II), no son significativamente diferentes para un $\alpha=0.05$. Por ésta razón se fusionan los estadíos III y IV en un solo estadío III.

Tabla I: Indices gonadales y diámetros promedio de los oocitos en los diferentes estadios de madurez ovárica, en hembras silvestres de *P. vannamei*. (Segun clasificación anterior).

<u>ESTADIO</u>	<u>IG.</u>	<u>D. promedio(μ)</u>
I	62.36 +/- 3.05	52.42 +/- 5.18
II	21.91 +/- 1.78	74.10 +/- 15.90
III	16.56 +/- 2.14	211.60 +/- 19.90
IV	17.88 +/- 2.72	220,20 +/- 20.10
V	13.12 +/- 1.24	246.36 +/- 15.60



BIBLIOTECA
FAC. INC.
DAGUIBANA

Tabla II: Indices gonadales y diámetros promedio de los oocitos, en hembras de maduración en *P. vannamei*. (Clasificación actual).

<u>ESTADIO</u>	<u>IG.</u>	<u>D. promedio(μ)</u>
I	69.90 +/- 2.69	37.78 +/- 4.18
II	34.27 +/- 3.18	41.84 +/- 18.46
III	22.60 +/- 2.27	216.40 +/- 13,23
IV	12.16 +/- 1.56	246.38 +/- 15.65

Esto explica la difícil diferenciación entre ellos y al mismo tiempo sustenta la nueva clasificación para la identificación macroscópica de estadios de maduración ovárica en *P. vannamei* producto del presente estudio, que incluye la descripción de cuatro estadios bien diferenciados con características adicionales en cada uno y que son:

ESTADIO I: El cordón ovárico es totalmente transparente, no tiene contornos definidos ni es visible en el eje dorsal central.

ESTADIO II: El ovario es visto como una línea delgada y opaca a lo largo del eje dorsal



ESTADIO III
ESTADIO IV

central. Al final del cefalotórax se puede distinguir una coloración amarillenta, sin pigmentación. Toda la sección del cordón ovárico correspondiente al primer segmento abdominal es transparente y vacía, aparece como si el cordón estuviera cortado.

ESTADIO III: El cordón se hace más grueso y definido. Se distingue un color amarillo intenso con pigmentación marrón en la parte anterior del cordón y lóbulos, que se acentúa durante el avance del estadio. La sección correspondiente al primer segmento abdominal comienza a llenarse, aunque aún se observa que el cordón se corta en esta área.

ESTADIO IV: El ovario es turgente y opaco, de contornos muy definidos. Al final del cefalotórax se observa una coloración verde oliva tendiendo a negruzca. El cordón es contínuo y no se corta en la sección correspondiente al primer segmento abdominal.

Tan-Fermin y Pudadera (1989), describen cuatro estadios bien diferenciados a nivel histológico en *P. monodon*, para los fines del presente estudio el estadio **desovado** que es descrito por los autores mencionados no es aplicable, en vista de que corresponde a una hembra inmediatamente después de desovar.

En tal virtud el presente estudio define un cuarto estadio histológico que corresponde a una hembra de *P. vannamei* inmediatamente antes del apareamiento y desove, describe una característica no citada en el estadio de bastones corticales, que lo define mejor; y adiciona datos de tamaños promedio de los oocitos para cada estadio.

Las características histológicas de los estadios previtelogénico y vitelogénico fueron confirmadas en éste estudio, adicionando los siguientes datos: el tamaño promedio de los oocitos es de 37.78 y 141,84 μ para el primero y segundo caso respectivamente, en hembras de maduración. (Figuras 1- 4)

