

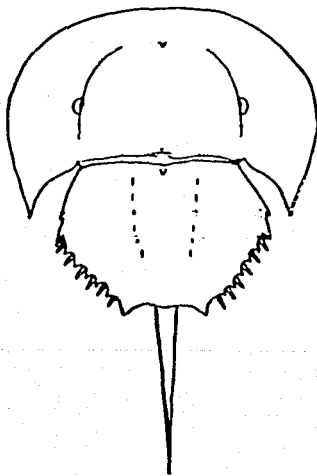
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

80  
24

**“EFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIPO DE SUSTRATO SOBRE  
EL DESARROLLO Y LA SOBREVIVENCIA DE HUEVECILLOS  
Y FASE LARVARIA DE *Limulus polyphemus* L.  
(Arthropoda-Merostomata)”**



TESIS DE LICENCIATURA QUE PRESENTA PARA OBTENER EL TITULO DE  
BIOLOGO .

JOSE FRANCISCO GONZALEZ URIBE

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1992



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS-----	1
DEDICATORIA-----	11
RESUMEN Y ABSTRACT -----	111
INTRODUCCION-----	1
ANTECEDENTES-----	4
Biología general	
Distribución	
Reproducción	
Desarrollo embrionario	
Eclosion y larva trilobita	
Fases limulito	
Area de Colecta	
OBJETIVOS-----	11
MATERIAL Y METODO-----	12
Colecta de nidos	
Trabajo de laboratorio	
RESULTADOS-----	17
De campo	
De laboratorio	
DISCUSION-----	26
CONCLUSION-----	30
LITERATURA CITADA-----	32
FIGURAS-----	36
TABLAS-----	53
SERIE FOTOGRAFICA-----	58
ANEXO-----	64

### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Samuel Gómez Aguirre y al Dr. Armando A. Ortega Salas por la dirección del Trabajo y de su entusiasta colaboración.

Al Dr. J. Eduardo Aguayo Camargo, Director del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por el apoyo brindado y las facilidades de equipo de computo y espacio físico.

Al M. en C. Francisco Vera Herrera por el apoyo prestado en la estación de Cd. del Carmen, Campeche.

A Ricardo Gómez de SEPEBCA por su valiosa ayuda al transportarme a las islas Pajaros y Cabrera en lancha.

A Ruben Presuel Polanco por la información bibliográfica proporcionada.

Al M. en C. Mario Segura Almaraz y a Alfredo Gamboa por su ayuda en la obtención de fotografías y fotomicrografías.

A Helga Ochoterena por sus comentarios y sugerencias

A Todas las personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo.

*DEDICATORIA*

Dedico el presente trabajo a:

*A las especies en peligro de desaparecer de la faz de la tierra.*

*A mi Mamá por ver un ideal realizado.*

*A Vicente, para superar lo tratado en este manuscrito.*

*A el equipo de los Gañanes:*

*Daniel*

*Jorge*

*Hugo*

*Gudiño*

*José Luis*

*Hector*

*José Cuauhtemoc*

## RESUMEN

Limulus polyphemus es una especie que ha sido poco estudiada en México, y que se encuentra en peligro de extinción. Este trabajo pretende ser un medio para dar inicio a acciones concernientes a su conservación, ya que se estudia el desarrollo de embriones, larvas y primeras fases juveniles en cautiverio. Se visitó Isla Aguada, Campeche, para la localización de nidos y colecta de huevecillos, los que se transportaron a la Cd. de México y se instalaron en acuarios. Se probaron 3 diferentes temperaturas (25, 30 y 35°C) para conocer cual de estas es la más adecuada para el desarrollo de las etapas embrionarias y larvaria. Adicionalmente se comparó el efecto que tiene el utilizar contenedores sin sustrato y con sustrato (arena). Se probaron diferentes tipos de alimentos (fertilizantes orgánicos y Artemia sp) para conocer cual es el más adecuado para las fases juveniles. Los resultados muestran que 30°C es la temperatura óptima para el desarrollo embrionario y primeros juveniles. La menor sobrevivencia se presentó en los contenedores con sustrato. La Artemia sp resultó ser uno de los alimentos más adecuados para las fases juveniles.

Palabras clave: Limulus polyphemus, Temperatura, sustrato, desarrollo larvario.

## ABSTRACTS

Limulus polyphemus is a species which has been few studied in Mexico. This species is in extinction danger. This work pretends to be a way for initiate actions for its conservation, because this is a study of embryos, larvae and first juvenile development fases in captivity conditions. Isla Aguada, Campeche was visited for collecting nest which were brought to Mexico City and installed under aquary conditions. Three different temperatures were settled (25, 30 and 35°C).

Additionaly containers with sustrata and without sustrata were used. Ddiferent tipos of food (organic fertilizers and Artemia sp) for alimentation of juveniles were used. The results showed that the optimal temperatue is 30°C for embryonic and larvae development. Minor survival rates occurred in containers with sustrata. Artemia sp is the best fud for juvenile fases.

key Words: Limulus polyphemus Temperature, sustrata, larvae development.

## INTRODUCCION

Limulus polyphemus especie mejor conocida en México como la "Cacerolita de mar" o "Mesh" en lengua maya, pertenece al grupo de los artrópodos merostomados (Subclase: Xiphosura, Orden: Xiphosurida, Suborden: Limulina, Superfamilia: Limulicea, Familia: Limulidae) que se remonta al período devónico, hace ya 350 millones de años, de aquí radica su importancia desde el punto de vista evolutivo, ya que es un organismo pancrónico, además tiene gran importancia en la medicina, ya que a partir de su hemolinfa (sangre) se elabora el LAL (Lisado de Amebocitos de Limulus) que es un agente de diagnóstico para la detección de endotoxinas bacterianas.

A pesar de que existe un gran número de investigaciones referentes a Limulus, éstas se han centrado principalmente sobre cuestiones biomédicas, fisiológicas y ecológicas, siendo pocas las tendientes a conocer las primeras fases de su ciclo vital.

En los Estados Unidos esta especie ha sido objeto de numerosos estudios, siendo la mayoría de las contribuciones sobre su biología básica e historia natural de Shuster (1948, 1950, 1953, 1954, 1957, 1960, 1962, 1979, 1982 a y b) y Rudlos (1978, 1979 a y b, 1981).

En México existen pocas referencias acerca de Limulus polyphemus tales estudios están enmarcados en cuestiones sobre la citología de la hemolinfa (González-Guzman et al, 1967); la morfología de amebocitos (Sagura et al, 1980); biología básica

(Chavez y Muñoz, 1975); demografía (Gómez-Aguirre, 1979, 1980, 1985; Informes Técnicos Biologías de Campo, Facultad de Ciencias, 1986, 1988, 1989); comensalismo (Pineda Lopez, 1979); riesgo de extinción (Escalante et al, 1980); así como mantenimiento de huevecillos y larvas en laboratorio (González-Uribe y Ortega Salas, 1991).

La existencia de pocos estudios sobre el desarrollo post embrionario de Limulus polyphemus, puede ser causa de que aún no ha sido establecida una metodología para cultivar juveniles (Sekiguchi, 1988).

Las primeras fases de vida libre de L. polyphemus son vitales para la sobrevivencia de esta especie, de aquí el interés de un estudio de este tipo, ya que conociendo más sobre la reproducción in vitro así como cada una de sus fases, se podrán llevar a cabo liberaciones en masa a los diferentes litorales de la Península de Yucatán con la finalidad de recuperar las poblaciones naturales y así contribuir a la conservación de este importante grupo de artrópodos, que como lo han consignado diversos autores se encuentra en peligro de extinción (Escalante et al., 1980; Gómez-Aguirre, 1985).

Recientemente en nuestro país se han iniciado investigaciones referentes a Limulus reconociendo su valor biológico y su potencial como recurso natural, estas se han enfocado principalmente sobre aspectos demográficos. La inquietud de realizar el presente estudio surgió a partir de ideas planteadas en los cursos de Biología de Campo: "Introducción a la Demografía de Limulus polyphemus L."; "Demografía de Limulus



polyphemus II, sus áreas de arribazón en los litorales de Campeche" y "Demografía de Limulus polyphemus III, estudio de la población en Isla Aguada y Laguna de Términos, Campeche" (Informes Técnicos, Facultad de Ciencias, UNAM, 1986, 1988 y 1989 respectivamente). En dichos cursos se plantearon objetivos que pretendieron, estimar índices de reproducción, localizar y evaluar poblaciones de juveniles y adultos, estimar la sobrevivencia de larvas en condiciones naturales y experimentales, etc.

El rigor de tales investigaciones, justifica la necesidad de continuar con los estudios demográficos de Limulus, aunado a que como es bien sabido las poblaciones de la "Cacerolita de Mar" están en peligro de extinción.

Las poblaciones de L. polyphemus que habitan las zonas litorales, sublitorales e insulares del Banco de Campeche están siendo sometidas a procesos de impacto ambiental por diversas circunstancias (expansión de la industria petrolera, crecimiento de áreas portuarias, urbanas y turísticas) que se manifiestan deteriorando los habitats naturales de Limulus, con la consiguiente disminución de las poblaciones, hecho que se ha venido observando durante las últimas tres décadas (Gómez-Aguirre, 1983), por lo que de manera urgente, es necesario realizar investigaciones sobre su biología.

Conociendo la problemática que existe en México al respecto, se decidió realizar la presente investigación para propugnar en las medidas para su protección, y en otro sentido conocer al organismo en si mismo.

## ANTECEDENTES

### BIOLOGIA GENERAL DE Limulus polyphemus.

#### DISTRIBUCION

Limulus polyphemus L. es una de las cuatro especies actuales de Xifosuros (Shuster, 1982b) y la única que habita en el continente americano. Las otras tres especies Tachyploeus tridentatus Leach; T. gigas (Muller) Leach; y Garcinoscorpius rotundicauda Latreille se localizan en el Indopacífico (figura 1) en Malasia, Singapur, Vietnam, Tailandia, Borneo, Mar de China, Golfo de Bengala, Indonesia, Islas Filipinas y sur del Japón (Shuster 1982b; Sekiguchi et al, 1988).

En nuestro país, las poblaciones de L. polyphemus se distribuyen sólo en la Península de Yucatán (Gómez-Aguirre, 1987); y en los Estados Unidos desde la Florida hasta el estado de Maine (figura 2) (Shuster 1982b; Rudloe y Rudloe, 1981).

En estudios recientes sobre demografía en nuestro país (informes técnicos Biologías de Campo, Facultad de Ciencias, 1986, 1988) se localizaron los principales sitios de reproducción en la península de Yucatán (figura 3) entre los cuales destacan, por la magnitud de las arribaciones, Río Lagartos (Yucatan) y la Laguna de Términos (Campeche).

#### REPRODUCCION

Durante las estaciones de primavera y verano, en los días de

las máximas pleamares, los organismos adultos salen a las playas arenosas en grandes grupos a reproducirse (arribazón). El apareamiento ocurre en la línea intermareal. La hembra, mas grande que el macho, arrastra a éste, que la sujeta con sus pedipalpos modificados en forma de garfio por el dorso opistomal, hasta el momento de la puesta que ocurre una vez que la hembra ha seleccionado el lugar para cavar su nido, donde deposita los ovulos para ser fecundados por el macho (Cohen y Brockman, 1983; Shuster, 1953, 1982 a y b).

El número de huevecillos por nido puede variar de 2000 a 30,000 (Cohen y Brockman, 1983). El nido tiene aproximadamente 15-20 cm de profundidad e igual diametro, a esta profundidad fluye el agua intersticial que habra de mantener el desarrollo de los embriones y la primera fase larvaria (Gomez-Aguirre y Flores-Moran, 1987)

#### DESARROLLO EMBRIONARIO

El huevo de Limulus es del tipo centrólecito (Brown y Knours, 1973), con gran cantidad de vitelo. Está cubierto por una gruesa membrana llamada corion (envoltura del huevo o membrana externa).

El corion esta constituido por dos capas una interna denominada lamina basal y otra externa llamada envoltura vitelina (Dumont y Anderson, 1967). Sobre esta membrana hay una capa delgada y transparente constituida por una sustancia gelatinosa adhesiva.

Brown y Clapper (1981) describieron el desarrollo de Limulus usando fotografías de embriones reconociendo 21 etapas desde la fecundación del ovulo hasta el momento de la eclosión. Sin

embargo existe dificultad en identificar con claridad los rasgos externos de algunas de estas etapas. Alternativamente, Sekiguchi et al (1988), mostraron todas estas etapas del desarrollo embrionario con ilustraciones. Cada una de estas etapas se muestran en las figuras 4 y 5 a-c.

Para fines prácticos se propone la siguiente tabla basada en los informes técnicos de las biólogas de campo (1986, 1988 y 1989), modificada para esta investigación, que simplifica el seguimiento de las fases del desarrollo embrionario y evita recurrir a técnicas que utilizan sustancias que pueden dañar al huevo.

1...HUEVO DE PRIMEROS ESTADIOS (HPE)	Coloración verde oliva a amarillo claro. 1.6 a 1.8mm. de diámetro.
2...HUEVO DE ESTADIOS AVANZADOS (HEA)	Huevo hialino en el cual se observa al embrión en desarrollo. 1.8 a 2.1mm. de diámetro.
3...LARVA PRE-ECLOSION (LPE)	Huevecillo hialino en el que se observa a la larva totalmente formada y la cual presenta movimientos de rotación y de batimiento de sus apéndices.

Dependiendo principalmente de la temperatura, los huevecillos se pueden desarrollar en un período cuya duración puede ser de unas cuantas semanas a varios meses hasta la eclosión de la larva trilobita (Jelga y Costlow, 1979, 1982).

Se ha reportado que bajo condiciones óptimas, mas del 50% de los huevecillos alcanzan la fase de larva "trilobita", mientras

que en combinaciones de baja temperatura (20°C) y salinidad (10-150/00) la sobrevivencia es notablemente menor (Laughlin, 1983).

#### ECLOSION Y LARVA TRILOBITA

La primera fase de vida libre de *L. polyphemus* se denomina Larva "trilobita" por su semejanza con los ya extintos trilobitas, quienes presentan una tagmosis similar: cefalotorax, abdomen y pigidio (Gómez-Aguirre y Flores-Morán, 1987). Asimismo, algunos autores la han denominado como "instar I" (Sekiguchi, 1988; Brown y Clapper, 1981).

La eclosión de la larva "trilobita" suele darse en el término de un ciclo lunar de tal manera que al retornar las altas pleamares, estas remueven los nidos y las larvas son liberadas hacia la planicie inmediata o bien son arrastradas a las marismas o pantanos del sistema insular en donde continúan su crecimiento gradual y lento (Gómez-Aguirre, 1987).

La larva "trilobita" realiza sus desplazamientos por natación y propulsión que le ofrecen sus apéndices abdominales (branquíferos) en posición dorsal, de manera semejante a como lo hacen los crustáceos branquiópodos como *Artemia salina* (Gómez Aguirre y Flores Moran, 1987).

En la larva trilobita aún no se encuentran completamente desarrollados los sistemas circulatorio y digestivo (Barnes, 1990; Shuster, 1988a). La larva presenta una provisión de vitelo que le permite enfrentar las inestabilidades tróficas en su hábitat (fig 6).

## FASES LIMULITO

Aproximadamente una semana después de que la larva "trilobita" abandona el nido, muda y pasa al primer limulito (En la literatura se le ha denominado "first tailed" o "Instar II"). Para evitar confusiones con los términos utilizados tanto para la larva "trilobita" como para las posteriores etapas, se decidió adoptar el concepto "limulito" de acuerdo con la terminología propuesta por Gómez-Aguirre y Flores-Moran (1987) para nombrar las fases juveniles.

El comportamiento del animal cambia abruptamente en esta muda, es decir, cesa la actividad natatoria nocturna característica de la larva "trilobita" (Rudloe, 1979b) y llega a ser un animal bentónico que alternativamente deambula en la superficie del sustrato o se entierra en la arena.

