

ABLACIÓN UNILATERAL DE *Penaeus stylirostris* (STIMPSON)

UNILATERAL ABLATION OF *Penaeus stylirostris* (STIMPSON)

Víctor Gendrop-Funes
Enrique Valenzuela-Espinoza

Instituto de Investigaciones Oceanológicas
Universidad Autónoma de Baja California
Apartado postal 453
Ensenada, Baja California
México

Recibido en junio de 1993; aceptado en septiembre de 1995

RESUMEN

Hembras silvestres de *Penaeus stylirostris*, capturadas en agosto de 1990 en el alto golfo de California, se indujeron a la madurez gonádica en el laboratorio mediante ablación y bajo condiciones estándar para maduración. Se estructuraron dos grupos experimentales (A, B) y un testigo sin ablación (C). En A se aplicó la ablación a las 24 ± 2 h y en B a las 38 ± 2 h de iniciado el estadio de intermuda en ambos grupos. Los grupos experimentales registraron promedios similares en desoves por hembra por mes y significativamente diferentes al grupo testigo ($p < 0.05$). El promedio de huevos liberados por desove no fue diferente ($p > 0.05$) entre los tres grupos. La ablación no afectó la calidad de huevos y larvas producidas, y se registraron porcentajes de fertilización, eclosión y metamorfosis similares entre los grupos experimentales y testigo ($p > 0.05$). Se obtuvo la máxima respuesta reproductiva en las hembras del grupo A; 73.3% del total de hembras ablacionadas maduraron y produjeron un desove. El número de hembras ablacionadas que produjeron desoves subsecuentes disminuyó en 20% en el segundo y aproximadamente 33% en el tercero. La mayor supervivencia (86%) y máxima producción acumulada de huevos (4.8 millones de nauplios) entre grupos experimentales se registró en A.

Palabras clave: *Penaeus stylirostris*, reproducción, ablación, intermuda.

ABSTRACT

Wild females of *Penaeus stylirostris*, captured in August 1990 in the northern region of the Gulf of California, were induced to maturation by unilateral ablation under standard maturation laboratory conditions. Two experimental groups (A, B) and one control without ablation (C) were structured. Unilateral ablation was applied to A at 24 ± 2 h and to B at 38 ± 2 h, once the intermolt stage had begun. The experimental groups registered similar values in number of spawnings per female per month, significantly different from the control ($p < 0.05$). Mean number of eggs per spawn was not different among groups. Ablation had no effect on the quality of eggs and larvae; all groups registered similar percentages of fertilization, hatch and metamorphosis ($p > 0.05$). Maximum reproductive response was obtained by group A females; 73.3% of ablated females matured and produced one spawn. The number of ablated females that produced subsequent spawns decreased by 20% in the second and approximately 33% in the third. Among the experimental groups, higher survival (86%) and maximum accumulated production of eggs (4.8 million nauplii) was registered by A.

Key words: *Penaeus stylirostris*, reproduction, ablation, intermolt.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de ablación unilateral para inducir el desarrollo ovárico de hembras de *Penaeus stylirostris* y obtener huevos viables se ha utilizado ampliamente en procesos de investigación o producción (Aquacop, 1979; Chamberlain y Lawrence 1981a, b; Ottogalli *et al.*, 1988; Ottogalli, 1989; Bray *et al.*, 1990). La información en la literatura sugiere que los efectos de la ablación varían con la estación del año y el estadio del ciclo de muda en que se aplique (Aquacop, 1977). Dentro del ciclo de muda, el estadio intermuda parece ser el periodo adecuado para efectuar ablación, ya que el estímulo provocado durante este estadio aparentemente no ocasiona reabsorción de huevos, retraso en el desarrollo gonádico o mortalidad excesiva, como ocurre si se aplica en los estadios de premuda tardía o posmuda temprana (Bliss, 1966; Adiyodi y Adiyodi, 1970; Aquacop, 1977, 1979; Chamberlain *et al.*, 1985).

Bajo este esquema, la práctica más común en el manejo de reproductores en los laboratorios de producción comercial que utilizan ablación como mecanismo de inducción, es efectuarla con el criterio de que el organismo no esté recién mudado. Con esta aproximación, aunque efectiva dada la constante reposición de reproductores en los estanques, se puede estar provocando la subutilización de la capacidad instalada del laboratorio, así como costos adicionales por reposición de reproductores, debidos a un manejo menos eficiente que el posible.

En particular, a través de nuestras experiencias de inducción con el camarón azul, *P. stylirostris*, en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas (Universidad Autónoma de Baja California, México) de 1987 a 1990, utilizando el criterio de ablacinar evitando los estadios de premuda tardía o posmuda temprana, se encontró que durante los meses de marzo a agosto, periodo de mayor actividad reproductora en la población de camarones del alto golfo de California (Medina *et al.*, 1992), se obtuvieron valores de rendimiento en número de desoves promedio por hembra y tiempo de respuesta de ablación al desove dentro de los intervalos reportados como promedios para la especie

INTRODUCTION

Unilateral ablation has been widely used in research and production processes to induce ovarian development in *Penaeus stylirostris* females and obtain viable eggs (Aquacop, 1979; Chamberlain and Lawrence 1981a, b; Ottogalli *et al.*, 1988; Ottogalli, 1989; Bray *et al.*, 1990). Information in the literature suggests that the effects of ablation vary according to season and stage of the molt cycle when performed (Aquacop, 1977). Within the molt cycle, the intermolt stage seems to be the appropriate time for conducting ablation, since the stimulation produced does not appear to cause reabsorption of eggs, delay in gonadal development or excessive mortality, as occurs if conducted during the late premolt or early postmolt stages (Bliss, 1966; Adiyodi and Adiyodi, 1970; Aquacop, 1977, 1979; Chamberlain *et al.*, 1985).

