

1 The Biologist (Lima), 2026, vol. 24 (1), XX-XX.

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

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



7

8 ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

9

10 OVARIAN DEVELOPMENT OF *PROCAMBARUS CLARKII* (GIRARD, 1852) (DECÁPODA:

11 CAMBARIDAE) IN FÚQUENE LAGOON, CUNDINAMARCA, COLOMBIA

12 DESARROLLO OVÁRICO DE *PROCAMBARUS CLARKII* (GIRARD, 1852) (DECÁPODA:

13 CAMBARIDAE) EN LA LAGUNA DE FÚQUENE, CUNDINAMARCA, COLOMBIA

14

15 Evelin Dayiana Estrada-Arango<sup>1</sup>, Julian Yessid Arias-Pineda<sup>2\*</sup>, Mery Helen Tijaro-Orejuela<sup>3</sup> &

16

Ingrid Angelica Zarate-Caballero<sup>3</sup>

17 <sup>1</sup>Universidad de la Salle, Departamento de Biología, Colombia.

18 <sup>2</sup>Semillero de ecosistemas acuáticos y terrestres NEREA. Programa de biología, Universidad  
19 Distrital FJC, Bogotá, Colombia.

20 <sup>3</sup>Semillero Floramyces Research, Universidad Distrital Francisco José Caldas, Bogotá, Colombia.

21 \*Corresponding author: [jyariasp@udistrital.edu.co](mailto:jyariasp@udistrital.edu.co)

22

23 **Titulillo:** Ovarian development of *Procambarus*

24 Estrada-Arango *et al.*

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

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

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

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

29 **ABSTRACT**

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

47 **Keywords:** Freshwater crayfish – hepatosomatic index – gonadosomatic index – gonadal  
48 development – oogenesis

49  
50 **RESUMEN**

51 *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) es un crustáceo decápodo de agua dulce considerado invasor  
52 en Colombia debido a su alta capacidad adaptativa y al impacto ecológico que genera en los  
53 ecosistemas donde ha sido introducido. Sin embargo, el conocimiento sobre aspectos básicos  
54 de su biología reproductiva en el país aún es limitado. El presente estudio describió el desarrollo

55 ovárico de *P. clarkii* en la Laguna de Fúquene, Cundinamarca, Colombia, durante 2019. Se  
56 recolectaron 73 hembras y 64 machos, registrando longitud total, peso y sexo. Posteriormente,  
57 se extrajeron hepatopáncreas y gónadas para determinar el índice gonadosomático (IGS) y  
58 hepatosomático (IHS), así como establecer los estadios de madurez ovárica mediante  
59 características morfológicas, coloración y análisis histológicos. Los ovarios presentaron una  
60 forma típica en “Y” y estuvieron compuestos por ovocitos en diferentes fases de desarrollo, con  
61 variaciones en tamaño, morfología, afinidad tintorial y actividad vitelogénica. El ciclo gonadal se  
62 dividió en los estados inmaduro, previtelogénesis, vitelogénesis temprana e intermedia, madurez  
63 avanzada y desovado. Los ovocitos se clasificaron en ovogonias, previtelogénicos tempranos y  
64 tardíos, vitelogénicos tempranos y tardíos, y maduros. En conclusión, el IGS y el IHS mostraron  
65 una relación directa con la madurez sexual y el desarrollo ovárico, evidenciando que estos  
66 índices constituyen herramientas útiles para comprender la dinámica reproductiva de la especie  
67 y aportar información clave para futuros programas de manejo y control biológico.

68 **Palabras clave:** cangrejo de río – Hepatosomático – Gonadosomático – desarrollo gonadal –  
69 ovogénesis

70

## 71 **INTRODUCCIÓN**

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

77 Dentro de este gran grupo, se encuentra la familia Cambaridae, conocida también con el nombre  
78 de cangrejos de río, conformada por alrededor de 612 especies, distribuidas por todo el mundo  
79 (Álvarez *et al.*, 2014; Souty-Grosset *et al.*, 2006). Gran parte de las especies de esta familia

80 corresponde al género *Procambarus*, con 16 subgéneros y 156 especies, a las cuales se les  
81 atribuye gran tolerancia ecológica, resistencia a la variación de temperatura y habilidad para la  
82 construcción de galerías en épocas de reproducción y sequía (Hobbs, 1984).

83 A este género pertenece *Procambarus clarkii* (Girard, 1852), comúnmente conocido como  
84 cangrejo de río, acocil rojo o crawfish (Gherardi, 2006; Jin *et al.*, 2019; Dörr *et al.*, 2020;  
85 Karaouzas *et al.*, 2024), nativa del norte de México y del valle del río Mississippi en Estados  
86 Unidos (FAO, 2009). Esta especie ha sido introducida en todos los continentes excepto Australia  
87 y Antártida (Campos, 2005), debido a su importancia económica, ya que esta especie posee una  
88 gran tasa de fertilidad, una fácil manutención, gran resistencia, y bajos costos de producción,  
89 utilizándola en actividades humanas como: la acuicultura y la recreación (como mascotas) (Mito  
90 & Uesugi, 2004; Kawai & Kobayashi, 2005; Jin *et al.*, 2019; Pedroza-Martínez, 2017).

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

98 El cangrejo de río es una especie que se encuentra en varios tipos de hábitats tanto naturales  
99 como agrícolas, de agua dulce (lénticos y lóticos) tales como ríos, humedales, pantanos, canales,  
100 estanques, embalses, entre otros (Gherardi, 2006). Por otra parte, *P. clarkii* posee la capacidad  
101 de tolerar un amplio rango de condiciones ambientales tales como altas temperaturas, aguas  
102 contaminadas, bajas concentraciones de oxígeno disuelto y periodos de sequía; no obstante,  
103 presenta un comportamiento territorial y agresivo con su propia especie cuando entra en un  
104 estado de tensión donde se ve afectado su espacio o alimentación (Souty-Grosset *et al.*, 2016).

105 Además, posee distintas formas de vida, entre las que resaltan galerías bajo la tierra húmeda,

106 piedras con vegetación y también en las raíces de árboles (Villalobos-Figueroa, 1955; Huner &  
107 Avault, 1976; Huner & Barr, 1984; Holdich, 2002).

108 En cuanto a la reproducción, es una especie que posee la estrategia “r”, la cual se fundamenta  
109 en un ciclo de vida corto (2 años en promedio) y una alta tasa de reproducción y propagación  
110 (Campos, 2005), razones por las cuales ha tenido tanto éxito en todos los ecosistemas que  
111 habita, además de las expuestas en apartados anteriores (Rodríguez, 2001; Arias-Pineda &  
112 Rodríguez, 2012; Arias-Pineda & Pedroza-Martínez, 2018). Los juveniles tienen altas tasas de  
113 sobrevivencia y la madurez sexual la alcanzan en aproximadamente tres meses (Dörr *et al.*,  
114 2020). Las hembras adultas pueden reproducirse 2 veces al año, aunque en condiciones  
115 favorables pueden llegar a tener 3 generaciones por año (Souty-Grosset *et al.*, 2016).

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

121 En *P. clarkii* se han realizado estudios sobre las gónadas de las hembras, especialmente en los  
122 campos de la morfología, desarrollo ovárico y estadios vitelogénicos (Jin *et al.*, 2019; Ando &  
123 Makioka, 1998; Carmona-Osalde *et al.*, 2004ab; Sharifian *et al.*, 2015). En las hembras de *P.*  
124 *clarkii*, el sistema reproductor está compuesto por el ovario y los oviductos (Ando & Makioka,  
125 1998). El ovario tiene forma de Y y posee un par de lóbulos o sacos ováricos anteriores y un  
126 único lóbulo ovárico posterior, ubicado en el cefalotórax, en posición dorsal, debajo del corazón  
127 y por encima del hepatopáncreas (Ando & Makioka, 1998; Jin *et al.*, 2019).

128 El número de huevos se relaciona directamente con la talla de la hembra; hembras jóvenes  
129 presentan una reproducción de entre 50 y 100 huevos mientras que hembras adultas de 10 cm  
130 pueden llegar a tener 500 huevos (Franco, 2014; Rodríguez, 2001). El tiempo de eclosión de los  
131 huevos varía entre 21 y 30 días, durante los cuales los huevos van cambiando de color a medida

132 que se van desarrollando. A los dos días de nacer, las postlarvas pueden alcanzar  
133 aproximadamente los 5 mm de longitud y en tres meses pueden llegar a alcanzar 80 mm  
134 (Campos, 2005; Souty-Grosset *et al.*, 2016; FAO, 2009). Los individuos que han alcanzado la  
135 madurez sexual se aparean o realizan la cópula en aguas abiertas (Campos, 2005).

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

142 En crustáceos existe alta optimización de energía para la reproducción, el crecimiento, la muda  
143 y otras actividades fisiológicas (Cavalli *et al.*, 2001; Yamaguchi, 2001; Sokolowicz *et al.*, 2006;  
144 Rodríguez, 1980), siendo el hepatopáncreas el órgano fisiológicamente dinámico, relacionado  
145 con el almacenamiento y transferencia de nutrientes para la reproducción (Marcolin *et al.*, 2008).

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

154 De esta manera, la presente investigación tiene como objetivo describir los estadios ováricos  
155 durante el proceso de maduración de las hembras, junto con una caracterización macroscópica  
156 e histológica de las principales etapas del ciclo de madurez gonadal de hembras de *P. clarkii* en

157 la Laguna de Fúquene, aportando información biológica básica como soporte para futuros planes  
158 de control biológico.

## 159 **MATERIALES Y MÉTODOS**

### 160 **Área de estudio**

161 Este trabajo se realizó en la laguna de Fúquene (31 km<sup>2</sup>), ubicada entre los departamentos de  
162 Cundinamarca y Boyacá, a 100 km al norte de Bogotá, en la cordillera oriental de Colombia (Fig.  
163 1), con coordenadas: latitud 5° 29' 50"; 5° 25' 26" N y longitud 73° 46' 49"; 73° 42' 44" O, a una  
164 altitud de 2600 msnm.

165 En cuanto al clima, la precipitación promedio en la cuenca es de 962,5 mm/año, con una  
166 temperatura media de 13 °C y un clima frío semihúmedo. La laguna de Fúquene tiene una  
167 superficie promedio de 3100 ha y una profundidad media estimada de 2,3 m, tiene un volumen  
168 máximo operativo de 36,8 millones de m<sup>3</sup>, correspondiente a una cota de 2539 msnm

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

### 174 **Fase de campo**

175 La investigación se llevó a cabo durante cuatro meses: septiembre, octubre, noviembre y  
176 diciembre del año 2019. Se escogieron ocho sitios de muestreo alrededor de la Laguna de  
177 Fúquene, donde por mes se muestrearon dos sitios distintos (uno cada dos semanas). En cada  
178 sitio se establecieron cinco puntos para las recolectas, escogidos al azar. En cada punto estuvo  
179 ubicada una trampa artesanal como la descrita por Arias-Pineda *et al.* (2020). Las trampas se

180 sumergieron durante 24 horas por sitio de muestreo; como cebo se utilizaron hígados y viseras  
181 de pollo. También se tomaron en cuenta las características bióticas del ecosistema.

