
EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y ECLOSIÓN DE LARVAS DE *Limulus polyphemus* L.

TEMPERATURE EFFECT IN EMBRIO AND LARVAL DEVELOPMENT OF *LIMULUS POLYPHEMUS* L.

NOTA CIENTÍFICA

J. F. GONZÁLEZ-URIBE*, A.
A. ORTEGA-SALAS*, A.
LAGUARDA-FIGUERAS*
*Instituto de Ciencias del Mar y
Limnología, UNAM. México
04510, D.F.
Trabajo parcialmente
presentado en el "Fish and
Larviculture Symposium"
LARVI91. Agosto 27-30 de
1991, Gante, Bélgica.

RESUMEN

A partir de nidos colectados en su medio natural, se seleccionaron huevos para estudiar el desarrollo de embriones y larvas eclosionadas en cautiverio, bajo 3 temperaturas diferentes: 25, 30 y 35°C, salinidad entre 22 y 33‰, y pH entre 7.2 y 8.4. Se utilizaron 2 medios: arena y sin arena (control). La mayor sobrevivencia y tasa de desarrollo se obtuvieron en el grupo control a 30°C.

ABSTRACT

Selected eggs, collected from natural nest, were studied to know embryo and larvae development, hatched under 3 different temperatures: 25, 30 and 35°C, salinity between 22 and 33‰, and pH ranged from 7.2 to 8.4. The substrate was sand and without sand (control). Higher surviving and development was registered at the control with 30°C.

Introducción

Limulus polyphemus especie mejor conocida en México como "Cacerolita de Mar", tiene una gran importancia biomédica, debido a que a partir de su hemolinfa (sangre) se elabora el Lisado de Amebocitos de *Limulus* (LAL) que es un agente muy sensible y preciso para la detección de endotoxinas bacterianas (Shuster, 1982).

Las poblaciones de *L. polyphemus* se localizan en Estados Unidos desde Maine hasta Florida y en México en los litorales de la Península de Yucatán, destacando Río Lagartos y Laguna de Términos, localidades donde se han reportado las máximas arribazones (Gómez Aguirre, 1983).

El huevo de *Limulus* es del tipo centrolecito (Brown y Knours, 1973), con gran cantidad de vitelo. Está cubierto por una gruesa membrana externa llamada corión, que se desprende en fases avanzadas, quedando una membrana transparente, que permite que el embrión sea observado durante su crecimiento (Fig. 1).

