

# EFEECTO DE LA ABLACION PEDUNCULAR EN LA MADURACION GONADAL DE *Pleoticus muelleri* BATE (DECAPODA, SOLENOCERIDAE). I. INTERACCION ENTRE MUDA Y DESARROLLO OVARICO

Ana Cristina Díaz<sup>1</sup>; Ana Maria Petriella<sup>2</sup> & Jorge Lino Fenucci<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CIC (Provincia de Buenos Aires); Departamento de Ciencias Marinas (UNMP)

<sup>2</sup>CONICET Departamento de Ciencias Marinas, Universidad Nacional Mar del Plata (UNMP)  
(Funes 3350, 7600 Mar del Plata, Argentina)

- 
- **Abstract:** The objective of this study was to compare the ovary development of ablated and non-ablated females of *Pleoticus muelleri* and to evaluate the influence of eyestalk ablation on molting frequency. The females (7-22 g weight) were maintained under culture conditions with 12:12 fotoperiod, 15-17°C temperature and 31‰ salinity. They were fed on fresh squid, prawn and clam. The ovaries and digestive glands were weighed and fixed for histological examination at 4, 9, 15, 20, 40, and 50 days. Gonad index varied between 0.925 and 3.747 (control) and 1.457 and 5.035 (ablated). The digestive gland index ranged from 2.059 to 4.520 (control) and 3.471 to 4.471 (ablated). The intermolt duration was  $21.7 \pm 3.9$  and  $23.2 \pm 2.4$  for the control and ablated respectively. At the end of the experiment the ovaries of ablated females were mature and those of the control were in primary vitellogenesis. It was concluded that the eyestalk ablation in *P. muelleri* resulted in precocious maturation of the ovary without changes in the molting frequency. The ovary index was size-independent. Ablation had no effect on the relative weight of digestive gland.
  - **Resumo:** Este trabalho teve como objetivo comparar o grau de desenvolvimento ovariano de fêmeas ablacionadas e intactas de *Pleoticus muelleri* e avaliar a influência da ablação sobre a frequência da muda. As fêmeas, de 7 a 22 g de peso, foram mantidas em condições de cultivo com fotoperíodo de 12:12, temperatura entre 15 e 17°C, salinidade de 31 e alimentadas com lula, camarão e bivalvos frescos. Foram pesados e fixados os ovários e hepatopâncreas, realizando um controle histológico nos 4; 9; 15; 20; 40 e 50 dias. O índice gonadossomático variou entre 0,925 e 3,747 (controle) e entre 1,457 e 5,035 (ablacionados). Determinou-se valores de índice hepatopancreático entre 2,059 a 4,520 (controle) e de 3,471 a 4,471 (ablacionados). A duração média da intermuda foi  $21,7 \pm 3,9$  e  $23,2 \pm 2,4$  dias para o grupo controle e ablacionados, respectivamente. Ao finalizar o experimento a análise histológica demonstrou que os ovários das fêmeas ablacionadas encontravam-se totalmente amadurecidos e os do controle em vitelogênese primária. Concluiu-se que a ablação peduncular acelera a maturação ovariana de *P. muelleri*, sem modificar a frequência da muda. O índice ovariano é independente do tamanho no intervalo de peso estudado e a ablação não apresentou efeito sobre o peso relativo dos hepatopâncreas.
  - **Descriptors:** Ovarian maturation, Molt, Culture, Crustacea, Penaeoidea.
  - **Descritores:** Maturação ovariana, Muda, Cultivo, Crustacea, Penaeoidea.
-

## Introducción

En los crustáceos la interacción entre muda y reproducción determina complejos mecanismos de control endócrino de acuerdo al patrón reproductivo observado en los distintos taxa de crustáceos (Quackenbush, 1991). En los peneidos el crecimiento somático y el gonadal se producen simultáneamente, de allí la importancia de un balance óptimo entre estos dos procesos (Adiyodi, 1985). En las especies de tético abierto de la familia Penaeidae, la muda de la hembra es seguida por el desarrollo ovárico y posterior desove antes de la próxima muda; esta secuencia sugiere que la frecuencia de muda sería uno de los factores que controlan el desove (Browdy, 1992).

