

ARTICULO REVISIÓN

**ENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN CRUSTÁCEOS
DECÁPODOS (CRUSTACEA: DECAPODA): AVANCES CIENTÍFICOS
Y PERSPECTIVAS FUTURAS**

*Endocrinology of reproduction in Crustacean Decapods (Crustacea Decapoda):
Scientific*

Mayte González Ferriol^{1*}, Jesús Luis Betancourt Aguiar¹, Laida Ramos Trujillo^{1*}

¹ Centro de Investigaciones
Marinas – Universidad de la
Habana. Calle 16, No. 114,
entre 1ra y 3ra, Miramar, La
Habana, CP 11300, Cuba.

* Autor para correspondencia:

mayte@cim.uh.cu;
laida@cim.uh.cu

Recibido: 21.6.2018

Aceptado: 8.10.2018

RESUMEN

El cultivo del camarón genera un gran interés por su alto valor comercial y su creciente demanda en el mercado internacional. Alcanzar elevados parámetros reproductivos en condiciones de cautiverio continúa siendo un reto en la mayoría de los países involucrados. En este sentido, la hormona inhibidora de las gónadas, un neuropéptido tipo II secretado en el complejo endocrino Órgano X/glándula sinusal perteneciente a la Familia de las hormonas hiperglucemiantes de crustáceos, ha sido identificado como el principal responsable de la regulación de la maduración ovárica mediante un control negativo de la expresión génica de la vitelogenina/vitelina. Por otro lado, se han descrito toda una serie de factores hormonales estimuladores de las gónadas que intervienen en los diferentes pasos de este proceso, cuyas rutas de acción están muchas veces interconectadas y sus actividades se encuentran altamente reguladas. Sin embargo, aún se requieren estudios más profundos de sus mecanismos de acción para una mejor comprensión del complejo esquema global de control endocrino de la reproducción en crustáceos. En este trabajo se realiza una revisión de las principales técnicas actualmente implementadas en los centros de desove para inducir la maduración de las hembras reproductoras y se hace un resumen de los hallazgos científicos más prominentes en el campo de la endocrinología de crustáceos a fin de desarrollar un método alternativo o en conjunto con la ablación unilateral del pedúnculo ocular para la inducción de la maduración ovárica bajo condiciones de cautiverio.

PALABRAS CLAVE: crustáceos, reproducción, maduración ovárica, hormona inhibidora de las gónadas, vitelogénesis, esteroides, ecdisteroides, ablación unilateral.

ABSTRACT

Shrimp culture has generate great interest worldwide for its growing demand in the international market and its high commercial value. Achieving higher reproductive parameters under hatchery conditions continues to be a challenge for most of the countries involved. In this sense, gonad inhibiting hormone (GIH), an XO-SG complex eyestalk type II neuropeptide included in the CHH family, has been identified as the main regulator of ovarian maturation by controlling negatively vitellogenin/vitellin gene expression. In the other hand, there has been described several gonad stimulatory hormone factors that intervene among the different stages of this process, which routes of action are interconnected and their activities are highly regulated. However, further studies of their action mechanisms are required for a better understanding of the complex global scheme of endocrine control of reproduction in crustaceans. In this work currently implemented techniques for induction of gonad maturation of reproductive females in hatchery facilities are reviewed; and most prominent scientific findings in the field of crustacean endocrinology are summarize aiming for the development of an alternative or in conjunction method to unilateral eyestalk ablation for the induction of ovarian maturation under captivity conditions.

KEY WORDS: crustaceans, reproduction, ovarian maturation, Gonad-inhibiting hormone, vitellogenesis, esteroids, ecdisteroids, unilateral eyestalk ablation.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del camarón, tanto en Cuba como a nivel internacional, genera gran interés por su alto valor comercial y por la creciente demanda mundial de producción de proteínas para el consumo humano, que han conducido a la sobreexplotación de este recurso. Este hecho ha impulsado el desarrollo de la camaronicultura y hace cada vez más necesario el desarrollo de tecnologías que maximicen sus

potencialidades desde el punto de vista productivo.

Cuba, por sus características geográficas, posee condiciones ambientales y superficies idóneas para el desarrollo de la camaronicultura, además de una infraestructura establecida que cuenta con cinco unidades de engorde: Cultizaza, Cultisur, Sanros, Calisur y Guajacas; y dos unidades de post-larvas: Yaguacam y Manzanillo. En el año 1986 se iniciaron las primeras experiencias de este cultivo en la isla utilizando la especie endémica de camarón *Litopenaeus schmitti*. Sin embargo, a partir del año 2003 fue introducido el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*, por su elevada resistencia a cambios abióticos y enfermedades, así como una superior eficiencia productiva. El año 2017 registró para la isla una producción de aproximadamente unas 5700 ton, mientras que a nivel mundial se alcanzan anualmente unos tres millones de toneladas de esta especie, de los cuales un 78% proviene de Asia, que es considerada la región de mayor importancia productiva (Instituto Nacional de Pesca, USA, 2018).

El cierre del ciclo de vida en el cultivo de *L. vannamei* ha tenido mucho que ver con los resultados que se observan hoy, ya que la producción se independiza de la disponibilidad de hembras copuladas del medio natural, lo cual suele ser bastante fluctuante. No obstante, aún quedan aspectos en la fisiología de su reproducción sin dilucidar que influyen en que no se alcance el máximo potencial reproductivo en los centros de desove, por los que las semillas que surten las unidades de engorde se obtienen a expensas de una gran cantidad de animales y de recursos destinados a los mismos.

En este sentido, los esfuerzos han sido dirigidos al establecimiento de condiciones

ambientales óptimas típicas de la estación de apareamiento, al suministro de dietas ricas en proteínas, lípidos y carotenos; y al estudio de diferentes métodos para la manipulación hormonal fundamentalmente de las hembras, donde la ablación unilateral del pedúnculo ocular ha sido el método mundialmente establecido con este fin. Sin embargo, este método a pesar de resultar efectivo en la aceleración de la maduración ovárica afecta fisiológicamente a los camarones al eliminar múltiples factores hormonales responsables del control del metabolismo en general. Este trabajo pretende resumir los resultados más relevantes obtenidos en el campo de la endocrinología de crustáceos dirigidos a la inducción de la maduración ovárica con vistas a aplicar en paralelo o reemplazar el éticamente cuestionable método de ablación unilateral del pedúnculo ocular.

EL SISTEMA ENDOCRINO EN CRUSTÁCEOS. EL COMPLEJO NEUROSECRETOR ÓRGANO X/ GLÁNDULA SINUSAL.

El sistema endocrino de los crustáceos está formado por las células neurosecretoras, los órganos neurohémicos y las glándulas endocrinas. Las células neurosecretoras se localizan en el órgano X del pedúnculo ocular y en los ganglios subesofágico, torácico y abdominal. Los órganos neurohémicos se nombran: glándula sinusal, órgano pericárdico y órganos postcomisurales. El órgano Y, el órgano mandibular, la glándula androgénica y los ovarios constituyen las glándulas endocrinas (Fingerman, 1997a).

En el ganglio óptico del pedúnculo ocular se encuentra situado el complejo neurosecretor órgano X/ glándula sinusal, el cual constituye el principal centro de control endocrino en crustáceos. Entre sus funciones

está el control neuroendocrino del crecimiento, la maduración sexual, la muda y la regulación de la osmolaridad y el metabolismo en crustáceos. La glándula sinusal (SG, del inglés Sinus Gland) está compuesta por un conjunto de terminaciones axonales que corren por la superficie del ganglio del ojo pedunculado, en estrecho contacto con el sistema circulatorio abierto y la hemolinfa. Los cuerpos celulares que proveen los axones hacia la SG se encuentran ubicados más profundo dentro del ganglio del pedúnculo ocular. Estos cuerpos celulares se agrupan para formar el órgano X, así como otros grupos cuyas terminaciones axonales también convergen en la SG. Los productos neurosecretorios producidos por estas células son almacenados en las terminaciones axonales y liberados al espacio neurohemal mediante exocitosis. Se ha sugerido que las hormonas secretadas por el sistema órgano X/SG parecen estar controladas, al menos en parte, por los transmisores/neuromoduladores dopamina, serotonina y enquefalina (Ollivaux *et al.*, 2002; Hopkins, 2012).

La glándula sinusal en camarones penidos vivos se puede observar claramente una vez disectado el ganglio óptico del pedúnculo ocular con la ayuda de un microscopio estereocópico (2-4X). La SG se encuentra en la región dorsolateral derecha del ganglio óptico, justamente debajo de la retina entre las médulas externa e interna. Su aspecto es digitiforme, difuso con una coloración azul iridiscente que la diferencia del tejido nervioso que la circunda de color blanco opaco, con algunas zonas blanco nacaradas correspondientes a cúmulos de calcio (Suárez *et al.*, 1996).

Dentro de estos productos neurosecretorios se han descrito dos familias de neuropéptidos que actúan como hormonas denominadas familia de las hormonas

hiperglucemiantes de crustáceos (CHH, del inglés Crustacean hyperglycemic hormones), y la familia de los efectores pigmentarios (PDH, del inglés Pigmentary effector hormones). Sin embargo, aunque se han identificado cientos de neuropéptidos correspondientes al menos a otras 4 familias, sus funciones aún permanecen desconocidas para decápodos. Entre las familias identificadas se encuentran las orcoquinas, las alostatinas y las R-amidas taquininas, así como de las familias de hormonas pleiotrópicas de insectos: neuroparsinas y de la eclosión (Marder y Bucher, 2001).

CARACTERÍSTICAS DE LOS NEUROPÉPTIDOS DE LA FAMILIA CHH.

El nombre de la superfamilia denominada CHH proviene de la primera hormona identificada que es la hormona hiperglucemiante de crustáceos. Es una familia multi génica de péptidos cuyos miembros están estrechamente relacionados estructuralmente. Su masa molecular es de 8-9 kDa y contienen una secuencia aminoacídica que comprende entre 72-83 residuos, la cual carece de los aminoácidos histidina, metionina y triptófano. Su estructura terciaria forma cinco alfa hélices ancladas por la presencia de seis residuos de cisteína formando tres enlaces disulfuro intracatenarios en posiciones muy conservadas entre los miembros de la familia. No obstante, se pueden definir dos subfamilias (tipo I y II), de acuerdo a las secuencias de aminoácidos y estructuras precursoras (Huberman, 2000; Katayama *et al.*, 2001; Wilder *et al.*, 2010; Webster *et al.*, 2012).

En esta familia convergen una gran variedad de funciones relevantes relacionadas al crecimiento, el metabolismo, la muda, y la

reproducción. Sus múltiples formas y carácter pleiotrópico vienen dadas por tres factores fundamentales: la presencia de múltiples copias de genes codificando los péptidos, la ocurrencia de procesamiento alternativo a partir de un transcripto común y la ocurrencia de modificaciones post traduccionales como la estereoisomerización de determinados residuos (Davey *et al.*, 2000; Ollivaux *et al.* 2009; Hopkins, 2012). Estos factores explican la existencia de múltiples isoformas, llegando a ser identificadas hasta siete isoformas de CHH ligeramente diferentes entre sí para camarones peneidos. No obstante, los estudios de las diferencias en sus actividades biológicas no han podido develar por completo el significado biológico de este fenómeno (Tsutsui *et al.*, 2007; 2013).

