

REPORTE DE INVESTIGACIÓN

**del
Instituto de
Zoología**

No. 6

RIA M. ROS Y DAVID PEREZ

Estadios de desarrollo ovárico y de desarrollo
de la hueva del cangrejo moro,
Menippe mercenaria (Say, 1818)

FEBRERO DE 1983



**ACADEMIA DE CIENCIAS
DE CUBA**

Estadios de desarrollo ovárico y de desarrollo de la hueva del cangrejo moro, Menippe mercenaria (Say, 1818)¹

Rita M. ROS² y David PÉREZ³

RESUMEN. Sobre la base del análisis macroscópico y microscópico se establecen convencionalmente cinco estadios de maduración o desarrollo de los ovarios, y cuatro estadios de desarrollo de la hueva o freza del cangrejo moro, Menippe mercenaria. Se determina que hay diferencias a un nivel de significación del 98% entre las medidas de los huevos pertenecientes a frezas poco desarrolladas y las pertenecientes a frezas en los últimos estadios de desarrollo. Se determina que no hay diferencia a un nivel de significación del 99,9% entre las medidas de los huevos correspondientes a un mismo grado de desarrollo con independencia de la talla de las hembras de las cuales provenían.

1. INTRODUCCIÓN

Para el análisis del ciclo de maduración ovárica y ovulación de una especie, resulta imprescindible el estudio de las transformaciones macroscópicas y microscópicas que tienen lugar en los oocitos y óvulos, con el fin de lograr identificar cualitativamente cada uno de los estadios de desarrollo.

En relación con el desarrollo y maduración ovárica analizado desde este punto de vista, existen numerosos trabajos sobre diferentes especies de crustáceos, tales como los de Hay (1904); Churchill (1918); Pruitt (1939) y Hard (1942) sobre Callinectes sapidus; los de Herrick (1909, 1911) y Ache y Rvard (1975) en Homarus americanus; los de Bonde (1936) y Silberbauers y Morre (1971) en Jasus lalandii; el de Berry (1971) en Panulirus homarus; los de Mota Alves y Tomé (1965, 1966) sobre Panulirus argus y Panulirus laevicauda, respectivamente, y otros. No obstante, sobre Menippe mercenaria no existen trabajos que traten de este tema.

¹Manuscrito aprobado en octubre de 1981.

²Academia de Ciencias de Cuba (Sede Central).

³Empresa Nacional de Acuicultura, Ministerio de la Industria Pesquera.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para el examen histológico de los ovarios, se tomaron mensualmente 5 muestras correspondientes a cada estadio de desarrollo, las cuales se preservaron en líquido fijador Bouin. Las inclusiones, que fueron de $8\mu\text{m}$, se colorearon con Hematoxilina-Eosina. Las mediciones de los huevos se realizaron de acuerdo con el método sugerido por Clark (194) y se utilizó un microscopio biológico binocular con aumento de 80 X y micrómetro ocular graduado en 0,1 mm; las mediciones se hicieron por proyección, con un nivel de precisión de 0,05 mm.

Se realizaron mediciones a grupos de 100 oocitos y 100 huevos provenientes de hembras en diferentes estadios de desarrollo del ovario y freza.

Para el examen microscópico de los oocitos se tuvo en cuenta la presencia y desarrollo de diferentes estructuras celulares, tales como núcleo, nucleolo, aparición de gránulos de vitelo y gotas de lípidos, así como el incremento del tamaño de los oocitos en cada una de las fases de desarrollo.

Para el examen microscópico de los huevos se tomó en cuenta el volumen de la masa vitelina, desarrollo del embrión y tamaño de los huevos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Descripción macroscópica y microscópica de los estadios de maduración ovárica

Los ovarios del cangrejo moro sufren transformaciones macroscópicas y microscópicas durante su ciclo reproductor. El tamaño y el color de los ovarios varía, en los estadios no desarrollados son filamentosos e incoloros, y llegan a presentarse grandes y de color rojizo en estadios avanzados. Estas transformaciones son el resultado de la integración de toda una serie de cambios

microscópicos, en el transcurso de los cuales las oogonias maduran y crecen hasta convertirse en óvulos.

Los cambios de coloración, que se manifiestan a través de un incremento gradual de tonalidades, que van del crema al anaranjado-rojizo, se deben a la incorporación citoplasmática por parte de cada óocitos de reserva, fundamentalmente compuestos lipídicos, que formarán la base de la nutrición del embrión.