Recientemente Brown y Clapper (1981), describieron los procedimientos para coleccionar gametos, incubar embriones y mantener adultos, logrando desarrollar organismos hasta la fase limulito III (instar IV) Esta fase también se logra en laboratorio (Informe Técnico, 1985) y recientes investigaciones han alcanzado la fase limulito VI (Gómez-Aguirre com. pers.).

Sakiguchi (1988), cultivó organismos obtenidos a partir de huevecillos fertilizados artificialmente, alcanzando la fase limulito XIII (Instar XIV), manteniendolos bajo un rango de temperatura de 30 a 35°C y en diferentes salinidades (20, 25, 30 y 35 o/oo), con recambios de agua diariamente y con una dieta a base de Artemia sp., lombriz de tierra y almeja. No obstante, este autor no menciona las condiciones, la cantidad y la

regularidad con la que es proporcionado estos alimentos y cual de ellos es el más adecuado.

Es de hacer notar que el número exacto de mudas requeridas para alcanzar la madurez sexual y el tiempo que llegan a sobrevivir los animales ya maduros es aún desconocido. De acuerdo con Shuster (1954, 1960) Limulus toma de 9 a 11 años y 19 o más mudas para llegar a la capacidad reproductora, sin embargo, estos calculos son estimaciones. A consideraciones similares se llega en los estudios de la demografía de L. polyphemus en la Península de Yucatán (Informes Técnicos, Biologías de Campo, Facultad de Ciencias, 1986, 1988).

Laughlin (1983), menciona que las primeras etapas de desarrollo de L. polyphemus toleran variaciones amplias de temperatura y salinidad (20-35°C y 10-35 o/oo) dentro de los cambios ambientales normales, aunque comparativamente son más sensibles a bajas temperaturas que a bajas salinidades. Fisiológicamente Limulus polyphemus es una especie que está bien adaptada al "stress" térmico y osmótico de la zona intermareal (Robertson, 1970).

#### AREA DE COLECTA

Isla Aguada se localiza en la porción noreste de la Laguna de Términos (fig. 7). Es una region caracterizada por presentar abundantes bajos y canales, además de tener influencia marina, ya que existe un flujo de agua oceánica hacia el interior de la laguna por la Boca de Puerto Real, por lo que se mantienen valores elevados de salinidad (30 a 40 o/oo).

El tipo de marea es mixta (con dos pleamares o bajamares marcadamente desiguales en cada día de marea), con una amplitud de 0.45m.

El sedimento de la Laguna de Términos esta constituido por arena, limos y arcillas. La distribución del tipo de grano varia en las diferentes zonas de la laguna debido principalmente a las corrientes y al aporte de los ríos. En la zona existe una predominancia del grano fino representado por limos y arcillas siendo el aporte pluvial el posible causante del sedimento característico. Por otro lado, en la zona Este (que incluye a Isla Aguada) los sedimentos dominantes son las arenas carbonatadas, cuyo contenido de carbonatos de calcio, alcanza valores comprendidos entre el 50 y el 75%, que provienen de las calizas de la placa de Yucatán através de escurrimientos, oleaje y descarga del río Candelaria (Yáñez-Correa, 1963; Phlanger y Ayala, 1971).

El clima regional es cálido húmedo, del tipo Amw (ig) de acuerdo al sistema de Koopen modificado por García (1973). Con dos estaciones de lluvias separadas por una temporada seca en verano y una en invierno. La temperatura máxima es de 36°C durante el verano y el valor mínimo es de 22°C registrandose en el invierno.

La precipitación pluvial promedio es de 1600 mm con un intervalo que va de los 1200 a 2000 mm. Se definen tres épocas climáticas marcadas: a) período de secas de febrero a mayo, b) período de lluvias de junio a octubre y c) período de nortes de octubre a febrero. (Yáñez-Arancibia y Day, 1982).



La salinidad varía dependiendo de la época del año, durante la estación de lluvias desciende hasta 15% y en época de nortes hasta 4%, mientras que en la época de seca aumenta hasta 34% o más. Existe una graduación de la salinidad hacia la región continental debido principalmente a los aportes fluviales en esta zona (Amezcuea y Yáñez-Arancibia, 1980).

La vegetación emergente en las margenes está constituida por palmeras y diversas especies de mangle, entre las que destacan por su abundancia Rhizophora mangle (mangle rojo), Avicennia germinans (mangle negro), Leauncularia racemosa (mangle blanco) y Sonneratia erecta. La vegetación sumergida está formada por pastos marinos (Thalassia, Halodule y Syringodium) que constituyen importantes praderas ubicadas en las regiones cercanas a Isla del Carmen e Isla Aguada (Yáñez-Arancibia y Day 1982).

### OBJETIVOS

Conocer en base a un ensayo experimental cual es la temperatura más adecuada para el desarrollo embrionario y en cual se obtiene mayor sobrevivencia de larvas y primeras fases juveniles.

Evaluar el efecto de un sustrato (arena) en la sobrevivencia de huevecillos, larvas y primeras fases juveniles.

Conocer que tipo de alimento es más adecuado para la nutrición de juveniles de Limulus polyphemus.

Destacar las primeras fases de desarrollo mediante fotomicrografías de embriones, larvas y primeros juveniles de L. polyphemus

## MATERIAL Y METODO

### Colecta de nidos

La búsqueda de nidos de *L. polyphemus* se realizó principalmente en Isla Aguada, Campeche, haciendo también algunas exploraciones en islas aledañas (Cabrera y Pájaros) (figura 7), en septiembre y noviembre de 1990 y marzo de 1991. Se visitaron estas localidades en condiciones de marea baja durante períodos de luna llena, lo cual facilita la búsqueda de nidos.

En todas estas localidades se realizó un transecto en la línea intermareal y se buscaron nidos escarbando en la arena (con una cuchara de albañilería) hasta una profundidad de 10 a 20 cm.

Las muestras de nidos fueron transportadas a la Cd. de México en una hielera e instaladas en acuarios en el Laboratorio de Dinámica de Poblaciones y Acuicultura del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM.

### Trabajo de Laboratorio

Los huevecillos se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura (25, 30 y 35 °C), salinidad (25 a 30 o/oo) y pH (7.5 a 8.5), probando el efecto de su incubación en 2 medios: uno con sustrato arenoso y otro sin sustrato.

Para facilitar el manejo y conteo de los huevecillos se usó una caja de petri (9 x 1 cm) como contenedor.

Cuando se utilizó sustrato, el contenedor se llenó primero con arena obtenida por tamizado de la zona de colecta, se colocaron los huevecillos y se cubrieron con esta misma. Posteriormente se

procedió a sellar los contenedores con una red de tul de 1mm de luz, para evitar su pérdida y daño al manipularlos. Cada grupo experimental estuvo constituido por 50 huevecillos; ya que un número mayor ocasiona que sean atacados por hongos (obs. per.).

Los contenedores se colocaron en acuarios con una capa de conchuela proveniente del lugar de colecta para proveer carbonatos de calcio en solución y mantener el pH estable. En cada acuario se colocó un filtro que mantuvo el agua en circulación por medio de aereación constante con una bomba para acuario. Se instalaron un total de 3 acuarios, que correspondieron a cada una de las temperaturas ensayadas, colocando en su interior dos contenedores, uno con sustrato y otro sin sustrato (figura 8).

El control de la temperatura se realizó utilizando termostatos. Para evitar la formación de algas en las paredes de las peceras se forraron exteriormente con plástico negro, asimismo la superficie externa de cada pecera se cubrió con plástico transparente con la finalidad de controlar la evaporación y por ende la salinidad, especialmente en las peceras de 30 y 35°C, permitiendo la penetración de luz.

Se realizaron censos periódicos, separando los huevecillos de acuerdo a su fase de desarrollo, basándose en la tabla que simplifica el seguimiento de las fases del desarrollo embrionario (ver antecedentes).

Una vez ocurrida la eclosión, las larvas trilobitas, se instalaron en contenedores con las mismas características que al

incubar los huevecillos. A las larvas trilobita no se les proporciono alimento, pues, como ya se menciono, cuentan con reservas de vitelo. Una vez que mudaron y pasaron a la fase limulito I, se les proporcionó alimento comercial para alevines.

Para conocer lo factible de utilizar Artemia sp y dos tipos de fertilizantes organicos (vacaza y mangle) como alimento de juveniles, se mantuvieron en acuarios adicionales larvas y juveniles a los que se les proporciono Artemia sp viva. En el caso de los fertilizantes orgánicos se les proporciono en forma de detritus a partir de vacaza y de un fermentado de hojas de mangle.

La vacaza es utilizada como fertilizante para la alimentacion natural de Artemia sp (Ortega-Salas A.A., com. pers.) podria ser adecuada para la alimentacion de las primeras fases juveniles de Limulus.

Se decidió utilizar el fermentado de hojas de mangle porque los bosques de manglar al aportar considerables cantidades de hojarasca y materia organica contribuye en gran medida a la formación de detritus que se incorporan a la cadena trófica en el sistema lagunar estuarino de la Laguna de Términos.

La vacaza también es una fuente para la obtención de materia orgánica en forma de detritus.

El fermentado de mangle se preparo tomando 200 g de hojas de mangle rojo (Rhizophora mangle) obtenidas en Isla Cabrera, se licuaron con 500 ml de agua del mismo lugar, en el caso de la vacaza se mezcló el excremento de vaca fresco con agua, cada una

de estas mezclas se colocó por separado en frascos herméticamente cerrados y puestos al sol por dos semanas, destapándolos diariamente para permitir la salida del gas formado. Con la materia orgánica obtenida de esta forma se procedió a fertilizar los acuarios mencionados con 20 ml de estos preparados cada tercer día.

Asimismo, se efectuó el seguimiento de las primeras fases del desarrollo de *Limulus*, tomándose fotomicrografías de huevecillos, embriones, larva trilobita y fases limulito a partir de material vivo y fijado.

Se utilizaron los sistemas estereoscópico y óptico con un adaptador para cámara.

## RESULTADOS

### De campo:

En septiembre de 1990 solamente se encontraron nidos en Isla Cabrera, los cuales estaban constituidos por huevecillos en las primeras etapas de desarrollo (HPE).

En Noviembre de 1990 solo se visitó Isla Aguada y no se encontraron nidos.

En Marzo de 1991 se encontraron nidos en Isla Cabrera los cuales se hallaban sobre y bajo la línea intermareal. Estos nidos estaban constituidos en su mayoría por huevecillos en estadios (HEA), además de algunas larvas formando parte de ellos. Los nidos se encontraban sobrepuestos por lo cual no se podían delimitar, se hallaban superficialmente y llegaban a manifestarse hasta profundidades de 20 a 40 cm.

Se observó que hay un alto grado de depredación (no cuantificada), por parte de algunas aves (gaviotas), sobre los nidos de L. polyphemus.

Los registros de los nidos en el campo pueden dar una aproximación de los posibles picos reproductores en los que ocurrieron las arribazones (marzo y agosto); sin embargo, se requiere un muestreo completo y más intensivo para corroborarlo.

Isla Cabrera, se puede considerar hasta el momento como el único lugar en la Laguna de Términos donde ocurren arribazones y por ende anidaciones. Esta localidad se encuentra muy cerca de Isla Aguada (aproximadamente 2 Km) lo cual puede representar, a corto plazo, un peligro para esta localidad que se mantiene aún con poca alteración.

### De laboratorio:

La tabla I muestra las condiciones ambientales (temperatura, salinidad y pH) en los ensayos realizados del 4 de marzo al 2 de junio de 1991, (con y sin sustrato). En esta tabla se observa que la temperatura se mantuvo estable y las variaciones que se presentaron ocurrieron en forma gradual. En el caso de la salinidad las fluctuaciones fueron mayores en los ensayos correspondientes a 35°C, en los cuales se presentó la mayor desviación, esto ocasionado por la constante evaporación. Asimismo en el caso del pH, las variaciones que se presentaron fueron también de forma gradual.

En la tabla II se muestran los resultados de sobrevivencia en dichos ensayos, en esta se observa que en los tratamientos sin sustrato se alcanza la fase limulito I (FL1), en contraste con los tratamientos con sustrato, en los cuales sólo se alcanzó a obtener a la larva trilobita (LTR).

En las graficas de sobrevivencia (figuras 9, 10, 11 y 12) se observa el efecto de la temperatura en la sobrevivencia de huevecillos, larvas y primera fase limulito. La mayor sobrevivencia ocurrió en todos los ensayos sin sustrato. Al comparar la sobrevivencia entre las tres temperaturas se observó que la mayor se consigue a 30°C ya sea con sustrato o sin el.

La figura 13 muestra la mortalidad a partir de huevecillos en cada una de las temperaturas ensayadas, con sustrato, tomando en cuenta los días transcurridos. En esta gráfica se observa que a



25°C la mortalidad se mantiene constante hasta el día 40, cuando se estabiliza y se mantiene hasta el día 65, en este ciclo se mantuvieron larvas preescisión y larvas trilobita. Una curva similar se presenta a 30°C, pero hasta el día 30 en donde tiende a estabilizarse, sin embargo vuelve a caer en el día 38. Durante este ciclo también se tenían larvas preescisión y larvas trilobita.

A 35°C la mortalidad se mantuvo constante hasta el día 43 en que murio toda la población. Esto debido posiblemente a que algunas de las condiciones no son adecuadas para estas fases.

La figura 14 muestra la mortalidad a partir de huevecillos en cada una de las temperaturas ensayadas, sin sustrato, tomando en cuenta los días transcurridos. Se puede observar que a 25°C se presento una alta mortalidad a partir del día 22 registrandose mas del 50% de individuos muertos hasta el día 40 en donde se estabiliza la curva hasta llegar al día 64 donde vuelve a caer, en este ciclo se mantuvieron solo larvas preescision.

A 30°C la curva se estabiliza a partir del día 40 hasta el día 60, en este período se mantuvieron larvas trilobita y fase limulito I. La curva vuelve a caer y se estabiliza nuevamente a partir del día 78 hasta el día 92, en este periodo solamente se encontraban organismos de la fase limulito I.

A 35°C la curva se estabilizó a partir del día 42 y se mantuvo hasta el día 61, en este período se encuentran larvas trilobita e individuos de la fase limulito I. Todas las caídas coinciden con el momento de la muda, en el cual son más sensibles.

Limulus polyphemus como organismo integrante de la fauna bentonica tiene una estrecha relacion con los diferentes tipos de sustratos (arenas, arcillas y limos). Sin embargo, los ensayos realizados con sustrato arenoso mostraron que este tiene un efecto negativo (disminución de la sobrevivencia) en condiciones de cautiverio, por lo que resultaria interesante realizar experimentos en condiciones diferentes (p.e. utilizando conchuela, y probando diferentes granos.

Con sustrato el comportamiento es muy similar independientemente de la temperatura como se observo en las figuras 9 y 11. Esto mismo se ve en la figura 13 correspondiente a la mortalidad. Este comportamiento podria ser diferente al utilizar cualquier otro tipo de sustrato.

En condiciones naturales el sustrato protege a los nidos de sus depredadores mas potenciales, lo cual podria representar una ventaja que compense el efecto negativo en la sobrevivencia.

La tabla III muestra los tiempos promedios de eclosion y de obtencion de la fase limulito I. La figuras 15 y 16 muestran las graficas correspondientes. Para la larva trilobita, a 25°C se registraron los mayores tiempos promedio de desarrollo. Con sustrato arenoso fueron necesarios 52 dias y sin sustrato 69 dias, sin embargo, en este ultimo la sobrevivencia fue mayor. A 30°C se registro el tiempo mas corto siendo necesarios 38 dias para la eclosion de la larva trilobita con sustrato arenoso y 30 dias sin sustrato, en este ultimo la sobrevivencia fue notablemente mayor (31 larvas) en comparacion con el ensayo con

sustrato arenoso (3 larvas). A 35°C el tiempo promedio fue de 30 días para el ensayo con sustrato arenoso y de 32.5 días sin sustrato, siendo la sobrevivencia notablemente mayor en el ensayo sin sustrato (15 larvas) en comparación con el ensayo con sustrato (2 larvas).