La subfamilia tipo I es traducida como una preprohormona formada por un precursor del péptido con una secuencia señal. Este precursor es procesado post traduccionalmente liberando la hormona madura y un pequeño péptido relacionado (CPRP, del inglés CHH precursor related peptide) de función desconocida. La hormona madura tiene de 72-73 aa y el carboxilo terminal amidado, modificación post-traduccional que está relacionada con su actividad biológica. Entre sus integrantes se encuentran las hormonas CHH y las ionotransportadoras (ITP, del inglés ion transport peptide), asociadas al metabolismo de los carbohidratos y a la osmorregulación a diferentes concentraciones de salinidad, respectivamente. La subfamilia tipo II presenta una secuencia señal pero carecen de precursor del péptido. Las hormonas maduras se caracterizan por poseer una talla de 77-83 aa, un residuo de glicina en la posición 12 y el carboxilo terminal generalmente no se encuentra amidado. En esta subfamilia se incluyen la hormona inhibidora de las gónadas (GIH, del inglés

Gonad inhibiting hormone), la hormona inhibidora de la muda (MIH, del inglés Molt inhibiting hormone) y la hormona inhibidora del órgano mandibular (MOIH, del inglés Mandibular organ inhibiting hormone), relacionadas a la reproducción y a los procesos de muda, fundamentalmente. (Webster *et al.*, 2012, Tsutsui *et al.*, 2013).

CARACTERÍSTICAS DE LA HORMONA INHIBIDORA DE LAS GÓNADAS

La GIH, también denominada hormona inhibidora de la vitelogenesis (VIH, del inglés Vitellogenesis inhibiting hormone), es la hormona que se ha relacionado más directamente con el proceso de reproducción ya que incide directamente en la inhibición del proceso de vitelogenesis mediante un mecanismo de regulación negativa de la expresión de la vitelogenina a nivel de ovario y hepatopáncreas, que son sus sitios de síntesis. La molécula vitelogenina es la precursora del vitelo, que es acumulada en los oocitos y es el componente proteico fundamental de la yema que sirve de alimento durante el desarrollo embrionario y el primer estadio larval. Además se ha relacionado con la importación de minerales, lípidos y otros componentes esenciales (Kang *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2014).

La GIH fue aislada por primera vez a partir de extractos de pedúnculo ocular de la langosta *Homarus americanus* e identificada como un “factor de inhibición de la vitelogenesis” por su papel predominante en la regulación negativa de la reproducción (Soyez *et al.*, 1987; De Kleijn *et al.*, 1994). Posteriormente, fue reportada su secuencia aminoacídica así como para otras especies de crustáceos ya sea por purificación y secuenciación de los neuropéptidos a partir de la SG ó clonaje de su ADNc: *H. americanus*

(Soyez *et al.*, 1991; De Kleijn *et al.*, 1994; Ohira *et al.*, 2006), *Armadillium vulgare* (Grève *et al.*, 1999), *Nephrops norvegicus*, (Edomi *et al.*, 2002), *Jasus lalandii* (Marco *et al.*, 2002), *Procambarus bouvieri* (Aguilar *et al.*, 2002), *Pandalus hypsinotus* (Tsutsui *et al.*, 2004), *Homarus gammarus* (Ollivaux *et al.*, 2006), *Penaeus monodon* (Treerattrakool *et al.*, 2008), *Rimicaris kairei* (Qian *et al.*, 2009), *Litopenaeus vannamei* (Chen *et al.*, 2014). Otros estudios obtuvieron neuropéptidos de la familia CHH que mostraron funciones similares a la desplegada por la GIH, como es el caso del péptido Pej-SGP III para *Marsupenaeus japonicus* (Tsutsui *et al.*, 2005), la MIH-B para *Metapenaeus ensis* (Gu *et al.*, 2002) y el péptido de tipo I Liv-SGP-G para *L. vannamei* (Tsutsui *et al.*, 2007; 2013).

TECNOLOGÍAS DESARROLLADAS PARA IMPLEMENTAR LA REPRODUCCIÓN DE CAMARONES PENEIDOS EN CONDICIONES DE CAUTIVERIO.

MADURACIÓN Y REPRODUCCIÓN EN CONDICIONES CONTROLADAS

Obtención de bancos de reproductores

Con el objetivo de optimizar la reproducción del camarón en condiciones de cautiverio se han implementado programas de mejoramiento genético, en los cuales se crean bancos de reproductores domesticados que incluyen características que los hacen más atractivos desde el punto de vista reproductivo (ej. cantidad de desoves en un período dado, cantidad y calidad de las larvas, tiempo de vida útil) y productivos (ej. tasa de crecimiento, resistencia a enfermedades, color y sabor de la carne). Estos programas además se encargan de la introducción controlada de nuevas poblaciones

genéticas para enriquecer el acervo genético de la especie (Bécquer et al., 2002).

En los diferentes métodos de obtención de progenitores, se utiliza generalmente una densidad de siembra mucho más baja que la utilizada para el engorde comercial. El alimento de los camarones que conforman los bancos reproductores se diferencia bastante con respecto al alimento utilizado para el engorde empleando piensos de mayor calidad e incluyendo alimento fresco o congelado en la fase final de la cría, garantizando así una adecuada preparación fisiológica para la reproducción.

De manera general el control de éstos y otros factores es imprescindible para que tanto las hembras como los machos lleguen a madurar sexualmente.

MADURACIÓN Y REPRODUCCIÓN EN CONDICIONES DE CAUTIVERIO

Un aspecto muy importante que se tiene en cuenta es la manipulación ambiental, que simula las características ambientales de la temporada reproductiva de esta especie e incluye factores abióticos como la luz, principalmente intensidad y fotoperíodo, la temperatura, el pH, la salinidad, el oxígeno disuelto y elementos nitrogenados. La manipulación nutricional es otro aspecto a tener en cuenta y que influye principalmente en la calidad y cantidad de huevos desovados así como en la calidad y sobrevivencia de las larvas. Por lo general una dieta rica en calamar, bivalvos (ostiones, mejillones, almejas) y suplementos de carotenoides y lípidos son esenciales para estimular la maduración sexual y la actividad de cópula. Es necesaria una dieta que cubra los requerimientos necesarios de proteínas, lípidos, vitaminas y carotenoides en el proceso de maduración de los camarones peneidos (Bray y Lawrence, 1992).

Las variaciones bioquímicas, relacionadas con el incremento del índice gonadosomático durante la maduración gonadal de las hembras han sido estudiadas por diversos autores, así por ejemplo Ramos (1996) demuestra que según aumenta el índice gonadosomático en *Penaeus schmitti* se acumulan proteínas, carotenoides y lípidos en los ovarios, con una disminución de los aminoácidos libres y una pérdida significativa de agua que se acentúa en la maduración temprana. Según los análisis cualitativos durante la maduración de esta especie en los ovarios los carotenoides mayoritarios son la astaxantina libre predominando los fosfolípidos y triglicéridos, encontrando variaciones interespecíficas en los ácidos grasos poli insaturados de las familias w3 y w6 entre *P. schmitti* y *Penaeus notialis*. En general los estudios bioquímicos realizados en las diferentes especies de camarones marinos indican una acumulación de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol en los ovarios y señalan a los ácidos grasos de la serie w3 como predominantes.

Por otro lado, se destaca la importancia para optimizar la maduración de otros nutrientes y sustancias activas hormonalmente así como antioxidantes naturales, entre los cuales se encuentran los carotenoides, las vitaminas E y C. A pesar de las evidencias anteriores el conocimiento de los requerimientos nutricionales de los reproductores de camarones continúa siendo limitado, ya que es necesario realizar estudios utilizando dietas purificadas y semipurificadas. Constituye una prioridad llegar a obtener dietas formuladas que reemplacen el alimento fresco (Wouters et al., 2001).

Estudios más recientes reconocen el beneficio de ciertos aditivos incorporados a las dietas de reproductores. Es así el

caso de los poliquetos marinos, cuyos extractos incorporados a la dieta de *M. japonicus* estimuló la maduración ovárica e influyó en la composición de lípidos de los ovarios (Nguyen *et al.*, 2012). Poliquetos marinos como alimento vivo beneficiaron el crecimiento, la supervivencia, y la calidad de espermatozoides de *P. monodon* domesticados (Leelatanavit *et al.*, 2014) y la adición de ácido araquidónico a dietas formuladas durante la maduración temprana favorece el desempeño reproductivo de *L. vannamei* (Xu *et al.*, 2017).

MÉTODOS DESARROLLADOS PARA LA MANIPULACIÓN HORMONAL DE CRUSTÁCEOS

Ablación unilateral del pedúnculo ocular

Hasta la fecha, la ablación unilateral del pedúnculo ocular constituye la vía más común y efectiva para inducir la maduración ovárica y desove en muchas especies de camarones peneidos (Browdy, 1992). Se basa en la remoción por corte o laceración y vaciado de uno de los globos ópticos del pedúnculo ocular, lo cual resulta en la eliminación del complejo neurosecretor órgano X/ glándula sinusal presente en esta estructura y responsable de la síntesis y liberación de la GIH, entre otras neurohormonas de gran importancia metabólica.

Esta técnica presenta como ventajas que favorece la maduración ovárica y el desove en aproximadamente el 60% de los camarones ablacionados (Teerattrakool *et al.*, 2014), aumenta las tasas de crecimiento, peso ovárico e índice gonadosomático (Umaporn *et al.*, 2011), además de ser rápida, relativamente sencilla y poco costosa. No obstante, presenta como desventajas que, además de generar un gran estrés en el animal, las lesiones pueden dar lugar a infección y necrosis en el sitio del corte. La

pérdida del pedúnculo genera un desequilibrio hormonal en términos de concentración de glucosa, triglicéridos y proteínas de la hemolinfa (Sainz-Hernández *et al.*, 2008). Entre las consecuencias más evidentes están: la disminución de la supervivencia de los reproductores y sus larvas, así como la cantidad de nauplios por desove, especialmente durante los primeros eventos de desove después de la ablación. Además, se ha reportado que este procedimiento acorta el ciclo de muda, baja los niveles de glucosa en la hemolinfa y aumenta las necesidades energéticas para mantener el nivel de glucosa en la hemolinfa durante la madurez gonadal y afecta la respuesta inmune al alterar las concentraciones de varios metabolitos importantes en la modulación de la misma como la fenoloxidasasa, producto de la reducción de la cantidad de otros neuropéptidos producidos en el órgano X/ glándula sinusal (Uawisetwathana *et al.*, 2011, Teerattrakool *et al.*, 2014).

Sin embargo, a pesar de la evidente necesidad de sustitución de esta técnica, actualmente se hace imprescindible para resolver los graves problemas de maduración en cautiverio que existen, donde especies como *Penaeus kerathurus*, *P. monodon* y *Farfantepenaeus paulensis* no llegan siquiera a alcanzar las últimas etapas de maduración ovárica sin la aplicación de la misma (Alfredo, 1977; Rodríguez, 1996; Peixoto *et al.*, 2011). Por otro lado, en Cuba se ha optimizado el control de las condiciones ambientales y el adecuado suministro de dietas de forma que este método ya no se aplica para el cultivo de *L. vannamei*, el cual alcanza índices de maduración de aproximadamente del 15% (J. Mejías, comunicación personal). No obstante, aún en las especies donde es posible lograr la reproducción en condiciones de cautiverio el

porcentaje de hembras que llegan a desovar se mantienen relativamente bajo por lo que se necesitan gran cantidad de animales para suplir las necesidades de las unidades productivas (Wilder *et al.*, 2010). Por esta razón, en el último par de décadas se han desarrollado grandes esfuerzos en el desarrollo de técnicas alternativas a la ablación del pedúnculo ocular que permita inducir la maduración de forma homogénea sin los efectos adversos derivados de la misma.

OTRAS TÉCNICAS PARA LA MANIPULACIÓN HORMONAL DE CRUSTÁCEOS:

SILENCIAMIENTO GÉNICO MEDIANTE ARN DE INTERFERENCIA

Una de las herramientas más utilizadas para la demostración de funciones génicas en crustáceos y más recientemente como método de inducción de la maduración ovárica es el uso de la tecnología de silenciamiento génico mediante ARN de interferencia.