En resumen, al iniciarse el periodo preparatorio para la reproducción, las oogonias y oocitos primarios presentes en el ovario crecen producto de la síntesis y almacenamiento de sustancias alimenticias, así como por el desarrollo de sus estructuras propias. Esta acumulación de materiales nutritivos tiene como consecuencia el aumento de volumen de cada oocito y del ovario en su conjunto, mientras que la acumulación de carotenoproteínas da lugar al aumento de la tonalidad de color que caracteriza a los ovarios en desarrollo y desarrollados.

En la Tabla 1 presentamos el tamaño de los oocitos en los distintos estadios de desarrollo y se da la media, extremos, desviación estándar, y error estándar para cada uno (Fig. 1).

Los ovarios del cangrejo moro los hemos estudiado, por tanto, en dos aspectos: en el macroscópico, sobre la base del color y tamaño de los mismos, y paralelamente el estudio microscópico del proceso; se han establecido convencionalmente 5 estadios de desarrollo, para lo cual se tomó como criterio cualitativo de diferenciación no sólo el tamaño de los oocitos, sino el grado de organización y proporción en que estos se encuentran en el ovario. Esto último es válido principalmente para los primeros estadios de desarrollo, ya que a partir del estadio III el desarrollo es muy sincrónico.

Estadio I. Ovario inmaduro: Macroscópicamente se presenta transparente, y su extracción es extremadamente delicada. El ovario sólo contiene pequeñas e inmaduras oogonias de aspecto y forma irregular, con el citoplasma intensamente basófilo. El núcleo

presenta la cromatina ordenada irregularmente y muy densa. Las oogonias pueden presentarse en arreglos arracimados, íntimamente relacionadas con las tramas del tejido conectivo que dividen en septos a los ovarios. Su diámetro medio es de $72,6\mu\text{m}$. Este ovario es típico de las hembras que aún no han alcanzado la talla para la primera reproducción (Fig. 2).

Estadio II. Ovario en desarrollo: Macroscópicamente se observan de color crema, y su extracción es también bastante delicada. Este ovario contiene oocitos muy poco desarrollados, de forma tetragonal, que presentan también intensa basofilia y, además, aún tienen gran cantidad de oocitos primarios. El paso de las oogonias a oocitos es bastante insensible y se detecta en función del tamaño y de la presencia del nucleolo. El tamaño medio de los oocitos es de $115,9\mu\text{m}$. Este ovario es típico de las hembras que están en vías de maduración (Fig. 3).

Estadio III. Ovario desarrollado: Macroscópicamente se observa de color naranja, lo cual está relacionado con la presencia de los gránulos de vitelo. Los ovarios tienen un gran incremento en el tamaño, debido fundamentalmente al aumento de los gránulos de vitelo en el citoplasma de los oocitos, que se observan completamente granulados. El núcleo se hace más pequeño y en ocasiones puede observarse el nucleolo en posición central. El tamaño de los oocitos es de $162,7\mu\text{m}$. Este estadio es típico de hembras maduras. (Fig. 4).

Estadio IV. Ovario completamente desarrollado: Se observa de color naranja brillante o rojizo. El ovario alcanza su mayor tamaño, y ocupa gran parte del volumen del carapacho. Se caracteriza por una mayor concentración de gránulos de vitelo y por la aparición en el citoplasma de los glóbulos lipídicos. No se observa el núcleo, y los oocitos alcanzan su mayor dimensión, con una media de $245,1\mu\text{m}$. Al finalizar este estadio, la hembra ovula. (Fig. 5).

Estadio V. Ovario después de la primera ovulación: En este estadio el ovario disminuye considerablemente de tamaño, pero mantiene una coloración naranja. Inmediatamente después de la primera ovulación, el ovario mantiene aún oocitos de gran tamaño, tales como los que se observan en el estadio anterior, los cuales se

reabsorben, pero se caracteriza por tener zonas extensas sin ninguna estructura que corresponde al área ocupada por los oocitos que fueron descargados al ovular. Con el análisis macroscópico sólo, es difícil diferenciar este estadio de los anteriores a la ovulación, ya que el ovario, si bien decrece de tamaño, mantiene la misma coloración. Sólo la presencia de la freza y el examen microscópico nos puede dar un indicio de que es un ovario de hembra que ha ovulado por primera vez. Al pasar la hembra por segunda vez al estadio II de desarrollo ovárico, el color naranja ya ha desaparecido, y el ovario se torna color crema.

Los estadios de desarrollo ovárico de M. mercenaria guardan similitud con los observados por Hard (1942) en C. sapidus.