Así pues, la temperatura es un factor que influye en la tasa de desarrollo. Estos resultados muestran que a 30 y a 35°C el tiempo de eclosión es el más corto en comparación con 25°C. Esto es más notable en los ensayos realizados sin sustrato.

En el caso de la fase limulito I no se consiguió a 25°C tanto con sustrato y sin el. A 30°C se requirieron 38 días, con sustrato, y 48 días, sin sustrato. A 35°C, sin sustrato, se requirieron 56 días.

La figura 17 muestra los tiempos en los que se alcanzó cada una de las fases de desarrollo, desde el huevo hasta la larva trilobita, en los ensayos realizados con sustrato. En esta figura se observa que los huevecillos de primeros estadios (HPE) a 25 °C permanecen en esta fase durante 40 días mientras que a 30 y 35°C, durante 43 días. En el caso de los huevecillos de estadios avanzados (HEA) a 25°C permanecen 26 días, requiriendo 35 días a 30°C y 30 días a 35°C. Para la fase de larva preeclosión (LPE) a 25°C se requirieron 24 días y a 30°C y 35°C 19 días. En el caso de la larva trilobita (LTR) a 25°C la secuencia fue de 21 días, a 30°C de 18 días y a 35°C de 9 días.

La figura 18 muestra los tiempos en los que se alcanzaron cada una de las fases de desarrollo desde el huevo hasta la fase

limulito I, en los ensayos realizados sin sustrato. En esta figura se observa que los huevecillos de primeros estadios (HPE) permanecen durante más tiempo en esta fase a 25°C (43 días) y un tiempo comparativamente menor a 30°C y 35°C (22 y 23 días respectivamente).

En el caso de los huevecillos de estadios avanzados (HEA) el tiempo más corto (16 y 18 días) ocurrió a 30 y 25°C respectivamente, a 35°C fueron necesarios 28 días.

Para la fase de larva precociación se requirieron 56 días a 25°C, y a 30 y 35°C fue necesario menos de la mitad del tiempo (27 y 23 días respectivamente).

En el caso de la larva trilobita (LTR) a 25°C la secuencia fue de 25 días, siendo de mayor duración para 30 y 35°C (57 y 55 días respectivamente).

Para la fase limulito I a 30°C la secuencia fue de 75 días y a 35°C de 44 días, a 25°C no se consiguió esta fase.

Al comparar los resultados, tanto con sustrato como sin éste, se concluye que en el caso de HPE con sustrato la duración de la secuencia fue del doble que sin sustrato (30 y 35°C). Para 25 °C no hay diferencia. Para HEA las secuencias más cortas ocurrieron en todos los ensayos sin sustrato. En el caso de LPE las secuencias más largas se encontraron a 25°C tanto en los ensayos con sustrato como en aquellos sin sustrato. En el caso de (LTR) las secuencias más largas ocurrieron en los ensayos sin sustrato.

En condiciones naturales un factor muy importante es el tiempo de incubación de los huevecillos, el cual está sincronizado con

el ciclo de mareas, y si se presentara un desfaseamiento, las larvas podrian quedar expuestas a las condiciones extremas de temperatura y salinidad, lo cual significaria una alta mortalidad.

En cuanto a la alimentacion, a los individuos que se les proporciono Artemia viva, alcanzaron la fase limulito V y VI, comparado con los individuos que se alimentaron con la materia orgánica conseguida con los fermentados de vacasa y mangle con los que sólo se alcanzó la fase limulito III, lo cual indica que la Artemia es un alimento adecuado para Limulus.

#### Replicas

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en los ensayos realizados en el período marzo a junio de 1991, se hicieron dos replicas para cada una de las temperaturas sin utilizar sustrato (período junio-agosto de 1991). Esto con el objeto de estimar la necesidad de realizar un mayor numero de ensayos y de confirmar o rechazar los primeros resultados.

La tabla IV muestra las condiciones ambientales (temperatura, salinidad y pH) en estos ensayos. Al compararlas con las de los ensayos realizados en el período marzo junio, se observa que los rangos de temperatura son más estables, lo cual puede ser un factor que contribuye a que haya mayor sobrevivencia.

La tabla V muestra los resultados de sobrevivencia en estos ensayos. Para construir la gráfica se promediaron las dos replicas realizadas para cada temperatura. Las gráficas

correspondientes se muestran en las figura 19 y 20. En ellas se observa el efecto de la temperatura en la sobrevivencia de huevecillos, larvas y fases limulito; siguiendo un comportamiento similar a los ensayos del período marzo junio (figuras 10). Consiguiendo mayor número de larvas trilobite y fase limulito I a 30 y 35°C. Lo cual confirma que la temperatura es un factor determinante en la sobrevivencia.

En la tabla VI se muestran los tiempos promedio de eclosión de la larva trilobita y de obtención de la fase limulito I. Las figuras 21 y 22 muestran las gráficas correspondientes.

En la figura 21 se observa que en el caso de la eclosión de la larva trilobita el tiempo promedio mas corto se consiguió a 25°C y a 35°C. A 30°C el tiempo requerido fue de 28 días. Las diferencias que se aprecian con el período marzo-junio (tabla III y figura 15) es posible que hayan sido a causa de que las condiciones fueron más estables en las replicas, en el caso de 25°C la temperatura minima fue de 22°C y en el período marzo-junio fue de 20°C. Lo cual puede explicar la reducción en el tiempo de eclosión.

La figura 21 muestra los tiempos promedio de obtención de la fase limulito I, la cual se vió en todas las temperaturas ensayadas. Al comparar estos resultados con el primer ensayo hay una reducción en el tiempo a 25°C y a 35°C.

En los ensayos realizados en condiciones experimentales se alcanzaron las fases limulito I y II, por lo que es probable que si se hacen modificaciones a la metodología se puedan conseguir

mayor número de estadios (ver discusión).

Se tomaron datos merísticos de larvas trilobita y fase limulito de organismos obtenidos durante las colectas y se compararon con los obtenidos por Sekiguchi (1988), (tabla VII), existiendo diferencias entre sí. Estas pueden ser explicadas en términos ecológicos, es decir, la población de Carolina del Norte es de una región Neártica y la de Isla Aguada de una Neotropical, lo cual puede influir sobre la tasa de crecimiento.

Las tablas de registros (VIII a XVIII) con las que se elaboraron las tablas de sobrevivencia se muestran en el anexo.

Las microfotografías obtenidas se muestran en el apartado correspondiente.

## DISCUSION

Los resultados indican que Isla Aguada, localidad que podía considerarse como vivero natural (informes Técnicos, 1986, 1988 y 1989), ahora se encuentra en alto grado de perturbación por los asentamientos humanos que hay en las cercanías y, más aún, recientemente (marzo de 1991) se han presentado asentamientos irregulares sobre los lugares de lugares de anidación. Esto, aunado a la tala del mangle, explica la falta de nidos en una zona que había sido reportada como uno de los principales sitios de arribazón en México (Informes técnicos Biología de Campo 1986, 1988 y 1989).

En el caso de la incubación de huevecillos se propone realizarla en contenedores a 30°C y sin utilizar sustrato, durante un período de 15 a 20 días. Una vez obtenida la larva trilobita colocarlas en una pecera que contenga una delgada capa de arena que les permita enterrarse. A su vez tendrá suficiente espacio para realizar sus movimientos natatorios, lo cual se mantenía restringido en los contenedores. Sekiguchi (1988), utilizó contenedores de diferentes tamaños con una pequeña capa de arena para cada una de las fases limulito.

Otro factor que puede ser importante concierne a realizar intercambios de agua lo más frecuentemente posible, Sekiguchi et al (1988) realizaron el cambio de agua diariamente, reutilizando en algunas ocasiones agua filtrada. Sin embargo, esta frecuencia puede significar un "stress" para los organismos, por lo que es necesario hacer evaluaciones al respecto.

Entre otras modificaciones se proponen cambios en cuanto a la



alimentación de los juveniles. Sekiguchi et al (1988), alimentaron juveniles de Limulus a partir de la fase limulito III con Artemia sp., con trozos de lombriz de tierra y de almeja, consiguiendo en algunos casos la fase limulito XVIII. Por lo que basandose en los resultados de este autor y los conseguidos en este experimento, se puede argumentar que la Artemia es el mejor alimento para juveniles, y puede ser proporcionada a partir del limulito II.

Basandose en los resultados obtenidos en este experimento se concluye que la temperatura que arrojó mejores resultados fue la de 30°C. Lo anterior refuerza las observaciones de Laughlin (1983), quien encontro que 31°C es la temperatura óptima dentro de un rango amplio de salinidades (20 a 35o/oo).

La temperatura en condiciones naturales varia en el año de 22 a 36°C y la salinidad de 30 a 40 o/oo, esto como efecto de la precipitación y evaporación.

Los resultados obtenidos en laboratorio se podrian extrapolar a las condiciones naturales, debido a que en el habitat natural se dan las condiciones probadas en laboratorio y en algunos casos se rebasan las mismas, esto ocasionado por sobrecalentamientos que se pueden dar en las marismas.

En condiciones de laboratorio es muy importante obtener la mayor sobrevivencia. En los trabajos de Sekiguchi et al (1988) y Laughlin (1983), se da sólo importancia al tiempo de desarrollo. La finalidad en la presente investigación es la de enfatizar en la sobrevivencia, pero además en la tasa de desarrollo.

Rudloe (1979), reporta una duración de 5 semanas para el desarrollo embrionario. Como resultado de esta investigación se consiguieron fases larvarias después de un período que abarco de 3 a 4 semanas, lo cual coincide más con las observaciones de campo realizadas por Gomez-Aguirre (1979).

En cuanto al tiempo requerido para la obtención de la fase limulito I, Laughlin (1983) encontro que a 30°C el tiempo fue de 20 días y a 35°C se requirió por lo menos 7 días más, a 25°C se requirieron entre 41 y 51 días y a 20°C se requirieron entre 89 y 176 días ademas de presentarse una alta mortalidad. En este experimento se confirman las observaciones de Laughlin pues a a 25°C se requirieron 6 semanas, sin embargo, a 30°C existieron diferencias pues aqui transcurrieron entre 5 y 7 semanas.

Este mismo autor realizo un modelo de regresión para calcular el número de días requeridos para que mude la larva trilobita y se consiga la fase limulito I:

\*ecuación de regresión\*

$$\text{Días para mudar} = 207.2 - 111.6T + 17.5T^2 - 7.2S + 20S^2 - 0.86T \times S$$

donde

T=Temperatura

S=Salinidad

R=Coficiente de Correlación

F=F test-Radio

df=grados de libertad.

R=0.854

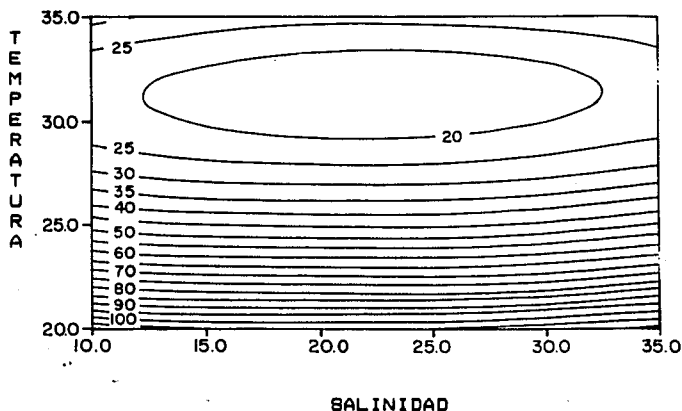
df=4,115

F=311

p<0.0001

Con esta ecuación se construye el siguiente diagrama de interacción lineal que predice los efectos de la temperatura y

salinidad sobre la tasa de desarrollo de la larva trilobita, las unidades contorneadas representan días.



Este modelo se aplica a los resultados obtenidos en esta investigación, por lo que puede decirse que es extrapolable a las poblaciones de México. Es de hacer notar que este modelo es único en las investigaciones correspondientes al desarrollo de las fases larvaria y juveniles de Limulus.

## CONCLUSION

La temperatura, es un factor determinante para el desarrollo de las primeras fases de vida de Limulus. Esta influye en la tasa de desarrollo, siendo el tiempo más corto para cada fase a 30°C. Una temperatura mayor o menor hace que se incremente el tiempo y la mortalidad.

El uso de un sustrato arenoso en los contenedores influye negativamente en la sobrevivencia de los embriones y larvas. Por lo tanto la incubación se debe realizar en ausencia de sustrato y una vez obtenidas las siguientes fases de vida libre se puede utilizar arena por su comportamiento excavador.

La Artemia dio buen resultado como alimento para las fases juveniles, pero es factible que puedan ser utilizados otros tipos de alimento (p. e. anélidos, moluscos, pescado, algas etc.).

La fotomicrografía es una herramienta muy importante para el estudio de las fases embrionarias y larvaria de Limulus, y ofrece mayores ventajas que los dibujos.

### Recomendaciones

El sustrato arenoso utilizado en este experimento no es adecuado para la incubación de huevecillos y si se probaran otros sustratos (p. e. conchuela (conchas de moluscos trituradas o enteras) o combinaciones de arena conchuela y limos) se podrian obtener resultados mas alentadores.

Si se prueban nuevas técnicas ya sea de tinción o fotograficas

se podrian realizar muy diversos estudios que abarquen aspectos tales como descripción detallada de las fases embrionarias y larvaria, así como el seguimiento del desarrollo de organos en la larva trilobita y posteriores fases.

Los resultados de este trabajo muestran la necesidad de continuar con las investigaciones sobre la reproducción de Limulus en cautiverio.

Se requiere, por un lado, dar inicio a programas para la protección de la especie, tal y como actualmente se lleva a cabo en Asia (Asociación para el estudio y protección de los merostomados, en Japón, que vierte sus esfuerzos para la conservación de Tachypleus tridentatus).

Por otro lado que las instituciones locales (Universidad Autonoma de Cd. del Carmen, Universidad Autonoma de Campeche, CINVESTAV Merida, además de la UNAM en sus estaciones de investigación en Cd. del Carmen y Puerto Morales) orienten sus esfuerzos para realizar los estudios propuestos y desarrollen programas que contemplen medidas para proteger y restaurar las poblaciones naturales de Limulus.

LITERATURA CITADA

- AMEZCUA, L.F. y A. YAREZ-ARANCIBIA, 1980. Ecología de los sistemas fluviolagunares asociados a la Laguna de Términos. El habitat y estructura de comunidades de peces. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM. México; 16(1):68-118.
- BARNES, R.A. 1990. Zoología de los invertebrados. Interamericana. México D.F.
- BOTELLO, A.V. 1978. Variaciones de los parámetros hidrológicos en las épocas de sequías y lluvias (may-nov 1974) en la Laguna de Términos. An. Inst. Cien. del Mar y Limnol. 5(1):159-178.
- BROWN, G.G. and J.R. KNOURB, 1973. Effects of sperm concentration, sperm aging and other variables on fertilization in the horseshoe crab Limulus polyphemus. Biol. Bull. 144:462-470.
- BROWN, G. G., and D. L. CLAPPER, 1981. Procedures for maintaining adults, collecting gametes, and culturing embryos and juveniles of the horseshoe crab, Limulus polyphemus L. Pp. 268-290 in Marine Invertebrates, National Research Council (U.S.). Committee on Marine Invertebrates. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- CHAVEZ, H. y F. MUNOZ, 1975. Notas sobre Xiphosura polyphemus (Ph. ARTHROPODA, Cl. MEROSTOMATA) en aguas mexicanas. Rev. Soc. Méx. Hist. Nat. T. XXXIV:365-373.
- COHEN, J.A. AND H.J. BROCKMAN, 1983. Breeding activity and mate selection in the horseshoe crab, Limulus polyphemus Bull. Mar. Sci. 33(2):274-281.
- DUMONT, J.N. AND ANDERSON, E., 1967. Vitellogenesis in the horseshoe crab, Limulus polyphemus. J. Microsc. 6:791-806.
- ESCALANTE, M.A., M.A. GARZA y J.J. SEGURA. 1980. Limulus polyphemus fósil viviente en peligro de extinción. El desaprovechamiento ancestral de los recursos (Arthropoda-Merostomata). IV Congr. Nal. de Zoología, Univ. Autón. Baja California 7-12 Dic. Ensenada B.C.N.
- GARCIA, E. 1973. Modificaciones al sistema de Koopen para adaptarlas a las condiciones de la Republica Mexicana. Inst. Geogr. UNAM. 264p.
- GOMEZ-AGUIRRE, S. 1979. Notas para estudios de población de Limulus polyphemus L. (XIPHOSURA: XIPHOSURIDAE) en la Isla del Carmen, Campeche (1964-1978) An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. de México. 50, Ser. Zool.(1):769-722.