## 182 **Muestreo del cangrejo rojo y obtención de relaciones biométricas**

183 Con el fin de tomar las relaciones biométricas de los cangrejos capturados, 74 hembras y 65  
184 machos, primero se realizó la identificación taxonómica de la especie con base en la clave de  
185 Hobbs (1984) y la descripción realizada por Campos (2005) con la ayuda de un estereoscopio  
186 Zeiss Stemi 305. Luego con base en la metodología utilizada por Lozano-Alvarez & Aramoni-  
187 Serrano (1996-1997) se determinó el peso total de machos y hembras con una gramera SCOUT  
188 PRO SP2001, asimismo, se les midió la longitud cefalotorácica (desde la escotadura interorbital  
189 hasta el extremo posterior del cefalotórax), y longitud total con un calibrador ( $\pm 0,1$  mm), se  
190 registró sexo, coloración corporal en hembras, la presencia de masa ovígera y fueron sometidos  
191 a un proceso de congelación, con el objeto de detener su proceso digestivo utilizando un  
192 congelador multiusos Samsung. Una vez descongelados, se realizó la disección para extraer los  
193 ovarios y testículos, el estómago y el hepatopáncreas.

## 194 **Análisis gonadal hembras**

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

204 **Descripción histológica**

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

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

220 Paralelo a la evaluación externa del desarrollo gonadal, se determinó el índice gonadosomático  
221 (IGS), el cual se basa en el incremento del tamaño de la gónada a medida que se acerca el  
222 momento de la puesta, estimando la actividad reproductiva (De Vlaming *et al.*, 1982; Kennish,  
223 1996; Comoglio *et al.*, 2005). En cuanto a la variación de las reservas corporales con respecto a  
224 variables biométricas, se calculó el índice hepatosomático (IHS).

225 **Índice Gonadosomático (IGS):**

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

226

## 227 **Índice Hepatosomático (IHS)**

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

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

231

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

232

233

## 234 **Análisis estadístico**

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

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

## 248 **Abreviaturas**

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

#### 254 **Aspectos éticos:**

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

#### 258 **RESULTADOS**

##### 259 **Aspectos generales de la morfología externa e interna del ovario**

260 Según el análisis macroscópico de los de ovarios de hembras de *P. clarkii* se pudo observar  
261 claramente que posee forma de Y, conformado por un par de lóbulos anteriores y un lóbulo  
262 posterior (Fig. 1), ubicado en el cefalotórax, en posición dorsal por encima del hepatopáncreas y  
263 debajo del corazón (Fig. 2), los oviductos conectados con el extremo posterior de cada lóbulo  
264 anterior desembocan directamente en el gonóporo ubicado en la coxa del tercer par de  
265 pereiópodos.

266

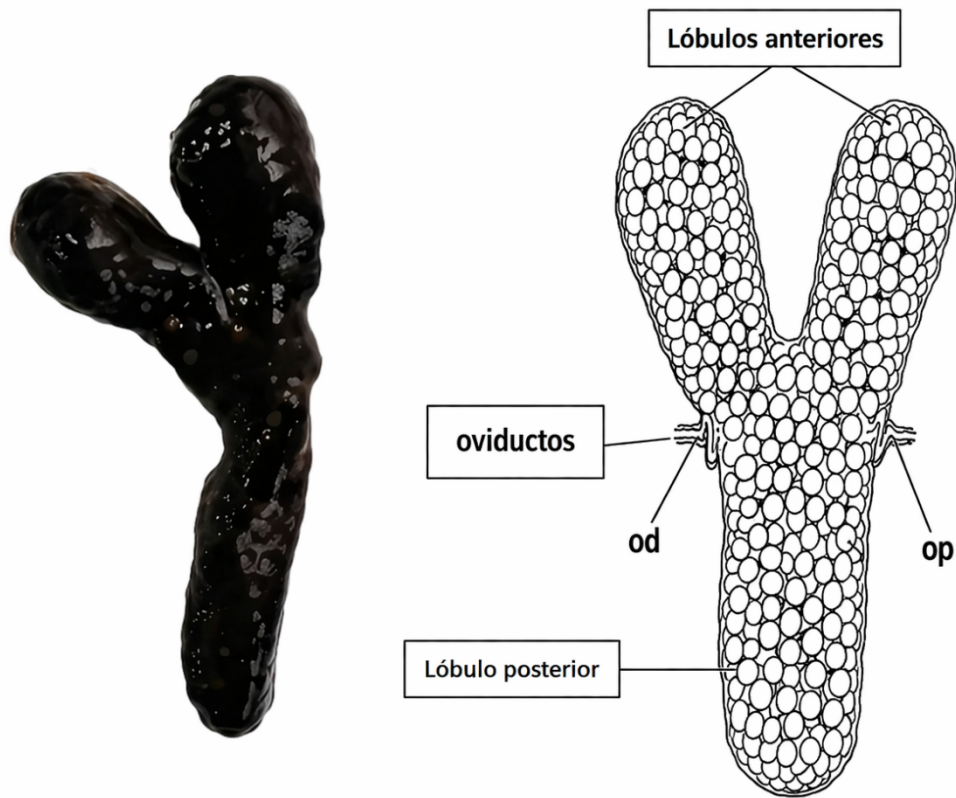
267

268

269

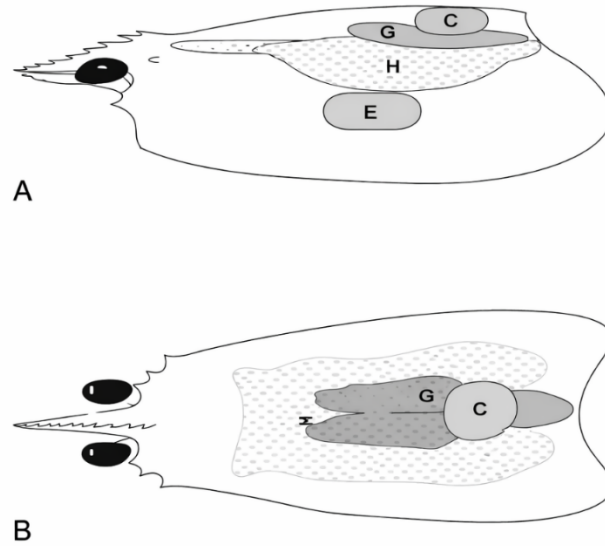
270

271  
272  
273  
274  
275  
276  
277  
278



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

283  
284  
285  
286  
287  
288  
289



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

293 **Descripción y caracterización del ciclo de madurez ovárica**

294 De acuerdo con la observación macroscópica de las gónadas de hembras de *P. clarkii*,  
295 claramente hay una variación externa de tamaño y color de los ovarios (Fig. 4A-E),  
296 diferenciándolos en seis etapas de desarrollo ovárico (Tabla 1). Estas diferencias fueron  
297 confirmadas por observaciones microscópicas (variación en los ovocitos tanto en tamaño como  
298 en el ingreso de vitelo a la célula). La longitud máxima del ovario en promedio fue de 40 mm y el  
299 ancho máximo del saco ovárico fue en promedio de 7 mm. El tamaño del ovario no dependía del  
300 tamaño corporal de hembras de *P. clarkii*, sino del tamaño de los ovocitos u óvulos dentro de la  
301 gónada. Teniendo en cuenta estos criterios, se identificaron seis etapas de desarrollo.

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

**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.

314

<b>Estado</b>	<b>Morfología externa</b>	<b>Morfología interna</b>
<b>I</b>	Color blanco, traslúcido, lóbulos flácidos y retraídos. (Fig. 3A)	Se presentan exclusivamente ovogonias, O1 y O2, células foliculares abundantes.
<b>II</b>	Color amarillo crema, lóbulos firmes y gruesos. (Fig. 3B)	Membrana ovárica y trabéculas diferenciadas. Presencia de ovogonias, O1, O2 y O3.
<b>III</b>	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.
<b>IV</b>	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.

<p><b>V</b></p>	<p>Color café oscuro a morado intenso, lóbulos completamente engrosados extendiéndose desde la primera espina rostral hasta el primer segmento abdominal. (Fig. 3E)</p>	<p>Tejido gonadal compuesto casi el 100% por ovocitos maduros, muy pocos O4. Células foliculares poco visibles y gran presencia de lípidos.</p>
-----------------	---	---

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328



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

332 **Estado inmaduro (I):** Los ovarios en este estadio eran de color blanco crema o traslucidos en  
333 algunos casos (Fig. 3A), pequeños (10-15 mm) y el saco ovárico tenía de 2 a 3 mm de ancho,  
334 los lóbulos son débiles y delgados, externamente no se logra evidenciar con facilidad los  
335 ovocitos, histológicamente (Fig. 4A) el ovario inicia su desarrollo y proceso de maduración en  
336 donde hay en su mayoría presencia de ovogonias, ovocitos O1 y O2, los cuales se encuentran  
337 ubicados hacia la parte central. Las células foliculares son casi invisibles. En este estadio el  
338 ingreso de vitelo al ovario es muy reducido.

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

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

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

364 **Estado de madurez avanzada (V):** En los ovarios analizados que se encontraban en este estado  
365 de maduración, la mayoría alcanzaban un tamaño significativamente más grande con respecto  
366 a los anteriormente descritos, en promedio 40 mm de largo y presentaban una coloración que  
367 variaba desde café oscuro a morado intenso, los ovocitos en este estado de madurez eran más  
368 visibles a través de la membrana ovárica (Fig. 3E), debido a su gran tamaño, en consecuencia,  
369 los lóbulos eran más gruesos que los anteriores (7 mm), ocupando casi en su mayoría la porción  
370 media dorsal anterior del cefalotórax.