The most common practice in broodstock management at commercial-production laboratories that use ablation as an induction mechanism, is to conduct it under the criterion that the organism has not recently molted. This approximation, although effective given the constant replacement of broodstock in the tanks, may be reducing the maximum production capacity of the laboratory as well as increasing the costs of replacing the broodstock, due to a less efficient handling than that possible.

Induction experiments were conducted on blue shrimp (*P. stylirostris*) at the Instituto de Investigaciones Oceanológicas (Universidad Autónoma de Baja California, Mexico) from 1987 to 1990, using the criterion to not perform ablation during the late premolt and early postmolt stages. Results indicate that from March to August, which is the period of greatest reproductive activity in the shrimp population of the upper Gulf of California (Medina *et al.*, 1992), the values obtained for average number of spawns per female and for response time from ablation to spawning fall within the average ranges for this species (Ottogalli *et al.*, 1988). However, in the September-January period, under similar laboratory conditions for induction and taking the same precaution of not ablating during early postmolt or late premolt stages,

(Ottogalli *et al.*, 1988). En contraste a lo anterior, durante los periodos de septiembre a enero, con iguales condiciones para inducción en el laboratorio y aplicando ablación con el mismo cuidado de no operar en los estadios de posmuda temprana y premuda tardía, se registraron menores rendimientos de manera constante, de $31\% \pm 12$, en el promedio de desoves por hembra por mes que los registrados en los periodos de marzo a agosto. De manera similar, el tiempo promedio de respuesta (9 ± 5 días) de ablación al primer desove, registrado en las hembras de marzo a agosto, presentó cambio de septiembre a enero, obteniéndose como promedio 23 ± 7 días.

Esta disminución en la respuesta de los organismos originó la evaluación de los procesos de inducción utilizados en nuestras instalaciones. Se identificaron dos posibles causas: el menor nivel de actividad reproductora registrada por la población del alto golfo de California de donde se obtenían los reproductores en este periodo (Medina *et al.*, 1992); o bien, a consecuencia de una incorrecta selección del tiempo de aplicación de la ablación en los organismos. Para evaluar la segunda condición, se decidió ablacionar estrictamente dentro de las 48 h de duración del estadio de intermuda determinado para *P. stylirostris* por Robertson *et al.* (1987) y, debido a que las experiencias previas reportadas en la literatura no definen la eficiencia a través de la duración del estadio, se escogieron arbitrariamente dos distintos tiempos a partir del inicio del estadio de intermuda para efectuarla.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el laboratorio de acuicultura del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, el agua de mar proviene directamente de la bahía de Todos Santos. El agua es filtrada con arenas de sílice y carbón activado, y calentada con un intercambiador de calor. En el laboratorio, el material particulado se elimina con filtros de 30, 5 y $1 \mu\text{m}$ y se esteriliza con lámparas ultravioleta.

Para el trabajo se utilizaron dos estanques de fibra de vidrio, de 3.60 m de diámetro y 0.90 m de altura, con paredes interiores de color

lower yields of $31\% \pm 12$ were constantly recorded in the average spawns per female per month than those recorded from March to August. Similarly, the average response time (9 ± 5 days) from ablation to the first spawning recorded in the females from March to August changed to an average of 23 ± 7 days in September to January.

This decrease in response by the organisms led to an evaluation of the induction processes used at our installations. Two possible causes were identified: the lowest level of reproductive activity reported for the population of the upper Gulf of California from where the broodstock was obtained in this period (Medina *et al.*, 1992); or the time selected to ablate the organisms was incorrect. In order to evaluate the second possible cause, it was decided to ablate only during the 48 h period of the intermolt stage, as determined for *P. stylirostris* by Robertson *et al.* (1987). Furthermore, since previous experiments reported in the literature do not define efficiency during this stage, two different times were arbitrarily chosen to conduct ablation, once the intermolt stage had begun.

MATERIALS AND METHODS

Seawater is pumped to the aquaculture laboratory of the *Instituto de Investigaciones Oceanológicas* directly from Bahía de Todos Santos. Silica sand and activated carbon are used to filter the water, and a heat exchanger is used to heat it. In the laboratory, particulate matter is eliminated with 30, 5 and $1 \mu\text{m}$ filters and sterilized with ultraviolet lamps.

Two fiberglass tanks were used, measuring 3.60 m in diameter and 0.90 m in height, with black interior walls. A tube, 5 cm in diameter, was installed in each tank to maintain the water level at a depth of 0.65 m. Both tanks were covered with black plastic. Two blue-colored fluorescent lights (Sylvania Lighting, 40 W, 1.2 m long) were installed between the cover and water surface 1.5 m above the water, which were covered with a plastic screen in order to achieve a surface irradiance of $0.6 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Timers were used to maintain a photoperiod of 13 h light and 11 h dark.

negro. Ambos fueron provistos con un tubo central de 5 cm de diámetro para controlar el nivel del agua en el estanque a 0.65 m de profundidad. Los estanques se cubrieron con plástico negro y, entre la cobertura y la superficie del agua, se instalaron dos focos fluorescentes de color azul (Sylvania Lighting, 40 W, 1.2 m de longitud) a 1.5 m por encima de la superficie del agua, que se cubrieron con red plástica para lograr una irradiancia superficial de $0.6 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se mantuvo un fotoperiodo de 13 h luz y 11 h oscuridad mediante relojes automáticos.

