



The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

OVARIAN DEVELOPMENT OF *PROCAMBARUS CLARKII* (GIRARD, 1852) (DECAPODA: CAMBARIDAE) IN FÚQUENE LAGOON, CUNDINAMARCA, COLOMBIA

DESARROLLO OVÁRICO DE *PROCAMBARUS CLARKII* (GIRARD, 1852) (DECAPODA: CAMBARIDAE) EN LA LAGUNA DE FÚQUENE, CUNDINAMARCA, COLOMBIA

Evelin Dayiana Estrada-Arango¹, Julian Yessid Arias-Pineda^{2*}, Mery Helen Tijaro-Orejuela³
& Ingrid Angelica Zarate-Caballero³

¹ Universidad de la Salle, Departamento de Biología, Colombia.

² Semillero de ecosistemas acuáticos y terrestres NEREA. Programa de biología, Universidad Distrital FJC, Bogotá, Colombia.

³ Semillero Floramycetes Research, Universidad Distrital Francisco José Caldas, Bogotá, Colombia.

* Corresponding author: jyarias@udistrital.edu.co

Evelin Dayiana Estrada-Arango: <https://orcid.org/0009-0007-1782-2624>

Julian Yessid Arias-Pineda: <https://orcid.org/0000-0002-2399-7953>

Mery Helen Tijaro-Orejuela: <https://orcid.org/0000-0002-2519-066X>

Ingrid Angelica Zarate-Caballero: <https://orcid.org/0000-0002-8407-6795>

ABSTRACT

Procambarus clarkii (Girard, 1852) is a freshwater decapod crustacean considered an invasive species in Colombia due to its high adaptability and the ecological threats it poses to invaded ecosystems. However, knowledge regarding its reproductive biology in the country remains limited. This study described the ovarian development of *P. clarkii* from Laguna de Fúquene, Cundinamarca, Colombia, during 2019. A total of 73 females and 64 males were collected, with measurements of total length, weight, and sex. Subsequently, the hepatopancreas and gonads were extracted to determine the gonadosomatic index (GSI) and hepatosomatic index (HSI) and to establish ovarian maturity stages using morphological characteristics, coloration, and histological analyses. The ovaries exhibited a typical Y-shaped morphology and contained oocytes at different developmental stages, varying in size, morphology, staining affinity, and vitellogenic activity. The gonadal cycle was divided into immature, previtellogenic, early and intermediate vitellogenic, advanced mature, and spent stages. Oocytes were classified as oogonia, early and late previtellogenic, early and late vitellogenic, and mature oocytes. The results demonstrated that both HSI and GSI were directly related to ovarian maturation and sexual development. These findings provide valuable information on the reproductive dynamics of the species and contribute to future biological control and management strategies for this invasive crayfish.

Keywords: freshwater crayfish – hepatosomatic index – gonadosomatic index – gonadal development – oogenesis

Este artículo es publicado por la revista *The Biologist (Lima)* de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.



DOI: <https://doi.org/10.62430/rtb20262412154>

RESUMEN

Procambarus clarkii (Girard, 1852) es un crustáceo decápodo de agua dulce considerado invasor en Colombia debido a su alta capacidad adaptativa y al impacto ecológico que genera en los ecosistemas donde ha sido introducido. Sin embargo, el conocimiento sobre aspectos básicos de su biología reproductiva en el país aún es limitado. El presente estudio describió el desarrollo ovárico de *P. clarkii* en la Laguna de Fúquene, Cundinamarca, Colombia, durante 2019. Se recolectaron 73 hembras y 64 machos, registrando longitud total, peso y sexo. Posteriormente, se extrajeron hepatopáncreas y gónadas para determinar el índice gonadosomático (IGS) y hepatosomático (IHS), así como establecer los estadios de madurez ovárica mediante características morfológicas, coloración y análisis histológicos. Los ovarios presentaron una forma típica en “Y” y estuvieron compuestos por ovocitos en diferentes fases de desarrollo, con variaciones en tamaño, morfología, afinidad tintorial y actividad vitelogénica. El ciclo gonadal se dividió en los estados inmaduro, previtelogénesis, vitelogénesis temprana e intermedia, madurez avanzada y desovado. Los ovocitos se clasificaron en ovogonias, previtelogénicos tempranos y tardíos, vitelogénicos tempranos y tardíos, y maduros. En conclusión, el IGS y el IHS mostraron una relación directa con la madurez sexual y el desarrollo ovárico, evidenciando que estos índices constituyen herramientas útiles para comprender la dinámica reproductiva de la especie y aportar información clave para futuros programas de manejo y control biológico.

Palabras clave: cangrejo de río – hepatosomático – gonadosomático – desarrollo gonadal – ovogénesis

INTRODUCCIÓN

Los crustáceos son uno de los grupos zoológicos con mayor éxito, tanto por el número de especies registradas (67.829), como por la diversidad de ecosistemas que colonizan (Brusca & Brusca, 2005; De Grave *et al.*, 2023; Peart & Schnabel, 2024) siendo estos fundamentalmente acuáticos, habitando en todas las profundidades y en distintos medios, como el mar, el agua salobre y dulce, además la tierra (Álvarez *et al.*, 2014).

Dentro de este gran grupo, se encuentra la familia Cambaridae, conocida también con el nombre de cangrejos de río, conformada por alrededor de 612 especies, distribuidas por todo el mundo (Álvarez *et al.*, 2014; Souty-Grosset *et al.*, 2006). Gran parte de las especies de esta familia corresponde al género *Procambarus*, con 16 subgéneros y 156 especies, a las cuales se les atribuye gran tolerancia ecológica, resistencia a la variación de temperatura y habilidad para la construcción de galerías en épocas de reproducción y sequía (Hobbs, 1984).

A este género pertenece *Procambarus clarkii* (Girard, 1852), comúnmente conocido como cangrejo de río, acocil rojo o crawfish (Gherardi, 2006; Jin *et al.*, 2019; Dörr *et al.*, 2020; Karaouzas *et al.*, 2024), nativa del norte de México y del valle del río Mississippi en Estados Unidos (FAO, 2009). Esta especie ha sido introducida en todos los continentes excepto Australia y Antártida (Campos, 2005), debido a su importancia económica, ya que esta especie posee una gran

tasa de fertilidad, una fácil manutención, gran resistencia, y bajos costos de producción, utilizándola en actividades humanas como: la acuicultura y la recreación (como mascotas) (Mito & Uesugi, 2004; Kawai & Kobayashi, 2005; Jin *et al.*, 2019; Pedroza-Martínez, 2017).

En Colombia, *P. clarkii* fue introducida en el Valle del Cauca hacia el año de 1985 por la “Agropecuaria Heliodoro Villegas Sucesores S.A.”, en calidad de especie experimental; sin embargo, con el paso del tiempo, esta se dispersó por tributarios y afluentes del río Cauca (Flórez-Brand & Espinosa-Beltrán, 2011). Desde entonces, el cangrejo de río ha tenido gran éxito en la colonización de nuevos ambientes, ya que posee una gran plasticidad ecológica que le permite la supervivencia en distintos ecosistemas, destacando su voracidad y eficiencia reproductiva (Souty-Grosset *et al.*, 2016; Dörr *et al.*, 2020; Karaouzas *et al.*, 2024).

El cangrejo de río es una especie que se encuentra en varios tipos de hábitats tanto naturales como agrícolas, de agua dulce (lénticos y lóticos) tales como ríos, humedales, pantanos, canales, estanques, embalses, entre otros (Gherardi, 2006). Por otra parte, *P. clarkii* posee la capacidad de tolerar un amplio rango de condiciones ambientales tales como altas temperaturas, aguas contaminadas, bajas concentraciones de oxígeno disuelto y periodos de sequía; no obstante, presenta un comportamiento territorial y agresivo con su propia especie cuando entra en un estado de tensión donde se ve afectado su espacio o alimentación

(Souty-Grosset *et al.*, 2016). Además, posee distintas formas de vida, entre las que resaltan galerías bajo la tierra húmeda, piedras con vegetación y también en las raíces de árboles (Villalobos-Figueroa, 1955; Huner & Avault, 1976; Huner & Barr, 1984; Holdich, 2002).

En cuanto a la reproducción, es una especie que posee la estrategia “r”, la cual se fundamenta en un ciclo de vida corto (2 años en promedio) y una alta tasa de reproducción y propagación (Campos, 2005), razones por las cuales ha tenido tanto éxito en todos los ecosistemas que habita, además de las expuestas en apartados anteriores (Arias-Pineda & Rodríguez, 2012; Arias-Pineda & Pedroza-Martínez, 2018). Los juveniles tienen altas tasas de sobrevivencia y la madurez sexual la alcanzan en aproximadamente tres meses (Dörr *et al.*, 2020). Las hembras adultas pueden reproducirse 2 veces al año, aunque en condiciones favorables pueden llegar a tener 3 generaciones por año (Souty-Grosset *et al.*, 2016).

En los crustáceos, en general, y en especial en las hembras, el ciclo y la madurez reproductiva están fuertemente asociados a una serie de patrones que atraviesan durante su ciclo de vida, evidenciándose principalmente en los cambios morfológicos como la muda y el desarrollo gonadal, en los cuales es posible identificar externamente variaciones en la coloración y el tamaño, durante el periodo de maduración sexual (Meeratana & Sobhon, 2007).

En *P. clarkii* se han realizado estudios sobre las gónadas de las hembras, especialmente en los campos de la morfología, desarrollo ovárico y estadios vitelogénicos (Jin *et al.*, 2019; Ando & Makioka, 1998; Carmona-Osalde *et al.*, 2004ab; Sharifian *et al.*, 2015). En las hembras de *P. clarkii*, el sistema reproductor está compuesto por el ovario y los oviductos (Ando & Makioka, 1998). El ovario tiene forma de Y y posee un par de lóbulos o sacos ováricos anteriores y un único lóbulo ovárico posterior, ubicado en el cefalotórax, en posición dorsal, debajo del corazón y por encima del hepatopáncreas (Ando & Makioka, 1998; Jin *et al.*, 2019).

El número de huevos se relaciona directamente con la talla de la hembra; hembras jóvenes presentan una reproducción de entre 50 y 100 huevos mientras que hembras adultas de 10 cm pueden llegar a tener 500 huevos (Rodríguez, 1980). El tiempo de eclosión de los huevos varía entre 21 y 30 días, durante los cuales los huevos van cambiando de color a medida que se van desarrollando. A los dos días de nacer, las postlarvas pueden alcanzar aproximadamente los 5 mm de longitud y en tres meses pueden llegar a alcanzar 80 mm (Campos, 2005; Souty-Grosset *et al.*, 2016; FAO, 2009). Los individuos que han alcanzado la madurez sexual

se aparean o realizan la cópula en aguas abiertas (Campos, 2005).

Sin embargo, diferentes factores pueden influir sobre el desarrollo y los valores de fecundidad de la especie; entre estos están las oscilaciones de temperatura, la calidad del agua, la disponibilidad de refugio y el alimento (Pedroza-Martínez, 2017). En efecto, Arias-Pineda & Rodríguez (2012) indican que el gran número de fuentes alimentarias es muy propicio para la rápida reproducción y que las condiciones ambientales como el clima cálido y el agua bien oxigenada producen efectos positivos en el crecimiento de *P. clarkii*.

En crustáceos existe alta optimización de energía para la reproducción, el crecimiento, la muda y otras actividades fisiológicas (Rodríguez, 1980; Cavalli *et al.*, 1997; Yamaguchi, 2001; Sokolowicz *et al.*, 2006), siendo el hepatopáncreas el órgano fisiológicamente dinámico, relacionado con el almacenamiento y transferencia de nutrientes para la reproducción.

Este cangrejo rojo se ha considerado de especial importancia por ser una especie exótica y por su alta tasa de reproducción (Flórez-Brand & Espinosa-Beltrán, 2011; Rivera *et al.*, 2024), ahora, en Colombia, no se tienen estudios suficientes como para llevar un control de la especie, teniendo en cuenta que la biología reproductiva de una especie, junto con otras variables del ciclo de vida, proporcionan información sobre los mecanismos que determinan el éxito ecológico de la misma en un ambiente determinado, aun cuando *P. clarkii* es considerado un crustáceo con alto potencial invasivo ya que representa una amenaza para las especies nativas y para los ecosistemas naturales (Kulkarni & Fingerma, 1991).

De esta manera, la presente investigación tiene como objetivo describir los estadios ováricos durante el proceso de maduración de las hembras, junto con una caracterización macroscópica e histológica de las principales etapas del ciclo de madurez gonadal de hembras de *P. clarkii* en la Laguna de Fúquene, Cundinamarca, Colombia, aportando información biológica básica como soporte para futuros planes de control biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este trabajo se realizó en la laguna de Fúquene (31 km²), ubicada entre los departamentos de Cundinamarca y

Boyacá, a 100 km al norte de Bogotá, en la cordillera oriental de Colombia (Fig. 1), con coordenadas: latitud 5° 29' 50"; 5° 25' 26" N y longitud 73° 46' 49"; 73° 42' 44" O, a una altitud de 2600 msnm.

