



CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL APARATO
REPRODUCTIVO DE JUVENILES CULTIVADOS DE
Octopus maya (MOLUSCA; CEPHALOPODA)

T E S I S

que para obtener el grado académico de

Maestro en Ciencias
(Biología Marina)

p r e s e n t a

REYNA CALVA FIERRO

Director de Tesis: Dr. Carlos Rosas Vázquez

Jurado: Dra. María Del Carmen Uribe
Dr. Edgar Zenteno Galindo
Dr. Armando Pérez Torres
Dr. Dr. Agustín Hernández
Dr. Roger Villanueva (Externo)

México D.F. enero de 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo fue realizado en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI) de la U.N.A.M. con sede en Sisal (Estado de Yucatán), bajo la dirección del Dr. Carlos Rosas Vázquez y con el apoyo de los siguientes proyectos: PAPIIT IN 202909 y CONACYT-Basico (CB-2005-01-50118), ambos otorgados al Dr. Carlos Rosas. Se agradece su participación en el proyecto a los siguientes técnicos académicos: Programa Pulpo: Biol. Claudia Caamal, Ing. Richard Mena e Ing. Luis Jiménez Yan; Laboratorio de Ecología: M. en C. Maribel Badillo

Agradecimientos

Dr. Armando Pérez, Tec. Acad. Verónica Rodríguez Mata y Tec. Acad. Remedios Judith Reyes Ruiz Laboratorio de Técnica Histológica, Depto. de Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina, UNAM.

Con especial cariño a mi tutor que siempre creyó en mí y me enseñó que el mundo es enorme y lleno de cosas maravillosas de las que siempre se puede aprender, y que todo se puede lograr a partir de un sueño Gracias Dr. Carlos Rosas Vázquez.

A los Dres. Edgar Zenteno, Roger Villanueva, Armando Pérez, Xavier Chiappa, Dra. Gabriela Gaxiola, Msc. Silvia A. Hinojosa Hernández, Msc. Felipe Briceño Jaques, Ing. Acuacultor Celio Hernández Espinoza.

A mi hermosa familia, mi papa Isidro, mi madre Lucia, mis hermanos: María de la luz, Daniel, Lucy, de ellos aprendí que uno nunca se doblega en ninguna circunstancia, y que el trabajo duro nos hace ser grandes personas y venimos a este mundo a servir y ser útiles. Mis hermosos sobrinos: Arturo, Mishel, Daniela, Jacqueline, Karen, Luis.

A las personas con los que forme una nueva familia: Chiva, Andrés, Quetzalli, mis amigos, Honorio, Manuel, David, Shagui, Gamboa, Richard, Cinthia George, Carlos, Rigo, Mex, Rosalinda, Marijo, Adrianita, al buen Taboada, Víctor, Iván, Aurora, Ali, Talhía, Ximena al Químico. metalero Omar Celis gracias por estudiar conmigo sin ti no lo hubiera logrado, Julio, a mis amigas de toda la vida Rosalinda y Karina, y la bella gente del puerto de Sisal que siempre me dio su amistad y confianza. Gracias al Posgrado de Ciencias del mar y limnología y al personal por aceptarme como estudiante.

RESUMEN.	3
INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	6
Talla de primera madurez	6
Desarrollo gonadal: etapa post embrionaria	8
Organogénesis gonádica	8
Factores externos inductores de la diferenciación sexual	9
Desarrollo gonadal: etapa juvenil	10
Efectos de la temperatura en la madurez	10
Maduración sexual	12
Factores internos inductores de la maduración sexual	12
HIPOTESIS	16
OBJETIVO GENERAL	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
MATERIAL Y MÉTODO	17
Parte I: Caracterización del desarrollo reproductivo de juveniles tempranos;	
Diferenciación sexual	17
Condiciones de cultivo	17
Muestreo	18
Colección de organismos	18
Preparación de tejidos para el procedimiento histológico	18
Parte II: Caracterización del desarrollo reproductivo de juveniles avanzados;	
Madurez sexual	18
Condiciones de cultivo	19
Alimentación	19
Muestreo	19
Colección de organismos	19
Preparación de tejidos para el procedimiento histológico	19
Morfometría celular para la determinación del estado vitelogénico.	20
Caracterización de los tipos celulares en el testículo	21
Análisis estadístico	22
RESULTADOS	23
Desarrollo macroscópico anatómico e histológico del sistema reproductor en hembras de <i>Octopus maya</i> en edades tempranas	23
I Diferenciación Sexual	23

Estadios Juveniles iniciales	31
Estadios gonádicos	35
Características de los ovocitos	35
Desarrollo anatómico e histológico del sistema reproductor del macho de <i>Octopus Maya</i>	36
Escala de madurez gonadal de los machos.	37
Espermatogénesis	37
Diferenciación sexual	38
Estadio Inmaduro inicial	38
Estadio Inmaduro avanzado.	39
Inicio de la maduración	41
Macho en desarrollo.	41
Machos maduros	42
DISCUSIÓN	51
CONCLUSIONES	59
LITERATURA CITADA	

RESUMEN.

El presente trabajo describe la anatomía microscópica del ovario de *Octopus maya* y analiza las variaciones cualitativas de las fases de proliferación y crecimiento del ovocito para así poder conocer el desarrollo en las primeras fases de vida, desde el momento de la eclosión hasta el inicio de su madurez sexual en condiciones de cultivo. Se analizó la organización citológica del ovario y las características del desarrollo folicular de acuerdo al desarrollo de los estadios de pre-vitelogénesis, vitelogénesis, atresia y ovulación. Se observó que los juveniles recién eclosionados nacen inmaduros y aún en proceso de formación del aparato reproductor. Células en diferenciación denominadas A y B fueron observadas en estos animales. Los análisis histológicos indican que en *O. maya* las células B son la base para el desarrollo de las células A, las cuales al final del período de formación de los órganos dan lugar al desarrollo del ovario o el testículo formación de los gametos. Este proceso se lleva a cabo en los primeros días después de la eclosión cuando los pulpos alcanzan alrededor de los 10 días de edad. En animales mayores de 1.5g de peso es posible ver hembras con el ovario bien desarrollado y células en proceso de diferenciación. En los machos los testículos son funcionales presentando células reproductoras en todos los estadios.

A partir de que el ovario está completo los ovocitos comienzan a desarrollarse siguiendo el proceso de pre-vitelogénesis. Las células pre-vitelogenicas y vitelogenicas posteriormente, se transforman en huevos, los cuales no pueden desarrollarse por falta de espacio. Estas células se degeneran para dar paso nuevamente a un nuevo ciclo celular. Este proceso se continúa mientras las hembras crecen. Prueba de esto es la reducción potencial del índice gonadosomático (IG) con la edad. En hembras hasta de 100g de peso, el ovario prácticamente no crece, mientras los animales aumentan la biomasa en forma primero exponencial y luego potencial. Es interesante hacer notar que el tamaño de las células producidas por el ovario de estas hembras es similar al que las hembras maduras silvestres producen. Únicamente el tamaño de las células en estadio IV mostró diferencias significativas con el tamaño de las células de las hembras menores de 100g de peso y mantenidas en condiciones de laboratorio. En los machos la producción de espermatozoides es

continúa y siguen la cinética de crecimiento del cuerpo. El IG en los machos aumenta con la edad demostrando que la capacidad de producir espermatozoides también aumenta con la edad. Actualmente las escalas de madurez sexual para *Octopus maya* no tiene respaldo en estudios histológicos por lo que el presente estudio aporta bases biológicas para el conocimiento de esta especie.

ABSTRACT

The present study was carried out to describe the cell proliferation and oocyte growth on gonads of *O. maya* hatchlings and early juveniles obtained in culture conditions. Changes of cytological organization of the ovaries and follicular cells on oocytes were analyzed according with age of octopuses. Physiological maturation of the ovaries was recognized through the identification of different types of cells: pre- and vitelogenic cells, and atresic cells. It was observed that a process of cell differentiation occurs after hatch that ends 10 days after hatch. During the process, cells called A and B were observed and recognized as cells that originate the reproductive organs (ovaries or testis) in this species. The complete organogenesis process was observed in animals higher than 1.5g of living weight with ovaries plenty of differentiated cells and testis full of spermatozooids. A histological description of the ovaries and testis development with age was done with animals between 1.5 to 100g of living weight. In all the animals, different types of cells were identified both pre vitelogenic (stages I and II) and vitelogenic (stage III), showing that the physiological maturation of the ovaries on *O. maya* start early in this species. The analysis of cells sizes showed that pre- vitelogenic and vitelogenic cells were similar to that obtained from wild adult females (400 to 750g living weight) showing that early juveniles can produce ovarian cells (stages I, II and III) similar to that observed in wild reproductive females. Only type IV cells showed differences between early and wild females suggesting that in early juveniles there were not enough space to eggs development. The gonadosomatic index (GI) showed that the ovaries of early females does not change with the living weight between 1.5 and 100g of living weight suggesting that the ovarian development could require a minimum living weight of female to be available to be functionally reproductive. In males was observed that the spermatozooids production increase continuously and according with the body growth showing that the capacity of male reproduction increased with age.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de las especies acuáticas debe basarse en el conocimiento del ciclo de vida incluyendo todas sus fases. Desde la etapa post-embionaria hasta la etapa de desarrollo adulto, tanto los aspectos de conducta alimentaria como los reproductivos son de gran importancia, ya que de estos depende el crecimiento y la producción de organismos para la siguiente generación. De igual forma se debe de dar importancia a los estudios ecológicos pues éstos proveen información básica que sirve a los intereses de la biología pesquera (Boletzky, 1998.)

Los cefalópodos se encuentran dentro del grupo de especies que conforman los programas de diversificación, ya que son especies no tradicionales para la acuicultura. En el caso de los pulpos los conocimientos acerca de los ciclos reproductivos son base para comprender como el entorno modula los factores biológicos que determinan la abundancia de sus poblaciones (Di Cosmo *et al.*2001).

El pulpo rojo *Octopus maya* (Voss y Solís-Ramírez, 1966) es un molusco cefalópodo marino y carnívoro que, como todos los pulpos se caracteriza por tener cuerpo blando, cerebro bien desarrollado y ocho brazos, cada uno de los cuales posee dos filas de ventosas. *Octopus maya* Voss y Solís (1966), es una especie endémica de la plataforma de la Península de Yucatán, México con una distribución circunscrita a la zona de Isla Mujeres y Puerto Morelos en Quintana Roo y hasta Ciudad del Carmen en Campeche, México (INP, 2000).

Esta especie se localiza tanto en la zona intermareal como en la plataforma costera adyacente al litoral de la Península de Yucatán incluyendo los estados de Yucatán y Campeche. *O. maya* Habita en resquicios de rocas y oquedades del fondo aunque puede encontrarse viviendo entre las rocas, los arrecifes de coral o los pastos marinos, también pueden ocupar conchas de organismos bentónicos como en caracoles *Strombus gigas*, *S. costatus*, *Pleuroploca gigantea* y diversos objetos sumergidos. Observaciones realizadas de los desechos que se encuentran alrededor de los refugios de los pulpos han permitido establecer que la dieta esta compuesta principalmente de moluscos y crustáceos (Heukelem, 1979). Diversos estudios han señalado que *Octopus maya* es un buen candidato para la maricultura ya que

presenta un desarrollo holobentónico. Así mismo, se ha observado que en las etapas tempranas presenta un crecimiento exponencial y alta conversión alimenticia. Estudios de laboratorio también han señalado que los juveniles de *O. maya* aceptan diferentes dietas frescas o congeladas como los cangrejos, camarones y peces entre otros. También se ha podido constatar que los pulpos de esta especie presentan una buena adaptabilidad al cautiverio la cual, junto con la demanda que tienen en el mercado de los alimentos, confieren a *O. maya* el potencial acuacultural mencionado por Van Heukelem (1979).

Solís (1962, 1965 y 1967) y Fuentes *et al.* (1964), describieron las características generales de la biología de *O. maya* y su relación con la explotación pesquera, refiriéndose al comportamiento de la hembra durante el período de reproducción, la duración del período embrionario y las características de la eclosión y el comportamiento de las crías en laboratorio.

ANTECEDENTES

Talla de primera madurez

La regulación administrativa se basa en dos normas de pesca: la NOM-008-PESC-1993 y la NOM-009-PESC-1993. La primera establece una talla mínima de captura de 110mm de longitud de manto, así como una cuota de captura por especie y los tipos de artes de pesca. La segunda establece que la época de veda para la captura de pulpo (*Octopus maya*) y (*Octopus vulgaris*), en los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo, cubre el periodo comprendido del 16 de diciembre al 31 de julio de cada año.

Estudios previos han demostrado que en las etapas tempranas del desarrollo post embrionario de *O. maya* existen ajustes fisiológicos y morfológicos que se reflejan en transformaciones en las capacidades de los pulpos para capturar y digerir el alimento. En esta etapa, un crecimiento negativo al observarse que disminuye su talla a partir del día de su eclosión, esto como consecuencia de la absorción de vitelo, hecho que conlleva la movilización de nutrientes para completar el desarrollo de los brazos y de la glándula digestiva (Moguel *et al.*, enviado).

En general los pulpos son animales gonocóricos, los sexos únicamente se pueden diferenciar a partir del dimorfismo sexual presente en el tercer brazo de los machos el cual esta hectocotilizado y es utilizado para la transferencia de los espermátóforos (Navarro y Villanueva, 2003; Zamora y Olivares, 2004; Ortiz *et al.*, 2006; Avila-Poveda *et al.*, 2009), (Ishiyama 1996). En animales de mayor talla es posible ver otras diferencias morfológicas entre macho y hembra ya que los machos presentan ventosas agrandadas en el segundo y tercer par de brazos (D'Aniello, 1996).

En la actualidad y tomando en consideración los estudios realizados en las poblaciones de la Península de Yucatán el Instituto Nacional de la Pesca (INP 1993) estableció un peso mínimo de 300g para la identificación de machos maduros, y de 410g para las hembras. En otros cefalópodos como *Sepia officinalis* se ha observado que los órganos reproductivos se desarrollan en el embrión a partir de la síntesis y diferenciación de dos tipos celulares, los que, al final de esta etapa conformarán tanto al ovario como al testículo Lemaire (1972b.) Es interesante hacer notar que estas observaciones fueron hechas *in vitro* y no existen confirmaciones de que esto se lleve exactamente, así *in vivo*. Así mismo no existen estudios que indiquen la forma en que el sistema reproductor de *O. maya* se desarrolla durante la fase juvenil lo cual impide establecer con precisión la edad en que estos organismos están preparados para iniciar la etapa reproductiva.

Las observaciones realizadas en el laboratorio (Datos no publicados) han demostrado que las hembras de *O. maya* pueden desarrollar el ovario y desovar con pesos menores a los establecidos por el INP. Esta discrepancia podría estar asociada con el hecho de que los investigadores del INP no han tenido acceso a ejemplares con un intervalo de peso que permita un adecuado análisis de la condición reproductiva.

A la fecha no se ha definido la forma en que el sistema reproductor de las hembras se desarrolla durante la fase juvenil, hecho que sin duda es fundamental para establecer la edad mínima a la que las hembras de esta especie podrían iniciar su vida reproductiva. Así tanto para proponer una nueva cuota, como para proteger el

reclutamiento se requiere de estudios de biología de la reproducción de esta especie que incluyan una descripción del proceso completo (INP, 2000).

Desarrollo gonadal: etapa post embrionaria

Se ha establecido en general los cefalópodos los órganos sexuales se muestran diferencias desde la eclosión presentando las características sexuales secundarias solo cuando alcanzan la etapa de sub-adultos (Boletzky, 1983).

Para la mayoría de los embriones de cefalópodos, generalmente alrededor de la etapa XV establecida por Naef (1928) culmina el crecimiento del embrión y en esta fase, que es cuando el saco interior de la yema que nutre al embrión alcanza su tamaño mínimo. El vitelo se convertirá en el *sincitum* que nutrirá al pulpo recién eclosionado en sus primeros días de vida (Boletzky, 1983).

La diferenciación de gónadas en las etapas tempranas de la organogénesis ha sido estudiada anteriormente por Fioroni y Sundermann (1983). Estos autores confirmaron que la gónada rudimentaria es impar en los embriones de cefalópodos decápodos, mientras que en embriones de octópodos aparecen “rudimentos” pares. La diferenciación histológica en relación a las etapas embrionales es muy variable entre los diferentes grupos de especies (Richard y Lemaire, 1975; Lemaire y Richard, 1979; Boletzky, S. y Hanlon R.T. 1983.) El tracto genital tiene un doble origen embrionario, que corresponde a un esbozo mesodérmico en el que se forma al gonoducto, esta estructura posteriormente se transformará en oviducto en el caso de las hembras y espermaducto en caso de los machos (Lemaire, 1972). En la parte terminal de este tracto se forma el complejo de Needham en los machos y las glándulas del oviducto en las hembras proceso que se lleva a cabo durante los últimos estadios embrionarios. También se ha observado que las glándulas oviductales se originan a partir del ectodermo mismo que se presenta alargado durante la vida embrionaria (Lemaire, 1972).

Organogénesis gonádica

La gónada embrionaria se presenta de forma impar y se sitúa en la parte ventral de la región celómica donde progresivamente va ocupando la región dorso caudal. La gónada se compone de tres partes: una zona central conjuntiva que

se prolonga del pedúnculo que sostiene la gónada formando el epitelio germinal, una zona pericárdica en donde se sitúan las células A y B (Lemaire, 1972) y un epitelio celómico que las recubre.

En otros cefalópodos como *Sepia officinalis* el sistema celómico se diferencia precozmente originando las cavidades celómicas, la cavidad vicero pericárdica, los riñones y las glándulas pericárdicas de la gónada (Lemaire, 1972). También en *S. officinalis* se ha encontrado que el aparato genital femenino es impar y existen un orígenes diferentes entre el tejido germinal que forma la gónada y el tejido ectodérmico que forma el tracto reproductivo, marcando así grandes diferencias entre el tracto genital y las gónadas (testículo y ovario) (Koueta, 1990). En sepia las células B son de gran tamaño y al final del periodo embrionario (Lemaire, 1972).

Factores externos inductores de la diferenciación sexual

La temperatura como un factor determinante de las reacciones metabólicas en los organismos poiquiloterms acelera los procesos de maduración sexual lo cual se ve reflejado en el crecimiento del tracto genital y las glándulas anexas. El fotoperíodo, aunque aún poco estudiado en cefalópodos, afecta la madurez sexual. La maduración está influenciada por la luz; un periodo de 12 horas luz puede desencadenar la maduración mientras que un exceso de luz bloquea el desarrollo del ovario fomentando una especie de castración psicológica (Wood y O'Dor, 2000). Estudios realizados en sepias indican que la glándula óptica regula el desarrollo y crecimiento del tejido germinal ya que ésta controla los impulsos hormonales (Richard, 1970). Así mismo, se ha observado que la glándula óptica es la encargada del estímulo hormonal en la diferenciación sexual y de igual forma de la madurez sexual, la cual también recibe información de las hormonas de origen gonadal. Marthy (1968), Fioroni y Sundermann (1983) señalaron que en embriones de *O. vulgaris* y *Eledone cirrosa* la gónada ya se detecta histológicamente en los embriones aún cuando estos tienen cerca de 3mm y 7mm, respectivamente, sugiriendo una diferenciación sexual temprana en estas especies.

Desarrollo gonadal: etapa juvenil

Efectos de la temperatura en la madurez

En un entorno cambiante, la variación de temperatura puede afectar la biología de poblaciones de corta duración, como lo son los cefalópodos (Wood y O'Dor, 2000). Las diferencias en la temperatura, así como otros factores bióticos y abióticos pueden afectar las tasas de crecimiento exponencial de los juveniles de cefalópodos y así ocasionar grandes diferencias en cuanto al tamaño y la edad en la que los organismos alcanzan la madurez sexual. Así a mayor temperatura los pulpos podrían alcanzar una madurez sexual más pronto que en bajas temperaturas, dependiendo en ambos casos, de la abundancia de alimento. Según Wood y O'Dor (2000) alcanzar una mayor talla al momento de ser maduros sexualmente, se debe a que estos organismos viven más tiempo que el resto de la población y así mismo tienen un crecimiento lento pero prolongado a lo largo de su vida. Se ha observado que los cefalópodos que maduran en tallas más pequeñas crecen con mayor rapidez mientras que los animales que maduran en tallas mayores presentan un crecimiento lento.

Una de las ventajas de la maduración precoz es que los organismos tienen más probabilidades de evitar depredadores asegurando así la posibilidad de reproducirse. La adaptación permite que estos organismos cumplan con la producción de progenie y así poder sobrevivir para reproducirse debido al corto período transcurrido entre su nacimiento y madurez, además otras de las razones de que los organismos que maduran antes aumentan su posibilidad de reproducción como ocurre durante la primavera, que hace que se reproduzcan antes y así mismo estos también pueden iniciar la reproducción de la primavera anterior. Al retrasar la madurez se puede dar lugar a una mayor fecundidad, que también aumenta la capacidad reproductiva. (Wood y O'Dor 2000).

Los cambios en el aparato reproductor en *Octopus maya* que ocurren a lo largo de su vida son influenciados en gran medida por las hormonas sexuales. O'Dor y Wells (1978) proponen la existencia de una hormona gonadal que modula el desarrollo y maduración del aparato reproductor. Posteriormente Iwakoshi *et al.*, (2002) mencionan que esta hormona se trata de la Oct-GnRH, la que ha sido caracterizada

actualmente en pulpo *O. vulgaris* como una hormona gonadotropina (GnRH), cuya función es similar a la que presentan de los vertebrados (Iwakoshi *et al.*, 2002).

La Oct-GnRH se detecta en el lóbulo sub-pedúnculado, en el lóbulo olfatorio posterior y en el nervio de la glándula óptica, los cuales controlan la actividad de la glándula óptica misma que da origen a la proliferación de células reproductivas, maduración de gónadas y síntesis de vitelo (Wells y Wells, 1977). La Oct-GnRH puede contribuir a la reproducción de un pulpo no solo como una hormona neuroendocrina, siendo liberada también desde células glandulares sexuales (Iwakoshi *et al.*, 2002).

Gnap (1987) observo que en las hembras inmaduras de la especie *Octopus vulgaris* el desarrollo del ovario se produce linealmente a el peso somático en condiciones normales, al mismo tiempo se da la proliferación de las células foliculares, la acumulación de las proteínas en la yema, a la par del crecimiento y desarrollo de las glándulas accesorias y los tractos genitales estos eventos ocurren durante la madurez sexual, mismos que están sobre puestos junto con el crecimiento lineal, solo que el crecimiento del ovario es dependiente de la madurez, aunque otros autores mencionan que el tamaño del ovario no esta relacionado con el tamaño del cuerpo, la tendencia del crecimiento del animal esta asociado a la tendencia del crecimiento del ovario conforme, el crecimiento a la talla del pulpo. Van Heukelen (1979) sugiere que el ciclo reproductivo esta preprogramado y que la madurez sexual y la talla esta regulada por un control gonadal.