Los estanques recibieron agua, a 8.3 l min^{-1} , filtrada ($1 \mu\text{m}$), irradiada con lámparas ultravioleta, con salinidad de 34 ppm y temperatura de $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$. La renovación diaria en cada estanque fue de aproximadamente 300%. Se introdujo aireación constante y no se utilizó sustrato en el fondo. Se midieron la temperatura, el oxígeno disuelto y la salinidad diariamente, el pH semanalmente y el amonio total cada tercer día.

Los camarones para el experimento fueron capturados en el golfo de California, en la región del delta del río Colorado, el 29 de agosto de 1990. Del total de camarones capturados, se seleccionaron 90 hembras con peso promedio de $38 \pm 1.55 \text{ g}$ y 90 machos de $25 \pm 0.55 \text{ g}$; se introdujeron a los dos estanques a una densidad de nueve camarones por metro cuadrado y en una proporción de 1:1 (hembras:machos).

Cada organismo se marcó inicialmente con dos etiquetas de plástico codificadas: una en forma de anillo, colocada en un pedúnculo ocular para utilizarse como marca de identificación permanente, y otra adherida con goma de cianocrilato al cefalotórax, para utilizarse en el seguimiento individual de exuvia. Esta última se repuso en cada organismo 48 h después de haber registrado la muda. Con las hembras marcadas aleatoriamente, se formaron tres grupos (A, B, C) de 30 organismos, los que se redistribuyeron en los estanques, colocando un total de 15 hembras de cada grupo (A, B, C) por estanque.

La ablación unilateral de las hembras se inició después de que los organismos habían sido marcados y habían completado dos ciclos de

The tanks received filtered water ($1 \mu\text{m}$) at a rate of 8.3 l min^{-1} , which was irradiated with ultraviolet lamps, had a salinity of 34 ppm and temperature of $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Daily turnover in each tank was approximately 300%. Constant aeration was provided and no substrate was used on the bottom. Temperature, dissolved oxygen and salinity were measured daily, pH weekly and total ammonia every other day.

The shrimp used in the experiment were caught in the Gulf of California, in the region of the Colorado River Delta, on 29 August 1990. Ninety females with an average weight of $38 \pm 1.55 \text{ g}$ and 90 males weighing $25 \pm 0.55 \text{ g}$ were selected from the total catch. They were placed in the two tanks at a density of nine shrimp per square meter, at a female:male ratio of 1:1.

Each organism was marked at the onset with two, coded plastic tags: one ring-shaped that was placed around the ocular peduncle and used for permanent identification, and another that was glued to the cephalothorax with cyanoacrylate in order to follow individual exuviae. This was replaced on each organism 48 h after molt was recorded. Three groups were formed (A, B, C) from the randomly marked females, consisting of 30 organisms each. Fifteen females from each group (A, B, C) were distributed in each tank.

The unilateral ablation of the females took place after the organisms had been marked and had completed two molt cycles. All of the females from groups A and B were kept in tanks at 21°C for 12 h after ablation to minimize fluid loss (Caillouet, 1972). Individual molt cycles were followed daily by collecting and identifying the exuviae (marked cephalothorax) present in the tanks. In order to establish the onset of the intermolt stage of each organism, $72 \pm 6 \text{ h}$ after ecdysis, the organism was identified from the permanent tag on the peduncle and transferred to a smaller tank (150 l). Observations were made approximately every 4 h, under a stereo microscope, of the changes in the structure of the setal-setae base interface of the uropods, following the procedure of Robertson *et al.* (1987). Not until the organisms presented the onset of the intermolt stage was the hour to

muda. Después de la ablación, se mantuvieron todas las hembras de A y B en estanques por 12 h, a 21°C, para evitar al máximo la pérdida de fluidos (Caillouet, 1972). El ciclo de muda individual se siguió mediante la colecta e identificación diaria de las exuvias (cefalotórax marcado) presentes en los estanques. Para ubicar el inicio del estadio de intermuda posterior al momento de ecdisis en cada organismo, después de 72 ± 6 h se identificó al organismo en el estanque correspondiente mediante la marca permanente en el pedúnculo y se trasladó a un estanque de menor tamaño (150 l). Se mantuvo una revisión mediante microscopio estéreo, aproximadamente cada 4 h, de los cambios en la estructura de la interfase de la base setal-setas de los urópodos, siguiendo el procedimiento utilizado por Robertson *et al.* (1987). Hasta que el organismo presentó el inicio del estadio de intermuda, se estableció la hora para efectuar ablación. Se extirpó la masa ocular de un pedúnculo en cada hembra de los grupos A y B, siguiendo el método de Primavera (1978), mientras que se dejaron intactas las del grupo C. Los camarones del grupo A fueron ablacionados a las 24 ± 2 h de iniciado el estadio intermuda y los de B a las 38 ± 2 h. El procedimiento se repitió hasta completar el total de organismos requeridos ($n = 30$) en cada grupo. En todos los grupos, se continuó con el seguimiento individual del ciclo de muda, mediante la colecta y registro diario de las exuvias con marca obtenidas en los estanques. La información se utilizó para determinar la duración del ciclo de muda en cada organismo, así como el tiempo de respuesta del momento de ablación a los estadios 3 y 4 de madurez y al primer desove.

Se utilizó una combinación de tres tipos de alimento para los camarones: calamar (*Loligo* sp.), cabeza de camarón azul (cefalotórax con vísceras), y particulado de fabricación comercial con 40% de proteína (marca Argent). La ración diaria (10% de la biomasa) se preparó con 42.5% de calamar, 42.5% de cabezas y 15.0% de particulado. La mezcla se dividió en seis raciones y se suministró cada 4 h.