Lugo *et al.*, (2006) utilizaron esta técnica para la demostración de la función génica del primer ADNc de CHH aislado en la especie *Litopenaeus schmitti*. Una única inyección del ARNdc correspondiente al péptido maduro del CHH aislado en los senos de hemolinfa abdominales de camarones *L. schmitti* adultos dio lugar a una disminución muy significativa de los niveles de glucosa en hemolinfa en el grupo tratado, confirmando la función CHH del péptido identificado. Además, se observó una reducción de los transcriptos CHH a niveles indetectables en este grupo con respecto a los grupos que recibieron una inyección de solución salina ó un ARNdc no relacionado, confirmando la ocurrencia del silenciamiento total y específico del gen de interés (Lugo *et al.*, 2006).

De igual forma, Treerattrakool *et al.* (2008) aislaron el gen Pem-GIH a partir de ARN total de pedúnculo ocular de la especie *P. monodon* y emplearon esta técnica para la demostración de su actividad inhibidora de las gónadas tanto *in vitro* como *in vivo*. La administración de su ARNdc a hembras previtelogénicas *P. monodon*, dio lugar a un incremento muy significativo en los transcriptos de Vg en los ovarios del grupo tratado con respecto al grupo suministrado con solución salina. En estudios posteriores, estos autores demuestran que una única inyección de ARNdc GIH es capaz de inhibir la expresión de la GIH por un período de al menos 30 días, dando lugar a la maduración ovárica y desove de hembras previtelogénicas de la especie *P. monodon*, tanto domesticadas como salvajes, a niveles comparables con la ablación unilateral (Treerattrakool *et al.*, 2011). Además, logran inducir el silenciamiento transcripcional de la GIH utilizando como vía de administración el suministro oral de *Artemia salina* enriquecida con el ARNdc GIH (Treerattrakool *et al.*, 2013).

Sin embargo, Feijó *et al.* (2016) en un estudio similar *in vivo*, inyectó a hembras de *L. vannamei* con el ARNdc correspondiente al péptido maduro GIH de esta especie, y a pesar de alcanzar 64, 73, y 71 % de silenciamiento de los niveles de ARNm en pedúnculo ocular, no observó diferencias en el grado de desarrollo de los ovarios (previtelogénicos y vitelogénesis primaria) del grupo inyectado con el ARNdc GIH y los grupos inyectados con solución salina ó el ARNdc no relacionado. Para el caso del grupo ablacionado se observaron todos los grados de desarrollo predominando el de oocitos maduros. Los autores atribuyen este resultado a la presencia de otros péptidos de la familia con actividad inhibidora

de las gónadas que podrían estar mitigando el efecto producido por el silenciamiento y/o a que este método no permite neutralizar los efectos de la hormona ya sintetizada y almacenada en la SG.

En otra aproximación, Tiu y Chan demostraron la función estimuladora de la vitelogenésis *in vivo* de la hormona inhibidora de la muda II (MeMIH-B) en la especie *M. ensis*, donde la administración de su ARNdc correspondiente dio lugar a una disminución muy significativa de los transcritos de Vg a nivel de hemolinfa, ovario y hepatopáncreas en el grupo tratado con respecto al no tratado. Conjuntamente, la adición de la MeMIH-B recombinante a cultivos de células de ovario y hepatopáncreas dio lugar a un incremento en los transcritos de Vg en estos órganos, confirmando así la función estimuladora de este péptido (Tiu y Chan, 2007).

Sin embargo, aunque esta técnica resulta muy útil para fines investigativos los costos de su aplicación resultan muy elevados y por lo tanto poco factible para una aplicación de campo.

USO DE HORMONAS ESTIMULADORAS DE LAS GÓNADAS

En los últimos años varios han sido los estudios encaminados a descifrar los mecanismos endocrinos de estimulación de la vitelogenésis. En este sentido, se ha comprobado la existencia de determinados factores hormonales que ejercen un efecto gonadotrópico en la maduración ovárica y el desove (Subramoniam, 2016). Entre estos factores están los péptidos tipo hormona estimuladora de los folículos, secretadas en cerebro y ovarios; la hormona liberadora de la gonadotropina, y la bursicona, secretadas en ganglios cerebral y torácico en camarones (Sathapondecha *et al.*, 2015; Guan

et al., 2013). Otras hormonas descritas para diferentes especies desde hace ya varios años son las aminas biogénicas y los péptidos opioides, secretados en ganglios cerebral y torácico; el metil farnesoato (MF) secretado por el órgano mandibular; los ec-disteroides secretados por el órgano Y; y los esteroides sexuales análogos en vertebrados como el 17 β -estradiol y la progesterona secretados en ovarios y hepatopáncreas (Subramoniam, 2017).

AMINAS BIOGÉNICAS

Las aminas biogénicas funcionan como neurotransmisores y neuromoduladores y están involucrados en la regulación de diferentes procesos fisiológicos (Fingerman, 1997b). La serotonina (5 hidroxitriptamina, 5HT), por ejemplo, es una de las neurohormonas más estudiadas. Se presume que ejerce una acción indirecta mediante la estimulación de la liberación de otras sustancias gonadotrópicas a nivel de ganglios cerebral y torácico (Fingerman, 1997b; Sarojini *et al.*, 1995a) ó mediante la inhibición de la liberación de GIH del ganglio óptico (Kulkarni *et al.*, 1992). Sin embargo, en *P. monodon* se reportó la expresión del receptor de la serotonina en la membrana de oocitos en fases III y IV de maduración, lo cual sugiere una acción directa por parte de la misma (Ongvarrasopone *et al.*, 2006). En la especie *Macrobrachium rosenbergii*, se reportó que los langostinos tratados con serotonina mostraron mejor calidad en los huevos, mayores índices de eclosión y una mayor producción de nauplios (Meeratana *et al.*, 2006). En la langosta espinosa *P. homarus* se estableció un correlación entre la maduración ovárica con un incremento en la síntesis de esta hormona a nivel de ganglios cerebral y torácico (Subramoniam y Kirubakaran, 2010).

Recientemente, Tomy *et al.*, (2016) mediante un ensayo *in vivo* en camarones *Penaeus indicus*, establecieron los perfiles de expresión génica de diferentes genes relacionados con la vitelogénesis y la maduración post vitelogénica de los oocitos, lo cual confirmó el rol regulatorio de la serotonina en la maduración ovárica. Sin embargo, el suministro de serotonina a camarones *P. indicus in vivo* solo dio lugar a una efectiva inducción de la maduración ovárica cuando se administró la serotonina de forma sinérgica con la aplicación de la ablación unilateral, y no de forma independiente.

Un análisis de los niveles de serotonina y dopamina durante el desarrollo embrionario en la especie *M. rosenbergii* mediante cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica (HPLC-ECD), mostró que los niveles de estas dos hormonas incrementan gradualmente desde la fase de ovarios amarillo pálido hasta las fases de ovarios naranja, alcanzando su pico máximo en la fase de ovarios negros, siendo los niveles significativamente menores para la dopamina que para la serotonina en las primeras etapas. El suministro de diferentes dosis de estas hormonas a hembras *M. rosenbergii* dio lugar a un acortamiento significativo de la duración de las primeras fases de desarrollo para los grupos tratados con serotonina y un alargamiento de las fases intermedias para los tratados con dopamina, confirmando así la participación de ambas hormonas en el desarrollo embrionario (Tinikul *et al.*, 2016).

En efecto, se ha propuesto que la dopamina juega un papel antagónico al de la serotonina en la estimulación del desarrollo embrionario en varios decápodos, como el langostino *P. clarkii* (Sarojini *et al.*, 1995a), *M. rosenbergii* (Tinikul *et al.*, 2009)

y el camarón *L. vannamei* (Tinikul *et al.*, 2011a; 2011b; 2014). Se registró una disminución en los niveles Vg producto de la administración de dopamina para el cangrejo *Uca pugilator* y el langostino *M. rosenbergii* (Sarojini *et al.* 1995b; Tinikul *et al.*, 2008). El suministro de dopamina a hembras *M. rosenbergii* dio lugar a un alargamiento del período de maduración ovárica, los períodos de desoves y el desarrollo embrionario (Tinikul *et al.*, 2009), mientras que en hembras juveniles de la especie *Cherax quadricarinatus* se observó un alargamiento de la maduración ovárica conjunto con una disminución en los índices gonadosomáticos de los animales tratados (Tropea y López Greco, 2013). En un ensayo en el cangrejo *Oziothelphusa senex senex* la administración de dopamina dio lugar a un retraso en la maduración ovárica de hembras ablacionadas, lo cual sugirió que sus efectos inhibitorios eran debido a una inhibición de la liberación de hormonas estimuladoras de las gónadas de ganglios cerebral y torácico más que a una estimulación de la liberación de la GIH (Sainath y Reddy, 2011).

Otras aminas biogénicas como la melatonina, que es un derivado de la serotonina, también se observó que juega un papel integral en la maduración ovárica en el cangrejo *O. senex senex* (Sainath y Reddy, 2011). Por otro lado, el opioide metionina encefalina producido en ganglio cerebral ejerce un efecto inhibitorio en la maduración de los oocitos similar a la desplegada por la dopamina en el langostino *Procambarus clarkii* (Sarojini *et al.*, 1995c), mientras que el suministro de la spiperona, un antagonista de la dopamina, da lugar a un incremento de los índices gonadosomáticos cuando es inyectado a hembras de esta especie en vitelogénesis temprana (Rodríguez *et al.*, 2002).

METIL FARNESOATO

El metil farnesoato es otra molécula cuya actividad gonadotrópica ha sido ampliamente estudiada. Se trata de un sesquiterpeno muy similar a la hormona juvenil III de los insectos cuyo precursor es el ácido farnesoico. Este es sintetizado y excretado por el órgano mandibular a la hemolinfa y es metabolizado en hepatopáncreas y en otros tejidos periféricos del sistema reproductor como ovarios, testes y glándula accesoria (Borst *et al.*, 1987). Existen fuertes evidencias de su función estimuladora de la vitelogénesis en determinadas etapas del ciclo reproductivo en diferentes especies de crustáceos, tanto en hembras como en machos (Rodríguez *et al.*, 2002; Mak *et al.*, 2005; Tiu *et al.*, 2006), sin embargo también se han reportado resultados contradictorios en los que este no ejerce efecto alguno o incluso ejerce un efecto inhibitorio sobre la maduración (Nagaraju, 2007).

Varios estudios en diferentes especies evidencian perfiles muy variables del comportamiento de esta hormona durante las fases de la vitelogénesis. Para el caso de los cangrejos *Libinia emarginata* y *Cancer magister* ocurre un pico de secreción durante las fases vitelogénicas I y II (Laufer y Biggers, 2001), para el caso de *Cancer Pagurus* el pico se extendió desde las fases vitelogénicas I a la III (Wainwright *et al.*, 1996) y para el cangrejo *O. senex senex* se observó un incremento en la secreción desde la fase previtelogénica hasta la fase vitelogénica III (Nagaraju *et al.*, 2006). Por otro lado, para la langosta *H. americanus*, los niveles de MF en la hemolinfa son superiores en la ausencia de maduración ovárica e inferiores en el momento de la maduración (Tsukimura y Borst, 1992).

Se ha reportado la estimulación *in vivo* de la maduración ovárica mediante la

administración de MF en las especies: cangrejo araña *L. emarginata* (Jo *et al.* 1999), langostino de agua dulce *M. rosenbergii* (Wilder *et al.*, 1995), camarón marino *P. indicus* (Nagaraju *et al.*, 2002), langostino de agua dulce *Macrobrachium malcolmsonii* (Nagaraju *et al.*, 2003), el cangrejo de agua dulce *O. senex senex* (Nagaraju, 2003; Reddy *et al.*, 2004) y el camarón *Sicyonia ingentis* (Paran *et al.*, 2010). Desde el 1998 ya se había logrado inducir la maduración ovárica en *P. clarkii* mediante alimentación con pienso enriquecido con MF (Laufer *et al.*, 1998), y posteriormente en el cangrejo *Chasmagnathus granulata* con pienso enriquecido con la hormona juvenil III (Zapata *et al.*, 2003).