3.2 Descripción de los estadios de desarrollo de la hueva o freza

Existe gran cantidad de especies de crustáceos en los cuales la hembra, después de fecundados los huevos, los mantiene adheridos a los pleópodos, mientras tiene lugar el proceso de embriogénesis. Esta masa de huevos se denomina comúnmente freza o hueva y puede tener desde algunas decenas de elementos en las especies más pequeñas, o de menor fecundidad, hasta más de 1 millón de huevos. El desarrollo embrionario culmina con el nacimiento de las larvas y el inicio de la fase larval. Durante el proceso de desarrollo de la freza, ésta atraviesa por distintas etapas, en las cuales hay variación en el tamaño y color de los huevos debido al contenido de reservas y al desarrollo gradual del embrión.

Los huevos presentan durante todo su desarrollo forma ovoidal. En la Tabla 2 se dan los valores medios de los diámetros máximo (largo) y mínimo (ancho) para los estadios I, II, y III (frezas rojas, naranjas, y carmelitas) (Fig. 6).

Estos valores fueron determinados sobre la base de mediciones realizadas a grupos de 100 huevos provenientes de hembras con las huevas en diferentes estadios de desarrollo. La media del diámetro máximo (largo) presenta valores desde 375μ en frezas en estadio I, y hasta 397μ para aquellas que se encuentran en el estadio

III, para un incremento de 1,06 veces. La media del diámetro mínimo (ancho) presenta valores desde 328 hasta 349 μ m para frezas de los estadios I a III.

A los efectos de determinar si existían diferencias significativas entre los tamaños de huevos poco desarrollados (estadios I y II) y de huevos desarrollados (estadios III y IV), se midieron 100 huevos de 30 hembras diferentes en los distintos estadios de desarrollo; 15 de estas hembras alcanzaron una talla del orden de los 60-70 mm, y las otras 15 del orden de los 80-90 mm. A los resultados se les aplicó una Prueba t , y arrojó que hay diferencias a un nivel de significación del 98% entre las medidas de los huevos pertenecientes a frezas poco desarrolladas y las medidas pertenecientes a frezas en los últimos estadios de desarrollo. También se llevó a cabo un análisis similar para determinar si existían o no diferencias en el tamaño de los huevos de hembras de tallas entre los 60-70 mm y los provenientes de hembras que medían entre 80 y 90 mm. La Prueba t indica que no hay diferencias a un nivel de significación del 99,9%, entre las medidas de los huevos correspondientes a un mismo grado de desarrollo, con independencia de la talla de las hembras de las cuales provenían (Fig. 7).

Los cambios de coloración que tienen lugar en la freza se deben a la presencia del vitelo, el cual ocupa todo el citoplasma en el huevo recién fecundado y va disminuyendo en volumen a través de todo el proceso de embriogénesis. Este material está constituido fundamentalmente por lípidos y es utilizado por el embrión como base de su nutrición. La abundancia relativa del vitelo y el crecimiento progresivo del embrión es lo que determina el cambio de coloración de la freza.

Sobre la base de la coloración de las frezas o huevas de los ejemplares analizados, así como de la talla de los huevos y grado de desarrollo del embrión, hemos establecido convencionalmente 4 estadios de desarrollo, los que describimos a continuación:

Estadio I. Freza naranja brillante o rojiza. Poco desarrollada. Los huevos recién fecundados se encuentran adheridos fuertemente a los pleópodos. La masa vitelina ocupa todo el centro del huevo

y no se observa la formación del embrión. Los huevos miden $375\mu\text{m}$ como promedio.

Estadio II. Freza naranja. En desarrollo. En este estadio comienza a observarse el desarrollo del embrión y existe una reducción gradual del volumen de la masa vitelina. Los huevos miden $393\mu\text{m}$ como promedio.

Estadio III. Freza carmelita. Desarrollada. En este estadio se observan los ojos y la pigmentación del cuerpo del embrión. La masa vitelina se reduce a menos de la mitad del volumen del huevo, que mide $397\mu\text{m}$ como promedio..

Estadio IV. Freza gris. Completamente desarrollada. La larva se observa completamente formada, con todos sus apéndices. La masa vitelina se reduce al mínimo, ya que todo el volumen del huevo es ocupado por el embrión. Los huevos miden $400\mu\text{m}$ como promedio.

Mota y Tomé (1969) analizaron los estadios de desarrollo de la langosta Panulirus argus en base del establecimiento de una escala de colores pero no describieron la estructura interna de los huevos.