- GOMEZ-AGUIRRE, B. 1980. Ensayo demográfico de Limulus polyphemus L. de Sureste del Golfo de México. (ARTHROPODA-MEROSTOMATA). Mem. IV Congr. Nal. de Zoología, Univ. Autón. Baja California 7-12 Dic. Ensenada B.C.N. In Resúmenes p.89.
- GOMEZ-AGUIRRE, B. 1983. Limulus polyphemus L. (ARTHROPODA-MEROSTOMATA) del Sureste del Golfo de México. Mem. VIII Simp. Lat-amer. Oceanogr. Biológica, 28 nov-2 dic. Montevideo, Uruguay. p.131.
- GOMEZ-AGUIRRE, B. 1985. Medidas para la protección de Limulus polyphemus L. (ARTHROPODA-MEROSTOMATA) en los litorales de Yucatán. Mem. VIII Congr. Nac. de Zoología, 26-30 de Ago. de 1985, Esc. Normal Superior, Saltillo Coah., México. 1:461-469.
- GOMEZ-AGUIRRE, S., y M. FLORES MORAN. 1987. Vida planctónica de la larva trilobita de Limulus polyphemus. An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. de México 58 (1987) Ser. Zoología (2):839-842.
- GONZALEZ-GUZMAN, I., I. PULIDO y O. GUZMAN. 1967. Estudios citológicos en la hemolinfa de los invertebrados. I. Artrópodos. Limulus. Bol. Estud. Biol. Méx. 25:5-29.
- GONZALEZ-URIBE, J.F., and A.A. ORTEGA-BALAS. 1991. Environmental factors in rearing eggs and larvae of Limulus polyphemus L. under laboratory conditions. Larvi'91 fish and Crustacean larviculture symposium. Ghent, Belgium August 27-30.
- Informe Técnico Biología de Campo. Facultad de Ciencias 1986. "Introducción a la demografía de Limulus polyphemus L." Univ. Nal. Auton. de México: 1-128, 49 fig, 22 tab., Anexos 37 f.
- Informe Técnico Biología de Campo. Facultad de Ciencias 1988. "Demografía de Limulus polyphemus L. II; sus áreas de arribo en los litorales de Campeche, Mex." Univ. Nal. Autón de México: 1-21, 15 Figs., 17 Tab., Anexos 38 f.
- Informe Técnico Biología de Campo. Facultad de Ciencias 1989. "Demografía de Limulus polyphemus L. III; estudio de la población de Isla Aguada, Laguna de Términos, Campeche, México. Univ. Nac. Autón. de México: 1-21, 15 Figs., 17 Tab., Anexos 24 f.
- JELGA T. C. and COSTLOW J. R. Jr. 1979. The Limulus bioassay for ecdysteroids. Biol. Bull., 156:103-114.
- JELGA T. C. and COSTLOW J. R. Jr. 1982. Temperature and salinity effects on developmental and early posthatch stages of limulus Pp. 103-113 in Physiology and Biology of Horseshoe Crabs: Studies on normal and environmentally stressed animals. Alan R. Liss., New York.

- LAUGHLIN, R. 1983. The effect of temperature and salinity on larval growth of the horseshoe crab Limulus polyphemus Biol. Bull. 64:93-164.
- PHLERGER, B.F. and A. AYALA-CASTANARES 1971. Process and history of Términos lagoon, México. Amer. Assoc. Petrol. Geol. Bull; 55(2) 2130-2140.
- PINEDA-LOPEZ, R. 1979. Turbellaridos de México I. Hallazgo de Bdelloura candida (Girard, 1850) Turbellario comenzal de Limulus polyphemus L., en Campeche, México. An. Inet. Biol. Univ. Nal. Autón. de México. 50 Ser. Zoo. (1):1-8.
- ROBERTSON, J. D. 1970. Osmotic and ionic regulation in the horseshoe horseshoe crab, Limulus polyphemus (Linnaeus). Biol. Bull. 141:157-183.
- RUDLOE, A. 1978. Some ecologically significant aspects of the behavior of the horseshoe crab, Limulus polyphemus. PhD. Diss., Florida State Univ, Tallahassee, 246 pp.
- RUDLOE, A. 1979a. Limulus polyphemus: A review of the ecologically ecologically significant literature. In Cohen E. et al (eds): "Biomedical applications of the horseshoe crabs (Limulidae). New York: Alan R. Liss. pp 27-35.
- RUDLOE, A. 1979b. Locomotor and Light responses of larvae of horseshoe crab Limulus polyphemus (L.) Biol. Bull. 157:494-501.
- RUDLOE, A. 1981. Aspects of the biology of the juvenile of horseshoe crab, Limulus polyphemus. Bull. Mar. Sci. 31:125-133.
- RUDLOE, A. and J. RUDLOE. 1981. The Changelees. Nat. Geogr. 159(4):562-572.
- SEGURA, J.J., M. RODRIGUEZ, M.A. GARZA, M.A. ESCALANTE y C.H. TREVINO. 1980. Morfología de los amebocitos de Limulus polyphemus. Mem. IV Congr. Nal. de Zoología. Univ. Autón. de Baja Calif. 7-12 de Dic. Ensenada B. C. N. In Resumen p.77.
- SEKIGUCHI, K., H. SEBHMU and H. SUGITA. 1988. Biology of horseshoe crabs. Science House Co.,Ltd. Tokyo, Japan.
- SEKIGUCHI, K. 1988. Post-Embryonic development of the Horseshoe crabs. Biol. Bull. 174:337-345.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1948. On the gross anatomy and histology of the the alimentary tract in early developmental stages of Xiphosura (=Limulus) polyphemus Linn. Msc. Thesis, Rutgers Univ. New Brunswick, New Jersey, 50 pp.



- SHUSTER, C. N. Jr. 1950. Observations on the natural history of the American horseshoe crab, Limulus polyphemus. Woods Hole Oceanogr. Inst. Contr. 564:18-23.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1953. Odyssey of the horseshoe crab. Aukon Magazine. 55(4):162-163.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1954. A horseshoe "crab" grows up. Wards Nat. Sci. Sci. Bull. 28:1-6.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1957. Xiphosura (with special reference to Limulus polyphemus). In: Hedgpeth, J. W. (ed.). Treatise on Marine Ecology and Paleocology. Vol. 1. Ecology. Mem. 67 Geol. Soc. America. pp. 1171-1174.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1960. Horseshoe "crabs" in former years, during the month of May, these animals dominated Delaware Bay shores. Estuar. Bull. Univ. Del. Mar. Labs. 5(2):1-9.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1962. Serological correspondence among horseshoe "Crabs" (Limulidae). Zoologica 47:1-9.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1979. distribution of the American horseshoe "crab" Limulus polyphemus (L.). In Cohen E. et al (eds.): "Biomedical applications of the horseshoe crab (Limulidae). New York: Alan R. Liss. pp 3-26.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1982a. Xiphosurida. In: Encyclopedia of Science and Technology. McGraw-Hill Book Company, Inc.
- SHUSTER, C. N. Jr. 1982b. Physiology and biology of horseshoe crabs: Studies on normal and environmental stressed animals. p. 1-52 Alan R. Liss, Inc. 150 Fifth Avenue, New York, N.Y. 10011.
- SARH, 1985. Carta Ciudad del Carmen. Cartografía sinoptica. Dirección General de Política y Desarrollo Agropecuario y Forestal.
- YANEZ-ARANCIBIA, A. and J.W. DAY, 1982. Ecological characterization of Términos Lagoon estuarine system in the Southern Gulf of México. 431-440 In: Lasserre, P. and H. Postma (eds.) Coastal Lagoons. Oceanologia acta, vol. spec; 5(4) 456p.
- YANEZ-CORREA, A. 1963. Batimetría, salinidad, temperatura y distribución de los sedimentos recientes en la Laguna de Términos, Campeche, México. Bol. Inst. Geol. Univ. Nac. Autón. de México, 67(1):1-47.

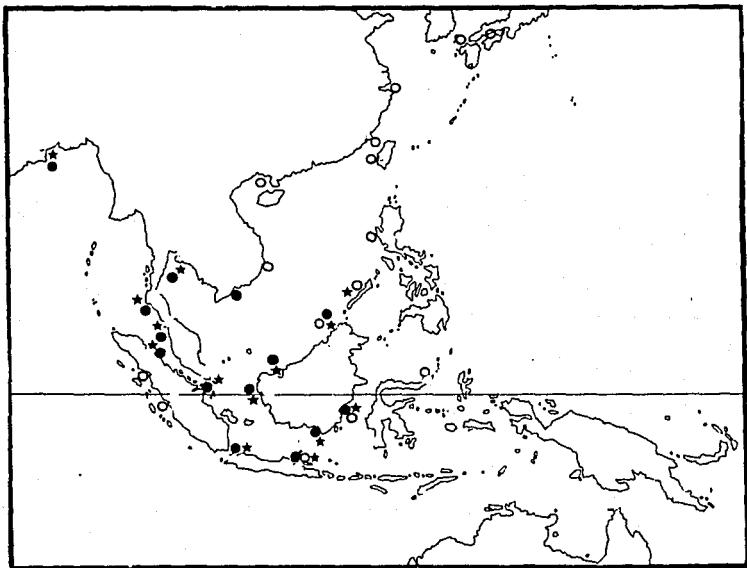


Figura 1. Distribución de las especies asiáticas, círculos blancos: *Tachypleus tridentatus*; círculos negros: *T. gigas*; estrellas: *Carinoscorpium rotundicauda*; (Tomado de Sekiguchi et al., 1988).

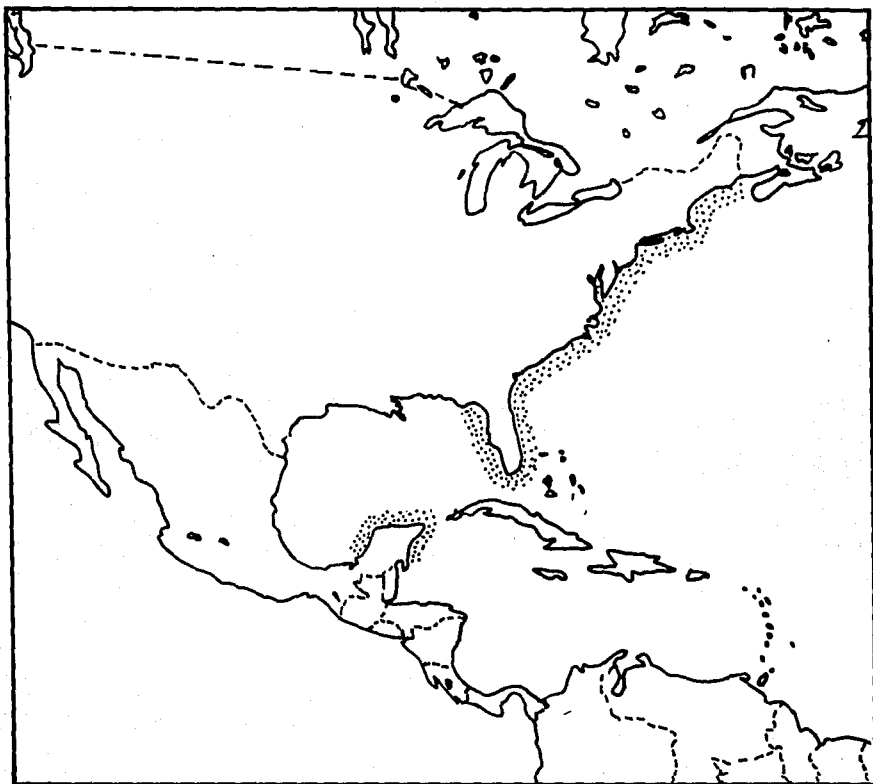


Figura 2. Distribución de *Limulus polyphemus* en el continente americano. En punteado las zonas costeras donde se localizan las poblaciones de *L. polyphemus* (tomada de Shuster, 1982b).

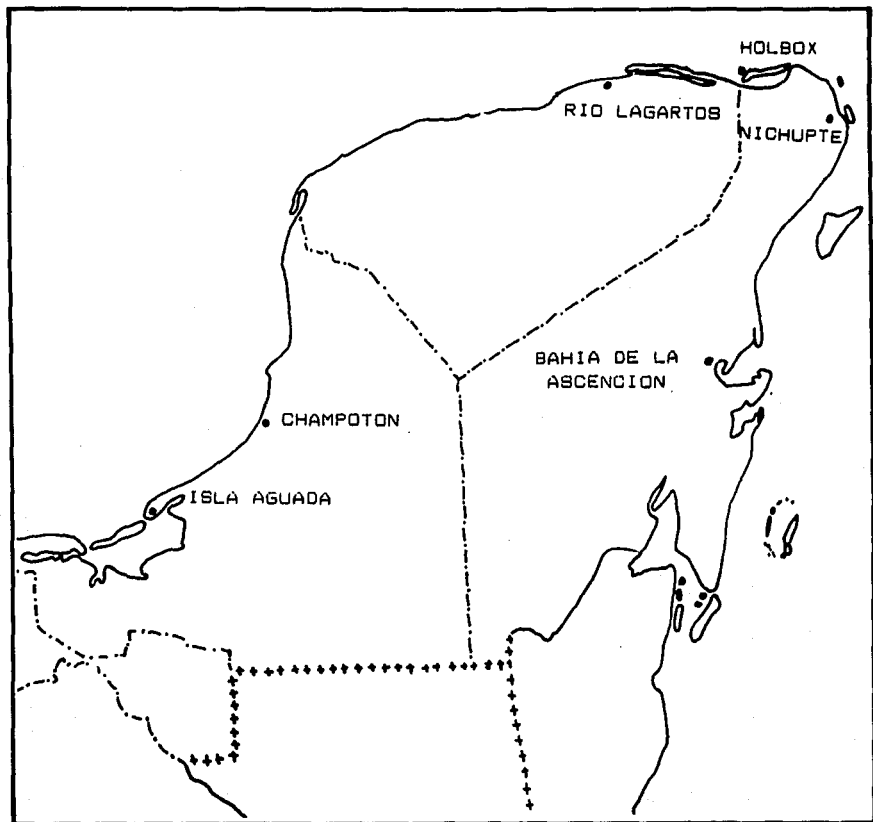


Figura 3. Localidades en la Península de Yucatán donde se han registrado poblaciones de *Limulus polyphemus*, entre las cuales destacan por la magnitud de las arribazones: Río Lagartos y Laguna de Términos (Isla Aguada e Islas Asociadas). (Basado en Informes técnicos Biología de Campo, Facultad de Ciencias, 1986, 1988).