Por otro lado, se han obtenido muchos resultados de la no relación del MF con la maduración ovárica. Por ejemplo, no se observó ningún efecto al inyectárseles MF a hembras senescentes de las especies *H. americanus* y *M. rosenbergii* (Tsukimura *et al.*, 1993, Wilder *et al.*, 1994). Sin embargo, el tiempo de vida medio del MF es de 45 min, por lo que es posible que la cantidad de MF fuera insuficiente para reiniciar la reproducción. La incubación de tejido ovárico activo de *Triops longicaudatus* con MF tampoco mostró ningún efecto, lo cual se explicó por el hecho de que la vitelogénesis podría estar a su máxima capacidad. (Riley y Tsukimura, 1998).

Linder y Tsukimura (1999) reportaron que el MF redujo significativamente el número de oocitos en desarrollo cuando se le administró de forma continua a camarones juveniles *T. longicaudatus*. Posteriormente, Tsukimura *et al.* (2006) confirmó este resultado en otro estudio de inhibición utilizando esta misma especie. Marsden *et al.* (2008) demostró mediante la administración oral continuada del MF durante todo

el ciclo reproductivo en hembras ablacionadas de la especie *P. monodon* que en las últimas etapas de la vitelogenesis el MF puede dar lugar a una reducción del número de desoves por camarón y una reducción de la fecundidad relativa. Las hembras que fueron alimentadas con el pienso enriquecido con MF mostraron niveles de retroversión de los ovarios en fase vitelogénica III significativamente superiores a los del grupo control (Marsden *et al.*, 2008). Estos datos parecen concordar con las ideas iniciales de que el MF puede actuar como un agente juvenilizador en crustáceos.

Diferentes estudios *in vitro* han demostrado la existencia de un receptor para el metil farnesoato (RXR) en células de ovarios y hepatopáncreas (Tsukimura y Kamemoto, 1991; Rodríguez *et al.*, 2002; Takac *et al.*, 1993). Al unirse a su receptor, el MF forma un complejo que parece estimular la vitelogénesis en la especie *Carcinus maenas*, ya que ocurre un incremento de los niveles del ARNm RXR en estos órganos de forma estadio dependiente a la vitelogénesis (Nagaraju *et al.*, 2011). Este comportamiento también fue reportado para el cangrejo *Paratelphusa hydrodromous* (Sarika y Anilkumar, 2014).

ESTEROIDES

En crustáceos se han relacionados dos tipos de esteroides a la reproducción: los ecdisteroides y los esteroides sexuales análogos en vertebrados.

Además de su papel primario en la regulación de la muda, los ecdisteroides en crustáceos funcionan como hormonas gonadotrópicas. Los estudios iniciales dieron lugar a la identificación de la molécula 20-hidroxicdisona (20E) y esta fue caracterizada como la forma fisiológicamente activa de los ecdisteroides en la mayoría

de las especies (Hampshire y Horn, 1966; Horn *et al.*, 1966). Aunque, también se han identificado otros ecdisteroides como son la 3-dehidroecdisona en *Cancer antennarius* (Spaziani *et al.*, 1989) y la 25-deoxicdisona en *C. maenas* (Lachaise *et al.*, 1989). Su prohormona, denominada ecdisona, es secretada por el órgano Y (Chang y O'Connor, 1977).

Inicialmente se postuló que su efecto en el control de la vitelogénesis parecía ser indirecto, relacionado a la síntesis de diferentes componentes precursores de la yema tanto en ovarios como en hepatopáncreas. Sin embargo, más adelante mediante el estudio de los receptores de ecdisona a nivel de tejido de ovario y hepatopáncreas, se estableció una relación más directa entre la toma de ecdisona por sus órganos diana y el inicio de la vitelogénesis (Subramoniam, 2017). Un incremento en los niveles de ecdisteroide en hemolinfa se ha relacionado con el inicio del proceso de oogénesis en el cangrejo *C. maenas* (Arvy *et al.*, 1954), y con la reanudación de la meiosis en los oocitos en el cangrejo araña *Acanthonyx lunulatus* (Chaix y De Reggi, 1982) y en el camarón palaemonido *Palaemon serratus* (Lanot y Cledon, 1989).

En anfípodos e isópodos también se observó que los niveles de Vg y de ecdisteroides en hemolinfa aumentaban de forma paralela durante el ciclo vitelogénico. Por ejemplo, en el anfípodo *Orchestia gammarellus* se sugirió que altos títulos de 20E son necesarios para la síntesis de la Vg, ya que la remoción del órgano Y en la fase de post ecdisis inhibe el inicio de la vitelogénesis (Blanchet-Tournier, 1982). De igual forma, se encontró una relación directa entre los títulos de ecdisteroides y las fases de maduración ovárica durante el ciclo reproductivo – muda del langostino *M.*

rosenbergii (Okumura *et al.* 1992). En el cangrejo *Emerita asiatica*, se observó una sincronización entre los ciclos oogénicos y de muda, los ecdisteroides en hemolinfa mostraron incrementos de forma bifásica con un pequeño pico durante la intermuda coincidente con las actividades vitelogénicas en los ovarios y un pico marcado en la premuda (Gunamalai *et al.*, 2004). En esta especie, una inyección de 20E incrementó la síntesis proteica en ovarios, hepatopáncreas y tejido tegumentario, apoyando la idea de un doble papel en el control de la muda y la reproducción.

Más adelante, Tarrant *et al.* (2011) reportó la presencia de varias isoformas de su receptor EcR/RXR en la langosta americana *H. americanus* y correlacionó sus patrones de expresión con la regulación del desarrollo ovárico. Un análisis de la expresión de EcR en los ovarios del cangrejo *Portunus trituberculatus* mostró un incremento en los niveles de ecdisteroides post copulación, lo cual indicó el papel de esta hormona en la maduración ovárica (Mu *et al.*, 2014). Las isoformas de EcR también han sido aisladas de otras especies de crustáceos como *M. japonicus* (Asazuma *et al.*, 2007), *Macrobrachium nipponense* (Shen *et al.*, 2013), y el cangrejo azul *Callinectes sapidus* (Techa y Chung, 2013). Para el cangrejo de lodo *Scylla paramamosain* se reportaron tres isoformas de receptores de ecdisona (SpEcR) en los ovarios (Gong *et al.*, 2015). La incubación de explantes de ovarios previtelogénicos con 20E incrementó la expresión de su receptor SpEcR así como el receptor de Vg (SpVg). Los estudios de hibridización *in situ* indicaron que el ARNm de SpEcR solamente estuvo presente en las células foliculares y no presente en los oocitos, lo cual sugirió su posible rol en la inducción del desarrollo ovárico.

En el cangrejo *Eriocheir sinensis*, Yang *et al.* (2007) observaron que las células foliculares juegan un papel predominante en el transporte de las reservas de nutrientes a los ovarios cuando se inicia la maduración ovárica. La toma de Vg a los ovarios a partir de la hemolinfa a través de endocitosis mediada por receptor es un proceso importante en la vitelogenesis del cangrejo *Scylla serrata* (Warrier y Subramoniam, 2002). Se piensa que los ecdisteroides pudieran mediar la toma de la Vg a los oocitos en los cangrejos braquiuros, y otros crustáceos decápodos, donde los receptores de ecdisteroides son localizados en los ovarios.

En los estudios anteriores solo se demuestra actividad del receptor EcR en ovarios, no obstante, Girish *et al.* (2015) observaron un incremento de la expresión de los receptores RXR y EcR en el hepatopáncreas del cangrejo de agua dulce *O. senex senex*, seguido por una regulación positiva del gen relacionado a la ecdisona E75 durante las etapas vitelogénicas I y II. Estos autores sugieren que RXR, EcR y el gen E75 están involucrados en la regulación de la síntesis de Vg en el hepatopáncreas, mientras que en el ovario, están jugando un importante papel en la toma de Vg de la hemolinfa mediante la regulación de los niveles del receptor de Vg. Tokishita *et al.* (2006) reportaron que en el cladocero primitivo *Daphnia magna*, existe un elemento dependiente de ecdisona corriente arriba del gen Vg, lo cual sugiere la posible activación transcripcional del gen Vg mediante los ecdisteroides. El descubrimiento de los elementos activados por ecdisona en las especies primitivas de crustáceos revela la convergencia en la evolución de mecanismos endocrinos controlando la

reproducción en insectos y en crustáceos (Subramoniam, 2017).

Otra aproximación ha sido la administración de esteroides sexuales, cuyos análogos en vertebrados participan en la regulación del desarrollo gonadal, entre otras funciones relacionadas con el crecimiento y el desarrollo. Esta línea de investigación se consolida con la demostración de la existencia de esteroides sexuales como la progesterona, el estradiol y la testosterona en organismos invertebrados. Sin embargo, para la mayoría de los casos aún no se han demostrado los orígenes, ni las vías por las que ejercen su regulación endocrina como es el caso para vertebrados (Lafont y Mathieu, 2007).

El uso de técnicas de cromatografía gaseosa/ espectrometría de masas permitieron confirmar por primera vez la presencia del 17 β -estradiol en los huevos y la hemolinfa de la langosta *N. norvegicus* (Fairs *et al.*, 1989). Los primeros estudios reportaron la ocurrencia de la esteroidogénesis de estas hormonas durante la vitelogénesis en ovarios y hepatopáncreas del camarón tigre *P. monodon* (Fairs *et al.*, 1990), los cangrejos *S. serrata* (Warrier *et al.*, 2001) y *C. maenas* (Hazel, 1986), y del langostino de agua dulce *M. rosenbergii* (Ghosh y Ray, 1993). Posteriormente, varios autores realizaron diferentes análisis del comportamiento de las hormonas esteroidales en hemolinfa, ovarios y hepatopáncreas y los correlacionaron con las diferentes etapas del ciclo reproductivo – muda. Se determinó que en muchos decápodos los niveles de 17 β -estradiol y progesterona en hemolinfa, ovarios y hepatopáncreas se mueven de forma paralela a los de Vg durante el ciclo de maduración ovárica; entre ellos: cangrejos (Warrier *et al.*, 2001), camarones (Yano, 2000) y langostinos (Coccia *et al.*, 2010).

En varias especies de camarones, se demostró que una inyección de estrógeno y progesterona resulta en la liberación de Vg hacia la hemolinfa (Yano, 2000). Cuando se cultivan *in vitro* ovarios previtelogénicos de *M. japonicus* con 17 β -estradiol también se observa un aumento en la síntesis de Vg (Yano y Hoshino, 2006). Un estudio más reciente en la especie *P. monodon* mostró que tanto las inyecciones de progesterona como de estrógeno estimulan la expresión del ARNm Vg en los ovarios y hepatopáncreas durante la fase previtelogénica (Merlín *et al.*, 2015). En un ensayo similar utilizando especímenes *Cherax albidus*, Coccia *et al.* (2010) obtuvo un incremento en la síntesis del ARNm Vg en ovarios en vitelogénesis primaria al ser inyectados con 17 β -estradiol y la progesterona. Para el caso del cangrejo *O. senex senex*, la administración del 17 β -estradiol y la progesterona dio lugar a un incremento en el índice gonadosomático, el diámetro de los oocitos y los niveles de vitelina en los ovarios (Swetha *et al.*, 2016). Estos resultados en su conjunto demuestran el hecho de que los esteroides no solo son sintetizados de forma endógena en los tejidos reproductivos de los crustáceos sino que además modulan la síntesis de Vg en ovarios y hepatopáncreas.