4. CONCLUSIONES

1. Sobre la base del análisis macroscópico y microscópico se establecen convencionalmente 5 estadios de maduración o desarrollo de los ovarios bien definidos.
2. Mediante el análisis macroscópico y microscópico se establecen convencionalmente 4 estadios bien definidos de desarrollo de la hueva o freza.
3. Se determinó que hay diferencias a un nivel de significación del 98% entre las medidas de los huevos pertenecientes a frezas poco desarrolladas y las medidas de los pertenecientes a frezas en los últimos estadios de desarrollo.

4. Se determinó que no hay diferencias a un nivel de significación del 99,9% entre las medidas de los huevos correspondientes a un mismo grado de desarrollo, con independencia de la talla de las hembras de las cuales provenían.

RECONOCIMIENTO

Agradecemos a la técnica Bárbara Innerarity por su valiosa ayuda en el procesamiento de los cortes histológicos.

REFERENCIAS

- ACHE, B. W., y BYARD, E. H. (1975): Reproduction cycles and ovarian development in Homarus. Recent Advances in lobster Aquaculture. Tech. Pap. Abs. Aquaculture Tech. Session.
- BERRY, P. F. (1971): The biology of the spiny lobster Panulirus homarus (Linnaeus) off the east coast of southern Africa. Ocean. Res. Inst., Invest. Rep. 28:1-75.
- BONDE, C. (1936): The reproduction, embriology and metamorphosis of the cape crayfish (Jasus lalandii). S. Afr. Div. Sea Fish., Invest. Rep., 6:1-25.
- CLARK, F. M. (1934): Maturity of the California sardine (Sardina caerulea) determined by ova diameter measurements. Contr. 19, Fish. Bull. 42:1-49.
- CHURCHILL, E. P. (1918): Life history of the blue crab. Bull U. S. Bur. Fish., 35:93-128.
- HARD, L. W. (1942): Ovarian growth and ovulation in the mature blue crab Callinectes sapidus Rathbun. Chesapeake Biol. Lab., 46:3-17.
- HAY, A. G. (1904): The life history of the blue crab Callinectes sapidus. Rept. U. S. Bur. Fish., 395-413.
- HERRICK, F. H. (1909): The American lobster. A study of its habits and development. Bull. U. S. Fish. Comm., 1:1-252.
- (1911): Natural history of the American lobster. Bull. Bur. Fish., 29 (747):149-408.
- MOTA ALVES, M. I., y TOMÉ, G. S. (1965): On the histological structure of the gonads of Panulirus argus (Latr.). Arq. Est. Mar., Univ. Ceará, 5(1):15-26.
- (1966): Estudo sobre as gonadas da langosta Panulirus laevicauda (Latr.). Arq. Est. Mar., Univ. Ceará, 6(1):1-9.

----- (1969): Escala de colores para ovarios de la langosta Panulirus argus (Latr.). Arg. Cienc. Mar., Univ. Ceará, 9(1):99-100.

SILBERBAUERS, B. I., y MORRE, D. R. (1971): The biology of the South African rock lobster Jasus lalandii (H. Milne Edwards). 2. The reproductive organs, mating and fertilization. S. African Div. Sea Fish., Invest. Rep., 93:1-43.

TRUITT, R. V. (1939): The blue crab. En Our water resources and their conservation, Contr. Chesapeake Biol. Lab., 27:10-38.

ABSTRACT. Five and four development stages, respectively, for ovaries and berry are conventionally established in accordance to macro and microscopic analyses in the stone crab, Menippe mercenaria (Say). A significant difference was determined among size of eggs in the initial and final development stages, but not between eggs of the same development stage, independently of the size of the female producing them.

TABLA 1. Tamaño de los oocitos en los distintos estadios de desarrollo del ovario (en μm).

Parámetros	Estadios de desarrollo ~			
	I (Transparente)	II (Crema)	III (Naranja)	(Rojo)
Media	72,6	115,9	— 162,7	245,1
Extremos	52,1-97,8	78,2-149,9	130,4-221,6	215,1-280,3
Desviación estándar	5,1	6,8	11,2	5,3
Error estándar	0,43	0,48	0,08	0,47

TABLA 2. Tamaño de los huevos para distintos grados de desarrollo de la freza.