Durante los 154 días del estudio, cada mañana se removieron de cada estanque residuos de comida y exoesqueletos, y se evaluó el

ablate established. The ocular mass of the peduncle was extracted from each female in groups A and B, following the method of Primavera (1978). Group C was left intact. The shrimp from group A were ablated at 24 ± 2 h from the onset of the intermolt stage and those of group B at 38 ± 2 h. The procedure was repeated until achieving the total number of organisms required ($n = 30$) in each group. The individual molt cycles of all three groups was monitored daily by collecting and recording the marked exuviae from the tanks. This information was used to determine the duration of the molt cycle in each organism, as well as the response time from the moment of ablation to maturity stages 3 and 4 and the first spawn.

A combination of three foods was used to feed the shrimp: squid (*Loligo* sp.), blue shrimp heads (cephalothorax with viscera) and commercial feed with 40% protein (Argent brand). The daily ration (10% of the biomass) was prepared with 42.5% squid, 42.5% heads and 15.0% feed. The mixture was divided into six rations and given every 4 h.

During the 154 days of the study, left-over food and exoskeletons were removed from the tanks every morning and the stage of ovarian development of the females was evaluated. The criteria of King (1984) and Lindner and Anderson (1956) were used, adapted for use with captive penaeid females (Aquacop, 1975; Chamberlain and Lawrence, 1981a; Primavera, 1985). A halogen flashlight was used nightly (8:00 p.m. to 2:00 a.m.) to locate mature females (stage 4) with correctly positioned spermatophore, which were individually placed into spawning tanks of 150 l. The stage 4 females that did not present spermatophore during the night were examined the following morning to verify and record their spawning in the tanks. The spawning water was filtered (1 μm), sterilized and treated with EDTA at 1 g m^{-3} . After spawning, the females were returned to the maturation tanks. The eggs from each spawn were suspended in 10 l of water containing EDTA. Five 10 ml aliquots were taken with a Hensen-Stemple pipette and counted under a microscope. Each egg lot was then placed in separate 50 l tanks and incubated and cultured

estadio de desarrollo de los ovarios de las hembras. Los criterios usados fueron los descritos por King (1948) y Lindner y Anderson (1956), adaptados para el uso de hembras cautivas de penaeidos (Aquacop, 1975; Chamberlain y Lawrence, 1981a; Primavera, 1985). Diariamente, por la noche (8:00 p.m. a 2:00 a.m.), con ayuda de una lámpara portátil de halógeno, se localizaron las hembras maduras (estadio 4) con espermatóforo correctamente colocado, y se aislaron individualmente en estanques de desove de 150 l. Aquellas hembras en estadio 4 que no presentaron espermatóforo durante la noche, se revisaron a la mañana siguiente para verificar su desove en los estanques y efectuar el registro. El agua para desove se filtró (1 μm), esterilizó y se le agregó EDTA a 1 g m^{-3} . Después del desove, se regresaron las hembras a los estanques de maduración. Los huevos de cada desove se suspendieron en 10 l de agua con EDTA, se tomaron cinco alícuotas de 10 ml con una pipeta Hensen-Stemple, y se contaron bajo microscopio. Posteriormente, se colocó cada lote de huevos por separado en estanques de 50 l y, siguiendo el procedimiento utilizado por Aquacop (1983), se incubaron y cultivaron durante 72 h. A las 24 h de transcurrido el desove se cuantificaron nauplios y, a las 72 h, protozoos.

Con el propósito de corroborar la viabilidad de los camarones machos, siguiendo el criterio de Chamberlain *et al.* (1983), al finalizar el experimento se disectaron y examinaron las ámpulas ventrales terminales y petasmas de todos los machos de ambos estanques, buscando la presencia de melanizaciones que pudieran haber interferido en el proceso de generación o transferencia de espermatóforos.

Antes del análisis de los datos, el número de hembras con desarrollo ovárico (estadios 3 y 4) y el número de hembras apareadas por día fueron convertidos, respectivamente, en el porcentaje de hembras con desarrollo ovárico por día (tasa de madurez) y el porcentaje de hembras apareadas por día (tasa de apareamiento). Se analizaron los datos estadísticamente utilizando un análisis de varianza (MGL) y una prueba de rango múltiple de Duncan, a un nivel de $\alpha < 0.05$. Los porcentajes de fertilización,

for 72 h, following the Aquacop (1983) procedure. Nauplii were counted 24 h after spawning and protozoa after 72 h.

The criterion of Chamberlain *et al.* (1983) was used to corroborate viability of the male shrimps. After the experiment, the terminal ampules and petasmas of all of the males from both tanks were dissected and examined for the presence of melanizations that could have interfered with the generation process or transfer of spermatophores.

Prior to analyzing the data, the number of females with ovarian development (stages 3 and 4) and the number of mated females per day were converted, respectively, to percent females with ovarian development per day (maturation rate) and percent mated females per day (mating rate). The data were statistically analyzed using an analysis of variance (GLM) and Duncan's multiple range test at a level of $\alpha < 0.05$. The percentages of fertilization, hatch and metamorphosis were transformed (arcsine of the square root) for statistical analysis.

RESULTS

Average temperature of $28.4 \pm 0.5^\circ\text{C}$, salinity of 34.1 ± 0.5 ppm, pH of 7.9 ± 0.2 and total ammonia of 0.07 ± 0.01 mg/l were recorded during the experiment.