El desarrollo y el desove están retrazados por un momento critico en el crecimiento ya que al incrementar las reservas nutricionales y reproductivas que se acumulan como consecuencia de este retraso, esta estrategia se ha debatido, esto es debido a que existe un margen para la interacción entre los neuro trasmisores que se liberan a la sangre y el control nervioso de la eliminación glándula óptica ya que se han obtenido resultados en donde la eficiencia de crecimiento decrece al incrementarse la madurez (Gnap,1987). En resumen la reproducción esta influenciada probablemente por temperatura, fotoperíodo, tamaño del cuerpo y desarrollo de huevo una nueva teoría se ha unido a estos factores ya otros autores sugieren que la desnutrición puede atrasar la maduración.

Maduración sexual

La maduración sexual y la reproducción son parte de una serie de procesos fisiológicos de vital importancia en el ciclo de vida en cualquier organismo y, en consecuencia, en la ecología del comportamiento de este. El pulpo culmina su ciclo de vida junto con el ciclo reproductivo, por lo que el animal al ir madurando sexualmente, va asignando recursos tanto para el crecimiento somático así como el desarrollo de las gónadas y las estructuras reproductivas, las cuales dependen de las propiedades nutricionales del alimento (Rosa *et al.*, 2004; Rosa *et al.*, 2005)

Aunque las hembras no presentan caracteres sexuales secundarios que permitan su diferenciación, las observaciones preliminares indican que posiblemente también hembras de tallas menores podrían estar receptivas a la fecundación. Tras la cópula, las hembras de la familia Octopodidae presentan en el interior de sus oviductos distales y glándula oviductal el esperma transferido por los machos. Este esperma puede permanecer ahí almacenado durante semanas o meses, hasta que las hembras alcanzan su madurez sexual. En algunas especies como *Eledone cirrosa* los espermatozoides pueden alcanzar el ovario. Durante la puesta los espermatozoides fecundan a los oocitos a su paso por la glándula oviductal (Mangold, 1987). Se ha observado *en O. vulgaris* que tiene la capacidad de almacenar esperma sobre períodos largos para utilizarlos en el comienzo de la madurez. Por lo que la talla para la maduración puede ser alcanzado en una edad más temprana (Rodríguez-Rua *et al.* 2005),

Factores internos inductores de la maduración sexual

La glándula óptica funciona como glándula endocrina con producción hormonal. Estas hormonas son necesarias para estimular las divisiones en las ovogonias y espermatogonias regulando las divisiones germinales además que es indispensable durante el inicio de la vitelogénesis. Mediante pruebas realizadas *in vitro* se pudo saber que La glándula óptica es necesaria para controlar el tejido germinal ya que esta controla los impulsos hormonales que estimulan la vitelogénesis y la actividad mitótica de las ovogonias (Gnap, 1987) (Richard, 1970).

Se han llevado a cabo estudios en donde se ha extirpado la glándula óptica en organismos juveniles de sepia, dando como resultado que el tejido predominante sea el conjuntivo a lo mismo que el desarrollo de las espermatogonias, cesando de igual forma la división de estas. De estos estudios se concluye que la glándula óptica interviene como el factor regulador de las divisiones germinales de las diferentes fases del desarrollo del aparato reproductor en *S. officinalis* y posiblemente en otras especies de cefalópodos (Richard, 1970).

Al realizar la remoción de las glándulas ópticas en hembras maduras después del desove, da como resultado el que se puede prolongar la longevidad ya que a estas hembras desovantes, intervenidas, se les estimula la suspensión del desove, así mismo detienen el cuidado de los huevos, reanudan la alimentación y ganan peso (Gnap, 1987), ya que este control se lleva a cabo a través de neurotransmisores que contribuyen a la regulación de la liberación de hormonas por parte de la glándula óptica (Gnap, 1987). Una respuesta similar se observó en los machos a los que se les ha retirado la glándula óptica lo que sugiere que este órgano es el principal responsable de la regulación del periodo de vida de los pulpos (Gnap, 1987).

Así mismo se ha establecido una relación entre los ciclos reproductivos, la alimentación y producción de hormonas, observándose que cuando se presenta un periodo de privación de alimento disminuyen los niveles de sustancias farmacológicas activas que circulan en la sangre de los pulpos, entre estas se encuentran las hormonas sexuales (Gnap, 1987).

En el *O. vulgaris* el inicio del proceso de maduración es el resultado del aumento de la secreción de gonadotropinas producidas (Gnap, 1987), siendo que la activación de las glándulas inhibe la síntesis de proteínas y aumenta el desglose de las proteínas del músculo, el torrente sanguíneo es el encargado de transportar estos aminoácidos libres, que son fundamentales en la formación de proteínas del vitelo (Rosa *et al.*, 2005).

Se ha reportado (Rosa *et al.*, 2005) que el vitelo de los ovocitos de *O. vulgaris* es rico en glicoproteínas neutras, compuestos tiolicos derivados del ácido sulfhídrico y proteínas ricas en tirosina y residuos de triptófano. En el *O. vulgaris* el crecimiento

gonadal está asociado con un triple aumento en la concentración de muchos aminoácidos y proteínas en la orina lo que demuestra la movilización intensa de moléculas durante el desarrollo del ovario (Rosa *et al.*, 2005)

Otro elemento importante en este proceso es el colesterol debido a que este es un precursor básico de las hormonas esteroideas, así como precursor de las sales biliares y vitamina D (Kanazawa 2001). En otros invertebrados como los crustáceos, se ha demostrado que el colesterol exógeno se convierte en las hormonas sexuales, como progesterona, aldosterona, 17 bis-androstenediona y testosterona. Así mismo se ha observado que el glucógeno puede ser importante para el proceso de maduración sexual y la embriogénesis (Rosa *et al.*, 2005). Otras moléculas que participan de manera fundamental en el desarrollo de los ovarios y los huevos son los lípidos. El alto contenido en lípidos de la glándula digestiva en las hembras proporciona lo necesario para estimular una ampliación en el período de puesta lo que indica que para lograr el éxito en la reproducción, las hembras requieren de recursos energéticos que como los lípidos que son dirigidos al desarrollo de las gónadas (Rosa *et al.*, 2005).

En los machos de *O. vulgaris* las hormonas sexuales que se encuentran presentes son la progesterona, la testosterona, y la 17 β -estradiol. Estas hormonas se producen y se almacenan en el testículo, los vasos deferentes la vesícula seminal, la próstata y el saco de Needham. Aunque los niveles de estas hormonas en sangre son menores que las reportadas en los tejidos no por eso deja de ser significativo. De entre los diferentes tejidos del sistema reproductivo, la vesícula seminal es la que posee la concentración más alta de la progesterona (D'Aniello *et al.*, 1996; Di Cosmo *et al.*, 2001). El testículo es el órgano que contiene la cantidad más alta de la testosterona (5.2 ng/g) mientras que la próstata es el órgano que contiene la cantidad más alta de 17 β -estradiol (D'Aniello *et al.*, 1996; Di Cosmo *et al.*, 2001).

La enzima dominante en la esteroidogénesis es la deshidrogenasa del 5.3 α -bihidroxisteroide. Esta enzima también se encuentra en testículo (D'Aniello *et al.*, 1996). Como se mencionó anteriormente, el sistema reproductivo del pulpo está bajo el control hormonal ejercido por la glándula óptica. Alternadamente, la actividad de esta glándula endocrina se modula a través de fibras inhibitorias que se presentan en

el lóbulo sub-pedunculado y están localizadas en el sistema nervioso central (D'Aniello *et al.*, 1996). Es una característica común en cefalópodos que este control inhibitorio ocurra a través de la FMRF-amida (Phe-Met-Arg-Phe-NH₂). Por otra parte, la presencia en el pulpo de las fibras paralelas de esta glándula óptica que producen gonadotropina, indica que se trata de un sistema regulador más complejo comparado con el de la actividad de la glándula óptica (D'Aniello *et al.*, 1996; Di Cosmo *et al.*, 2001).

Mangold y Boucher-Rodóni (1973) señalaron que la falta de alimento induce precocidad en la maduración gonadal, coincidiendo con Gnap (1987) quien indicó que cuando los animales se exponen a un periodo de privación de alimento, disminuyen los niveles de sustancias fisiológicas activas, con funciones hormonales que circulan en la sangre, incluidos los inhibidores del desarrollo del ovario.

En el caso de *Loligo gahi* (Guerra y Castro, 1994), el aumento de la demanda de energía para el desarrollo gonadal puede reducir o incluso detener crecimiento somático, esto sugiere que el crecimiento de los órganos reproductores en *L. gahi* se lleva a cabo utilizando la energía y los nutrientes derivados de alimentos y no por la movilización de nutrientes y energía a partir de tejidos somáticos, explicando así que se presente el ciclo vital, semelparo de muchos cefalópodos, ya que se favorece este cambio dramático al emplear los alimentos y por ende la energía destinada al crecimiento a la reproducción (Guerra y Castro, 1994).

Van Heukelem (2000) sugiere que un estado de desnutrición probablemente produzca el desove de las hembras de tamaño corporal pequeño, afectando la producción de embriones. Estudios realizados con *O. maya* demostraron hembras sub-alimentadas suelen producir menos huevos que las hembras alimentadas adecuadamente, aunque se observó que aparentemente los embriones provenientes de hembras sub-alimentadas fueron similares a los de la condición control. Esos resultados muestran la alta dependencia en la reproducción hacia la calidad del alimento, aunque también indican que los pulpos podrían estar adaptados para producir pocos huevos de alta calidad cuando hay baja disponibilidad de alimento o éste es de mala calidad (Caamal, 2005).

HIPOTESIS

1. Tomando en cuenta lo anterior y considerando que se presenta un proceso de madurez post embrionario en *Octopus maya*, es posible suponer que, al igual que otros órganos, el aparato reproductor se desarrollará pasando, como ocurre en *S. officinalis* por la síntesis y diferenciación de células que originan al ovario o al testículo fortaleciendo así la condición post embrionaria inmadura previamente establecida (Moguel *et al.*, enviado).
2. Si estudios previos han demostrado que los organismos juveniles silvestres de *O. maya* alcanzan la madurez sexual por debajo de los 270g para machos y 410g para hembras, es de esperar que al analizar organismos con intervalos de pesos menores a los indicados, se pueda definir con mayor precisión la edad en la que se termina el desarrollo de los órganos reproductores y se presenta el inicio de la madurez sexual en esta especie.

OBJETIVO GENERAL

El presente estudio tiene como objetivo caracterizar el desarrollo del aparato reproductor de *Octopus maya* con el fin de establecer los procesos de síntesis post embrionaria y la forma en que en los juveniles se desarrolla hasta alcanzar el inicio de la madurez sexual.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Establecer la diferenciación del sistema reproductivo de machos y hembras en los primeros días de edad por medio de la identificación de las diferencias entre las glándulas sexuales masculinas y femeninas y el desarrollo de la gónada en *Octopus maya*.

Establecer la talla de inicio de la madurez sexual en machos y hembras de *Octopus maya* con base a los cambios en el desarrollo del aparato reproductor con la

edad, mediante el cambio de tamaño de la gónada y la presencia de los diferentes estadios celulares.

MATERIAL Y MÉTODO

Parte I: Caracterización del desarrollo reproductivo de juveniles tempranos; Diferenciación sexual

Origen de los organismos

Los juveniles se obtuvieron en las instalaciones de la Facultad de Ciencias de la UNAM; UMDI Sisal, que se encuentra en la siguiente ubicación Coordenadas: 21°09'55"N 90°01'50"O / 21.16528, -90.03056 21°09'55"N 90°01'50"O / 21.16528, -90.03056 y de Altitud: 1 msnm que cuenta con una unidad para la reproducción y engorda de *O. maya*. Los juveniles fueron obtenidos a partir de un único desove de una de las hembras provenientes de animales sexualmente maduros de la población silvestre de la zona costera adyacente del puerto de Sisal. Los huevos fueron incubados en un sistema artificial en donde se les mantuvo por 50 días hasta el día de la eclosión. La incubadora esta conectada a un sistema de circulación de agua de mar con temperatura controlada (24°C). Una vez que los pulpos nacieron fueron transferidos a tanques de 1600L de donde fueron colectados. En estos tanques los pulpos fueron alimentados con adultos de *Artemia ad libitum* los primeros 15 días y posteriormente se les ofreció quelas de jaiba cortadas en trozos. La jaiba fue suministrada a razón del 30% del peso corporal por día. El peso promedio de los organismos al nacer fue de 100mg.

Condiciones de cultivo

En los tanques los animales se mantuvieron en un ambiente en el que la temperatura fluctuó entre 28 y 30°C. Los tanques fueron abastecidos con agua de mar a través de un sistema de recirculación acondicionado con filtro de lecho profundo y espumador. Se realizó un recambio parcial de agua de aproximadamente 10 % diario. El agua de recambio fue filtrada mediante un filtro de arena con capacidad para 60 gpm, un filtro de lecho profundo estructural de 150 psig y un ozonificador Ikal-Ha mod 1000 al 50 %

de ozono. Los animales se expusieron a una intensidad de luz no mayor de 150 lux/cm² con foto período de 8 horas.

Muestreo

Colección de organismos

Para el presente estudio se colectaron 135 organismos en total, estos fueron muestreados a partir del día de eclosión y hasta el día 40 de edad. Entre el día 0 y el día 20, se colectaron 5 organismos en cada muestreo cuyo peso en promedio fue de 100mg al nacimiento hasta 1.7g que es el peso que alcanzan al llegar a los 40 días de edad, los pulpos fueron muestreados diariamente hasta el día 20. Después del día 20 el muestreo se realizó con un intervalo de dos días hasta el día 30. Posteriormente la colecta se realizó el día 35 y 40 posterior a la eclosión. En cada muestreo los animales se sacrificaron y se fijaron enteros en formol (4%) para su posterior análisis.

Preparación de tejidos para el procedimiento histológico

Los juveniles tempranos se procesaron completos con las técnicas histológicas rutinarias. Los organismos fijados fueron colocados posteriores a la fijación en alcohol al 50% durante una semana. Las muestras se procesaron mediante los métodos de deshidratación, aclaración e infiltración de parafina. Para la deshidratación se aplicó una serie gradual de soluciones acuosas con base en alcohol etílico de menor a mayor concentración a partir de alcohol 50%, y hasta alcanzar el 100%. Posteriormente las muestras fueron aclaradas en 2 baños de xilol y colocadas en dos baños de parafina derretida a una temperatura de 56°C por una hora para después incluirlos en bloques de parafina para realizar el corte. Se realizaron cortes de 3 a 5 micras de grosor y cada corte se monto en portaobjetos de vidrio. Los cortes obtenidos se tiñeron utilizando el método de hematoxilina-eosina. Las placas fueron selladas con resina sintética al 60% en xilol (Lee, 1968).

Parte II: Caracterización del desarrollo reproductivo de juveniles avanzados;
Madurez sexual

Origen de los organismos

Para la determinación de la madurez sexual se colectaron 60 juveniles que se obtuvieron en las instalaciones de la Facultad de Ciencias de la UNAM; UMDI Sisal, misma que cuenta con una unidad para la reproducción y engorda de *O. maya* los cuales fueron obtenidos de los estanques de cultivo.

Condiciones de cultivo

Los animales sembrados desde el día de avivamiento (día cero) se mantuvieron en las condiciones descritas anteriormente y hasta que los pulpos alcanzaron un peso promedio de 1.5g. a partir de este peso se trasladaron a tanques que se encuentran dentro del igloo en un ambiente en el que la temperatura ambiental fluctuó entre 28 y 30°C. Los tanques tienen una capacidad de 1600L mismos que se encuentran conectados a un sistema de recirculación con el agua abastecida antes mencionada con control de temperatura (27 + 1°C). Con una temperatura ambiente entre 28 y 30°C. Se utilizó agua de mar natural (34 a 36 de salinidad) la cual se mantuvo entre 26 y 30°C.

Alimentación

Se alimento con quelas de cangrejo cortadas en trozos la cual se entregó a razón del 30% del peso corporal por día proporcionado en dos raciones diarias.

Muestreo

Colección de organismos

Los juveniles muestreados se tuvieron con diferentes pesos, que van del 1.6g hasta los 143g y estos son obtenidos de diferentes desoves. Los juveniles se colectaron de los estanques y llevados al laboratorio central en donde fueron sacrificados mediante choque térmico al pasar de una temperatura en el agua de donde se encontraban (27°C) a 5°C. El proceso de anestesia en tales condiciones dura entre 3 y 4 min. A los pulpos diseccionados se les extrajeron las gónadas las cuales se fijaron en formol salino (10%).

Preparación de tejidos para el procedimiento histológico

Las gónadas fueron procesadas con las técnicas histológicas rutinarias. Las muestras fijadas en formol previamente, se pasaron a una solución de alcohol al 50%. Conservándose ahí durante una semana. Las muestras así conservadas se procesaron mediante los métodos de deshidratación, aclaración e infiltración descritos anteriormente para la etapa de juveniles iniciales.

Morfometría celular para la determinación del estado vitelogénico.

El presente estudio se llevo a cabo con organismos desde 1.6 hasta 143g como peso máximo y contempló hasta la fase vitelogénica, ya que determina la capacidad de las hembras para realizar la reproducción y establecer la edad de inicio de la madurez sexual.

La pre-vitelogénesis fue determinada a partir de los cambios en la proporción de células en los estadios (I, II), vitelogenesis (III) y ovogénesis (IV). Para hacer esto las células en el ovario se clasificaron de acuerdo a sus características celulares de cada fase. El análisis se llevó a cabo a partir de las láminas obtenidas de los cortes axiales del ovario las cuales fueron divididas en tres campos cada una. En cada campo se midió y contó la proporción de células que se encontraron en cada uno de los estadios (Ould, 2001). Este procedimiento permitió tener un valor promedio de la proporción de células que se encuentran en cada estadio por organismo.

El estadio celular de los estudios de los ovocitos de la población de pulpos de cada grupo de talla se obtuvo con base en el valor promedio (\pm D.S) de la proporción de células en los diferentes estadios. De forma complementaria el valor promedio del tamaño de las ovocitos de cada estadio fue establecido con el fin de relacionar el tamaño celular con la vitelogénesis. Se calcularon los índices relacionados con la madurez sexual con el fin de establecer su utilidad en organismos que se encuentran en las primeras etapas del desarrollo reproductivo:

$$\text{IGHp} = \text{Peso del Ovario (PO)} / \text{Peso total} \times 100$$

$$\text{IGHt} = (\text{Peso del complejo reproductivo (PCRH)} / \text{Peso total}) \times 100$$

Donde IGH es el índice gonadosomático parcial de las hembras (p) o total (t), y PCRH representa la suma del peso del ovario, el oviducto y la glándula oviductal (Fig.1) (Arreguín-Sánchez y Solís-Ramírez, (2000).

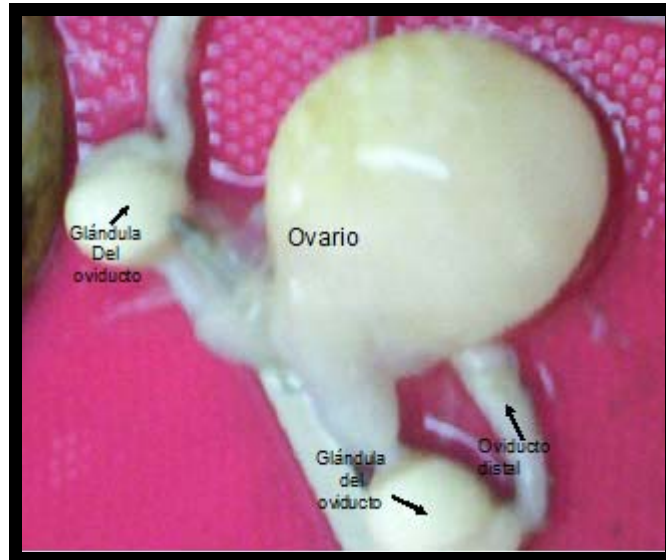


Fig.1. Aparato reproductor completo de *O. maya*

Caracterización de los tipos celulares en el testículo

El inicio de la madurez sexual en los machos de *O. maya* se estableció a partir del análisis de las características histológicas del tracto reproductivo tomando en consideración la ausencia de espermatogonias, espermatidas, espermatocitos espermatozoides el cual se clasificara como Indiferenciado: 1, presencia de espermatogonias, y espermatocitos, Inmaduro: 2, el aumento del tamaño del testículo Inicio de la maduración: 3 y la presencia de espermatozoides y espermátóforos, En desarrollo: 4, y Maduro: 5.

Para hacer esto se caracterizaron los tipos de células en el testículo y los cambios del tamaño del testículo con la edad, así como el desarrollo de la glándula de Needham como sitio de almacenamiento de los espermátóforos (Ould 2001; Rodríguez Rúa 2005). La escala de madurez de los pulpos ha sido propuesta en base a los trabajos de: Rodríguez Rúa, (2005); Tyler y Sumpter, 1996; Ishiyama, (1999); Ould, (2001).

Los diversos índices gonadosomáticos propuestos para el estudio de la madurez sexual en machos fueron calculados de la misma manera que con las hembras (Fig. 2).



Fig. 2. Aparato reproductor de los machos de *O. maya*.

Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de varianza con el fin de establecer los efectos de la edad en la madurez sexual de los machos y hembras de *O. maya*. El análisis se llevo a cabo con los resultados obtenidos de la proporción de células en los distintos estadios vitelogénicos así como en relación al cambio en el tamaño de las células con la edad. Las diferencias entre los índices gonadosomáticos con la edad también fueron establecidas con este método. Un análisis de varianza también fue aplicado a los cambios de la proporción de machos con espermatozoides y espermatóforos con la edad con el fin de establecer cuando es significativa la diferencia de animales maduros e inmaduros. Las diferencias entre los índices gonadosomáticos con la edad también fueron analizadas con este método.

RESULTADOS

Desarrollo macroscópico anatómico e histológico del sistema reproductor en hembras de *Octopus maya* en edades tempranas

I Diferenciación Sexual

En *Octopus maya* recién nacidos es posible observar la diferenciación temprana del sistema celómico el cual origina las cavidades celómicas, la cavidad vicero-pericárdica, los riñones y las glándulas pericárdicas de la gónada. En esta etapa los animales presentan una sola gónada inmadura la que se localiza centralmente en la cavidad vicero-pericárdica ocupando la posición dorso caudal de cavidad del manto. La gónada se compone de tres partes: una zona central conjuntiva que se prolonga del pedúnculo que sostiene la gónada, una zona pericárdica en donde se sitúan las células A y B (Lemaire, 1972) y una zona se encuentra recubierta de epitelio celómico.