En cuanto al clima, la precipitación promedio en la cuenca es de 962,5 mm/año, con una temperatura media de 13 °C y un clima frío semihúmedo. La laguna de Fúquene tiene una superficie promedio de 31 km², hay una profundidad media estimada de 2,3 m, tiene un volumen máximo operativo de 36,8 millones de m³, correspondiente a una cota de 2539 msnm.

La laguna de Fúquene hace parte de los humedales de Colombia; es el hábitat de varias especies de aves nativas y lugar de paso de aves migratorias. En la laguna habitan tres especies endémicas de la región, en las que están cinco especies de peces y un crustáceo. Además, existe gran diversidad de macrófitas acuáticas, con al menos sesenta especies reportadas por D'Abramo & Sheen (1994).

Fase de campo

La investigación se llevó a cabo durante cuatro meses: septiembre, octubre, noviembre y diciembre del año 2019. Se escogieron ocho sitios de muestreo alrededor de la Laguna de Fúquene, donde por mes se muestrearon dos sitios distintos (uno cada dos semanas). En cada sitio se establecieron cinco puntos para las recolectas, escogidos al azar. En cada punto estuvo ubicada una trampa artesanal como la descrita por Arias-Pineda *et al.* (2020). Las trampas se sumergieron durante 24 h por sitio de muestreo; como cebo se utilizaron hígados y viseras de pollo. También se tomaron en cuenta las características bióticas del ecosistema.

Muestreo del cangrejo rojo y obtención de relaciones biométricas

Con el fin de tomar las relaciones biométricas de los cangrejos capturados, 74 hembras y 65 machos, primero se realizó la identificación taxonómica de la especie con base en la clave de Hobbs (1984) y la descripción realizada por Campos (2005) con la ayuda de un estereoscopio Zeiss Stemi 305. Luego con base en la metodología utilizada por Lozano-Alvarez & Aramoni-Serrano (1996-1997) se determinó el peso total de machos y hembras con una gramera SCOUT PRO SP2001, asimismo, se les midió la longitud cefalotorácica (desde la escotadura interorbital hasta el extremo posterior del cefalotórax), y longitud total con un calibrador ($\pm 0,1$ mm), se registró sexo, coloración corporal en hembras, la presencia de masa ovígera y fueron sometidos a un proceso de congelación, con el objeto de

detener su proceso digestivo utilizando un congelador multiusos Samsung. Una vez descongelados, se realizó la disección para extraer los ovarios y testículos, el estómago y el hepatopáncreas.

Análisis gonadal hembras

Para el análisis de las gónadas, se realizó la disección correspondiente para extraer las gónadas de cada individuo, se tomó el peso húmedo para ambos sexos, se identificó el color de la gónada (ovario) en hembras, tomando para cada color un registro fotográfico, realizado por medio de una cámara Canon PowerShot SX60 HS, también se determinó el ciclo de madurez ovárica en base a los estados de desarrollo gonadal establecidos por Ando & Makioka (1998) para *P. clarkii*, mediante observaciones macroscópicas y microscópicas adaptando modificaciones necesarias para la descripción de cada uno, para esto se tuvo en cuenta, modificación de los colores en los ovarios, variaciones en la longitud de los mismos y el diámetro de 10 ovocitos presentes en cada gónada, con el fin de adquirir mayor información sobre el estado de madurez ovárica.

Descripción histológica

Se utilizó la secuencia de pasos de la técnica comúnmente utilizada para el procesamiento histológico (Moreno *et al.*, 2012). Los ovarios utilizados para este proceso fueron extraídos y fijados en formol bufferado durante 24 h, luego, se deshidrataron y se realizó la inclusión en parafina a 52 °C de punto de fusión para efectuar cortes de 7 μ m de espesor y se colocaron en portaobjetos para después teñirlos con hematoxilina-eosina, siendo este procedimiento realizado por medio del laboratorio de patología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Se tomaron fotografías de los cortes histológicos con una cámara Canon, por medio de un microscopio Zeiss Primo Star con aumentos de 4X, 10X, 40X y 100X; se registraron los detalles observados y la frecuencia de aparición de las diferentes fases de desarrollo de los ovocitos, considerando el diámetro, la forma de los ovocitos, diámetro del núcleo, número de nucléolos, presencia de células foliculares y de vitelo. Conjuntamente, se tuvo en cuenta la abundancia y el grado de desarrollo de los ovocitos y la presencia y abundancia de las células germinales. Con base en dichas descripciones se procedió a asignar el estado de desarrollo de los ovocitos correspondientes a ovarios de hembras de *P. clarkii*.

Paralelo a la evaluación externa del desarrollo gonadal, se determinó el índice gonadosomático (IGS), el cual se basa

en el incremento del tamaño de la gónada a medida que se acerca el momento de la puesta, estimando la actividad reproductiva (De Vlaming *et al.*, 1982; Kennish, 1996; Comoglio *et al.*, 2005). En cuanto a la variación de las reservas corporales con respecto a variables biométricas, se calculó el índice hepatosomático (IHS).

Índice Gonadosomático (IGS):

$$IGS (\%) = \frac{\text{Peso de la gónada ovarios o testículos}}{\text{Peso total de la langosta}} \times 100$$

Índice Hepatosomático (IHS)

Refleja el nivel de las reservas de energía del cangrejo a ser empleadas en crecimiento y otros procesos metabólicos (gónadas) (Comoglio *et al.*, 2005; Sokolowicz *et al.*, 2006).

Para la construcción de los IHS por estadio gonadal y muestreo, se utilizó la relación:

$$IHS (\%) = \frac{\text{Peso Húmedo del hepatopáncreas}}{\text{Peso húmedo de cada individuo}} \times 100$$

Análisis estadístico

Las diferencias en los parámetros biológicos medidos para *P. clarkii* en función del mes de muestreo, el sexo, el peso total de ambos sexos y los estadios ováricos se establecieron mediante comparación de medias, a través del análisis de varianza (ANOVA) no paramétrico con el post hoc de Tukey, previa comprobación del ajuste de los datos a una distribución normal, mediante la prueba de Levene.

El análisis de varianza fue aplicado para comprobar la significatividad de las variaciones de los índices Gonadosomático (IGS) y Hepatosomático (IHS), en función del mes, el sexo y los estadios ováricos. También se utilizaron análisis multivariados de la varianza (MANOVA) para determinar las correspondencias entre los estadios ováricos y los meses, al igual que análisis de correspondencias múltiples (ACM). Se utilizaron regresiones lineales simples para determinar la relación entre la longitud total y el peso del hepatopáncreas, además de la longitud del cefalotórax y el peso ovárico. El proceso estadístico de todos los datos se realizó con ayuda del programa estadístico PAST 1.90 (Hammer *et al.*, 2001).

Abreviaturas

ZP: zona pre-vitelogénica, ZV: Zona vitelogénica, fo: folículos ováricos, Ov: ovogonias, O1: Ovocito previtelogénico temprano, O2: Ovocito previtelogénico tardío, O3: Ovocito vitelogénico temprano, O4: Ovocito vitelogénico tardío, OM: Ovocito maduro, I: Estado inmaduro, II: Estado de previtelogénesis, III: Estado de vitelogenénesis temprana, IV: Estado de vitelogenénesis intermedia, V: Estado de madurez avanzada, 0: estado desovado.

Aspectos éticos: El presente estudio se desarrolló bajo criterios de bienestar animal y manejo responsable de fauna acuática, minimizando el estrés y la afectación sobre los individuos evaluados con permisos emitidos por la Universidad de La Salle y el Embalse de Fiquene.

RESULTADOS

Aspectos generales de la morfología externa e interna del ovario

Según el análisis macroscópico de los de ovarios de hembras de *P. clarkii* se pudo observar claramente que posee forma de Y, conformado por un par de lóbulos anteriores y un lóbulo posterior (Fig. 1), ubicado en el cefalotórax, en posición

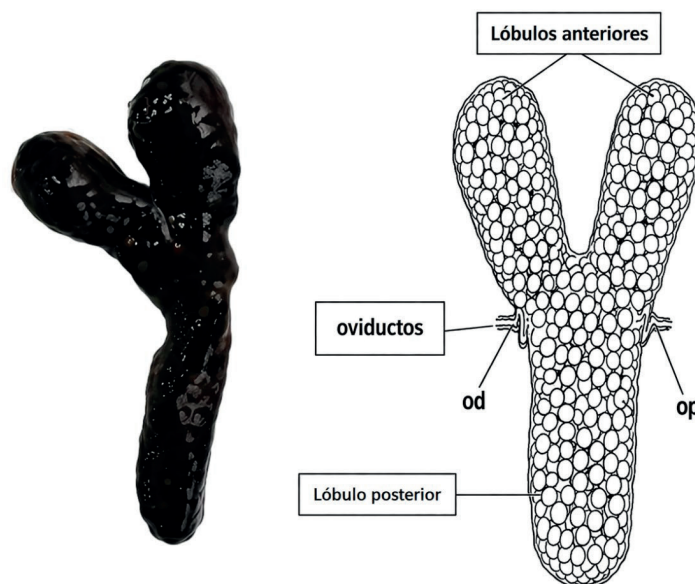


Figura 1. Fotografía esquemática de la vista dorsal del ovario de *Procambarus clarkii*. Ovario en forma de Y que consta de un par de lóbulos anteriores y un solo lóbulo posterior. Un oviducto corto está conectado con el extremo posterior de cada lóbulo ovárico anterior. Dibujo tomado de Ando & Makioka (1998).

dorsal por encima del hepatopáncreas y debajo del corazón (Fig. 2), los oviductos conectados con el extremo posterior

de cada lóbulo anterior desembocan directamente en el gonóporo ubicado en la coxa del tercer par de pereopodos.

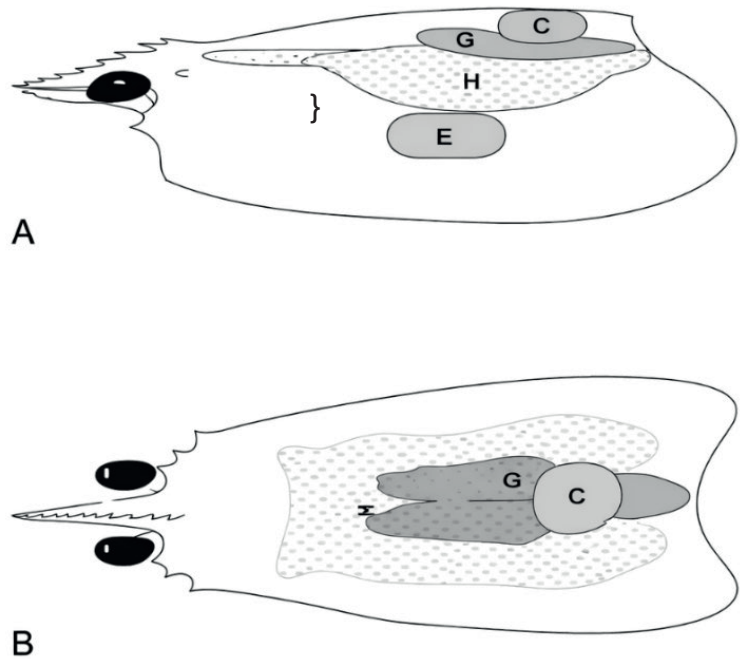


Figura 2. Ubicación y morfología externa e interna del ovario de *P. clarkii*. A) vista lateral, B) vista dorsal, C. corazón, G. gónadas, H. hepatopáncreas, E. estómago. Tomada y modificada de Moreno *et al.* (2012).

Descripción y caracterización del ciclo de madurez ovárica

De acuerdo con la observación macroscópica de las gónadas de hembras de *P. clarkii*, claramente hay una variación externa de tamaño y color de los ovarios (Fig. 4A-E), diferenciándolos en seis etapas de desarrollo ovárico (Tabla 1). Estas diferencias fueron confirmadas por observaciones

microscópicas (variación en los ovocitos tanto en tamaño como en el ingreso de vitelo a la célula). La longitud máxima del ovario en promedio fue de 40 mm y el ancho máximo del saco ovárico fue en promedio de 7 mm. El tamaño del ovario no dependía del tamaño corporal de hembras de *P. clarkii*, sino del tamaño de los ovocitos u óvulos dentro de la gónada. Teniendo en cuenta estos criterios, se identificaron seis etapas de desarrollo.

Tabla 1. Tabla resumen del ciclo de madurez gonadal en hebras de *Procambarus clarkii*. (O1) Ovocito previtelogénico temprano, (O2) Ovocito previtelogénico tardío, (O3) Ovocito vitelogénico temprano, (O4) Ovocito vitelogénico tardío, (OM) Ovocito maduro.

Estado	Morfología externa	Morfología interna
I	Color blanco, translúcido, lóbulos flácidos y retraídos. (Fig. 3A)	Se presentan exclusivamente ovogonias, O1 y O2, células foliculares abundantes.
II	Color amarillo crema, lóbulos firmes y gruesos. (Fig. 3B)	Membrana ovárica y trabéculas diferenciadas. Presencia de ovogonias, O1, O2 y O3.
III	Color naranja claro, lóbulos fuertes y ovocitos notablemente visibles. (Fig. 3C)	Inicio de vitelogénesis: se observa un mayor desarrollo de la zona vitelogénica con mayor presencia de O3 y algunos O4.