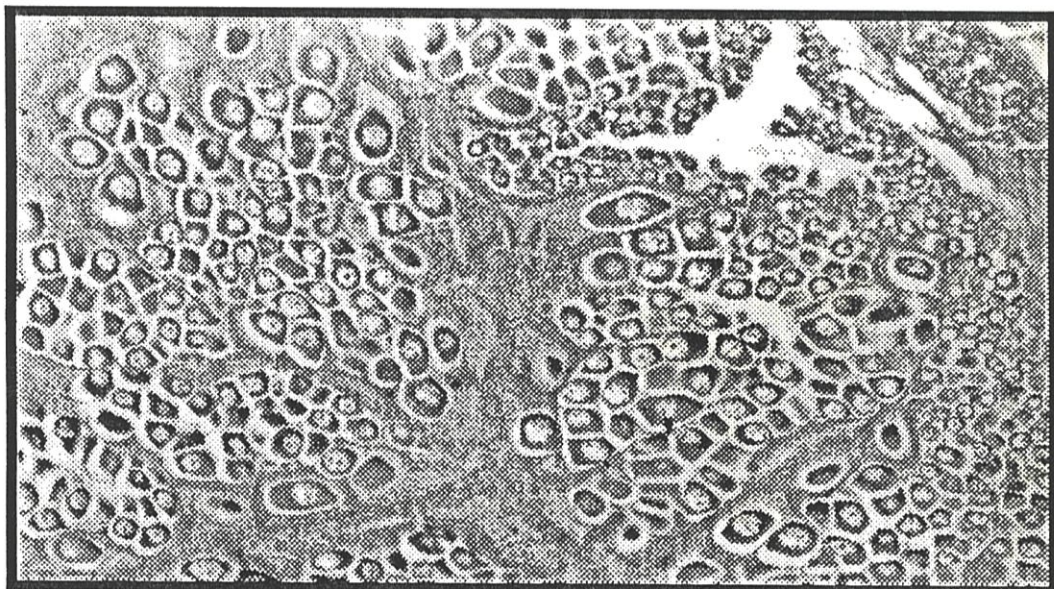


Figura 1: Oocitos en estado previtelogénico.

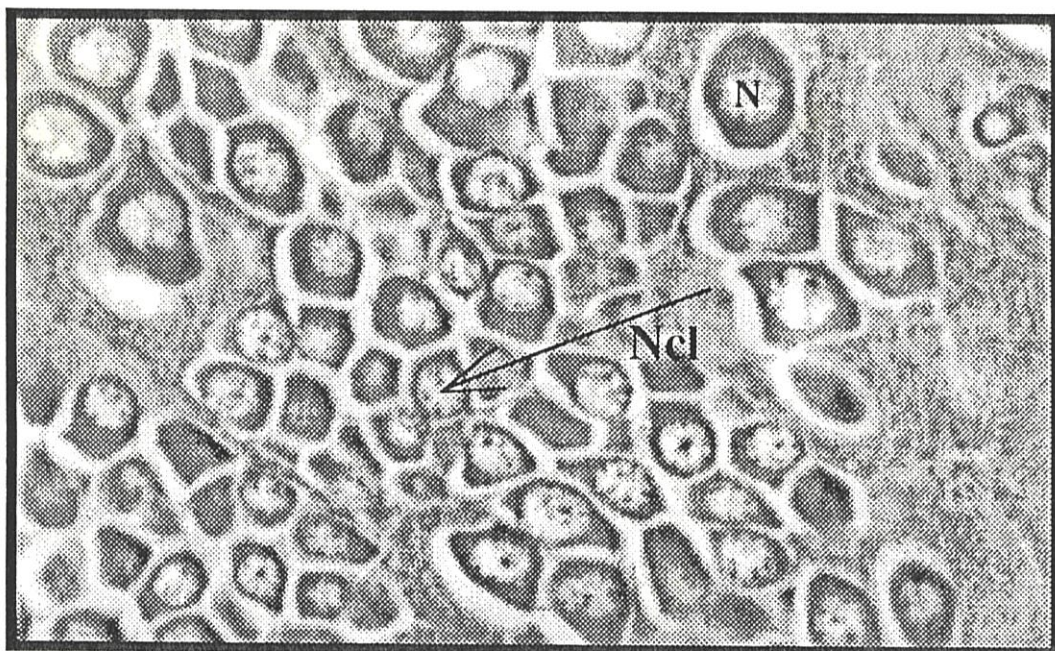


Figura 2: Oocitos en estado previtelogénico, mostrando un núcleo grande y central con nucleolos fuertemente pigmentados.