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

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

#### 388 **Descripción y caracterización de los estados de desarrollo de los ovocitos:**

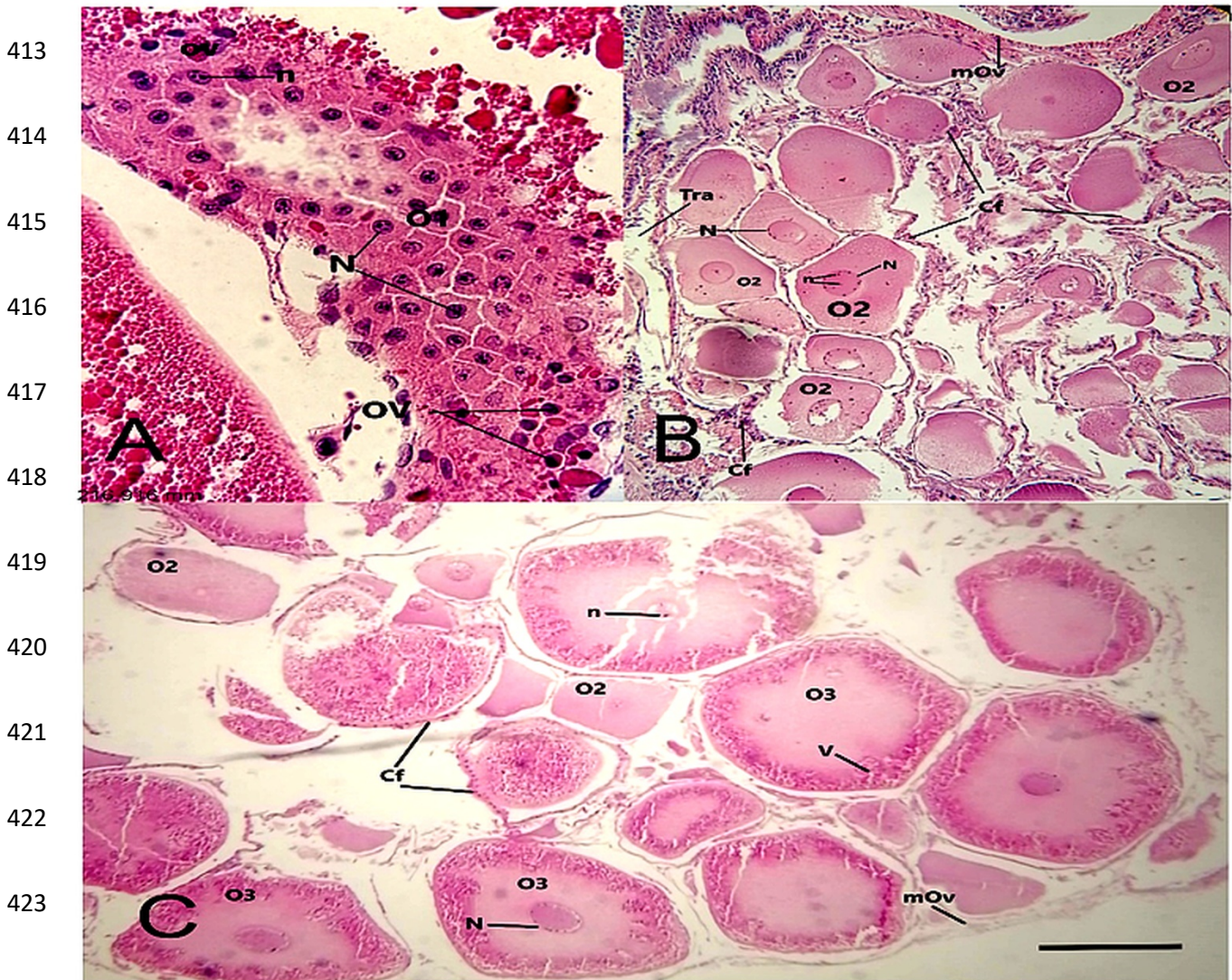
389 Al interior de las bolsas oogénicas y agrupadas de forma ordenada, según el estado de desarrollo  
390 en el que se encuentren, se hallan los ovocitos. Los cuales por medio de la observación  
391 morfológica, tamaño y tinción, se caracterizaron en seis tipos de células durante el ciclo completo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

394 **Ovogonia (Ov):** son células ovoides que provienen de un epitelio germinal con núcleo grande e  
395 irregular, el cual abarca casi la totalidad de la célula, es preciso mencionar que, por su tamaño  
396 tan pequeño y poco desarrollado, los nucléolos son pequeños y poco diferenciables, aunque hay  
397 uno que predomina por su tamaño más grande además el citoplasma es escaso no presenta  
398 gotas de lípidos, su tamaño varía entre 8 a 15  $\mu\text{m}$  (Fig. 4A).

399 **Ovocito previtelogénicos temprano (O1):** estos se diferencian de las ovogonias por su mayor  
400 tamaño, ya que tienen un diámetro entre 20 y 40  $\mu\text{m}$ , y por el incremento en el volumen del  
401 citoplasma. Estas células generalmente son redondas, pero pueden ser poligonales con bordes  
402 redondeados. Poseen un núcleo redondo central bien definido que se caracteriza por la presencia

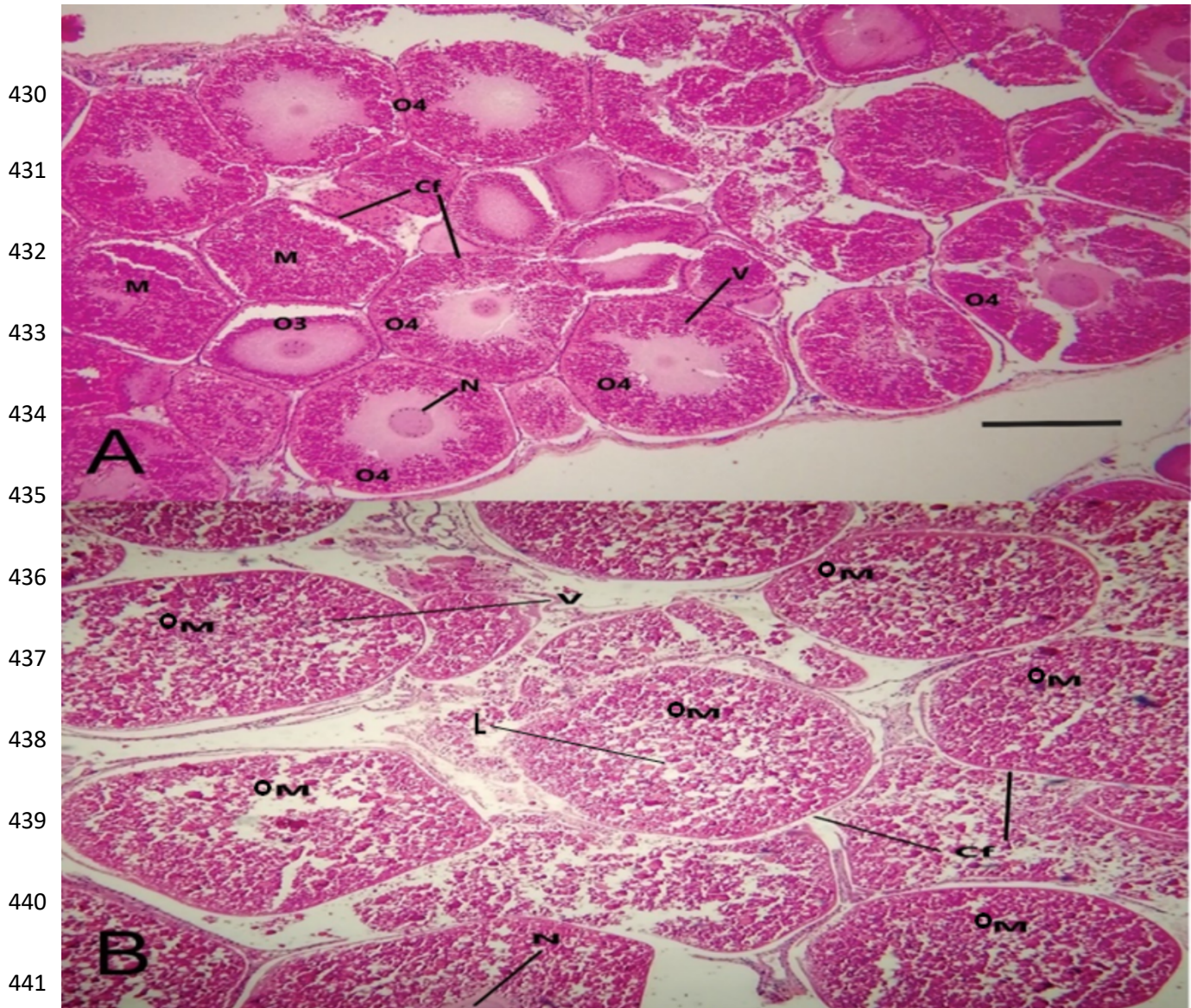
403 de pequeñas unidades de heterocromatina dispersas aleatoriamente. Algunas veces se observa  
404 presencia de nucléolos (Fig. 4A). Estas células se encuentran en la periferia de la zona germinal  
405 y están rodeadas de células foliculares fusiformes.

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



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

429



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

446

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

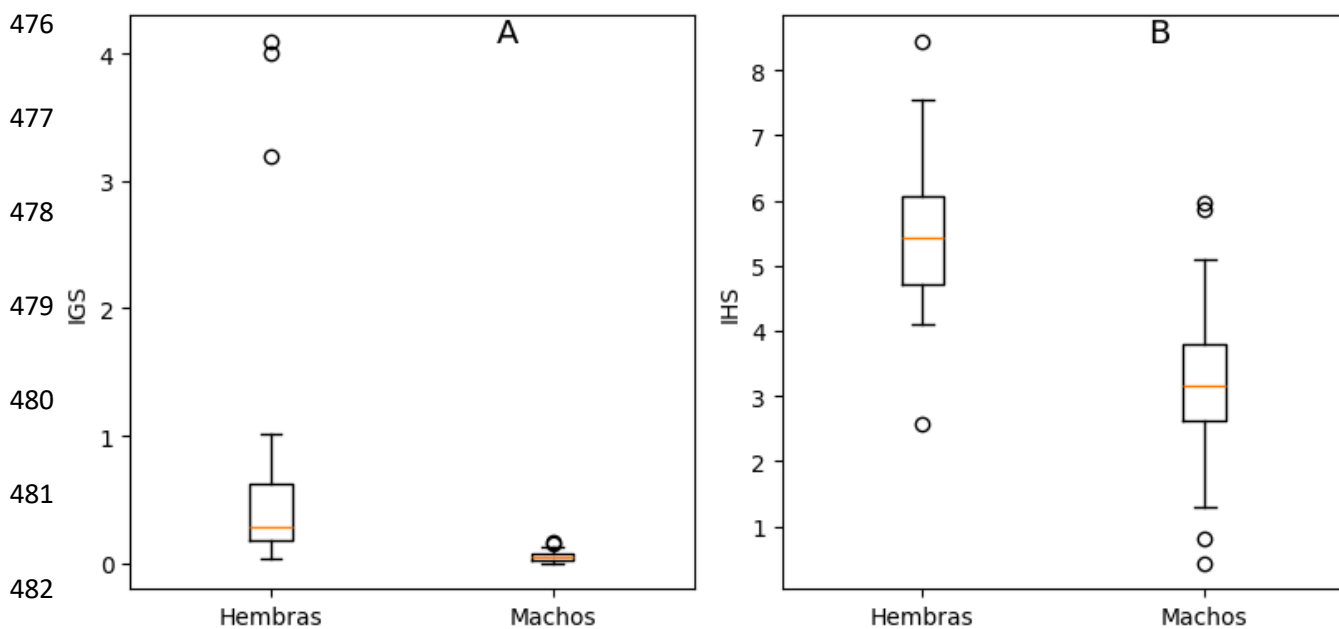
452 **Ovocito vitelogénico tardío (O4):** hay un mayor crecimiento del ovocito, su diámetro promedio  
453 es de 150 a 300  $\mu\text{m}$ , presentando un aumento en la cantidad y tamaño de las gotas de lípidos,  
454 las cuales se ubican en todo el citoplasma; además, posee placas de vitelo de origen proteico.  
455 Estos ovocitos se encuentran más hacia la periferia del citoplasma, después de los O3, y  
456 representan ovarios en etapa de vitelogenésis intermedia. Las células foliculares son más  
457 evidentes y de forma más alargada (Fig. 5A).