El conocimiento de los procesos fisiológicos que involucran el desarrollo ovárico, la cópula y el desove, como así también de los mecanismos de control endócrino, es de relevante importancia para controlar la reproducción de los crustáceos. Algunas variables ambientales tienen un efecto significativo en la reproducción de los camarones en cautiverio, actuando sinérgicamente o en forma individual, siendo las más importantes el fotoperíodo, la intensidad lumínica, ruidos, color y tamaño del tanque, calidad del agua, temperatura y salinidad (Browdy, *op. cit.*). La ablación peduncular unilateral, que provoca una disminución del nivel de hormona inhibidora del desarrollo gonadal circulante en hemolinfa, induce picos de maduración y desoves, optimizando la producción comercial de larvas. Ese incremento en el potencial reproductivo se corresponde con un gran aumento de las demandas bioenergéticas de las hembras desovantes, con requerimientos nutricionales adicionales. Uno de los métodos de estudio del desarrollo gonadal es el examen de los cambios en la relación entre el tamaño de la gónada y el peso del cuerpo (índice gonadosomático). Este índice ha sido usado para estudiar el ciclo reproductivo de *Metapenaeus affinis* (Pillay & Nair, 1971) y *Penaeus setiferus* (Lawrence *et al.*, 1979).

El langostino argentino *Pleoticus muelleri* se distribuye en zonas con temperaturas entre 6 y 22°C y salinidades entre 31,5 y 33,5, en el litoral atlántico desde los 20°S, Espírito Santo, Brasil, hasta los 50°S, Santa Cruz, Argentina (Boschi, 1986). Con relación a las condiciones que determinan la maduración gonadal de esta especie fuera del periodo reproductivo natural, se realizó un experimento para evaluar la influencia de la ablación peduncular unilateral.

## Materiales y métodos

Se efectuó un experimento de 50 días de duración con 30 hembras de *P. muelleri* obtenidas de la zona costera de Mar del Plata, Argentina, con valores iniciales de pesos entre 7 y 22 g y largo de cefalotórax entre 22 y 34 mm.

Los animales se mantuvieron a una densidad de 10 especímenes/m<sup>2</sup> en dos tanques circulares de fibra de vidrio, de color negro de 2500 l de capacidad. Los mismos estaban equipados con sistema de aireación. Diariamente se recambió el 50% del volumen de cada tanque con agua de mar filtrada con dos filtros en serie de arena y grava y bolsa filtrante con un tamaño de poro de 5µ. El fotoperíodo, de 12 h luz/12 h oscuridad (06:00 a 18:00 h), se mantuvo mediante un sistema de dos tubos fluorescentes de 40 watt suspendidos sobre los tanques y enmascarados para proveer de una intensidad lumínica de 3 luxes en la superficie del agua.

La dieta consistió en calamar (*Illex argentinus*), camarón (*Artemesia longinaris*) y almeja (*Mesodesma mactroides*) frescos, alimentando tres veces al día, comenzando con un 10% de la biomasa y ajustando la cantidad de acuerdo con el alimento consumido. Todos los días se registró la temperatura, pH, salinidad y amonio. Los valores de temperatura se mantuvieron entre 15 y 17°C; el pH en 6,5; la salinidad en 31 y el amonio no superó los 0,2 mg/l.

Al iniciar el experimento los langostinos se pesaron con precisión al 0,01g, se midió el largo de cefalotórax desde el margen postorbital hasta el margen posterior dorsal con un calibre, marcándolos y asignándole un número, a efectos de su posterior reconocimiento. Como marca se utilizó un círculo de celuloide numerado adherido al cefalotórax mediante una gota de metacrilato. Este tipo de marca es eficiente y no afecta la fisiología de los individuos. Cada tratamiento se probó por duplicado, ablacionando el pedúnculo ocular unilateralmente a la mitad de las hembras de cada tanque. La ablación se realizó cortando con tijeras oftalmológicas la base del pedúnculo.

El estado de desarrollo ovárico se inspeccionó macroscópicamente todos los días, observando la parte dorsal del exoesqueleto por transparencia, iluminando con una linterna sumergible.