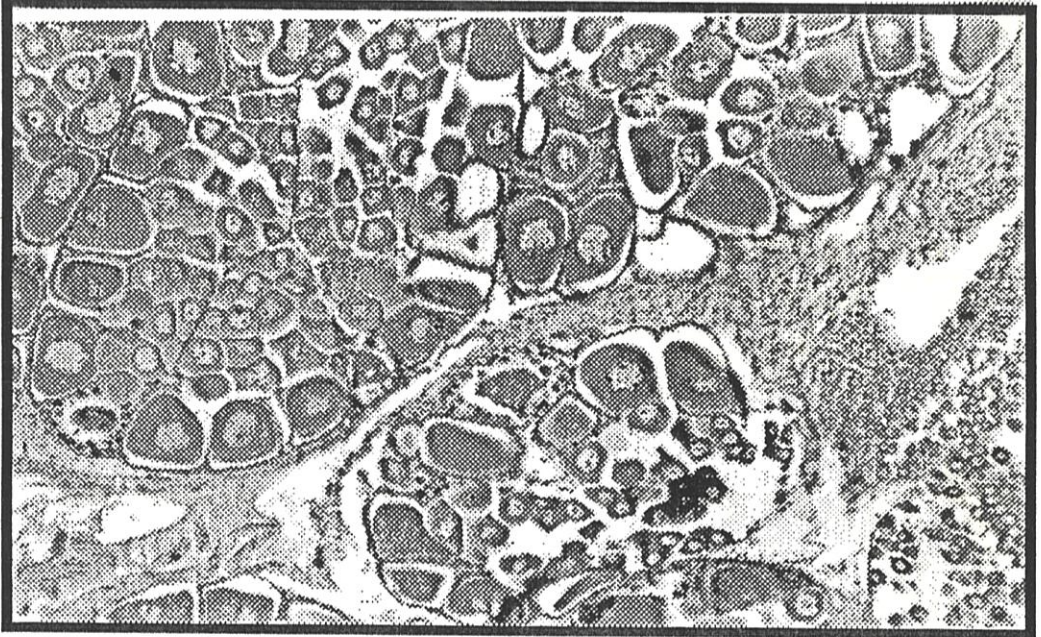


Figura 3: Oocitos en estadio vitelogénico.

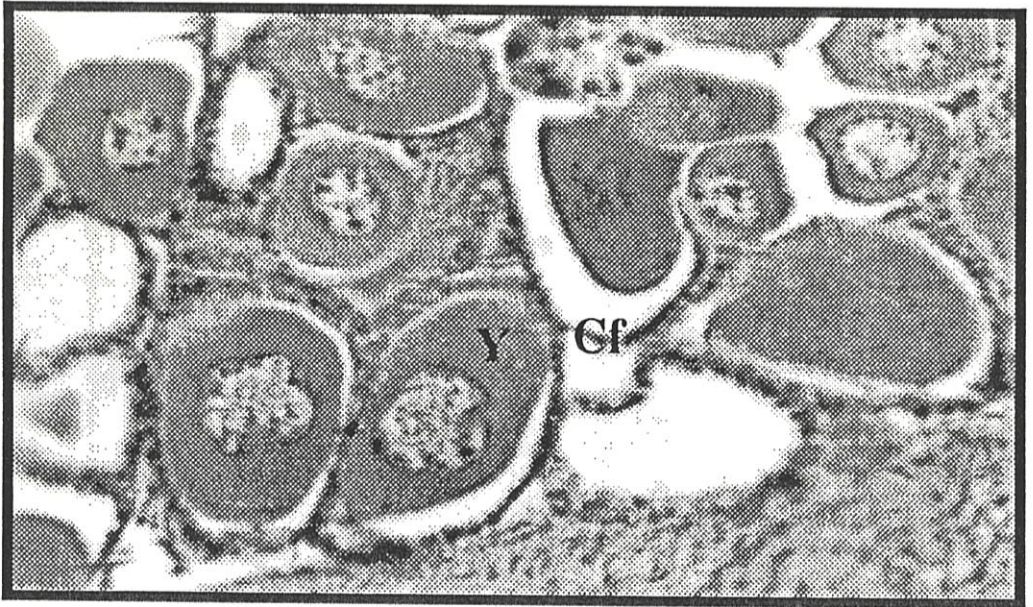


Figura 4: Oocitos en estadio vitelogénico mostrando oocitos con yema (Y) y células foliculares que comienzan a rodearlo.

Al inicio del estadio de bastones corticales se nota que estas inclusiones aparecen con el tamaño de $2\ \mu$ y crecen alargándose hacia el centro del oocito hasta medir $9\ \mu$, antes de pasar al último estadio. Los oocitos tienen un tamaño promedio de $216.40\ \mu$. Esto y lo descrito por Tan-Fermín y Pudadera (1989), se observa en las figuras 5, 6 y 7.