Al momento del nacimiento se pudo observar que el vitelo que nutrió al organismo durante su etapa embrionaria se incorpora al saco vitelino interno. Al mismo tiempo, se va reduciendo la cavidad celómica que se sitúa dentro de los lóbulos vitelinos posteriores que comienzan a evaginar hacia la región caudal del embrión, mientras que la gónada se rodea de células conjuntivas en donde es posible distinguir a dos tipos de células. Estas células son las células A que se convertirán en las verdaderas células germinales, mismas que se encuentran indiferenciadas durante toda la vida embrionaria y las células B que no se tiene clara cual es su función (Fig.3A)

Las células B son de gran tamaño y desaparecen al final del periodo embrionario, Las células "B" son esféricas basófilas con núcleos grandes y densos y están embebidas en material acuoso acidófilo (Fig.3 B). Las células parecen originarse en la periferia de la cavidad celómica desde donde migran hacia el centro. Las células "A" (Fig.4 A). Se localizan dentro de una envoltura de tejido conectivo el

cual esta ligado al tejido en el que se encuentran las células “B”. Las células son basófilas y se encuentran en una masa compacta con núcleos bien definidos (Fig. 4B).

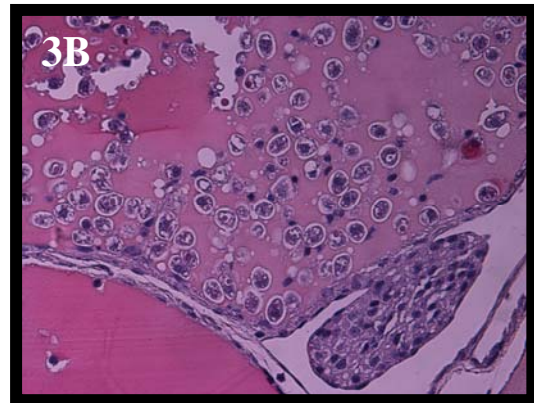
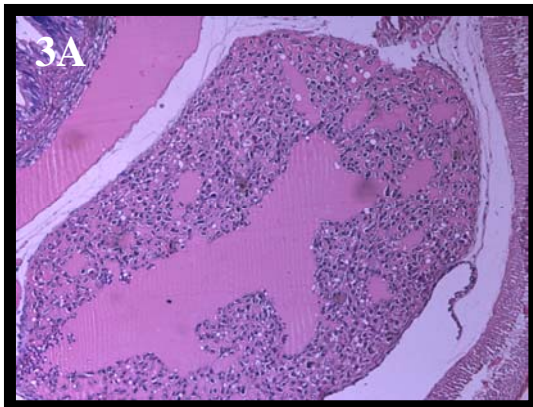


Fig. 3A Detalle de la bolsa que contiene las células “B” embebidas en la matriz acuosa (10x) de *O. maya* recién eclosionado. Detalle de las células germinales tipo “B” (Fig. 3B; 40x).

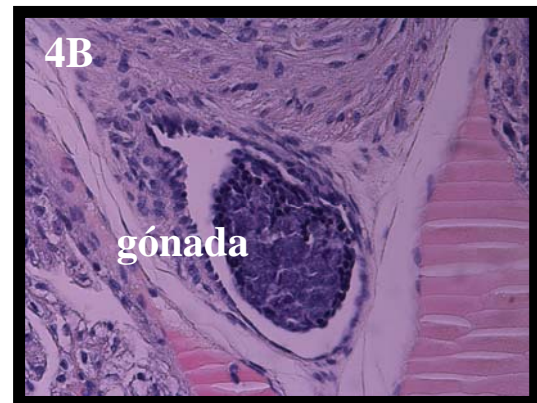
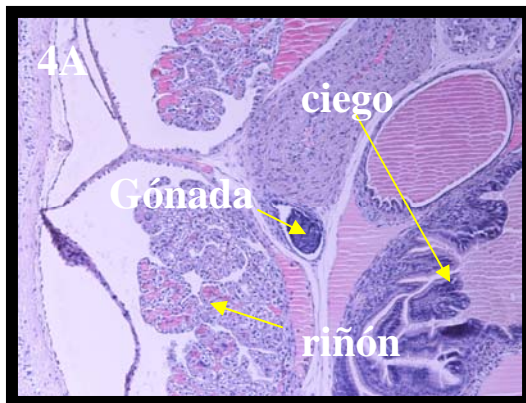


Fig. 4A. Corte sagital de un pulpo recién eclosionado de *O. maya* (Día 0). Vista general del área reproductiva respecto a los distintos órganos que la rodean Fig. 4B. 40x.

En *Octopus maya* al inicio de la diferenciación de los gametos las células germinales son grandes y redondeadas, con núcleo vesicular y no presentan una diferenciación sexual entre machos y hembras (Fig. 4). Estas células son llamadas protogonias o células germinales primordiales y dan lugar, por multiplicación mediante mitosis a las gonias (Fig. 5A) con un acercamiento se puede observar mayor detalle de estas células (Fig. 5B).

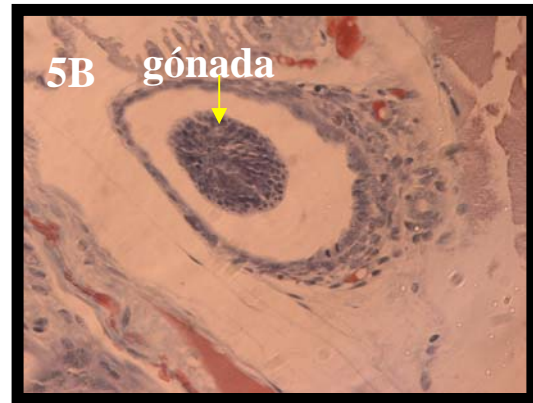
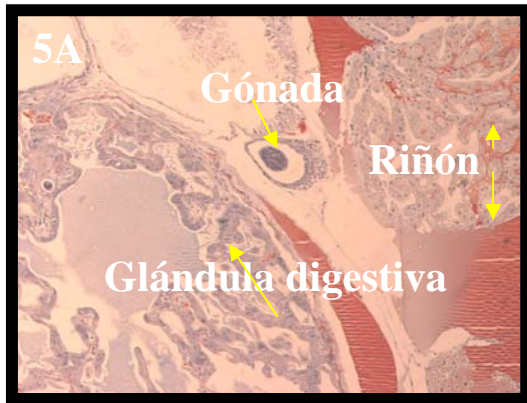


Fig. 5A. Corte sagital de un pulpo recién eclosionado de *O. maya* (Día 3). Vista general del área reproductiva respecto a los distintos órganos que la rodean (10x). Fig. 5B (40x).

En el día 3 en la gónada ya está presente esta masa de células esféricas (Tipo B), todo el conjunto celular que corresponde al tejido reproductivo se encuentra altamente nutrido por un sistema de irrigación denominado *sincitium* originado por el saco vitelino interno que rodea y comunica a todos los órganos internos. Esto se explica debido a que en primeros días de vida el animal recién eclosionado se nutre de sus reservas internas de vitelo .

Las gonias maduran y originan a las ovogonias en el caso de ser hembra o espermatogonias para los machos. Las observaciones realizadas en el presente estudio indican que esta diferenciación ocurre durante la primera semana de vida. En ese tiempo las células “B” se concentran formando un cúmulo organizado que se enlaza con la gónada en formación.

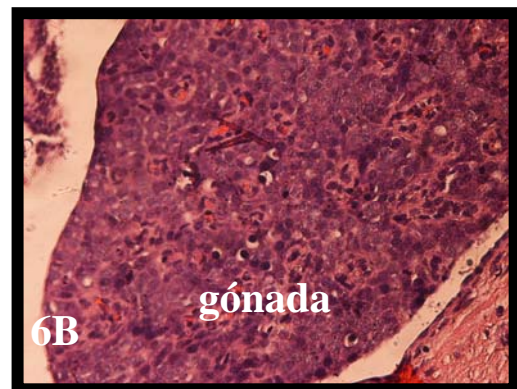


Fig. 6A Corte sagital de un juvenil de *O. maya* Día 5, (10x). Fig.6B acercamiento de imagen (40x)

Hacia el día 5 la cubierta que rodea a la gónada se va engrosando con una doble capa de células epiteliales aplanadas. Conforme el animal va creciendo este tejido se reduce para formar una masa compacta cuya función, en esta edad no puede ser definida (Fig.6A y 6B).

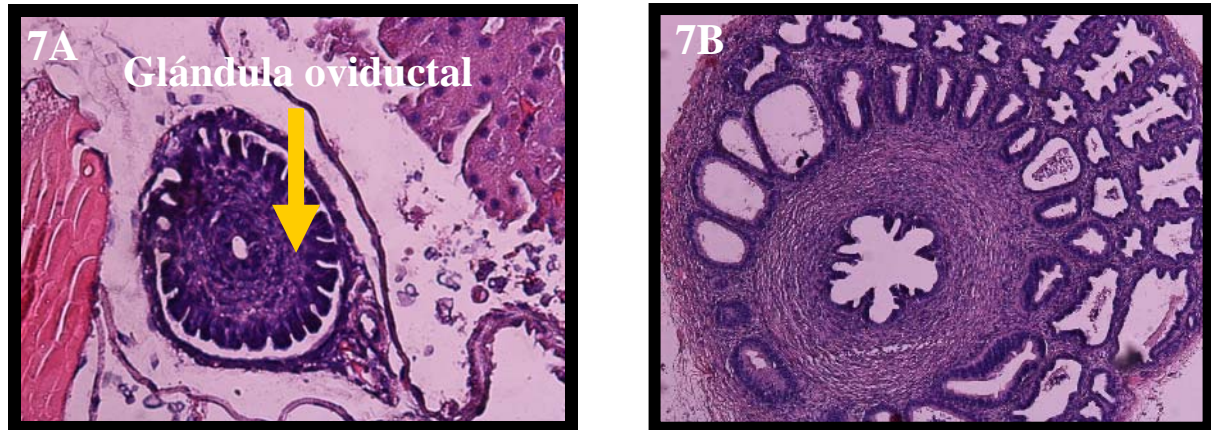


Fig. 7A. Órganos sexuales accesorios de *O. maya* que permiten identificar el sexo de los pulpos en animales de 5 días (100 mg) (10x). Fig. 7B imagen que corresponde a la glándula oviductal de un organismo de 5g (10x).

En la figura 7A están presentes las glándulas sexuales accesorias y corresponden una glándula de un juvenil temprano hembra de 16 días de edad con una peso de 170mg en donde la complejidad de su conformación morfológica es básica, en la siguiente imagen que corresponde a una glándula oviductal de un juvenil hembra de mayor talla con un peso de 5g (Fig. 7B). en donde se observa una glándula oviductal en donde, los pilares que rodean el tejido central se irán revistiendo de cordones glandulares conforme crezca la hembra esto corresponde a un desarrollo de cámaras espermáticas mismas que en momento de ser copulada guardaran los paquetes espermáticos para la posterior fecundación de los huevos, para así cumplir con sus funciones fisiológicas correspondientes a un organismo maduro. Las glándulas oviductales también elaboran una secreción que contribuye a la formación de la envoltura del huevo.

Como se puede observar la estructura que compone a las glándulas sexuales de los machos corresponden a una capa de epitelio simple de células basófilas que están revistiendo la luz del órgano tubular (Fig. 8A). En el macho el tracto genital es una formación impar que se compone de un canal deferente compuesto por vasos vinculados unidos que tienen en conjunto el nombre del

complejo de Needham (Fig. 8A). El complejo de Needham en el caso de macho de igual al igual que lo que sucede en la hembra se encuentran inmaduros al nacimiento, conforme aumentan el tamaño somático estas glándulas sexuales van desarrollándose y creciendo conformando estructuras con diferentes actividades fisiológicas mismas que serán funcionales al llegar a su etapa reproductiva (Fig. 8B).

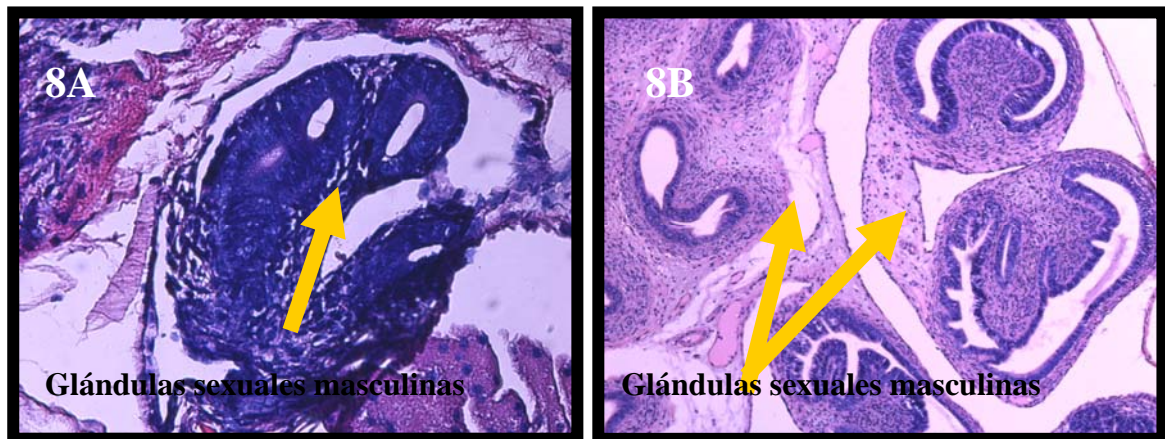


Fig. 6 Corte transversal de las glándulas sexuales masculinas de un juvenil de *O. maya* correspondiente a un organismo de una edad de 7 días con un peso de 150mg (8A; 10x). Corte trasversal de las glándulas sexuales de un macho de *O. maya* con peso de 5g. (8B; 10x).

La condensación de las células “B” termina, disponiéndose junto al el tallo del epitelio germinal, alrededor del día 9 se observó una estructura de células compactas bien definidas. Paralelamente al crecimiento somático se observó un aumento en el tamaño de la gónada. Es evidente que esta estructura cuenta con una mayor organización y diferenciación de las células germinales formándose un conjunto de células de tejido conjuntivo y protogonias. Este tejido se encuentra unido al saco que lo envuelve por un cordón de tejido conectivo. El epitelio germinativo forma un cordón de células foliculares mismas que originan a las ovogonias. Posteriormente estas se diferencian en ovogonias primarias y secundarias.

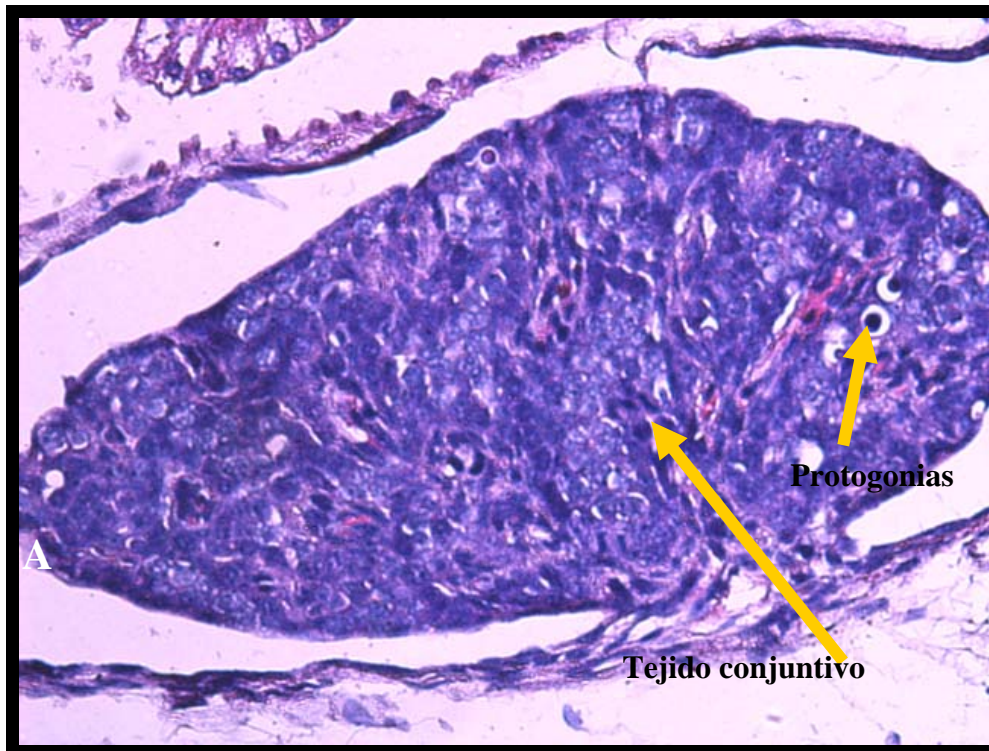


Fig. 9. Conjunto de células de tejido conjuntivo y protogonias al día 9 de la eclosión de *O. maya*.

En la imagen que corresponde al día 9 de la eclosión (Fig. 9), la gónada ya cuenta con una estructura celular que indica que se trata de un ovario ya que las células de mayor tamaño comparadas con el macho, son redondeadas y delimitadas unas de otras presentando núcleos grandes, esta presente una ligera diferencia en cuanto al tamaño celular de estas protogonias manifestándose así una asincronía celular en un inicio, estas células se originan en forma de racimos a partir de cordones de tejido germinal que tienen un origen común, se cuenta con una mayor presencia de vasos sanguíneos misma que promueve una mayor irrigación, que en los machos, en estos se presenta una gónada compacta delimitada, que cuenta con una sincronización en el tamaño celular en donde se van delimitando en grupos celulares rodeados de tejido conectivo, aunque las diferencias no parecieran tan evidentes en etapas tempranas, las glándulas sexuales son las más importantes para establecer el sexo en edades tempranas ya que son estructuras con una conformación estructural que difieren entre sí descartando una posible confusión basándose en estos tejidos.

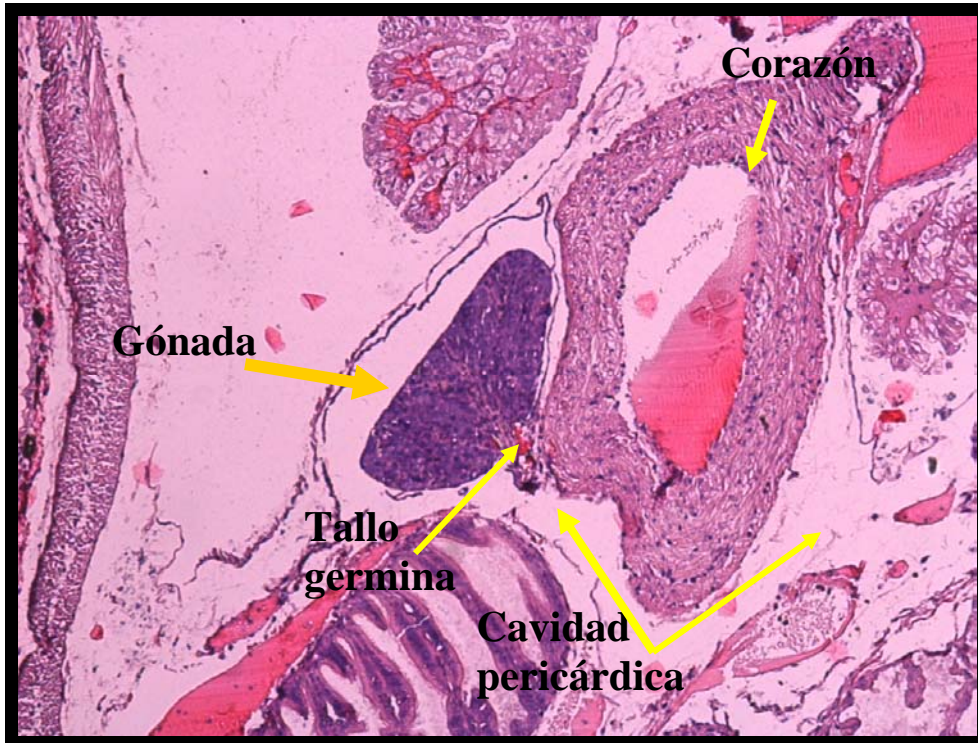


Fig. 10. Corte sagital de *O.maya* de 11 días mostrando la gónada en desarrollo (10x). Nótese el tallo germinal bien desarrollado en la base del ovario junto al corazón.

Por la forma en que están dispuestas las células en el ovario en relación al tejido germinal, junto al órgano cardiaco que es donde se inicia la síntesis celular debido a que este tejido esta provisto de una alta irrigación (Fig. 10).

Durante la transición de protogonias a ovocito no es reconocible claramente una etapa definida, las ovogonias muestran una intensa multiplicación al inicio de la madurez sexual. Durante la ovogénesis éstas presentan núcleos en profase se detiene en esta fase para posteriormente continuar con la meiosis.

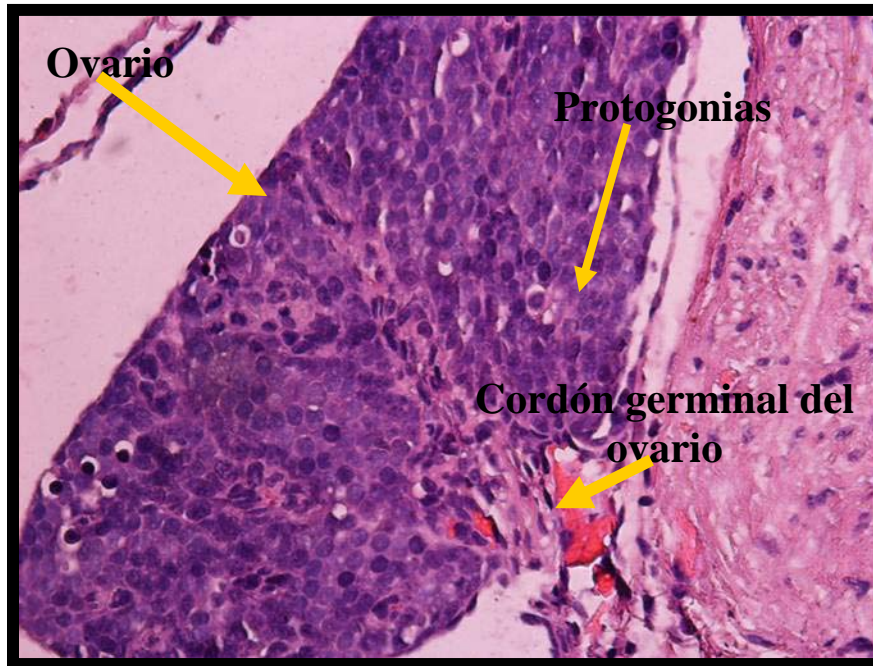


Fig. 11. Base de un ovario definido obtenido *O. maya* con 24 días después de la eclosión (40x).

En la Fig. 11 se observa el cordón de tejido germinal que sostienen a las células inmaduras del ovario. Estas células son basófilas con núcleos grandes y algunas en división, indicando que están en pleno crecimiento. Del análisis histológico de animales con mayor edad es evidente que las hembras de más de 30 días ya presentan células vitelogénicas definidas, indicando que el ovario ha iniciado su etapa reproductiva (Fig. 11A).

