

Validación histológica de una escala morfo cromática de maduración gonadal para la jaiba verde, *Callinectes bellicosus*

Verónica Castañeda-Fernández de Lara*, Liliana Carvalho-Saucedo*,
Juan Antonio García-Borbón*, Carlos Gómez-Rojo* y Juan Carlos Castro-Salgado**

La jaiba verde *Callinectes bellicosus* es un recurso de importancia pesquera en el estado de Baja California Sur, México. Una limitante de los estudios reproductivos en esta especie es el alto costo de la técnica histológica tradicional. *Callinectes bellicosus* cuenta con patrones de coloración en las gónadas que favorecen el desarrollo de una escala de madurez. Este estudio propone una escala morfo cromática de maduración gonadal validada histológicamente para machos y hembras de la jaiba verde. A 207 jaibas se les asignó un estadio gonadal considerando la coloración, la textura y el tamaño de la gónada. Se fijaron en formol a 10% y se empleó el método histológico tradicional (hematoxilina-eosina). A cada corte histológico se le asignó un estadio de maduración y se comparó con la escala morfo cromática. Se desarrolló una escala de cinco estadios para hembras y de cuatro para machos: I Inmaduro, II gametogénesis, III desarrollo, IV madurez y V ovígeras, en hembras. Para las hembras no hubo diferencias entre las frecuencias por estadio entre las escalas morfo cromática e histológica (χ^2 , 3 g.l., H = 0.3994), a diferencia de los machos (χ^2 , 3 g.l., H = 13.603). Para ambos sexos se observaron gónadas en reabsorción, que no se observaron en la escala morfo cromática. Los resultados sugieren que la escala morfo cromática propuesta para hembras de *C. bellicosus* es confiable. Para los machos se recomienda fortalecer la escala incluyendo los organismos en reabsorción.

Palabras clave: Escala morfo cromática validada, gametogénesis, *Callinectes bellicosus*.

Histological validation of a morpho-chromatic scale of gonadic maturity for the swimming crab, *Callinectes bellicosus*

The swimming crab *Callinectes bellicosus* is an important fishery resource in Baja California Sur. A limitation to carry out reproductive studies of this species is the high cost of the traditional histological technique. Gonads of *C. bellicosus* have a color pattern that makes it possible to use a maturity scale. This study suggests a morpho-chromatic maturity scale validated histologically for males and females. Considering color, texture and size of the gonad, 207 swimming crabs were assigned a maturation stage. Gonads were fixed in 10% formalin and the traditional histological technique (hematoxylin-eosine) was used. A maturity stage was assigned to each histological cut and then it was compared with the morpho-chromatic scale. We suggest the use of a scale of five stages for females and four for males: I immature, II gametogenesis, III development, IV maturity and V ovigerous, for females. There were not significant differences between morpho-chromatic and histological frequencies in females (χ^2 , 3 d.f., H = 0.3994), contrary to males (χ^2 , 3 d.f., H = 13.603). In both sexes gonad reabsorption was observed, not evident in the morpho-chromatic scale. Our results suggest that the morpho-chromatic scale for females of *C. bellicosus* is reliable. However, for males we recommend reinforcing the scale taking into consideration the reabsorption.

Key words: Validated morpho-chromatic scale, gametogenesis, *Callinectes bellicosus*.

Introducción

Las jaibas del género *Callinectes* son crustáceos de la familia Portunidae que habitan la zona de

la ribera marina y los sistemas lagunares costeros durante su fase adulta. Se distribuyen en el océano Pacífico, desde el sur de California, EU. hasta Perú y desde Nueva Escocia, Canadá, Mar Caribe y el Golfo de México, hasta Río de la Plata, Argentina (Williams 1974). En México, como recurso pesquero son de gran importancia en los estados de Baja California Sur, Sonora, Oaxaca, Sinaloa, Veracruz, Tamaulipas y Campeche. En Baja California Sur, la captura se

* Centro Regional de Investigación Pesquera - La Paz. Instituto Nacional de Pesca. SAGARPA. Carretera a Pichilingue km 1 s/n, CP 23020. La Paz, BCS, México. carvalholiliana@gmail.com

** Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Departamento de Pesquerías y Biología Marina, IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional s/n Col. Playa Palo de Santa Rita. AP 592. CP 23096, La Paz, BCS, México.

basa principalmente en la jaiba verde *Callinectes bellicosus* (Stimpson 1859), que predomina en tres sistemas lagunares: Bahía Magdalena-Almejas, Ojo de Liebre-Guerrero Negro y Laguna de San Ignacio. Durante el periodo reproductivo de *C. bellicosus*, los machos colocan los espermatóforos en la espermateca de las hembras. Los huevos fecundados son expulsados por la hembra y depositados en los pleópodos para ser incubados por un periodo aproximado de tres semanas (Ortega-Salas 1994). Los machos tienen el abdomen en forma de T invertida, las hembras inmaduras lo tienen triangular y las hembras maduras, redondeado (Ortega-Salas 1994).

