

Desarrollo embrionario del camarón de roca (*Rhynchocinetes typus*, H. Milne Edwards 1837), en condiciones de laboratorio

Embryonic development of the rock shrimp (*Rhynchocinetes typus*, H. Milne Edwards 1837), in laboratory conditions

ENRIQUE DUPRE, GILDA BELLOLIO
y KARIN LOHRMANN

Facultad de Ciencias del Mar,
Universidad Católica del Norte, Sede Coquimbo.
Casilla 117, Coquimbo, Chile

RESUMEN

Se describen los estados del desarrollo embrionario de *Rhynchocinetes typus* Milne Edwards 1837, y la duración del desarrollo total en cuatro rangos de temperatura que fluctúan entre 13° y 21°C. Se describen 10 estados embrionarios en base a la coloración del huevo, volumen de vitelo, aparición de apéndices y pigmentación del globo ocular. El desarrollo embrionario tiene una duración promedio de 52 días a 13-14°C; 33,6 días a 14-15°C; 21,8 días a 18-19°C y 20,8 días a 19-21°C.

Palabras claves: Desarrollo embrionario, período de incubación, crustáceo, decápodo, carídea.

ABSTRACT

This study describes the embryonic development of the rock shrimp *Rhynchocinetes typus* Milne Edwards 1837, and establishes the incubation period of eggs at four temperature ranges fluctuating from 13 to 21°C. Ten embryonic stages were determined based on egg color, volume of yolk, development of appendages and eye pigmentation. The embryonic development time at 13-14°C is 52 days; at 14-15°C is 33,6 days; at 18-19°C is 21,8 days and at 19-21°C is 20,8 days.

Key words: Embryonic development, incubation period, temperature, crustacea, decapod, caridea.

INTRODUCCION

Con el creciente interés mundial de desarrollar la acuicultura se están llevando a cabo considerables esfuerzos en Europa, Asia, Norte, Centro y Sud América para cultivar intensivamente cinco grupos de especies: salmonídeos, langostinos, camarones, langostas, ostras y ostiones (San Feliú 1987). En los últimos decenios se han conseguido considerables éxitos en el cultivo de langostinos, camarones y langostas. En camarones, los cultivos se han centrado en los géneros *Penaeus*, *Macrobrachium* y *Palaeomon*, entre otros. Los estudios sobre los cultivos de langostas han sido realizados principalmente por Kittaka & Kimura (1989) en *Panulirus japonicus*, Kittaka (1988) en *Jasus lalandii*, Igarashi *et al.* (1990) en *Jasus edwardsii* y Hughes *et al.* (1974),

Fisher *et al.* (1976) en *Homarus americanus*. Sin embargo, aún existen numerosas dificultades que deben ser solucionadas en el área ligada a la reproducción, como es el control de la maduración ovárica, la fecundidad de machos y condiciones hormonales que desencadenan el desove (Lau-bier, en: San Feliú 1987).

Varios autores (Silberbauer 1971, Branford 1978, Aiken & Waddy 1980, Junio 1987) han determinado que embriones aceleran o retardan su desarrollo si se aumenta o disminuye la temperatura de cultivo, respectivamente. De este modo es posible obtener la eclosión de larvas en períodos menores o mayores de incubación. Estos antecedentes permiten realizar un programa de eclosión de larvas, es decir, en número definido previamente y a intervalos específicos de tiempo, partiendo

de embriones que se encuentran en un mismo estado del desarrollo y de esta manera aumentar la eficiencia de la operación de un cultivo. Una producción de larvas insuficiente resulta en una utilización pobre de las instalaciones del cultivo y a su vez una producción que exceda la capacidad de las instalaciones significa que una gran cantidad de larvas deberá ser desechada (Aiken & Waddy 1985). Cualquiera de estas alternativas genera un alza de los costos de producción. Es por esto que previo a la obtención de juveniles a partir de larvas competentes es necesario conocer y manejar una cadena de eventos cronológicos que comienzan con la fecundación y terminan con la obtención de los primeros estados juveniles. Esto implica conocer el proceso de la fecundación, el desarrollo embrionario, el desarrollo larval, la metamorfosis y los primeros estadios de juveniles y relacionarlos con factores biológicos, físicos y químicos.