Diámetro máximo o largo (micra)	Estadios de desarrollo de la freza		
	I	II	III
Media	375	393	397
Extremos	339-417	345-450	320-515
Desviación estándar	21	33	31
Error estándar	2,13	4,64	3,36
Diámetro mínimo o ancho (micra)			
Media	328	363	349
Extremos	313-391	280-430	300-450
Desviación estándar	24	39	40
Error estándar	2,42	5,46	4,43

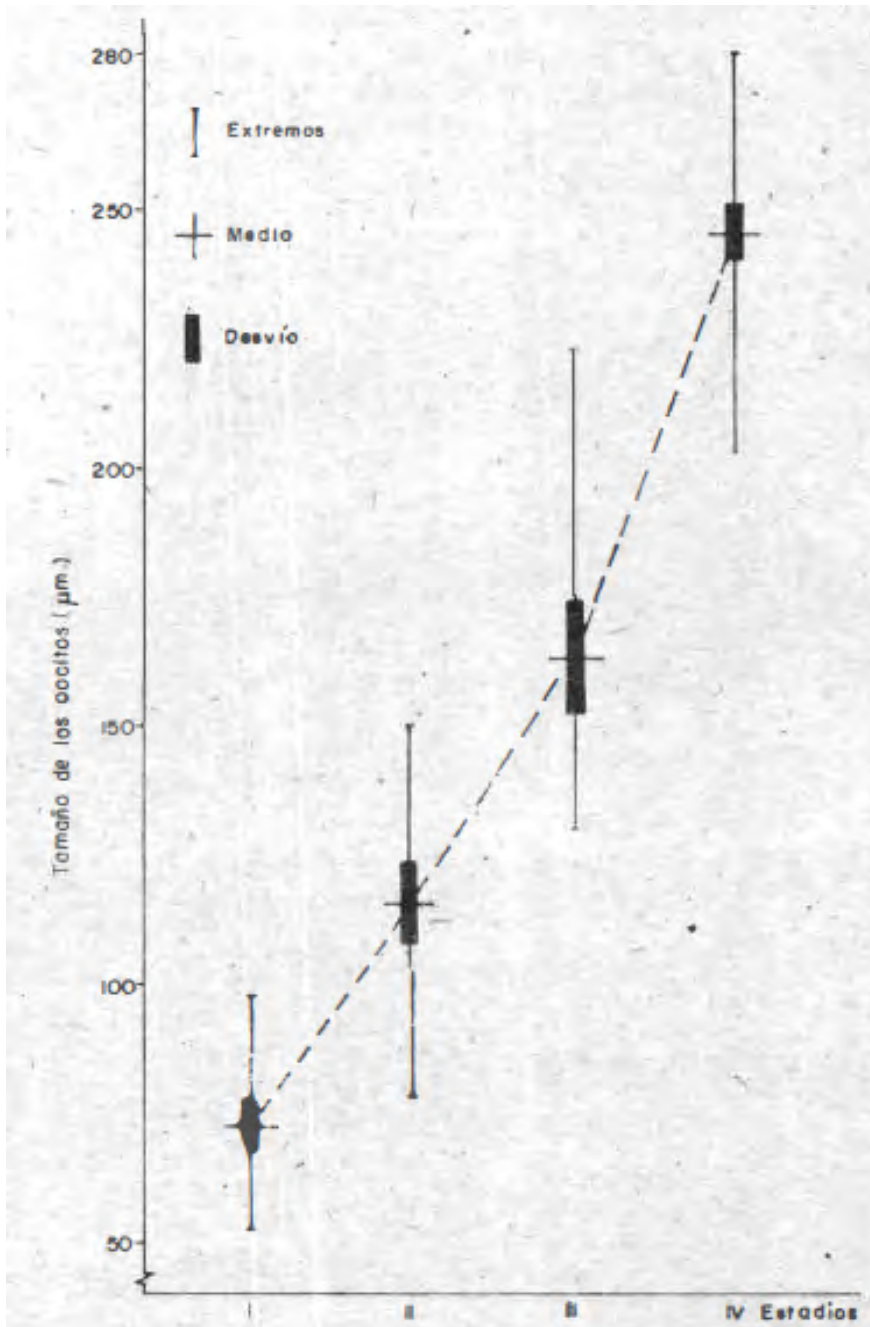


FIG. 1. Tamaño de los oocitos en los distintos estadios de desarrollo del ovario (en μm).