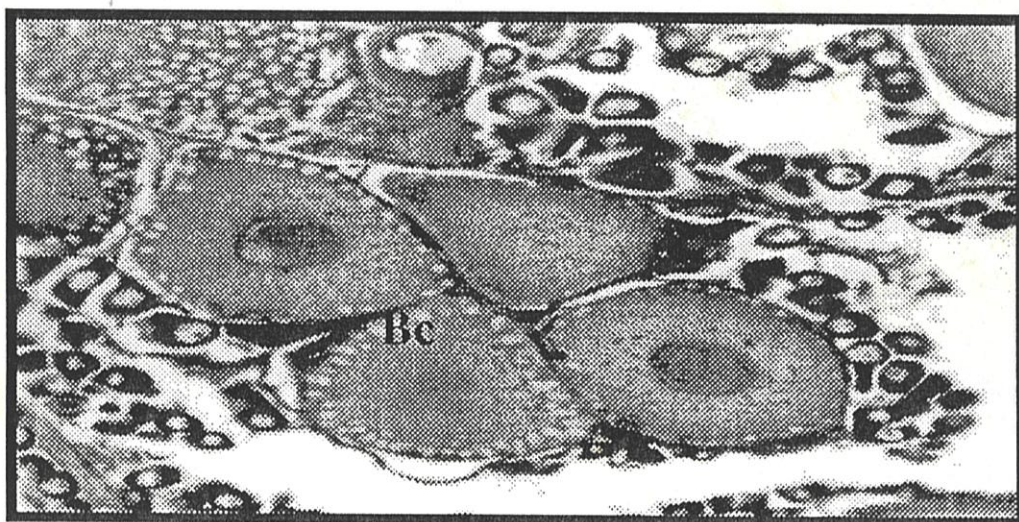


Figura 5: Oocitos mostrando bastones corticales de $2\ \mu$.

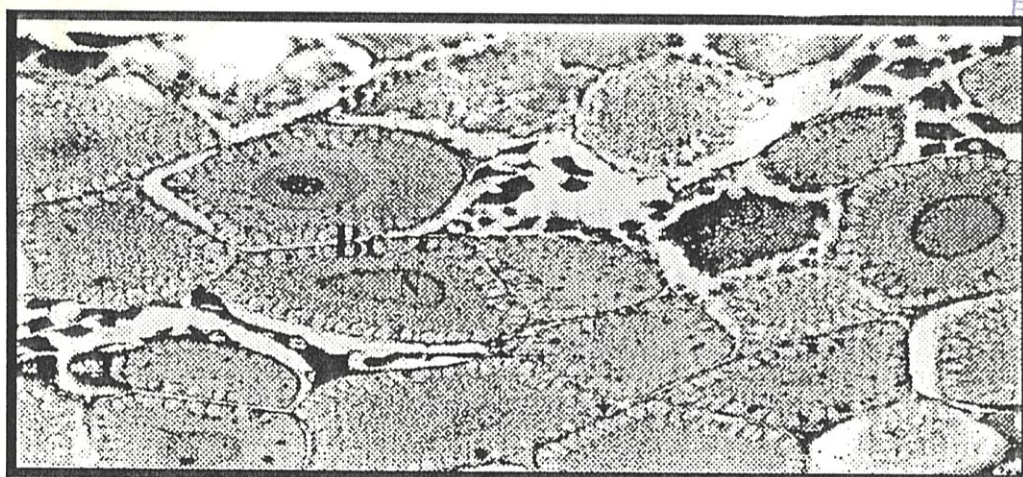


Figura 6 : Oocitos con bastones corticales (Bc) periféricos de $9\ \mu$.