458 **Ovocito maduro (OM):** este ovocito es el más grande debido a que su diámetro promedio es de  
459 300 a 500  $\mu\text{m}$ ; en comparación con los anteriormente mencionados, posee una forma hexagonal,  
460 característica de ovarios en estado de madurez avanzada. Están ubicados hacia la periferia cerca  
461 de la membrana del ovario. El núcleo tiende a perder su forma redonda y la membrana nuclear  
462 es poco visible; su citoplasma es fuertemente acidófilo, lo que conlleva una coloración roja  
463 intensa; también presenta grandes plaquetas vitelinas proteicas y lipídicas. Las células  
464 foliculares son difíciles de observar (Fig. 5B). Los OM en ovarios maduros pueden ser vistos a  
465 simple vista macroscópicamente.

#### 466 **Índice Gonadosomático (IGS) e Índice Hepatosomático (IHS) según Sexo**

467 Adicionalmente, los resultados anteriores se soportan mediante los resultados del Índice  
468 Gonadosomático (IGS) y Hepatosomático (IHS) a lo largo del periodo de muestreo tanto para  
469 hembras como para machos (Fig. 6 A y B).

470 Teniendo en cuenta la figura 7, se observa que existen diferencias significativas positivas ( $p =$   
 471  $0,0000$ ,  $\omega^2 = 0,1992$ ,  $F = 38,34$ ,  $df = 71,25$ ) entre el IGS en hembras con respecto a los machos,  
 472 donde las hembras presentan un IGS más alto que el de los machos. En cuanto al IHS, existen  
 473 diferencias significativas positivas ( $p = 0,0000$ ,  $\omega^2 = 0,2185$ ,  $F = 41,19$ ,  $df = 128,2$ ) con respecto  
 474 a una mayor movilización de reservas energéticas (IHS) en hembras que en machos (Fig. 6B) y  
 475 se presenta una relación directa con el IGS (Fig. 6A).

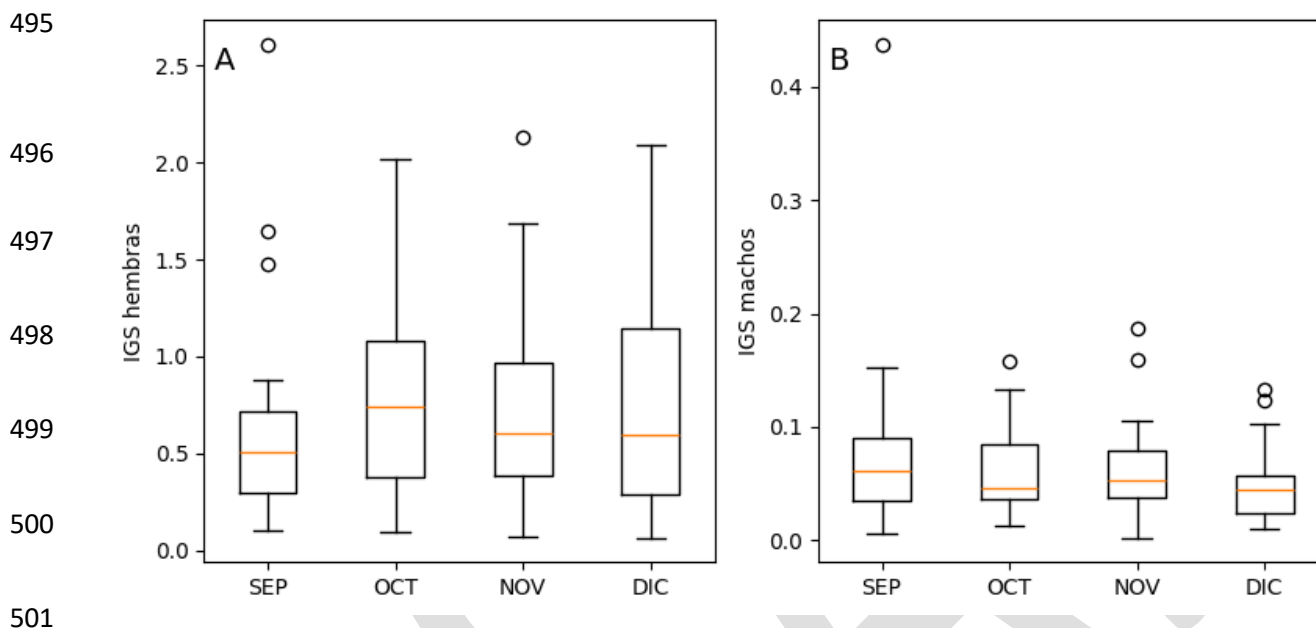


483 **Figura 6. A.** Índices gonadosomáticos (IGS) ( $p = 0,0000$ ) según el sexo. **B.** Índices  
 484 Hepatosomáticos (IHS) ( $p = 0,0000$ )

485  
 486 **Índice Gonadosomático (IGS) e Índice Hepatosomático (IHS) con respecto al periodo de**  
 487 **estudio**

488 Los valores mensuales del IGS (Fig. 7A) no son estadísticamente significativos ( $p = 0,89$ ,  $\omega^2 =$   
 489  $0$   $F = 0,19$ ,  $df = 31,38$ ) a lo largo del período de estudio en hembras; aun así, se puede observar,  
 490 que las hembras tendrían mayor actividad reproductiva en noviembre en comparación con el  
 491 resto de los meses, de la misma forma sucede en machos donde los datos no son significativos

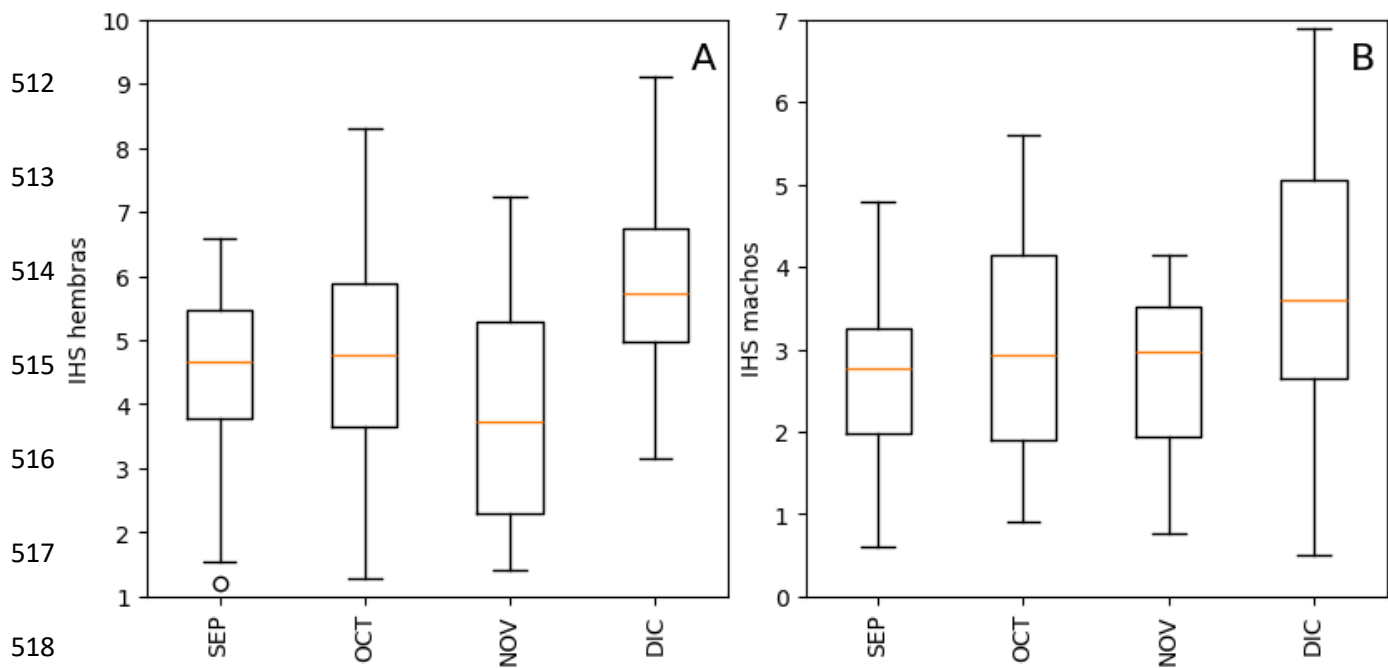
492 ( $p = 0,06$ ,  $\omega^2 = 0,081$ ,  $F = 2,76$ ,  $df = 22,46$ ) en cuanto al comportamiento de los valores mensuales  
493 del IGS (Fig. 7B) ya que el IGS es similar en casi todos los meses. También es importante  
494 destacar que los valores del IGS son claramente mayores en el caso de las hembras.



501  
502 **Figura 7.** Índices gonadosomáticos (IGS) de hembras (A) ( $p = 0,89$ ) y machos (B) ( $p = 0,065$ )  
503 según el mes de muestreo. SEP: septiembre, OCT: octubre, NOV: noviembre, DIC: diciembre.

504 En el caso del IHS (Fig. 8), los valores medios mensuales del IHS en hembras (Fig. 8A) son  
505 significativos con una baja correlación positiva ( $r = 0,30-0,39$ ) a lo largo del período de estudio  
506 ( $p = 0,03$ ,  $\omega^2 = 0,094$ ,  $F = 3,21$ ,  $df = 33,9$ ), notándose una pequeña diferencia entre los valores  
507 de septiembre, noviembre y diciembre, en machos los valores no son significativos ( $p = 0,08$ ,  $\omega^2$   
508  $= 0,12$ ,  $F = 2,49$ ,  $df = 20,65$ ); no obstante, el mes de diciembre presenta diferencias con los  
509 meses de septiembre y noviembre, aun cuando los valores son más pequeños (Fig. 8B).

510  
511



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

### 522 **Desarrollo ovárico durante los meses de muestreo**

523 Teniendo en cuenta la MANOVA realizada (Fig. 9) el ciclo de madurez ovárico tiene una relación  
 524 significativa positiva (Wilks'  $p = 0,00$ ,  $F = 7,64$ ,  $df = 64,79$ ) (Pillai  $p = 0,00$ ,  $F = 4,23$ ,  $df = 96$ ) con  
 525 los meses de muestreo, notándose que septiembre sería el mes con mayor cantidad de hembras  
 526 maduras hasta el mes de noviembre, mientras que en diciembre habría mayor presencia de  
 527 hembras en estado intermedio, temprano, previtelogénico e inmaduro.