El seguimiento histológico del crecimiento ovocitario se realizó tomando muestras según el grado de desarrollo alcanzado (4; 9; 15; 20; 40 y 50 días), consistentes en dos hembras de cada tanque tomadas al azar, una ablacionada y otra control. Mediante disección se extrajeron los ovarios y los hepatopáncreas, los que se pesaron en fresco para calcular los índices gonadosomático (IG) y

hepatopancreático (IH), respectivamente, de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$IG = \frac{\text{Peso ovario. 100}}{\text{Peso del cuerpo}}$$

$$IH = \frac{\text{Peso hepatopáncreas. 100}}{\text{Peso del cuerpo}}$$

Los ejemplares muestreados se fijaron con medio Davidson (Bell & Lightner, 1988). El material fijado fue deshidratado con alcohol etílico, aclarado con benzol e incluido en parafina. Se realizaron cortes de 5-6  $\mu\text{m}$  de espesor, coloreando con hematoxilina-eosina.

Los datos de crecimiento en largo de cefalotórax se analizaron mediante ecuaciones de regresión que relacionan los valores de postmuda con los de premuda (Kurata, 1962). Con respecto a los IG e IH se testearon las siguientes regresiones: IG e IH en función del peso del cuerpo, IG de las hembras testigo en función del IG de las ablacionadas e IH de las hembras testigo en función del IH de las ablacionadas. El coeficiente de correlación se testeó para  $p < 0,05$ , analizando las distintas regresiones mediante análisis de covarianza (Sokal & Rohlf, 1979).

## Resultados

En la Tabla 1 se presentan los pesos de los ovarios y hepatopáncreas de hembras control y ablacionadas obtenidos de los muestreos realizados a los 4; 9; 15; 20; 40 y 50 días del inicio del

experimento. Los valores de peso gonadal versus peso del cuerpo no se ajustan a ningún modelo de regresión, comprobando que el índice ovárico es independiente del tamaño en las tallas estudiadas. Los valores de IG variaron entre 0,925 y 3,747 en los ejemplares control y entre 1,457 y 5,035 en los ablacionados. El valor de los IH fue de 2,059 a 4,520 para los controles y de 3,471 a 4,471 para los ablacionados

La Tabla 2 resume los valores promedio de los IG e IH de cada muestreo. Al analizar estadísticamente el IG de las hembras control y ablacionadas, comparando las líneas de regresión por ANCOVA, se encontraron diferencias significativas ( $F=2,32$ ) (Fig. 1); esta diferencia se hace más evidente a partir del día 20 luego de la ablación. Con respecto al IH, no se encontraron diferencias significativas entre los ablacionados y los controles ( $F=0,11$ ), manteniéndose constantes sus valores (Fig. 2).

Los resultados obtenidos en cuanto a crecimiento y frecuencia de muda se presentan en la Tabla 3. La duración del período de intermuda varió entre 16 y 27 días (controles) y entre 20 y 25 días (ablacionadas). Estos valores no son estadísticamente diferentes. Se determinó un ajuste lineal con una coeficiente  $r=0,84$  para los controles y de  $r=0,91$  para los ablacionados. Comparados por ANCOVA no existen diferencias significativas en incremento por muda entre las hembras control y las ablacionadas.

El análisis histológico demuestra que al finalizar el experimento los ovarios de los ejemplares ablacionados se encontraban en maduración total con la presencia de cuerpos periféricos en los ovocitos, mientras que los controles sólo alcanzaron vitelogénesis primaria (Fig. 3).

Tabla 1. Valores de crecimiento e índices gonadosomático y hepatopancreático durante la experimentación.