En vertebrados ovíparos la regulación de la expresión génica del gen de la Vg se logra mediante la unión del estrógeno a su receptor en el núcleo, el cual se une a elementos activados por estrógeno en la región del promotor del gen de la Vg (Tata y Smith, 1979). En crustáceos, varios estudios indican la expresión de receptores para los estrógenos y la progesterona en ovarios y hepatopáncreas. Merlín *et al.* (2015) observaron la ocurrencia de la expresión simultánea de estos receptores en los ovarios, lo cual refuerza su posible

implicación en la expresión de la Vg en camarones peneidos. Además plantea que la respuesta de los ovarios a estas hormonas es mucho más pronunciada en hembras ablacionadas que para las no ablacionadas e infiere que los efectos inhibitorios de la GIH en la síntesis de la Vg son dominantes sobre los efectos estimulatorios de los esteroides. Sin embargo, Li *et al.* (2015), mediante la administración de los estrógenos 17 β -estradiol y 4-nonilfenol de forma independiente, observaron una regulación negativa y dosis dependiente de la expresión de la GIH, además de una regulación positiva de la vitelogenénesis en hepatopáncreas. Un ensayo posterior, utilizando la especie *P. monodon*, mostró que cuando las hembras son ablacionadas ocurre un incremento en los niveles de estradiol y progesterona en la hemolinfa, ovarios y hepatopáncreas (Merlin *et al.*, 2016).

Otro reporte en el cual se utilizó inmunolocalización del receptor de estrógeno indicó que los estrógenos juegan un papel en la regulación de los oocitos en sus primeras etapas en el camarón *Neomysis japonica*, mostrando un estrecho vínculo entre oogénesis, proliferación de las células foliculares, metabolismo celular del hepatopáncreas y regulación endocrina (Yang *et al.*, 2012).

Se ha planteado la posibilidad de que los esteroides puedan ejercer su efecto en la vitelogenénesis mediante la estimulación de otras vías de señalización como la de los ecdisteroides. Se demostró que en el cangrejo *O. senex senex* la administración de progesterona y 17 β -estradiol da lugar a un incremento significativo en los niveles del ARNm de los receptores de ecdisteroides y retinoides en ovarios y hepatopáncreas, lo cual contribuye al incremento de la síntesis de Vg en estos (Swetha *et al.*, 2016).

Hasta el momento no se ha confirmado si los ecdisteroides y los esteroides ejercen un efecto combinado en la estimulación de la vitelogenénesis en crustáceos, pero los perfiles de expresión de sus receptores así lo sugieren.

OTROS PÉPTIDOS DE LA FAMILIA CHH

Desde los primeros trabajos de función génica que involucran los diferentes péptidos de la familia CHH resultó interesante la gran similitud y a la vez multiplicidad de funciones inherentes a los mismos. Estudios de este tipo permitieron observar que hormonas como la CHH y la MIH, además de sus conocidas funciones en el metabolismo de la glucosa y la inhibición de la muda, respectivamente, muestran un efecto positivo en la inducción de la síntesis de Vg en diferentes decápodos como langostas, camarones peneidos y cangrejos (De Kleijn *et al.*, 1995; Gu *et al.*, 2002; Zmora *et al.*, 2009 a, b). Se ha reportado la ocurrencia de varias isoformas de la hormona CHH en la mayoría de los decápodos; y de la MIH en varias especies de peneidos, como son: *L. vannamei*, *P. monodon* y *Fennropenaeus chinensis* (Krungkasem *et al.*, 2002; Wang y Xiang, 2003; Yodmuang *et al.*, 2004, Chen *et al.*, 2007).

Tsutsui *et al.* (2007) purificaron mediante HPLC en fase reversa y posterior secuenciación siete isoformas (Liv-SGP-A – G) de la hormona CHH a partir de la SG de *L. vannamei*. De ellas, seis mostraron actividad inhibitoria de la vitelogenénesis con diferentes intensidades (Liv-SGP- C,F,G > A,B > E) en cultivo de ovarios de *M. japonicus*. De forma similar, se determinó la actividad inhibitoria de la vitelogenénesis de 4 péptidos CHH provenientes de *J. lalandii*, utilizando cultivo *in vitro* de ovarios de *P. semisulcatus* (Marco *et al.*, 2002). Para

ambos casos los péptidos que poseían su C-terminal amidado mostraron las respuestas más intensas.

Por otro lado, en varias especies se ha demostrado la actividad estimuladora de la vitelogénesis de algunas isoformas de la MIH. Un análisis de los patrones de expresión de la MIH isoforma II (Mee – MIHB) en el camarón *M. ensis*, mostró que esta hormona disminuye durante la fase de vitelogénesis primaria para luego ir aumentando su concentración paralelamente con la maduración de los ovarios (Gu *et al.*, 2002). Posteriormente, se reportó que la administración de Mee – MIHB a camarones de esta misma especie, dio lugar a un incremento en la expresión de la Vg, tanto *in vitro* como *in vivo*. Por otro lado, el tratamiento con un ARNd de Mee-MIHB dio lugar a una reducción en los niveles de expresión de la Vg (Tiu y Chan, 2007).

Luo *et al.* (2015) demostró, tanto *in vitro* como *in vivo*, que la MIH II es un fuerte estimulador de la maduración ovárica en el camarón *L. vannamei*. Su administración, tanto en cultivo de células de hepatopáncreas como a hembras inmaduras de *L. vannamei*, dio lugar a un incremento muy significativo en los niveles de transcritos de vitelogenina en este órgano; y consecuentemente se observaron diferencias muy significativas en el peso de las gónadas de estos animales con respecto al grupo no tratado; no así para el caso de la MIH I. Sin embargo, las causas de las diferencias entre las actividades biológicas observadas entre los dos péptidos MIH aún no han sido dilucidadas (Luo *et al.* 2015).

USO DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS A LA GIH

El empleo de anticuerpos policlonales y monoclonales para la neutralización de

la hormona GIH circulante en hemolinfa es otro escenario muy novedoso en el cual se están realizando prometedores avances. Hasta el momento solamente se han realizado pocos estudios de este tipo en la especie *P. monodon*, sin embargo esta parece ser una vía para alcanzar una solución práctica a los problemas de maduración que actualmente afectan los centros de desove. La administración de un anticuerpo monoclonal anti GIH a camarones de la especie *P. monodon* fue capaz de generar índices de desoves comparables con los obtenidos para el control ablacionado, lo cual sugiere una efectiva neutralización de la hormona circulante en hemolinfa así como la almacenada en la glándula sinusal (Treerattrakool *et al.*, 2014). Más recientemente, el suministro de un anticuerpo policlonal anti GIH en animales de esta misma especie, generó un significativo aumento en los niveles de expresión de la vitelogenina así como una reducción significativa en los ARNm GIH en hemolinfa. Resulta interesante que en este caso, de las tres diluciones del AcPaGIH utilizadas en el ensayo (1:100, 1:300 y 1:500), la mayor efectividad se obtuvo con la dilución 1:500 (Vrinda *et al.*, 2017).

CONSIDERACIONES GENERALES

A lo largo de los últimos años no son pocos los esfuerzos que se han realizado para el entendimiento y el desarrollo de tecnologías que permitan optimizar la reproducción de crustáceos. Hasta el momento, se han identificado aproximadamente 80 péptidos de la superfamilia CHH en las diferentes especies de crustáceos, no obstante, se requieren más estudios que analicen a

profundidad las actividades biológicas de los mismos y brinden una comprensión más completa de su significado biológico. Ejemplo de ello se muestra en la actividad pleitrópica desplegada por las diferentes isoformas de la CHH, ó la reciente relación establecida entre los niveles de MIH II y la estimulación de la maduración ovárica. En el análisis de las actividades biológicas en las diferentes especies de decápodos, tanto de los péptidos de la familia CHH como de otras hormonas estimuladoras de las gónadas, se pueden observar resultados a veces inconsistentes o incluso contradictorios, por lo que debemos tener en cuenta que las diferentes vertientes evolutivas inherentes a la ecología de estas especies modifican su genética y fisiología, por lo que un análisis global de las mismas resulta insostenible. Hasta el momento no se ha definido una especie "modelo" de crustáceo que haya sido estudiada a profundidad. Los estudios de receptores y ligandos asociados a estas moléculas parecen ser una vía que permitirá obtener respuestas más concluyentes al respecto. Hasta el momento los estudios parecen indicar que existen dos vías principales de regulación endocrina de la reproducción: una inhibitoria a través de los péptidos de la familia CHH, fundamentalmente dada por la actividad de la GIH; y una estimuladora que involucra varios factores hormonales como las aminos biogénicas, el MF, los ecdisteroides y los esteroides sexuales análogos en vertebrados como el estrógeno y la progesterona. Sin embargo, la vía inhibitoria parece ser dominante sobre la estimuladora teniendo en cuenta que la mayoría de los estudios mostraron que la estimulación solo se hacía significativamente superior

cuando estaba acompañada de la ablación unilateral.

La ablación unilateral es actualmente el único método establecido para la regulación endocrina de la reproducción. Su aplicación afecta el rendimiento de varios parámetros reproductivos además de disminuir la vida útil de las hembras reproductoras. Los recientes trabajos sobre neutralización de la GIH utilizando un anticuerpo específico muestran una vía factible para la inducción de la maduración sin necesidad de realizar este método. En este sentido se debe profundizar más en los mecanismos de acción involucrados, como la identificación del receptor correspondiente a esta hormona y el mecanismo de acción por el cual ejerce su inhibición. De forma general, se necesitan mayores esfuerzos para trasladar el conocimiento adquirido a una solución productiva que satisfaga las necesidades de la industria camaronera.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- AGUILAR, M.B., QUACKENBUSH, L.S., HUNT, D.T., SHABANOWITZ, J. y HUBERMAN, A. (2002). Identification, purification and initial characterization of the vitellogenesis-inhibiting hormone from the Mexican crayfish *Procambarus bouvieri* (Ortmann). *Comp. Biochem. Physiol. B* 102, 491-498.
- ALFREDO, C. (1977). Successful spawning of cultured *Penaeus monodon* Fabricius after eyestalk ablation. *Aquaculture* 11, 185-196.
- ARVY, L., ECHALIER, G. y GABE, M. (1954). Modifications de la gonade de *Carcinus maenas* L. apres ablation bilaterale de l'organ Y. *Acad. Sci. Paris*, 239, 1853-1855.