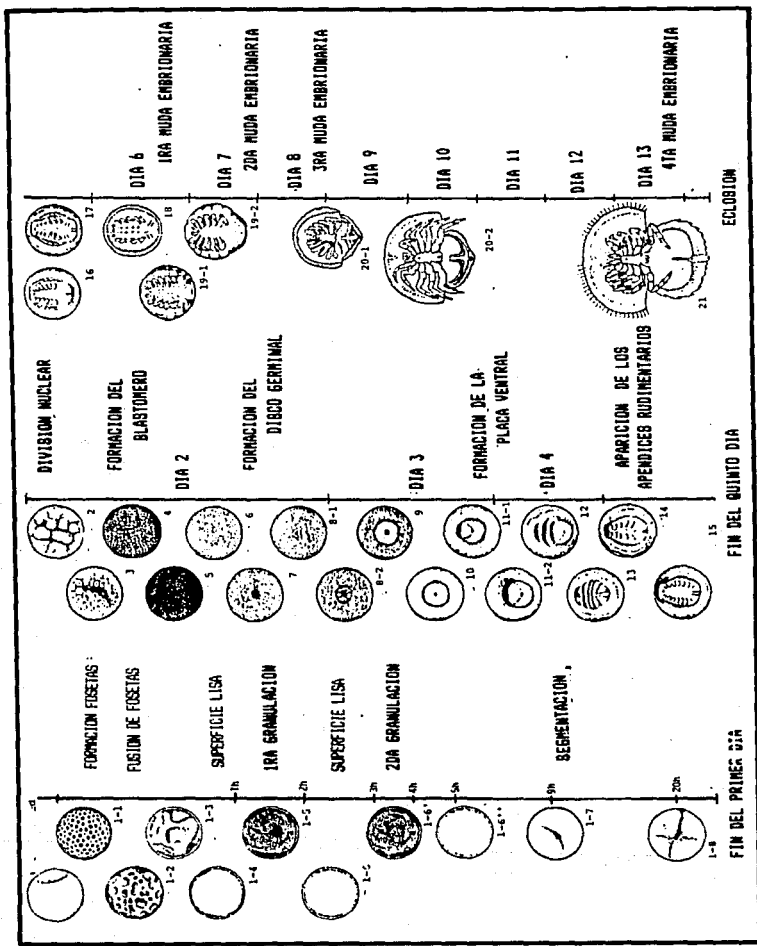


Figura 4. Diagrama que representa a los 21 estadios del desarrollo embrionario de *Limulus polyphemus*, donde se indican los acontecimientos más importantes durante el desarrollo (Tomado de Sakiguchi et al, 1988).

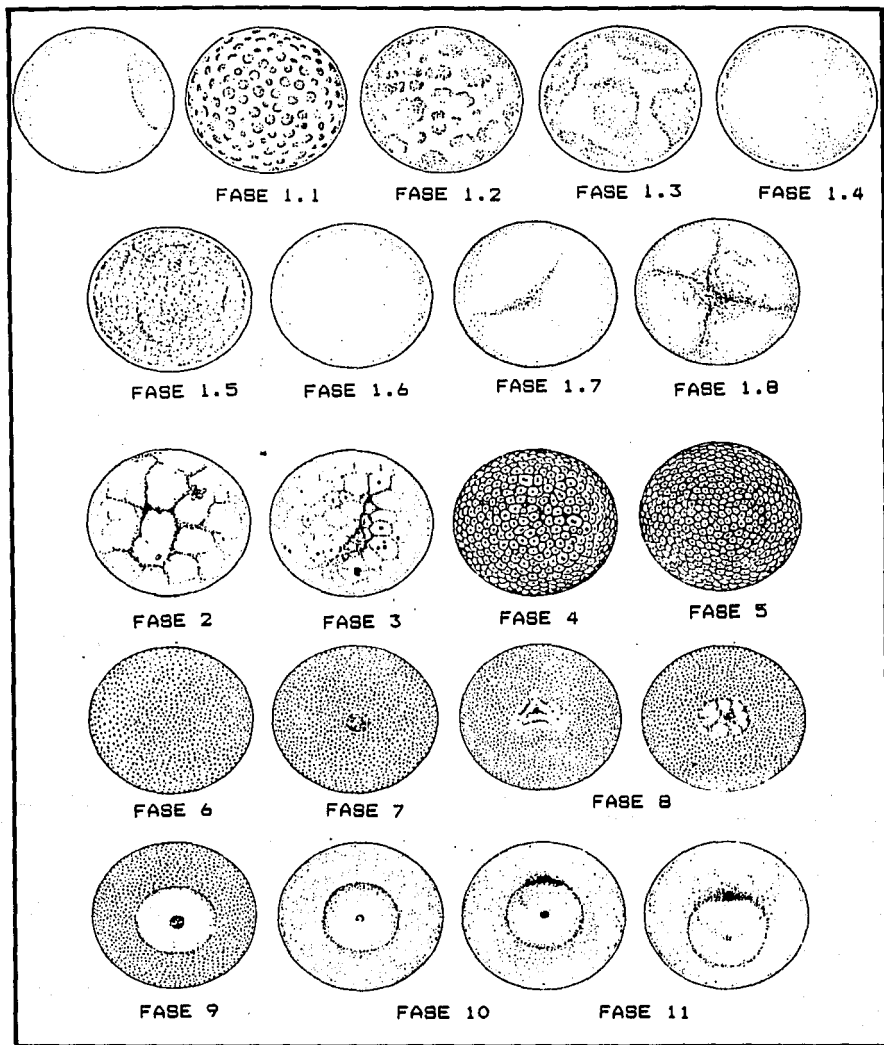


Figura 5a. Desarrollo embrionario de *Limulus polyphemus* estadios 1 a 11, las membranas del huevo fueron omitidas. Estos estadios se enmarcan dentro de los huevecillos de primeros estadios (HPE). Estas fases solo pueden ser observadas al teñir al huevo con rojo neutro. (Tomado de Sakiguchi et al, 1988).

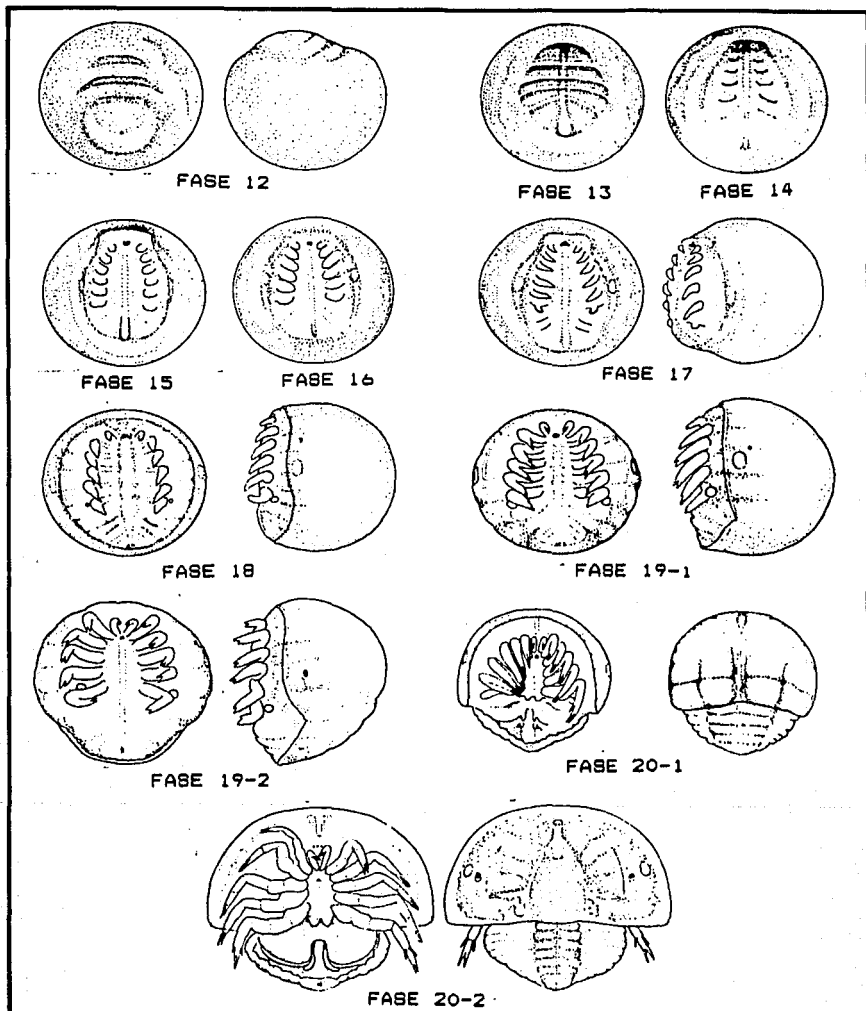
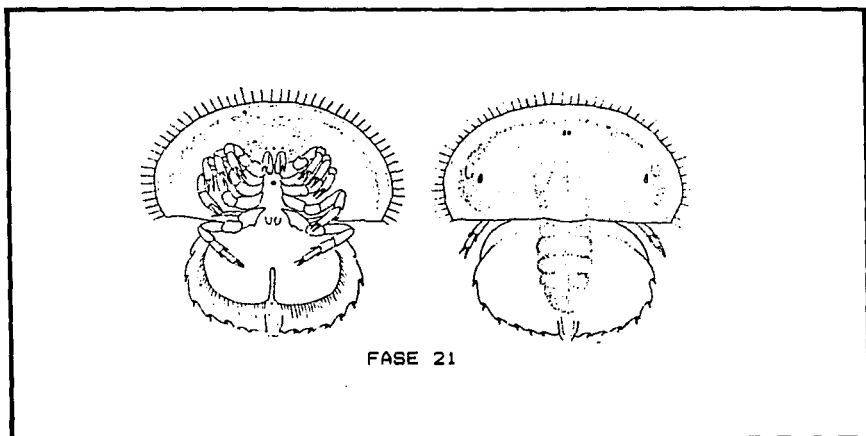


Figura 5b. Desarrollo embrionario de *Limulus polyphemus* estadios 12 a 20, las membranas del huevo fueron omitidas. Estos estadios se enmarcan dentro de huevecillos de estadios avanzados (HEA). Estas fases se pueden observar ya que las membranas del huevo son transparentes (Tomado de Sekiguchi et al, 1988).



FASE 21

Figura 5c. Desarrollo embrionario de *Limulus polyphemus* estadio 21. Este estadio se enmarca dentro de larva preeclosion (LPE) (Tomado de Sakiguchi et al, 1988).

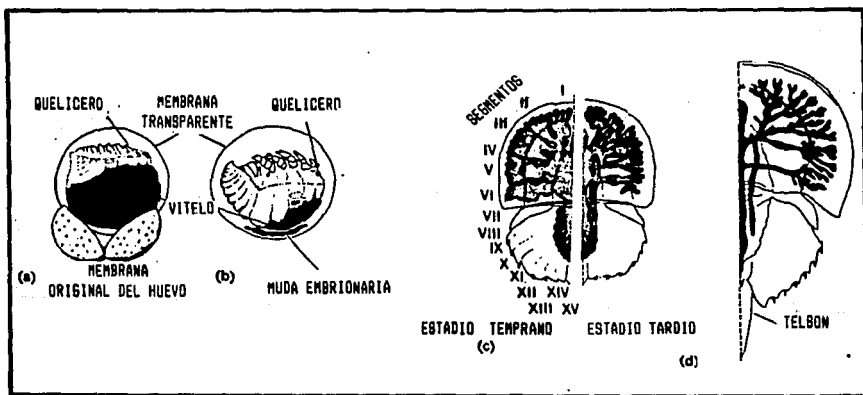


Figura 6 Desarrollo embrionario y desarrollo larval de *Limulus polyphemus*. (a) Embrion temprano. (b) Embrion tardio. (c) Tracto digestivo, lleno de vitelo en la larva Trilobita. Observe la segmentación del vitelo en la larva recientemente eclosionada y los seis lobulos de la glandula digestiva. (d) Fase "First tailed" o Limulito I (tomada de Shuster, 1982).



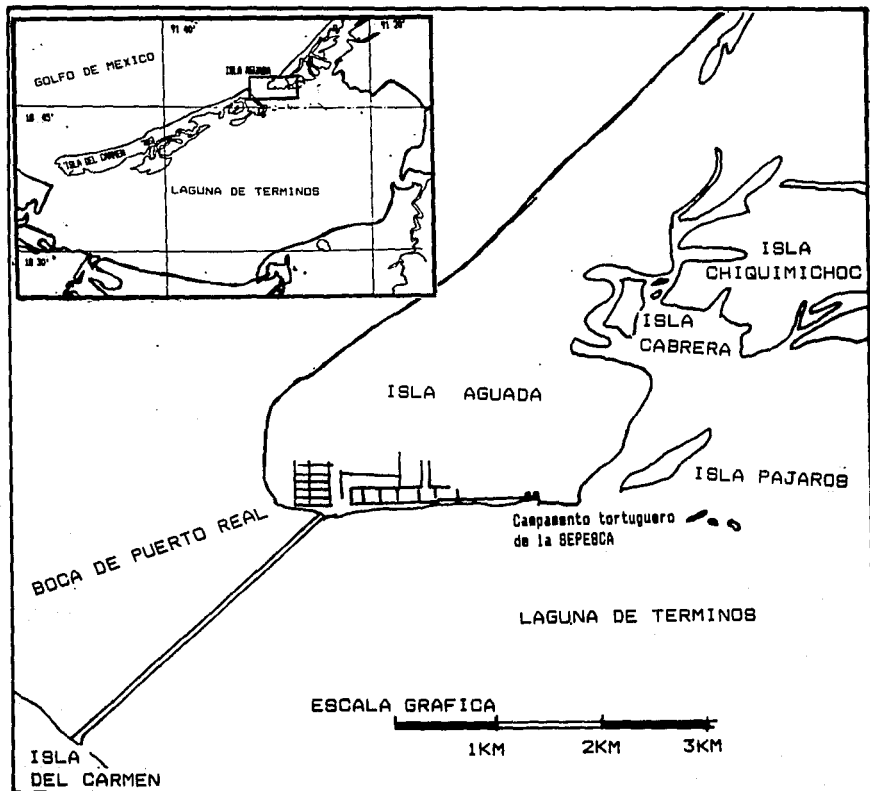
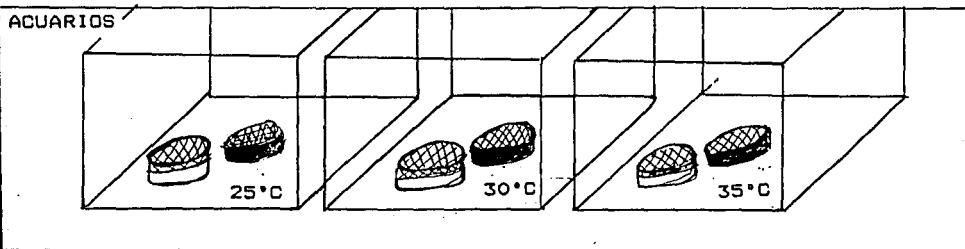
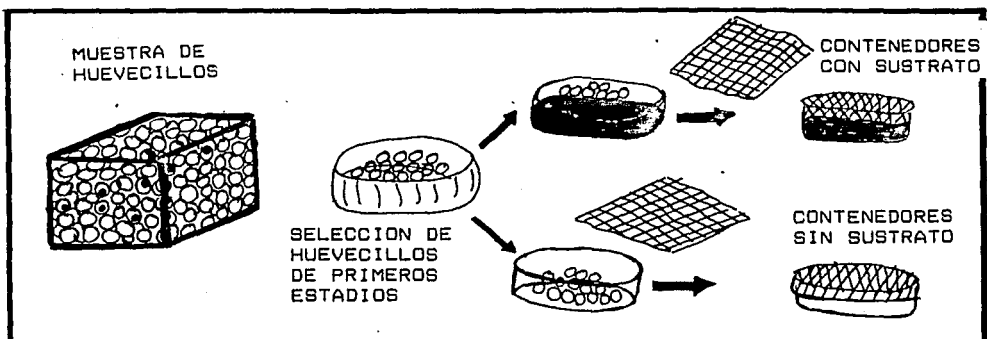


Figura 7. Localización de las áreas de colecta al Noroeste de la Laguna de Terminos, Campeche, los círculos señalan los lugares donde se buscaron nidos de *Limulus polyphemus*.