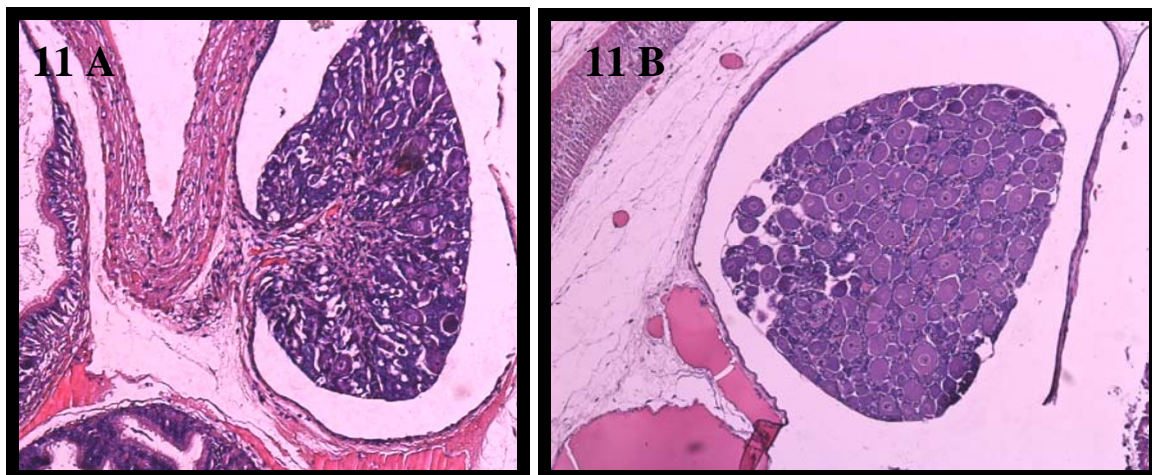


Fig. 11A. Corte sagital del ovario de *O. maya* con 30 días de edad .Fig. 11B y 35 días después de la eclosión (B10x).

El ovario de un animal de 30 días de edad y con un peso alrededor del medio gramo, ya esta completamente formado (Fig. 12A). En el se observan ovogonias

en diferente nivel de desarrollo. Estas células posteriormente continúan creciendo de forma sincronizada hasta que la mayoría de las ovogonias presentan el mismo tamaño e inclusive se encuentran con el núcleo en división, así como condensación de cromatina (Fig. 12 B).

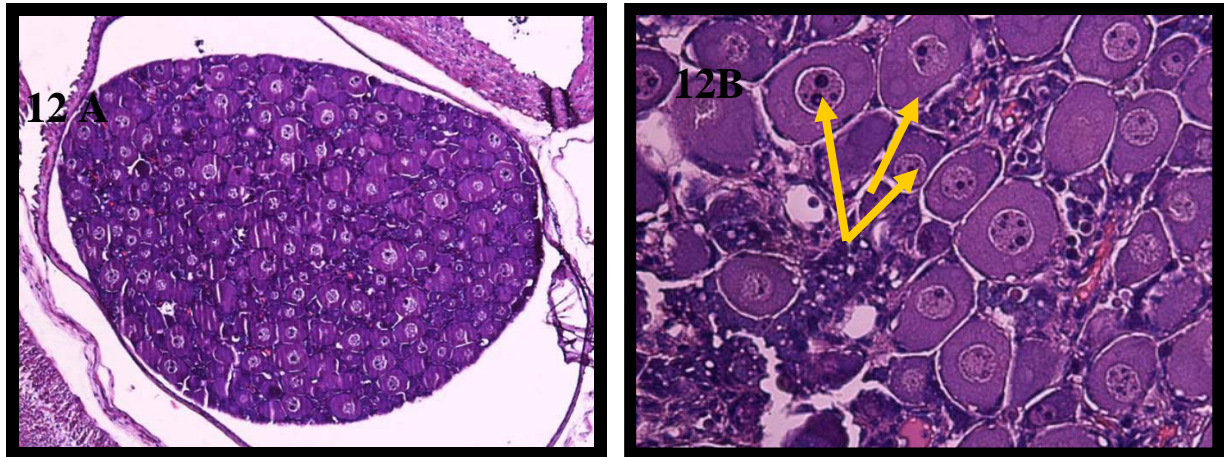


Fig. 12A. Corte axial de ovario de *O. maya*. (10x); 12B Nótese los núcleos en división mitótica. (40x).

Estadios Juveniles iniciales

Los animales utilizados en esta parte del estudio corresponden a pulpos con pesos entre el 1.6 y 143g de peso. Se puso este límite tomando en cuenta que los machos con un peso cercano a los 5g ya cuentan con el brazo hectocotilizado.

Ovario

En la fase juvenil de *Octopus maya* se encontró que el ovario es un órgano localizado dentro de la masa visceral en el borde superior del cuerpo del pulpo y se encuentra por encima de la glándula digestiva. El ovario crece rodeado por los riñones. Se encuentra envuelto por un tejido conectivo laxo que contiene, a las células germinales y así en conjunto forman el órgano reproductor (Fig. 13). El ovario de estos animales indica que hubo un desplazamiento del lugar original donde estaba al momento de nacer en la cavidad pericárdica para terminar ocupando el ápice superior del cuerpo esto tiene la finalidad de que al aumentar de volumen los huevos, estos cuenten con el espacio necesario para su adecuado desarrollo al llegar a la etapa reproductiva

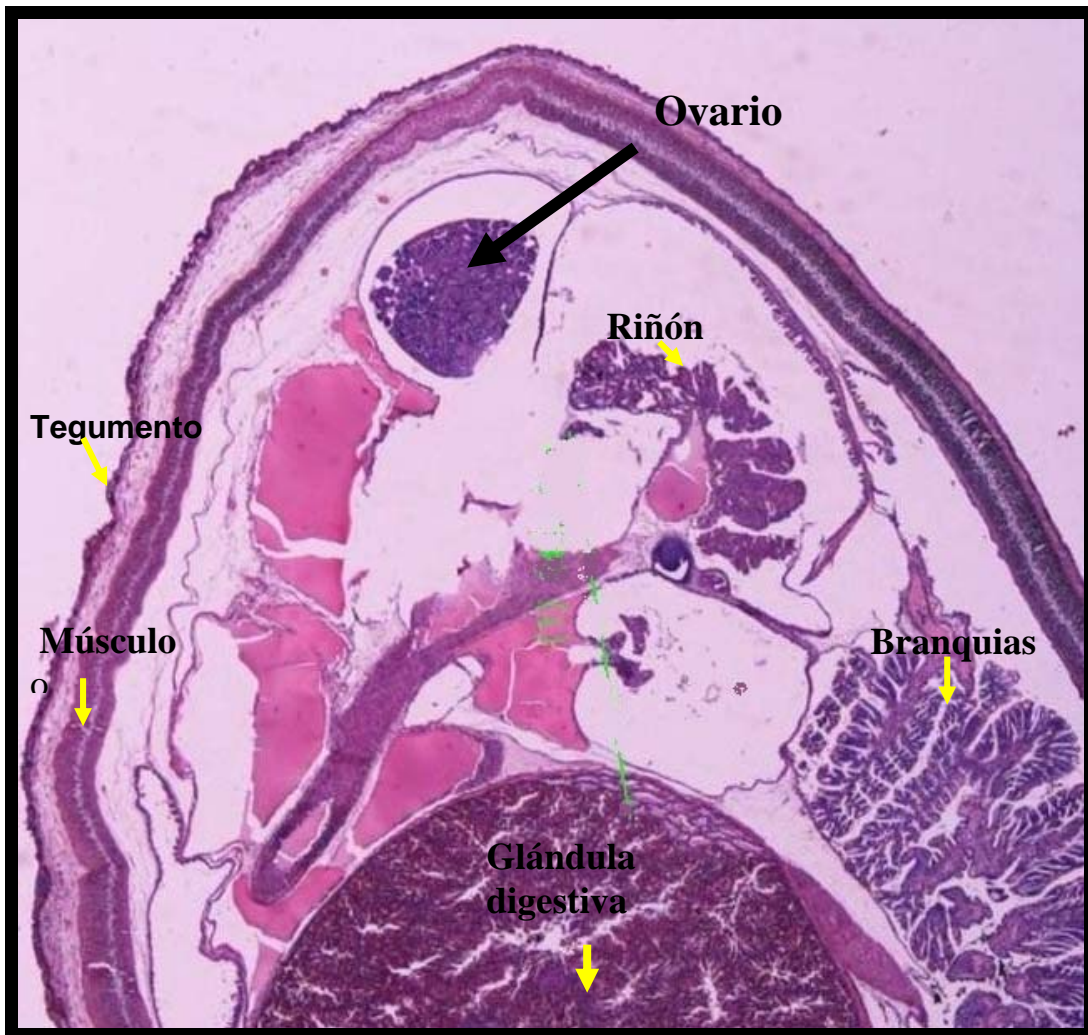


Fig. 13. Corte sagital de un juvenil de *O. maya* de 35 días con referencia a los tejidos que rodean al ovario. Branquias; Glándula digestiva; Riñones. (2x).

La pared del ovario está compuesta por tres capas: la más externa corresponde a tejido epitelial; la intermedia, es una capa de tejido conectivo. La capa más interna esta formada de tejido epitelial germinativo (Fig. 14).

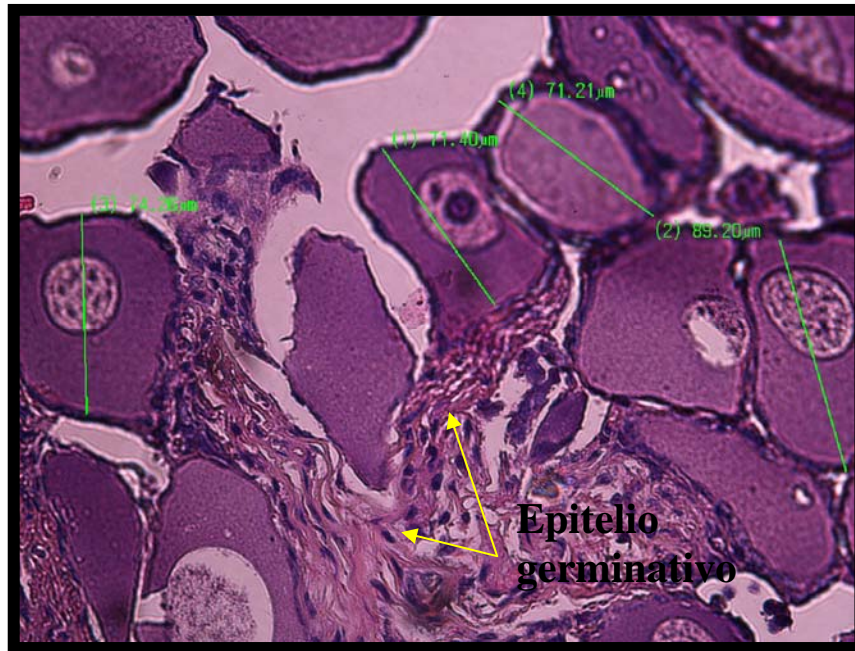


Fig. 14. Corte transversal de un ovario de *O. maya*. (40x).

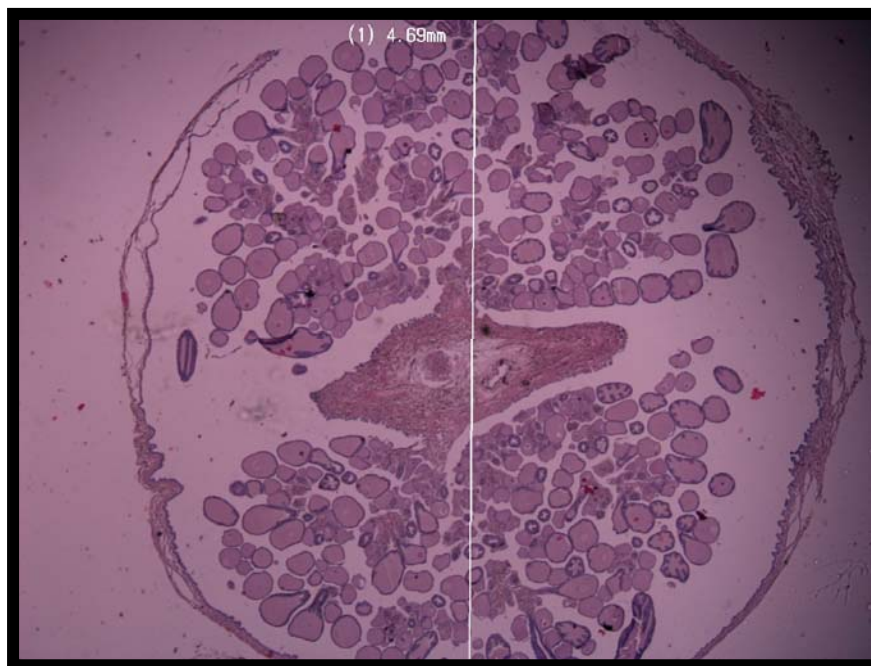


Fig. 15. Corte transversal de un ovario de *O. maya*. (2x).

En el epitelio germinativo tienen su origen las ovogonias que se localizan sobre la membrana basal, estas se diferencian en ovocitos primarios y secundarios, los cuales están rodeados por células foliculares que forman la capa folicular en donde el ovocito se desarrolla, se divide en dos cordones en donde se formarán dos racimos de huevos hacia la época reproductiva (Fig. 15).

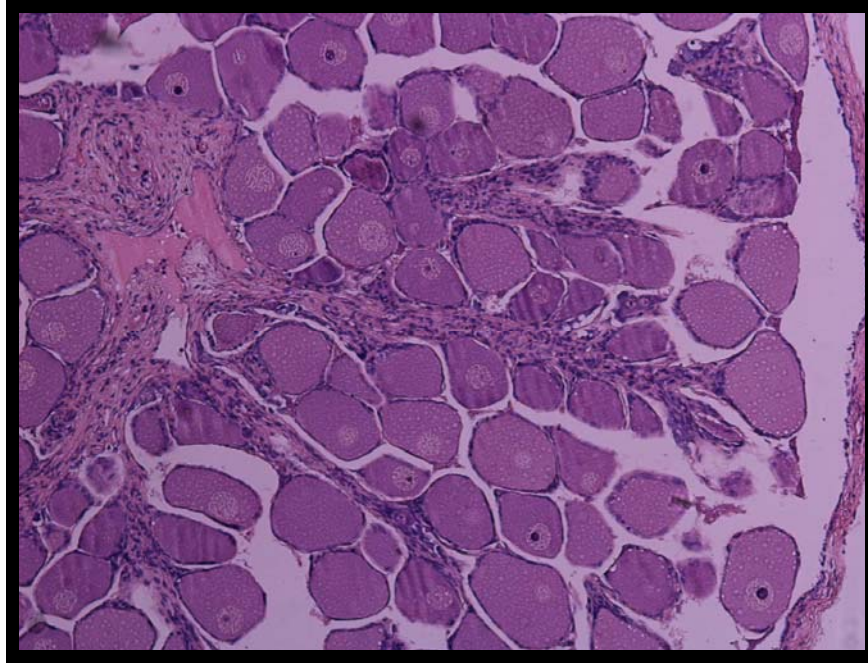


Fig. 16. Corte sagital de ovario de *O. maya*. Nótese la formación y desarrollo de ovocitos a partir del tejido germinal (40x).

En los ovarios inmaduros, en el extremo proximal con respecto al epitelio germinativo de cada una de las ramificaciones que se originan en este. Se observó que los ovocitos pre-vitelogénicos se encuentran rodeados por células foliculares que se originan en gran cantidad del epitelio germinativo (Fig. 16).

Los folículos ováricos están bien vascularizados y conectados a la masa conjuntiva central por un pedúnculo formado de vasos sanguíneos y de tejido conjuntivo. Dentro del folículo, la maduración de los ovocitos ocurre desde el centro hacia la periferia, lugar donde se localizan los ovocitos vitelogénicos con su respectiva capa de células foliculares. Cada folículo está conectado al tejido central del ovario, para el momento en que ocurra el desove (Fig. 17 B).

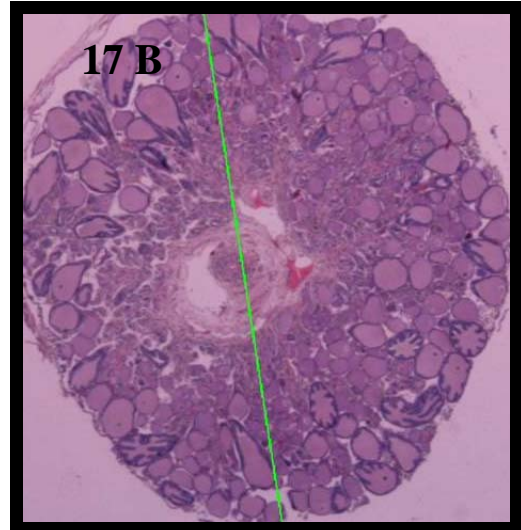


Fig. 17A. Corte axial del ovario de *O. maya*: vista completa del ovario de una hembra de 7.3g Con sus glándulas nidamentales. (2x). 17B Corte axial del ovario de *O. maya*: vista completa del ovario de una hembra de 9.3g con ovocitos en diferentes estados de desarrollo (10x).

Conforme los oocitos entran en la fase de vitelogénesis, estos ovocitos pre-vitelogénicos, junto con algunas células foliculares, van siendo desplazados periféricamente a la parte externa del ovario (Fig.17B). Los folículos ováricos que se ubican en la periferia están formados por un solo ovocito central rodeado por células foliculares aplanadas asentadas en una lámina basal.

Estadios gonádicos

Características de los ovocitos

Los ovocitos, durante la gametogénesis experimentan cambios asociados con el incremento paulatino del vitelo. Durante la gametogénesis se forman pliegues dentro del citoplasma por la invaginación de las células foliculares y por la formación de un pedúnculo delgado que es donde se fijan a la pared del ovario (Fig. 18 y 19). Los ovocitos, se encuentran rodeados por una sola capa de células foliculares cúbicas, se desarrollan desde el epitelio germinal hacia la periferia del ovario Cuando los ovocitos fecundados son evacuados se fijan al sustrato con este pedúnculo.

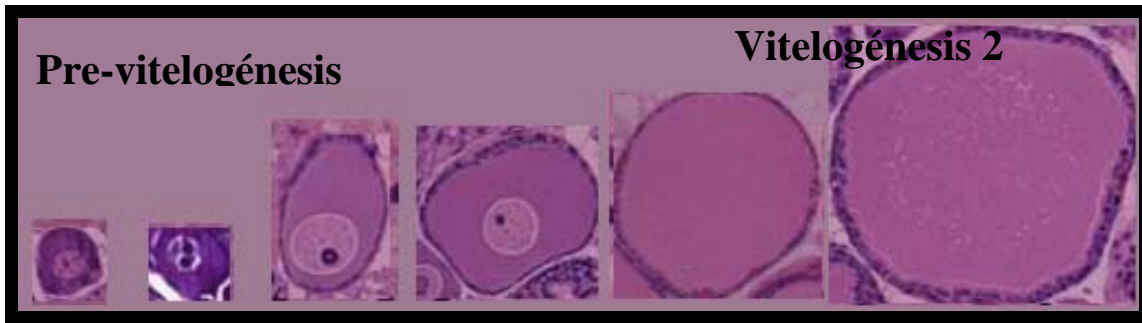


Fig. 18. Desarrollo de las ovocitos durante la pre-vitelogénesis, vitelogénesis para hembras de *O. maya*

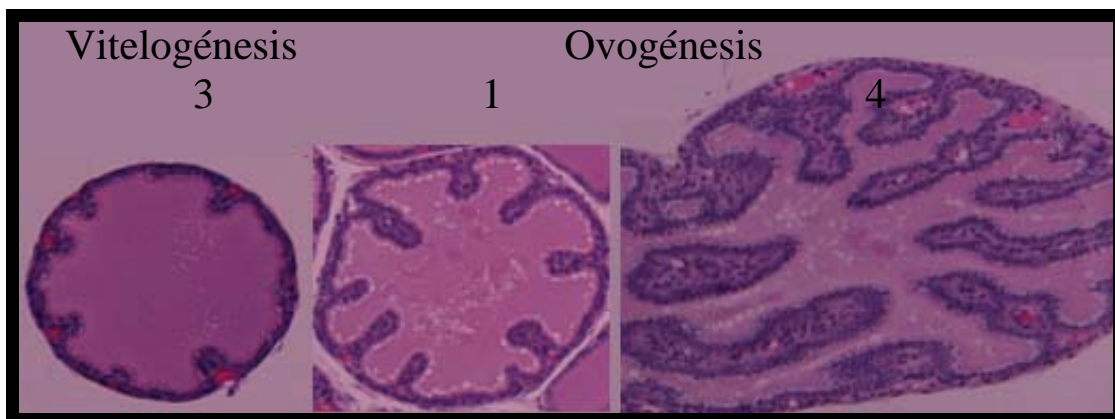


Fig. 19. Desarrollo de las ovocitos durante la vitelogénesis y ovogénesis para hembras de *O. maya*

Desarrollo anatómico e histológico del sistema reproductor del macho de *Octopus Maya*

El Desarrollo Temprano del aparato reproductor del macho tiene su origen de la misma forma que en las hembras, tal y como se mencionó anteriormente. Por esta razón las descripciones siguientes fueron hechas con base en organismos diferenciados y en proceso de maduración (Fig. 20).

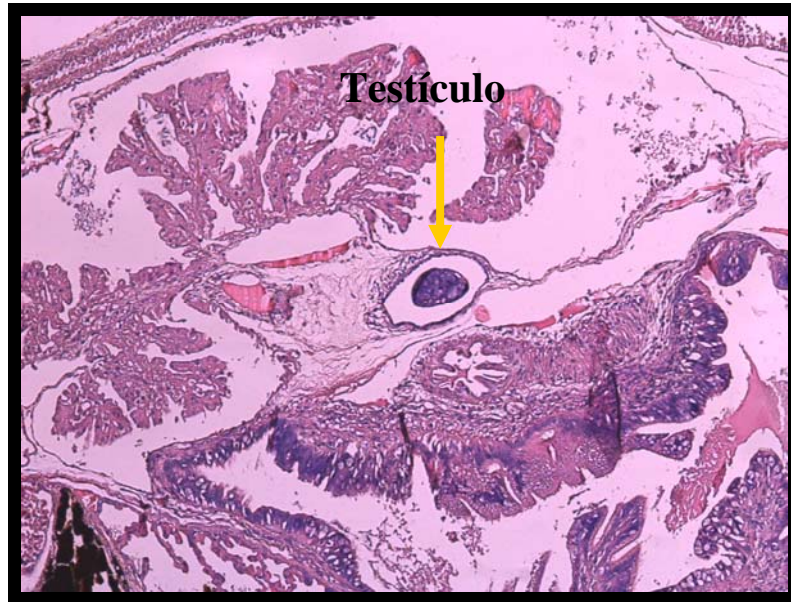


Fig. 20. Corte sagital de *O. maya* juvenil macho de 6 días de edad. Nótese el tejido reproductor indiferenciado (10x).

Escala de madurez gonadal de los machos.