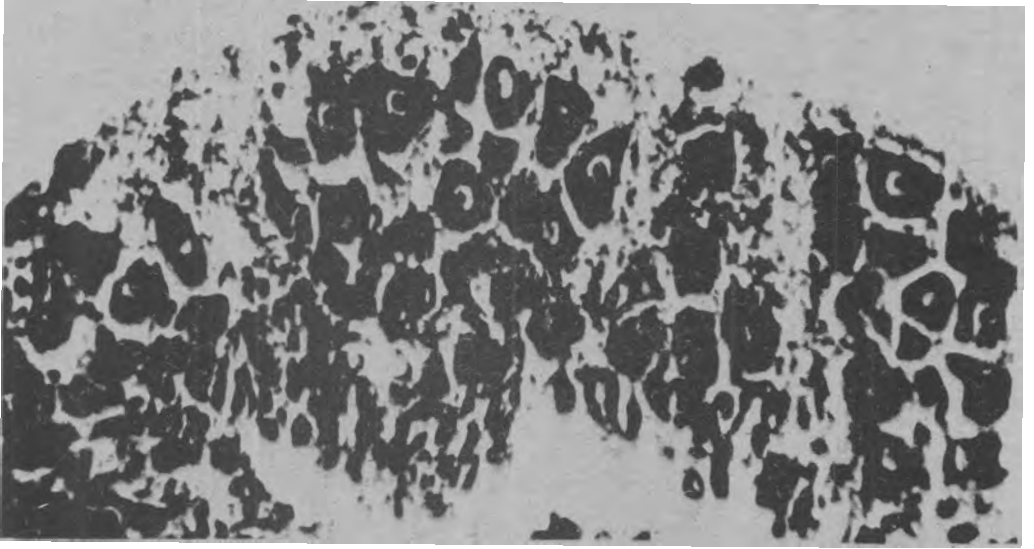


FIG. 2. Estadio I. Ovario inmaduro.

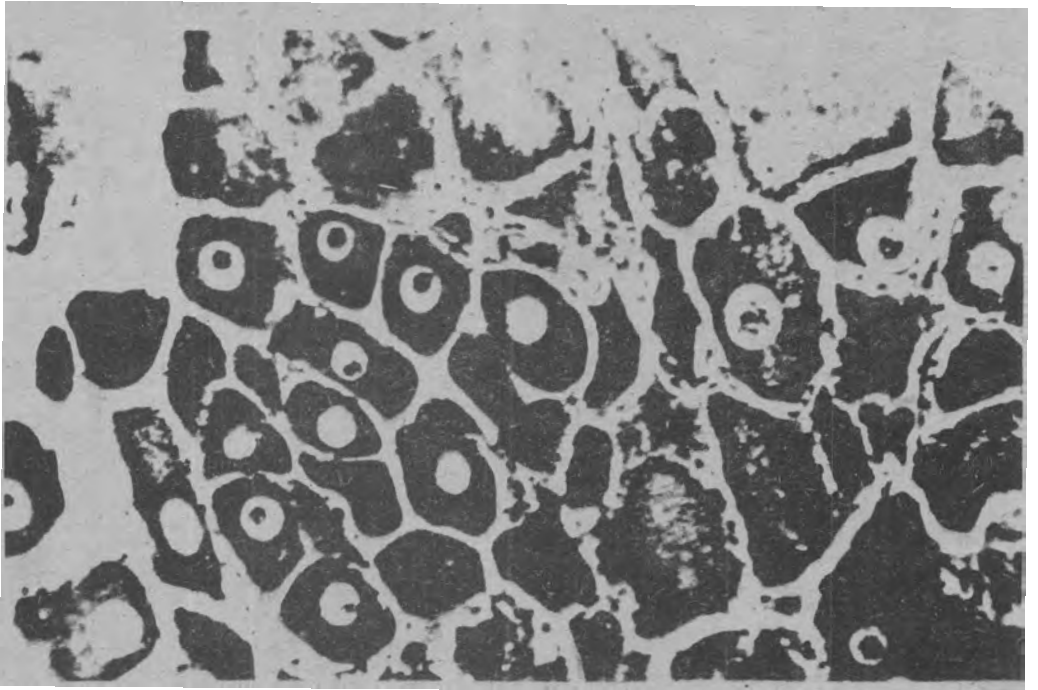


FIG. 3. Estadio II. Ovario en desarrollo.