528

529

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

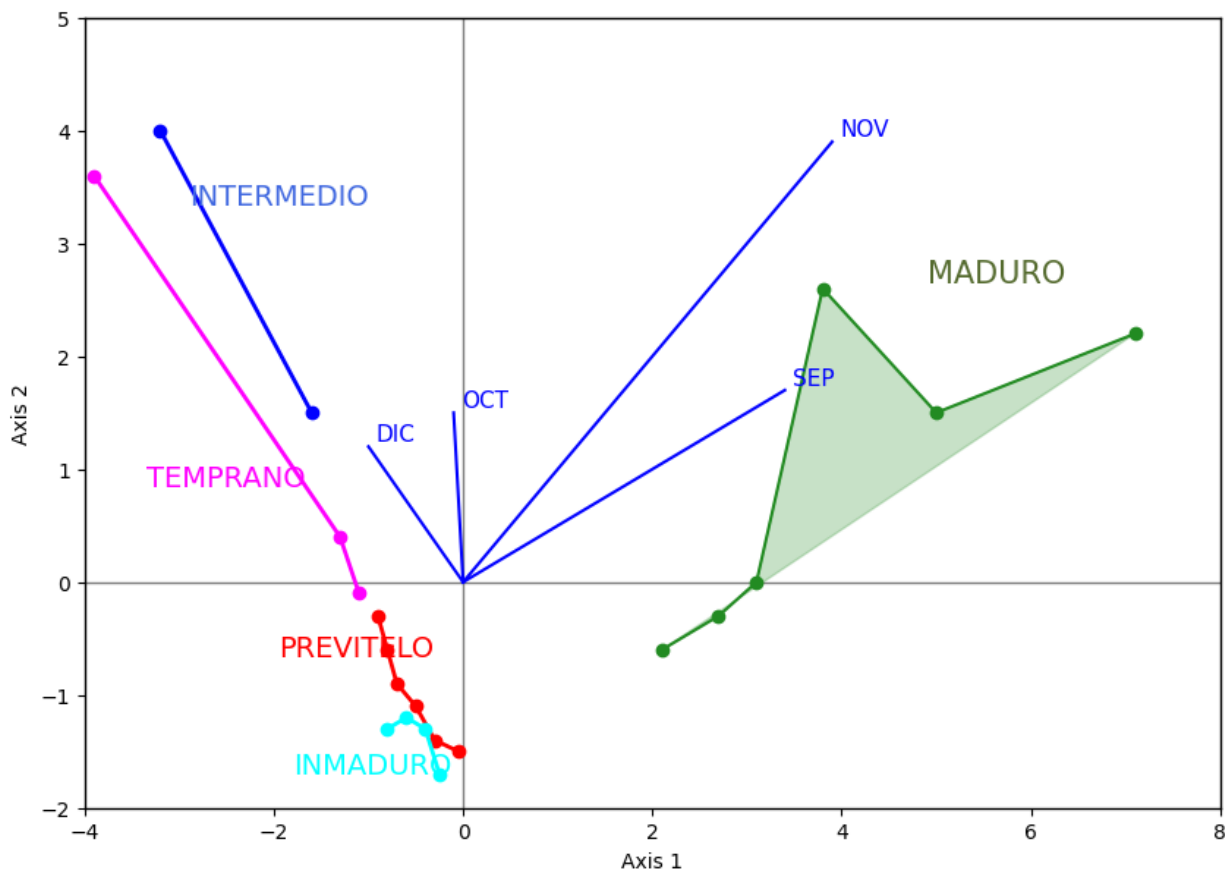
541

542

543

544

545



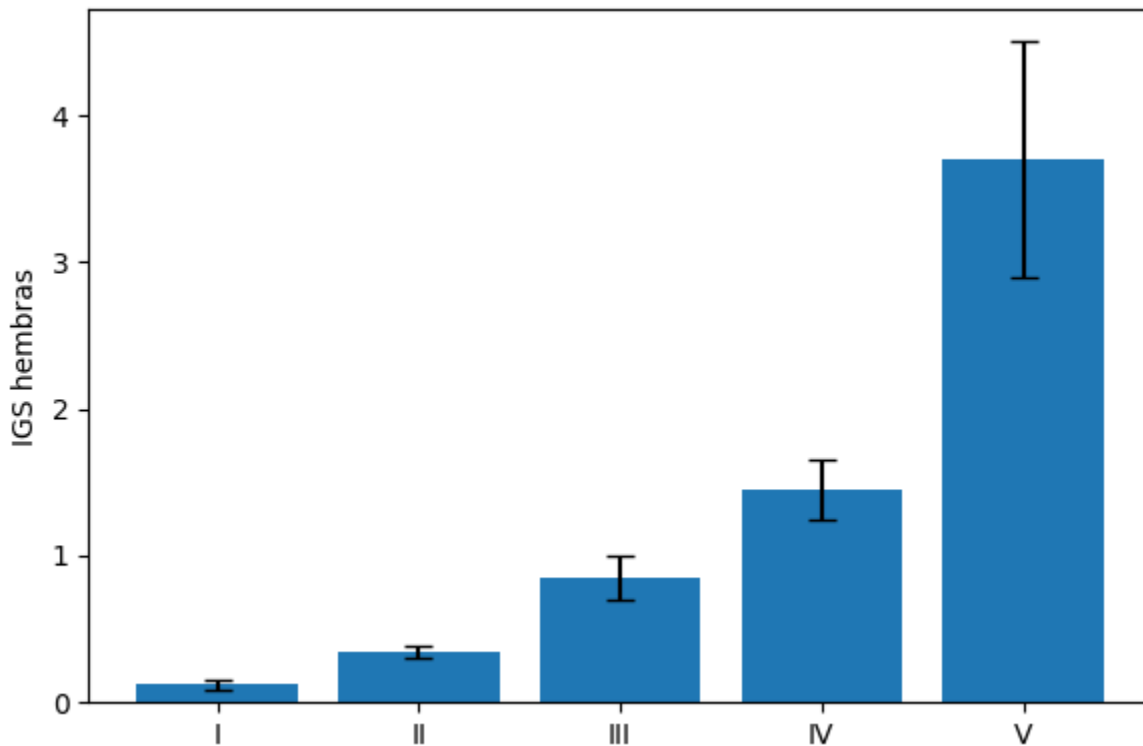
546 **Figura 9.** Gráfico correspondiente a la Anova multivariada (MANOVA) para la variación de los  
547 estadios ováricos durante la época de muestreo para hembras (Wilks'  $p = 0,0089$  y Pillai  $p =$   
548  $0,0087$ ). Azul: estado de vitelogénesis intermedia, verde: estado de madurez avanzada, azul  
549 claro: estado inmaduro, rosa: estado de vitelogénesis temprana, rojo: estado de previtelogénesis.  
550 DIC: diciembre, OCT: octubre, NOV: noviembre, SEP: septiembre.

551

### 552 Índice Gonadosomático en la Maduración del Ovario

553 El IGS (%) fue significativo entre las etapas del desarrollo ovárico ( $p = 0,0089$ ,  $\omega^2 = 0,61$ ,  $F =$   
554  $20,71$ ,  $df = 20,06$ ), incrementando en promedio de  $0,10\%$  en hembras con ovarios inmaduros  
555 hasta  $2,79\%$  en hembras con ovarios maduros (Fig. 10), lo que infiere una correlación positiva  
556 fuerte entre IGS y los estadios ováricos, siendo el estadio ovárico maduro el que mayor actividad  
557 reproductiva presenta.

558  
559  
560  
561  
562  
563  
564  
565  
566



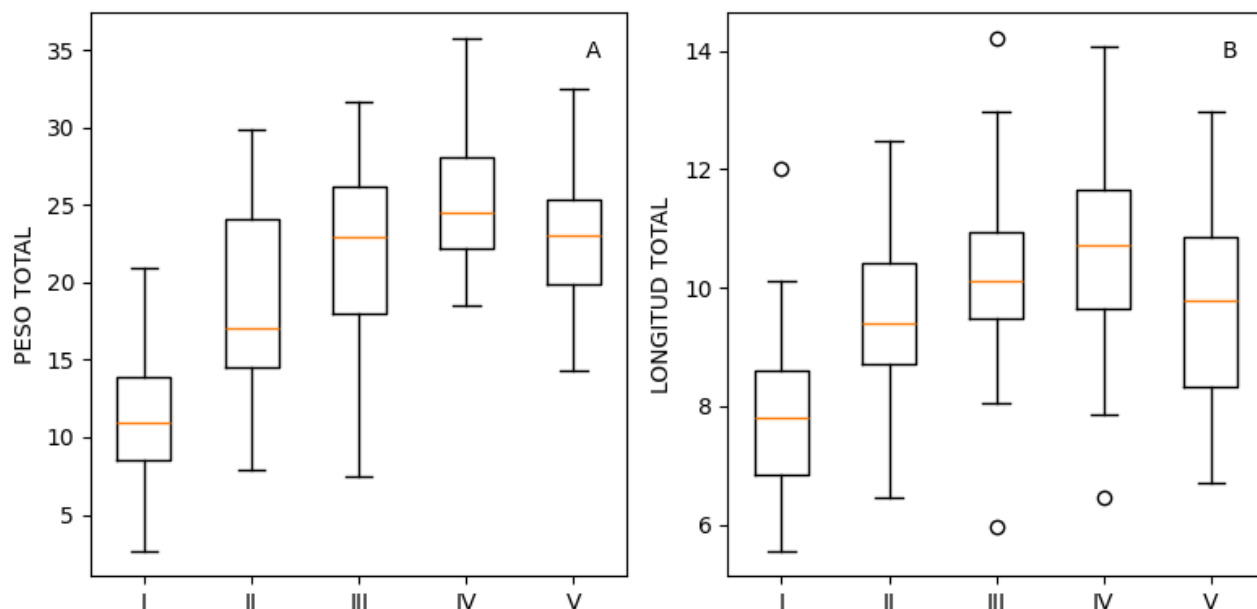
567 **Figura 10.** Índice gonadosomático (IGS) según estado de maduración ovárica ( $p = 0,0098$ ). I:  
568 Estado inmaduro, II: Estado de previtelogénesis, III: Estado de vitelogénesis temprana, IV:  
569 Estado de vitelogénesis intermedia, V: Estado de madurez avanzada.

#### 570 **Relación entre el peso total corporal, longitud y desarrollo ovárico**

571 Estadísticamente existe una relación significativa positiva ( $p = 0,0098$ ,  $\omega^2 = 0,34$ ,  $F = 13,04$ ,  $df =$   
572  $22,63$ ) entre el peso de las hembras y los estados de desarrollo ovárico. Teniendo en cuenta la  
573 figura 11A, se observa que las hembras con bajo peso corporal presentan ovarios en estado  
574 inmaduro y, para los siguientes estados de maduración, las hembras son más pesadas; no  
575 obstante, las hembras con mayor peso corporal presentan, en la mayoría de los casos, ovarios  
576 en estado intermedio del desarrollo.

577 En cuanto a la a la longitud corporal de las hembras (Fig. 11B) existe una relación significativa  
578 positiva ( $p = 0,0002$ ,  $\omega^2 = 0,31$ ,  $F = 8,43$ ,  $df = 23,12$ ) respecto a los estadios ováricos, donde  
579 hembras de tamaños corporales pequeños en su mayoría presentaron ovarios en estado de

580 desarrollo inmaduro, mientras que los otros estadios ováricos podrían presentarse en longitudes  
581 medianas y grandes, aunque, el estado previtelogénicos al igual que en el peso es el que mayor  
582 variabilidad tiene con respecto a la longitud corporal. Sin embargo, todos los estados de  
583 desarrollo sí están presentes en longitudes más grandes en hembras a excepción del estado  
584 inmaduro.