D	CONTROLES						ABLACIONADAS					
	PT	LC	PG	IG	PH	IH	PT	LC	PG	IG	PH	IH
4	16,02	31	0,17	1,061	0,33	2,059	13,52	29	0,34	2,514	0,57	4,215
4	8,20	24	0,16	1,951	0,32	3,902	6,86	22	0,10	1,457	0,30	4,373
9	15,35	30	0,27	1,758	0,63	4,104	9,60	25	0,19	1,979	0,36	3,750
9	13,84	29	0,32	2,312	0,54	3,901	12,60	27	0,43	3,412	0,53	4,206
15	14,93	31	0,41	2,746	0,56	3,750	14,56	30	0,39	2,678	0,63	4,326
15	15,66	30	0,45	2,873	0,67	4,278	11,17	28	0,29	2,596	0,45	4,028
20	15,38	32	0,41	2,665	0,52	3,381	9,30	25	0,19	2,043	0,33	3,548
20	11,23	27	0,15	1,335	0,42	3,739	13,75	29	0,27	1,963	0,57	4,145
40	20,66	34	0,45	2,178	0,65	3,146	20,00	34	0,53	2,650	0,79	3,950
40	12,10	28	0,27	2,231	0,48	3,966	21,43	35	0,53	2,473	0,79	3,686
50	15,12	31	0,14	0,925	0,48	3,174	13,04	28	0,28	2,147	0,49	3,757
50	21,68	35	0,38	1,752	0,98	4,520	25,62	38	1,29	5,035	1,13	4,410
50	20,28	34	0,76	3,747	0,66	3,254	26,79	39	1,14	4,255	0,93	3,471
50	10,94	28	0,23	2,102	0,35	3,199	19,99	34	0,61	3,051	0,78	3,901

D: días de experimentación; PT: peso total (g); LC: largo de cefalotórax (mm); PG: peso gonadal (g); IG: índice gonadosomático; PH: peso del hepatopáncreas (g); IH: índice hepatopancreático.

Tabla 2. Valores medios de índices gonadosomático y hepatopancreático durante la experimentación.

D	CONTROLES					ABLACIONADAS						
	IG	±	s	IH	±	s	IG	±	s	IH	±	s
4	1,506		0,629325	2,980		1,303197	1,985		0,747411	4,294		0,111722
9	2,035		0,391737	4,000		0,143542	2,695		1,013284	3,978		0,322440
15	2,809		0,089802	4,014		0,373352	2,637		0,057982	4,177		0,210717
20	2,000		0,940452	3,560		0,253144	2,003		0,056568	3,846		0,422142
40	2,204		0,037476	3,556		0,579827	2,561		0,125157	3,818		0,186676
50	2,131		1,184676	3,536		0,656351	3,622		1,277878	3,884		0,393133

D: días; IG: índice gonadosomático medio; s: error standard de la media; IH: índice hepatopancreático medio.

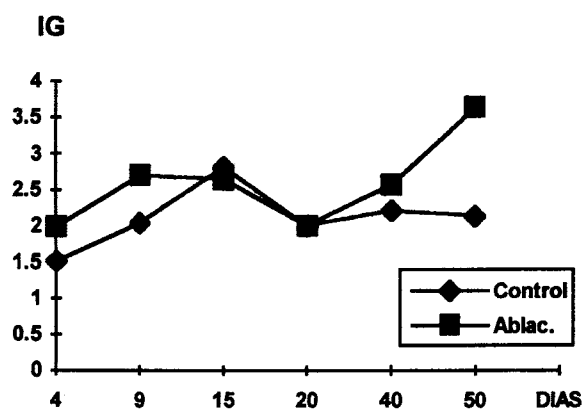


Fig. 1. Índice gonadosomático en función del tiempo.

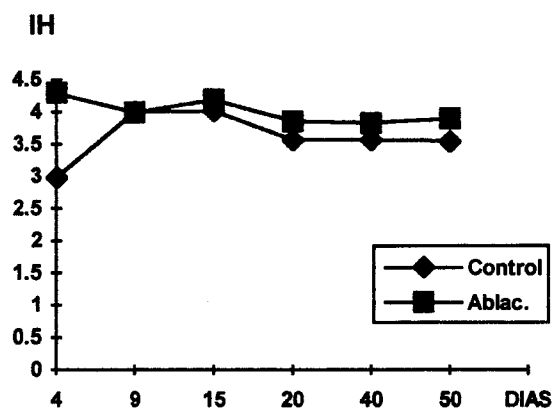


Fig. 2. Índice hepatopancreático en función del tiempo.