El camarón de roca *Rhynchocinetes typus* constituye un recurso económico de importancia en Chile, especialmente en las II y V Regiones donde es explotado, principalmente, por pescadores artesanales (Martínez & Arana 1983, Martínez *et al.* 1988). Los estudios sobre su biología reproductiva se refieren a la estructura y ultraestructura espermática (Dupré & Barros 1983), interacción gamética (Barros *et al.* 1985) y a su fecundidad en la zona de Valparaíso (Dupré 1981)¹. El resto de los estudios se refiere a su pesquería (Martínez & Arana 1983), crecimiento (Martínez *et al.* 1988) y reclutamiento de juveniles (Vásquez & Castilla 1982). El presente estudio describe cada uno de los estados embrionarios y establece la duración a diferentes temperaturas en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y METODOS

Hembras portadoras cuyos embriones se encuentran en los primeros estados del desarrollo fueron capturadas entre abril

y agosto de 1990, mediante trampas camarónicas en la Bahía La Herradura. Se estudiaron los embriones de 4 grupos de hembras de 35 ejemplares cada uno. Dos de ellos se mantuvieron en estanques plásticos de 100 l con agua de mar circulante en dos rangos de temperatura: 14^o-15^o y 13^o-14^oC, correspondientes a la temperatura del agua de la bahía en abril-mayo y mayo-julio, 1990, respectivamente. Los otros dos grupos fueron puestos en dos estanques plásticos de 50 l en una sala de ambiente controlado a temperaturas de 18-19^o y 19-21^oC, los cuales tuvieron recambio de agua cada dos días. Esta diferencia de tratamiento para ambos grupos se debe a la dificultad técnica de obtener flujo constante de agua a mayores temperaturas. Para determinar el estado de desarrollo de los embriones se analizaron 8-12 embriones extraídos de cada hembra cada dos días. Estos fueron analizados y fotografiados en vivo bajo microscopio Nikon, con equipo fotográfico automático HFX-32. Para el análisis de las primeras 48 horas posfecundación se utilizaron ovocitos maduros extraídos del ovario y posteriormente fecundados *in vitro*, utilizando la metodología empleada por Dupré (1991). Brevemente, consiste en obtener los espermatozoides por electroeyaculación, los que se diluyen en agua de mar. Se mezclan con los ovocitos mediante pipeteo suave durante 3 min. Después de dejarlos en reposo durante 15 min son lavados con agua de mar filtrada e incubados a diferentes temperaturas.

RESULTADOS

Fecundación

Los ovocitos maduros son esféricos de 500-512 μm de diámetro, de color café-amarillento y presentan una cubierta externa, el corion, con el cual interactúa el extremo distal del proceso acicular del espermatozoide (Fig. 1), produciéndose un cono de fecundación (Fig. 2). Después de atravesarla se eleva el corion y se evidencia una segunda membrana que corresponde a la cubierta vitelina (Fig. 3).

¹ DUPRE E (1981) Informe final Proyecto *Rhynchocinetes typus*. Escuela de Ciencias del Mar, U. Católica de Valparaíso. 12 pp.