Mating and maturation rates were similar between both experimental groups and significantly higher than those of the control (table 1). Stages 3 and 4 were recorded for the first time in the experimental females 5 to 22 days after ablation, with a mean (\pm SD) of 9 ± 2 days for group A, which is similar to the 13 ± 2 days for group B ($p < 0.05$). Group C ranged from 23 to 42 days, with a different mean of 32 ± 11 days ($p < 0.05$). Approximately 73.3% of group A females matured and mated one time; B registered 56.6% and C, 36.6%. Response in the second and third spawns dropped significantly in all the females (table 2).

The average number of spawns per female per month, average number of eggs per spawn per female and average percentages of fertilization, hatch and metamorphosis were similar between the experimental groups (table 3). The

Tabla 1. Tasas de maduración y apareamiento por grupo. Los valores representan la media (\pm DE) de 81, 69 y 31 observaciones para los grupos A, B y C, respectivamente. Los porcentajes con superíndices comunes en el renglón no fueron significativamente diferentes (prueba de rango múltiple de Duncan, $p < 0.05$).

Table 1. Maturation and mating rates per group. Values represent the mean (\pm SD) of 81, 69 and 31 observations for groups A, B and C, respectively. Percentages that have superscripts in common within a row were not significantly different (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$).

	24 horas (A)	38 horas (B)	Intactos (C)
Tasa de apareamiento			
% de apareamientos por día	6.7 \pm 10.8 ^a	5.1 \pm 9.1 ^a	1.3 \pm 2.2 ^b
Tasa de maduración			
% de estadios 4 de madurez/día	18.2 \pm 12.1 ^a	15.1 \pm 8.9 ^a	3.3 \pm 4.3 ^b
% de estadios 3 de madurez/día	23.3 \pm 10.3 ^a	20.7 \pm 11.1 ^a	5.9 \pm 6.8 ^b

Tabla 2. Número de hembras que produjeron desoves consecutivos y porcentaje final de respuesta a partir de la cantidad inicial de hembras ablacionadas e intactas.

Table 2. Number of females that produced consecutive spawns and final percentage of response from the initial number of ablated and intact females.

Grupo	Cantidad inicial	Primer desove	Segundo desove	Tercer desove	Cantidad y porcentaje que respondieron a la inducción
A	30	22	16	11	22 (73.3%)
B	30	17	11	10	17 (56.6%)
C	30	11	3	1	11 (36.6%)

eclosión y metamorfosis fueron transformados (arcoseno de la raíz cuadrada) para su análisis estadístico.

RESULTADOS

Durante el experimento, se registraron una temperatura promedio de $28.4 \pm 0.5^\circ\text{C}$, salinidad de 34.1 ± 0.5 ppm, pH de 7.9 ± 0.2 y amonio total de 0.07 ± 0.01 mg/l.

Las tasas de apareamiento y maduración fueron similares entre los grupos experimentales y significativamente más altos que los del testigo (tabla 1). Las hembras experimentales registraron los estadios 3 y 4 por primera vez entre los 5 y 22 días de operadas, con una media (\pm DE) para A de 9 ± 2 días, similar a B de

number of eggs spawned ranged from 21,000 to 139,000 with a mean (\pm SD) of 104,000 \pm 60,000 ($n = 133$). Hatch fluctuated from 0 to 96%, with a mean of 70.1% ($n = 133$), and average metamorphosis of nauplii to protozoa was 89.4% ($n = 153$). Production rate of eggs with respect to survival time was different for group A ($p < 0.05$) (table 3). Maximum production of nauplii in the experiment (4.8 million) was obtained in group A; group B produced 3.6 million and C, 1.3 million.

All of the groups presented molt cycles that were similar in duration (table 4). The experimental groups registered similar values in the average number of days from ecdysis to stage 4 maturity and from ecdysis to the first spawn (table 4). In contrast, the average number of

Tabla 3. Valores promedio de desove por hembra y por grupo en el experimento. Los valores representan la media (\pm DE) de 66, 53 y 34 observaciones para los grupos A, B y C, respectivamente. Los valores con superíndices comunes en el renglón no fueron significativamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

Table 3. Average number of spawns per female and per group in the experiment. Values represent the mean (\pm SD) of 66, 53 and 34 observations for groups A, B and C, respectively. Values that have superscripts in common within a row were not significantly different ($\alpha = 0.05$).

	24 horas (A)	38 horas (B)	Intactos (C)
Cantidad promedio de desove por hembra por mes	3.06 \pm 1.46 ^a	2.03 \pm 1.06 ^a	0.80 \pm 0.03 ^b
Cantidad promedio de huevos por desove	105,657 \pm 65,618 ^a	101,147 \pm 54,860 ^a	108,143 \pm 61,521 ^a
Tasa de producción de huevos promedio por hembra*	1,270.47 \pm 116.12 ^a	489.76 \pm 92.12 ^b	512.63 \pm 61.16 ^b
Cantidad promedio de nauplios por hembra	69,476 \pm 15,136 ^a	66,431 \pm 13,512 ^a	71,236 \pm 11,311 ^a
% promedio de fertilización por desove	66.19 \pm 27.70 ^a	68.12 \pm 24.19 ^a	59.30 \pm 36.14 ^a
% promedio de eclosión por desove	71.16 \pm 23.18 ^a	69.16 \pm 21.87 ^a	70.10 \pm 27.93 ^a
% promedio de metamorfosis a protozoa	91.14 \pm 16.16 ^a	90.12 \pm 12.11 ^a	88.10 \pm 14.61 ^a

* Tasa de producción de huevos = No. total de huevos/días que sobrevivieron.