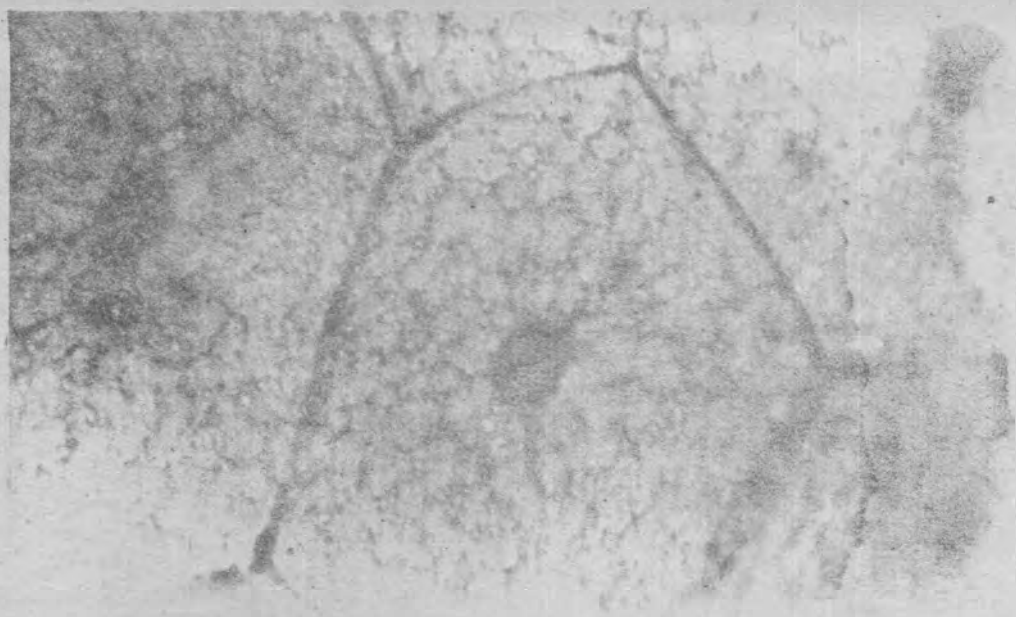


FIG. 4. Estadio III. Ovario desarrollado.



FIG. 5. Estadio IV. Ovario completamente desarrollado.