Tabla 3. Efecto de la ablación sobre la duración de la intermuda.

	n	P <sub>i</sub>	±	s	D	±	s	Lc <sub>i</sub>	±	s	Lc <sub>f</sub>	±	s
Ablacionados	7	11,57		4,5386	21,71		3,9880	28,28		4,7121	31,14		3,6811
Controles	4	13,65		2,7753	23,25		2,3629	28,25		1,7853	31,25		2,1650

n: número; P<sub>i</sub>: peso medio inicial; D: duración de la intermuda en días; Lc<sub>i</sub> y Lc<sub>f</sub>: largo de cefalotórax pre y postmuda; s: error standard de la media.

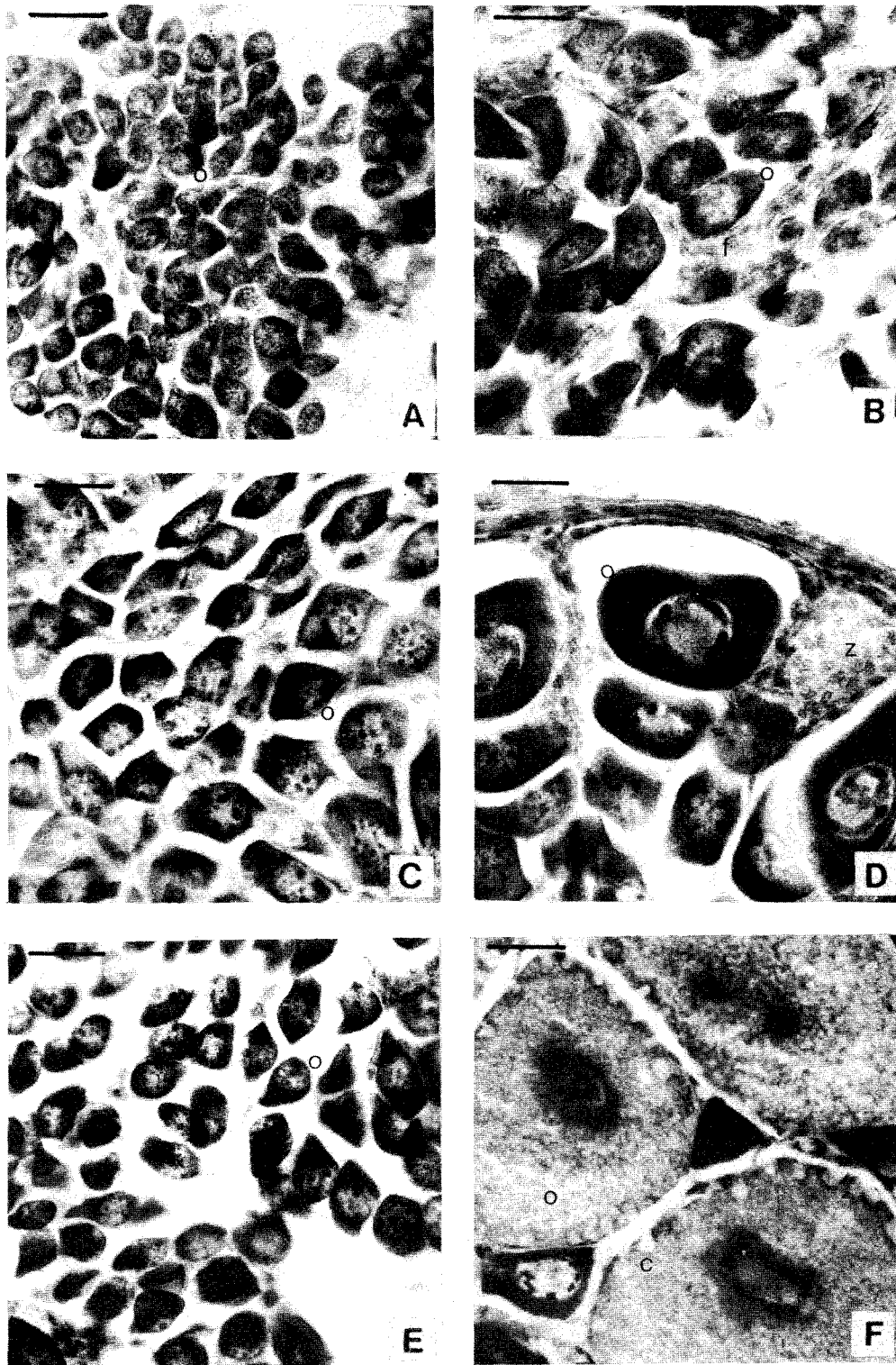


Fig. 3. Control histológico de las gónadas. A: Control inicial; ovario parcialmente desovado en maduración incipiente (fase proliferativa); ovocitos en crecimiento, facetados, basófilos, con nucleolos fragmentados. B: Ablacionado inicial; imágenes similares al anterior. C: Control 20 días; ovario en proliferación y diferenciación, con distintas generaciones de ovocitos en crecimiento. D: Ablacionado 20 días; vitelogenénesis primaria; ovocitos de mayor tamaño con deposición de vitelo; hiperplasia e hipertrofia de las células foliculares. E: Control 50 días; similar al control de 20 días. F: Ablacionado 50 días; maduración total, ovocitos maduros con cuerpos periféricos; desaparición de núcleos. La escala representa 50  $\mu\text{m}$ . o: ovocitos; f: células foliculares; z: zona proliferativa; c: cuerpos periféricos.

## Discusión

Al analizar la relación entre el peso gonadal versus el peso del cuerpo de *P. muelleri* mediante ecuaciones de regresión, no se encontró ajuste, lo que indicaría que el índice ovárico, en las tallas testeadas, es independiente del tamaño. Jeckel *et al.* (1989) obtuvieron resultados similares estudiando la población natural de esta especie, comprobando que el índice ovárico aumenta con el estadio de maduración, siendo un buen indicador del mismo. De acuerdo con nuestros resultados, las diferencias encontradas entre los IG de los controles y ablacionadas se hacen más notorias a partir del día 20, coincidiendo con lo observado en experimentos previos en los