- ASAZUMA, H., NAGATA, S., KONO, M. y NAGASAWA, H. (2007). Molecular cloning and expression analysis of ecdysone receptor and retinoid X receptor from the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Comp. Biochem. Physiol. Part B: Biochem. Mol. Biol.* 148, 139-150.
- BÉCQUER, U., DÍAZ, R., HERNÁNDEZ, N., AZANZA, J., ESPINOSA, G., BORRELL, Y., ROMO, J. y GUERRERO, C. (2002). La genética del cultivo del camarón *Penaeus schmitti* en Cuba: Resultados y perspectivas. *Rev. Acuacult. Ecuador*, 33-36.
- BRAY, W.A. y LAWRENCE, A.L. (1992). *Marine Shrimp culture: principles and practices. Reproduction of Penaeus species in captivity*, editors Fast A.W., L. James Lester. Chapter 5, pp. 93-170.
- BLANCHET-TOURNIER, M.F. (1982). Quelques aspects des interactions hormonales entre la mue et la vitellogenèse chez le Crustacé Amphipode *Orchestia gammarellus* (Pallas). *Reprod. Nut. Dévelop.* 22, 325-344.
- BORST, D.W., LAUFER, H., LANDAU, M., CHANG, E.S., HERTZ, W.A., BAKER, F.C. y SCHOOLEY, D.A. (1987). Methyl farnesoate (MF) and its role in crustacean reproduction and development. *Insect Biochem*, 17, 1123-1127.
- BROWDY, C.L. (1992). A review of the reproductive biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation system for high quality nauplii production. En Wyban, J. (ed.), *Proceeding of the Special Session on Shrimp Farming* (pp. 22-51). Baton Rouge.
- CHAIX, J.C. y DE REGGI, M. (1982). Ecdysteroid levels during ovarian development and embryogenesis in the spider crab *Acanthonyx lunulatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 47, 7-14.
- CHANG, E.S. y O'CONNOR, J.D. (1977). Secretion of α -ecdysone by crab Y-organs *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 74, 615- 618.
- CHEN, H.Y., DOUGLAS, W.R., CHEN, J.C., LIU, H.F. y LEE, C.Y. (2007). Molecular characterization and gene expression pattern of two putative molt-inhibiting hormones from *Litopenaeus vannamei*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 151, 72-81.
- CHEN, T., ZHANG, L.P., WONG, N.K., ZHONG, M., REN, C.H. y HU, C.Q. (2014). Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) vitellogenesis-inhibiting hormone (VIH) is predominantly expressed in the brain and negatively regulates hepatopancreatic vitellogenin (VTG) gene expression. *Biol. Reprod.* 90(3): 47, 1-10. doi:10.1095/biolreprod.113.115030.
- COCCIA, E., LISA, E., CRISTO, C., COSMO, A. y PAOLUCCI, M. (2010). Effects of estradiol and progesterone on the reproduction of the freshwater crayfish *Cherax albidus*. *Biol. Bull.* 218, 36-47.
- DAVEY, M.L., HALL, M.R., WILLIS, R.H., OLIVER, R.W., THURN, M.J. y WILSON, K.J. (2000). Five Crustacean Hyperglycemic Family Hormones of *Penaeus monodon*: Complementary DNA Sequence and Identification in Single Sinus Glands by Electrospray Ionization-Fourier Transform Mass Spectrometry. *Mar. Biotechnol. (NY)* 2, 80-91.
- DE KLEIJN, D.P., SLEUTELS, F.J., MARTENS, G.J. y VAN HERP, F. (1994). Cloning and expression of mRNA encoding pre progonad-inhibiting hormone (GIH) in the lobster *Homarus americanus*. *FEBS Lett.*, 353, 255-258.
- DE KLEIJN, D.P. y VAN HERP, F. (1995). Molecular biology of neurohormone precursors in the eyestalk of Crustacea. *Comp. Biochem. Physiol.*, 112B, 573-579.

- EDOMI, P., AZZONI, E., METTULIO, R., PANDOLFELLI, N., FERRERO, E.A. y GIULIANINI, P.G. (2002). Gonad-inhibiting hormone of the Norway lobster (*Nephrops norvegicus*): cDNA cloning, expression, recombinant protein production, and immunolocalization. *Gene*, 284, 93-10.
- FAIRS, N.J., EVERSHERD, R.P., QUINLAN, P.T. y GOAD, L.J. (1989). Detection of unconjugated and conjugated steroids in the ovary, eggs, and haemolymph of the decapod crustacean *Nephrops norvegicus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 74, 199-208.
- FAIRS, N.J., QUINLAN, P.T. y GOAD, L.J. (1990). Changes in ovarian unconjugated and conjugated steroid titres during vitellogenesis in *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 89, 83-99.
- FEIJÓ, R.G., BRAGA, A.L., LANES, C.F.C., FIGUEIREDO, M.A., ROMANO, L.A., KLOSTERHOFF, M.C., ... MARINS, L.F. (2016). Silencing of gonad-inhibiting hormone transcripts in *Litopenaeus vannamei* females by use of the RNA interference technology. *Mar. Biotechnol.* 18, 117-123. doi: 10.1007/s10126-015-9676-2.
- FINGERMAN, M. (1997a). Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective, and introspective analysis. *Physiol Zool*, 70, 257-269.
- FINGERMAN, M. (1997b). Roles of neurotransmitters in regulating reproductive hormone release and gonadal maturation in decapod crustaceans. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 31, 47-54.
- GIRISH B.P., SWETHA, C.H. y REDDY, P.S. (2015). Expression of RXR, EcR, E75 and Vtg mRNA levels in the hepatopancreas and ovary of the freshwater edible crab, *Oziothelphusa senex senex* (Fabricius, 1798) during different vitellogenic stages. *Sci. Nature*, 102-110.
- GONG, J., YE, H., XIE, Y., YANG, Y., HUANG, H., LI, S. y ZENG, C. (2015). Ecdysone receptor in the mud crab *Scylla paramamosain*: a possible role in promoting ovarian development. *J. Endocrinol.* 224, 273-287.
- GHOSH, D. y RAY, A.K. (1993). 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity of ovary and hepatopancreas of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: relation to ovarian condition and estrogen treatment. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 89, 248-254.
- GRÈVE, P., SOROKINE, O., BERGES, T., LACOMBE, C., VAN DORSSELAER, A. y MARTIN, G. (1999). Isolation and amino acid sequence of a peptide with vitellogenesis inhibiting activity from the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Crustacea). *Gen. Comp. Endocrinol.* 115, 406-414.
- GU, P.L., TOBE, S.S., CHOW, B.K.C., CHU, K.H., HE, J.G. y CHAN, S.M. (2002). Characterization of an additional molt inhibiting hormone-like neuropeptide from the shrimp *Metapenaeus ensis*. *Peptides*, 23, 1875-1883.
- GUAN, Z.B., SHUI, Y., LIAO, X.R., XU, Z.H. y ZHOU, X. (2013). Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the ovary of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquaculture*, 67-71.
- GUNAMALAI, V., KIRUBAGARAN, R. y SUBRAMONIAM, T. (2004). Hormonal coordination of molting and female reproduction by ecdysteroids in the mole crab *Emerita asiatica* (Milne Edwards). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 138, 128-138.
- HAMPSHIRE, F. y HORN, D.H.S. (1966). Structure of crustecdysone, a crustacean moulting hormone. *Chem. Commun.*, 4567, 37-38.

- HAZEL, C.M. (1986). *Steroidogenesis in the female crab, Carcinus maenas*. (Ph.D. Thesis). University of Liverpool, pp. 81-121.
- HOPKINS, P.M. (2012). The eyes have it: A brief history of crustacean neuroendocrinology. *Gen. Comp. Endocrinol.*, *175*, 357-366.
- HORN, D.H.S., MIDDLETON, E.J., WUNDERLICH, J.A. y HAMPSHIRE, F. (1966). Identity of the moulting hormones of insects and crustaceans. *Chem. Commun.*, 339-340.
- HUBERMAN, A. (2000). Shrimp endocrinology: A review. *Aquaculture*, *191*, 191-102.
- JO, Q., LAUFER, H., BIGGERS, W.J. y KANG, H.S. (1999). Methyl farnesoate induced ovarian maturation in the spider crab *Libinia emarginata*. *Invertebr. Reprod. Dev.*, *36*, 79-85.
- KANG, B.J., OKUTSU, T., TSUTSUI, N., SHINJI, J., BAE, S.H. y WILDER, M.N. (2014). Dynamics of vitellogenin and vitellogenesis-inhibiting hormone levels in adult and subadult Whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Relation to molting and eyestalk ablation. *Biol. Rep.*, *90*(1): 12, 1-10. doi: 10.1095/biolreprod.113.112243.
- KATAYAMA, H., OHIRA, T., NAGATA, K. y NAGASAWA, H. (2001). A recombinant molt-inhibiting hormone of the kuruma prawn has a similar secondary structure to a native hormone: determination of disulfide bond arrangement and measurements of circular dichroism spectra. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, *65*, 1832-1839.
- KRUNGKASEM, C., OHIRA, T., YANG, W.J., ABDULLAH, R., NAGASAWA, H. y AIDA, K. (2002). Identification of two distinct molt-inhibiting hormone-related peptides from the giant prawn *Penaeus monodon*. *Mar. Biotechnol.*, *4*, 132-140.
- KULKARNI, G.K., NAGABHUSHANAM, R., AMALDOSS, G., JAISWAL, R.G. y FINGERMAN, M. (1992). *In vitro* stimulation of ovarian development in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), by 5-hydroxytryptamine. *Invertebr. Reprod. Dev.*, *21*, 231-240.
- LACHAISE, F., CARPENTIER, G., SOMME, G., COLARDEAU, J., y BEYDON, P. (1989). Ecdysteroid synthesis by crab Y-organs. *J. Exp. Zool.*, *252*, 283-292.
- LAFONT, R. y MATHIEU, M. (2007). Steroids in aquatic invertebrates. *Ecotoxicol.*, *16*, 109-130.
- LANOT, R. y CLEIDON, P. (1989). Ecdysteroids and meiotic reinitiation in *Palaemon serratus* (Crustacea, Decapoda, Natantia) and in *Locusta migratoria* (Insecta, Orthoptera) — A comparative study. *Invertebr. Reprod. Dev.*, *16*, 169-175.
- LAUFER, H., BIGGERS, W.J. y AHL, J.S.B. (1998). Stimulation of ovarian maturation in the crayfish *Procambarus clarkii* by methyl farnesoate. *Gen. Comp. Endocrinol.*, *111*, 113-118.
- LAUFER, H. y BIGGERS, W.J. (2001). Unifying concepts learned from methyl farnesoate for invertebrate reproduction and post-embryonic development. *Am. Zool.*, *41*, 442-457.
- LEELATANAVIT, R., UAWISETWATHANA, U., KHUDET, J., KLANCHUI, A., PHOMKLAD, S., WONGTRIPOP, S. ... KAROONUTHAISIRI, N. (2014). Effects of polychaetes (Perinereis nuntia) on sperm performance of the domesticated black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, *433*, 266-275.
- LI, G.L., CHEN, H.P., DENG, S.P., YE, M., JIANG, S., CHAN, S.F. y ZHU, C.H. (2015). *In vivo* and *in vitro* inhibitory action of 17 β -estradiol and environmental estrogen 4-nonylphenol on gonad-inhibiting hormone (GIH) expression in the eyestalks of *Litopenaeus vannamei*. *Gen. Mol. Res.* *14* (4), 14056-14065.