Las investigaciones sobre aspectos reproductivos de *C. bellicosus* son escasas. En Bahía Magdalena, BCS, la fecundidad promedio es de 1' 463 000 huevos, y en la ensenada de La Paz, BCS, fue de 4' 576 258 huevos (González-Ramírez *et al.* 1990, Escamilla-Montes *et al.* 2013). Los huevos fertilizados se desarrollan aproximadamente a los 14 días en salinidades de al menos 20 partes por mil (Ramírez-Félix y Singh-Cabanillas 2003). La talla de primera madurez es de 107 mm de ancho de caparazón (Rodríguez-Domínguez *et al.* 2012). Se reportaron hembras inseminadas durante todo el año con mayor intensidad de primavera a otoño, en Sonora, México; además, para esta región se identificó un pico de máxima actividad reproductiva, para ambos sexos, de julio a septiembre (Castro-Longoria *et al.* 2003¹).

Para describir los estadios de maduración gonádica de esta especie se ha utilizado una escala morfocromática basada en cambios de coloración y de la forma del abdomen (Williams 1974, Arzate 1987², González-Ramírez *et al.* 1990, Castro-Longoria *et al.* 2003¹, Castañeda-Fernández de Lara *et al.* 2008³, Rodríguez-Domínguez *et al.*

2012, Escamilla-Montes *et al.* 2013). Sin embargo, no existe una escala morfocromática validada. Esto es un aspecto biológico importante para entender la estrategia reproductiva de esta especie y para plantear medidas de manejo pesquero. El objetivo del presente trabajo fue validar una escala morfocromática de maduración sexual mediante un análisis histológico de gónadas de *C. bellicosus*.

Materiales y métodos

Se recolectaron 207 organismos en Bahía Magdalena, BCS, México, de julio de 2013 a junio de 2014. La disección y el análisis visual de la gónada se realizaron mediante un corte en la parte ventral del cefalotórax para retirar el exoesqueleto. A cada gónada se le asignó un estadio de maduración considerando su color, su textura y su tamaño; se tomó un fragmento de tejido, que se etiquetó y se fijó con formol a 10%. En el laboratorio, los fragmentos de gónada se enjuagaron en agua corriente y se colocaron en alcohol a 50% durante 24 horas. La deshidratación de las gónadas se realizó como sigue: alcohol a 70% (1 hora), 80% (1 hora), 96% (1 hora), alcohol absoluto (2 minutos), 50% aclarante + 50% alcohol absoluto (5 minutos), aclarante (1 hora), parafina 1 (1 hora), parafina 2 (1 hora), parafina 3 (1 hora). De las gónadas deshidratadas se cortaron secciones transversales de 4 μ m de grosor y se tiñeron con la técnica hematoxilina eosina (Humason 1979) y se montaron en laminillas con resina sintética. Para la observación se utilizó un microscopio compuesto trio-ocular (Marca Olympus BX41) con cámara digital (COOISNAP-Pro), con el que se fotografió cada una de las fases del desarrollo.

Para evaluar las coincidencias entre los métodos morfocromático e histológico se estimaron para machos y hembras las frecuencias relativas de gónadas por estadio de madurez, comparando

1. Castro-Longoria R, J Ramos-Paredes, G Montemayor-López y J Jiménez-Rodríguez. 2003. Estudio de la biología reproductiva del recurso jaiba, *Callinectes bellicosus*, de la costa del estado de Sonora. Informe técnico. UNISON-INP. México. 48p.
2. Arzate AE. 1987. Sinopsis de la investigación biológico pesquera de las jaibas *Callinectes sapidus* y *Callinectes rathbunae* en el noroeste del Golfo de México, 1985-1986. Memoria II Reunión Indicativa de Actividades Regionales Relacionadas con la Oceanografía (Golfo de México y Mar Caribe Mexicanos). Veracruz, Ver. Noviembre de 1987.
3. Castañeda-Fernández de Lara V, R Loaiza-Villanueva y

A Sánchez-Cruz. 2008. Monitoreo poblacional de la jaiba *Callinectes bellicosus*, para la región del Alto Golfo de California. Informe técnico. Centro Intercultural de Estudios de Desiertos y Océanos. México. 16p.

las determinaciones los resultados mediante una prueba χ^2 ($\alpha = 0.05$).

Resultados

Desarrollo gonadal en hembras

El aparato reproductor femenino de *C. bellicosus* posee dos ovarios que inician su desarrollo en la parte dorsal de la cavidad torácica. Cada lóbulo anterior se asocia con el hepatopáncreas (que cambia de color durante el desarrollo gonádico) y se continúa hacia la parte media, donde se interceptan ambas gónadas. Éstas se bifurcan nuevamente en la parte posterior (en forma de H) y se conectan con la espermateca mediante un oviducto, donde inserta el macho el espermátforo.

De acuerdo con las características externas (forma, tamaño, coloración y textura), así como con las características histológicas del desarrollo de los gametos y el ovario, se identificaron cinco etapas de desarrollo (Tabla 1).