Tabla 4. Datos de duración del ciclo de muda en días. Los valores representan la media (\pm DE) de 56, 48 y 32 observaciones para los grupos A, B y C, respectivamente. Los valores con superíndices comunes en el renglón no fueron significativamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

Table 4. Data on length of molt cycle in days. Values represent the mean (\pm SD) of 56, 48 and 32 observations for groups A, B and C, respectively. Values that have superscripts in common within a row were not significantly different ($\alpha = 0.05$).

	24 horas (A)	38 horas (B)	Intactos (C)
Duración promedio del ciclo de muda (días)	13.3 \pm 1.9 ^a	14.6 \pm 1.7 ^a	17.3 \pm 1.1 ^a
No. promedio de días del momento de ecdysis al estadio 4 de madurez	6.1 \pm 3.2 ^a	8.3 \pm 4.2 ^a	14.7 \pm 4.3 ^b
No. promedio de días del momento de ecdysis al primer desove	9.2 \pm 1.3 ^a	11.7 \pm 2.3 ^a	26.1 \pm 6.4 ^b

13 \pm 2 días ($p < 0.05$). El grupo C registró un intervalo de 23 a 42 días, con una media diferente de 32 \pm 11 días ($p < 0.05$). Aproximadamente 73.3% de las hembras experimentales de

days recorded for group C from the moment of ecdysis to stage 4 as well as from ecdysis to first spawn was greater ($p < 0.05$) than that recorded for the experimental groups.

Tabla 5. Pérdidas mensuales de hembras y supervivencia final de los grupos.**Table 5.** Monthly losses of females and final survival of the groups.

Grupo	Cantidad inicial	Pérdida mensual de hembras					Cantidad final	Supervivencia (%)
		Sep	Oct	Nov	Dic	Ene		
A	30	0	0	0	1	3	26	86
B	30	1	3	3	2	2	19	63
C	30	0	0	0	1	1	28	93

A maduraron y se aparearon una vez; B registró 56.6% y C, 36.6%. La respuesta en el segundo y tercer desove descendió significativamente en todas las hembras (tabla 2).

El número promedio de desoves por hembra por mes, la cantidad promedio de huevos por desove por hembra, y los porcentajes promedio de fertilización, eclosión y metamorfosis fueron similares entre los grupos experimentales (tabla 3). La cantidad de huevos desovados varió de 21,000 a 139,000 huevos, con una media (\pm DE) de $104,000 \pm 60,000$ ($n = 133$). La eclosión fluctuó de 0 a 96% con una media de 70.1% ($n = 133$) y el promedio de metamorfosis de nauplio a protozoa fue de 89.4% ($n = 153$). La tasa de producción de huevos con respecto al tiempo de supervivencia fue diferente en A ($p < 0.05$) (tabla 3). La máxima producción de nauplios en el experimento (4.8 millones) se obtuvo en el grupo A; B produjo 3.6 millones y C, 1.3 millones.

Todos los grupos presentaron una duración similar en el ciclo de muda (tabla 4). Los grupos experimentales registraron valores similares en el número promedio de días, desde ecdisis a estadio 4 de madurez y desde ecdisis hasta el registro del primer desove (tabla 4). En contraste, el número promedio de días registrado por el grupo C, desde el momento de ecdisis hasta presentar el estadio 4, así como desde ecdisis hasta el primer desove, fue mayor ($p < 0.05$) que el registrado por los grupos experimentales.

La mortalidad de las hembras comenzó 21 días después de efectuada la ablación en el grupo B, 110 días en el grupo A y 107 días en el C. Se concluyó con una supervivencia de 86, 63 y 93% para A, B y C, respectivamente

Female mortality began 21 days after ablation in group B, 110 days in A and 107 days in C. A survival rate of 86, 63 and 93% was calculated for groups A, B and C, respectively (table 5). Survival for the males was 92%.

The dissection and evaluation of the terminal ampules and petasmas in the males after the study had ended showed six deformations due to melanization.

DISCUSSION

Aquacop (1977) reported that ablation generates different results depending on the time it is applied during the molt cycle, emphasizing that its application during the postmolt stage causes death among the organisms, molt in the premolt stage and maturation during the intermolt stage. In the present study, the maturation and mating rates recorded for both experimental groups show that the application of ablation at the times selected within the intermolt stage produced yields greater than those recorded in previous September-January periods and within the range of values previously established for the species (Brown *et al.*, 1980; Chamberlain *et al.*, 1985; Ottogalli *et al.*, 1988; Ottogalli, 1989; Bray *et al.*, 1990; Robertson *et al.*, 1991).

However, it is notable that, having conducted ablation during the intermolt stage with an average difference of 14 h between both experimental groups (A, B), there was a reduction (17%) in the percentage of females (B) that responded to the stimulus to produce a second spawn, as well as the lowest survival in all of the groups (63%). The results (table 2) indicate a response to a second spawn in group A great-

(tabla 5). La supervivencia de los machos fue de 92%.

La evaluación de los machos al finalizar el trabajo, mediante la disección y revisión de las ámpulas terminales ventrales y petasmas, mostró que seis presentaron deformación por melanización.