El testículo se localiza en el polo superior del cuerpo del pulpo, inmerso en tejido conjuntivo laxo sobre los riñones y limita posteriormente con la glándula digestiva y el ciego esta ubicación es propia para organismos que se encuentran antes del comienzo de su madurez sexual (Fig. 20).

Espermatogénesis

En *O. maya* los espermatogonios se encuentran localizados en la superficie externa del túbulo semejante a un epitelio. En la parte interior de la membrana basal se encuentran las células mismas que están en las últimas fases de diferenciación por lo que los espermatozoides maduros están más cerca de la luz del túbulo.

Diferenciación sexual

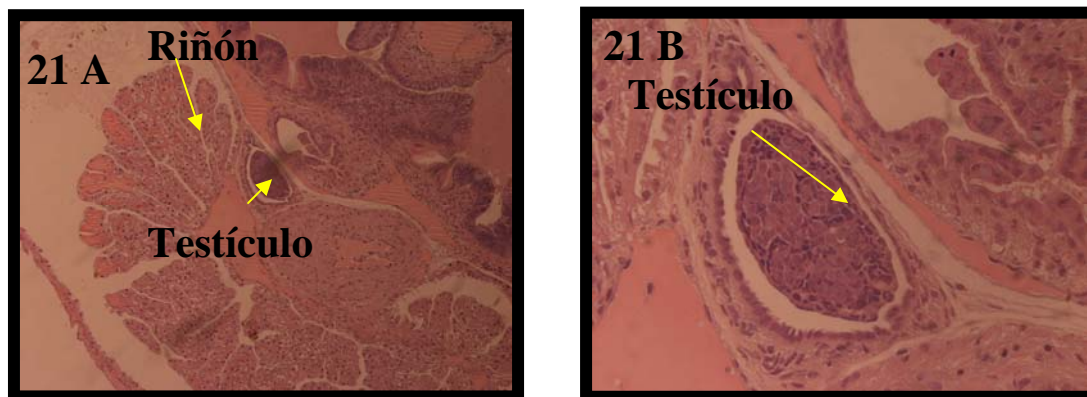


Fig. 21 A. Corte sagital de *O.maya* juvenil macho diferenciado de 11 días de edad. Nótese el testículo desarrollado (10x); 21B (40x).

Estadio Inmaduro inicial

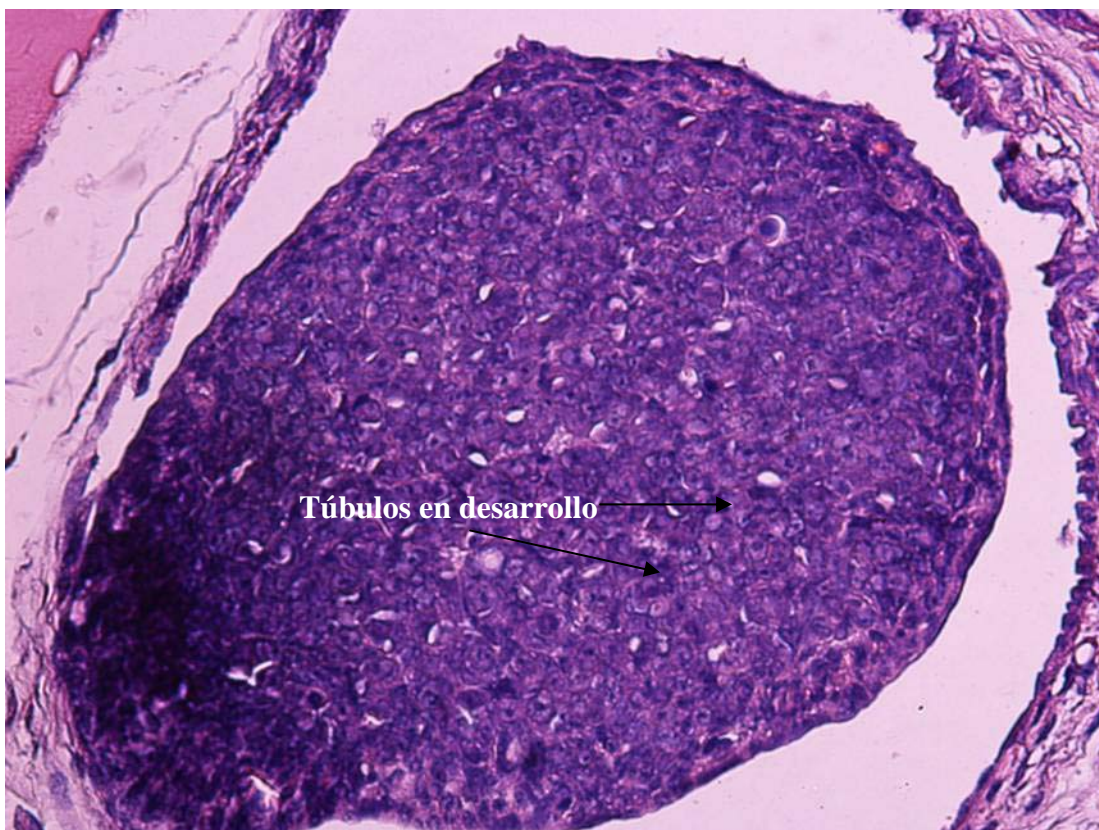


Fig. 22. Corte sagital del testículo de un macho de *O. maya* con 35 días de vida (10x). Nótese los túbulos en desarrollo llenos de protogonias.

A los 35 días de edad y en animales de 1g de peso el testículo es pequeño y sus conductos están poco diferenciados (Fig. 22). Se observa la formación de los septos de tejido conjuntivo entre los túbulos seminíferos señalados por líneas.

El testículo está externamente revestido por mesotelio y envuelto por una doble capa de células aplanadas cumpliendo con la función de la túnica albugínea. Los tubos seminíferos no poseen luz y están separados por un escaso tejido conjuntivo. Las protogonias descansan sobre la membrana basal las que posteriormente cambiarán a espermatogonias. Los núcleos tienen la cromatina condensada y el citoplasma es basófilo (Fig. 22).

Estadio Inmaduro avanzado.

En estadios más avanzados de maduración los machos de *O. maya* se pueden observar túbulos seminíferos pequeños bien definidos. Las espermatogonias son células de gran tamaño, que se sitúan preferentemente en el centro del tubo, su núcleo es esférico y voluminoso y poseen un gran nucléolo central. Las espermatogonias se encuentran a continuación de las membranas basales de los túbulos seminíferos por lo que los encontraremos en varios procesos de mitosis. Algunos espermatoцитos se encuentran en las paredes o en el centro de los túbulos seminíferos (Fig. 23 A). Este grado de desarrollo está presente en animales cuyo peso oscila entre 2 y 6g de peso (Fig. 23 B)

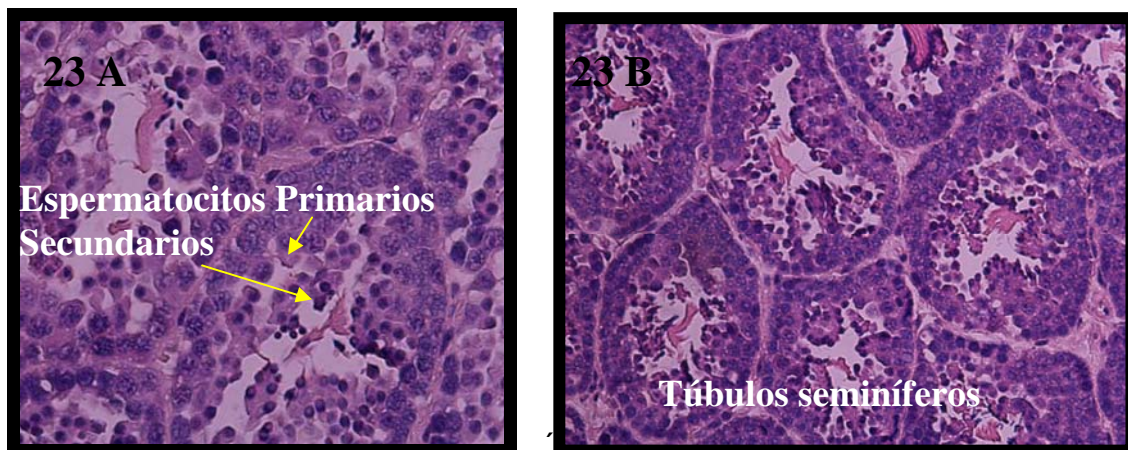


Fig. 23 A. Corte sagital del testículo de un macho de *O. maya* de 4g (10x); Fig. 23 B, Organismo de 6g (10x).

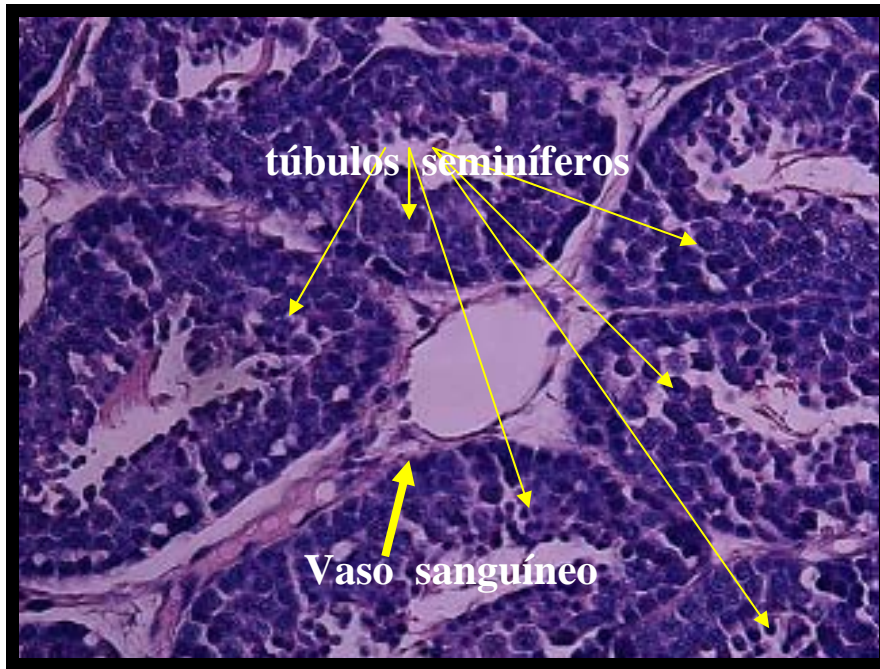


Fig. 24. Corte sagital de testículo de *O. maya* de 6 g de peso (10x).

En esta imagen el testículo se muestra con maduración puberal inicial, las espermatogonias están descansando directamente sobre la membrana basal de los túbulos seminíferos. Los espermatocitos de primer orden (muy escasos en éste tubo) se reconocen por la disposición de los cromosomas meióticos. Hacia la luz se observan pocos espermatozoides (Fig. 24).

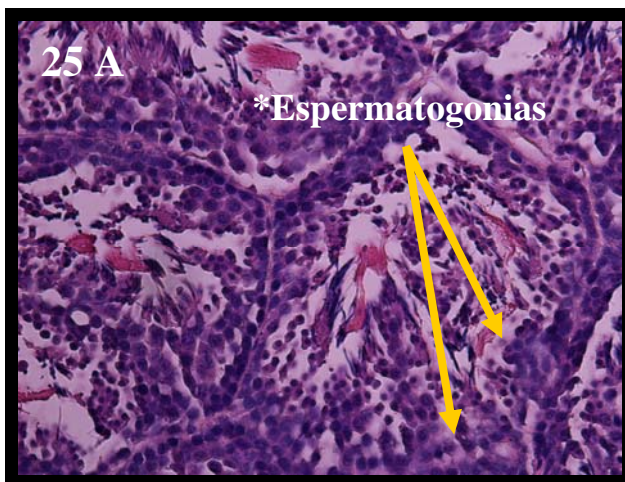


Fig. 25. Corte sagital de testículo de macho de *O. maya* de 6g (imagen a) Nótese la presencia de espermatozoides bien formados en la luz de los túbulos seminíferos (10x); 25 B el corte transversal del complejo glandular de un animal de 9g de peso la flecha indica los espermatozoides en el saco de Needham (2x).

Inicio de la maduración.

En los machos de *O. maya* con peso de entre 6 y 9g los cambios en el aparato reproductor son más notorios, externamente ya presentan el brazo ectocotilizado. Mientras que en los cortes histológicos se puede observar como el testículo aumentó ligeramente de tamaño debido a la producción de espermatozitos (Fig. 25 A). El testículo presenta un mayor desarrollo entre el tejido conjuntivo laxo y el epitelio germinal. En los túbulos seminíferos están presentes los diferentes tipos de células, predominando las espermatogonias y los espermatozitos, con escasas espermatidas y espermatozoides. Los núcleos de los espermatogonios y de los espermatozitos son densos y ricos en cromatina (Fig. 25B). El conducto deferente se enrolla en sí mismo en una estructura en forma de “S” y queda rodeado por el tejido glandular (Fig.25 B).

Macho en desarrollo.

El testículo aumenta de tamaño por la producción de espermatozoides y se inicia la formación de espermátóforos en la glándula espermatófórica. En los túbulos seminíferos es mayor la presencia de espermatozoides en proporción con al resto de las células inmaduras.

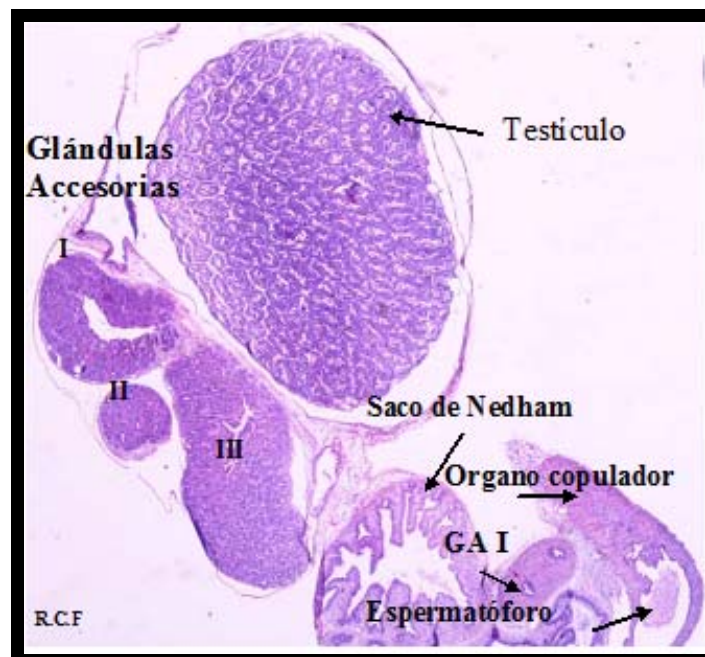


Fig. 26. Corte sagital del aparato reproductor completo de un macho de 8.3g de *O. maya* mostrando todas las estructuras bien desarrolladas (10x)

Machos maduros

En esta etapa la gónada está ocupando el polo superior del cuerpo del pulpo descansando sobre los riñones, la proporción de tejido conjuntivo que lo rodeaba disminuye. El testículo en desarrollo se nota es poco turgente, y los espermatozoides llenan la bolsa de Needham, aquí se almacenan y maduran los espermatozoides (Fig. 27).

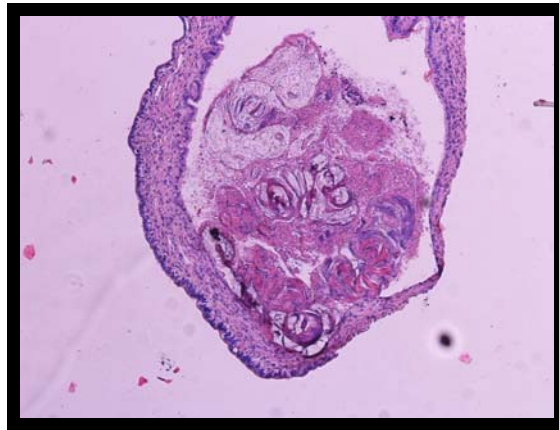


Fig. 27. Corte sagital de saco de Needham en *O. maya* conteniendo espermatozoides de un macho de *O. maya* con 8.3g de peso Imagen (10x).

El saco de Needham presenta una función secretora por el tejido glandular que presenta. El conducto deferente produce una secreción que se vierte en la luz, los adenómeros aumentan en número y las células que los constituyen tienen abundantes gránulos acidófilos, la cantidad de secreción aumenta y su acumulación es mayor en la porción anterior (Fig.28 A).

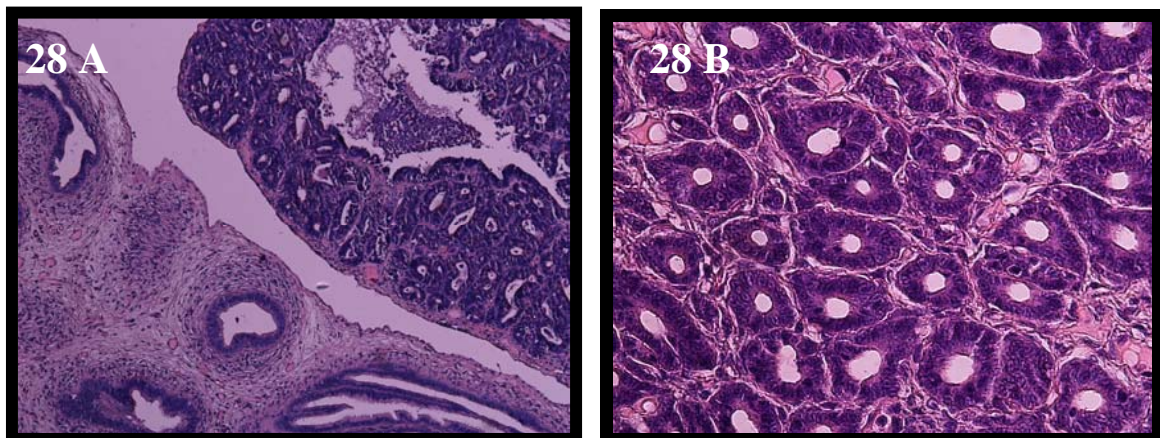


Fig. 28 A. Corte sagital de la glándula accesoria de macho de *O. maya* con 8.3g de peso (10x); 28 B (40x).

9. Fase juvenil de hembras de *O. maya*

Con el fin de establecer si el tamaño de las células en el ovario de las hembras juveniles de *O. maya* tienen las características de células reproductivas, se realizó una comparación entre los distintos tipos celulares agrupando a los organismos en tres categorías: juveniles iniciales (1.6 a 20g), juveniles avanzados (20 a 67g) y adultos silvestres (mayores de 140g) (Fig. 29).

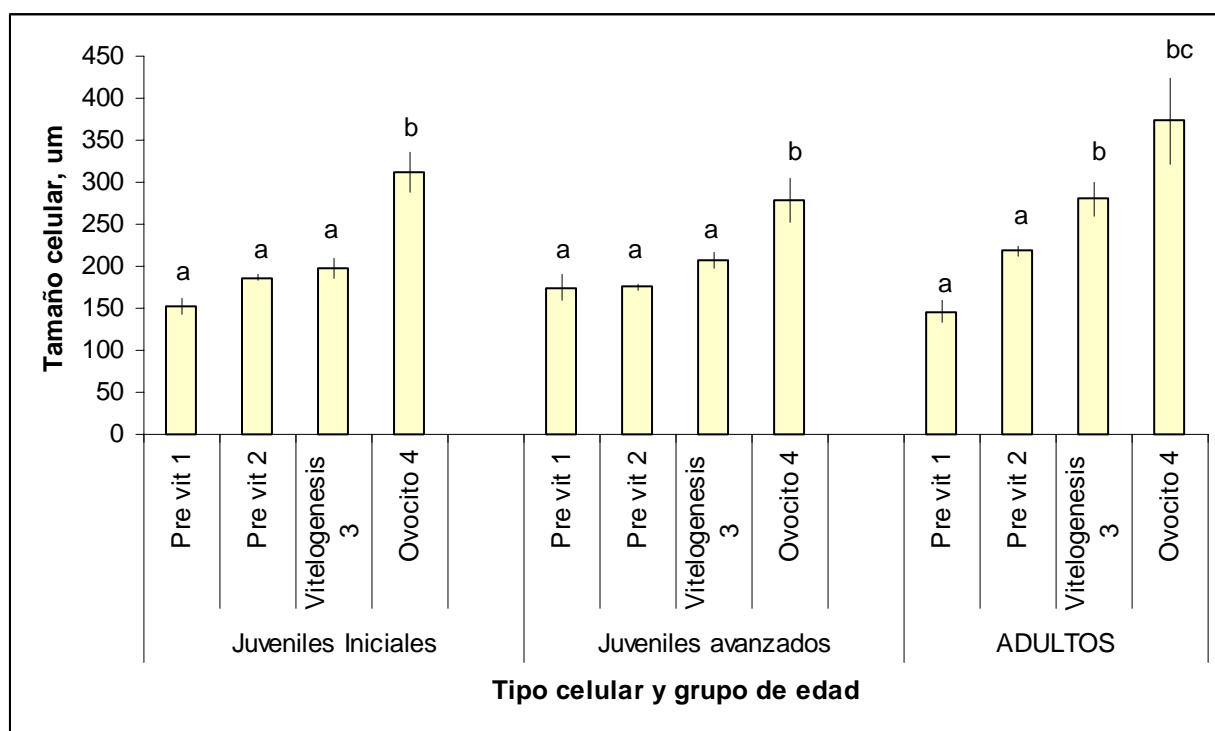


Fig. 29. Variación en el tamaño celular de los ovocitos de hembras juveniles y adultos de *O. maya*. Promedio + E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas en los tamaños celulares.

Como se puede observar para los tres grupos de animales los tipos celulares pre-vitelogenicos 1 y 2 son similares lo que indica que al inicio de este proceso el tamaño de las células es independiente del peso del organismo, al menos para un intervalo de entre 1.6g y 500g de peso (Fig. 29, $P > 0.05$).

La diferenciación del tamaño celular en los grupos de peso se hizo evidente cuando se compararon las células en vitelogénesis (estadio 3). Las células en estadio 3 de los dos grupos de juveniles resultaron ser similares entre si ($P > 0.05$) y diferentes de las células de los pulpos adultos ($P < 0.05$; Fig. 29). Las células en estadio 3 en el

grupo de pulpos adultos resultaron ser similares a los ovocitos primarios observados en los dos grupos de juveniles ($P > 0.05$). El tamaño de los ovocitos (IV) registrado en el grupo de adultos resultó ser estadísticamente mayor que el registrado en los grupos de juveniles ($P < 0.05$).

Del total de células observadas en los ovarios de ambos grupos de juveniles el 91% correspondió a células pre-vitelogénicas, el 6% a células vitelogénicas y solo el 3% a ovocitos (Estadio 4) (Fig. 30).