Descripción de estadios

Inactivo (H1). Los ovarios son pequeños, flácidos y sin coloración. Cada ovario en su parte posterior se prolonga en forma de un fino conducto translúcido (oviducto), muy difícil de percibir a simple vista. En el ovario en reposo o inmaduro, no se observan células germinales diferenciadas que permitan la identificación del sexo por análisis histológico (Fig. 1).

Gametogénesis inicial (H2). Los ovarios aumentan de tamaño, aunque ocupan una pequeña porción del cefalotórax. Color blanco de textura rugosa. Fase más avanzada de gametogénesis, ovarios coloración externa amarillo tenue e interna ligeramente rosada. Porción proximal de los oviductos engrosada de color entre blanco y amarillo tenue; porción media y posterior delgada, translúcida y flácida. Evidente el desarrollo del tejido gonádico, constituido por gran cantidad de tejido germinativo con numerosas ovogonias pequeñas, ovocitos primarios y ovocitos previtelogénicos, todos con afinidad basófila. Los ovocitos previtelogénicos se caracterizan por un núcleo grande acidófilo con uno o más núcleos basófilos, en algunos casos con la cromatina

Tabla 1
Escalas morfocromática e histológica de maduración gonádica en hembras de *Callinectes bellicosus*, recolectadas en Baja California Sur, México

Estadio	Morfología externa	Morfología interna (histológica)
Inactivo (H1)	Lóbulos gonádicos difíciles de distinguir por ser pequeños, translúcidos, flácidos y retraídos.	No se observan células germinales diferenciadas que permitan la identificación del sexo.
Gametogénesis inicial (H2)	Los lóbulos presentan color desde blanco hasta amarillo tenue en su parte externa y ligeramente rosada en su parte interna. Las porciones proximales de los oviductos se engrosan y ya son aparentes.	Se puede identificar el tejido germinativo, predominando pequeñas ovogonias y ovocitos primarios con escasos ovocitos previtelogénicos, todos ellos basófilos.
Desarrollo (H3)	Los ovarios aumentan su grosor, el color amarillo se intensifica. Partes media y posterior de los oviductos notablemente desarrolladas; oviductos gruesos, abultados y con textura lisa.	Predominan los ovocitos Vitdes y se pueden observar áreas con ovocitos Previt en desarrollo y algunas veces escasos ovocitos Vitmad.
Madurez (H4)	Los ovarios y oviductos presentan intensa coloración naranja; los oviductos ocupan más de la mitad de la cavidad torácica. Su textura es firme y granulosa.	En los conductos medios y posteriores predominan los ovocitos Vitmad. En algunos casos pueden presentarse pequeñas áreas con ovocitos Previt.
Ovígera (H5)	Masa ovígera en la parte ventral del cefalotórax, con coloración desde amarillo tenue, hasta marrón oscuro.	



Fig. 1. Apariencia morfocromática y microfotografías de gónadas de hembras de *Callinectes belllicosus* en diferentes estadios de desarrollo. I: Inactividad. Nótese la cavidad torácica con espermatecas y sin gónada aparente (A) y el tejido conjuntivo sin presencia de células germinales (B). II: Gametogénesis inicial. Espermatóforo inoculado (flecha) (C) y ovocitos previtelogénicos (D). III: Desarrollo. Ovocitos vitelogénicos en desarrollo (F). IV: Etapa de madurez (G y H). Ovocitos en madurez (H). Gónada (g), previtelogénicos (Previt), vitelogénicos en desarrollo (Vitdes), vitelogénicos maduros (Vitmad).

dispersa. También presentan algunos ovocitos previtelogénicos en desarrollo avanzado, que han aumentado su tamaño y comienza a disminuir la basofilia en el citoplasma (Fig. 1).

Desarrollo (H3). Los ovarios se observan con claridad en la parte dorsal del hepatopáncreas y su grosor aumenta de forma notable; el color amarillo se intensifica. Es aparente el

desarrollo de las partes media y posterior de los oviductos, que ocupan una porción considerable de la cavidad torácica. Oviductos gruesos, abultados y con textura lisa. Predominan los ovocitos vitelogénicos inmaduros en desarrollo (Vitdes), con un núcleo central o hacia un polo y membrana basal bien definida. En éstos se observa el inicio de la acumulación de gránulos de vitelo y de gruesas gotas nutritivas con intenso color naranja. En la misma gónada se pueden observar áreas con ovocitos previtelogénicos (Previt) en desarrollo y algunas veces escasos ovocitos vitelogénicos maduros (Vitmad) (Fig. 1).