DISCUSIÓN

Aquacop (1977) reportó que el efecto de la ablación genera diferentes resultados dependiendo del momento en que se aplica ésta dentro del ciclo de muda y destacó que su aplicación en estadio de posmuda provoca muerte de los organismos, en premuda se conduce a muda y durante intermuda se induce a maduración. En el presente trabajo, las tasas de maduración y apareamiento registradas por ambos grupos experimentales muestran que la aplicación de ablación en los tiempos seleccionados, dentro del estadio de intermuda, produjeron rendimientos superiores a los registrados en periodos anteriores de septiembre a enero y dentro del intervalo de valores establecidos para la especie, previamente reportados (Brown *et al.*, 1980; Chamberlain *et al.*, 1985; Ottogalli *et al.*, 1988; Ottogalli, 1989; Bray *et al.*, 1990; Robertson *et al.*, 1991).

Sin embargo, es notable que, habiendo ablacionado dentro de la duración del estadio de intermuda con una diferencia promedio de 14 h entre ambos grupos experimentales (A, B), se haya registrado una reducción (17%) en el porcentaje de hembras (B) que respondieron al estímulo para producir un segundo desove, así como la menor supervivencia de todos los grupos (63%). En los resultados (tabla 2), se aprecia una respuesta de A en el segundo desove superior al 50% del total de reproductores manejados, en comparación con 39% del grupo B. Con respecto al menor rendimiento de los organismos, Chamberlain *et al.* (1985) establecieron que una condición de desgaste se presenta en los organismos a consecuencia del estímulo generado por la ablación, que induce a las hembras a reiniciar el proceso de maduración ovárica inmediatamente después de desovar; esto genera desoves más frecuentes bajo condiciones

er than 50% of the total broodstock handled, compared to 30% in group B. With regard to the reduced yield of organisms, Chamberlain *et al.* (1985) established that organisms would deteriorate as a result of the stimulus generated by ablation, which induces females to reinitiate the ovarian maturation process immediately after spawning; this generates more frequent spawns under unfavorable conditions in the organisms, which deteriorate the nutritional reserves that lead to a decrease in condition, reproductive yield and even death. This deteriorated condition was particularly evident in the organisms from group B after ablation, since not only was a reduction recorded in the percent response to a second spawn, but mortality of the females occurred much sooner (21 days) than in group A (101 days). Thus, it can be concluded from the tendency of A, with a higher survival rate (23%) than B and with more females (16.6%) that responded to induction and produced spawns which generated an accumulated total of eggs 25% higher than that of B, that the application of ablation during the time selected for A (24 h after the onset of the intermolt stage) generated a reproductive stimulus of greater efficiency and duration, which induced the organisms to produce spawns during a longer time and with less immediate deterioration.

The yields generated by the intact and ablated organisms were different with respect to the average number of spawns per female per month, the number of days from ablation to spawn and the number of females that spawned. Therefore, given the reduced reproductive activity of shrimp during the September-January period in the upper Gulf of California, in order to obtain a quicker response from the moment of ablation to spawn in the females and consequently a greater and more frequent number of average spawns per female per month, standard laboratory conditions are required (Chamberlain *et al.*, 1985; Holtschmit and Romero, 1991) and ablation should be conducted during the times selected. Thus, in the particular case of shrimp from the upper Gulf of California that are used as broodstock in laboratories during the September-January period, the stimulation provoked by precise application of

no óptimas en el organismo, deteriorándose así las reservas de nutrientes que provocan el decremento de la condición y rendimiento reproductivo, llegando incluso a la muerte. Esta condición de desgaste, en particular, parece haberse manifestado de manera intensa en los organismos del grupo B después de aplicada la ablación, ya que no solo se registró una reducción en el porcentaje de respuesta en el segundo desove, sino que la mortalidad de hembras registrada mediante el seguimiento de los valores de pérdida de hembras comenzó a manifestarse de inmediato (21 días), en comparación con A que la registró posteriormente (101 días). Así, la tendencia de A, con una supervivencia (23%) más alta que B y con más hembras (16.6%) que respondieron a la inducción y produjeron desoves que generaron un total acumulado de huevos de 25% por arriba de lo producido por el grupo B, permite considerar que la aplicación de ablación en el tiempo seleccionado para A (24 h de iniciado el estadio de intermuda) generó un estímulo reproductor de mayor eficiencia y duración, lo cual indujo a los organismos a producir desoves durante mayor tiempo con menor desgaste inmediato.

Los resultados presentan diferencias en el rendimiento generado por los organismos enteros con respecto a los ablacionados, en el número promedio de desoves por hembra por mes, el número de días desde ablación a desove y el número de hembras que produjeron desove. Esto sugiere que, dada la condición de menor actividad reproductora de los camarones en el periodo de septiembre a enero en la zona del alto golfo de California, para lograr obtener una respuesta en un menor número de días del momento de ablación al desove de las hembras y, en consecuencia, un mayor y más frecuente número de desoves promedio por hembra por mes, se requiere, además de las condiciones de mantenimiento estándar en el laboratorio (Chamberlain *et al.*, 1985; Holtschmit y Romero, 1991), la utilización de ablación dentro de los tiempos seleccionados. Así, particularmente para los camarones del alto golfo de California que se utilizan como reproductores en condiciones de laboratorio en el periodo de septiembre a enero, el estímulo provocado por

ablation in the intermolt phase would produce a greater accumulated amount of larvae within the useful life span of the organism and increase the maximum production capacity of the laboratory. The above is relevant to laboratories that operate in the northern coastal region of the Pacific and the upper Gulf of California, where changes in the natural environment during fall and winter generate a decrease in reproductive activity (Medina *et al.*, 1992) of the broodstock.

ACKNOWLEDGEMENTS

We appreciate the financial support received from the *Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica* of the *Secretaría de Educación Pública* (grant C87010423).