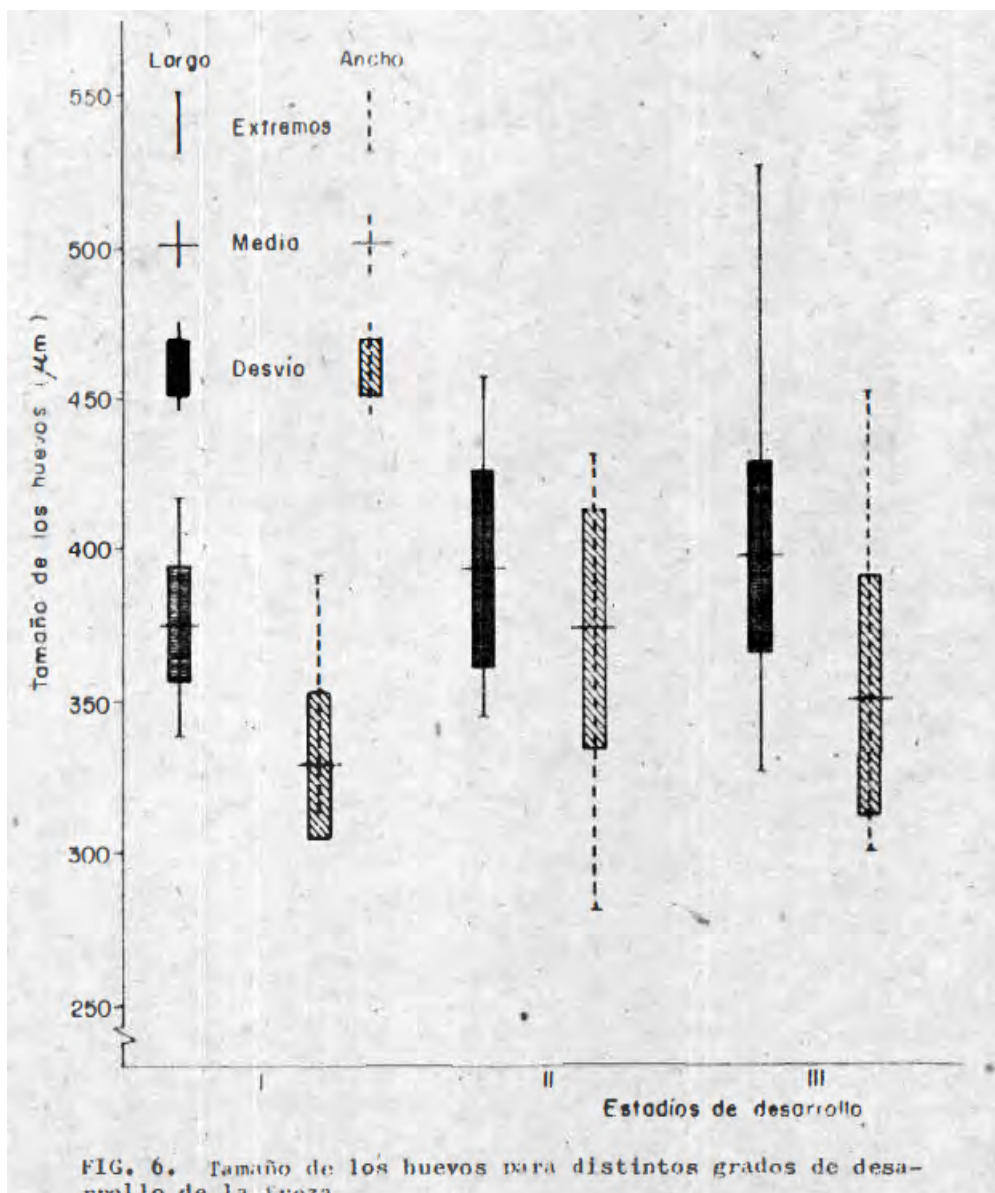


FIG. 6. Tamaño de los huevos para distintos grados de desarrollo de la freza.

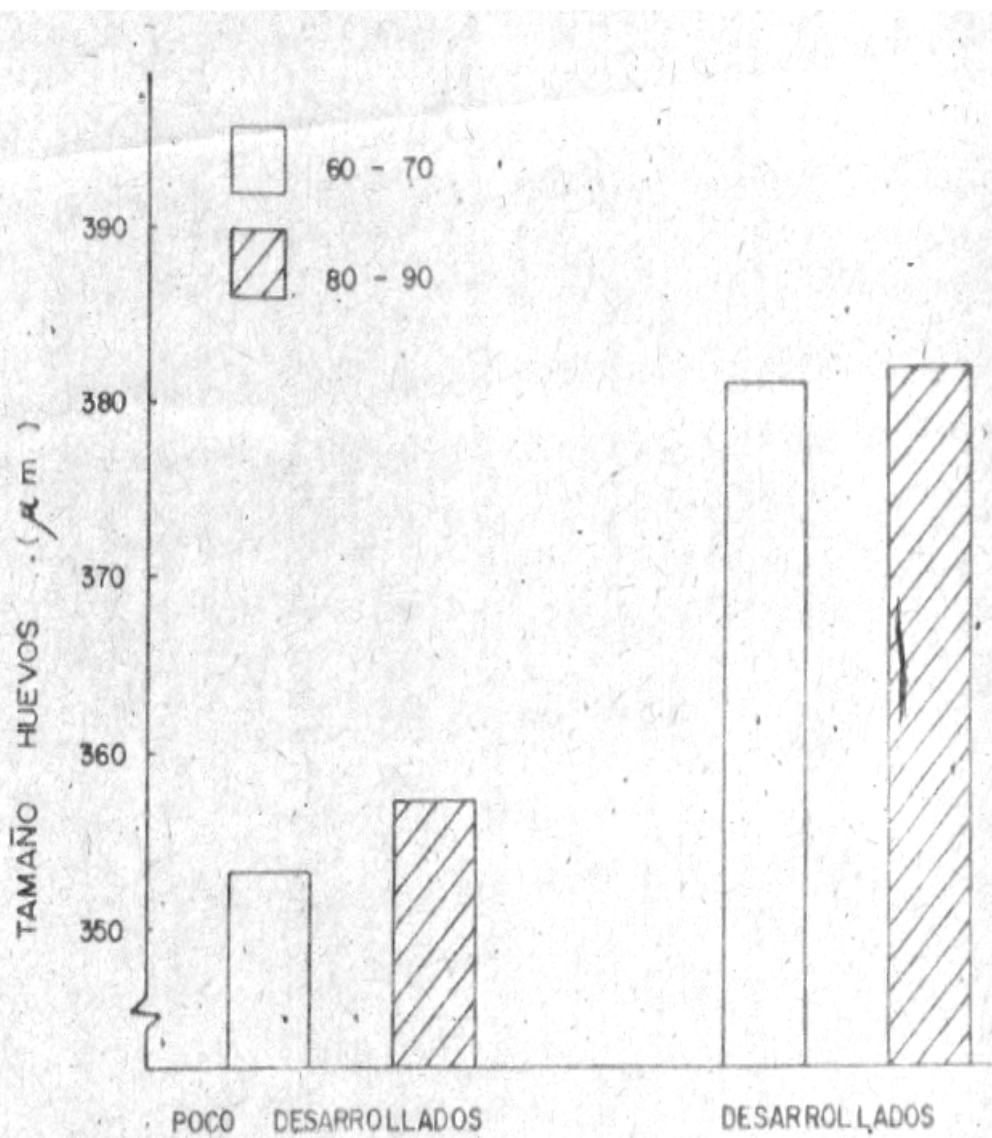


FIG. 7. Tamaño de los huevos en frezas con diferente desarrollo.