Madurez (H4). Ovarios y oviductos color anaranjado intenso; los oviductos ocupan más de la mitad de la cavidad torácica, muy largos y con notables abultamientos. Textura granulosa por la gran cantidad de ovocitos maduros. La mayor parte de la gónada con ovocitos vitelogénicos maduros, que se caracterizan por la desaparición del núcleo y por estar comprimidos unos con otros (por su gran tamaño). El contenido citoplasmático se observa como una masa homogénea de intensa coloración rosa-naranja y la membrana basal es casi imperceptible. En algunos casos pueden presentarse pequeñas áreas con ovocitos previtelogénicos en desarrollo (Fig. 1).

Ovígera (H5). En la parte externa del abdomen se observa gran masa de huevos aglutinados (en desarrollo larvario). Su color va desde el amarillo tenue hasta marrón oscuro (Fig. 1). En algunos casos se observaron gónadas de color amarillo pálido, flácidas y aparentemente hidratadas, difíciles de categorizar, con restos de gametos femeninos y tejido gonádico en reabsorción por fagocitos.

Desarrollo gonadal en machos

El aparato reproductor masculino de *C. bellicosus* consta de un par de testículos de color blanco opaco, localizados en la región dorsal de la cavidad torácica y estrechamente asociados al hepatopáncreas. Este último tiene color variable a lo largo del desarrollo gonádico. Cada testículo se prolonga mediante un conducto o vaso deferente compuesto por las partes anterior, media y posterior y está constituido por finos túbulos seminíferos enrollados que, en su parte final, se conectan al conducto eyaculador. Al avanzar el desarrollo los conductos incrementan su volumen y la gónada adquiere un color rosa tenue; al llegar la madurez pasa a un color rosa intenso. De acuerdo con las características externas e histológicas se identificaron cuatro etapas de desarrollo (Tabla 2).

Tabla 2
Escalas morfocromática e histológica de maduración gonádica en machos de *Callinectes bellicosus*, recolectados en Baja California Sur, México

<i>Estadio</i>	<i>Morfología externa</i>	<i>Morfología interna (histológica)</i>
Inactivo (H1)	Testículos pequeños, flácidos y traslucidos. Conductos espermáticos (deferente anterior, medio y posterior) sumamente delgados, finos y transparentes.	No se observan células germinales diferenciadas que permitan la identificación del sexo.
Gametogénesis inicial (H2)	Testículos y vasos espermáticos color blanquecino. Su consistencia es más rígida. Ocupan reducido volumen en la cavidad torácica.	Predominan las espermatogonias y espermatocitos (Et) en desarrollo. En algunos casos se presentan espermátidas y escasos espermatóforos en formación. Acumulación de dos secreciones de color rosa y morada.
Desarrollo (H3)	Testículos y vasos deferentes anteriores blancos y engrosados. La gónada ha crecido, ocupa menos de la mitad de la cavidad torácica; color rosa tenue, con un extremo color blancuzco.	Conductos anteriores con predominio de espermátidas y espermatocitos (Etd). Conductos medios con pocos espermatóforos embebidos en la sustancia rosa.
Madurez (H4)	Las gónadas ocupan más de la mitad de la cavidad torácica. Color rosa intenso; los extremos de los vasos color amarillo-verdoso cristalino.	Conductos anteriores con espermatóforos (Etf) aglutinados. En algunos casos con zonas en desarrollo y en gametogénesis. Conductos medios con gran cantidad de espermatóforos en la sustancia rosa.

Descripción de estadios

Inactivos (H1). Durante esta etapa es difícil detectar los órganos reproductores. Dos testículos pequeños, flácidos y traslúcidos con los conduc-

tos espermáticos (deferente anterior, medio y posterior) sumamente delgados, finos y transparentes. No se observan células germinales diferenciadas que permitan la identificación del sexo (Fig. 2).