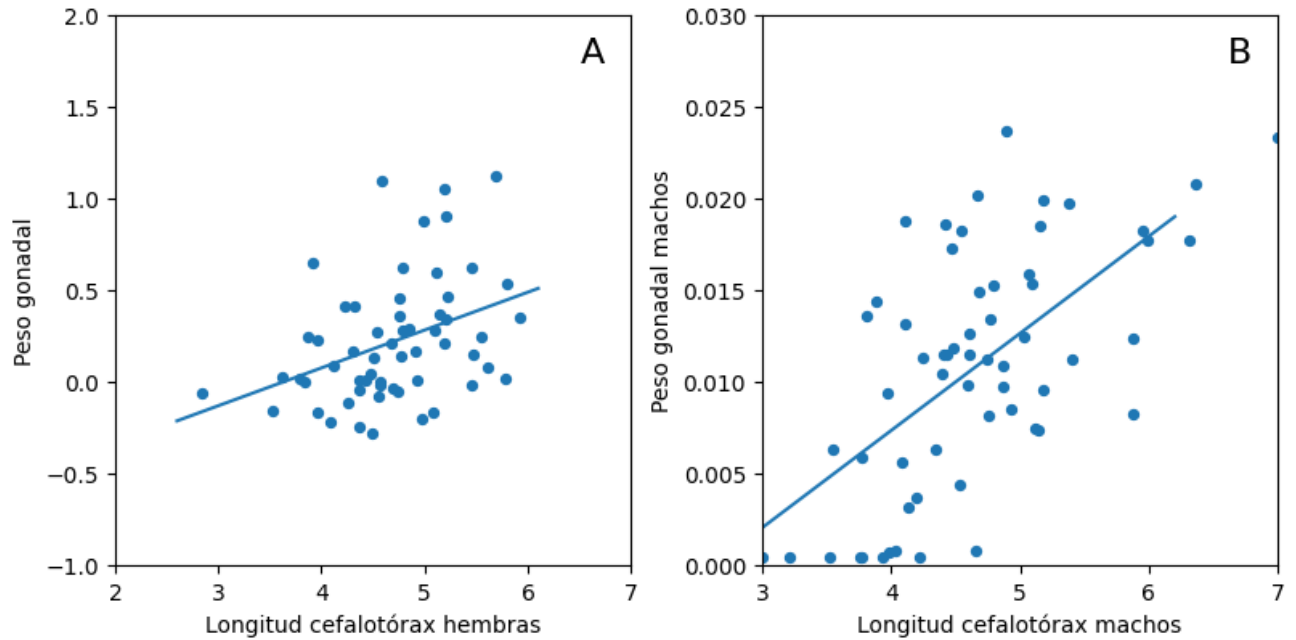
585 **Figura 11.** Box-plot del peso (A)( $p = 0,0089$ ) y longitud total (B) ( $p = 0,0088$ ) según estado de  
586 maduración ovárica. I: Estado inmaduro, II: Estado de previtelogénesis, III: Estado de  
587 vitelogénesis temprana, IV: Estado de vitelogénesis intermedia, V: Estado de madurez avanzada.

### 589 Relación longitud corporal, peso gonadal y hepatopáncreas:

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

593

594

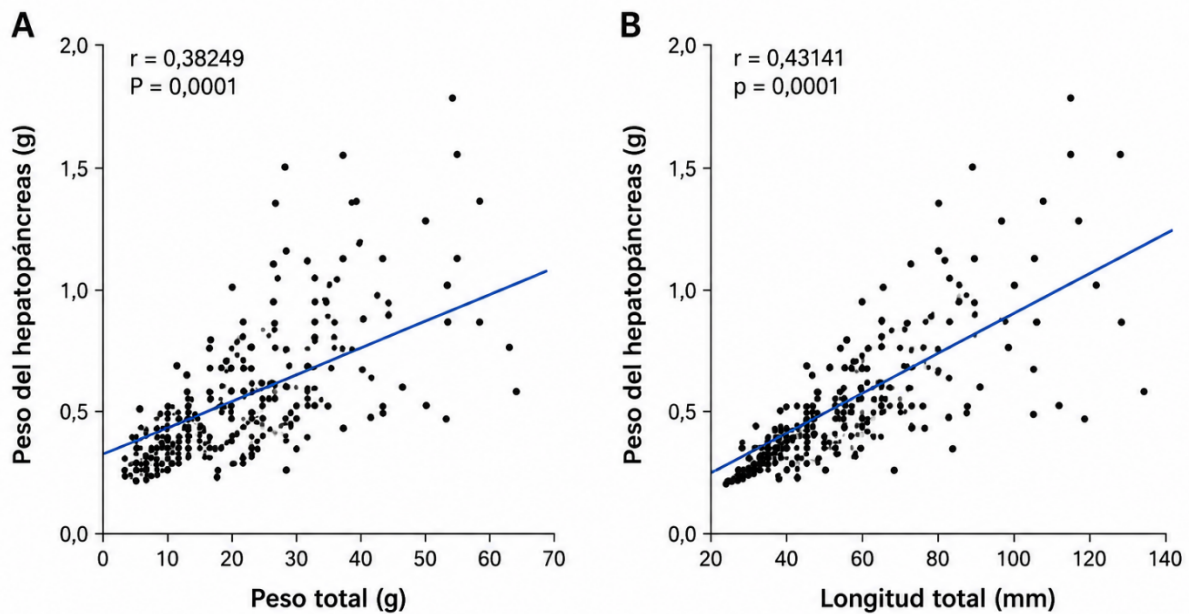


595

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

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

602



603

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

606

## 607 DISCUSIÓN

608 Distintas investigaciones sobre la estructura y desarrollo interno del ovario realizadas en  
609 crustáceos decápodos han mostrado un alto grado de diferenciación en los resultados obtenidos,  
610 en cuanto a la morfología y fisiología del ovario (D'Abramo & Sheen, 1994; Moreno *et al.*, 2012;  
611 Sharifian *et al.*, 2015). En *P. clarkii* se observó la forma trilobulada del ovario a manera de un  
612 par de sacos ováricos anteriores y un solo saco ovárico posterior (Fig. 2), igual a la reportada  
613 por Ando & Makioka (1998) y Saad & Hassan (2010) para *P. clarkii* y similar a la reportada para  
614 *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 (Holdich, 2002) pero diferente considerablemente de la  
615 forma en "H", reportada para la langosta *Parastacus pugnax* (Poepig, 1835) (Rudolph, 1997) y  
616 *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) (Vazquez, 2008).

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

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

633 En el presente estudio, el ciclo ovárico se describió en seis estados de madurez gonadal  
634 (inmaduro, previtelogénesis, vitelogénesis temprana, vitelogénesis intermedia, madurez  
635 avanzada, desovado) para *P. clarkii* (Tabla 1). Teniendo en cuenta los estudios realizados en  
636 *Panulirus argus* (Latreille, 1804), *A. leptodactylus* Eschscholtz, 1823 (Üniş & Erkan, 2012) y en  
637 *Parastacus pilimanus* (von Martens, 1869), *P. varicosus* Faxon, 1898 y *Parastacus brasiliensis*  
638 (von Martens, 1869) (Verdi, 2007), en *P. clarkii* se observó que la variación en los colores del  
639 ovario (Fig. 3), están estrechamente relacionados con el desarrollo del mismo, en cuanto a  
640 tamaño, secuencia en el desarrollo gonadal, organización y estado de madures de los ovocitos  
641 dentro de la gónada. Teniendo en cuenta este resultado, se puede determinar que la coloración

642 del ovario y en la mayoría de los casos, el tamaño pueden ser factores importantes, para  
643 reconocer mediante la observación externa del ovario, el estado de maduración de los gametos,  
644 y el estado de desarrollo por el que están pasando las células de *P. clarkii*,

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

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

660 Este tipo de maduración del ovario ocurre de manera similar en otros crustáceos (Yamaguchi,  
661 2001; Moreno *et al.*, 2012; Vazquez, 2008) en los que existe una mayor dominancia o presencia  
662 de ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos según el estado de desarrollo ovárico, también se  
663 han llevado a cabo otras investigaciones previas utilizando técnicas histológicas, histoquímicas,  
664 entre otros, para la identificación de estados de desarrollo de los ovocitos, sugiriendo siete  
665 estados de desarrollo para *Cherax cainii* (Ando & makioka, 1998), para *C. quadricarinatus* se

666 propusieron ocho estados de desarrollo de los gametos por Carmona-Osalde *et al.* (2004 a) y  
667 para *S. iranica* también se reportaron ocho estados de desarrollo por Sharifian *et al.* (2015).

668 El desarrollo y el cambio de tamaño en los ovocitos está asociada principalmente con la  
669 movilización de reservas energéticas del hepatopáncreas hacia las gónadas, determinando la  
670 actividad reproductiva al ingresar vitelo proteico y gotas de lípidos, las cuales comienzan su  
671 movilización desde los primeros estados de desarrollo celular y se ubican hacia la periferia del  
672 citoplasma (Souty-Grosset *et al.*, 2016; Moreno *et al.*, 2012; Revathi *et al.*, 2011), determinando  
673 de esta manera en *P. clarkii* la etapa final del estado de previtelogénesis y el comienzo de la  
674 vitelogénesis temprana. En algunas especies, donde se divide el ciclo de madurez en dos etapas  
675 (vitelogénesis primaria y secundaria), la incorporación de estas gotas de lípidos al citoplasma  
676 marca el final de la vitelogénesis primaria (Abdu *et al.*, 2000).

677 En *P. clarkii* como en *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012) en la periferia del citoplasma de los  
678 ovocitos maduros hay mayor presencia de gránulos de vitelo los cuales son más grandes en  
679 tamaño con respecto a otros estados de desarrollo celular, por lo que el núcleo tiende a ser muy  
680 pequeño, característica que también se observó externamente en los ovarios maduros los cuales  
681 a simple vista presentaban mayor presencia de vitelo en su interior (Fig. 5). De esta manera en  
682 *P. clarkii* el quinto estado de madurez gonadal, muestra mayor similitud con *C. quadricarinatus*  
683 (Abdu *et al.*, 2000; Vazquez, 2008) y *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012) en cuanto a la  
684 morfología e histología gonadal.

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

690 (Abdu *et al.*, 2000; Vazquez *et al.*, 2008) y *Macrobrachium caementarius* (Molina, 1782) (Moreno  
691 *et al.*, 2012).