- LINDER, C.J. y TSUKIMURA, B. (1999). Ovarian development inhibition by methyl farnesoate in the tadpole shrimp *Triops longicaudatus*. *Am. Zool.*, 3, 20A.
- LUGO, J.M., MORERA, Y., RODRÍGUEZ, T., HUBERMAN, A., RAMOS, L. y ESTRADA, M.P. (2006). Molecular cloning and characterization of the crustacean hyperglycemic hormone cDNA from *Litopenaeus schmitti*. Functional analysis by double-stranded RNA interference technique. *FEBS J.*, 273, 5669-5677.
- LUO, X., CHEN, T., ZHONG, M., JIANG, X., ZHANG, L., REN, CH. y HU, CH. (2015). Differential regulation of hepatopancreatic vitellogenin (VTG) gene expression by two putative molt-inhibiting hormones (MIH1/2) in Pacific White shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Peptides*, 68, 58-63.
- MAK, A.S.C., CHOI, C.L., TIU, S.H.K., HUI, J.H.L., HE, J.G., TOBE, S.S. y CHAN, S.M. (2005). Vitellogenesis in the red crab *Charybdis feriatus*: hepatopancreas-specific expression and farnesoic acid stimulation of vitellogenin gene expression. *Mol. Reprod. Dev.*, 70, 288-300.
- MARCO, H.G., AVARRE, J.C., LUBZENS, E. y GÄDE, G. (2002). In search of a vitellogenesis-inhibiting hormone from the eyestalks of the South African spiny lobster, *Jasus lalandii*. *Invert. Reprod. Dev.*, 41, 143-150.
- MARSDEN, G., HEWITT, D., BOGLIO, E., MATHER, P. y RICHARDSON, N. (2008). Methyl farnesoate inhibition of late stage ovarian development and fecundity reduction in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 280, 242-246.
- MEERATANA, P., WITHYACHUMNARNKUL, B., DAMRONGPHOL, P., WONGPRASERT, K., SUSEANGTHAM, A. y SOBHON, P. (2006). Serotonin induces ovarian maturation in giant freshwater prawn broodstock, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *Aquaculture*, 260, 315-325.
- MERLIN, J., MOHANLAL, D.L., BALASUBRAMANIAN, C.P., SHERLY, T., SUBRAMONIAM, T., SYAMADAYAL, J., ... VIJAYAN, K.K. (2015). Induction of vitellogenesis and reproductive maturation in tiger shrimp, *Penaeus monodon* by 17 β -estradiol and 17 α -hydroxyprogesterone: *in vivo* and *in vitro* studies. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 59, 166-175.
- MERLIN, J., MOHANLAL, D.L., BALASUBRAMANIAN, C.P., VIJAYAN, K.K., SUBRAMONIAM, T., SHERLY, T., ... GOPAL, C. (2016). Vertebrate-type steroid profile in different tissues of wild and endocrinologically manipulated female broodstocks of *Penaeus monodon*. *Curr. Sci.*, 111, 1-7.
- MU, C., SONG, W., LI, R., CHEN, Y., HAO, G. y WANG, C. (2014). Identification of differentially expressed proteins relating to ovary development in *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture*, 426, 148-153.
- NAGARAJU, G.P.C., RAMAMURTHI, R. y REDDY, P.S. (2002). Methyl farnesoate stimulates ovarian growth in *Penaeus indicus*. En Harikumar, V.S. (Ed.), *Recent trends in biotechnology, Agrobios vol I*, 85-89.
- NAGARAJU, G.P.C. (2003). Mandibular organ; its role in the regulation of reproduction and molting in the crab *Oziotelphusa senex senex*. (PhD thesis), Sri Venkateswara University, Tirupati, India.
- NAGARAJU, G.P.C., SURAJ, N.J. y REDDY, P.S. (2003). Methyl farnesoate stimulates gonad development in *Macrobrachium malcolmsonii*. Milne Edwards. *Crustaceana*, 76, 1171-1178.
- NAGARAJU, G.P.C., REDDY, P.R. y REDDY, P.S. (2006). *In vitro* methyl farnesoate secretion by mandibular organs isolated from

- fifferent molt and reproductive stages of the crab *Oziotelphusa senex senex*. *Fish. Sci.* **72**, 410-414.
- NAGARAJU, G.P.C. (2007). Is methyl farnesoate a crustacean hormone? *Aquaculture*, **272**, 39-54.
- NAGARAJU, G.P.C., RAJITHA, B. y BORST, D.W. (2011). Molecular cloning and sequence of retinoid X receptor in the green crab *Carcinus maenas*: a possible role in female reproduction. *J. Endocrinol.* **210**, 379-390.
- NGUYEN, B.T., KOSHIO, S., SAKIYAMA, K., ISHIKAWA, M., YOKOYAMA, S. y KADER, M.A. (2012). Effects of polychaete extracts on reproductive performance of kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* Bate. –Part II. Ovarian maturation and tissue lipid compositions. *Aquaculture*, **334-337**, 65-72.
- OHIRA, T., OKUMURA, T., SUZUKI, M., YAJIMA, Y., TSUTSUI, N., WILDER, M.N. y NAGASAWA, H. (2006). Production and characterization of recombinant vitellogenesis-inhibiting hormone from the American lobster *Homarus americanus*. *Peptides*, **27**, 1251-1258.
- OKUMURA, T., HAN, C., SUZUKI, Y., AIDA, K., y HANYU, I. (1992). Changes in hemolymph vitellogenin and ecdysteroid levels during the reproductive and non-reproductive molt cycles in the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense*. *Zool. Sci.* **9**, 37-45.
- OLLIVAUX, C., VINH, J., SOYEZ, D. y TOULLEC, J.Y. (2006). Crustacean hyperglycemic and vitellogenesis-inhibiting hormones in the lobster *Homarus gammarus*: implications for structural and functional evolution of a neuropeptide family. *FEBS J.*, **273**, 2151–2160.
- OLLIVAUX, C., GALLOIS, D., AMICHE, M., BOSCAMERIC, M. y SOYEZ, D. (2009). Molecular and cellular specificity of post-translational aminoacyl isomerization in the crustacean hyperglycaemic hormone family. *Fed. Eur. Biochem. Soc. J.*, **276**, 4790-4802.
- ONGVARRASOPONE, C., ROSHORM, Y., SOMYONG, S., POTHIRATANA, C., PETCHDEE, S., TANGKHABUANBUTRA, J. y PANYIM, S. (2006). Molecular cloning and functional expression of the *Penaeus monodon* 5-HT receptor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, **1759**, 328-339.
- PARAN, B.C.H., FIERRO, I.J. y TSUKIMURA, B. (2010). Stimulation of ovarian growth by methyl farnesoate and eyestalk ablation in penaeoidean model shrimp, *Sicyonia ingentis* (Burkenroad, 1938). *Aquacult. Res.* **41**, 1887-1897.
- PEIXOTO, S., WASIELESKY, W. y CAVALLI, R.O. (2011). Broodstock maturation and reproduction of the indigenous pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in Brazil: An updated review on research and development. *Aquaculture*, **315** (1-2), 9-15.
- QIAN, Y.Q., DAI, L., YANG, J.S., YANG, F., CHEN, D.F., FUJIWARA, Y., ... YANG, W.J. (2009). CHH family peptides from an 'eyeless' deep sea hydrothermal vent shrimp, *Rimicaris kairei*: characterization and sequence analysis. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, **154**, 37-47.
- RAMOS, L. (1996). Fisiología y Bioquímica de la reproducción del camarón blanco *Penaeus schmitti*: su relevancia productiva. (Tesis para el grado de Dr. En Ciencias). Facultad de Biología, Universidad de la Habana.
- REDDY, P.R., NAGARAJU, G.P.C. y REDDY, P.S. (2004). Involvement of methyl farnesoate in the regulation of molting and

- reproduction in the freshwater crab *Oziotelphusa senex senex*. *J. Crust. Biol.* **24**, 511-515.
- RILEY, L.G. y TSUKIMURA, B. (1998). Yolk protein synthesis in the rice land tadpole shrimp, *Triops longicaudatus*, measured by in vitro incorporation of ³H-Leucine. *J. Exp. Zool.* **182**, 238-247.
- RODRÍGUEZ, A. (1996). A comparative study of the ovarian development in wild and pond-reared shrimp, *Penaeus kerathurus* (Forska^ol, 1775). *Aquaculture*, **148**, 63-75.
- RODRIGUEZ, E.M., LOPEZ-GRECO, L.S., MEDESANI, D.A., LAUFER, H. y FINGERMAN, M. (2002). Effect of methyl farnesate alone and in combination with other hormones, on ovarian growth of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* during vitellogenesis. *Gen. Comp. Endocrin.*, **125**, 34-40.
- SAINATH, S.B. y REDDY, P.S. (2011). Effect of selected biogenic amines on reproduction in the fresh edible crab, *Oziotelphusa senex senex*. *Aquaculture*, **313**, 144-148.
- SAINZ-HERNÁNDEZ, J.C., RACOTTAB, I.S., DUMASC, S. y HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. (2008). Effect of unilateral and bilateral eyestalk ablation in *Litopenaeus vannamei* male and female on several metabolic and immunologic variables. *Aquaculture*. **283**, 188-93.
- SAROJINI, R., NAGABHUSHANAM, R. y FINGERMAN, M. (1995a). *In vivo* effects of DA and DArgic antagonists on testicular maturation in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*. *Biol. Bull.* **189**, 340-346.
- SAROJINI, R., NAGABHUSHANAM, R., DEVI, M. y FINGERMAN, M. (1995b). DArgic inhibition of 5-hydroxytryptamine-stimulated testicular maturation in the fiddler crab, *Uca pugilator*. *Comp. Biochem. Physiol.* (C), **111**, 287-292.
- SAROJINI, R., NAGABHUSHANAM, R. y FINGERMAN, M. (1995c). Mode of action of the neurotransmitter 5-hydroxytryptamine in stimulating ovarian maturation in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* - an *in-vivo* and *in-vitro* study. *J. Exp. Zool.*, **271**, 395-400.
- SARIKA, S.N. y ANILKUMAR, G. (2014). DNA binding domain of retinoid receptor gene (RXR) from a field crab inhabiting Indian peninsula. *Ind. J. Biotech.*, **13**, 52-56.
- SATHAPONDECHA, P., PANYIM, S. y UDOMKIT, A. (2015). A novel function of bursicon in stimulation of vitellogenin expression in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, **446**, 80-87.
- SOYEZ, D., VANDELJNEN, J.E. y MARTIN, M. (1987). Isolation and characterization of a vitellogenesis-inhibiting factor from sinus glands of the lobster, *Homarus americanus*. *J. Exp. Zool.* **244**, 479-484.
- SOYEZ, D., LE CAER, J.P., NOEL, P.Y. y ROSSIER, J. (1991). Primary structure of two isoforms of the vitellogenesis inhibiting hormone from the lobster *Homarus americanus*. *Neuropeptides*, **20**, 25-32.
- SPAZIANI, E., REES, H.H., WANG, W.L. y WATSON, R.D. (1989). Evidence that Y-organs of the crab *Cancer antennarius* secrete 3-dehydroecdysone. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **66**, 17-25.
- SUBRAMONIAM, T. (2016). Sexual Biology and Reproduction in Crustaceans. *Acad. Press. Elsevier*, 1-528
- SUBRAMONIAM, T. (2017). Steroidal Control of Vitellogenesis in Crustacea: A new understanding for improving shrimp hatchery production. *Proc Indian Natn Sci Acad*, **83**(3), 595-610. doi: 10.16943/ptinsa/2017/48969
- SUBRAMONIAM, T. y KIRUBAGARAN, K. (2010). Endocrine regulation of vitellogenesis in

- lobsters *J. Mar. Biol. Assoc. India.*, *52*, 229-236.
- SWETHA, C.H., GIRISH, B.P. y REDDY, P.S. (2016). Elucidation of the role of estradiol and progesterone in regulating reproduction in the edible crab, *Oziothelphusa senex senex*. *RSC Advances*, *6*, 24959-24967.
- TAKAC, P., LAUFER, H. y PRESTWISH, G.D. (1993). Characterization of methyl farnesoate (MF) binding proteins and the metabolism of MF by some tissues of the spider crab *Libinia emarginata*. *Am. Zool.* *33*, 10A.
- TARRANT, A.M., BEHRENDT, L., STEGEMAN, J.J. y VERSLYCKE, T. (2011). Ecdysteroid receptor from 656 the American lobster *Homarus americanus*: EcR/RXR isoform cloning and ligand- 657 binding properties. *Gen. Comp. Endocrinol.* *173*, 346-355.
- TATA, J.R. y SMITH, D.F. (1979). Vitellogenesis: a versatile model for hormonal regulation of gene expression. *Recent. Prog. Horm. Res.* *35*, 47-95.
- TECHA, S. y CHUNG, J.S. (2013). Ecdysone and retinoid-X receptors of the blue crab, *Callinectes sapidus*: cloning and their expression patterns in eyestalks and Y-organs during the molt cycle. *Gene*, *527*, 139-153.
- TINIKUL, Y., MERCIER, A.J., SOONKLANG, N. y SOBHON, P. (2008). Changes in the levels of serotonin and dopamine in the central nervous system and ovary, and their possible roles in the ovarian development in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, *158*, 250-258.
- TINIKUL, Y., SOONTHORNTHUMRITH, B., PHOUNGPETCHARA, I., MEERATANA, P., POLJAROEN, J., DUANGSUWAN, P., ... SOBHON, P. (2009). Effects of serotonin, dopamine, octopamine, and spiperone on ovarian maturation and embryonic development in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *Crustaceana*, *82*, 1007-1022.
- TINIKUL, Y., POLJAROEN, J., NUURAI, P., ANURACPREEDA, P., CHOTWIWATTHANAKUN, C., PHOUNGPETCHARA, I., ... SOBHON, P. (2011a). Existence and distribution of gonadotropin-releasing hormone-like peptides in the central nervous system and ovary in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Cell Tissue Res.*, *343*, 579-593.
- TINIKUL, Y., POLJAROEN, J., KORNTONG, N., CHOTWIWATTHANAKUN, C., ANURACPREEDA, P., POOMTONG, T., ... SOBHON, P. (2011b). Distribution and changes of serotonin and dopamine levels in the central nervous system and ovary of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, during ovarian maturation cycle. *Cell Tissue Res.*, *345*, 103-124.
- TINIKUL, Y., POLJAROEN, J., TINIKUL, R., ANURACPREEDA, P., CHOTWIWATTHANAKUN, C., SENIN, ... SOBHON, P. (2014). Effects of gonadotropin-releasing hormones and dopamine on ovarian maturation in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and their presence in the ovary during ovarian development. *Aquaculture*, *420-421*, 79-88.
- TINIKUL, Y., POLJAROEN, J., TINIKUL, R. y SOBHON, P. (2016). Changes in the levels, expression, and possible roles of serotonin and dopamine during embryonic development in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, *225*, 71-80.
- TIU, S.H.K., HUI, J. MAK, A.S.C., HE, J. y CHAN, S.M. (2006). Equal contribution of hepatopancreas and ovary to the production of vitellogenin (PmVg1) transcripts in the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, *254*, 666-674.