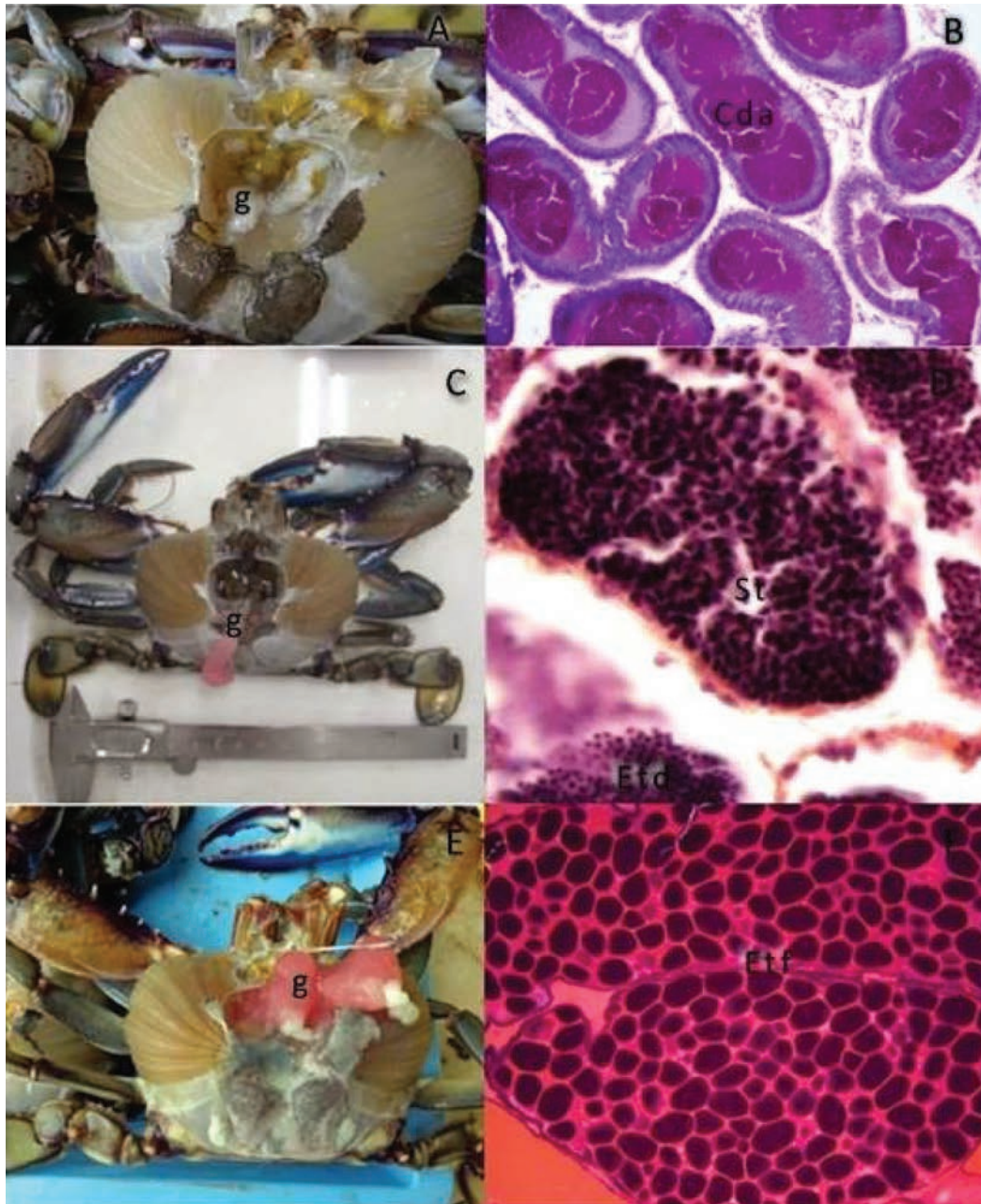


Fig. 2. Apariencia morfo cromática y microfotografías de gónadas de machos de *Callinectes bellicosus* en diferentes estadios de desarrollo (se omite la etapa I de inactividad). II: Gametogénesis. Desarrollo temprano de la gónada (A), conductos anteriores con gametos en desarrollo (B). III: Desarrollo. Gónada con conductos medios en desarrollo (C), zonas con espermatocitos y espermatidas en desarrollo (D). IV: Madurez. Gónada madura (E), conductos medios llenos de espermátóforos (F). Gónada (g), conductos anteriores (Cda), espermatocitos (Et), espermatidas (Etd), espermátóforos (Etf).

Gametogénesis inicial (H2). Se aprecian los testículos que han aumentado de tamaño; color blanquecino. Vasos espermáticos (anterior, medio y deferente) color blancuzco y consistencia más rígida; el volumen que ocupan en la cavidad torácica es aún reducido. Vasos deferentes anteriores grandes, áreas con espermatogonias con núcleo de afinidad basófila y en algunos casos con heterocromatina cerca de la envoltura nuclear. Se observan espermatoцитos (Et) en desarrollo con núcleo basófilo y cromatina condensada; con el desarrollo el citoplasma se reducirá, la membrana nuclear desaparecerá y la cromatina se dispersará en cúmulos. En algunos casos se pueden encontrar pequeñas zonas con espermátidas en desarrollo y escasos espermátóforos en formación. En los vasos medios y posteriores inicia la acumulación de dos secreciones de color rosa y morada (en hematoxilina-eosina) (Fig. 2).

Desarrollo (H3). Testículos y vasos deferentes anteriores blancos y engrosados. Parte media de los vasos deferentes aumentada notablemente con color rosa tenue; región posterior color blancuzco. La gónada ocupa menos de la mitad de la cavidad torácica. Gónada con gran cantidad de conductos seminíferos llenos de espermatoцитos y de espermátidas (Etd) en desarrollo; estas últimas, embebidas en dos secreciones rosa y morada (en hematoxilina-eosina) necesarias para la aglutinación de las espermátidas. En los conductos medios se observan zonas con espermátóforos aislados embebidos en la sustancia rosa (Fig. 2).

Madurez (H4). Parte media de los vasos deferentes desarrollada notablemente, ocupa más de la mitad de la cavidad torácica; color rosa intenso. Extremos de los vasos deferentes color amarillo-verdoso cristalino. En los conductos medios se observan grandes cantidades de espermátóforos (Etf) envueltos en una de sustancia rosa. En los conductos deferentes anteriores, el espacio entre espermátóforos es casi nulo, en algunos casos los espermátóforos están comprimidos unos contra otros. En otros, en estos conductos aparecen áreas en desarrollo y en gametogénesis (Fig. 2).