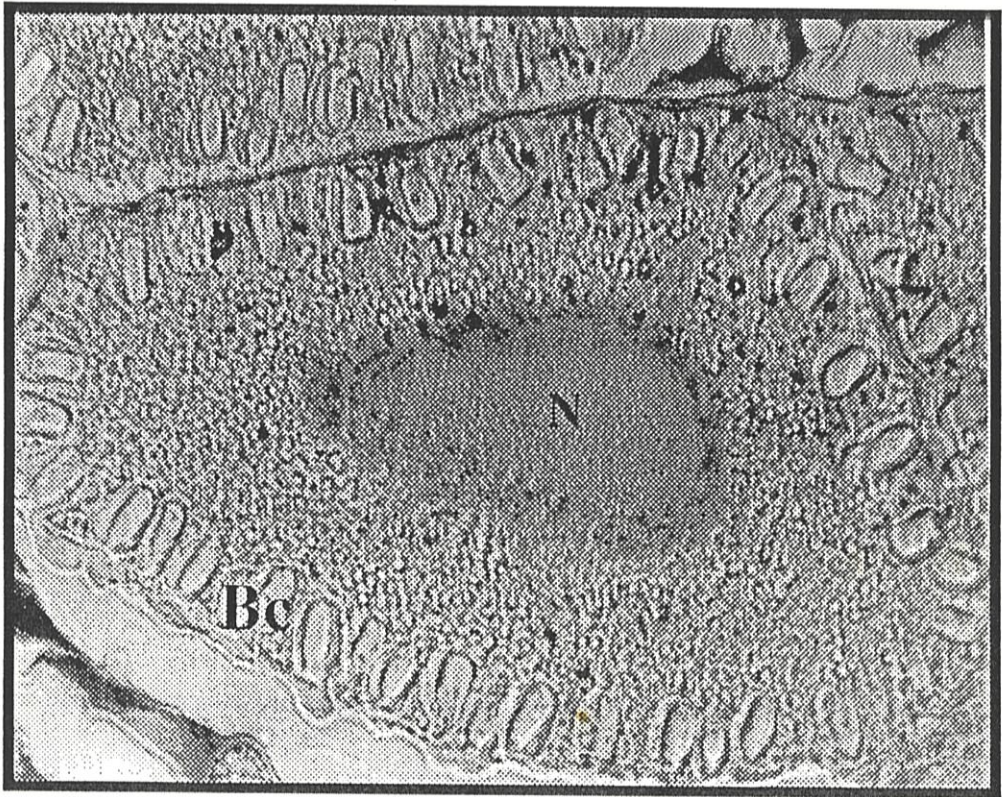


Figura 7: Oocitos en estadio de bastones corticales (Bc) mostrando su disposición periférica antes de sufrir una dehiscencia.



El nuevo estadio se define como:

ESTADIO OOCITO MADURO : Puede ser distinguido por que en los oocitos los bastones corticales migran hasta la periferia misma del citoplasma junto, a la membrana celular, en donde se forma una zona más densa y sufren una dehiscencia. También se detecta la presencia de oocitos primarios irregulares.(figuras 8 - 9)

BIBLIOTECA
ING.
MARITIMA

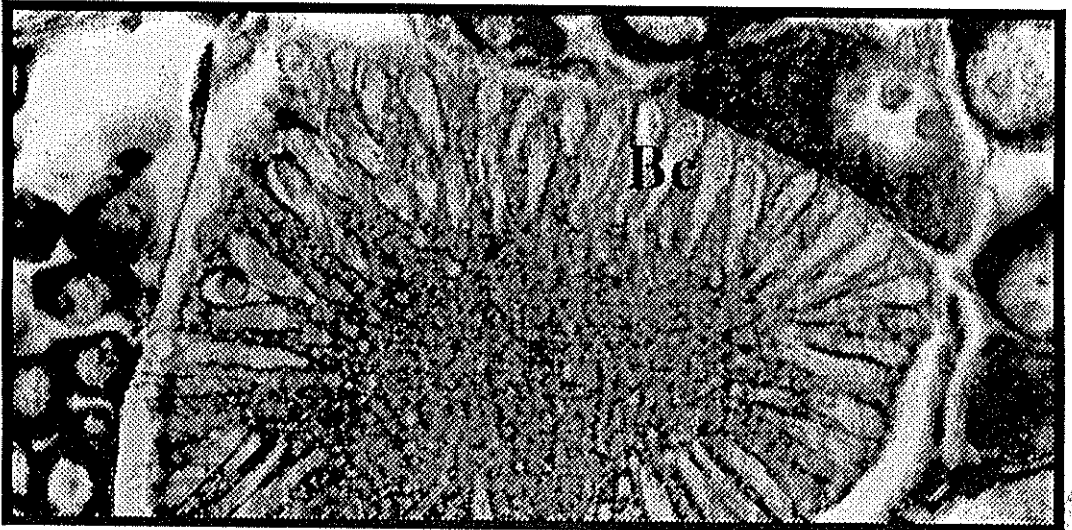


Figura 8: Oocito maduro mostrando dehiscencia de bastones corticales.