cuales se registró un período de latencia (tiempo transcurrido entre la ablación y el primer desove) de alrededor de 30 días. Según Quackenbush (1989) la ablación peduncular produce efectos fácilmente observables sobre el sistema reproductor de *Penaeus vannamei*, con una respuesta rápida que se alcanza entre los 7 y 14 días, luego de lo cual los tejidos retornarían a los niveles de preablación. En *Penaeus monodon* se registró un tiempo de latencia mínimo de 14 días (Tan Fermín, 1991) y un máximo de 40 días en subadultos (Hillier, 1984); en *Penaeus stylirostris* ese lapso varió entre 6 y 10 días (Chamberlain *et al.*, 1985).

Con respecto al IH no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores calculados para ablacionados y controles, manteniéndose constantes a lo largo del experimento. Estos resultados indican que en *P. muelleri* la ablación no afecta el peso relativo del hepatopáncreas, coincidiendo con los obtenidos por Lawrence *et al.* (1979) en *Penaeus setiferus*. Haefner & Spaargaren (1993) encontraron que en *Crangon crangon* el IH aumentaba en los primeros estadios de maduración gonadal (previtelogénesis y vitelogénesis primaria) y luego decrecía durante la vitelogénesis secundaria, con valores entre 3,986 y 5,020. El contenido porcentual de agua del hepatopáncreas permanecía constante en todos los estadios.

El hepatopáncreas, además de glándula secretora, es un órgano de reserva de minerales y sustancias orgánicas (lípidos, proteínas y glucógeno) (Gibson, 1982). En las hembras en estado de maduración avanzada el glucógeno almacenado se moviliza hacia otros tejidos y en especial hacia las gónadas; parte de las proteínas almacenadas pueden ser usadas directa o indirectamente como material para la síntesis de vitelogeninas que se acumularían en el ovario durante la vitelogénesis. La vitelogenina, precursora de las proteínas del vitelo, es sintetizada en gran medida en tejidos extraováricos y ha sido identificada electroforéticamente en la hemolinfa de hembras