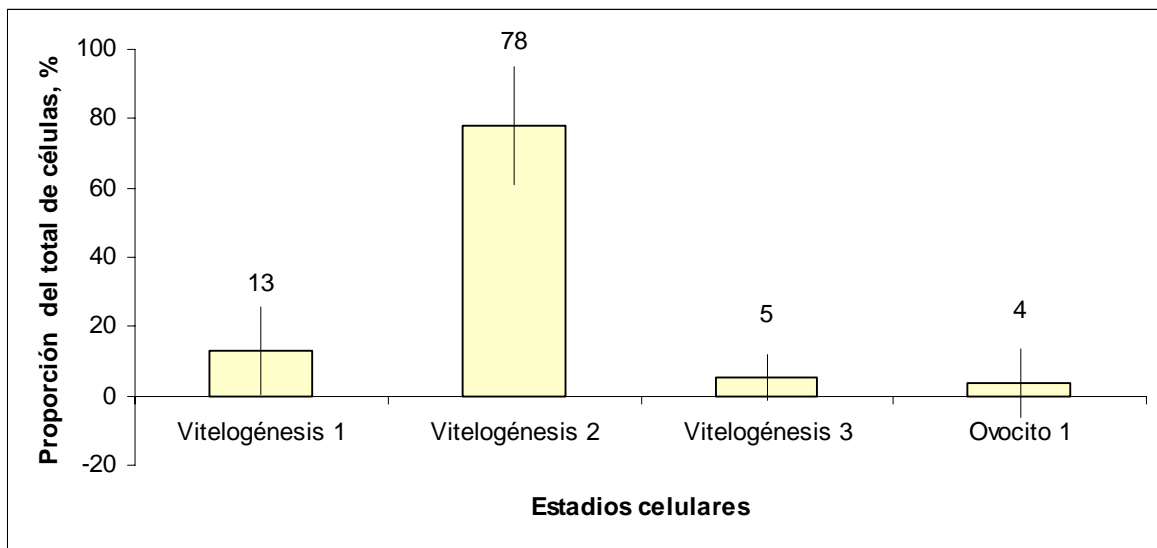


Fig. 30. proporción del total de los tipos celulares en los ovarios de juveniles iniciales y avanzados de *O. maya*.

Es interesante hacer notar que los ovarios de las hembras son capaces de producir células en todos los estadios vitelógenicos, incluyendo la formación de huevos (Fig. 30) Sin embargo posiblemente debido a la falta de espacio, los ovarios no se desarrollan lo cual impide que estos animales se reproduzcan antes de que el animal cuente con el espacio que permita el crecimiento del ovario.

Una distribución, diferente de la normal, fue observada en el peso del ovario de las hembras analizadas (Fig. 31). Como se puede apreciar, la mayor frecuencia fue obtenida en las hembras cuyo peso del ovario se encontró en un intervalo de entre 0.03 y 0.04 g con un rango de peso de los ovarios de entre 0.01 y 0.4g (Fig. 31). Una distribución normal fue observada en la distribución de frecuencias del diámetro del ovario (Fig. 31 A). Un rango de entre 1.6 a 7.6mm de diámetro fue registrado con las

mayores frecuencias en las hembras con ovarios de entre 2.4 a 2.8mm y entre 3 y 3.2mm (Fig. 31 B).

8

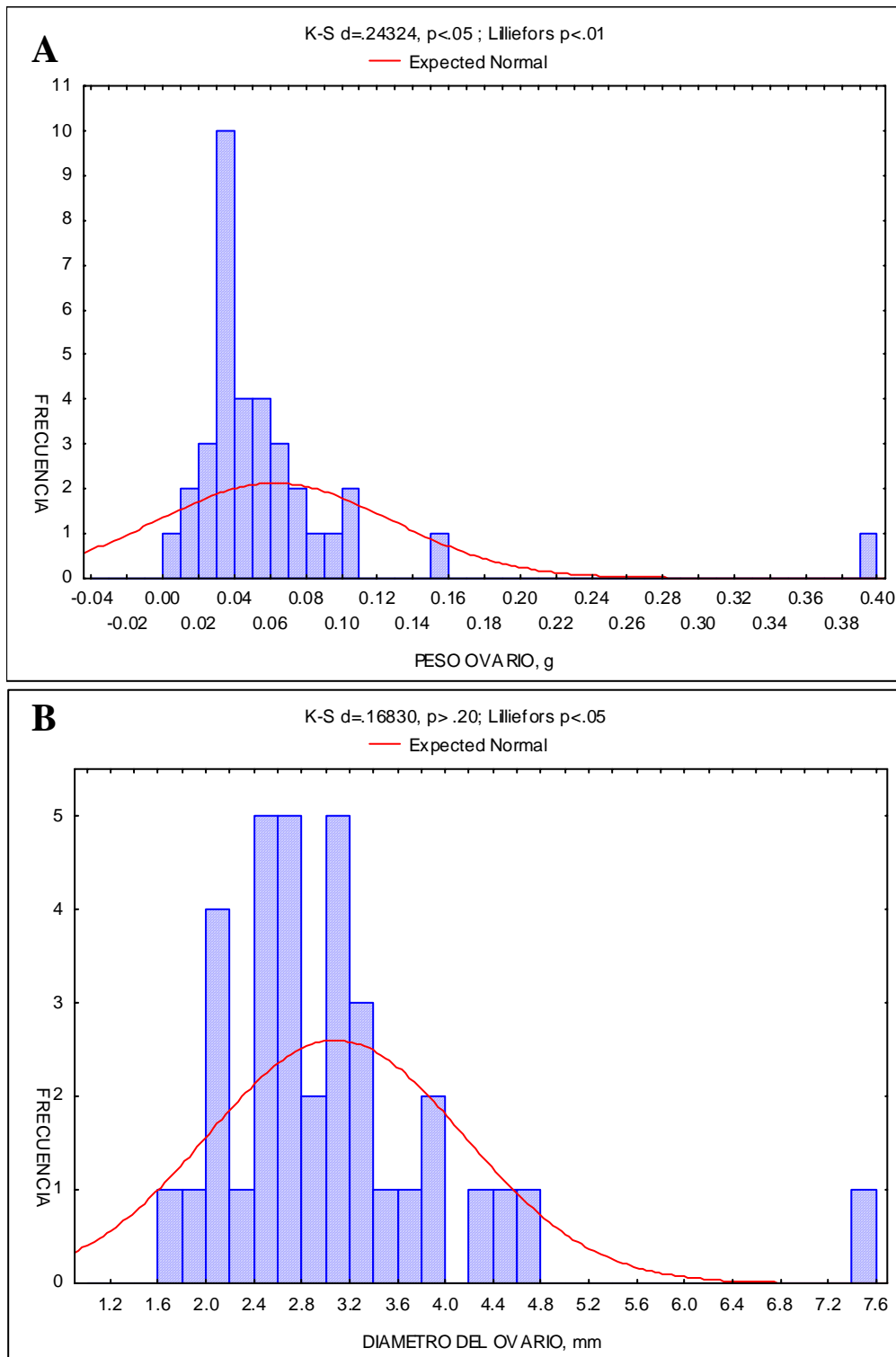


Fig. 31 A; 31 B. Distribución de frecuencias del peso y diámetro de los ovarios de las hembras juveniles de *O. maya*. La línea roja indica la distribución teórica normal y las barras azules la distribución de las frecuencias observadas.

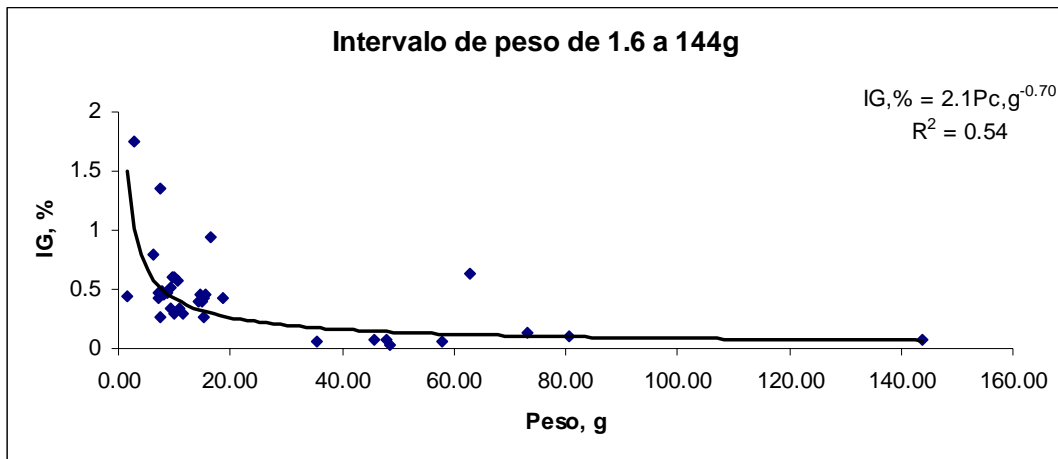


Fig. 32. Variación del índice gonadosomático (%) con el peso de las hembras juveniles de *O. maya*.

Se observó una reducción del IG en relación con el peso corporal de las hembras, con los valores mayores (IG = 1.8) en las hembras de entre 1.4 y 2.7g (Fig. 32). Una ecuación potencial negativa fue ajustada a estos datos (Fig. 32). En contraste, una curva exponencial positiva fue observada entre el IG y el peso de las hembras silvestres con valores cercanos a cero en los animales menores de 400g y de entre 10 y 15 en las hembras mayores de 500g (Fig. 33). Es interesante resaltar que en las hembras silvestres un IG mayor de 5 fue registrado en un animal de 250g (Fig. 33).

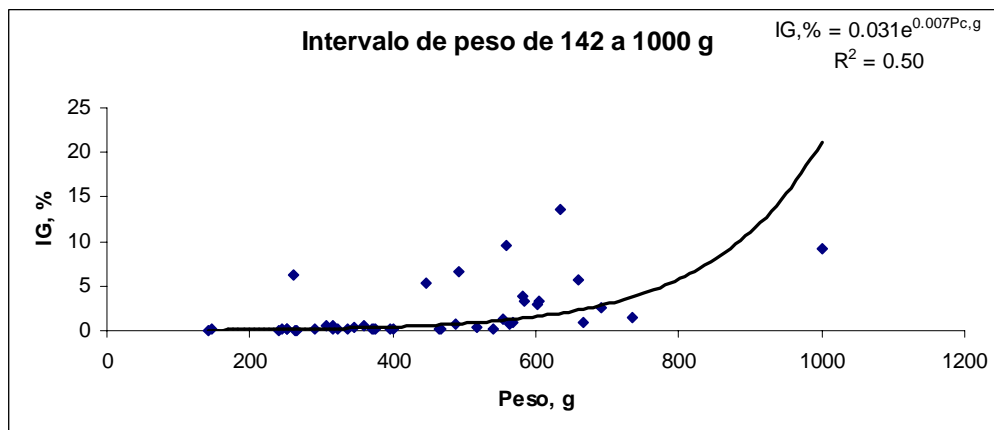


Fig. 33. Variación del índice gonadosomático (%) con el peso de las hembras silvestres adultas de *O. maya*.

Al colocar los valores de IG de los animales cultivados con el de las hembras silvestres se construyó una curva que describe el comportamiento del IG en un intervalo de peso corporal de entre 1.6 y 1000g de peso (Fig. 34).

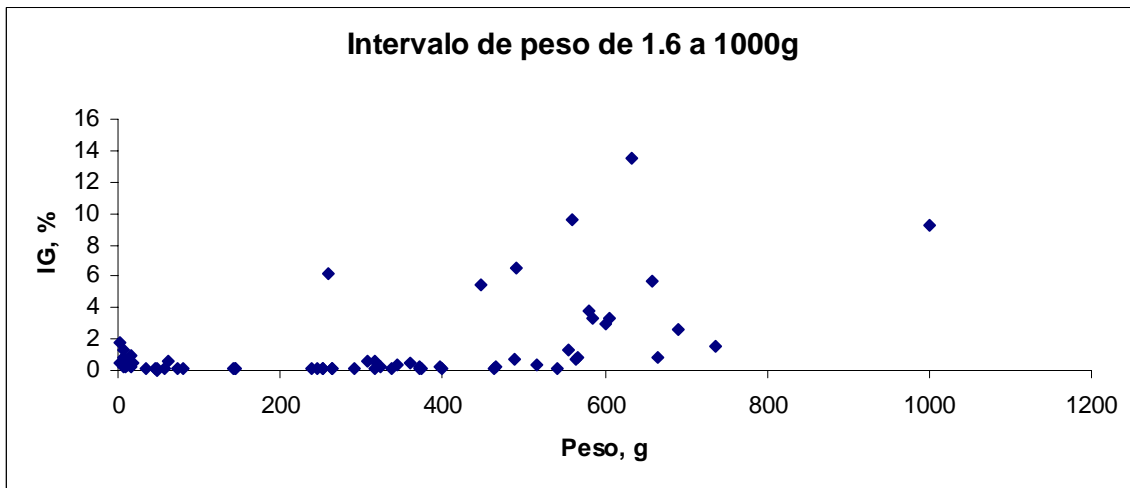


Fig. 34. Relación entre el índice gonadosomático (IG; %) y el peso de las hembras de *O. maya* considerando tanto animales cultivados como silvestres.. Los animales cultivados corresponden con organismos de entre 1.2 y 140g de PC y las hembras silvestres de entre 150 y 1000g de PC.

Como se puede apreciar, las hembras silvestres mayores de 250g mostraron valores de IG mayores de 2, mientras que el IG de las hembras cultivadas en ningún caso fue mayor de 2 (Fig. 34).

Fase juvenil de machos de *O. maya*.

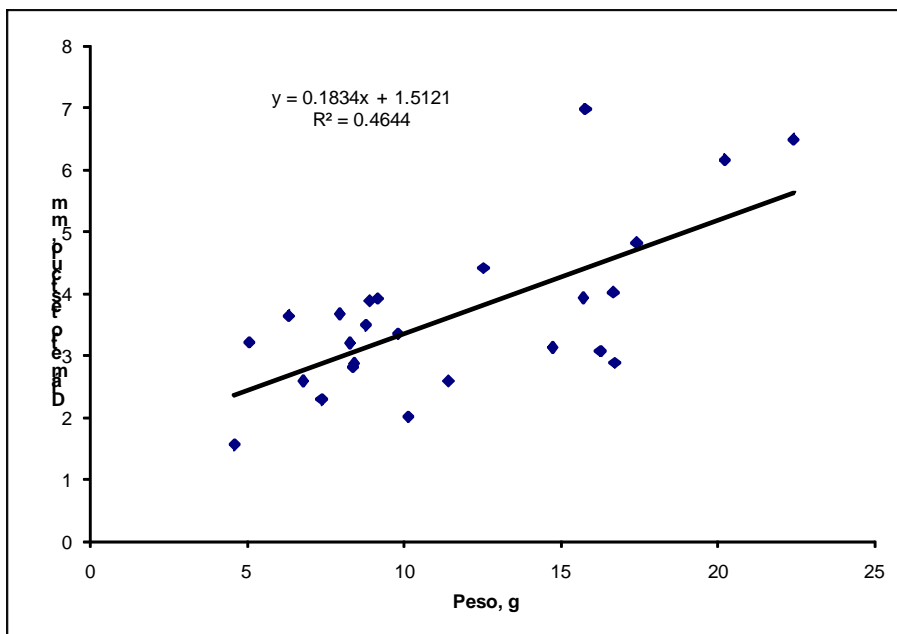


Fig. 35. Relación entre el diámetro del testículo y el peso de los machos juveniles de *O. maya*.

Se observó que el diámetro del testículo aumenta junto con el cambio de peso de los machos en forma lineal dentro del intervalo de peso de entre 5 y 24g de peso. El coeficiente de regresión relativamente bajo indica una amplia dispersión de los diámetros en torno al peso (Fig. 35).

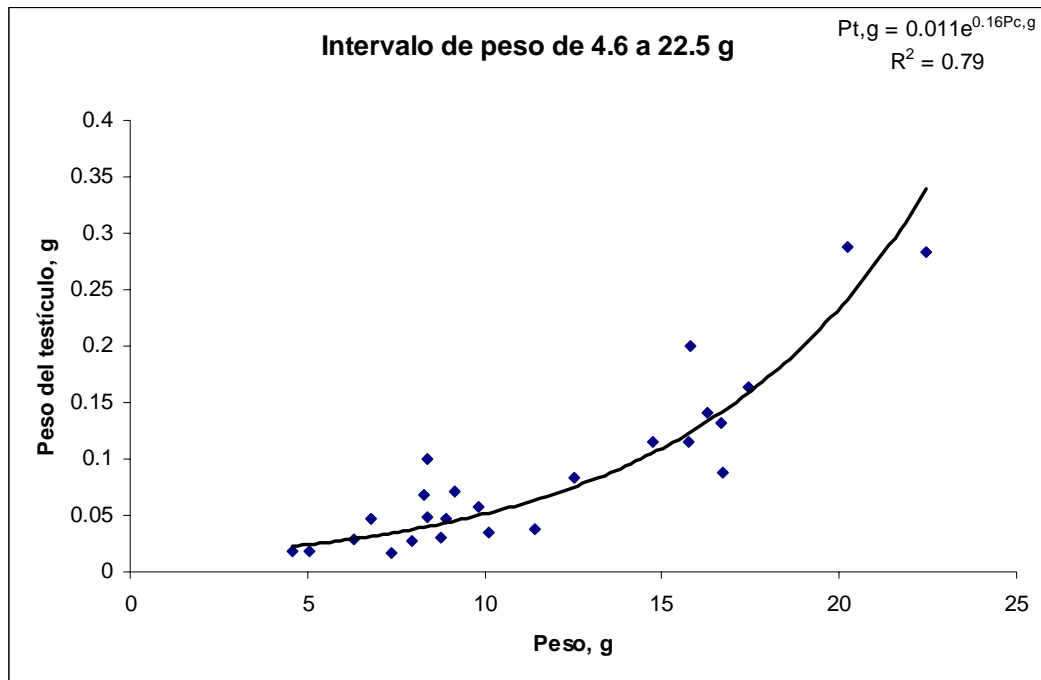


Fig. 36. Relación entre el peso del testículo y el peso total de los juveniles de *O. maya*.

Así mismo un aumento en el peso del testículo fue observado en relación al peso de los pulpos en un intervalo de entre 5 y 22g de peso (Fig. 36). Una ecuación exponencial fue ajustada a esta relación (Fig. 36). Al comparar los valores del peso del testículo de los animales cultivados con el de los machos silvestres se observó que el aumento del peso del testículo, observado en los juveniles tempranos, alcanza un valor máximo en la población de *O. maya* de entre 0.8 y 1.4g (Fig. 37).

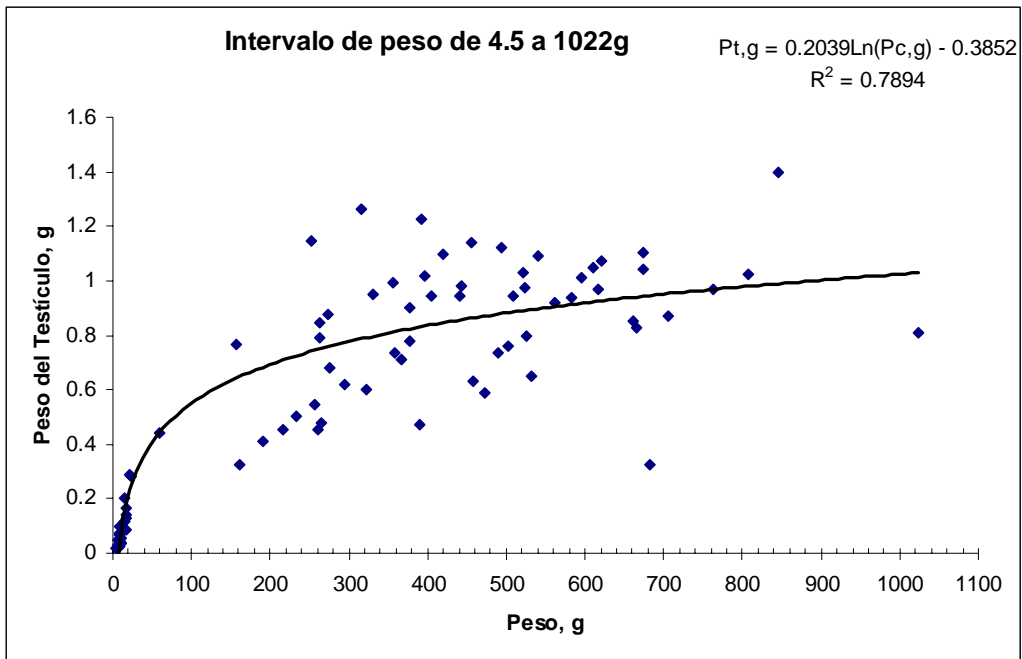


Fig. 37. Relación entre el peso del testículo y el peso corporal de ejemplares cultivados y silvestres de *O. maya*. Pt = peso del testículo, Pc = Peso corporal, ambos en gramos.

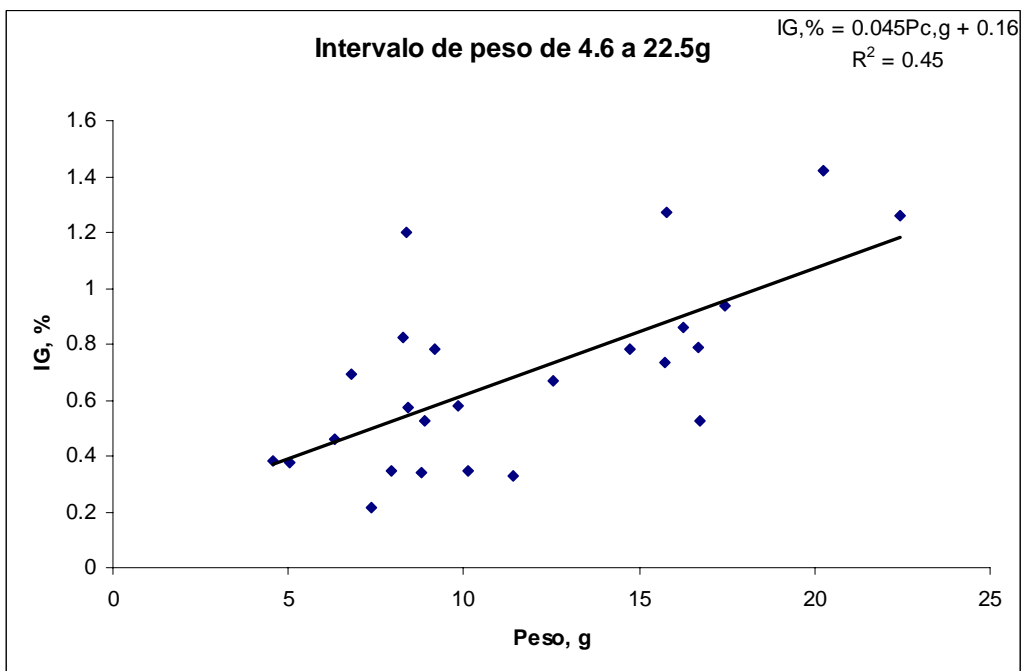


Fig. 38. Variación del Índice gonadosomático (IG, %) en juveniles machos de *O. maya*.