(Continúa Tabla 1)

(Continúa Tabla 1)

Estado	Morfología externa	Morfología interna
IV	Color naranja-café lóbulos bastante engrosados. (Fig. 3D)	Se reduce casi a un 20% la presencia de Ov, O1 y O2 en la zona previtelogénica. Aumenta la presencia de ovocitos O4 y algunos O3 en la zona vitelogénica. Existe mayor presencia de plaquetas vitelinas. Y las células foliculares más pequeñas.
V	Color café oscuro a morado intenso, lóbulos completamente engrosados extendiéndose desde la primera espina rostral hasta el primer segmento abdominal. (Fig. 3E)	Tejido gonadal compuesto casi el 100% por ovocitos maduros, muy pocos O4. Células foliculares poco visibles y gran presencia de lípidos.

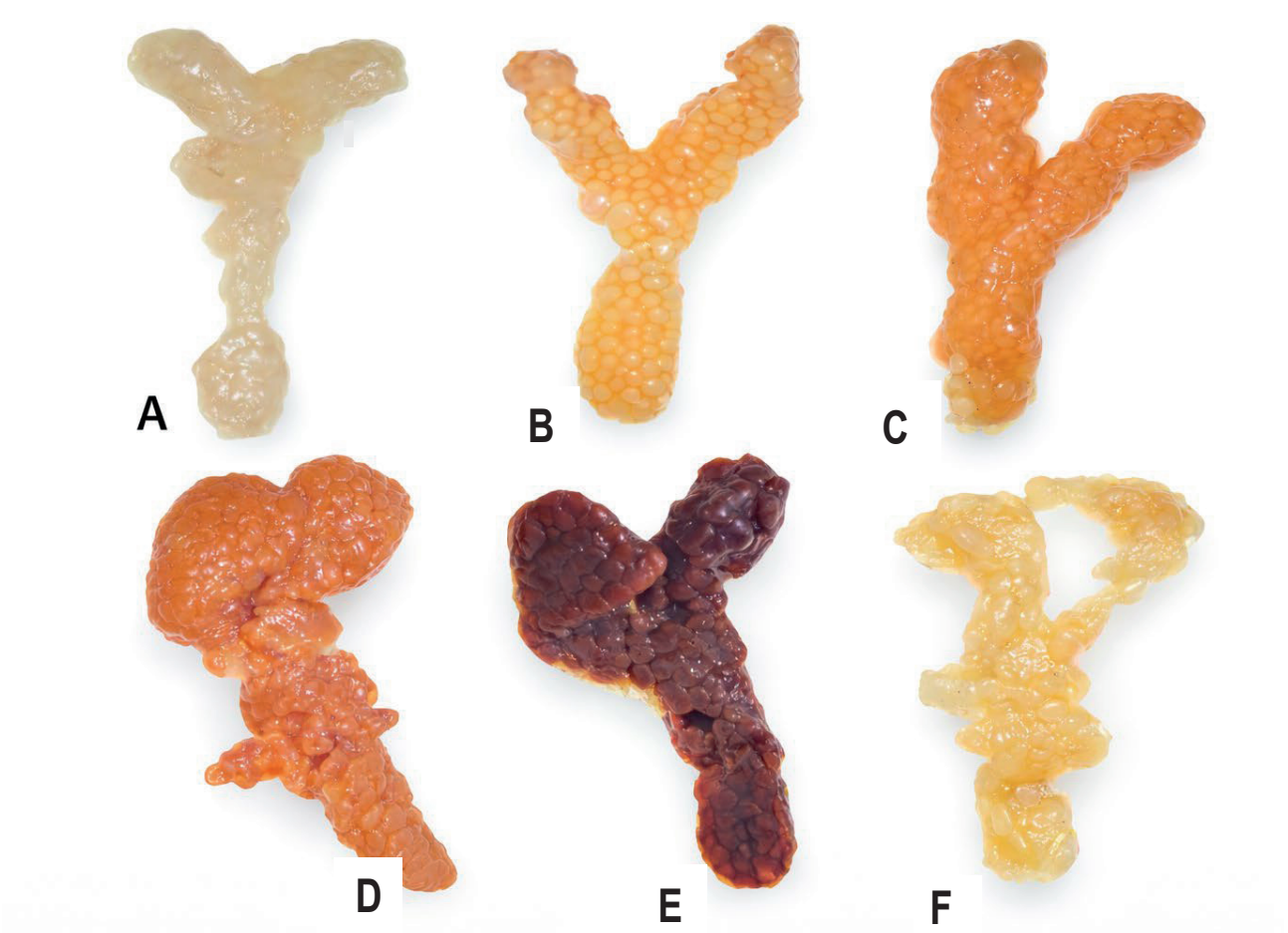


Figura 3. Estados de desarrollo ovárico identificados macroscópicamente. A) Estado inmaduro I, B) Estado de previtelogénesis II, C) Estado de previtelogénesis temprana III, D) Estado de vitelogénesis intermedia IV, E) Estado de madurez avanzada, F) Estado desovado.

Estado inmaduro (I): Los ovarios en este estadio eran de color blanco crema o traslucidos en algunos casos (Fig. 3A), pequeños (10-15 mm) y el saco ovárico tenía de 2 a 3 mm de ancho, los lóbulos son débiles y delgados,

externamente no se logra evidenciar con facilidad los ovocitos, histológicamente (Fig. 4A) el ovario inicia su desarrollo y proceso de maduración en donde hay en su mayoría presencia de ovogonias, ovocitos O1 y O2, los

cuales se encuentran ubicados hacia la parte central. Las células foliculares son casi invisibles. En este estadio el ingreso de vitelo al ovario es muy reducido.

Estado de previtelogénesis (II): En este estado, los ovarios aumentaron de tamaño con respecto a los anteriores; son un poco más grandes (20 mm) y se caracterizan por tener un color crema-amarillo (Fig. 3B). Externamente, los lóbulos toman mayor firmeza y son más consistentes, aproximadamente de 3 mm de ancho. A simple vista, sobresalen por encima de los otros tejidos los ovocitos iniciales, que pasan por el proceso de previtelogénesis, siendo estos, en su mayoría, ovogonias y ovocitos previtelogénicos (O1 y O2) ubicados en la zona (ZP) previtelogénica y vitelogénica (ZV), en la cual también se observaron algunos ovocitos vitelogénicos tempranos (O3). Las células foliculares son más visibles pero escasas (Fig. 4B).

Estado de vitelogénesis temprana (III): Estos ovarios se caracterizaron por ser un poco más grandes que los anteriores y consistentes, de color amarillo intenso a naranja claro, un poco más largos entre 25 y 30 mm y sobresalen unos milímetros por encima del corazón (Fig. 3C). Los lóbulos están más engrosados aproximadamente 5 mm, por lo que son más fáciles de diferenciar entre los tejidos, al igual que los ovocitos que estos contienen. Histológicamente, se observaron abundantes ovocitos en proceso de desarrollo o vitelogénesis en la ZP y en la zona vitelogénica (ZV): ovocitos en estado O3 (Fig. 4C) y unos pocos O4. La zona ZP ocupa casi el 60 % del área total del ovario. Además, las células foliculares aumentan en gran cantidad, las cuales se disponen rodeando los ovocitos vitelogénicos.

Estado de vitelogénesis intermedia (IV): Los ovarios tienen un tamaño más grande que los de III (35 mm), toman un color de café claro a naranja oscuro y los lóbulos son más gruesos (6 mm), presentando grandes ovocitos que sobresalen de la membrana del ovario (Fig. 3D), ocupando bastante espacio en el cefalotórax, llegando al primer segmento del abdomen. Histológicamente (Fig. 5A), la zona ZV ocupa entre el 60% y el 80% del área del ovario, por lo que la mayoría de los ovocitos se encuentran en vitelogénesis tardía (O4), aunque también se presentan unos pocos O3; las ovogonias y ovocitos previtelogénicos (O1 y O2) son más escasos, por lo que la ZP es bastante reducida, casi el 30%. Las células foliculares son fusiformes y menos frecuentes.

Estado de madurez avanzada (V): En los ovarios analizados que se encontraban en este estado de maduración, la mayoría alcanzaban un tamaño significativamente más grande con respecto a los anteriormente descritos, en promedio 40 mm de largo y presentaban una coloración que variaba desde

café oscuro a morado intenso, los ovocitos en este estado de madurez eran más visibles a través de la membrana ovárica (Fig. 3E), debido a su gran tamaño, en consecuencia, los lóbulos eran más gruesos que los anteriores (7 mm), ocupando casi en su mayoría la porción media dorsal anterior del cefalotórax.

Histológicamente (Fig. 5B), los ovocitos maduros (OM) estaban presentes en el 80% y 90% del ovario, mientras que algunas ovogonias y ovocitos previtelogénicos (O1-O2) estaban muy reducidos, difíciles de ver a simple vista. Aunque los OM ocupan la mayor cantidad del espacio dentro del ovario, se pudo observar en algunos casos ovocitos O3 en la zona central y, esporádicamente, los O4, en ocasiones completamente ausentes, por lo que el ovario se encontraba totalmente maduro. Las células foliculares estaban en menor cantidad, y otras estaban rodeando los ovocitos, aunque fueron poco perceptibles por su forma fusiforme y delgada. De esta manera, el ovario está listo para expulsar por el oviducto al exterior los huevos.

Estado desovado (0): Externamente los ovarios son pequeños y eran traslucidos o claros, de color blanco o amarillo, los lóbulos se ven flácidos, blandos y retraídos, lo que dificulta la identificación entre los otros tejidos la mayoría de los casos (Fig. 3F). A nivel histológico, el ovario poseía gran espacio subcapsular y contenía números folículos ováricos (FO) vacíos, también se observaron abundantes células foliculares y algunos ovocitos maduros que no fueron liberados, lo que podría indicar que son ovarios de una hembra post-desove, entrando estos en un proceso de reabsorción o atresia por el ovario. Se observaron células foliculares, grupos de ovogonias O1, O2 y unos cuantos O3 en la zona previtelogénica, probablemente con el fin de iniciar un nuevo ciclo de maduración ovárica.

Descripción y caracterización de los estados de desarrollo de los ovocitos:

Al interior de las bolsas oogénicas y agrupadas de forma ordenada, según el estado de desarrollo en el que se encuentren, se hallan los ovocitos. Los cuales por medio de la observación morfológica, tamaño y tinción, se caracterizaron en seis tipos de células durante el ciclo completo de maduración gonadal (Ov, O1, O2, O3, O4 y OM), que se distribuyen de forma ascendente en los conos de maduración (Fig. 4 y 5).

Ovogonia (Ov): son células ovoides que provienen de un epitelio germinal con núcleo grande e irregular, el cual abarca casi la totalidad de la célula, es preciso mencionar que, por su tamaño tan pequeño y poco desarrollado, los nucléolos son pequeños y poco diferenciables, aunque hay

uno que predomina por su tamaño más grande además el citoplasma es escaso no presenta gotas de lípidos, su tamaño varía entre 8 a 15 μm (Fig. 4A).

Ovocito previtelogénico temprano (O1): estos se diferencian de las ovogonias por su mayor tamaño, ya que tienen un diámetro entre 20 y 40 μm , y por el incremento en el volumen del citoplasma. Estas células generalmente son redondas, pero pueden ser poligonales con bordes redondeados. Poseen un núcleo redondo central bien definido que se caracteriza por la presencia de pequeñas unidades de heterocromatina dispersas aleatoriamente. Algunas veces se observa presencia de nucléolos (Fig.

4A). Estas células se encuentran en la periferia de la zona germinal y están rodeadas de células foliculares fusiformes.

Ovocito previtelogénico tardío (O2): se caracteriza por el aumento del tamaño celular, observándose un incremento del citoplasma con respecto al O1 y las granulaciones eosinófilas se incrementan desde la periferia hacia el núcleo. Su tamaño varía entre 50 y 70 μm , el núcleo está bien definido y prominente. Al interior de este se logran observar notoriamente los nucléolos en números variables. Estos ovocitos se ubican después de los O1 en la periferia de la zona germinal. Las células foliculares que rodean O2 son más alargadas y aumentadas en número y tamaño (Fig. 4B y C).