Figura 9: Oocitos en estado maduro evidenciando claramente la dehiscencia de los bastones corticales y la presencia de oocitos primarios irregulares.

Al hacer los estudios macroscópicos e histológicos a 25 hembras de *P. vannamei* procedentes del sistema de maduración del CENAIM, dieron una correlación total.



E. ... ECA
ING.
MANTENIDA

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 1) Se mejoró la técnica, ya que todo trabajo que involucre histología, deberá tener una fase previa de adaptación de la técnica estandar, ya que la constitución de los tejidos y tamaños de las muestras varían.
- 2) Los colores y pigmentación base tanto en hembras silvestres como de maduración en *P. vannamei*, se mantienen. Sin embargo en las segundas, el cordón ovárico se evidencia con colores más pálidos.
- 3) El diámetro de los oocitos en hembras silvestres es más grande que el de hembras maduras en cautiverio, respectivamente en cada estadio.
- 4) A nivel histológico con la nueva clasificación, el estadio de bastones corticales es muy similar al estadio oocito maduro, con la diferencia básica de que los bastones corticales del oocito maduro se aproximan a la membrana celular para luego sufrir una dehiscencia.
- 5) Este estudio muestra que diferencias en coloración, ancho del cordón ovárico, índice gonadal, diferencias histológicas y diámetro de los oocitos; son indicadores de los estadios de madurez en hembras de *P. vannamei*.

- 6) Sería necesario un estudio dirigido hacia dietas utilizadas para maduración de *P. vannamei* en cautiverio, con énfasis en su contenido de ácidos grasos, pigmentos, etc., y sobre otros aspectos que no necesariamente involucre alimentación, para tener una explicación científica de la palidez del cordón ovárico y la disminución del diámetro de los oocitos.



BIBLIOTECA
ING.
MARITIMA



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bell, Thomas A., Lightner, Donald V.. (1988). *A Handbook of Normal Penaeis Shrimp Histology*. First Edition. Published by the World Acuaculture Society. Baton Rouge. Louisiana. U. S. A.
- 2.- Brown, Ausbon; Patlan, Daniel. (1974). "*Color Changes in the ovaries of Penaeid shrimp as a determinant of their maturity.*" *Marine Fisheries Review*, vol 36 no. 7. pp 23-26.
- 3.- Castille, F. L.; Lawrence, A. L.. (1991). "*Reproductive studies concerning natural shrimp populations: a description of changes in the size and biochemical composition of the gonads and digestive glands in penaeid shrimp*". in *Frontiers of shrimp research, Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. (Eds). DeLoach P. F., Douherly, W. J., Davidson, M. A. Elsevier Publishing Co., Amsterdam. (Holland). Vol 22. pp 17-32.



BIBLIOTECA
DE INGENIERIA
MARTINA

- 4.- Duronslet, M. J.; Yudin, A. I.; Wheeler, R. S.; Clark, W. H.. (1975). "*Light and fine structural studies of natural and artificially induced egg growth of Penaeid shrimp.*" Proc. World Mariculture Soc.. vol.6. pp 105 - 122.
- 5.- Motoh H.. (1981). '*Studies on the fisheries biology of the giant tiger prawn, Penaeus monodon, in the Philippines.*' Technical Report No 7. Aquaculture Department. Southeast Asian Fisheries Development Center, Iloilo, The Philippines. pp 128.
- 6.- Preece, Ann. (1972). *A Manual for Histologic Technicians*. Third Edition. Little, Brown and Co. Boston. USA.
- 7.- Tan-Fermin, Josefa D.; Pudadera, Rosario A.; (1989). "*Ovarian Maturation Stages of the Wild Giant Tiger Prawn, P. monodon Fabricius*" . Aquaculture. vol 77. pp 229 - 242.
- 8.- Yano, Isao; Tsukimura, Brian; Sweeney, James N; Wyban, James A.. (1988). "*Induced ovarian maturation of P. vannamei by implantation of lobster ganglion*" . Journal of the World Aquaculture Society. vol 19. pp 204 - 209.