English translation by Jennifer Davis.

la ablación aplicada de manera precisa en la fase de intermuda permitirá producir una mayor cantidad acumulada de larvas dentro del tiempo de vida útil del organismo, incrementándose la eficiencia de la capacidad instalada de laboratorio. Lo anterior puede tener relevancia para los laboratorios que operan en la región de la costa norte del Pacífico y alto golfo de California, donde la presencia del cambio de condiciones en el medio natural durante otoño e invierno generan una disminución en la actividad reproductora (Medina *et al.*, 1992) de las poblaciones de reproductores.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro reconocimiento a la *Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica* de la *Secretaría de Educación Pública* por su apoyo financiero (convenio C87010423).

REFERENCIAS

Adiyodi, K.G. and Adiyodi, R.G. (1970). Endocrine control of reproduction in decapod Crustacea. *Biol. Rev.*, 45: 121-165.

- Aquacop (1975). Maturation and spawning in captivity of penaeid shrimp: *Penaeus merguensis* de Man, *Penaeus japonicus* Bate, *Penaeus aztecus* Ives, *Metapenaeus ensis* de Hann and *Penaeus semisulcatus* de Hann. **Proc. World Mariculture Soc.**, 6: 123-132.
- Aquacop (1977). Observations on the maturation and reproduction of penaeid shrimp in captivity in a tropical medium. **Aquaculture Workshop, ICES**, May 10-13, Brest, France, 34 pp.
- Aquacop (1979). Penaeid reared broodstock: closing the cycle of *P. monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. **Proc. World Mariculture Soc.**, 10: 445-452.
- Aquacop (1983). Penaeid larval rearing in the Centre Oceanologique du Pacific. In: **CRC Handbook of Mariculture**. CRC Press Inc., pp. 123-127.
- Bliss, D.E. (1966). Relation between reproduction and growth in decapod crustaceans. **Amer. Zool.**, 6: 231-233.
- Bray, A.W., Lawrence, A.L. and Lester, L.J. (1990). Reproduction of eyestalk ablated *Penaeus stylirostris* fed various levels of total dietary lipid. **J. World Aquaculture Soc.**, 21(1): 41-52.
- Brown, A., Jr., McVey, J.P., Scott, B.M., Williams, T.D., Middleditch, B.S. and Lawrence, A.L. (1980). The maturation and spawning of *Penaeus stylirostris* under laboratory conditions. **Proc. World Mariculture Soc.**, 11: 488-499.
- Caillouet, C.W. (1972). Ovarian maturation induced by eyestalk ablation in pink shrimp *Penaeus duodarum* Burkenroad. **Proc. World Mariculture Soc.**, 3: 205-225.
- Chamberlain, G.W. and Lawrence, A.L. (1981a). Maturation, reproduction and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets. **J. World Aquaculture Soc.**, 12(1): 209-224.
- Chamberlain, G.W. and Lawrence, A.L. (1981b). Effect of light intensity and male and female eyestalk ablation on reproduction of *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei*. **J. World Aquaculture Soc.**, 12(2): 357-372.
- Chamberlain, G.W., Haby, G.M. and Rusell, J.M. (1985). Texas Shrimp Farming Manual: An update on current technology. **Texas A&M University Research and Extension Center**, 359 pp.
- Chamberlain, G.W., Johnson, S.K. and Lewis, D.H. (1983). Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult Penaeid shrimp. **Proc. World Mariculture Soc.**, 4: 135-136.
- Holtschmit, K.L. and Romero, J.M. (1991). Maturation and spawning of blue shrimp *Penaeus stylirostris* Stimpson, under hypersaline conditions. **J. World Aquaculture Soc.**, 22(1): 45-50.
- King, L.E. (1948). A study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* (Linnaeus). **Biol. Bull.**, 94: 244-262.
- Lindner, M.J. and Anderson W.W. (1956). Growth, migration, spawning, and size distribution of shrimp *Penaeus setiferus*. **Fish. Bull.**, U.S. Fish and Wildlife Service, 56: 555-645.
- Medina, H.O., Chi, B.G., García, P.F., Rosas, C.A. y Pedrín, O.O. (1992). Análisis estereológico de la actividad gametogénica de camarón azul (*Penaeus stylirostris*, Stimpson) durante un ciclo anual en el Alto Golfo de California. **IV Congreso de la Asociación de Investigadores del Mar de Cortez**, Ensenada, BC, México.
- Ottogalli, L. (1989). Increased production of nauplii (*Penaeus stylirostris* Stimpson, Mexican strain) from captive broodstock, using ablated and regenerated males for artificial inseminations. Abstract, **XX Meeting of the World Aquaculture Society**, 1989, Los Angeles, California, USA.
- Ottogalli, L., Galinie, C. and Goxe, D. (1988). Reproduction in captivity of *Penaeus stylirostris* over ten generations in New Caledonia. **J. Aquacult. Trop.**, 3: 111-125.
- Primavera, J.H. (1978). Induced maturation and spawning in five-month-old *P. monodon* Fabricius by eyestalk ablation. **Aquaculture**, 13: 355-359.
- Primavera, J.H. (1985). A review of maturation and reproduction in closed thelycum

penaeids. **Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps**, Iloilo City, Philippines.

Robertson, L., William, B., Trujillo, J. and Lawrence, A. (1987). Practical molting staging of *Penaeus setiferus* and *P. stylirostris*. **J. World Mariculture Soc.**, 18(3): 180-185.

Robertson, L., Bray, W. and Lawrence, A. (1991). Reproductive response of *Penaeus stylirostris* to temperature manipulation. **J. World Aquaculture Soc.**, 22(2): 109-117.