El IG de los machos cultivados mostró un crecimiento lineal con el peso de los pulpos, con valores menores a 0.5 en los pulpos de 5g y de 1.5g en los pulpos con 23g de peso corporal (Fig. 38). El IG de machos silvestres mostró una reducción con el peso corporal, la cual se comportó siguiendo una curva de tipo exponencial negativa, con

valores de 0,5 en pulpos de 200g y menores de 0.2 en machos de 1000g de peso corporal (Fig. 39). Así mismo una reducción de la dispersión con el peso corporal fue detectada con los valores más dispersos de IG de los animales de entre 200 y 400g, y los menos dispersos en el intervalo de entre 600 y 800g (Fig. 39).

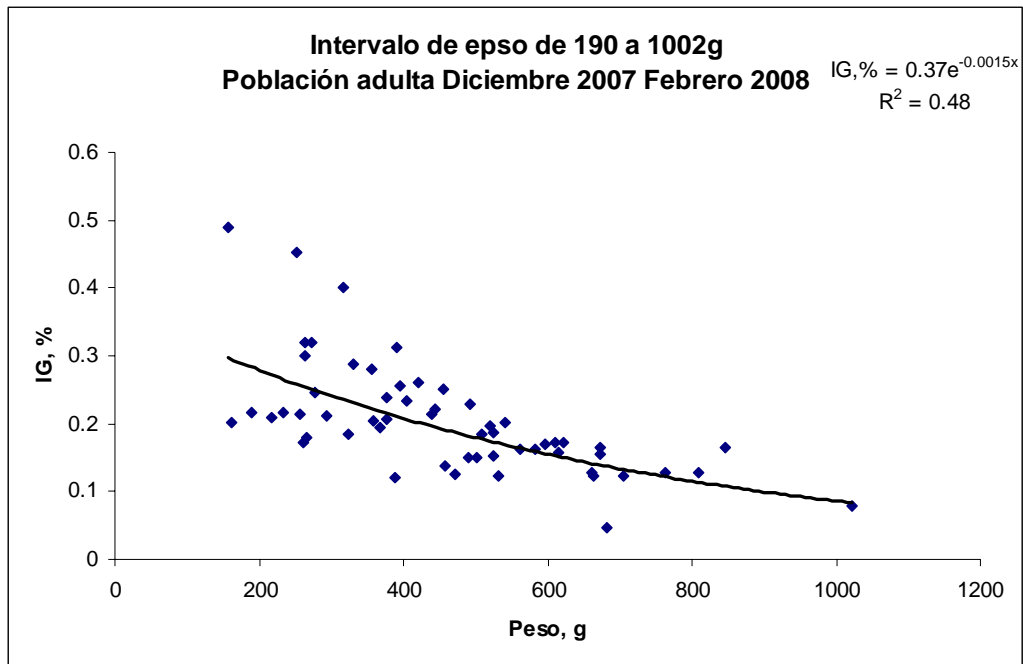


Fig. 39. Variación del Índice gonadosomático (IG, %) en machos silvestres de *O. maya*.

Al comparar los machos cultivados con los machos silvestres se observó que el IG de ambos grupos crece de manera distinta dependiendo del peso de los organismos (Fig. 40).

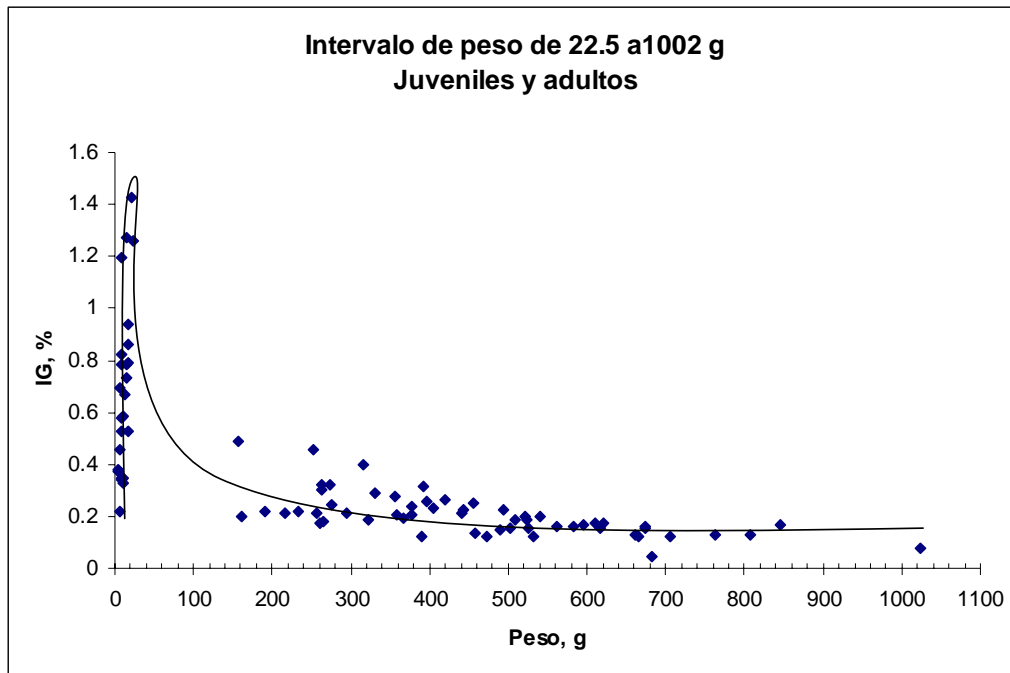


Fig. 40. Variación del Índice gonadosomático (IG, %) en machos juveniles de cultivo con continuación de machos silvestres de *O. maya*.

Como se puede apreciar, en los animales cultivados el IG llegó alcanzar valores mayores de 2.5 mientras que en los machos silvestres mayores de 150g el IG se mantuvo entre 0.3 y 0.7, aún en animales mayores a 1000g de peso corporal (Fig.37).

Discusión

El presente estudio fue planteado con el objetivo de caracterizar el desarrollo del aparato reproductor de *Octopus maya* y así establecer los procesos de síntesis post embrionaria y la forma en que en los juveniles se desarrollan hasta alcanzar el inicio de la madurez sexual.

En estudios previos se ha establecido que para los cefalópodos en general, las gónadas y los órganos sexuales accesorios se diferencian durante el desarrollo embrionario. Esta condición permite a los animales continuar con el crecimiento, manteniendo el aparato reproductor en un estado de pausa. Una vez que la etapa juvenil concluyó se presentan los caracteres sexuales secundarios, iniciándose así la etapa reproductiva (Boletzky 1983). En el caso de *Octopus maya* un proceso diferente parece ocurrir. En estudios previos se reportó que los recién eclosionados nacen inmaduros física y fisiológicamente, hecho que quedó comprobado al observar en los cortes realizados en los primeros días de vida los pulpos aún se

encuentran desarrollando el sistema digestivo y con reservas de vitelo mismas que aprovechan para su mantenimiento al momento de nacer (Moguel *et al.*, enviado). En el presente estudio se observó que el proceso de maduración post embrionaria incluye la definición del aparato reproductor sugiriendo que la inmadurez post embrionaria es parte del proceso de madurez que los juveniles de *O. maya* llevan a cabo, como una estrategia que les permite ocupar el hábitat bentónico en condiciones propicias para el crecimiento posterior (Boletzky comunicación personal).

Los resultados obtenidos ahora contrastan con los observados en otras especies de cefalópodos. Montalenti y Vitagliano (1945) y Fioroni y Sundermann (1983) observaron en embriones de *S. officinalis*, *O. vulgaris*, *E. cirrosa* y *A. argo* que el desarrollo gonadal se completa durante esta etapa lo cual les permitió aseverar que el desarrollo reproductivo en cefalópodos durante la fase embrionaria es un proceso generalizado (Boletzky, 1983).

Esos autores observaron que el tracto genital tiene un doble origen. El gonoducto tiene origen mesodérmico en el cual se desarrollará el oviducto o el espermato ducto y el ectodérmico del que se forma el complejo de Needham en los machos y las glándulas del oviducto en las hembras; esto se lleva a cabo durante los últimos estadios post embrionarios. Las glándulas oviductales se originan en el ectodermo que aparece elongado durante la vida embrionaria muy parecido a lo observado en *S. officinalis* (Lemaire 1972).

La gónada del recién eclosionado está formada de dos tipos celulares: las células A y las células B en donde, al parecer las células B originan el tejido endocrino el cual produce las hormonas necesarias para la diferenciación sexual (Lemaire, 1972). Aunque no existen evidencias histoquímicas que hayan comprobado estas hipótesis, la abundancia de mitocondrias han permitido relacionar la gran actividad metabólica con la producción de hormonas. De hecho Lemaire (1972) reportó la diferenciación celular en tejido reproductivo embrionario aislado de *S. officinalis*, demostrando con esto que las hormonas son producidas en el mismo tejido. El hecho de que las células B degeneren días antes de la eclosión después de una intensa actividad metabólica fue utilizado para fortalecer la idea de que estas son las células responsables de la diferenciación de las células A (Lemaire y Richard, 1975).

En el caso de *Octopus maya* las observaciones realizadas ahora muestran que el desarrollo del aparato reproductor sigue el mismo proceso, aunque en esta especie los eventos de maduración del aparato reproductor ocurren en los primeros días de la etapa post embrionaria, manteniendo la secuencia entre la aparición de las células B, su degeneración y la diferenciación de las células A en tejido reproductivo.

En los trabajos de Richard y Lemaire (1975) realizados en *S. officinalis* la organogénesis sexual se caracterizó por la precocidad con que se diferencian los caracteres somáticos que tienen los genitales, mostrando así que la determinación del sexo se lleva a cabo precozmente. En esta especie la gónada está compuesta de células conjuntivas y protogonias las cuales formarán el ovario o el testículo antes de concluir la etapa embrionaria.

En contraste, en los cortes obtenidos de *O. maya* se observan los conductos sexuales ya formados en los recién nacidos tal y como ocurre en sepia en el embrión aunque la diferenciación de las células para formar el ovario o el testículo ocurre posteriormente. En esta especie las hembras y los machos pueden diferenciarse a partir de la observación de la forma en que están dispuestas las células conectivas y la vascularización de estos tejidos. En hembras, la penetración de las células conectivas es menos abundante que en machos así como también una menor vascularización fue observada en hembras que en machos. Otra diferencia interesante está relacionada con el hecho de que las células del ovario se presentan en un estado meiótico mientras que en el macho se mantienen en estado de protogonias. Así, los resultados obtenidos ahora demuestran que, además de la inmadurez digestiva previamente reportada (Moguel *et al.*, 2009), los juveniles de *O. maya* recién nacidos también muestran un desarrollo incompleto del aparato reproductor, hecho que contrasta con lo observado en otras especies de cefalópodos.

Trabajos previos han demostrado que los animales silvestres de *O. maya* alcanzan la madurez sexual por debajo de los 270g para machos y 410g para hembras (Caamal 2005, Avila-Poveda *et al.*, 2008). En el presente estudio, al comparar la condición reproductiva de la población cultivada con la población silvestre de *O. maya* se observó que a partir de los 250g, el IG se eleva indicando que a partir de esa edad

las hembras estarían capacitadas para iniciar la ovogénesis. Mientras que el crecimiento somático, también se presenta de forma continua, teniendo así que el ciclo de vida y reproductivo continúan incrementándose constantemente hasta llegada la época de reproducción que culmina con la vida del animal (Ávila y Calva 2009), por lo que es de esperar que al analizar organismos con intervalos de pesos menores, con estos organismos se pueda definir con mayor precisión la talla en la que los procesos de desarrollo reproductivo culminan con el inicio de la madurez sexual. A partir de que presentan una diferenciación sexual definitiva tanto el ovario como el testículo presentan una serie de cambios tanto en tamaño como en la composición celular de estos. La diferenciación de los órganos femeninos se caracteriza esencialmente por la velocidad de la transformación de las ovogonias en ovocitos de primer orden al mismo tiempo que se presenta una migración masiva de células conjuntivas que se van situando en la zona central de la gónada. Esta migración va acompañada en su desarrollo de una importante vascularización del ovario inmaduro al día de la eclosión. Es interesante hacer notar que la diferenciación sexual en *O. maya* ocurre en animales muy pequeños (de alrededor de 2g de peso) que tienen la capacidad de sintetizar todos los tipos celulares característicos de un ovario maduro. Al igual que en organismos adultos, en estos animales el corion se encuentra envolviendo al ovocito. Las células foliculares son las responsables de la elaboración del vitelo el cual va llenando el ovocito con inclusiones lipídicas durante la previtelogénesis y la vitelogénesis. En los ejemplares de entre 1.6 y hasta 50g de peso, este proceso se lleva a cabo todo el tiempo, produciendo síntesis celular y absorción de vitelo siguiendo un ritmo mientras el organismo crece.

Estas variaciones podrían estar asociadas con los ciclos constantes de desarrollo del ovario durante el crecimiento de las hembras: los pulsos de producción de células en el ovario podrían indicar síntesis y reabsorción de gametos. Es interesante hacer notar que en los animales mayores de 26g el diámetro del ovario tiende a aumentar posiblemente ocupando el espacio disponible en animales más grandes. El IG ha sido utilizado como un indicador del estado de madurez de muchos animales incluidos los pulpos. Estudios realizados en *E. moschata* y *O. vulgaris* han demostrado la utilidad que tiene el IG para definir la talla de inicio de la reproducción y las épocas del año en que las hembras desovan (Otero *et al.*, 2007; Krstulovic y Vrgoc, 2009). En el

presente estudio el IG fue utilizado con el fin de establecer el comportamiento de esta relación con el peso corporal y así también establecer cuando se termina la etapa juvenil y comienza la etapa adulta en *O. maya*.

Una reducción en el IG de las hembras se observó durante los primeros días después de la eclosión, sugiriendo que en la vida temprana de los pulpos la proporción que guarda el ovario con respecto al peso total es mayor que cuando los animales son más grandes. Esta reducción mostró seguir una curva exponencial negativa, haciendo evidente el crecimiento exponencial que tienen estos animales en sus primeros meses de vida (André *et al.*, 2009), justo cuando el ovario ya no cambia de tamaño mientras los pulpos aumentan en talla. Es interesante hacer notar que el IG de las hembras se mantuvo constante y bajo entre los 10 y los 140g lo que indica que las hembras en ese intervalo de peso se encuentran en la etapa de crecimiento somático y que el ovario no crece. Usando el IG como criterio de madurez (Krstulovic y Vrgoc, 2009), es posible proponer que la etapa juvenil de las hembras de *O. maya* concluye una vez que se inicia el crecimiento del ovario como consecuencia del crecimiento de los huevos. El criterio de madurez de una población se basa en establecer cuando la proporción de 50% de la población de hembras se encuentra madura. Para esto la maduración ha sido identificada cuando ha concluido la fase previtelogénica y vitelogénica y ha comenzado la ovogénesis (Krstulovic y Vrgoc, 2009). Aunque en *O. maya* no existe un criterio para establecer la magnitud del IG que debe de ser considerado como indicador de inicio de la ovogénesis, los resultados obtenidos ahora permiten proponer que valores mayores de 2 pueden ser considerados ya que en esos animales se han observado siempre los huevos en formación. Analizando una muestra pequeña de la población silvestre (N = 40) y utilizando la frecuencia acumulada de hembras maduras, se observó que del total de hembras muestreadas el 50% correspondió con animales con 480g (Fig. 29).

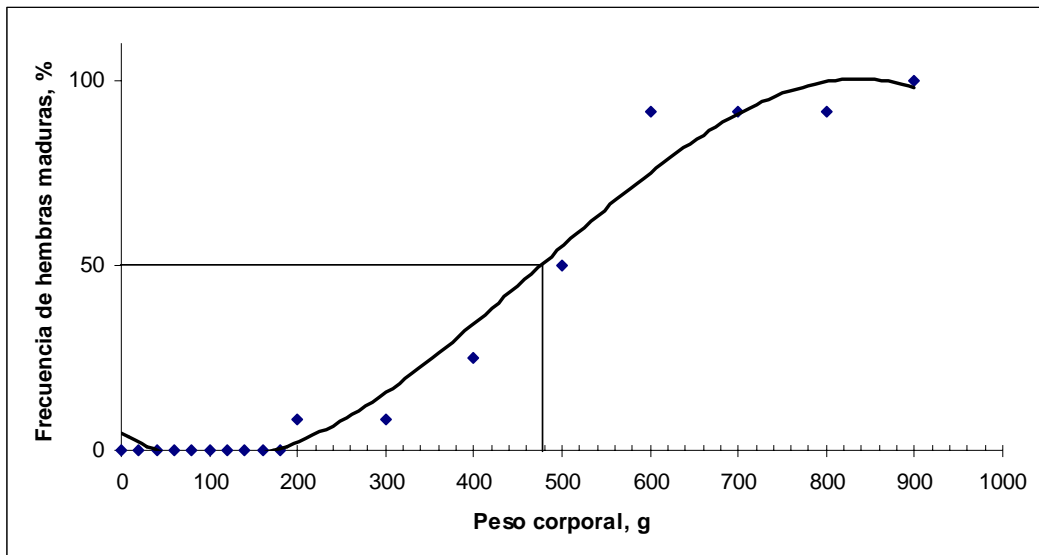


Fig. 29. Curva sigmoide de la relación entre el porcentaje de *O. maya* sexualmente maduros (IG > 2) por clases de peso corporal para una muestra hembras cultivadas (N = 35) y hembras silvestres (N = 40). La línea indica el intervalo de peso corporal (400 a 500g) en el que se presentó el 50% de las hembras maduras

En los datos obtenidos para la relación entre el desarrollo y la edad de los reproductores en una población silvestre de *O. pallidus*, se observó que el desarrollo del aparato reproductor en hembras se da principalmente mediante un proceso talla-dependiente y esta maduración es alcanzada dentro de un amplio espectro de edades. Por esta razón se ha pensado que la maduración está más ligada a los parámetros que regulan el crecimiento, como la temperatura y probablemente también la dieta (Leporati *et al.*, 2008). Así mismo se encontró que la madurez de las hembras se presenta en pesos superiores a los del macho lo que, según Leporati *et al.*, (2008), en hembras la madurez no está relacionada con la edad sino con el peso corporal (Leporati *et al.*, 2008). Tomando en consideración la amplia dispersión de tallas, característica de los pulpos es posible que, al igual que como fue propuesto para *O. pallidus*, la madurez de las hembras de *O. maya* este más relacionada con el peso que con la edad. El crecimiento en peso en los cefalópodos es una prioridad metabólica (Wells y Clark, 1996). Siendo organismos de ciclo de vida corto, los pulpos han desarrollado un metabolismo muy activo el cual parece estar diseñado con el fin de alcanzar el mayor peso posible en el menor tiempo, y así dar paso al evento reproductivo. Estudios realizados en *O. vulgaris* han demostrado que la alimentación es un factor determinante del éxito reproductivo ya que de éste depende la cantidad y tipo de nutrientes que son utilizados para el desarrollo de los

huevos (Rosa *et al.*, 2004). También el tipo de alimento y la alimentación juegan un papel fundamental en el crecimiento (Houlihan *et al.*, 1990; Inamura, 1990; Petza *et al.*, 2006; Otero *et al.*, 2007). Tomando en consideración que la población silvestre experimenta variaciones estacionales en la disponibilidad de alimento, es esperable que la tasa de crecimiento y por tanto el peso al momento de la reproducción no estén relacionados con la edad, sino con las características ecológicas del entorno en el cual los juveniles se alimentaron, tal y como fue observado por Leporati *et al.*, (2008). En el presente estudio los juveniles de *O. maya* fueron alimentados con fragmentos de cangrejo del género *Callinectes* spp el cual ha demostrado ser un alimento apropiado para el crecimiento de *O. maya*. Aunque a la fecha aún no se cuenta con un alimento alternativo para la reproducción de esta especie, es de esperar que con este alimento los juveniles cultivados puedan alcanzar la talla adecuada para el crecimiento del ovario en condiciones fisiológicamente apropiadas para la producción de los huevos.

En tanto lo que sucede con los machos, al igual que en otras especies de cefalópodos, el desarrollo de los espermatozoides en *O. maya* tiene lugar en los testículos los cuales están compuestos por numerosos túbulos seminíferos que convergen en conductos comunes y llevan los espermias maduros al exterior. Este es un proceso continuo en el que se observan varias fases del desarrollo del espermatozoide en los túbulos seminíferos durante ese tiempo (Ishiyama, 1999; Ould, 2001). Hernandez-Garcia *et al.* (2002), encontró que los machos de *O. vulgaris* son más precoces que las hembras y al adquirir la conducta de adulto más pronto que hembras éstos podrían ser más vulnerables a la pesca. Debido a que se exponen a la captura al salir en busca de su alimento.

En el presente estudio el tercer brazo modificado de los machos se observó en animales que se encontraban dentro del rango de peso de 5 a 20g indicando que la madurez sexual puede ser alcanzada en *O. maya* en edades más tempranas a las reportadas anteriormente. Se observó que la aparición de este carácter sexual secundario coincide con la presencia de espermátóforos en la parte distal del saco de Needham y con abundante presencia de espermatozoides en los túbulos seminíferos. A lo largo de este estudio se observó que los machos de *O. maya* presentan el brazo modificado alrededor de los 5g de peso. Otero *et al.* (2007)

estableció en *Octopus vulgaris* una escala de Maduración para los machos en donde se denominó estadio (III) o pre-maduración a los organismos que tenían presentes algunos espermatozoides en el saco de Needham, y estadio (IV) o maduro, cuando los espermatozoides se encontraban plenamente desarrollados, y se ha observado a lo largo de este estudio en los machos, la presencia de espermatozoides en el saco de Needham en animales con pesos cercanos a los 8g, mas no se hallaron animales con los espermatozoides desarrollados por completo como sería el caso de un animal completamente maduro.

El cambio del peso del diámetro y peso del testículo con la edad resultó ser diferente a lo observado en las hembras. En los machos el testículo crece con la edad hasta alcanzar un máximo después del cual se estabiliza, sugiriendo que el tamaño del testículo alcanza su tamaño máximo tempranamente. Ese crecimiento sugiere que en el caso de los machos el crecimiento del aparato reproductor es una prioridad ya que los animales deben de ser capaces de reproducirse tempranamente. Este comportamiento no es exclusivo de *O. maya*. Krstulovic y Vrgoc, (2009) observaron que el peso del complejo genital de los machos de *E. moschata* aumenta con el peso corporal en una forma que parece estabilizarse en los animales mas grandes sugiriendo un comportamiento similar al observado en *O. maya*.