TERMOSTATO

CIRCULACION

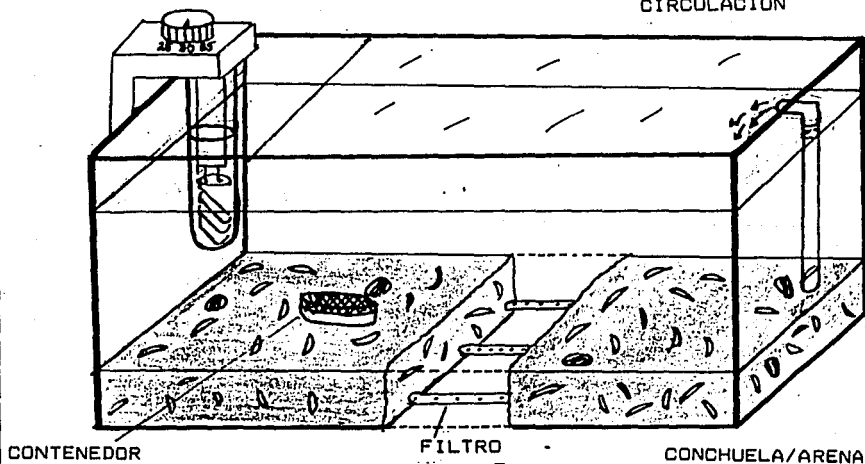


Figura 8. Diseño experimental de los ensayos realizados en contenedores con y sin sustrato.

### SOBREVIVENCIA ENSAYOS CON SUSTRATO

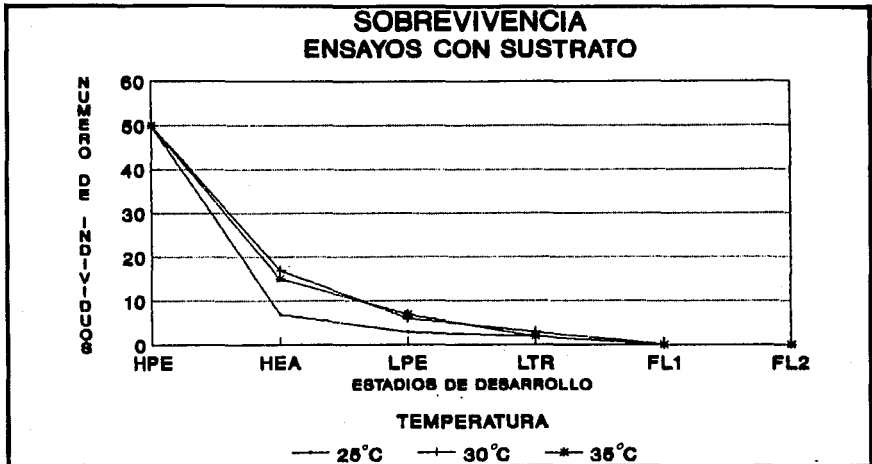


Figura 9. Gráfica que muestra la sobrevivencia de huevecillos, larva trilobita y fase limulito I, en los ensayos realizados con sustrato en el período marzo junio de 1991. HPE:Huevecillos de primeros estadios. HEA:Huevecillos de estadios más avanzados. LPE:Larva preeclosión. LTR:Larva trilobita. FL1:Fase limulito I. FL2:Fase limulito II.

### SOBREVIVENCIA ENSAYOS SIN SUSTRATO

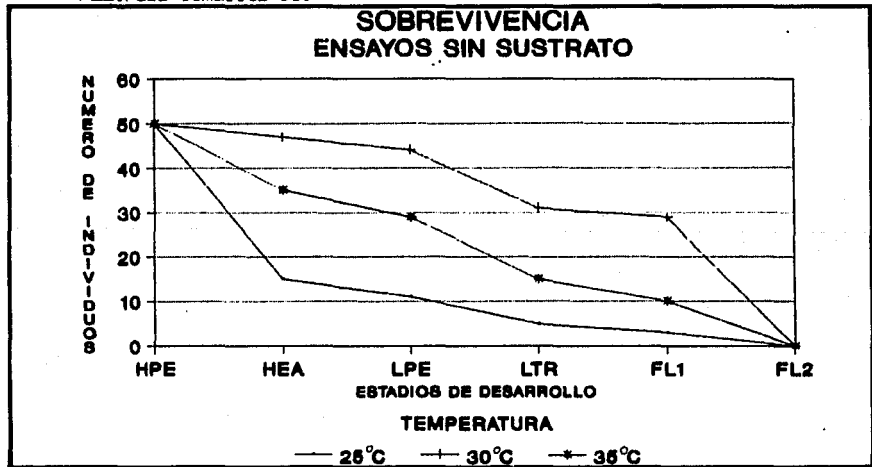


Figura 10 Gráfica que muestra la sobrevivencia de huevecillos, larva trilobita y fase limulito I, en los ensayos realizados sin sustrato en el período marzo junio de 1991. HPE:Huevecillos de primeros estadios. HEA:Huevecillos de estadios más avanzados. LPE:Larva preeclosión. LTR:Larva trilobita. FL1:Fase limulito I. FL2:Fase limulito II.

## SOBREVIVENCIA ENSAYOS CON SUSTRATO

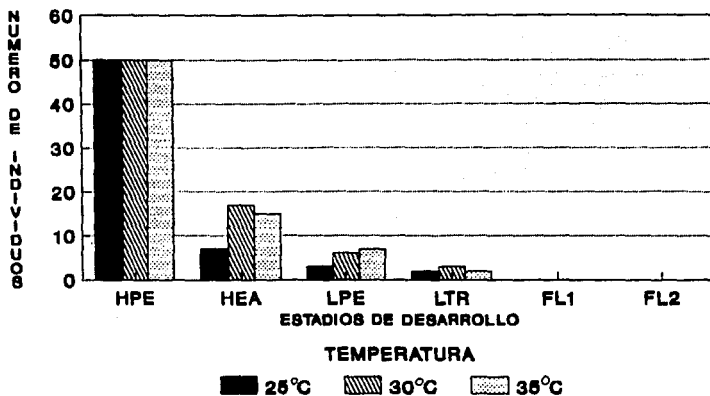


Figura 11 Gráfica que muestra la sobrevivencia de huevecillos, larva trilobita y fase limulito I, en los ensayos realizados con sustrato. HPE:Huevecillos de primeros estadios. HEA:Huevecillos de estadios más avanzados. LPE:Larva preeclosión. LTR:Larva trilobita. FL1:Fase limulito I. FL2:Fase limulito II.

## SOBREVIVENCIA ENSAYOS SIN SUSTRATO

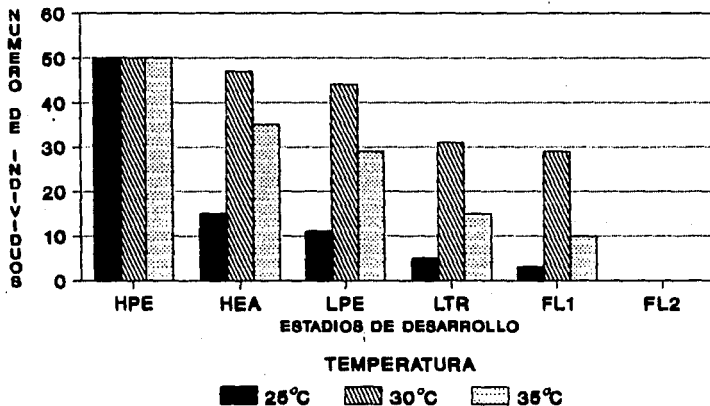


Figura 12 Gráfica que muestra la sobrevivencia de huevecillos, larva trilobita y fase limulito I, en los ensayos realizados con sustrato período marzo junio de 1991. HPE:Huevecillos de primeros estadios. HEA:Huevecillos de estadios más avanzados. LPE:Larva preeclosión. LTR:Larva trilobita. FL1:Fase limulito I. FL2:Fase limulito II.

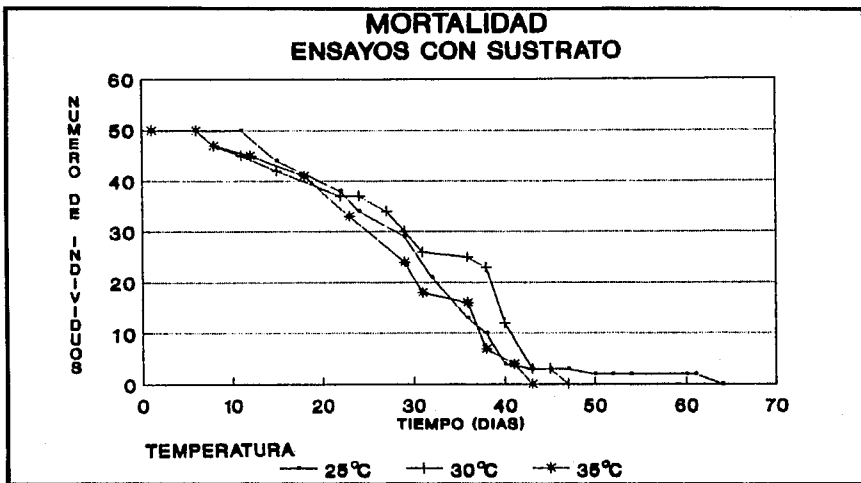


Figura 13 Gráfica que muestra la mortalidad en general apartir de huevecillos en los ensayos realizados con sustrato en el período marzo junio de 1991.

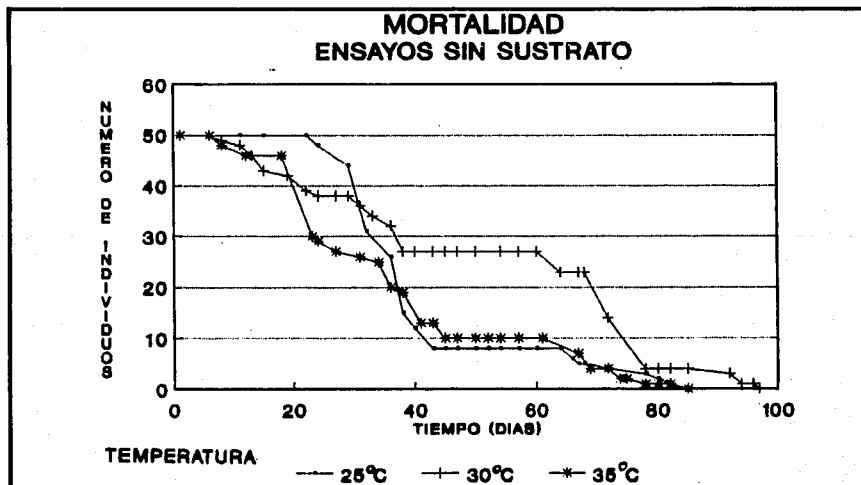


Figura 14 Gráfica que muestra la mortalidad en general apartir de huevecillos en los ensayos realizados sin sustrato en el período marzo junio de 1991.

### TIEMPO PROMEDIO DE ECLOSION

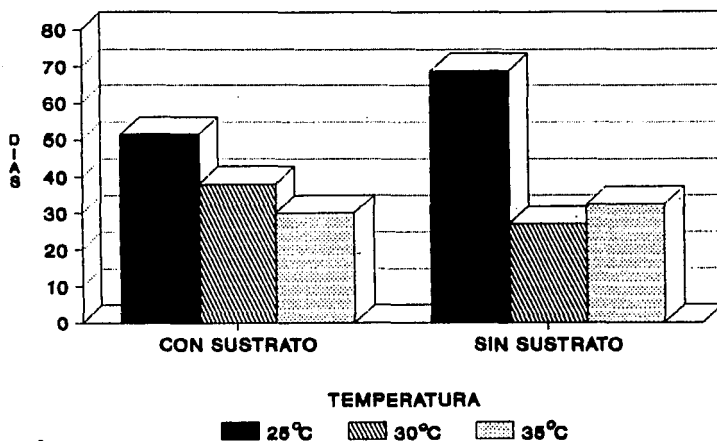


Figura 15. Gráfica que muestra los tiempos promedio de eclosion de la larva trilobita en los ensayos realizados en el periodo marzo junio de 1991.

### TIEMPO PROMEDIO PARA ALCANZAR LA FASE LIMULITO I

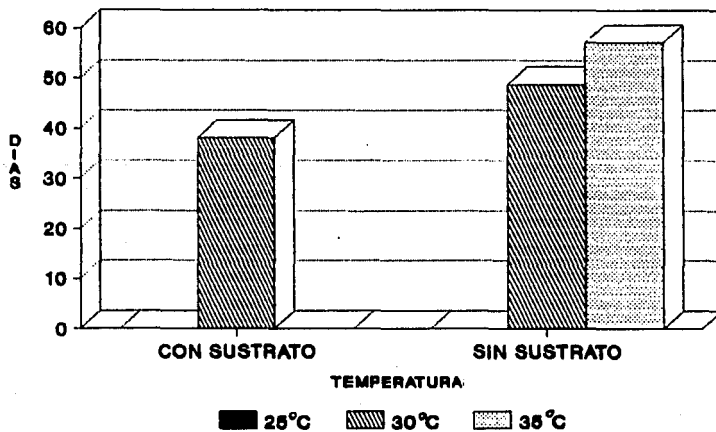


Figura 16 Gráfica que muestra los tiempos promedio de obtención de la fase limulito I en los ensayos realizados en el periodo marzo junio de 1991.

## TIEMPOS DE DESARROLLO CON SUSTRATO

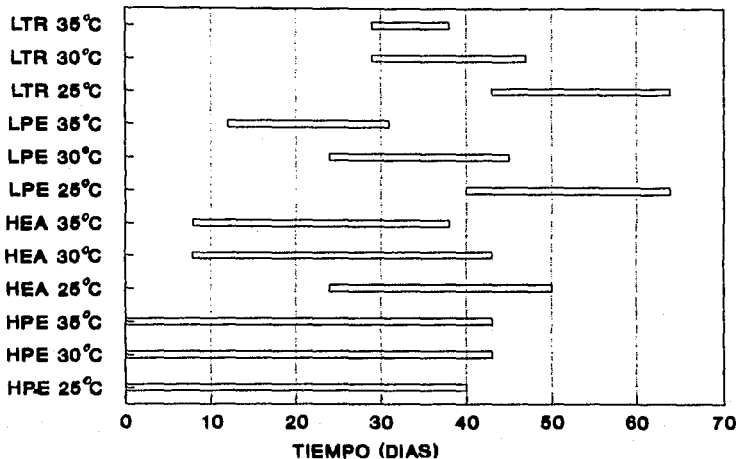


Figura 17 Gráfica que muestra el tiempo necesario para alcanzar cada una de las etapas de desarrollo y el periodo de tiempo desde el ingreso del primer individuo hasta la muerte o paso del último individuo a la siguiente etapa. En los ensayos realizados con sustrato en el período marzo-junio de 1991. HPE:Huevecillos de primeros estadios, HEA:Huevecillos de estadios avanzados. LPE:Larva preociación. LTR:larva trilobita.

## TIEMPOS DE DESARROLLO SIN SUSTRATO

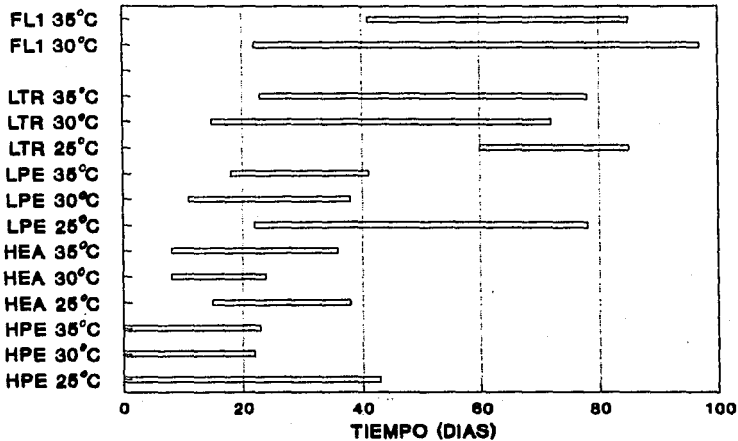


Figura 18 Gráfica que muestra el tiempo necesario para alcanzar cada una de las etapas de desarrollo y el período de tiempo desde el ingreso del primer individuo hasta la muerte o paso del último individuo a la siguiente etapa. En los ensayos realizados sin sustrato en el período marzo-junio de 1991. HPE: Huevecillos de primeros estadios, HEA, Huevecillos de estadios avanzados. LPE: Larva preeclosión, LTR: Larva trilobita, FL1: Fase limulito I, FL2: Fase limulito II.