Se observaron gónadas con escaso volumen, color blanquecino y en algunos casos ligeramente color rosa, flácidas y en apariencia hidratadas, que fueron difíciles de categorizar. Esas gónadas

mostraron restos de esperma y tejido gonádico en reabsorción por fagocitos.

Durante la observación histológica se identificó el estadio de reabsorción gonádica, tanto en machos como en hembras, con hemocitos en proceso de fagocitosis y gametos residuales. Asimismo, se detectó atresia en los ovocitos.

Análisis estadísticos

En el caso de las hembras de jaiba no se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias relativas de estadios determinados por los dos métodos ($\chi^2 = 1.3139$, 3 g.l.). La menor coincidencia entre métodos fue en el estadio de gametogénesis inicial (62.6%) y la mayor en la fase de inactividad (94%); para desarrollo y madurez fueron los mismos niveles de coincidencia (83%) (Fig. 3). El análisis de regresión lineal de las frecuencias de estadios indicó que existe una elevada concordancia general ($r^2 = 0.8754$) entre las determinaciones por ambos métodos.

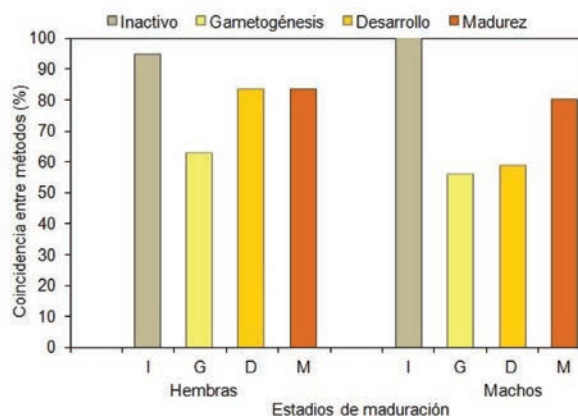


Fig. 3. Coincidencias (%) de las frecuencias relativas de los estadios de madurez gonadal (Inactivo, Gametogénesis, Desarrollo y Madurez), de hembras y machos de *Callinectes bellicosus*, entre el método morfo cromático y el método histológico.

En el caso de los machos hubo diferencia significativa entre las determinaciones de los estadios de maduración por los métodos histológico y morfo cromático ($\chi^2 = 13.6036$, 3 g.l.). Hubo 100% de coincidencia por ambos métodos para la fase de inactividad; la menor coincidencia (55.5%) para el estadio de gametogénesis inicial y 58% para el de desarrollo (Fig. 3). La

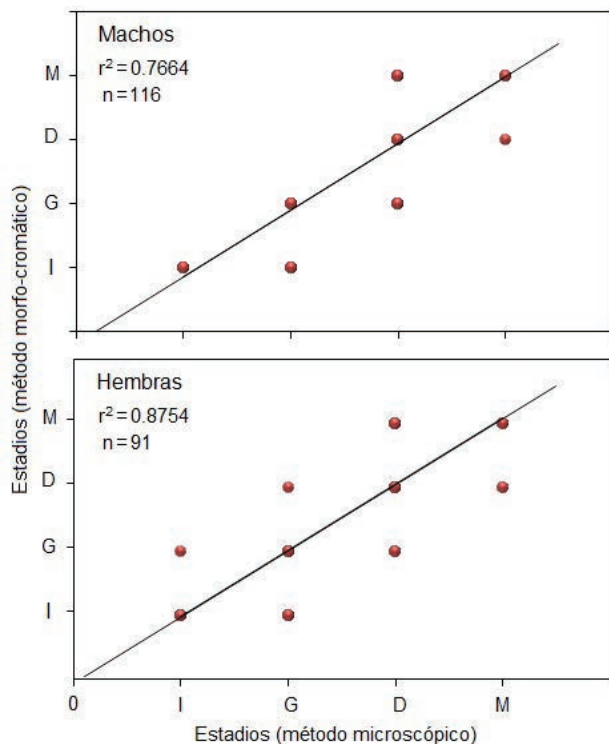


Fig. 4. Relación entre el método morfocromático y el método histológico, con base en los estadios de maduración gonadal (Inactivo, Gametogénesis, Desarrollo y Madurez), en machos y hembras de *Callinectes bellicosus*.

concordancia general entre ambos métodos fue buena ($r^2 = 0.7664$) (Fig. 4).