En *Octopus salutii* (Quetglas *et al.*, 2005), el índice gonadosomático aumenta según las etapas diferentes de la madurez en ambos sexos. Así mismo, varios autores coinciden que en los machos de varias especies de cefalópodos, el índice gonadosomático aumentó según las etapas diferentes de la madurez en ambos sexos, como ocurre con *Loligo gahi* y los machos alcanzan la madurez sexual en tallas inferiores a las hembras (Guerra y Castro, 1994) Observaciones similares se han hecho en *O. vulgaris* (Hernandez-Garcia *et al.*, 2002), (Otero *et al.*, 2007) (Rodriguez-Rua *et al.*, 2005) *O. bathypolypus sponsalis* (Quetglas *et al.* 2000), y en *O. pallidus* (Leporati *et al.*, 2007). En machos adultos de *O. maya* cercanos a los 200g el IG disminuye con el peso corporal y se mantiene dentro de un mismo rango hasta que culmina su crecimiento somático (Avila y Calva 2009). A diferencia de las hembras el IG se reduce con el aumento de peso como un efecto inverso entre la estabilidad del peso del testículo y el aumento en el peso con el crecimiento. Una maduración más temprana para los machos puede darle la oportunidad de aparearse en mas

ocasiones que un macho que madura en un mayor tiempo y talla (Leporati *et al.*, 2008).

Con los resultados obtenidos en *Octopus maya* se tiene que para los machos el desarrollo y crecimiento de los órganos reproductivos se presenta de manera mas temprana, constante y no esta limitada por la talla como ocurre con las hembras. Una evidencia de esto es el incremento en peso del testículo observado con el peso corporal. En animales con pesos cercanos a los 6g los animales presentan espermatozoides en los túbulos y espermatóforos en los sacos de Needham, lo que indica que se trata de organismos en un estado reproductivo viable. No obstante esto, es necesario considerar que las glándulas sexuales no se encuentran completamente desarrolladas y maduras aunque cumplen con sus funciones fisiológicas por lo que la capacitación espermática no será completada hasta que culminen con el desarrollo reproductivo por completo, el cual, muy probablemente estará asociado con un peso corporal indicativo de una condición fisiológica favorable.

Conclusiones

En el presente estudio se reporta por primera vez el proceso de maduración sexual post embrionaria en una especie de pulpo, la cual ocurre durante los primeros 10 días después de la eclosión. Durante este tiempo ocurren cambios dramáticos en donde los sexos se diferencian alcanzando en las primeras 2 semanas la definición del ovario con protogonias y ovogonias y los machos con espermatogonias. A las 5 semanas de edad los ovarios muestran ovocitos I y II, mientras que en animales con tallas entre 6 y 15 g ya se aprecian ovarios con células en estadios vitelogénicos I,II,III. Es notorio el hecho de que pulpos con 16g muestran células en ovogénesis. Debido al tamaño pequeño de estos animales no se completa el desarrollo reproductivo mostrando huevos atrésicos a la par de una nueva vitelogénesis. Esta condición indica que en los ovarios de las hembras jóvenes existen ciclos vitelogénicos los cuales son sostenidos hasta que las hembras alcanzan pesos mayores de 60g, a partir de los cuales los animales desarrollan el ovario de manera definitiva. El crecimiento del ovario es acompañado por el crecimiento somático ya que estos animales tienen un periodo de vida relativamente corto que al parecer concluye con la reproducción en el caso de las hembras.

En los machos la relación que existe entre el peso del testículo y el peso corporal indica que se presenta un crecimiento constante y equitativo entre el organismo y su gónada. Al hacer la comparación con la población silvestre se observó esa relación se vuelve estable en los animales de la población adulta, sugiriendo que, una vez el organismo maduro, el testículo ya no presentan cambios notables aún durante la vida reproductiva de los organismos. La información de madurez y edad es integradora y es base para la adecuada administración pesquera. Así mismo es útil desde el punto de vista acuícola ya que permite establecer la forma en que los organismos podrían canalizar la energía del alimento en la producción de biomasa o de gametos.

El seguimiento de organismos cultivados a tallas reproductoras será el paso a seguir con el fin de establecer las condiciones para la producción de reproductores para el cultivo. Así también, los estudios de la reproducción de la población silvestre permitirán establecer si los desoves obtenidos en cautiverio se encuentran dentro del intervalo de variación de la especie.

Literatura citada

- André,J.; Grist,E.P.M.; Semmens,J.M.; Pecl,G., Segawa,S., 2009. Effects of temperature on energetics and the growth pattern of benthic octopuses. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 374, 167-179.
- Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2003 Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx>
- Arreguín-Sánchez, F. 1992. Growth and seasonal recruitment of the octopus (*Octopus maya*) fishery from the Campeche Bank, caught by the artisanal fleet. *NAGA-ICLARM* 15: 31-34.
- Arreguín-Sánchez, F. 2000. Octopus–red grouper interaction in the exploited ecosystem of the northern continental shelf of Yucatan, Mexico. *Ecological Modelling* 129: 119–129.
- Arreguín-Sánchez, F., M.J. Solís-Ramírez, J.A. Sánchez, E. Valero & M.E. González de la Rosa. 1991. Age and growth study of the octopus (*Octopus maya*) from

the continental shelf of Yucatan, Mexico. *Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 44: 98-110.

Arreguín-Sánchez, F.; Solís-Ramírez, M. J.; González de la Rosa, M.E. 2000.

Population dynamics and stock assessment for *Octopus maya* (Cephalopoda: Octopodidae) fishery in the Campeche Bank, Gulf of Mexico. *Revista de Biología Tropical* 48: 323-331.

Avila-Poveda, O.; Colin-Flores, R.; Rosas, C., 2009. Gonad Development During the Early Life of *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda). *Biol. Bull.* 216, 94-102.

Avila-Poveda, O.; Calva-Fierro, R.; Rosas Vázquez, C., 2009. Gonad development of female *Octopus maya* from Sisal, Yucatan, Mexico (Mollusca Cephalopoda). Cephalopod International Advisory Council CIAC'09 Symposium Vigo Spain.

Boletzky, S.V. 1989. Recent Studies on Spawning. Embryonic Development and hatching in the Cephalopoda. *Advances in Marine Biology*, 25: 85-115.

Boletzky, S.V. 2003. Biology of early life stages in Cephalopods molluscs. *Advances in Marine Biology*, 44: 143-203.

Borges, T.; Wallace, J. 1993. Some aspects of the fishery biology of the ommastrephid squid *Todarodes sagittatus* Lam. 1798 from the Northeast Atlantic. En: Recent Advances in Fisheries Biology, T. Okutani, R.K. O'Dor, T. Kubodera (Eds). pp 25-36.

Boyle, P.R.; Ngoile, M.A. 1993. Assessment of maturity state and seasonality of reproduction in *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) from Scottish water. En: Recent Advances in Fisheries Biology, T. Okutani, R.K. O'Dor, T. Kubodera (Eds). pp 37-48.

Caamal-Mosreal, C.P. 2006. Efecto del tipo de alimento sobre el desove y eclosión del pulpo (*Octopus maya*), en condiciones controladas. Tesis de Biología. Instituto Tecnológico de Concal, Yucatán, México. 48 p.

Chávez, E. 1994. Los recursos marinos de la Península de Yucatán, p. 1-12. In A. Yañez-Arancibia (ed.). Recursos faunísticos del litoral de la Península de Yucatán. Universidad Autónoma de Campeche, EPOMEX Serie Científica 2, Campeche, Campeche, México.

D'Aniello, A.; Di Cosmo, A.; Di Cristo, C.; Assisi, L.; Botte, V. y Di Fiori, M. M. 1996. Occurrence of sex steroid hormones and their binding proteins in *Octopus vulgaris* Lam. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 227:782-788.

- Di Cosmo, A.; Di Cristo, C.; Paolucci, M. 2001. Sex steroid hormone fluctuations and morphological changes of the reproductive system of the female of *Octopus vulgaris* throughout the annual cycle. *Journal of Experimental Zoology*, 289: 33-47.
- Gabr, H.R.; Hanlon, R.T.; Hanafy, M.H.; El-Etreby, S.G.. 1998. Maturation, fecundity and seasonality of reproduction of two commercially valuable cuttlefish, *Sepia pharaonis* and *S. dollfusi*, in the Suez Canal. *Fisheries Research*, 36: 99-115.
- Grant, A. y Tyler, P.A., The analysis of data in studies of invertebrate reproduction I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 6 (1983a) 259-269.
- Grant, A. y Tyler, P.A., The analysis of data in studies of invertebrate reproduction II. The analysis of oocyte size/frequency data, and comparison of different types of data. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 6 (1983b) 271-283.
- Guerra, A. 1975. Determinación de las diferentes fases de desarrollo sexual de *Octopus vulgaris* Lamarck, mediante un índice de madurez. *Investigación Pesquera*, 39: 397-416.
- Guerra, A. 1987. La reproducción en los moluscos cefalópodos. En: Reproducción en Acuicultura, Vol.1 E. De los Monteros y Labarta, U. (Eds). CAICYT. Madrid. pp 185-216.
- Guerra, A. 1992. *Mollusca, Cephalopoda*. En: Ramos, M.A., J. Alba, X. Bellés, J. González, A. Guerra, E. Mapherson, F. Martín, J. Serrano & J. Templado (Eds.). Fauna Ibérica, Vol. 1. Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). Madrid. 327 pp.
- Hanlon, R.T.; Messenger, J.B. 1996. Cephalopod behaviour. University Press, Cambridge. 232 pp.
- Heffernan, P.B. and Walker, R.L., Quantitative image analysis methods for use in histological studies of bivalve reproduction. *Journal of Molluscan Studies*, 55 (1989) 135-137.
- Hines, G. A.; Bryan, P. J.; Watson, K. M.; McClintock, J. B. y Watts, S.A. 1996. Sex steroid metabolism in the antarctic pteropod *Clione antarctic* Houlihan, D.F., McMillan, D.N., Agnisola, C., Genoio, T.I., Foti, L., 1990. Protein synthesis and growth in *Octopus vulgaris*. *Marine Biology*(251), 259. (Mollusca:Gastropoda). *Invertebrate Biology*, 115:113-119.

- Inamura, S., 1990. Larval rearing of octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier). The progress of technological development and some problems remained. *Colect. Breed* 52, 339-343.
- INP, 2000. Sustentabilidad y pesca responsable en México: evaluación y manejo 1999-2000. Instituto Nacional de la Pesca, México. 112 p.
- Ishiyama V., Siga B Talledo C. Biología reproductiva del pulpo octopus mimus (mollusca: cephalopoda) de la región de MATARANI, AREQUIPA, PERÚ *Revista Peruana de Biología* Vol. 6 N° 1, 1999.
- Iwakoshi, E., Takuwa-Kuroda, K., Fujisawa, Y., Hisada, M., Ukena, K., Tsutsui, K., Minakata, H., (2002). Isolation and characterization of a GnRH-like peptide from *Octopus vulgaris*. *Biochem. Biophys Res. Commun.* 291, 1187–1193.
- Koueta, N.; Boucand-Camue, E. y Renou, A.M. 1995. Gonadotropic mitogenic activity of the optic gland of the cuttlefish, *Sepia officinalis*, during sexual maturation. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 75:391-404.
- Krstulovic, S.S., Vrgoc, N., 2009. Reproductive cycle and sexual maturation of the musky octopus *Eledone moschata* (Cephalopoda: Octopodidae) in the northern and central Adriatic Sea. *Sci. Mar.* 73, 439-447.
- Lee, P.G. 1992. Chemotaxis by *Octopus maya* Voss et Solis in a Y-maze. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 156: 53-67.
- Lee G. Luna 1968. Manual of Histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third Edition 15-18.
- Lehoux, J.G. y Randor, T. 1970. The occurrence of steroids and steroid metabolizing enzyme systems in invertebrates: A review. *Ann. Rev. Steroids*, 16:141-71.
- Lemaire, J., 1972c. Origine et évolution du système coelomique et de l'appareil génital de *Sepia officinalis* (Mollusque: Cephalopode). *Annales d'Embryologie et de Morphogenèse* 5, 43-59.
- Lemaire, J., 1970; Alais Richard .évolution embryonnaire de l'appareil genital diferenciation du sexe chez *sepia officialalis* . Societe Zoologique de France 475-478.
- Malham, S.K.; Coulson, C.L.; Runham. N.W. 1998. Effects of repeated sampling on the haemocytes and haemolymph of *Eledone cirrhosa* (Lam.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 121: 431–440.
- Malham, S.K.; Secombes, C.J.; Runham, N.W.. 1995. *Eledone cirrhosa* haemocytes: isolation and culture. pp. 233–240. En: J.S. Stolen, T.C. Fletcher, S.A. Smith,

- J.T. Zelikoff, S.L. Kaattori, R.S. Anderson, K. Söderhäll, B.A. Weeks-Perkins, (Eds). Techniques in fish immunology, vol. 4. Fair Haven, NJ: SOS Publications, F.I.T.C. 4.
- Mangold, K., 1987. Reproduction. In: Boyle, P.R. (Ed.), Cephalopod life cycles. Volume 2. Comparative reviews. Academic Press London, pp. 157-200.
- Montalenti G., 1946. Ricerche sul differenziamento dei negli embrioni di *Sepia officinalis*. Instituto di genetica della R.Universita e Stazione Zoologica di Napoli pp.1-29.
- Navarro,J.C., Villanueva,R., 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219, 613-631.
- Nepita-Villanueva, M.R. y Defeo, O. 2001. Crecimiento del pulpo *Octopus maya*, Mollusca: Cephalopoda, de la costa de Yucatán, México: un análisis de largo plazo. *Revista de biología tropical*, 49: 93-101.
- Olivares, A.; Bustos-Obregón, E.; Castillo-Alvarez, V.; Zúñiga, O. 2003. Testicular function variation in adult *Octopus mimus*. *International Journal of Morphology*, 21: 315-323.
- Olivares,A.; Zamora M, 2003 Histological study of oogenesis and ovaric maturation in *octopus mimus* (cephalopoda: octopodidae) from the coast of the II region, chile *Estud. Oceanol.* 20:13-22, 2001.
- Olivares, A.; Zamora, M.; Portillo, P.; Zúñiga, O. 2003. Estudio histológico de la ovogénesis y maduración ovárica en *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae) de la II region de chile. *Estudios Oceanológicos*, 20: 13-22.
- Olivares, A.; Zúñiga, O.; Castro, G.; Segura, C.; Sánchez, J. 1996. Bases biológicas para el manejo de *Octopus mimus* Reproducción y Crecimiento. *Estudios Oceanológicos*, 15: 61-74.
- Ould Mohamed Fall,K., 2001. Etude de la gametogenese chez le poulpe *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Bulletin Scientifique CNROP* 28, 44-52.
- O'Dor, R.K.; Wells M.J. 1973. Yolk protein synthesis in the ovary of *Octopus vulgaris* and its control by optic gland gonadotropin. *J. Exp. Biol.* 59: 665-674.
- Otero,J.; González,A.F.; Sieiro,P.M.; Guerra,A.; 2007. Reproductive cycle and energy allocation of *Octopus vulgaris* in Galician waters, NE Atlantic. *Fish. Res.* 85, 122-129.

- Ortiz,N.; Re,M.E.; Márquez,F., 2006. First description of eggs, hatchlings and hatchling behaviour of *Enteroctopus megalocyathus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Journal of Plankton Research [J. Plankton Res.]* 28, 881-890.
- Pérez-Lozada, M.; Guerra, A.; Sanjuán, A. 2002. Allozyme divergence supporting the taxonomic separation of *Octopus mimus* and *Octopus maya* from *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: *Octopus*). *Bulletin of Marine Science* 71: 653-664.
- Petza,D., Katsanevakis,S., Verriopoulos,G., 2006. Experimental evaluation of the energy balance in *Octopus vulgaris*, fed *ad libitum* on a high-lipid diet. *Mar. Biol.* 148, 827-832.
- Rocha, F.; Guerra, A. y González, A.F. 2001. A review of reproductive strategies in Cephalopods. *Biol. Rev.*, 76: 291-304.
- Rodríguez-Rua.; Pozuelo I.; Prado, M.A. 2005 the gametogenic cycle of octopus vulgaris (mollusca : cephalopoda) as observed on the Coast of Andalusia. *Marine biology.* 147: 927-933.
- Rosa,R.; Costa,P.R.; Bandarra,N.; Nunes,A.J.P., 2005. Changes in Tissue Biochemical Composition and Energy Reserves Associated With Sexual Maturation in the Ommastrephid Squids *Illex coindetii* and *Todaropsis eblanae* . *Biol. Bull.* 208, 100-113.
- Rosa, R.; Costa,P.R.; Nunes,L.; 2004. Effect of sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca: Cephalopoda). *Mar. Biol.* 145, 563-574.
- SAGARPA. 2003. Anuario Estadístico de Pesca. Secretaria del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. México. 208 pp.
- Salas, S.; Sumaila, U.R. y Pitcher, T. 2004. Short-term decisions of small-scale fishers selecting alternative target species: a choice model. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61: 374–383.
- Santos-Valencia,J.; Re-regis,C. 2000. Aspectos reproductivos del pulpo de costa *Octopus maya* (Voss y Solís, 1966) en el litoral de Campeche. Informe Técnico, Instituto Nacional de la Pesca, México, 1-25.
- Seijo, J.C.; M.J.; Solís-Ramírez y Morales, G. 1987. Simulación bioeconómica de la pesquería de pulpo *Octopus maya* de la plataforma continental de Yucatán. p. 125-138. In M. Ramírez (ed.). *Simposium sobre la Investigación de Biología y Oceanografía Pesqueras en México, CICIMAR, La Paz, B.C.S. México*

- Solís-Ramírez, M. J. 1994. Mollusca de la Península de Yucatán, México, p. 13-32. In A. Yañez-Arancibia (ed.). Recursos faunísticos del litoral de la Península de Yucatán. Universidad Autónoma de Campeche. EPOMEX Serie Científica 2, Campeche, Campeche, México.
- Solís-Ramírez, M. J. 1997. The *Octopus maya* fishery of the Yucatan Peninsula. En: Lang, Hochberg y Ambrose (eds.). The Fishery and Market Potential of Octopus in California, CMSC: 1-10.
- Solís-Ramírez, M.J. 1967. Aspectos biológicos del pulpo *Octopus maya* Voss y Solís. *Public. Inst. Nal. Invs. Biol. Pesque.* 18: 1-90.
- Solís-Ramírez, M.J. 1988. El recurso pulpo del Golfo de México y del Caribe Mexicano. p. 463-478. In SEPESCA (ed.) Los recursos pesqueros del país. XXV Aniversario del INP. México.
- Solís-Ramírez, M.J. 1990. The *Octopus maya* Fishery of the Yucatan Peninsula. p. 1-9. In Lang, Hochberg & Ambrose (Eds.): The fishery and market potential of Octopus in California. CMSC. San Francisco, California.
- Solís-Ramírez, M.J. 1997. *Octopus maya*: Biology and Fishery in Mexico. pp. 105-113. En: M. Lang, F.G. Hochberg, R. A. Ambrose y J. M. Engle (eds.). Proceedings the fishery and market potential of Octopus in California. Smithsonian Institution. Univ. Of Southern California.
- Solís-Ramírez, M.J.; González de la Rosa, M.E.; J.A. Sánchez. 1991. Coeficientes de la relación peso-longitud y parámetros de crecimiento del pulpo *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) de la costa de Yucatán. Temporada 1988. XI Congreso Nacional de Zoología. Mérida Yucatán, México. (Res).
- Solís-Ramírez, M.J.; Chávez, E.A. 1986. Evaluación y régimen óptimo de pesca del pulpo en la península de Yucatán, México. *Anales. Inst. Ciencias. Del Mar Y Limnología. Universidad. Nacional. Autónoma de México*, 13: 1-18.
- Solís-Ramírez, M.J.; González de la Rosa, M.E.; Sánchez-Chávez, J. 1990. Coeficientes de la relación peso-longitud y parámetros de crecimiento del pulpo *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) de la costa de Yucatán. Informe Técnico, Centro Regional de Investigación Pesquera de Yucaltepén, Yucatán. 10 p.
- Tirado-Narvaez, C; Rodríguez de la Rúa; Franch, A; Bruzon-Gallego, M.A.; Lopez-Linares, J.I.; Salas-Casanova, C.; Marquez-Pascual, I. 2003. La reproducción

- del pulpo (*Octopus vulgaris*) Y el Choco (*Sepia officinalis*) en la costa Andaluza. Editor Junta de Andalucía, Consejería de agricultura y pesca. Sevilla. 159 p.
- Tyler, J.P. Sumpter. 1996 Oocyte growth and development in teleosts, *Rev. Fish Biol. Fisheries* 6, pp. 287–318.
- Van Heukelem, W.F. 1976. Growth, bioenergetics and life span of *Octopus cyanea* and *Octopus maya*. Tesis de Doctorado, Universidad de Hawaii.
- Van Heukelem, W.F. 1977. Laboratory maintenance, breeding, rearing and biomedical research potential of the Yucatan octopus (*Octopus maya*). *Lab. Anim. Sci.* 27: 852-859.
- Van Heukelem, W.F. 1983. *Octopus maya*, p. 311-323. In P.R. Boyle (ed.). Cephalopod life cycles, Vol. 2. Academic, Nueva York.
- Voight, J.R. 2002. Morphometric Analysis of Male Reproductive Features of Octopodids (Mollusca: Cephalopoda). *Biological Bulletin* 202: 148–155.
- Voss, G.L.; Solis-Ramirez. 1966. *Octopus maya*, a new species from the bay of Campeche, México. *Bulletin of Marine Science*, 16: 615-625.
- Webber, H.H.; Giese, A.C. 1956. Reproductive cycle and gametogenesis in the black abalone *Haliotis cracheroidii* (Gastropoda: Prosobranchiata). *Marine Biology*, 4 (1969). 152-159.
- Well, M.; Well, J. 1959. Hormonal control in sexual maturity in *Octopus*. *Journal of Experimental Biology*, 36: 1-33.
- Well, M.; Well, J. 1972. Optic glands and the state of the testis in *Octopus*. *Marine Behavior and Physiology*, 1: 71-83.
- Well, M.; Well, J. 1975. Optic gland implants and their effects of the gonad of *Octopus*. *Journal of Experimental Biology*, 62: 579-588.
- Wells, M.; Wells, J. 1977. Optic glands and the endocrinology of reproduction. *Sym. Zool. Soc. London*, 38: 525-40.
- Wells, M.J.; Clark, A., 1996. Energetics: the costs of living and reproducing for an individual cephalopod. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 351, 1083-1104.
- West, G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fisheries: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41: 299
- Zambrano, G.L. 1992. Contribución al conocimiento de la mortalidad natural de *Octopus maya* en la plataforma continental de la Península de Yucatán, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias UNAM, México D.F., México.

- Zamora,M.; Olivares,A., 2004. Variaciones bioquímicas e histológicas asociadas al evento reproductivo de la hembra de *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda). *Int. J. Morphol.* 22, 207-216.
- Wood, R.; O'Dor. 2000. Do larger cephalopods live longer? Effects of temperature and phylogeny on interspecific comparisons of age and size at maturity *Marine Biology.* 136: 91-99.