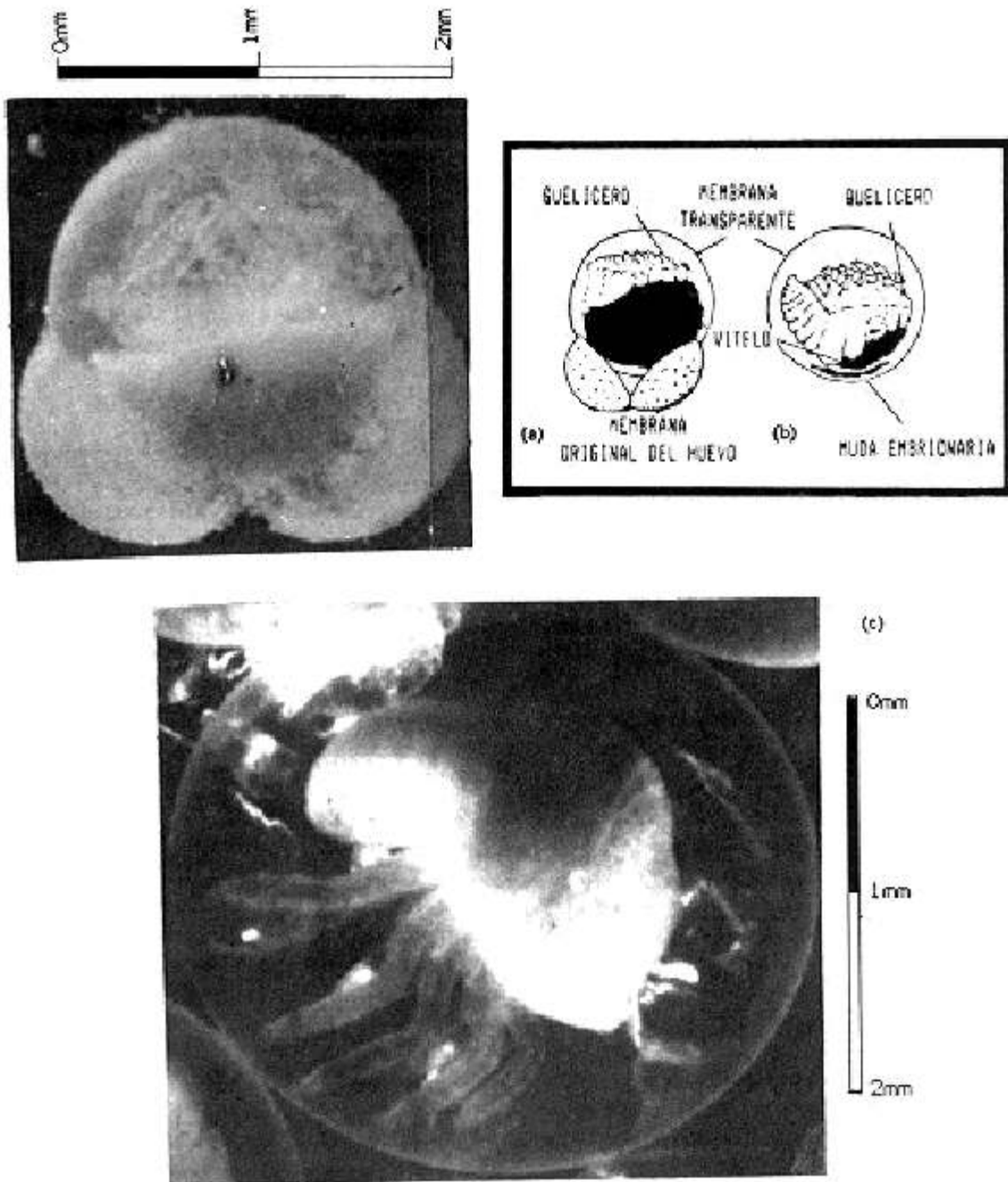


Figura 1. Embrión de *L. polyphemus*. a) después de mudar la membrana externa, se observa en desarrollo un huevo en estadio avanzado (HEA), b) iniciado la fase de larva en pre-eclosión (LPE), c) Larva totalmente formada y a punto de eclosionar.

La primera fase de vida libre de *L. polyphemus* se denomina "Larva trilobita" (Gómez Aguirre y Flores Moran, 1987), su eclosión suele darse en el término de un ciclo lunar, de tal manera, que al retornar las altas pleamares, estas remueven los nidos y quedan las larvas liberadas en la planicie inmediata, o bien, son arrastradas a las marismas o pantanos en donde continúan su crecimiento gradual y lento (Gómez Aguirre, 1983). La larva "trilobite" se distingue por su gran actividad natatoria nocturna (Rodloe, 1979), característica que va perdiendo conforme avanza su desarrollo (Fig 2).

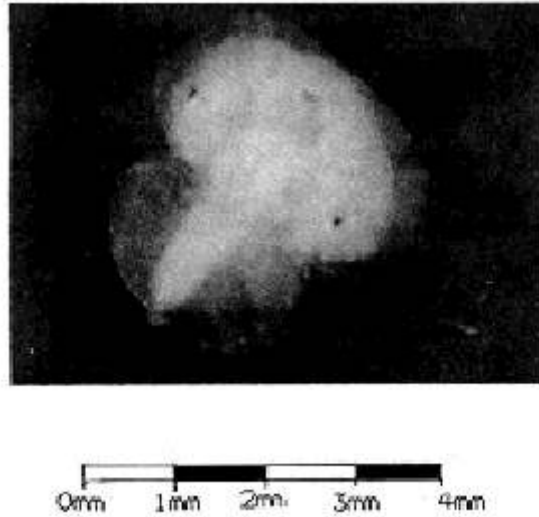


Figura 2. Larva "Trilobita".

Aproximadamente 7 días después de que la larva "Trilobita" abandona el nido, se produce la primera muda y pasa a la primera fase "Limulito" (Fig 3), denominada también "first tailed" (Rodloe, 1979; Gómez Aguirre y Flores Moran, 1987).



Figura 3. Fotografía que muestra la primera fase "limulito".

Los diferentes estadios de desarrollo son tolerantes a un amplio rango de salinidad y temperatura, siendo más sensibles a esta última. Laughlin (1983) estudió el efecto de la temperatura y la salinidad en la tasa de crecimiento de larvas: a 30 y 35°C el desarrollo es muy rápido, en comparación a 20°C, donde es marcadamente lento.

En México, *L. polyphemus* está declarada como una especie en peligro de extinción (Diario Of. Fed. 16 de mayo de 1994), por lo que es necesario que se lleven a cabo estudios que permitan su conservación y aprovechamiento. La presente investigación aporta el desarrollo de fases juveniles de *L. polyphemus* en cautiverio a partir de huevos colectados de nidos naturales para contribuir a su proliferación y conservación.