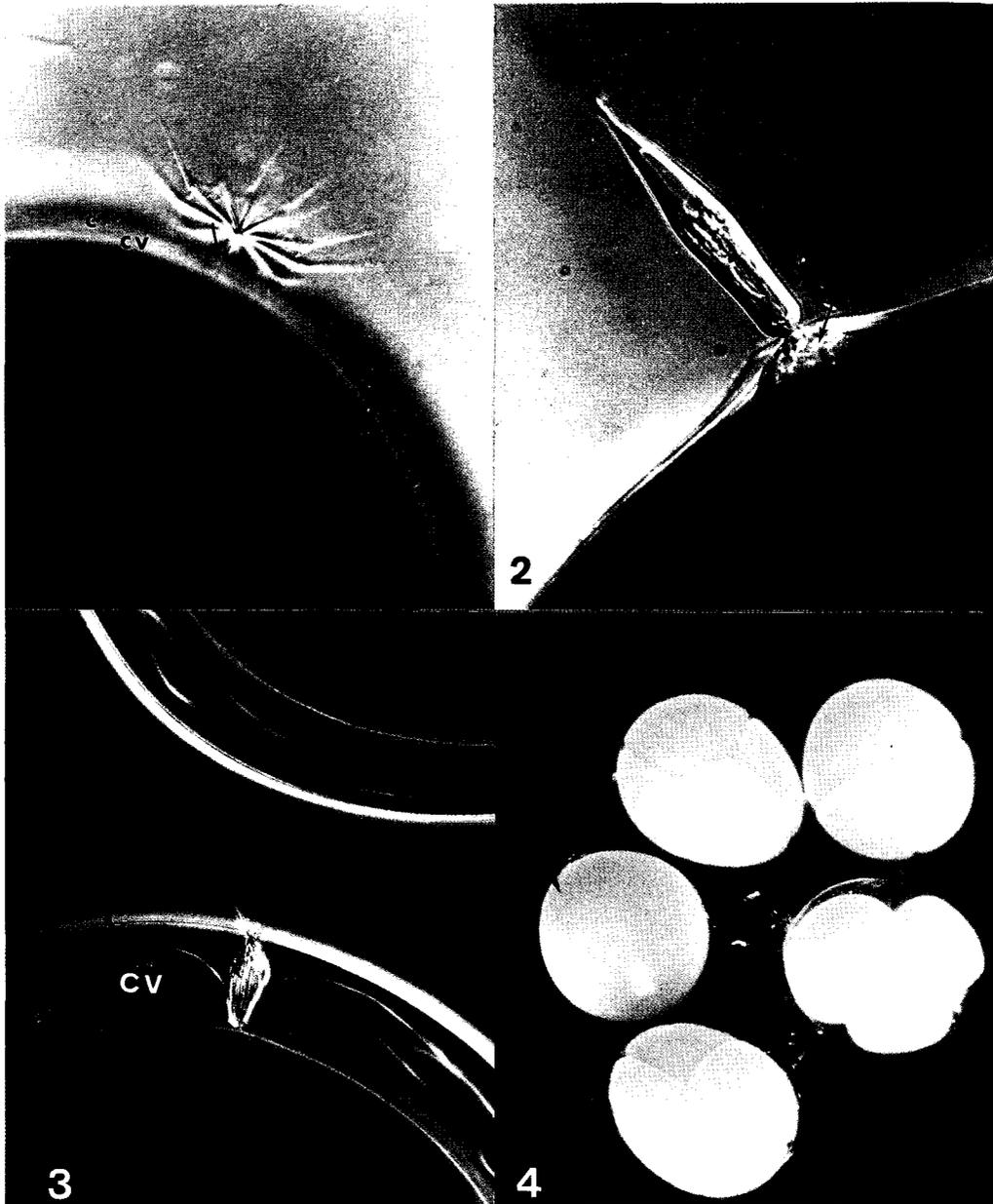


Fig. 1: Primera interacción gamética (flecha: proceso acicular del espermatozoide, c: corion, cv: cubierta vitelina). 380 X.

First gamete interaction (arrow: acicular process of the spermatozoon; c: chorion; cv: vitelline layer). 380 X.

Fig. 2: Formación del cono de fecundación (flecha) y comienzo de la penetración espermática. Note los brazos radiales cerrados. 400 X.

Formation of the fertilization cone (arrow) and beginning of the spermatozoon penetration. Note that the radial arms are closed. 400 X.

Fig. 3: Penetración del espermatozoide (flecha) a través de las cubiertas ovocitarias. (cv: cubierta vitelina, c: corion). 375 X.