Discusión

Al igual que en otras especies de jaiba, tanto en hembras como en machos de *C. bellicosus* las gónadas se interceptan en los conductos deferentes medios y se bifurcan en los conductos deferentes posteriores, originando una gónada en forma de H (Nascimento y Zara 2013). Se observaron cambios de coloración, textura y tamaño de la gónada en ambos sexos, semejantes a los reportados para otras especies. En *Portunus sanguinolentus* (Herbst 1783), el color de la gónada femenina pasa de translúcida a amarillo-anaranjado y en machos, los conductos deferentes medios pasan de ser translúcidos a adoptar un color blanco lechoso (Soundarapandian *et al.* 2013). Lorán *et al.* (1993) reportan para *Callinectes* spp. un cambio de coloración de las gónadas, de translúcidas a amarillo brillante en hembras y rosa intenso en machos. Carvalho-Saucedo

et al. (2015) señalan que en *Callinectes sapidus* Rathbun 1896, los cambios de coloración están asociados a la acumulación de sustancias nutritivas dentro de los ovocitos durante su desarrollo, que inicia con el depósito de gránulos vitelinos y continúa con la acumulación de gotas nutritivas. Al llegar a la maduración, los gametos femeninos adquieren una coloración anaranjada dada por los carotenos almacenados en el citoplasma.

Por otro lado, se observó que al iniciar la gametogénesis en machos de *Callinectes ornatus* Ordway 1863, comienza la secreción en el aparato reproductor de sustancias de color rosa y afinidad basófila (morada) compuestas por polisacáridos ácidos y una secreción acidófila de glicoproteínas que participan en la formación y el desarrollo de espermátóforos (Nascimento y Zara 2013, Carvalho-Saucedo *et al.* 2015).

La modificación de la coloración en la gónada durante la gametogénesis de hembras y machos de *C. bellicosus*, también se ha reportado en otras especies de *Callinectes*, con cambios a lo largo de esta etapa (Dittel y Epifanio 1984, Lorán *et al.* 1993). Esto permitió elaborar una clave para asignar visualmente estadios de desarrollo con cuatro fases para machos y cinco para hembras.

Es importante considerar que, aunque en los machos se obtuvo una elevada correlación entre métodos y porcentajes de coincidencia mayores a 50%, los valores observados y esperados en la prueba χ^2 fueron diferentes. Las discrepancias pudieran relacionarse con la etapa de reabsorción (observada histológicamente), caracterizada por su tenue coloración y una flácida consistencia acuosa. Al parecer, esto genera la asignación en diferentes estadios debido a que en la clave morfocromática no se contempló la etapa de reabsorción. Aunque en hembras la reabsorción no afectó de manera significativa los resultados, se observó una disminución en las coincidencias de los métodos en la gametogénesis inicial, que podría ser explicada por la inadecuada clasificación en esta etapa. Al respecto Soundarapandian *et al.* (2013) reportaron para *P. sanguinolentus* una fase similar en la que la gónada presenta algunos gametos embebidos en el tejido conectivo fibroso en reabsorción, con escasa coloración y reducido tamaño, asociada a una etapa posterior al proceso reproductivo. Lo anterior sugiere que la fase de reabsorción es

parte del proceso reproductivo de *C. bellicosus*. Por ello es importante considerar esta fase como parte de la clave para la asignación visual de los estadios de desarrollo gonádico, así como la coloración de los extremos de los conductos reproductores (en machos), que en el presente trabajo se observó que se pigmentan de color amarillo-verdoso cuando llegan a su madurez. De esta forma, se puede incrementar la confianza en el uso de la escala morfocromática.

La coloración del hepatopáncreas presentó variaciones durante el desarrollo gonádico. Al respecto se ha encontrado en el cangrejo *Chasmagnathus granulata* Dana 1851, que los niveles de lípidos en el hepatopáncreas disminuyen durante el periodo reproductivo (Kucharski y Da Silva 1991). Hasek y Felder (2006) en *Uca longisignalis* (Salmon y Atsaiades 1968) reportan que durante la maduración de los machos, se distinguen cambios de coloración en el hepatopáncreas con tonos amarillo-limón, asociados a procesos metabólicos que influyen en una mayor concentración de lípidos. En el cangrejo *C. ornatus* se ha observado que machos y hembras varían su dieta durante el desarrollo gonádico (Mantelatto y Christofoletti 2001). Lo anterior sugiere que los cambios de coloración en el hepatopáncreas durante la maduración gonadal podrían ocurrir de forma diferencial entre sexos dependiendo de la alimentación. Si bien, Castro-Longoria *et al.* (2003¹) propusieron un escala de madurez visual, donde se señalan las características de los gametos en las diferentes etapas de desarrollo, las cuatro subdivisiones propuestas (el estadio indiferenciado, ocho en desarrollo y dos en madurez), no cuentan con la descripción detallada de las características morfológicas externas, lo que hace complejo el uso de esta clave visual. Por su parte, Castañeda-Fernández de Lara *et al.* (2008³) plantearon una nueva escala de madurez visual con cuatro etapas en machos y cinco en hembras; sin embargo, al igual que Castro-Longoria *et al.* (2003¹), en estos estudios no se reportó la etapa de reabsorción de gametos, ni la validación de las características histológicas con las morfocromáticas. De aquí que, la clave visual (morfocromática) propuesta en el presente trabajo puede ser de gran utilidad, dado que es un método válido, sencillo y económico para la identificación de la madurez en campo.