Metodología

Los huevos de *L. polyphemus* se obtuvieron a partir de muestras de nidos colectados en Isla Cabrera. Los muestreos se realizaron a lo largo de la línea intermareal escarbando en la arena 10 a 20 cm, hasta localizar el nido. Se tomaron algunos huevos y se colocaron en un contenedor de unicel junto con sedimento y agua marina (salinidad 30 ‰).

Los huevos colectados fueron transportados a la Ciudad de México y colocados en acuarios, bajo condiciones controladas de temperatura y salinidad.

La incubación de los huevos se realizó a 3 temperaturas 25, 30 y 35°C, manteniendo constante la salinidad dentro de un rango de 25 a 30‰. Se probaron además, los efectos producidos al incubarlos utilizando dos medios diferentes: arena y control.

Se instalaron 3 acuarios, que correspondieron a cada una de las temperaturas a ensayar (25, 30 y 35°C). Se les colocó una capa de conchuela (restos de conchas de moluscos y gasterópodos) proveniente de la zona de colecta, para proveer carbonatos de calcio en solución, y se llenaron con agua de mar a 25‰; también se les proporcionó aireación constante y se controló la temperatura por medio de termostatos. En cada acuario se introdujeron cajas de petri de vidrio (9 x 1 cm) como contenedores. Se colocaron 50 huevecillos en cada contenedor, unos en arena y otros sin arena (control). Los contenedores se cubrieron con una trama de tul de 1mm de luz de malla, para evitar la pérdida de los huevecillos.

El desarrollo embrionario se dividió en 3 fases que se distinguen por el tamaño y la coloración del huevo.

1) Huevo de primeros estadios (HPE). Coloración verde oliva a amarillo claro: 1.6 a 1.8 mm de diámetro.

2) Huevo de estadios avanzados (HEA). Huevo hialino en el cual se observa el embrión en desarrollo: 1.8 a 2.1 mm. de diámetro.

3) Larva en preeclusión (LPE). Huevo hialino en el que se observa a la larva totalmente formada y la cual presenta movimientos de rotación y de sus apéndices.

Se realizaron censos diariamente, separando y colocando en otro contenedor los huevos que pasaban a estadios más avanzados, con los datos obtenidos se construyeron gráficas de sobrevivencia y mortalidad.

Resultados

Las condiciones ambientales correspondientes a los ensayos realizados en marzo y junio de 1991 variaron como sigue: temperatura de 22 a 36°C, salinidad de 22 a 40‰ y pH de 7.2 a 8.4. La temperatura fue el factor que se mantuvo sin variación significativa; la salinidad varió sensiblemente, debido al alto índice de evaporación, este factor no influye en la tasa de desarrollo de embriones y larvas, ya que toleran altas salinidades.

La figura 4 muestra el efecto de la temperatura en la sobrevivencia de embriones, larvas y primera fase "limulito". Al comparar la sobrevivencia entre las tres temperaturas, se observó que la mayor sobrevivencia se consigue a 30°C (control) con 31 larvas, a esa misma temperatura sólo sobrevivieron 3 larvas en arena.