reproductivas (Fyffe & O'Connor, 1974; Paulus & Laufer, 1982; Tom *et al.*, 1987). Sin embargo, Yano & Chinzei (1987) estudiando cultivos de tejidos ovárico y hepatopancreático de *Penaeus japonicus* incubados in vitro, indican que el ovario sería el sitio de síntesis de vitelogeninas en crustáceos peneidos. Quackenbush (1989) analizando el efecto de la ablación peduncular sobre la síntesis proteica in vitro en el ovario y hepatopáncreas de *Penaeus vannamei*, concluye que la misma se realiza en los dos órganos. Probablemente la producción de vitelo requiera la contribución de distintos tejidos: ovario, hepatopáncreas, hemocitos y tejido adiposo subepidérmico. Con respecto al componente lipídico del vitelo, se sabe que los lípidos dietarios son constituyentes importantes de los ovarios en maduración y que el nivel de lípidos ováricos se incrementa como respuesta a la ablación (Lawrence *et al.*, 1979). Las diferencias determinadas en este estudio entre el peso ovárico y el del hepatopáncreas se explicarían por la dinámica de la síntesis y liberación de estos componentes orgánicos.

Con respecto a la relación entre muda, crecimiento y reproducción, nuestros resultados demuestran que las hembras adultas de *P. muelleri* responden a la ablación acelerando el proceso de maduración ovárica sin incrementar la frecuencia de muda con respecto a los controles. Resultados similares reportan Gendrop-Funes & Valenzuela-Espinoza (1995) para *Penaeus stylirostris*. La tasa de crecimiento es una función del incremento en tamaño por muda y la frecuencia de éstas. El proceso de muda está regulado por la actividad de dos hormonas, la ecdisona y la hormona inhibidora de la muda presente en el pedúnculo ocular. Asimismo, en el pedúnculo ocular se secreta la hormona inhibidora de las gónadas. La ablación puede resultar en una maduración ovárica temprana, dependiendo de las interacciones del ambiente, la edad y el estadio de muda de los animales. Este efecto antagonista entre muda y desarrollo ovárico fue observado en numerosas especies, tales como *Homarus americanus* (Aiken & Waddy, 1976); *Penaeus indicus* (Emmerson, 1980); *Penaeus vannamei* (Chamberlain & Lawrence, 1981); *Penaeus semisulcatus* (Browdy *et al.*, 1986). Choy (1987) encontró que *Penaeus canaliculatus* responde a la ablación aumentando la tasa de crecimiento e induciendo una maduración temprana de las gónadas.

A partir de los resultados obtenidos se concluye que, independientemente del tamaño de las hembras, la ablación peduncular en *P. muelleri* es una metodología adecuada para obtener maduración en cautiverio fuera de la estación reproductiva, sin afectar la condición nutricional.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido subsidiado por el Programa CABBIO (Centro Argentino Brasileiro de Biotecnología), BID-CONICET II y la Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.