### SOBREVIVENCIA REPLICAS (ENSAYOS SIN SUSTRATO)

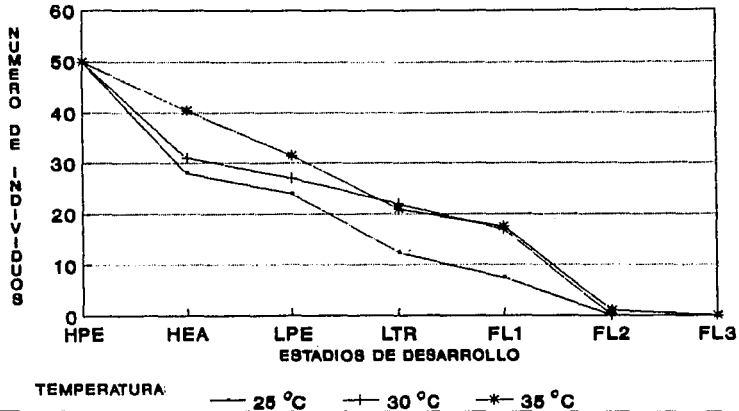


Figura 19. Gráfica que muestra la sobrevivencia de huevecillos, larva trilobita, fase limulito I y II, en los ensayos realizados sin sustrato (replicas) en el periodo junio agosto de 1991. HEA. Huevecillos de estadios avanzados. LPE:Larva preeclosión. LTR:Larva trilobita. FL1:Fase limulito I. FL2:Fase limulito II. FL3:Fase Limulito III.

### SOBREVIVENCIA REPLICAS (ENSAYOS SIN SUSTRATO)

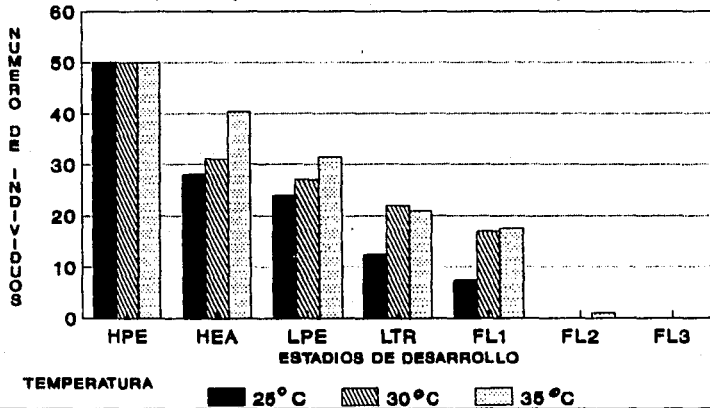


Figura 20. Gráfica que muestra la sobrevivencia de huevecillos, larva trilobita, fase limulito I y II, en los ensayos realizados sin sustrato (replicas) en el periodo junio agosto de 1991. HEA. Huevecillos de estadios avanzados. LPE:Larva preeclosión. LTR:Larva trilobita. FL1:Fase limulito I. FL2:Fase limulito II. FL3:Fase Limulito III.

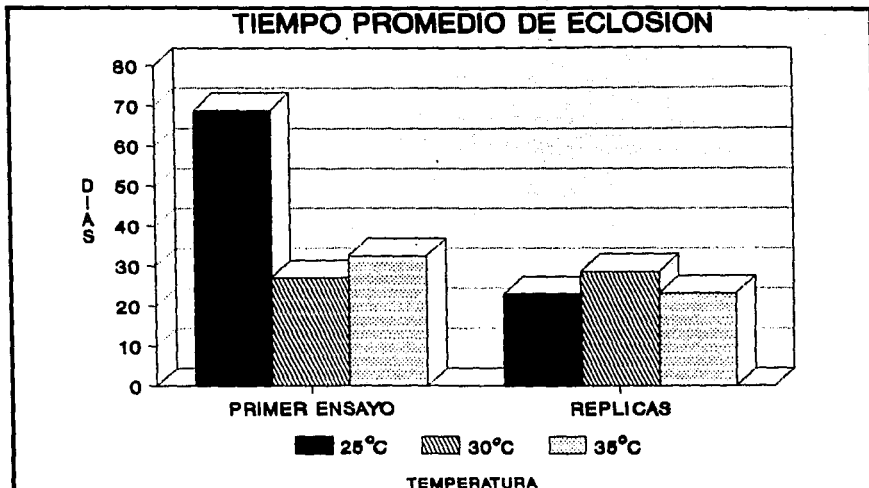


Figura 21. Gráfica que compara los tiempos promedio de eclosión de la larva trilobita, entre el primer ensayo (período marzo junio) y las réplicas (período junio agosto).

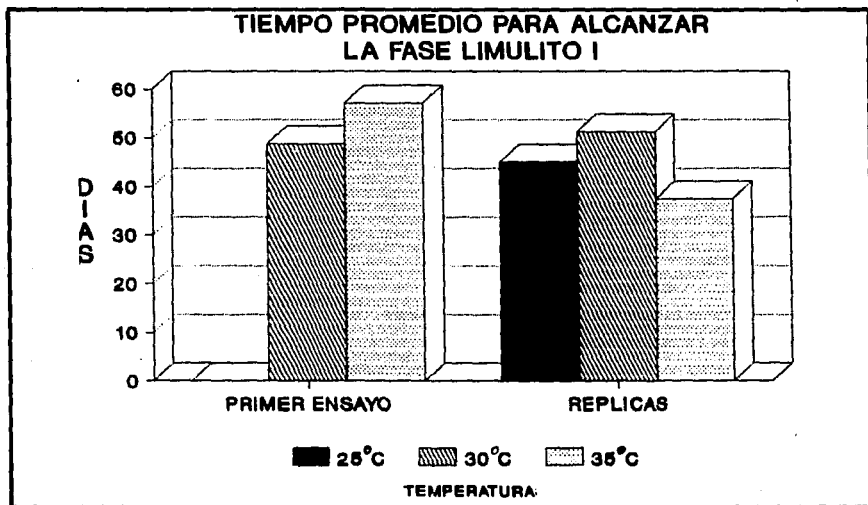


Figura 22. Gráfica que compara los tiempos promedio para la obtención de la fase limulito I, entre el primer ensayo (período marzo junio) y las réplicas (período junio agosto).

**TABLA I. Condiciones ambientales (Temperatura, Salinidad y PH)**  
**en los ensayos realizados del 4 de marzo al 2 de junio de 1991.**  
**X=Promedio; DS=Desviación Estandar; EE=Error Estandar; MIN=Valor**  
**Mínimo; MAX=Valor Máximo; N:Número de Registros.**

		TEMPERATURA (°C)					
ENSAYO		X	D.E	E.E	MIN	MAX	N
25°C	con sustrato	24.0	1.4	0.2	20	25	41
25°C	sin sustrato	23.9	1.3	0.2	20	25	53
30°C	con sustrato	30.5	1.7	0.3	28	33	33
30°C	sin sustrato	30.3	1.5	0.2	28	33	57
35°C	con sustrato	33.9	1.1	0.2	31	36	29
35°C	sin sustrato	34.3	1.1	0.2	31	36	53

		SALINIDAD (o/oo)					
ENSAYO		X	D.E	E.E	MIN	MAX	N
25°C	con sustrato	24.2	1.5	0.2	22	27	41
25°C	sin sustrato	24.7	1.6	0.2	22	28	53
30°C	con sustrato	25.2	1.0	0.2	24	28	33
30°C	sin sustrato	26.3	1.6	0.2	24	30	57
35°C	con sustrato	32.8	4.5	0.8	30	40	29
35°C	sin sustrato	30.4	4.4	0.6	27	40	50

		PH					
ENSAYO		X	D.E	E.E	MIN	MAX	N
25°C	con sustrato	7.7	0.1	0.02	7.2	7.9	41
25°C	sin sustrato	7.6	0.2	0.02	7.2	7.9	52
30°C	con sustrato	7.8	0.1	0.02	7.7	8.0	33
30°C	sin sustrato	7.8	0.1	0.02	7.4	8.0	53
35°C	con sustrato	7.7	0.1	0.02	7.5	8.0	29
35°C	sin sustrato	7.8	0.2	0.02	7.4	8.4	50

Tabla II. Supervivencia en cada una de las etapas de desarrollo alcanzadas en los ensayos realizados en el período marzo-junio de 1991. HPE:Huevo Primeros Estadios; HEA:Huevo Estadios Avanzados; LPE: larva preeclosión ; LTR:Larva Trilobita; FL1:Fase Limulito I y FL2:Fase Limulito II.

TRATAMIENTOS	ETAPAS DE DESARROLLO					
	HPE	HEA	LPE	LTR	FL1	FL2
25 °C con sustrato	50	7	3	2	0	0
25 °C sin sustrato	50	15	11	5	3	0
30 °C con sustrato	50	17	6	3	0	0
30 °C sin sustrato	50	47	44	31	29	0
35 °C con sustrato	50	15	7	2	0	0
35 °C sin sustrato	50	35	29	15	10	0

TABLA III. Tiempos promedio (en días) de eclosión de la larva trilobita y tiempos promedio en los cuales se alcanzó la fase limulito I en los ensayos realizados en el período marzo-junio de 1991. X:Media; D.E.:Desviación Estandar; N:Número de Individuos; MIN:Tiempo mínimo; MAX:Tiempo máximo.

TRATAMIENTO	LARVA TRILOBITA					FASE LIMULITO I				
	X	D.E.	N	MIN	MAX	X	D.E.	N	MIN	MAX
25°C con sustrato	51.5	8.5	2	43	60					
25°C sin sustrato	68.8	6.0	5	60	72					
30°C con sustrato	38.0	6.7	3	29	45	38.0	6.7	3	29	45
30°C sin sustrato	26.9	6.1	31	15	36	48.7	13.4	29	22	68
35°C con sustrato	30.0	1.0	2	29	31					
35°C sin sustrato	32.4	4.2	15	23	38	57.1	11.9	10	38	80

TABLA IV. Condiciones ambientales (Temperatura, Salinidad y PH) en los ensayos realizados en el período junio-agosto de 1991 (replicas). X=Promedio; DE=Desviación Estandar; EE=Error Estandar; MIN=Valor Mínimo; MAX=Valor Máximo; N:Número de Registros.

		TEMPERATURA (°C)					
ENSAYO		X	D.E.	E.E.	MIN	MAX	N
25°C	sin sustrato	23.2	1.1	0.2	22	25	38
25°C	sin sustrato	23.2	1.1	0.2	22	25	36
30°C	sin sustrato	28.0	2.6	0.4	24	34	39
30°C	sin sustrato	28.1	2.7	0.4	24	34	39
35°C	sin sustrato	33.8	1.0	0.2	32	35	29
35°C	sin sustrato	33.8	1.0	0.2	32	35	35

		SALINIDAD (o/oo)					
ENSAYO		X	D.E.	E.E.	MIN	MAX	N
25°C	sin sustrato	30.4	1.2	0.2	28	34	38
25°C	sin sustrato	30.4	1.3	0.2	28	34	36
30°C	sin sustrato	29.4	2.0	0.3	26	32	39
30°C	sin sustrato	29.4	2.0	0.3	26	32	37
35°C	sin sustrato	29.7	2.5	0.5	26	35	29
35°C	sin sustrato	30.2	2.5	0.4	26	35	35

		PH					
ENSAYO		X	D.E.	E.E.	MIN	MAX	N
25°C	sin sustrato	7.6	0.4	0.01	7.2	8.0	38
25°C	sin sustrato	7.6	0.4	0.07	7.2	8.2	36
30°C	sin sustrato	7.9	0.4	0.06	7.1	8.2	39
30°C	sin sustrato	7.9	0.4	0.06	7.1	8.1	37
35°C	sin sustrato	7.8	0.4	0.08	7.0	8.1	24
35°C	sin sustrato	7.8	0.4	0.07	7.0	8.1	30

Tabla V. Supervivencia en cada una de las fases de desarrollo alcanzadas en los ensayos realizados en el periodo junio-agosto de 1991 (replicas). HPE:Huevo Primeros Estadios; HEA:Huevo Estadios Avanzados; LPE:Larva Preeclucion; LTR:Larva Trilobita; FL1:Fase Limulito I; FL2:Fase Limulito II y FL3:Fase LimulitoIII.

TRATAMIENTOS	ETAPAS DE DESARROLLO						
	HPE	HEA	LPE	LTR	FL1	FL2	FL3
25°C sin sustrato	50	23	20	12	7	0	0
25°C sin sustrato	50	33	28	13	8	0	0
30°C sin sustrato	50	31	29	23	22	0	0
30°C sin sustrato	50	31	25	21	12	0	0
35°C sin sustrato	50	39	26	14	12	0	0
35°C sin sustrato	50	42	37	28	23	2	0

Tabla VI. Tiempos promedio (en días) de eclosion de la larva trilobita y tiempos promedio en los cuales se alcanzo la fase limulito I en los ensayos realizados en el periodo junio agosto de 1991. X:media; D.E.:Desviacion Estandar; N:Número de Individuos; MIN:Tiempo minimo; MAX:Tiempo Máximo.

TRATAMIENTOS	LARVA TRILOBITA					FASE LIMULITO I				
	X	D.E.	N	MIN	MAX	X	D.E.	N	MIN	MAX
25°C sin sustrato	23.1	5.4	12	25	31	43.4	8.8	7	31	57
25°C sin sustrato	22.5	5.3	13	13	29	46.5	8.5	8	31	57
30°C sin sustrato	27.9	5.1	23	15	36	51.1	7.2	22	39	76
30°C sin sustrato	28.2	4.6	21	20	36	51.2	16.7	12	43	69
35°C sin sustrato	25.8	4.2	14	17	31	39.2	4.0	12	34	45
35°C sin sustrato	20.4	4.2	18	13	29	35.6	8.0	23	27	62

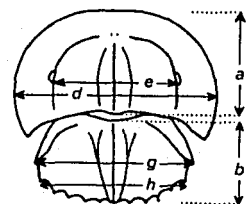
Tabla VII. Comparación de las medidas obtenidas por Sekiguchi et al, 1988 en Carolina del Norte, USA y las obtenidas a partir de muestras de Isla Aguada, Campeche México. Medidas de la larva trilobita y fase limulito I. X=Media, DS=Desviación estandar.

LARVA TRILOBITA

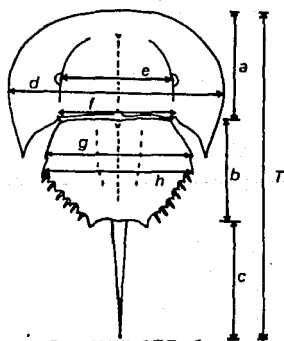
	Carolina del Norte		Isla Aguada	
	X	DS	X	DS
A) Longitud prosoma	2.14	0.30	1.81	0.14
B) Longitud opistosoma	1.91	0.25	1.84	0.15
D) Ancho del prosoma	3.30	0.30	3.10	0.16
E) Distancia interocular			1.99	0.08
T) Longitud Total	4.05	0.48	3.65	0.14

FASE LIMULITO I

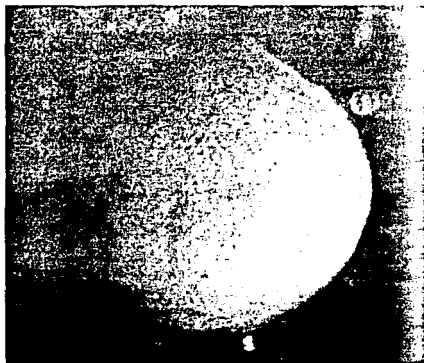
A) Longitud prosoma	3.06	0.34	2.38	0.27
B) Longitud opistosoma	2.12	0.17	2.20	0.19
C) Longitud del telson	1.73	0.19	1.34	0.24
D) Ancho del prosoma	5.03	0.20	4.36	0.20
E) Distancia Interocular	2.90	0.22	2.55	0.07
T) Longitud total	6.89	0.59	5.61	0.33



LARVA TRILOBITA



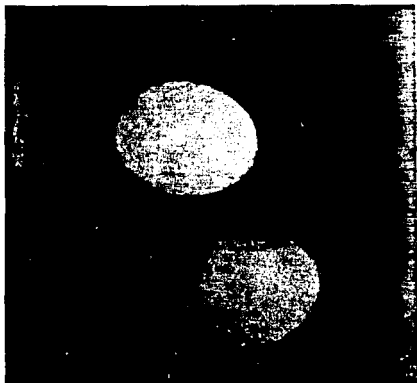
FASE LIMULITO I



Escala



Fotografía 1. Huevecillo sin fecundar.