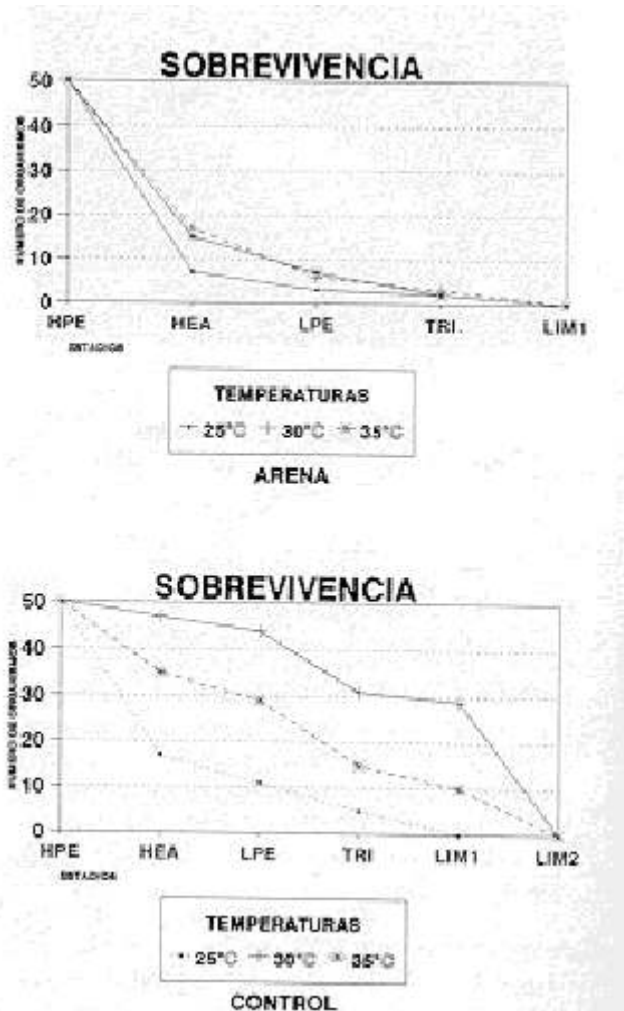


Figura 4. Gráficas que muestran la sobrevivencia de huevos, larvas y fase limulito 1 de *L. polyphemus*, bajo 3 temperaturas (25, 30 y 35°C). A) arena, B) control. HPE=Huevo de primeros estadios. HEA=Huevo de estadios avanzados. LPE=Larva en preclusión. TRI= "Larva trilobita". LIM1=Limulito. LIM2=Limulito 2.

Discusión

De acuerdo a las observaciones, a 30°C se obtienen los mejores resultados, lo cual concuerda con el modelo matemático desarrollado por Laughlin (1983), a partir del cual, construyó un diagrama de interacción lineal que predice los efectos de la temperatura y salinidad sobre la velocidad de desarrollo de la larva trilobita.

Rudloe (1979), reporta una duración de 45 días para el desarrollo de las primeras fases larvianas, a partir de la etapa de huevo. Laughlin (1983) reporta, que a 20°C son necesarios de 89 a 176 días para alcanzar la fase trilobita, a 25°C se requieren entre 41 y 51 días, a 30°C de 20 a 28 días, y finalmente a 35°C entre 27 y 34 días.

Conclusiones

La mayor sobrevivencia se obtuvo en los contenedores control a 25, 30 y 35°C, y de éstas el mayor número de larvas se obtuvo a 30°C. Esto debido a que en los contenedores con arena, proliferaron algas, protozoarios, bacterias y hongos, entre otros organismos, que afectan directamente al huevo; en cambio en los grupos control las

condiciones son más asépticas. Queda confirmado, por tanto, que la temperatura recomendable para la incubación de embriones es de 30°C, sin necesidad de utilizar arena u otro sustrato.

Recomendaciones

Con el propósito de conseguir la mayor sobrevivencia en condiciones de cultivo, es recomendable controlar otros factores tales como el amonio, mantener el agua en circulación, y hacer recambios de agua preferentemente diarios.

Los contenedores limitan la actividad natatoria de la larva trilobita propiciando condiciones de "estrés" para las mismas, por lo que se les debería proporcionar mayor espacio. En relación a la fase "limulito", es conveniente proporcionarle una dieta con alimento vivo a base de microalgas, rotíferos y *Artemia*.

LITERATURA CITADA

- BROWN, G. G. Y J. R. KNOURS, 1973. Effects of sperm. concentration, sperm ageing and other variables on fertilization in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. Biol. Bull., 144: 462-470.
- GÓMEZ-AGUIRRE, S., 1983. *Limulus polyphemus* L. (Arthropoda-MEROSTOMATA) del Sureste del Golfo de México. Mem. VII Simp. Lat-amer. Oceanogr, 28 nov.-2 dic. Montevideo, Uruguay.
- GÓMEZ AGUIRRE, S Y M. FLORES-MORÁN, 1987. Vida planctónica de la larva trilobita de *Limulus polyphemus*. An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. de México 58 Ser. Zoología, 2: 839-842.
- LAUGHLIN, R., 1983. The effect of temperatura and salinity on larval growth of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. Biol. Bull., 164: 93-164.
- RUDLOE, A., 1979. Locomotor and light responses of larvae of horseshoe crab crab, *Limulus polyphemus* (L.). Biol. Bull., 157: 494-501.
- SHUSTER, C. N. JR., 1953. Odissey of the horseshoe crab. Auubon Magazine. 55(4): 162-163.
- SHUSTER, C. N. JR., 1982. Physiology and biology of horseshoe crabs. Studies on normal and environmental Stressed animals. p.1-52. Alan R. Liss, Inc. 150 fith avenue, New York, N.y. 10011.

Trabajo recibido el 15 - 08 - 94 y aceptado el 22 -10 - 94