## Referencias bibliográficas

- Adiyodi, R. G. 1985. Reproduction and its control. In: Bliss, D. E. & Mantel, L. H. eds *The Biology of crustacea*. New York, Academic Press. 9:147-215.
- Aiken, D. E. & Waddy, S. L. 1976. Controlling growth and reproduction in the American lobster. *Proc. World Maricult. Soc.*, 7: 415-430.
- Bell, T. A. & Lightner, D.V. 1988. A handbook of normal penaeid shrimp histology. Baton Rouge, World Aq. Soc. 114p.
- Boschi, E. E. 1986. La pesquería del langostino del litoral patagónico. *Cuadernos de Redes*, 20: 1- 8.
- Browdy, C. L. 1992. A review of the reproductive biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation systems for high quality nauplii production. *Proc. Special Session on Shrimp Farming, World Aq. Soc.* p.22-51.
- Browdy, C. L.; Hadani, A., Samocha, T. M. & Loya, Y. 1986. The reproductive performance of wild and pond-reared *Penaeus semisulcatus* de Haan. *Aquaculture*, 59: 251-258.
- Chamberlain, G. W.; Haby, M. G. & Russell, J. M. 1985. Texas shrimp farming manual: an update on current technology. Texas Agricultural Extension Service. 158p.
- Chamberlain, G. W. & Lawrence, A. L. 1981. Effect of light intensity and male and female eyestalk ablation on reproduction of *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. *J. Wild Maricult. Soc.*, 12(2):357-372.
- Choy, S. C. 1987. Growth and reproduction of eyestalk ablated *Penaeus canaliculatus* (Olivier, 1811) (Crustacea: Penaeidae). *J. expl mar. Biol. Ecol.*, 112: 93-107.
- Emmerson, W. D. 1980. Induced maturation of prawn *Penaeus indicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 2: 121-131.
- Fyffe, W. E. & O'Connor, J. D. 1974. Characterization and quantification of a crustacean lipovitellin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 47B:851-867.
- Gendrop-Funes, V. & Valenzuela-Espinoza, E. 1995. Ablación unilateral de *Penaeus stylirostris* (Stimpson). *Ciencias Marinas*, 21(4):401-413.
- Gibson, R. 1982. Feeding and digestion in decapod crustaceans. In: Pruder, G. D.; Langdon, C. J. & Conklin, D. E. eds *Proc. 2nd Int. Conf. Aq. Nutrition*. p. 59-70.
- Haefner, P. A. & Spaargaren, D. H. 1993. Interactions of ovary and hepatopancreas during the reproductive cycle of *Crangon crangon* (L.) I. Weight and volume relationship. *J. Crust. Biol.*, 13(3): 523-531.
- Hillier, A. G. 1984. Artificial conditions influencing the maturation and spawning of sub-adult *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture*, 36: 179-184.
- Jeckel, W. H.; Aizpún de Moreno, J. E. & Moreno, V. J. 1989. Biochemical composition, lipid classes and fatty acids in the ovary of the shrimp *Pleoticus muelleri* Bate. *Comp. Biochem. Physiol.*, 92B(2): 271-276.
- Kurata, H. 1962. Studies on the age and growth of crustaceans. *Bull. Hokkaido reg. Fish. Res. Lab.*, 24: 1-115.
- Lawrence, A. L.; Ward, D.; Missler, S.; Brown, A.; McVey, J. & Middleditch, B. S. 1979. Organ indices and biochemical levels of ova from penaeid shrimp maintained in captivity versus those captured in the wild. *Proc. World Maricult. Soc.*, 10:453-463.
- Paulus, J. E. & Laufer, H. 1982. Vitellogenesis in the hepatopancreas and ovaries of *Carcinus maenas*. *Biol. Bull.*, 163: 375-376.
- Pillay, K. K. & Nair, N. B. 1971. The annual reproductive cycles of *Uca annulipes*, *Portunus pelagicus*, and *Metapenaeus affinis* (Decapoda: Crustacea) from the southwest coast of India. *Mar. Biol.*, 11: 152-166.
- Quackenbush, L. S. 1989. Yolk protein production in the marine shrimp *Penaeus vannamei*. *J. Crust. Biol.*, 9(4):509-516.

- Quackenbush, L. S. 1991. Regulation of vitellogenesis in penaeid shrimp. In: DeLoach, P. F.; Dougherty, W. J. & Davidson, M. A. eds *Frontiers of shrimp research*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers. p. 125-140.
- Sokal, R. & Rohlf, J. 1979. *Biometria*. Madrid, H. Blume. 832p.
- Tan Fermin, J. D. 1991. Effects of unilateral eyestalk ablation on ovarian histology and oocyte size frequency of wild and pond-reared *Penaeus monodon* (Fabricius) broodstock. *Aquaculture*, 93:77-86.
- Tom, M.; Goren, M. & Ovadia, M. 1987. Localization of the vitellin and its possible precursors in various organs of *Parapenaeus longirostris*. *Int. J. Invert. Reprod. Develop.*, 12:1-12.
- Yano, I. & Chinzei, Y. 1987. Ovary is the site of vitellogenin synthesis in kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86B(2):213-218.

(Manuscrito recebido 15 abril 1996; revisto 21 outubro 1996; aceito 26 agosto 1997)