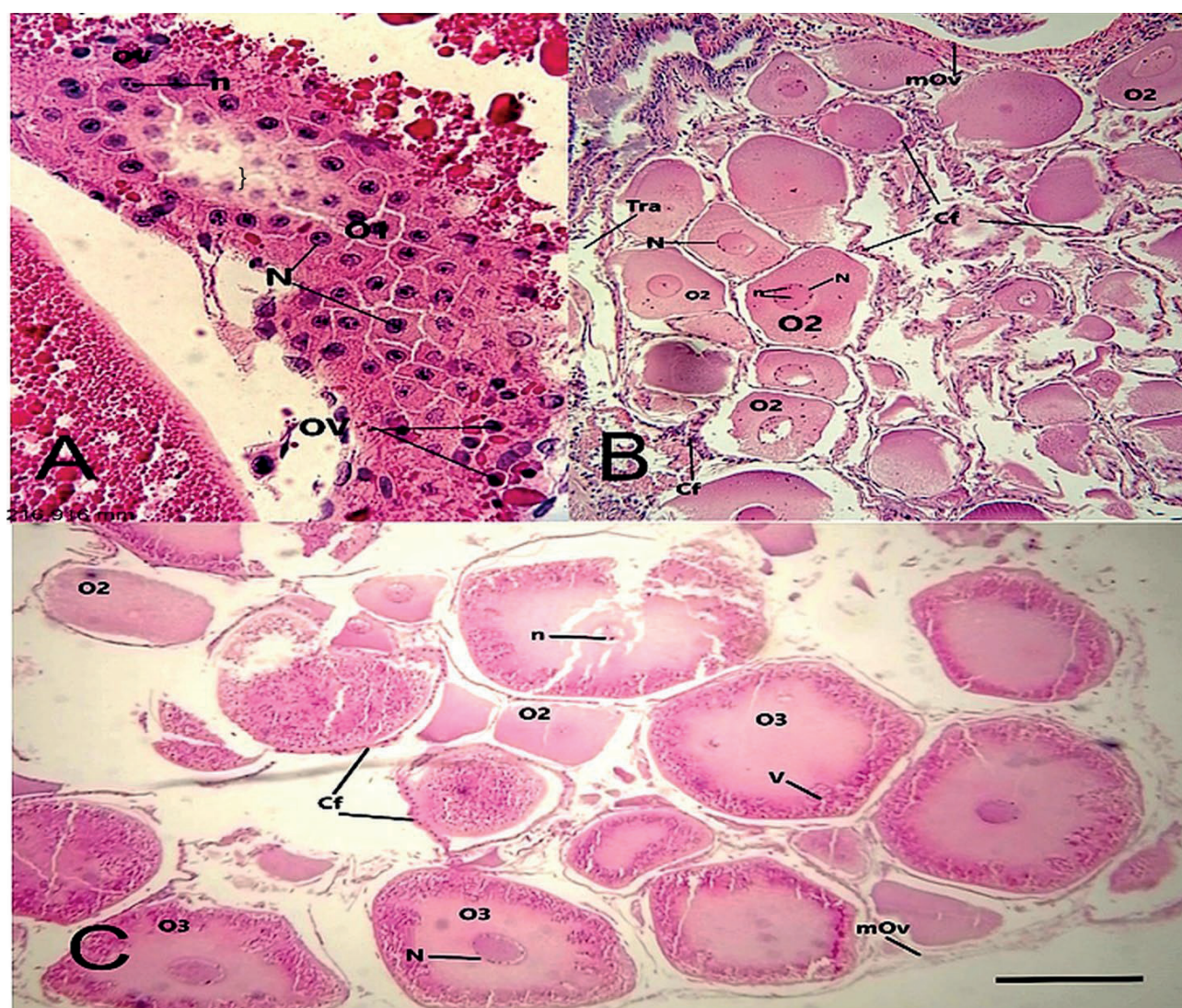


Figura 4. Estados de diferenciación de los ovocitos durante la maduración ovárica. A) y B) Ovogonias y ovocitos previtelogénicos; C) Transición de ovocitos previtelogénicos a vitellogénicos; Ov: Ovogonia; O1: Ovocito previtelogénico temprano; O2: Ovocito previtelogénico tardío; O3: Ovocito vitellogénico temprano; Tra: Trabécula; Cf: Células foliculares; N: Núcleo; n: Nucleolo; mOv: Membrana ovárica; V: Vitelo proteínico.

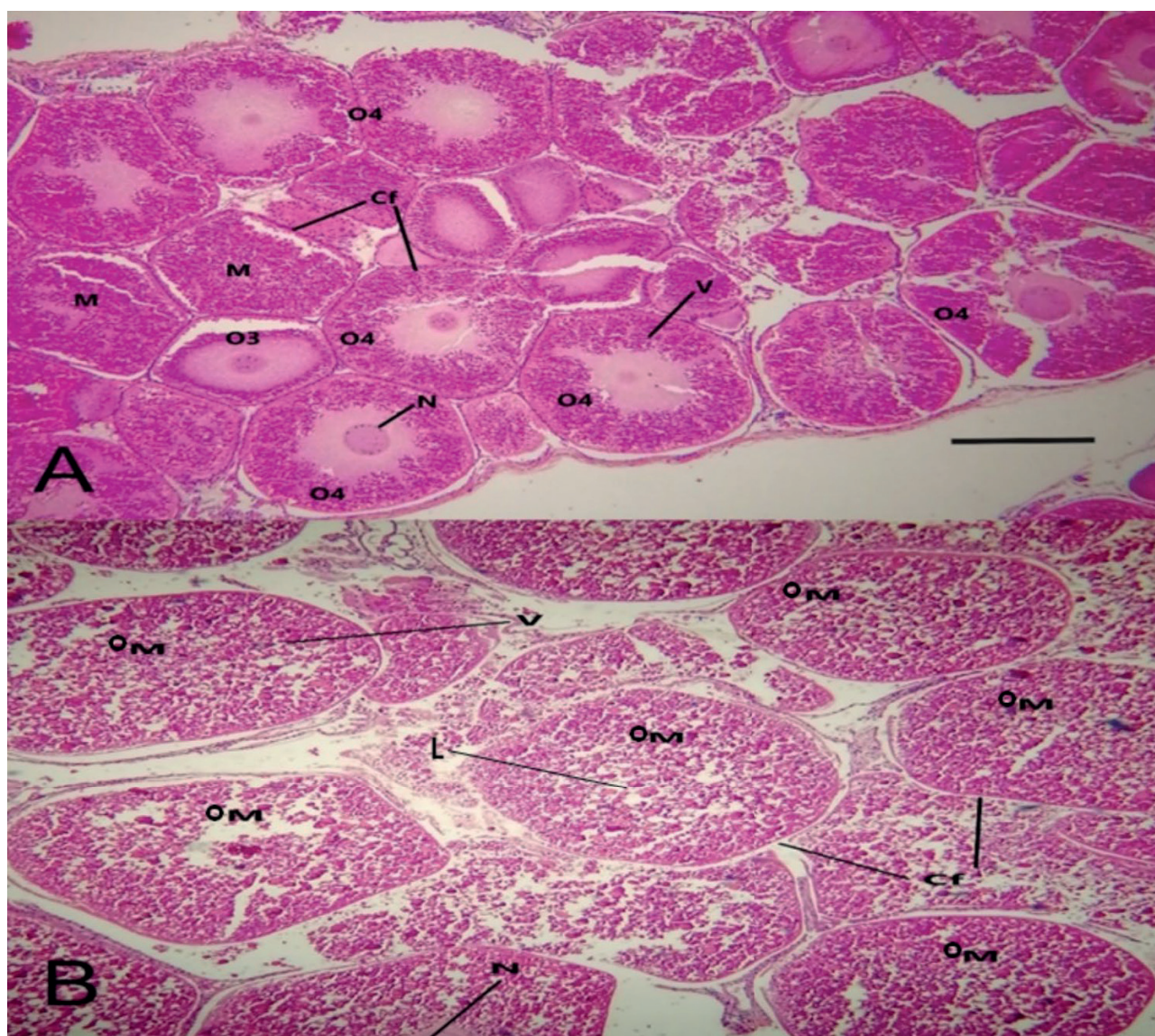


Figura 5. Estados de diferenciación de los ovocitos durante la maduración ovárica. A) Ovocitos vitelogénicos, B) Ovocitos maduros, O3: Ovocito vitelogénico temprano, O4: Ovocito vitelogénico tardío, OM: Ovocito maduro, Cf: Células foliculares, N: Núcleo, V: Vitelo proteínico, L: Gota de lípido.

Ovocito vitelogénico temprano (O3): este ovocito, al igual que el O2, posee un aumento de células foliculares y se caracteriza por la presencia de pequeñas gotas de lípidos que se distribuyen aleatoriamente (grasa) en la periferia del citoplasma; además, el núcleo es esférico, agrandado y ubicado en el centro de este. En este tipo de ovocitos se logra evidenciar fácilmente los nucléolos. (Fig. 4C) y su diámetro promedio oscila entre 100 y 150 μm .

Ovocito vitelogénico tardío (O4): hay un mayor crecimiento del ovocito, su diámetro promedio es de 150 a 300 μm ,

presentando un aumento en la cantidad y tamaño de las gotas de lípidos, las cuales se ubican en todo el citoplasma; además, posee placas de vitelo de origen proteico. Estos ovocitos se encuentran más hacia la periferia del citoplasma, después de los O3, y representan ovarios en etapa de vitelogenénesis intermedia. Las células foliculares son más evidentes y de forma más alargada (Fig. 5A).

Ovocito maduro (OM): este ovocito es el más grande debido a que su diámetro promedio es de 300 a 500 μm ; en comparación con los anteriormente mencionados, posee una forma hexagonal, característica de ovarios en estado de

madurez avanzada. Están ubicados hacia la periferia cerca de la membrana del ovario. El núcleo tiende a perder su forma redonda y la membrana nuclear es poco visible; su citoplasma es fuertemente acidófilo, lo que conlleva una coloración roja intensa; también presenta grandes plaquetas vitelinas proteicas y lipídicas. Las células foliculares son difíciles de observar (Fig. 5B). Los OM en ovarios maduros pueden ser vistos a simple vista macroscópicamente.

Índice Gonadosomático (IGS) e Índice Hepatosomático (IHS) según Sexo

Adicionalmente, los resultados anteriores se soportan mediante los resultados del Índice Gonadosomático (IGS)

y Hepatosomático (IHS) a lo largo del periodo de muestreo tanto para hembras como para machos (Fig. 6 A y B).

Teniendo en cuenta la figura 7, se observa que existen diferencias significativas positivas ($p = 0,0000$, $\omega^2 = 0,19$, $F = 38,34$, $df = 71,25$) entre el IGS en hembras con respecto a los machos, donde las hembras presentan un IGS más alto que el de los machos. En cuanto al IHS, existen diferencias significativas positivas ($p = 0,0000$, $\omega^2 = 0,21$, $F = 41,19$, $df = 128,2$) con respecto a una mayor movilización de reservas energéticas (IHS) en hembras que en machos (Fig. 6B) y se presenta una relación directa con el IGS (Fig. 6A).

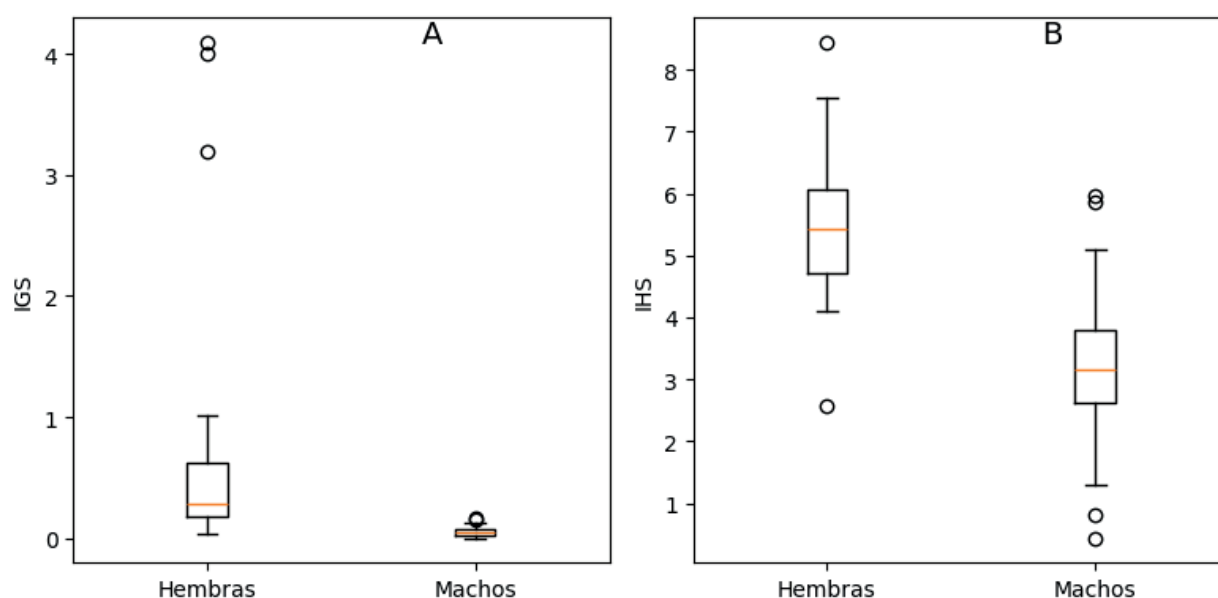


Figura 6. A. Índices gonadosomáticos (IGS) ($p = 0,0000$) según el sexo. **B.** Índices Hepatosomáticos (IHS) ($p = 0,0000$)

Índice Gonadosomático (IGS) e Índice Hepatosomático (IHS) con respecto al periodo de estudio

Los valores mensuales del IGS (Fig. 7A) no son estadísticamente significativos ($p = 0,89$, $\omega^2 = 0$, $F = 0,19$, $df = 31,38$) a lo largo del periodo de estudio en hembras; aun así, se puede observar, que las hembras tendrían mayor actividad reproductiva en noviembre en comparación con el resto de los meses, de la misma forma sucede en machos donde los datos no son significativos ($p = 0,06$, $\omega^2 = 0,081$, $F = 2,76$, $df = 22,46$) en cuanto al comportamiento de los valores mensuales del IGS (Fig. 7B) ya que el IGS es similar en casi todos los meses. También es importante destacar que los valores del IGS son claramente mayores en el caso de las hembras.