Para generar una clave más eficiente se recomienda incluir el estadio de reabsorción en la escala morfocromática, tanto en hembras como en machos. Finalmente, se considera importante realizar estudios acerca de la acumulación de nutrientes en el hepatopáncreas, para definir si algunos son almacenados y destinados a la maduración gonadal.

Agradecimientos

Al proyecto Jaiba y al laboratorio de Histología del Centro Regional de Investigación Pesquera (CRIP) - La Paz, quienes otorgaron todas las facilidades para la obtención de las muestras y la elaboración del material histológico. Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), que facilitó el equipo para la observación de preparaciones histológicas. A José Carlos Monroy del CRIP - La Paz, por su participación en la obtención de muestras. A Rene Loaiza-Villanueva por asesorar para el reconocimiento de las etapas visuales, la investigación realizada en CEDO Intercultural 2008.

Literatura citada

- Carvalho-Saucedo L, C Ramírez-Santiago y C Pérez. 2015. Histological description of gonadal development of females and males of *Callinectes sapidus* Rathbun 1896 (Decapoda: Portunidae). *Zoological Science* 32(2): 188–194.
- Dittel AI y CE Epifanio. 1984. Growth and development of the portunid crab *Callinectes arcuatus* Ordway: Zoeae, megalopae, and juveniles. *Journal of Crustacean Biology* 4(3): 491–494.
- Escamilla-Montes R, G De La Cruz Agüero, MT Villalejo-Fuerte y G Diarte-Plata. 2013. Fecundidad de *Callinectes arcuatus* (Ordway 1863) y *C. bellicosus* (Stimpson 1859) (Decapoda: Brachyura: Portunidae) en la Ensenada de La Paz, Golfo de California, México. *Universidad y Ciencia* 29(1): 53–61.
- González-Ramírez PG, García-Domínguez F y Félix-Pico E. 1990. Estudio biológico pesquero de las jaibas *Callinectes bellicosus* Stimpson y *C. arcuatus* Ordway de Bahía Magdalena, Baja California Sur. Informe de Proyecto del Consejo

- Nacional de Ciencia y Tecnología. México. Ref.: P220CCOR 881063. 7p.
- Hasek BE y DL Felder. 2006. Biochemical contents of the ovary and hepatopancreas of *Uca longisignalis* and *Uca nr. minax*. *Scientia Marina* 70(3): 505–517.
- Humason LG. 1979. *Animal Tissue Techniques*. San Francisco: W. H. Freeman and Company. 4th ed. San Francisco, EU. 661p.
- Kucharski LCR y RSM Da Silva. 1991. Seasonal variation on the energy metabolism in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana 1851). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 100(3): 599–602.
- Lorán NR, AJ Valdez y GF Escudero G. 1993. Algunos aspectos poblacionales de las jaibas *Callinectes* spp. en la Laguna de Alvarado, Veracruz. *Ciencia Pesquera* 10: 15–31.
- Mantelatto FLM y RA Christofolletti. 2001. Natural feeding activity of the crab *Callinectes ornatus* (Portunidae) in Ubatuba Bay (São Paulo, Brazil): influence of season, sex, size and molt stage. *Marine Biology* 138(3): 585–594.
- Nascimento FA y FJ Zara. 2013. Development of the male reproductive system in *Callinectes ornatus* Ordway 1863 (Brachyura: Portunidae). *Nauplius* 21(2): 161–177.
- Ortega-Salas AA. 1994. *Biotechnología para el cultivo de la jaiba. Desarrollo científico y tecnológico*. Dirección General de Acuicultura Secretaría de Pesca. Inst. Cienc. Mar y Limn., UNAM. 95p.
- Ramírez-Félix E y J Singh-Cabanillas. 2003. *La pesquería de jaiba (Callinectes spp.) en el Pacífico mexicano: diagnóstico y propuesta de regulación*. Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura-Instituto Nacional de la Pesca, Mazatlán, Sinaloa, México. 47p.
- Rodríguez-Domínguez G, SG Castillo-Vargasmachuca, R Pérez-González y EA Aragón-Noriega. 2012. The size at maturity of the brown crab *Callinectes bellicosus* (Decapoda, Portunidae) in the Gulf of California. *Crustaceana* 85(12-13): 1513–1523.
- Soundarapandian P, D Varadharajan y A Boopathi. 2013. Reproductive biology of the commercially important portunid crab, *Portunus sanguinolentus* (Herbst). *Journal of Marine Science: Research & Development* 3(2): 1–9. doi:10.4172/2155-9910.1000124
- Williams AB. 1974. The swimming crabs of the genus *Callinectes* (Decapoda: Portunidae). *Fishery Bulletin* 72(3): 685–789.

Recibido: 18 de marzo de 2015.

Aceptado: 12 de noviembre de 2015.