- TIU, S.H.K. y CHAN, S.M. (2007). The use of recombinant protein and RNA interference approaches to study the reproductive functions of a gonad-stimulating hormone from the shrimp *Metapenaeus ensis*. *FEBS J.*, *274*, 4385-4395.
- TOKISHITA, S.I., KATO, Y., KOBAYASHI, T., NAKAMURA, S., OHTA, T. y YAMAGATA, H. (2006). Organization and repression by juvenile hormone of a vitellogenin gene cluster in the crustacean, *Daphnia magna* *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, *345*, 362-370.
- TOMY, S., SAIKRITHI, P., JAMES, N., BALASUBRAMANIAN, C.P., PANIGRAHI, A., OTTA, S.K. y PONNIAH, A.G. (2016). Serotonin induced changes in the expression of ovarian gene network in the Indian white shrimp, *Penaeus indicus*. *Aquaculture*, *452*, 239-246.
- TREERATRAKOOL, S., PANYIM, S. CHAN, S.M., WITHYACHUMNARNKUL, B. y UDOMKIT, A. (2008). Molecular characterization of gonad-inhibiting hormone of *Penaeus monodon* and elucidation of its inhibitory role in vitellogenin expression by RNA interference. *FEBS J.*, *275*, 970-980.
- TREERATRAKOOL, S., PANYIM, S. y UDOMKIT, A. (2011) Induction of ovarian maturation and spawning in *Penaeus monodon* broodstock by double stranded RNA. *Mar. Biotechnol.*, *13*, 163-169.
- TREERATRAKOOL, S., PHROMMA-IN, N., CHARTTHAI, C.H. y UDOMKIT, A. (2013). Silencing of gonad-inhibiting hormone gene expression in *Penaeus monodon* by feeding with GIH dsRNA-enriched Artemia. *Aquaculture*, *404-405*, 116-121.
- TREERATRAKOOL, S., BOONCHOY, C.H., URTGAMA, S., PANYIM, S. y UDOMKIT, A. (2014). Functional characterization of recombinant gonad-inhibiting hormone (GIH) and implication of antibody neutralization on induction of ovarian maturation in marine shrimp. *Aquaculture*, *428-429*, 166-173.
- TROPEA, C. y LÓPEZ-GRECO, L.S. (2013). Effect of long-term injection of dopamine on the ovarian growth of *Cherax quadricarinatus* juvenile females (Parastacidae, Decapoda). *Acta Zool.*, *94*, 462-470.
- TSUKIMURA, B. y BORST, D.W. (1992). Regulation of methyl farnesoate in the hemolymph and mandibular organ of the lobster *Homarus americanus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, *86*, 297-303.
- TSUKIMURA, B., KAMEMOTO, F.I. y BORST, D.W. (1993). Cyclic nucleotide regulation of methyl farnesoate synthesis by the mandibular organ of the lobster *Homarus americanus*. *J. Exp. Zool.*, *265*, 427-431.
- TSUKIMURA, B. y KAMEMOTO, F.I. (1991). *In vitro* stimulation of oocytes by presumptive mandibular organ secretions in the shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, *92*, 59-66.
- TSUKIMURA, B., NELSON, W.K. y LINDER, C.J. (2006). Inhibition of ovarian development by methyl farnesoate in the tadpole shrimp, *Triops longicaudatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, *144*, 135-144.
- TSUTSUI, N., SAIDO-SAKANAKA, H., YANG, W.J., JAYASANKAR, V., JASMANI, S. y OKUNO, A. (2004). Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin in the coonstiriped shrimp, *Pandalus hypsinotus* and site of vitellogenin mRNA expression. *J. Exp. Zool. A.*, *301A*, 802-14.
- TSUTSUI, N., KATAYAMA, H., OHIRA, T., NAGASAWA, H., WILDER, M.N. y AIDA, K. (2005). The effects of crustacean hyperglycemic hormone-family peptides on vitellogenin gene expression in the Kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, *144*, 232-239.

- TSUTSUI, N., OHIRA, T., KAWAZOE, I., TAKAHASHI, A. y WILDER, M.N. (2007). Purification of sinus gland peptides having vitellogenesis-inhibiting activity from the Whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Mar. Biotech.*, *9*, 360–369. doi: 10.1007/s10126-006-6151-0.
- TSUTSUI, N., NAGAKURA-NAKAMURA, A., NAGAI, C., OHIRA, T., WILDER, M.N. y NAGASAWA, H. (2013). The *ex vivo* effects of eyestalk peptides on ovarian vitellogenin gene expression in the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*. *Fish Sci.*, *79*, 33-8.
- UAWISSETWATHANA, U., LEELATANAWIT, R., KLANCHUI, A., PROMMOON, J., KLINBUNGA, S. y KAROONUTHAISIRI, N. (2011). Insights into Eyestalk Ablation Mechanism to Induce Ovarian Maturation in the Black Tiger Shrimp. *PLoS ONE* *6*(9), e24427. doi:10.1371/journal.pone.0024427.
- VRINDA, S., JASMIN, C., SIVAKUMAR, K.C., SEENA, J., BLESSY, J., ROSAMMA, P. y BRIGHT SINGH, I.S. (2017). Regulating gonad inhibition and vitellogenin/vitelin induction in *Penaeus monodon* using mature GIH fusion protein and polyclonal antisera. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* *203*, 167-178.
- WAINWRIGHT, G., PRESCOTT, M.C. y REES, H.H. (1996). Mass spectroscopic determination of methyl farnesoate profiles in correlation with ovarian development in the edible crab *Cancer pagurus*. *J. Biol. Chem.*, *271*, 12749-12754.
- WANG, Z.Z. y XIANG, J.H. (2003). Cloning and analysis of three genes encoding type II CHH family neuropeptides from *Fennropenaeus chinensis*. *Yi Chuan Wue Bao*, *30*, 961-966.
- WARRIER, S., TIRUMALAI, R. y SUBRAMONIAM, T. (2001). Occurrence of vertebrate steroids, estradiol 17- β and progesterone in the reproducing females of the mud crab *Sylla serrate*. *Comp. Biochem. Physiol.* *130A*, 283-294.
- WARRIER, S. y SUBRAMONIAM, T. (2002). Receptor mediated yolk protein uptake in the crab *Scylla serrata*: crustacean vitellogenin receptor recognizes related mammalian serum lipoproteins. *Mol. Reprod. Dev.*, *61*, 536-548.
- WEBSTER, S.G., KELLER, R., y DIRCKSEN, H. (2012). The CHH-superfamily of multifunctional peptide hormones controlling crustacean metabolism, osmoregulation, moulting, and reproduction. *Gen. Comp. Endocrinol.* *175*, 217–33.
- WILDER, M.N., OKUMURA, T., SUZUKI, Y., FUSE-TANI, N. y AIDA, K. (1994). Vitellogenin production induced by eyestalk ablation in juvenile giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish. Sci.*, *61*, 101-106.
- Wilder, M.N., Okada, S., Fusetani, N. y Aida, K. (1995). Hemolymph profiles of juvenoid substances in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in relation to reproduction and molting. *Fish. Sci.*, *61*, 175-176.
- WILDER, M.N., OKUMURA, T. y TSUTSUI, N. (2010). Reproductive mechanisms in Crustacea focusing on selected prawn species: vitellogenin structure, processing and synthetic control. *Aqua-Bio. Sci. Monogr.*, *3*, 73–110.
- WOUTERS, R., NIETO, J. y SORGELOOS, P. (2001). Penaid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research development. *Aquaculture*, *202*, 1-21.
- XU, H., ZHANG, Y., LUO, K., MENG, X., LUAN, S., CAO, B., ... KONG, J. (2017). Arachidonic acid in diets for early maturation stages enhances the final reproductive performances of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, *479*, 556-563.

- YANG, Z.B., ZHAO, Y.L., LI, N. y YANG, J. (2007). Effect of waterborne copper on the microstructures of gill and hepatopancreas in *Eriocheir sinensis* and its induction of metallothionein synthesis. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 52, 222-228.
- YANG, X.Z., ZHAO, L.L., ZHAO, Z.Z., HU, B. et al. (2012). Immunolocalization of estrogen receptor in *Neomysis japonica* oocytes and follicle cells during ovarian development. *Tissue Cell.*, 44, 95-100.
- YANO, I. (2000). Endocrine control of reproductive maturation in penaeid shrimp. *Recent advances in marine biotechnology*, 4 *Aquaculture* Pt. A. Enfield, NH: Science Publishers Inc. 161176.
- YANO, I. y HOSHINO, R. (2006). Effects of 17 β -estradiol on the vitellogenin synthesis and oocyte development in the ovary of kuruma prawn (*Marsupenaeus japonicus*). *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 144, 18-23.
- YODMUANG, S., UDOMKIT, A., TREERATRAKOOL, S. y PANYIM, S. (2004). Molecular and biological characterization of molt-inhibiting hormone of *Penaeus monodon*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 312, 101-114.
- ZAPATA, V., LÓPEZ-GRECO, L.S., MEDESANI, D. y RODRÍGUEZ, M. (2003). Ovarian growth in the crab *Chasmagnathus granulata* induced by hormones and neuroregulators throughout the year. *In vitro* and *in vivo* studies. *Aquaculture*, 224, 339-352.
- ZMORA, N., TRANT, J., ZOHAR, Y. y CHUNG, J.S. (2009a). Molt-inhibiting hormone stimulates vitellogenesis at advanced ovarian developmental stages in female blue crab, *Callinectes sapidus*. 1: an ovarian stage dependent involvement. *Saline systems*, 5, 1-11.
- ZMORA, N., SAGI, A., ZOHAR, Y. y CHUNG, J.S. (2009b). Molt-inhibiting hormone stimulates vitellogenesis at advanced ovarian developmental stages in female blue crab, *Callinectes sapidus*. 2: novel specific binding sites in hepatopancreas and cAMP as a second messenger. *Saline systems* 5, 1-11.

COMO CITAR ESTE ARTÍCULO

González Ferriol, M., Betancourt Aguiar, J.L., Ramos Trujillo, L. (2018). Endocrinología de la reproducción en crustáceos decápodos (Crustacea: Decapoda): Avances científicos y perspectivas futuras. *Rev. Invest. Mar.*, 38(1), 1-27.