En el caso del IHS (Fig. 8), los valores medios mensuales del IHS en hembras (Fig. 8A) son significativos con una baja correlación positiva ($r = 0,30-0,39$) a lo largo del periodo de estudio ($p = 0,03$, $\omega^2 = 0,09$, $F = 3,21$, $df = 33,9$), notándose una pequeña diferencia entre los valores de septiembre, noviembre y diciembre, en machos los valores no son significativos ($p = 0,08$, $\omega^2 = 0,12$, $F = 2,49$, $df = 20,65$); no obstante, el mes de diciembre presenta diferencias con los meses de septiembre y noviembre, aun cuando los valores son más pequeños (Fig. 8B).

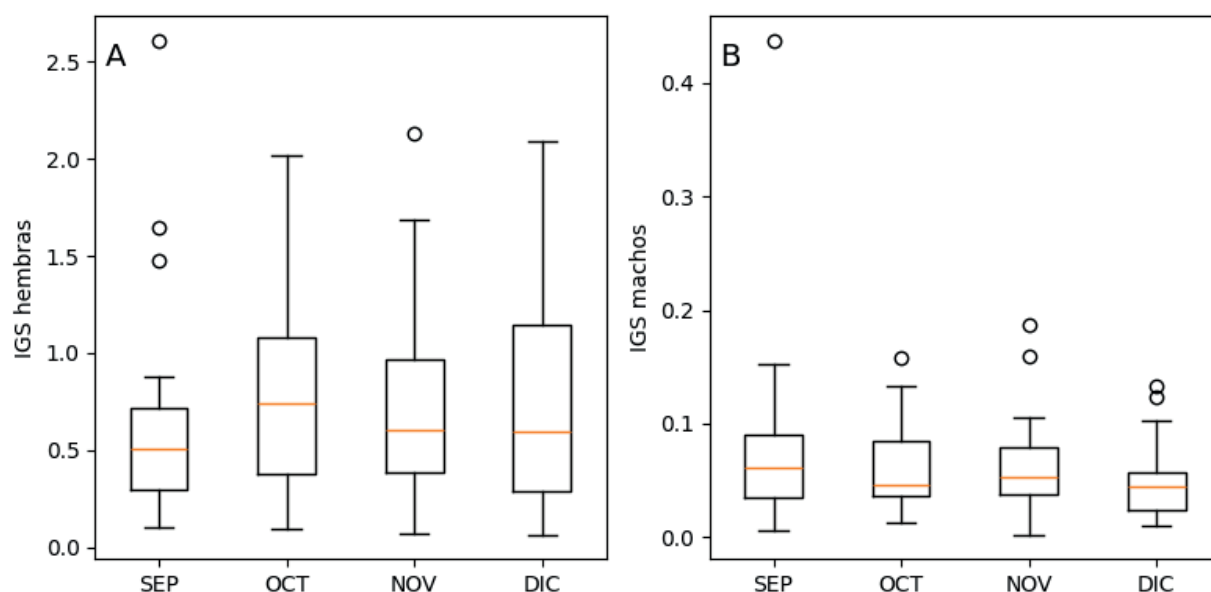


Figura 7. Índices gonadosomáticos (IGS) de hembras (A) ($p = 0,89$) y machos (B) ($p = 0,065$) según el mes de muestreo. SEP: septiembre, OCT: octubre, NOV: noviembre, DIC: diciembre.

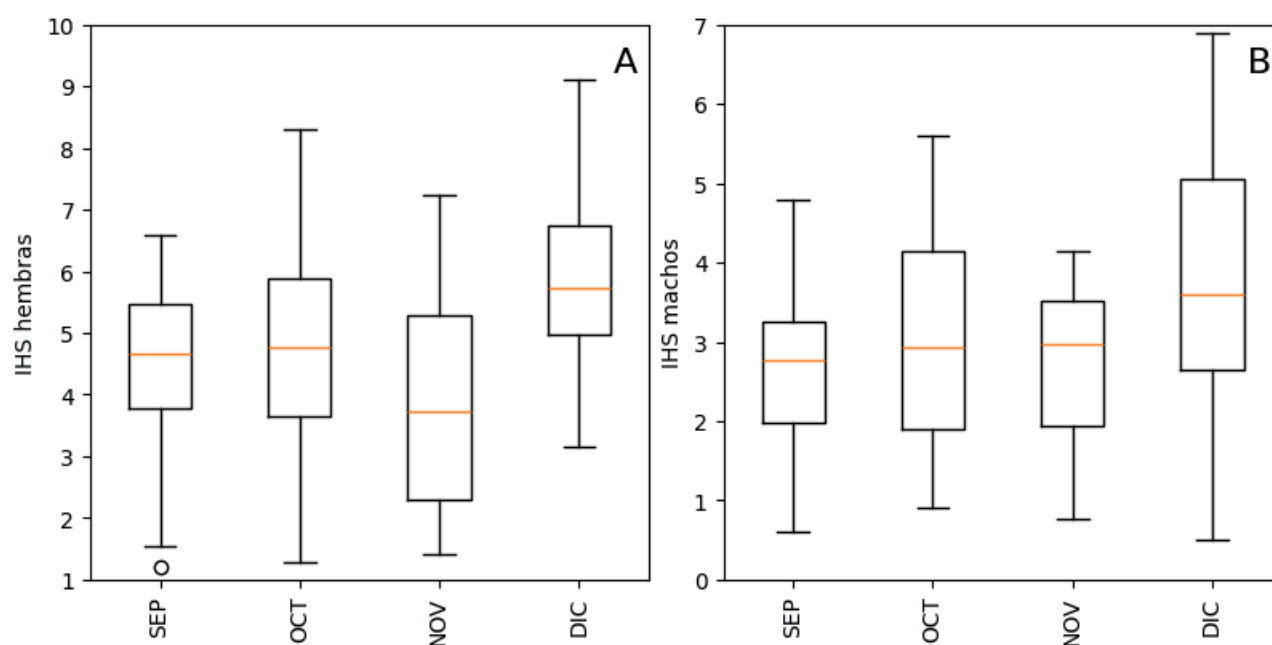


Figura 8. Box-plot de los índices hepatosomáticos (IHS) de hembras (A) ($p = 0,03$) y machos (B) ($p = 0,08$) según el mes de muestreo. SEP: septiembre, OCT: octubre, NOV: noviembre, DIC: diciembre.

Desarrollo ovárico durante los meses de muestreo

Teniendo en cuenta la MANOVA realizada (Fig. 9) el ciclo de madurez ovárico tiene una relación significativa positiva (Wilks' $p = 0,00$, $F = 7,64$, $df = 64,79$) (Pillai $p = 0,00$, $F = 4,23$, $df = 96$) con los meses de

muestreo, notándose que septiembre sería el mes con mayor cantidad de hembras maduras hasta el mes de noviembre, mientras que en diciembre habría mayor presencia de hembras en estado intermedio, temprano, previtelogénico e inmaduro.

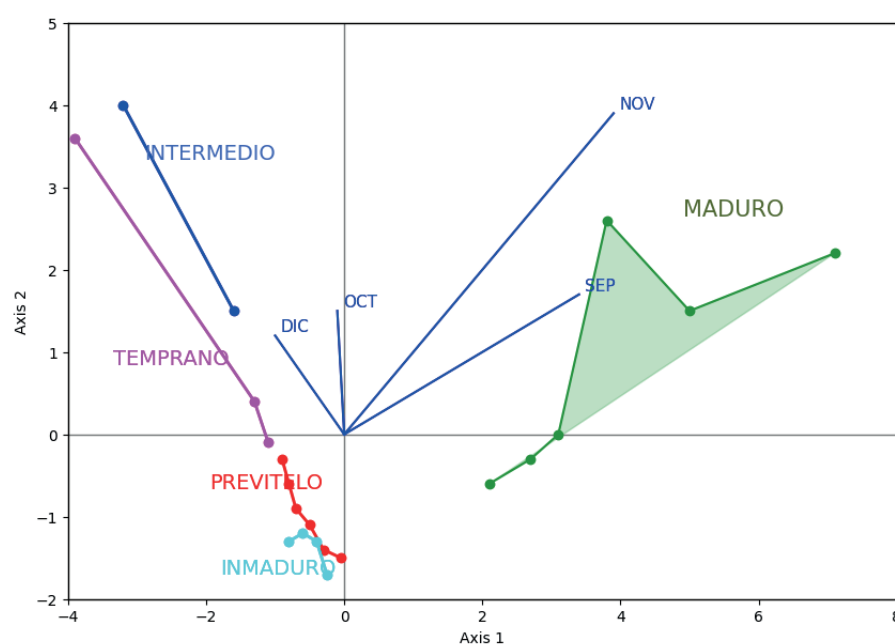


Figura 9. Gráfico correspondiente a la Anova multivariada (MANOVA) para la variación de los estadios ováricos durante la época de muestreo para hembras (Wilks' $p = 0,0089$ y Pillai $p = 0,0087$). Azul: estado de vitelogénesis intermedia, verde: estado de madurez avanzada, azul claro: estado inmaduro, rosa: estado de vitelogénesis temprana, rojo: estado de previtelogénesis. DIC: diciembre, OCT: octubre, NOV: noviembre, SEP: septiembre.

Índice Gonadosomático en la Maduración del Ovario

El IGS (%) fue significativo entre las etapas del desarrollo ovárico ($p = 0,0089$, $\omega^2 = 0,61$, $F = 20,71$, $df = 20,06$), incrementando en promedio de 0,10% en hembras con

ovarios inmaduros hasta 2,79% en hembras con ovarios maduros (Fig. 10), lo que infiere una correlación positiva fuerte entre IGS y los estadios ováricos, siendo el estadio ovárico maduro el que mayor actividad reproductiva presenta.

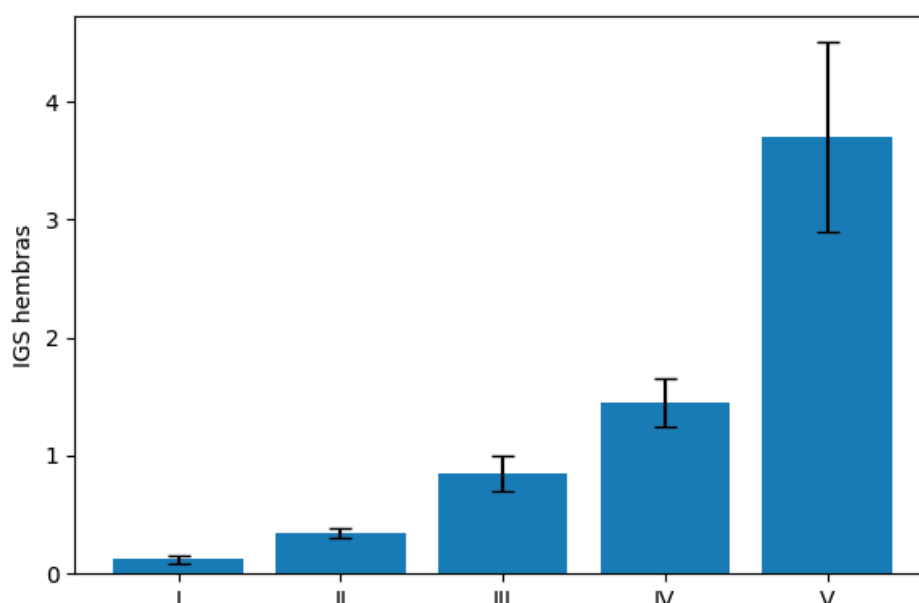


Figura 10. Índice gonadosomático (IGS) según estado de maduración ovárica ($p = 0,0098$). I: Estado inmaduro, II: Estado de previtelogénesis, III: Estado de vitelogénesis temprana, IV: Estado de vitelogénesis intermedia, V: Estado de madurez avanzada.

Relación entre el peso total corporal, longitud y desarrollo ovárico

Estadísticamente existe una relación significativa positiva ($p = 0,009$, $\omega^2 = 0,34$, $F = 13,04$, $df = 22,63$) entre el peso de las hembras y los estados de desarrollo ovárico. Teniendo en cuenta la figura 11A, se observa que las hembras con bajo peso corporal presentan ovarios en estado inmaduro y, para los siguientes estados de maduración, las hembras son más pesadas; no obstante, las hembras con mayor peso corporal presentan, en la mayoría de los casos, ovarios en estado intermedio del desarrollo.

En cuanto a la longitud corporal de las hembras (Fig. 11B) existe una relación significativa positiva ($p = 0,0002$, $\omega^2 = 0,31$, $F = 8,43$, $df = 23,12$) respecto a los estadios ováricos, donde hembras de tamaños corporales pequeños en su mayoría presentaron ovarios en estado de desarrollo inmaduro, mientras que los otros estadios ováricos podrían presentarse en longitudes medianas y grandes, aunque, el estado previtelogénico al igual que en el peso es el que mayor variabilidad tiene con respecto a la longitud corporal. Sin embargo, todos los estados de desarrollo sí están presentes en longitudes más grandes en hembras a excepción del estado inmaduro.