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

700 También es importante mencionar que en algunos ovarios en diferentes estados de desarrollo  
701 gonadal en particular el IV y el V de *P. clarkii*, la presencia de ovogonias, ovocitos  
702 previtelogénicos, y vitelogénicos y en otro caso maduros, determina que a medida que avanza  
703 el proceso de maduración, algunos ovocitos se desarrollan más rápido mientras que otros  
704 avanzan más lento o están inactivos similar a lo que ocurre en *C. caementarius* (Moreno *et al.*,  
705 2012) y ya descrito para *P. clarkii* por Mubarak (2001) y Saad & Hassan, (2010) en Egipto. Este  
706 comportamiento reproductivo de las gónadas conlleva la capacidad de *P. clarkii* para realizar  
707 constantemente procesos de maduración y desove durante todo el periodo reproductivo, de tal  
708 manera que, a pesar de que *P. clarkii* pone pocos huevos por la estructura simple de su ovario  
709 (Ando & Makioka, 1998) y en comparación con las langostas de mar (Holdich, 2002), este  
710 cangrejo lo hace frecuentemente, indicando desoves consecutivos.

711 El presente trabajo corrobora la idea principal sobre la íntima relación entre los procesos  
712 reproductivos y la participación del hepatopáncreas de *P. clarkii* en estos (Fig. 6). En los machos  
713 de *P. clarkii*, los IGS fueron bajos (7%) y los IHS un poco más altos (6,5%) con respecto a las

714 hembras, cuyo IGS fue alto (92%) y los IHS ligeramente más altos (7,7%). Estos resultados  
715 indican que *P. clarkii* tiene diferentes estrategias reproductivas que depende del sexo, donde las  
716 hembras invierten más energía para la reproducción, ya que detienen el crecimiento cuando  
717 alcanzan la madurez, mientras que los machos invierten más energía para el crecimiento y  
718 movilidad (Mossolin & Bueno 2002 ., Thiel & Hinojosa, 2003; Papa *et al.*, 2004), similar a lo  
719 informado para machos de *A. astacus* (Lucić *et al.*, 2006) y *C. caementarius* (Marco-Medina *et*  
720 *al.*, 2019). Además, la coloración de los ovarios en las hembras según Varadarajan &  
721 Subramoniam (1980) está fuertemente relacionada con la presencia de p-caroteno en el  
722 organismo, pues este compuesto se concentra en la hepatopáncreas y podría estar  
723 transportándose por la hemolinfa durante la vitelogenésis (Varadarajan & Subramoniam, 1980).

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

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

736 En la Fig. 10 Se puede evidenciar que existe una mayor cantidad de hembras en estado maduro  
737 en los meses de septiembre a noviembre, mientras que diciembre y posiblemente los meses

738 próximos serían meses de transición para el resto de los estados de desarrollo, por lo que la  
739 época reproductiva estaría en los meses de septiembre y noviembre, similar a lo que ocurre con  
740 *A. leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012).

741 Durante la maduración del ovario de *P. clarkii* (Fig. 11) hubo incremento del IGS desde el estado  
742 II hasta el V, similar a lo sucedido en *C. caementarius* (Marco-Medina *et al.*, 2019) y *A.*  
743 *leptodactylus* (Üniş & Erkan, 2012), debido al crecimiento sucesivo de los ovocitos también  
744 relacionado con la acumulación activa de vitelo en los ovocitos, comienzan a estar altos en el III  
745 estado de desarrollo gonadal, lo que causa un desarrollo más rápido de los ovarios (Okumura,  
746 2000; Rosa & Nunes, 2002) de *C. caementarius* (Marco-Medina *et al.*, 2019).

747 Las hembras de *P. clarkii* inician su proceso de maduración gonadal desde pesos bajos (8 a 45  
748 g) de acuerdo a Manor *et al.* (2004), aun así los análisis del IGS muestran que el estado de  
749 desarrollo y el peso corporal (Fig. 12A) están muy poco correlacionados entre sí, puesto que  
750 hembras pesadas pueden estar en estado inmaduro y hembras livianas en estado maduro, no  
751 obstante, existen hembras pesadas con ovarios livianos debido a que están en estado de post-  
752 desove, aun así, es importante mencionar que las hembras de *P. clarkii* según Pedroza (2017)  
753 alcanzan la madurez sexual a los 7,6 cm de longitud total, pero esto (Fig. 12B) no determina el  
754 proceso ni el estado de desarrollo ovárico de la hembra (Reyes-Avalos, 2014), puesto que, las  
755 hembras derivan energía hacia el crecimiento ovárico desde tallas tempranas, ya que según  
756 Lucić *et al.* (2006), Lucić *et al.* 2012 , y Medina *et al.* (2019), éstas poseen mayor actividad  
757 metabólica destinada hacia el desarrollo ovárico y la muda, siendo estos dos procesos de gran  
758 importancia en estos organismos, de igual manera el crecimiento de los organismos puede estar  
759 conexo con factores externos como la temperatura, el agua, la salinidad entre otros, mientras  
760 que el desarrollo ovárico no se ve afectado Ramalho *et al.*, 2008). De igual manera sucede con  
761 la longitud cefalotorácica y el peso gonadal (Fig. 13) tanto en hembras como en machos.

762 A su vez, el tamaño del hepatopáncreas (Fig. 14) no está correlacionado con la longitud corporal  
763 ya que según Marco Medina *et al.* (2019) este es un órgano que está en constante actividad  
764 metabólica por lo que destina sus reservas a la reproducción, muda, crecimiento y movilidad en  
765 machos, por lo que su tamaño aumenta y disminuye según la actividad metabólica y alimenticia  
766 que muchas veces se ve afectada tanto en el proceso de muda como por el desove.

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

784 **Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)**

785 **EEAD** = Evelin Estrada Arango-Dayiana

786 **JYAP** = Julian Yessid Arias-Pineda

787 **IAZC** = Ingrid Angelica Zarate-Caballero

788 **MHTO** = Mery Helen Tijaro-Orejuela

789

790 **Conceptualization:** JYAP

791 **Data curation:** IAZC

792 **Formal Analysis:** EEAD

793 **Funding acquisition:** JYAP

794 **Investigation:** MHTO

795 **Methodology:** JYAP

796 **Project administration:** JYAP

797 **Resources:** EEAD

798 **Software:** IAZC

799 **Supervision:** JYAP

800 **Validation:** EEAD

801 **Visualization:** JYAP

802 **Writing – original draft:** EEAD

803 **Writing – review & editing:** MHTO

804 **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

805 Ando, H., & Makioka, T. (1998). Structure of the ovary and mode of oogenesis in the crayfish  
806 *Procambarus clarkii*. *Journal of Morphology*, 236, 9–20.

807 Abdu, U., Yehezkel, G., & Sagi, A. (2000). Oocyte development and polypeptide dynamics during  
808 ovarian maturation in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Invertebrate Reproduction &*  
809 *Development*, 37, 75–83.

810 Arias-Pineda, J. Y., & Rodríguez, W. D. (2012). First record of the invasive species *Procambarus*  
811 (*Scapulicambarus*) *clarkii* (Girard, 1852) (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) from the  
812 Colombian Eastern Cordillera. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.)*, 51, 313–  
813 315.

814 Arias-Pineda, J. Y., Martín, S., González-Castillo, N. S., Castillo-Ávila, C. C., & García-Sánchez,  
815 J. S. (2020). Trampas experimentales para la captura de decápodos de agua dulce en Colombia.  
816 *The Biologist (Lima)*, 18, 251–262.

817 Arias-Pineda, J. Y., & Pedroza-Martínez, D. R. (2018). Presencia del cangrejo rojo *Procambarus*  
818 *clarkii* (Girard, 1852) en la sabana de Bogotá, Colombia. *Boletín de la Sociedad Entomológica*  
819 *Aragonesa (S.E.A.)*, 62, 283–286.

820 Álvarez, F., Villalobos, J. L., & Lira, E. (2014). Biodiversidad de crustáceos decápodos  
821 (Crustacea: Decapoda) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 399–407.

822 Brusca, R. C., & Brusca, G. J. (2005). *Invertebrates* (2<sup>nd</sup> ed.). Sinauer Associates.

823 Campos, M. R. (2005). *Freshwater crabs from Colombia: A taxonomic and distributional study*.  
824 Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

825 Carmona-Osalde, C., Rodríguez-Serna, M., Olvera-Novoa, M. A., & Gutiérrez-Yurrita, P. J.  
826 (2004a). Effect of density and sex ratio on gonad development and spawning in the crayfish  
827 *Procambarus llamasii*. *Aquaculture*, 236, 331–339.

828 Carmona-Osalde, C., Rodríguez-Serna, M., Olvera-Novoa, M. A., & Gutiérrez-Yurrita, P. J.  
829 (2004b). Gonadal development, spawning, growth and survival of the crayfish *Procambarus*  
830 *llamasii* at three different water temperatures. *Aquaculture*, 232, 305–316.

831 Cavalli, R. O., Scardua, M. P., & Wasielesky, W. (1997). Reproductive performance of different  
832 sized wild and pond-reared females of *Penaeus paulensis*. *Journal of the World Aquaculture*  
833 *Society*, 28, 260–267.

834 Comoglio, L. I., Smolko, L., & Amin, O. (2005). Effects of temperature on growth, molting and  
835 survival of *Palaemonetes argentinus*. *Aquaculture*, 249, 179–186.

836 D’Abramo, L. R., & Sheen, S. S. (1994). Nutritional requirements, feed formulation, and feeding  
837 practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Reviews in*  
838 *Fisheries Science*, 2, 1–21.

839 De Grave, S., Decock, W., Dekeyzer, S., Davie, P. J. F., Franssen, C. H. J. M., Boyko, C. B.,  
840 Poore, G. C. B., Macpherson, E., Ahyong, S. T., Crandall, K. A., de Mazancourt, V., Osawa, M.,  
841 Chan, T.-Y., Ng, P. K. L., Lemaitre, R., van der Meij, S. E. T., & Santos, S. (2023). Benchmarking  
842 global biodiversity of decapod crustaceans (Crustacea: Decapoda). *Journal of Crustacean*  
843 *Biology*, 43, ruad042.

844 De Vlaming, V., Grossman, G., & Chapman, F. (1982). On the use of the gonadosomatic index.  
845 *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 73, 31–39.

846 Dörr, A. J. M., Scalici, M., Caldaroni, B., Magara, G., Scoparo, M., Goretti, E., & Elia, A. C. (2020).  
847 Salinity tolerance of the invasive red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852).  
848 *Hydrobiologia*, 847, 2065–2081.

849 Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2009). *Procambarus clarkii*. In  
850 *Cultured aquatic species fact sheets*. FAO Fisheries and Aquaculture Division. Rome, Italy

851 Flórez-Brand, P. E., & Espinosa-Beltrán, J. O. (2011). Presencia y dispersión del cangrejo rojo  
852 americano (*Procambarus clarkii* Girard, 1852) (Decapoda: Cambaridae) en el departamento del  
853 Valle del Cauca, Colombia. *Biota Colombiana*, 12, 57–62.

854 Gherardi, F. (2006). Crayfish invading Europe: the case study of *Procambarus clarkii*. *Marine and*  
855 *Freshwater Behaviour and Physiology*, 39, 175–191.

856 Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software  
857 package. *Palaeontologia Electronica*, 4, 1–9.