Fotografía 2. Huevecillos después de la fecundación,



Fotografía 3.  
Huevecillo de estadio  
avanzado. Etapa que  
inicia cuando el huevo  
pierde la membrana  
externa y se puede  
observar al embrión  
en desarrollo.

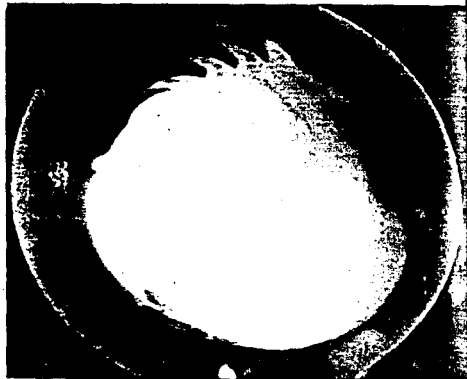




Fotografía 4.  
Huevecillo de estadio avanzado  
en el cual se observa la  
formación de los apéndices  
rudimentarios (fase 15).

0mm 1mm 2mm  
Escala

Fotografía 5.  
Huevecillo de estadios avanzados en  
el cual se han terminado de formarse  
los queliceros (fase 19).



Escala 0mm 1mm 2mm



0mm 1mm 2mm

Fotografía 6.  
Huevecillo en donde se observa  
a la larva totalmente formada y  
que está a punto de eclosionar  
(larva preeclosion).

Escala



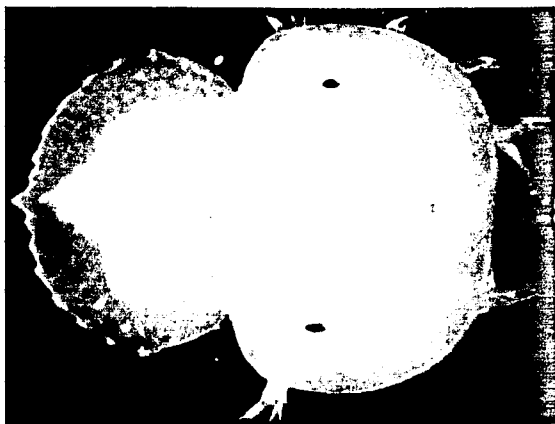
Fotografía 7. Husvecillos con embriones en diferentes fase de desarrollo, los de estadios mas avanzados se encuentran en la periferia

Fotografía 8.

Larva trilobita despues de la eclosion.



Escala 0mm 1mm 2mm 3mm 4mm



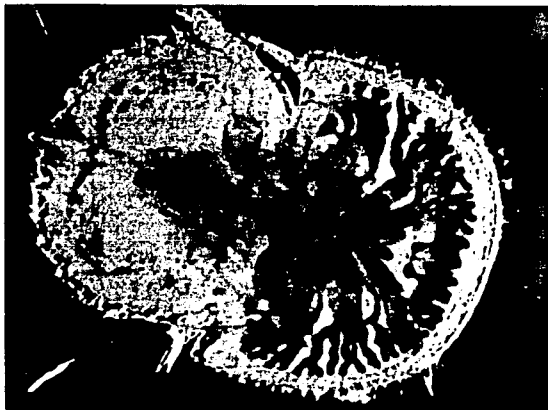
Escala

0mm

1mm

2mm

Fotografia 9. Larva trilobita vista ventral.



Escala

0mm

1mm

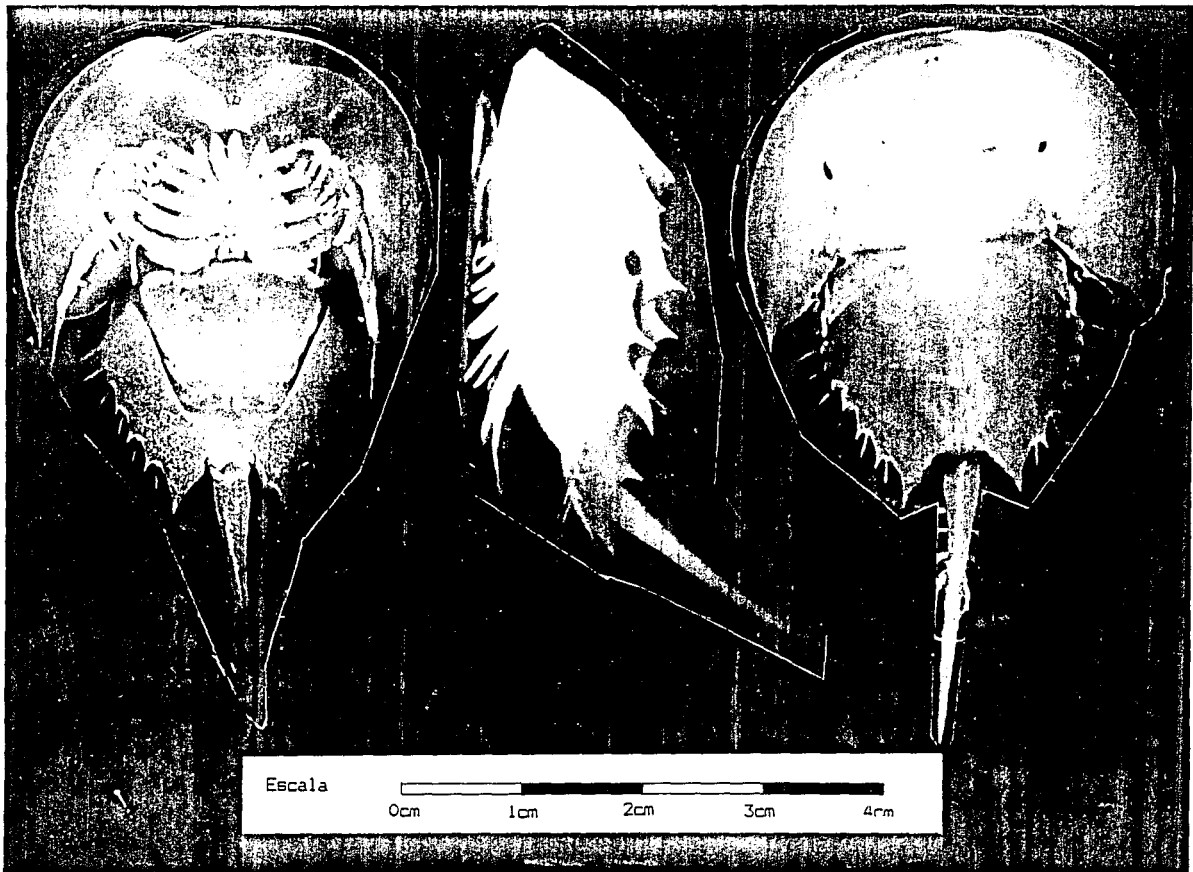
2mm

Fotografia 10. Larva trilobita vista dorsal.



Fotografia 11. Fase Limulito I.

Fotografía 12. Fase juvenil (limulito V), vistas ventral, lateral y dorsal.



\*\*\*\*\*

ANEXO

\*\*\*\*\*

Relación de los resultados obtenidos en los ensayos realizados en los períodos marzo-junio y junio-agosto de 1991.

PSE: Organismos que pasan al siguiente estadio.

MUE: Organismos que murieron.

TOT: Número total de organismos vivos.

ING: Número de organismos que ingresan a esta fase.

Tabla VIII. Resultados obtenidos a 25°C, con sustrato, período marzo-junio de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA PDR ECLUSIDAR			LARVA TRILOBITA				
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT			
1	0	0	50											
6	0	0	50											
11	0	0	50											
15	0	6	44											
22	0	6	38											
24	1	4	33	1	0	0	1							
29	2	4	27	2	4	1	2							
32	2	4	17	2	0	0	4							
34	2	4	9	2	0	2	4							
38	0	3	6	0	0	0	4							
40	0	6	0	0	2	0	2	2	0	0	2			
43	0	0	0	2	0	1	0	1	1	0	0	1		
45	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	1		
47	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	1		
50				0	1	1	0	1	0	0	2	0	1	0
52				0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
54				0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
60				0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1
61				0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1
64				0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0

Tabla IX. Resultados obtenidos a 30°C, con sustrato, período marzo-junio de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA PDR ECLUSIDAR			LARVA TRILOBITA					
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT				
1	0	0	50												
6	0	0	50												
9	2	3	45	2	0	0	2								
11	0	1	44	0	0	1	1								
15	2	2	40	2	0	1	2								
22	4	5	31	4	0	0	6								
24	6	0	31	0	2	0	4	2	0	0	2				
27	0	3	28	0	1	0	3	1	0	0	3				
29	2	2	24	2	0	2	3	0	1	0	2	1	0	0	1
31	0	0	24	0	0	1	2	0	0	0	2	0	0	0	1
33	0	0	24	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	1
34	1	3	20	1	0	1	2	0	0	0	2	0	0	0	1
38	0	1	19	0	1	0	1	1	0	1	2	0	0	0	1
40	6	5	8	6	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	2
43	0	8	0	0	1	5	0	1	0	1	1	0	0	0	2
45								0	1	0	0	1	0	0	3
47												0	0	3	0

TABLA I. Resultados obtenidos a 35°C, con sustrato, período marzo-junio de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA POR ECLOSIONAR			LARVA TRILOBITA					
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT
1	0	0	50												
6	0	0	50												
8	5	3	42	5	0	0	5								
12	2	0	40	2	3	2	2	3	0	0	3				
18	2	4	34	2	1	0	3	1	0	0	4				
23	4	6	24	4	3	0	4	3	0	2	5				
29	1	5	18	1	0	1	4	0	1	3	1	1	0	0	1
31	0	5	13	0	0	0	4	0	1	0	0	1	0	1	1
36	1	2	10	1	0	0	5					0	0	0	1
38	0	4	6	0	0	4	1					0	0	1	0
41	0	2	4												
43	0	4	0												

TABLA II. Resultados obtenidos a 25°C, sin sustrato, período marzo-junio de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA POR ECLOSIONAR			LARVA TRILOBITA					
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT
1	0	0	50												
6	0	0	50												
11	0	0	50												
15	1	0	49	1	0	0	1								
22	3	0	46	3	1	0	3	1	0	0	1				
24	2	1	43	2	0	0	5	0	0	0	1	0			
29	5	2	36	5	0	2	8	0	0	0	0	0			
32	4	12	20	4	0	1	11	0	0	0	0	0			
36	0	4	16	0	7	1	3	7	0	0	7				
38	0	10	6	0	3	0	0	3	0	1	9				
40	0	3	3												
43	0	3	0												
45															
47															
50															
52															
54															
57															
60															
64															
66															
67															
68															
70															
80															
82															
85															

TABLA III. Resultados obtenidos a 30°C, sin sustrato, período marzo-junio de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA POR ECLOSIONAR			LARVA TRILOBITA			FASE LIMBLITO I		
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT
1			50												
6			50												
8	4	1	43	4	0	0	4								
11	7	1	37	7	4	0	7	4	0	0	4				
13	16	0	27	16	1	2	14	1	0	0	5				
15	17	0	19	17	14	0	17	14	2	3	14	2	0	0	2
19	8	1	1	8	17	0	17	3	0	28	1	0	0	5	
22	1	0	8	1	8	0	1	8	2	3	31	2	1	0	4
24															
27															
29															
31															
33															
36															
38															
40															
43															
45															
47															
50															
52															
54															
57															
60															
61															
64															
67															
68															
72															
78															
80															
82															
85															

TABLA IIII. Resultados obtenidos a 35°C, sin sustrato, período marzo-junio de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA POR ECLOSIONAR			LARVA TRILOBITA			FASE LIMBLITO I		
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT
1			50												
6			50												
8	2	2	46	2	0	0	2								
12	4	2	40	4	0	0	4								
18	16	0	26	16	6	9	14	6	0	0	6				
23	15	11	9	15	4	7	21	4	1	1	6	1	0	0	1
24															
27															
31															
36															
38															
41															
43															
45															
47															
50															
52															
54															
57															
60															
61															
64															
67															
68															
72															
78															
80															
82															
85															





TABLA XVIII. Resultados obtenidos a 35°C, sin sustrato (réplicas), período Junio-agosto de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA POR ECLOSIONAR			LARVA TRILOBITA					
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT
1			50												
6	22	2	27	22	0	0	22								
8	8	2	17	8	5	3	22	5	0	0	5				
9	8	2	7	8	3	0	27	3	0	0	8				
11	1	6	0	1	4	2	22	4	0	1	11				
13				0	6	0	16	6	0	0	17				
15				0	0	1	15	0	0	0	17				
17				0	4	2	9	4	1	0	20	1	0	0	1
20				0	4	0	5	4	1	4	19	1	0	0	2
22				0	0	5	0	0	2	1	16	2	0	0	4
24								0	2	1	13	2	0	0	6
27								0	2	0	11	2	0	0	8
29								0	4	1	6	4	0	0	12
31								0	2	0	4	2	0	0	14
34								0	1	0	10				3
36								0	1	0	10				4
39								0	4	0	6	4	0	0	8
41								0	1	1	4	1	0	0	9
43								0	0	0	4	0	0	1	8
45								0	3	1	0	3	0	0	11
48												0	0	1	10
50												0	0	0	10
52												0	0	5	5
55												0	0	1	4
57												0	0	2	2
59												0	0	2	0

TABLA XIX. Resultados obtenidos a 35°C, sin sustrato (réplicas), período Junio-agosto de 1991.

DIA	HUEVECILLOS DE PRIMEROS ESTADIOS			HUEVECILLOS DE ESTADIOS AVANZADOS			LARVA POR ECLOSIONAR			LARVA TRILOBITA			FASE LIMBLITO I			FASE LIMBLITO II						
	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT	ING	PSE	MUE	TOT			
1			50																			
6	40	3	7	40	0	0	40															
8	0	0	7	0	18	2	20	18	0	0	18											
9	0	0	7	0	4	0	16	4	0	0	22											
11	2	5	0	2	5	0	13	5	0	2	25											
13				0	7	1	5	7	2	0	30	2	0	0	2							
15				0	1	1	3	1	7	2	22	7	0	0	9							
17				0	2	1	0	2	2	1	21	2	0	0	11							
20								0	4	0	15	4	0	0	17							
22								0	1	2	12	1	0	0	18							
24								0	4	0	8	4	0	0	22							
27								0	3	0	5	3	2	0	23	2	0	0	2			
29								0	3	2	0	3	3	0	23	3	0	0	5			
31												0	5	2	16	5	0	2	8			
34												0	3	0	13	3	0	1	10			
36												0	4	1	8	4	0	0	14			
39												0	2	0	6	2	0	0	16			
41												0	1	1	4	1	0	0	17			
43												0	1	0	3	1	0	7	11			
45												0	0	0	3	0	0	0	11			
48												0	0	0	3	0	0	6	5			
50												0	0	0	3	0	0	1	4			
52												0	1	0	2	1	0	1	4			
55												0	0	0	2	0	0	0	4			
57												0	0	0	2	0	0	1	3			
59												0	0	0	2	0	0	1	2			
62												0	1	0	1	1	0	0	3			
64												0	1	0	0	0	0	0	3			
66																			1	0	0	1
68																			1	0	1	1
71																			0	0	1	0