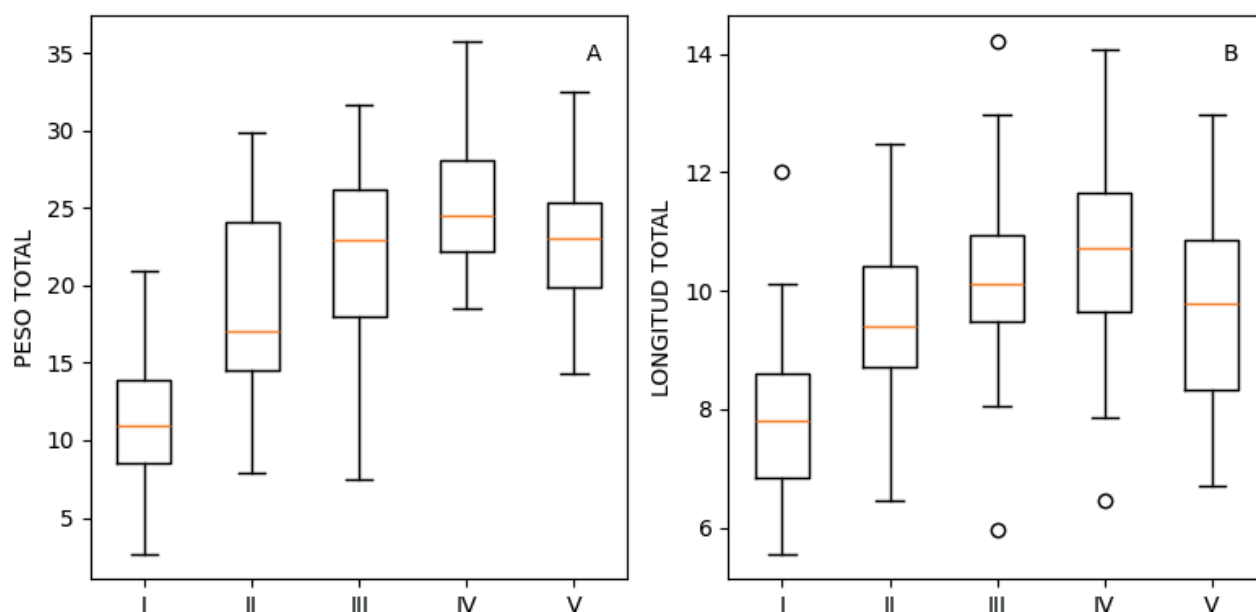


Figura 11. Box-plot del peso (A) ($p = 0,0089$) y longitud total (B) ($p = 0,0088$) según estado de maduración ovárica. I: Estado inmaduro, II: Estado de previtelogénesis, III: Estado de vitelogénesis temprana, IV: Estado de vitelogénesis intermedia, V: Estado de madurez avanzada.

Relación longitud corporal, peso gonadal y hepatopáncreas:

El peso de los ovarios (Fig. 12A) presenta una baja correlación positiva ($r = 0,05$, $p = 0,03$) con la longitud cefalotorácica aun cuando el valor de p es significativo, y lo mismo sucede en machos ($r = 0,33$, $p = 0,00$) (Fig. 12B). La correlación entre las variables es muy baja.

En la figura 13A, el resultado obtenido es significativo positivo ($p = 0,0001$, $r = 0,43$) entre el peso del hepatopáncreas y la longitud de la hembra de *P. clarkii*. En cuanto a la relación del peso del hepatopáncreas y el peso corporal (Fig. 13B) son significativos ($p = 0,0001$) y la correlación es positiva ($r = 0,38$)

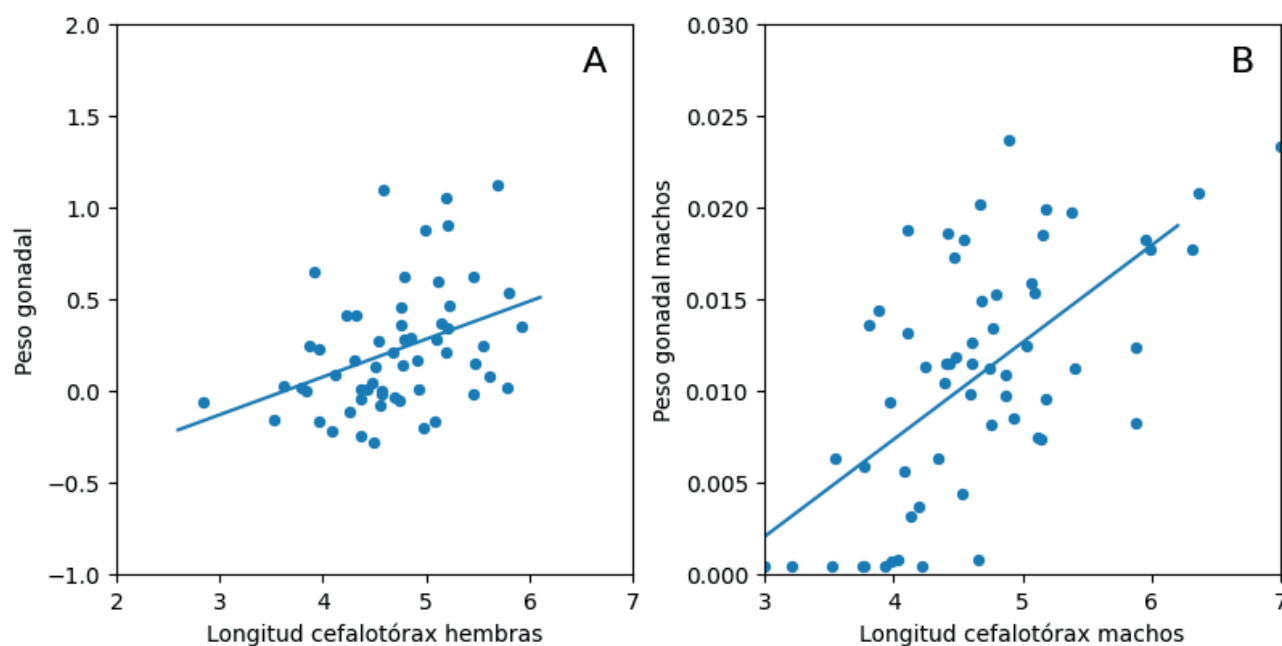


Figura 12. Correlación lineal del peso de las gónadas con respecto a la longitud cefalotóraca en hembras (A) ($r = 0,05$, $p = 0,03$) y machos (B) ($r = 0,34$, $p = 0,0001$) de *Procambarus clarkii*.

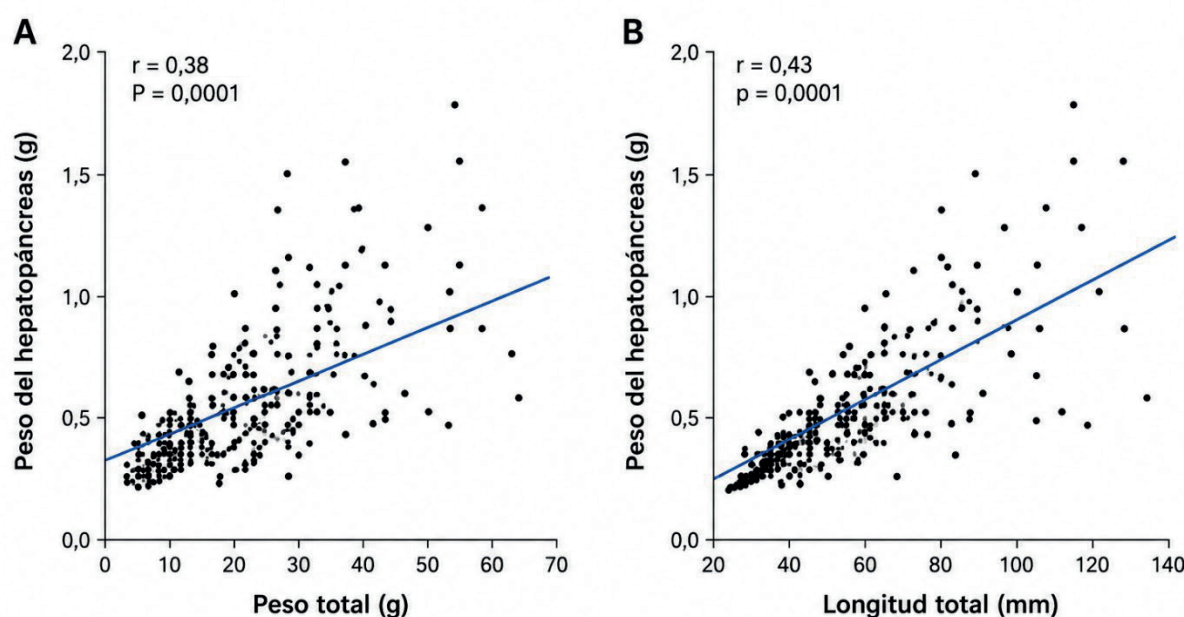


Figura 13. Correlación lineal del peso del hepatopáncreas con respecto al peso total (A) ($r = 0,38$ y $P = 0,0001$) y longitud total (B) ($r = 0,43$ y $P = 0,0001$) de hembras de *Procambarus clarkii*.

DISCUSIÓN

Distintas investigaciones sobre la estructura y desarrollo interno del ovario realizadas en crustáceos decápodos han mostrado un alto grado de diferenciación en los resultados obtenidos, en cuanto a la morfología y fisiología del

ovario (D'Abramo & Sheen, 1994; Moreno *et al.*, 2012; Sharifian *et al.*, 2015). En *P. clarkii* se observó la forma trilobulada del ovario a manera de un par de sacos ováricos anteriores y un solo saco ovárico posterior (Fig. 2), igual a la reportada por Ando & Makioka (1998) y Saad & Hassan (2010) para *P. clarkii* y similar a la reportada para

Astacus leptodactylus Eschscholtz, 1823 (Holdich, 2002) pero diferente considerablemente de la forma en “H”, reportada para la langosta *Parastacus pugnax* (Poepig, 1835) (Rudolph, 1997) y *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) (Vazquez, 2008).

El ovario de *P. clarkii* está localizado en el cefalotórax, ubicado dorsalmente sobre el hepatopáncreas, en el lado ventral del corazón (Fig. 2), como en la langosta *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012) y *Parastacus defossus* Faxon, 1898, ambas de la familia Astacidae. Desde cada base de los lóbulos ováricos anteriores, sale un oviducto estrecho y débil lateralmente, el cual conecta el exterior de la hembra con los gonoporos ubicados en las coxas del tercer par de patas en donde se liberan los huevos (Vázquez, 2008), similar a lo que ocurre en otras especies de langostas de agua dulce de la familia Cambaridae.

La pared ovárica de *P. clarkii* presenta una delgada capa de tejido muscular, característica que comparte con otros crustáceos de agua dulce como *C. quadricarinatus* (Vázquez, 2008). Debajo de esta membrana hay un tejido conectivo, el cual está conformado por fibras de colágeno ubicadas longitudinalmente y anularmente entre las células como en la langosta *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Rudolph, 1997). Por otra parte, el germarium se localiza de forma independiente en el epitelio ovárico y se localiza en forma de línea central en las bolsas oogenéticas, como en *A. leptodactylus* Eschscholtz, 1823 (Üniş & Erkan, 2012). Es preciso mencionar que en *C. quadricarinatus*, durante el desarrollo del ovario, la parte puente que une los lóbulos del ovario en forma de H no posee germario y solo existen ovocitos en esta zona.

En el presente estudio, el ciclo ovárico se describió en seis estados de madurez gonadal (inmaduro, previtelogénesis, vitelogénesis temprana, vitelogénesis intermedia, madurez avanzada, desovado) para *P. clarkii* (Tabla 1). Teniendo en cuenta los estudios realizados en *Panulirus argus* (Latreille, 1804), *A. leptodactylus* Eschscholtz, 1823 (Üniş & Erkan, 2012) y en *Parastacus pilimanus* (von Martens, 1869), *P. varicosus* Faxon, 1898 y *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Verdi, 2007), en *P. clarkii* se observó que la variación en los colores del ovario (Fig. 3), están estrechamente relacionados con el desarrollo del mismo, en cuanto a tamaño, secuencia en el desarrollo gonadal, organización y estado de madurez de los ovocitos dentro de la gónada. Teniendo en cuenta este resultado, se puede determinar que la coloración del ovario y en la mayoría de los casos, el tamaño pueden ser factores importantes, para reconocer mediante la observación externa del ovario, el estado de maduración de los gametos, y el estado de desarrollo por el que están pasando las células de *P. clarkii*.

Algunos autores como Dávila *et al.* (2009) también sugieren que es importante tener precaución al tomar el color como criterio de selección, pues en muchos casos se podría producir un error o sesgo debido a que existe una transición entre un color y otro, por lo que así mismo el estado ovárico podría variar en el desarrollo, también sugiere que es importante que se tenga en cuenta la presencia o no de receptáculo seminal o sus restos pues esto es un indicador importante de las hembras en actividad reproductiva (Hobbs, 1984; Vazquez, 2008).