858 Hobbs, H. H., Jr. (1984). On the distribution of the crayfish genus *Procambarus* (Decapoda:  
859 Cambaridae). *Journal of Crustacean Biology*, 4, 12–24.

860 Holdich, D. M. (Ed.). (2002). *Biology of freshwater crayfish*. Blackwell Publishing Oxford, England:  
861 Blackwell Science Ltd.

862 Huner, J. V., & Avault, J. W. (1976). *Crawfish culture in the southeastern United States*. Louisiana  
863 State University, Division of Continuing Education.

864 Huner, J. V., & Barr, J. E. (1984). *Red Swamp Crawfish: Biology and Exploitation*. Louisiana Sea  
865 Grant College Program, Center for Wetland Resources, Louisiana State University.

866 Holdich, D. M. (Ed.). (2002). *Biology of freshwater crayfish*. Blackwell Science.

867 Jin, S., Jacquin, L., Xiong, M., Li, R., Lek, S., Li, W., & Zhang, T. (2019). Reproductive pattern  
868 and population dynamics of commercial red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) from China:  
869 Implications for sustainable aquaculture management. *PLOS One*, *14*, e0209614.

870 Karaouzas, I., Kapakos, Y., Fytilis, K., Leris, I., Kalaitzakis, N., Kouraklis, P., Perdikaris, C., &  
871 Kalogianni, E. (2024). The first finding of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in Greece  
872 calls for rapid measures. *Limnology*, *25*, 229–234.

873 Kawai, T., & Kobayashi, Y. (2005). Origin and current distribution of the alien crayfish,  
874 *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in Japan. *Crustaceana*, *78*, 1143–1152.

875 Kennish, M. J. (1996). *Practical handbook of estuarine and marine pollution*. CRC Press. Kolar,  
876 C. S., & Lodge, D. M. (2001). Progress in invasion biology: Predicting invaders. *Trends in Ecology*  
877 *& Evolution*, *16*, 199–204.

878 Kulkarni, G. K., & Fingerman, M. (1991). Oogenesis and effects of neuroendocrine tissues on in  
879 vitro incorporation of protein precursors into ovarian tissue of the red swamp crayfish  
880 *Procambarus clarkii*. *Journal of Crustacean Biology*, *11*, 513–522.

881 Lozano-Álvarez, E., & Aramoni-Serrano, G. (1996-1997). Alimentación y estado nutricional de las  
882 langostas *Panulirus inflatus* y *Panulirus gracilis* (Decapoda: Palinuridae) en Guerrero, México.  
883 *Revista de Biología Tropical*, *44*, 453–461.

884 Lucić, A., Erben, R., & Lacković, G. (2006). Morphological changes in *Astacus astacus* gonads  
885 during the reproductive cycle. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, *380–381*, 1183–  
886 1196

887 Lucić, A., Hudina, S., Faller, M., & Cerjanec, D. (2012). A comparative study of the physiological  
888 condition of native and invasive crayfish in Croatian rivers. *Biologia*, *67*, 172–179.

889 Manor, R., Aflalo, E. D., Segall, C., Weil, S., Azulay, D., Ventura, T., & Sagi, A. (2004). Androgenic  
890 gland implantation promotes growth and inhibits vitellogenesis in *Cherax quadricarinatus* females  
891 held in individual compartments. *Invertebrate Reproduction & Development*, 45, 151–159.

892 Medina, M., Espinoza, G. Y., & Reyes, A. W. (2019). Índices gonadosomático y hepatosomático  
893 en relación con la maduración y muda del camarón *Cryphiops caementarius* del río Pativilca  
894 (Perú). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30, 1018–1029.

895 Meeratana, P., & Sobhon, P. (2007). Classification of differentiating oocytes during ovarian cycle  
896 in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Aquaculture*, 270, 249–258.

897 Mossolin, E. C., & Bueno, S. L. S. (2002). Reproductive biology of *Macrobrachium olfersi*  
898 (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 22, 367–  
899 376.

900 Mito, T., & Uesugi, T. (2004). Invasive alien species in Japan: The status quo and the new  
901 regulation for prevention of their adverse effects. *Global Environmental Research*, 8, 171–193.

902 Moreno, J. E., Méndez, C. A., Meruane, J. A., & Morales, M. C. (2012). Descripción histológica y  
903 caracterización de los estados de madurez gonadal de hembras de *Cryphiops caementarius*  
904 (Molina, 1782) (Decapoda: Palaemonidae). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40,  
905 668–678.

906 Mubarak, M. F. (2001). *Fishery management of the exotic crayfish Procambarus clarkii in the*  
907 *irrigation canal system of the River Nile, Egypt* (Ph.D. thesis). Institute of Environmental Studies  
908 and Researches, Ain Shams University, Egypt.

909 Nakata, K., & Goshima, S. (2004). Factors inducing the intense burrowing activity of the red  
910 swamp crayfish *Procambarus clarkii*, an invasive alien species in Japan. *Naturwissenschaften*,  
911 91, 342–346.

912 Okumura, T., & Aida, K. (2000). Hemolymph vitellogenin levels and ovarian development during  
913 the reproductive and non-reproductive molt cycles in the giant freshwater prawn *Macrobrachium*  
914 *rosenbergii*. *Fisheries Science*, 66, 678–685.

915 Papa, L. P., Vicentini, I. B. F., Ribeiro, K., Vicentini, C. A., & Pezzato, L. E. (2004). Diferenciação  
916 morfológica de machos do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* a partir da análise  
917 do hepatopâncreas e do sistema reprodutor. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 26, 463–467.

918 Passano, L. M. (1960). *Molting and its control*. En T. H. Waterman (Ed.), *The Physiology of*  
919 *Crustacea* (Vol. 1, pp. 473–536). Academic Press.

920 Peart, R. A., & Schnabel, K.E. (2024). Advances in crustacean research from the 10th  
921 International Crustacean Congress. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1529867.

922 Pedroza-Martínez, D. R. (2017). *Estudio de la estructura poblacional de Procambarus clarkii*  
923 *(Girard, 1852) en la laguna de Fúquene, Cundinamarca* (Tesis de pregrado). Universidad Distrital  
924 Francisco José de Caldas.

925 Ramalho, R. O., Anastácio, P. M., & Marçal, A. M. (2008). Effects of density on growth and  
926 survival of juvenile red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), reared under laboratory  
927 conditions. *Aquaculture Research*, 39, 577–586.

928 Reyes-Avalos, W. (2014). Interrelación del ciclo de muda, el ciclo ovárico y el desarrollo  
929 embrionario en hembras de *Cryphiops caementarius* Molina 1782 (Crustacea, Palaemonidae).  
930 *Intropica*, 9, 33–42.

931 Revathi, P., Vasanthi, L. A., & Munuswamy, N. (2011). *Effect of cadmium on the ovarian*  
932 *development in the freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii (De Man)*. *Ecotoxicology and*  
933 *Environmental Safety*, 74, 623–629.

934 Rivera, C. A., Zapata, A., Gonzalez-Gamboa, I., Pimiento-Ortega, M. G., Sarmiento-Toro, A.C.,  
935 Mesa-Roberto, F.L., Jiménez-Carmona, E., Romero-Galindo, G.A., Mora-Ballen, L.F., Villamil-  
936 Pasito, D.C., Villamil, W., & León-López, N. (2024). Aproximación a la biología de *Procambarus*  
937 *clarkii* en la dársena de la planta Tibitoc (Zipaquirá, Colombia). *Revista de la Academia*  
938 *Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 48, 491–507.

939 Rodríguez, G. (1980). *Los crustáceos decápodos de Venezuela*. Instituto Venezolano de  
940 Investigaciones Científicas (IVIC).

941 Rosa, R., & Nunes, M. L. (2002). Biochemical composition of deep-sea decapod crustaceans with  
942 two different benthic life strategies of the Portuguese south coast. *Deep-Sea Research Part I:*  
943 *Oceanographic Research Papers*, 49, 119–130

944 Rudolph, E. (1997). Intersexualidad en el camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poepig,  
945 1835) (Decapoda, Parastacidae). *Investigaciones Marinas*, 25, 7–18.

946 Saad, A. E., & Hassan, M. (2010). Anatomical and histological studies on the male reproductive  
947 system of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and*  
948 *Fisheries*, 14, 87–100.

949 Sastry, A. N. (1983). *Ecological aspects of reproduction*. En F. J. Vernberg & W. B. Vernberg  
950 (Eds.), *The Biology of Crustacea* (Vol. 8, pp. 179–270). New York, NY: Academic Press.

951 Sarojini, R., Nagabhushanam, R., & Fingerman, M. (1995). *In vivo* inhibition by dopamine of 5-  
952 hydroxytryptamine-stimulated ovarian maturation in the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*.  
953 *Experientia*, 51, 156–158.

954 Sharifian, S., Kamrani, E., Safaie, M., & Sharifian, S. (2015). Oogenesis and ovarian development  
955 in the freshwater crab *Sodhiana iranica* from south of Iran. *Tissue and Cell*, 47, 213-220.

956 Sokolowicz, C. C., Bond-Buckup, G., & Buckup, L. (2006). Dynamics of gonadal development of  
957 *Aegla platensis* (Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 23, 1153–1158.

958 Souty-Grosset, C., Holdich, D. M., Noël, P. Y., Reynolds, J. D., & Haffner, P. (2006). *Atlas of*  
959 *crayfish in Europe* (Patrimoines naturels, 64). Muséum national d'Histoire naturelle.

960 Thiel, M. & I. Hinojosa. 2003. Mating behavior of female rock shrimp *Rhynchocinetes*  
961 *typus* (Decapoda: Caridea) — indication for convenience polyandry and cryptic female choice.  
962 *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55, 113–121.

963 Üniş, Ç., & Erkan, M.B. (2012). Morphology and development of the female reproductive system  
964 of *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)(Decapoda, Astacidae). *Turkish Journal of Zoology*  
965 36, 775-784.

966 Vázquez, S. G. (2008). *Distribution of exotic Australian crayfish Cherax quadricarinatus (von*  
967 *Martens, 1868) in Puerto Rico* (Master's thesis). University of Puerto Rico, Mayagüez

968 Varadarajan, S., & Subramoniam, T. (1980). Histochemical investigations on vitellogenesis of an  
969 anomuran crab, *Clibanarius clibanarius*. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 2,  
970 47–58.

971 Villalobos-Figueroa, A. (1955). *Crustáceos de agua dulce de México*. Instituto de Biología,  
972 Universidad Nacional Autónoma de México.

973 Yamaguchi, T. (2001). The breeding period of the fiddler crab *Uca lactea* (Decapoda: Brachyura:  
974 Ocypodidae) in Japan. *Crustaceana*, 74, 285–293.

975 Zara, F. J., Gaeta, H. H., Costa, T. M., Toyama, M. H., & Caetano, F. H. (2013). The ovarian cycle  
976 histochemistry and its relationship with hepatopancreas weight in the blue crab *Callinectes danae*  
977 (Crustacea: Portunidae). *Acta Zoologica*, 94, 134–146.

978 Received April 1, 2026.

979 Accepted May 25, 2026.

ASAP