Se determinaron seis estados de diferenciación celular, los cuales se clasificaron macroscópicamente (Fig. 3) y microscópicamente (Fig. 4 y 5) por la forma, el tamaño, el color y el diámetro de los ovocitos. La forma de organización de estas células de acuerdo con su estado de desarrollo al interior de las bolsas oogénicas ha sido anteriormente reportada por Ando & Makioka (1998) y Saad & Hassan (2010) para *P. clarkii*, y Üniş & Erkan (2012) para *A. leptodactylus*, donde postularon que en el ovario de *P. clarkii* la mayoría de los ovocitos son de aproximadamente del mismo tamaño, pero siempre hay ovocitos inmaduros presentes entre los óvulos maduros en la misma gónada, es decir que no siempre todos los ovocitos pasan por la misma etapa de desarrollo, incluso en el ovario completamente maduro.

Este tipo de maduración del ovario ocurre de manera similar en otros crustáceos (Yamaguchi, 2001; Moreno *et al.*, 2012; Vazquez, 2008), en los que existe una mayor dominancia o presencia de ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos según el estado de desarrollo ovárico, también se han llevado a cabo otras investigaciones previas utilizando técnicas histológicas, histoquímicas, entre otros, para la identificación de estados de desarrollo de los ovocitos, sugiriendo siete estados de desarrollo para *Cherax cainii* (Ando & Makioka, 1998), para *C. quadricarinatus* se propusieron ocho estados de desarrollo de los gametos por Carmona-Osalde *et al.* (2004 a) y para *S. iranica* también se reportaron ocho estados de desarrollo por Sharifian *et al.* (2015).

El desarrollo y el cambio de tamaño en los ovocitos está asociada principalmente con la movilización de reservas energéticas del hepatopáncreas hacia las gónadas, determinando la actividad reproductiva al ingresar vitelo proteico y gotas de lípidos, las cuales comienzan su movilización desde los primeros estados de desarrollo celular y se ubican hacia la periferia del citoplasma (Souty-Grosset *et al.*, 2016; Moreno *et al.*, 2012; Revathi *et al.*, 2011), determinando de esta manera en *P. clarkii* la etapa final del estado de previtelogénesis y el comienzo de la vitelogénesis temprana. En algunas especies, donde se divide

el ciclo de madurez en dos etapas (vitelogénesis primaria y secundaria), la incorporación de estas gotas de lípidos al citoplasma marca el final de la vitelogénesis primaria (Abdu *et al.*, 2000).

En *P. clarkii* como en *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012) en la periferia del citoplasma de los ovocitos maduros hay mayor presencia de gránulos de vitelo los cuales son más grandes en tamaño con respecto a otros estados de desarrollo celular, por lo que el núcleo tiende a ser muy pequeño, característica que también se observó externamente en los ovarios maduros los cuales a simple vista presentaban mayor presencia de vitelo en su interior. De esta manera en *P. clarkii* el quinto estado de madurez gonadal, muestra mayor similitud con *C. quadricarinatus* (Abdu *et al.*, 2000; Vazquez, 2008) y *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012) en cuanto a la morfología e histología gonadal.

En *P. clarkii*, el ovocito maduro es la célula dominante en esta etapa, es decir, hay mayor cantidad de vitelo y posee un gran tamaño, por lo que no se observa el germarium. Estos ovocitos en el quinto estado de desarrollo representan el ovario completamente maduro, el cual como se mencionó en los resultados, en su mayoría es de color rojo a morado, los cuales están listos y próximos para el desove, como en *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012), *C. quadricarinatus* (Abdu *et al.*, 2000; Vazquez, 2008) y *Macrobrachium caementarius* (Molina, 1782) (Moreno *et al.*, 2012).

Los cortes histológicos de ovarios en hembras próximas a desovar de *P. clarkii*, mostraron que al igual que en *C. caementarius* y *Cambaroides japonicus* (De Haan, 1841) (Sarojini *et al.* 1995; Nakata & Goshima, 2004) la ovulación y desove ocurrirá de manera casi simultánea, ya que no se encontraron ovocitos maduros fuera de los folículos, y también se puede inferir que *P. clarkii* realiza desoves totales, ya que en las pocas hembras encontradas con huevos, la mayoría tenía un número similar al número de ovocitos observados en los ovarios maduros. Es importante también destacar que en los ovarios postdesove, la presencia de ovocitos maduros es mínima y esporádica.

También es importante mencionar que en algunos ovarios en diferentes estados de desarrollo gonadal en particular el IV y el V de *P. clarkii*, la presencia de ovogonias, ovocitos previtelogénicos, y vitelogénicos y en otro caso maduros, determina que a medida que avanza el proceso de maduración, algunos ovocitos se desarrollan más rápido mientras que otros avanzan más lento o están inactivos similar a lo que ocurre en *C. caementarius* (Moreno *et al.*, 2012) y ya descrito para *P. clarkii* por Mubarak (2001) y Saad & Hassan, (2010) en Egipto. Este comportamiento reproductivo de las gónadas conlleva la capacidad de *P.*

clarkii para realizar constantemente procesos de maduración y desove durante todo el periodo reproductivo, de tal manera que, a pesar de que *P. clarkii* pone pocos huevos por la estructura simple de su ovario (Ando & Makioka, 1998) y en comparación con las langostas de mar (Holdich, 2002), este cangrejo lo hace frecuentemente, indicando desoves consecutivos.

El presente trabajo corrobora la idea principal sobre la íntima relación entre los procesos reproductivos y la participación del hepatopáncreas de *P. clarkii* en estos. En los machos de *P. clarkii*, los IGS fueron bajos (7%) y los IHS un poco más altos (6,5%) con respecto a las hembras, cuyo IGS fue alto (92%) y los IHS ligeramente más altos (7,7%). Estos resultados indican que *P. clarkii* tiene diferentes estrategias reproductivas que depende del sexo, donde las hembras invierten más energía para la reproducción, ya que detienen el crecimiento cuando alcanzan la madurez, mientras que los machos invierten más energía para el crecimiento y movilidad (Mossolin & Bueno 2002; Thiel & Hinojosa, 2003; Papa *et al.*, 2004), similar a lo informado para machos de *A. astacus* (Lucić *et al.*, 2006) y *C. caementarius* (Marco-Medina *et al.*, 2019). Además, la coloración de los ovarios en las hembras según Varadarajan & Subramoniam (1980) está fuertemente relacionada con la presencia de p-caroteno en el organismo, pues este compuesto se concentra en la hepatopáncreas y podría estar transportándose por la hemolinfa durante la vitelogénesis (Varadarajan & Subramoniam, 1980).

En las hembras, la relación entre el IGS e IHS variaron según los meses de muestreo (Fig. 8A). Los meses septiembre y noviembre tienen una mayor actividad reproductiva en comparación con los otros meses, mientras que el IHS (Fig. 9A) se comporta de manera contraria evidenciándose así una relación inversamente proporcional entre los índices, entre más altos los valores del IGS, valores más bajos de IHS; en machos (Fig. 8B) el mes de octubre fue el mes con mayor actividad reproductiva, comportándose de manera similar en el IHS (Fig. 9B), por lo que probablemente no existe una relación específica entre el hepatopáncreas y las gónadas en este sexo.

Como se señaló anteriormente, el mayor centro de reservas orgánicas e inorgánicas en los crustáceos es el hepatopáncreas (Passano, 1960), estando fuertemente ligado al desarrollo gonadal durante el ciclo reproductivo, por consiguiente, en hembras moviliza algunas reservas durante el desarrollo ovárico (Zara *et al.*, 2013), sintetizando lípidos y proteínas para el desarrollo de los ovocitos (Sastri, 1983), ya que este es un proceso importante para estas.

En la Fig. 10 Se puede evidenciar que existe una mayor cantidad de hembras en estado maduro en los meses de septiembre a noviembre, mientras que diciembre y posiblemente los meses próximos serían meses de transición para el resto de los estados de desarrollo, por lo que la época reproductiva estaría en los meses de septiembre y noviembre, similar a lo que ocurre con *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012).

Durante la maduración del ovario de *P. clarkii* (Fig. 11) hubo incremento del IGS desde el estado II hasta el V, similar a lo sucedido en *C. caementarius* (Medina *et al.*, 2019) y *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012), debido al crecimiento sucesivo de los ovocitos también relacionado con la acumulación activa de vitelo en los ovocitos, comienzan a estar altos en el III estado de desarrollo gonadal, lo que causa un desarrollo más rápido de los ovarios (Okumura & Aida, 2000; Rosa & Nunes, 2002) de *C. caementarius* (Medina *et al.*, 2019).

Las hembras de *P. clarkii* inician su proceso de maduración gonadal desde pesos bajos (8 a 45 g) de acuerdo a Manor *et al.* (2004), aun así los análisis del IGS muestran que el estado de desarrollo y el peso corporal (Fig. 12A) están muy poco correlacionados entre sí, puesto que hembras pesadas pueden estar en estado inmaduro y hembras livianas en estado maduro, no obstante, existen hembras pesadas con ovarios livianos debido a que están en estado de post-desove, aun así, es importante mencionar que las hembras de *P. clarkii* según Pedroza-Medina (2017) alcanzan la madurez sexual a los 7,6 cm de longitud total, pero esto no determina el proceso ni el estado de desarrollo ovárico de la hembra (Reyes-Avalos, 2014), puesto que, las hembras derivan energía hacia el crecimiento ovárico desde tallas tempranas, ya que según Lucić *et al.* (2006), Lucić *et al.* (2012) y Medina *et al.* (2019), éstas poseen mayor actividad metabólica destinada hacia el desarrollo ovárico y la muda, siendo estos dos procesos de gran importancia en estos organismos, de igual manera el crecimiento de los organismos puede estar conexo con factores externos como la temperatura, el agua, la salinidad entre otros, mientras que el desarrollo ovárico no se ve afectado (Ramalho *et al.*, 2008). De igual manera sucede con la longitud cefalotorácica y el peso gonadal tanto en hembras como en machos.

A su vez, el tamaño del hepatopáncreas no está correlacionado con la longitud corporal ya que según Medina *et al.* (2019) este es un órgano que está en constante actividad metabólica por lo que destina sus reservas a la reproducción, muda, crecimiento y movilidad en machos, por lo que su tamaño aumenta y disminuye según la actividad metabólica y alimenticia que muchas veces se ve afectada tanto en el proceso de muda como por el desove.

Después del análisis de los datos y su relación con estudios anteriores, se puede concluir que las hembras de *P. clarkii* presentan un ovario en forma de Y, el cual se mantiene constante en la forma y ubicación en el cefalotórax, tanto en hembras maduras como inmaduras. Se reconocieron seis etapas de maduración ovárica en función de la coloración, la estructura histológica, la proporción de los distintos tipos y tamaños celulares, las cuales se clasificaron según su grado de maduración en 6 estados de desarrollo. La distribución de los ovocitos en hembras inmaduras es homogénea, encontrándose en previtelogénesis y vitelogénesis temprana, con el germarium centrado. En cambio, las hembras maduras pueden presentar diferentes tipos de células: germinativas (ovogonias, ovocitos en distinto desarrollo) y somáticas (células foliculares), siendo esto causa de un desarrollo ovárico sincrónico. En hembras de *P. clarkii*, se evidenció una clara correlación entre el incremento del IGS conforme maduró el ovario y la disminución del IHS, evidenciándose que el hepatopáncreas es un órgano que influye significativamente en la maduración sexual de las hembras, mientras que en los machos destina las reservas al crecimiento y la movilidad. Si bien es cierto que las hembras alcanzan la madurez sexual cuando miden 7,6 cm, el peso y la longitud total no son factores determinantes que establezcan el estado de madurez ovárica de hembras de *P. clarkii*, ya que pueden estar sujetos a la calidad de la dieta y las condiciones ambientales.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

EEAD = Evelin Estrada Arango-Dayiana

JYAP = Julian Yessid Arias-Pineda

IAZC = Ingrid Angelica Zarate-Caballero

MHTO = Mery Helen Tijaro-Orejuela

Conceptualization: JYAP

Data curation: IAZC

Formal Analysis: EEAD

Funding acquisition: JYAP

Investigation: MHTO

Methodology: JYAP

Project administration: JYAP

Resources: EEAD

Software: IAZC

Supervision: JYAP

Validation: EEAD

Visualization: JYAP

Writing – original draft: EEAD

Writing – review & editing: MHTO

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdu, U., Yehezkel, G., & Sagi, A. (2000). Oocyte development and polypeptide dynamics during ovarian maturation in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Invertebrate Reproduction & Development*, 37, 75–83.
- Álvarez, F., Villalobos, J. L., & Lira, E. (2014). Biodiversidad de crustáceos decápodos (Crustacea: Decapoda) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 399–407.
- Ando, H., & Makioka, T. (1998). Structure of the ovary and mode of oogenesis in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Morphology*, 236, 9–20.
- Arias-Pineda, J. Y., & Rodríguez, W. D. (2012). First record of the invasive species *Procambarus (Scapulicambarus) clarkii* (Girard, 1852) (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) from the Colombian Eastern Cordillera. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.)*, 51, 313–315.
- Arias-Pineda, J. Y., Martín, S., González-Castillo, N. S., Castillo-Ávila, C. C., & García-Sánchez, J. S. (2020). Trampas experimentales para la captura de decápodos de agua dulce en Colombia. *The Biologist (Lima)*, 18, 251–262.
- Arias-Pineda, J. Y., & Pedroza-Martínez, D. R. (2018). Presencia del cangrejo rojo *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) en la sabana de Bogotá, Colombia. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.)*, 62, 283–286.
- Brusca, R. C., & Brusca, G. J. (2005). *Invertebrates* (2nd ed.). Sinauer Associates.
- Campos, M. R. (2005). *Freshwater crabs from Colombia: A taxonomic and distributional study*. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Carmona-Osalde, C., Rodríguez-Serna, M., Olvera-Novoa, M. A., & Gutiérrez-Yurrita, P. J. (2004a). Effect of density and sex ratio on gonad development and spawning in the crayfish *Procambarus llamasii*. *Aquaculture*, 236, 331–339.
- Carmona-Osalde, C., Rodríguez-Serna, M., Olvera-Novoa, M. A., & Gutiérrez-Yurrita, P. J. (2004b). Gonadal development, spawning, growth and survival of the crayfish *Procambarus llamasii* at three different water temperatures. *Aquaculture*, 232, 305–316.
- Cavalli, R. O., Scardua, M. P., & Wasielesky, W. (1997). Reproductive performance of different sized wild and pond-reared females of *Penaeus paulensis*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28, 260–267.
- Comoglio, L. I., Smolko, L., & Amin, O. (2005). Effects of temperature on growth, molting and survival of *Palaemonetes argentinus*. *Aquaculture*, 249, 179–186.
- Dávila, D., Cruz, R., Sanz, A., Perera, E., & Saavedra, G. (2009). Histología gonadal de la langosta *Panulirus argus*. 1. hembras. *Revista de Investigaciones Marinas*, 30, 215–225.
- D'Abramo, L. R., & Sheen, S. S. (1994). Nutritional requirements, feed formulation, and feeding practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Reviews in Fisheries Science*, 2, 1–21.
- De Grave, S., Decock, W., Dekeyser, S., Davie, P. J. F., Franssen, C. H. J. M., Boyko, C. B., Poore, G. C. B., Macpherson, E., Ah Yong, S. T., Crandall, K. A., de Mazancourt, V., Osawa, M., Chan, T.-Y., Ng, P. K. L., Lemaitre, R., van der Meij, S. E. T., & Santos, S. (2023). Benchmarking global biodiversity of decapod crustaceans (Crustacea: Decapoda). *Journal of Crustacean Biology*, 43, ruad042.
- De Vlaming, V., Grossman, G., & Chapman, F. (1982). On the use of the gonadosomatic index. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 73, 31–39.
- Dörr, A. J. M., Scalici, M., Caldaroni, B., Magara, G., Scoparo, M., Goretti, E., & Elia, A. C. (2020). Salinity tolerance of the invasive red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). *Hydrobiologia*, 847, 2065–2081.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2009). *Procambarus clarkii*. In *Cultured aquatic species fact sheets*. FAO Fisheries and Aquaculture Division. Rome, Italy
- Flórez-Brand, P. E., & Espinosa-Beltrán, J. O. (2011). Presencia y dispersión del cangrejo rojo americano (*Procambarus clarkii* Girard, 1852) (Decapoda: Cambaridae) en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Biota Colombiana*, 12, 57–62.
- Gherardi, F. (2006). Crayfish invading Europe: the case study of *Procambarus clarkii*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 39, 175–191.

- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package. *Palaeontologia Electronica*, 4, 1–9.
- Hobbs, H. H., Jr. (1984). On the distribution of the crayfish genus *Procambarus* (Decapoda: Cambaridae). *Journal of Crustacean Biology*, 4, 12–24.
- Holdich, D. M. (Ed.). (2002). *Biology of freshwater crayfish*. Blackwell Publishing Oxford, England: Blackwell Science Ltd.
- Huner, J. V., & Avault, J. W. (1976). *Crawfish culture in the southeastern United States*. Louisiana State University, Division of Continuing Education.
- Huner, J. V., & Barr, J. E. (1984). *Red Swamp Crawfish: Biology and Exploitation*. Louisiana Sea Grant College Program, Center for Wetland Resources, Louisiana State University.
- Holdich, D. M. (Ed.). (2002). *Biology of freshwater crayfish*. Blackwell Science.
- Jin, S., Jacquin, L., Xiong, M., Li, R., Lek, S., Li, W., & Zhang, T. (2019). Reproductive pattern and population dynamics of commercial red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) from China: Implications for sustainable aquaculture management. *PLOS One*, 14, e0209614.
- Karaouzas, I., Kapakos, Y., Fytilis, K., Leris, I., Kalaitzakis, N., Kouraklis, P., Perdikaris, C., & Kalogianni, E. (2024). The first finding of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in Greece calls for rapid measures. *Limnology*, 25, 229–234.
- Kawai, T., & Kobayashi, Y. (2005). Origin and current distribution of the alien crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in Japan. *Crustaceana*, 78, 1143–1152.
- Kennish, M. J. (1996). *Practical handbook of estuarine and marine pollution*. CRC Press.
- Kolar, C. S., & Lodge, D. M. (2001). Progress in invasion biology: Predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution*, 16, 199–204.
- Kulkarni, G. K., & Fingerman, M. (1991). Oogenesis and effects of neuroendocrine tissues on in vitro incorporation of protein precursors into ovarian tissue of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Crustacean Biology*, 11, 513–522.
- Lozano-Álvarez, E., & Aramoni-Serrano, G. (1996-1997). Alimentación y estado nutricional de las langostas *Panulirus inflatus* y *Panulirus gracilis* (Decapoda: Palinuridae) en Guerrero, México. *Revista de Biología Tropical*, 44, 453–461.
- Lucić, A., Erben, R., & Lacković, G. (2006). Morphological changes in *Astacus astacus* gonads during the reproductive cycle. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 380–381, 1183–1196.
- Lucić, A., Hudina, S., Faller, M., & Cerjanec, D. (2012). A comparative study of the physiological condition of native and invasive crayfish in Croatian rivers. *Biologia*, 67, 172–179.
- Manor, R., Aflalo, E. D., Segall, C., Weil, S., Azulay, D., Ventura, T., & Sagi, A. (2004). Androgenic gland implantation promotes growth and inhibits vitellogenesis in *Cherax quadricarinatus* females held in individual compartments. *Invertebrate Reproduction & Development*, 45, 151–159.
- Medina, M., Espinoza, G. Y., & Reyes, A. W. (2019). Índices gonadosomático y hepatosomáticos en relación con la maduración y muda del camarón *Cryphiops caementarius* del río Pativilca (Perú). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30, 1018–1029.
- Meeratana, P., & Sobhon, P. (2007). Classification of differentiating oocytes during ovarian cycle in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Aquaculture*, 270, 249–258.
- Mossolin, E. C., & Bueno, S. L. S. (2002). Reproductive biology of *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 22, 367–376.
- Mito, T., & Uesugi, T. (2004). Invasive alien species in Japan: The status quo and the new regulation for prevention of their adverse effects. *Global Environmental Research*, 8, 171–193.
- Moreno, J. E., Méndez, C. A., Meruane, J. A., & Morales, M. C. (2012). Descripción histológica y caracterización de los estados de madurez gonadal de hembras de *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) (Decapoda: Palaemonidae). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40, 668–678.
- Mubarak, M. F. (2001). *Fishery management of the exotic crayfish Procambarus clarkii in the irrigation canal system of the River Nile, Egypt* (Ph.D. thesis). Institute of Environmental Studies and Researches, Ain Shams University, Egypt.
- Nakata, K., & Goshima, S. (2004). Factors inducing the intense burrowing activity of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*, an invasive alien species in Japan. *Naturwissenschaften*, 91, 342–346.
- Okumura, T., & Aida, K. (2000). Hemolymph vitellogenin levels and ovarian development during the

- reproductive and non-reproductive molt cycles in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fisheries Science*, 66, 678–685.
- Papa, L. P., Vicentini, I. B. F., Ribeiro, K., Vicentini, C. A., & Pezzato, L. E. (2004). Diferenciação morfológica de machos do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* a partir da análise do hepatopâncreas e do sistema reprodutor. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 26, 463–467.
- Passano, L. M. (1960). *Molting and its control*. En T. H. Waterman (Ed.), *The Physiology of Crustacea* (Vol. 1, pp. 473–536). Academic Press.
- Peart, R. A., & Schnabel, K.E. (2024). Advances in crustacean research from the 10th International Crustacean Congress. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1529867.
- Pedroza-Martínez, D. R. (2017). *Estudio de la estructura poblacional de Procambarus clarkii* (Girard, 1852) en la laguna de Fúquene, Cundinamarca (Tesis de pregrado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas.
- Ramalho, R. O., Anastácio, P. M., & Marçal, A. M. (2008). Effects of density on growth and survival of juvenile red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), reared under laboratory conditions. *Aquaculture Research*, 39, 577–586.
- Reyes-Avalos, W. (2014). Interrelación del ciclo de muda, el ciclo ovárico y el desarrollo embrionario en hembras de *Cryphiops caementarius* Molina 1782 (Crustacea, Palaemonidae). *Intropica*, 9, 33–42.
- Revathi, P., Vasanthi, L. A., & Munuswamy, N. (2011). Effect of cadmium on the ovarian development in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 623–629.
- Rivera, C. A., Zapata, A., Gonzalez-Gamboa, I., Pimiento-Ortega, M. G., Sarmiento-Toro, A.C., Mesa-Roberto, F.L., Jiménez-Carmona, E., Romero-Galindo, G.A., Mora-Ballen, L.F., Villamil-Pasito, D.C., Villamil, W., & León-López, N. (2024). Aproximación a la biología de *Procambarus clarkii* en la dársena de la planta Tibitoc (Zipaquirá, Colombia). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 48, 491–507.
- Rodríguez, G. (1980). *Los crustáceos decápodos de Venezuela*. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).
- Rosa, R., & Nunes, M. L. (2002). Biochemical composition of deep-sea decapod crustaceans with two different benthic life strategies of the Portuguese south coast. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 49, 119–130.
- Rudolph, E. (1997). Intersexualidad en el camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poëppig, 1835) (Decapoda, Parastacidae). *Investigaciones Marinas*, 25, 7–18.
- Saad, A. E., & Hassan, M. (2010). Anatomical and histological studies on the male reproductive system of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 14, 87–100.
- Sastry, A. N. (1983). *Ecological aspects of reproduction*. En F. J. Vernberg & W. B. Vernberg (Eds.), *The Biology of Crustacea* (Vol. 8, pp. 179–270). New York, NY: Academic Press.
- Sarojini, R., Nagabhushanam, R., & Fingerma, M. (1995). *In vivo* inhibition by dopamine of 5-hydroxytryptamine-stimulated ovarian maturation in the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Experientia*, 51, 156–158.
- Sharifian, S., Kamrani, E., Safaie, M., & Sharifian, S. (2015). Oogenesis and ovarian development in the freshwater crab *Sodhiana iranica* from south of Iran. *Tissue and Cell*, 47, 213–220.
- Sokolowicz, C. C., Bond-Buckup, G., & Buckup, L. (2006). Dynamics of gonadal development of *Aegla platensis* (Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 23, 1153–1158.
- Souty-Grosset, C., Holdich, D. M., Noël, P. Y., Reynolds, J. D., & Haffner, P. (2006). *Atlas of crayfish in Europe* (Patrimoines naturels, 64). Muséum national d'Histoire naturelle.
- Thiel, M., & Hinojosa, I. (2003). Mating behavior of female rock shrimp *Rhynchocinetes typus* (Decapoda: Caridea) — indication for convenience polyandry and cryptic female choice. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55, 113–121.
- Üniş, Ç., & Erkan, M.B. (2012). Morphology and development of the female reproductive system of *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) (Decapoda, Astacidae). *Turkish Journal of Zoology*, 36, 775–784.
- Vázquez, S. G. (2008). *Distribution of exotic Australian crayfish Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) in Puerto Rico (Master's thesis). University of Puerto Rico, Mayagüez.
- Varadarajan, S., & Subramoniam, T. (1980). Histochemical investigations on vitellogenesis of an anomuran

- crab, *Clibanarius clibanarius*. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 2, 47–58.
- Verdi, S.C.A.C. (2007). *Intersexualidad en las especies uruguayas del género Parastacus* (Crustacea, Astacoidea). (Universidad de la República (Uruguay), tesis de doctorado).
- Villalobos-Figueroa, A. (1955). *Crustáceos de agua dulce de México*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Yamaguchi, T. (2001). The breeding period of the fiddler crab *Uca lactea* (Decapoda: Brachyura: Ocypodidae) in Japan. *Crustaceana*, 74, 285–293.
- Zara, F. J., Gaeta, H. H., Costa, T. M., Toyama, M. H., & Caetano, F. H. (2013). The ovarian cycle histochemistry and its relationship with hepatopancreas weight in the blue crab *Callinectes danae* (Crustacea: Portunidae). *Acta Zoologica*, 94, 134–146.

Received April 1, 2026.

Accepted May 25, 2026.