Penetration of the spermatozoon (arrow) through the oocyte layers (cv: vitelline layer, c: chorion). 375 X.

Fig. 4: Embriones en estado 1 (flecha) y estado 2 de 4 blastómeros, 26 horas posfecundación a 14^o-15^oC. 57 X.

Embryos in stage 1 (arrow) and stage 2 of 4 blastomeres, 26 hours postfertilization at 14^o-15^oC. 57 X.

Descripción de los estados del desarrollo embrionario

Se determinaron 10 estados embrionarios en base a la coloración, volumen de vitelo, aparición de apéndices y pigmentación del globo ocular.

Estado 1: Inmediatamente después de la fecundación los ovocitos permanecen esféricos o levemente ovalados y presentan coloración café-amarillenta. No se observa ningún signo de segmentación. El corion se torna muy adhesivo y luego adquiere una consistencia fibrosa resistente que mantiene unidos a los huevos entre sí y a la vez a las sedas de los pleópodos.

Estado 2: Corresponde al estado de segmentación del huevo. Su coloración es anaranjada. Después de 24 horas posfecundación (14-15°C) el huevo se divide formando dos blastómeros. Dos horas después aparece el estado de 4 células (Fig. 4), continuando las divisiones cada 2 horas hasta formar una mórula (Fig. 5). El proceso de segmentación es de tipo rotacional.

Estado 3 (Fig. 6): En este estado aparece el primordio embrionario como una pequeña muesca transparente en el polo animal. Las células cargadas de vitelo dispuestas en forma radial ocupan los 4/5 del volumen del huevo.

Estado 4 (Fig. 7): El primordio embrionario se ha alargado y ocupa 1/6 del volumen total del huevo. El resto es ocupado por células dispuestas radialmente.

Estado 5 (Fig. 8): El embrión presenta dos sectores separados por una prolongación del vitelo hacia el interior del embrión. Las dos partes que se observan corresponden a la formación de los ojos y a la formación del abdomen.

Estado 6: Embrión similar al estado anterior; sin embargo, se aprecian claramente los primeros apéndices torácicos.

Se observa el movimiento cardíaco en la región dorsal de la larva en formación. El embrión adquiere forma ovoide y mide 645 μm x 546 μm .

Estado 7 (Fig. 9): Se caracteriza por la aparición de la pigmentación del ojo como una delgada línea de color negro en la región media anterior del embrión. Los apéndices torácicos son visibles. El vitelo ocupa menos de la mitad del volumen del huevo. El movimiento cardíaco es evidente. El embrión mide 659 μm x 546 μm .

Estado 8 (Fig. 10): Se caracteriza por la presencia de pigmentación negra en forma de lente cóncava. Se observan los pereiópodos y el telson. En este estado aparece una zona pigmentada esférica de color rojizo en la región ventroposterior del globo ocular correspondiente al cromatóforo de la antena. El embrión ovoide mide 696 μm x 551 μm .

Estado 9 (Fig. 11): La pigmentación de cada globo ocular forma un óvalo. La larva está bien formada y medianamente pigmentada. El tubo digestivo y los extremos de los apéndices presentan cromatóforos estrellados con pigmentación roja. El vitelo se reduce a una masa subtriangular en la región dorsal de la larva. El embrión de forma ovoide mide 776 μm x 563 μm .

Estado 10 (Fig. 12): Este estado es semejante al anterior, sin embargo difiere de éste en la reducida cantidad de vitelo que se ubica en la región dorsal del cefalotórax o no se observa. Presenta pigmentación roja en la región dorsal del tercer segmento abdominal, correspondiente a cromatóforos estrellados situados en la base de la furca y en cada una de las ramas de ésta, y en la región ventroposterior del globo ocular correspondiente a cromatóforos de las antenas y anténulas. En este estado la larva está totalmente formada y apta para eclosionar. Se observa movimiento constante de apéndices y abdomen. El embrión mide 825 μm x 608 μm .

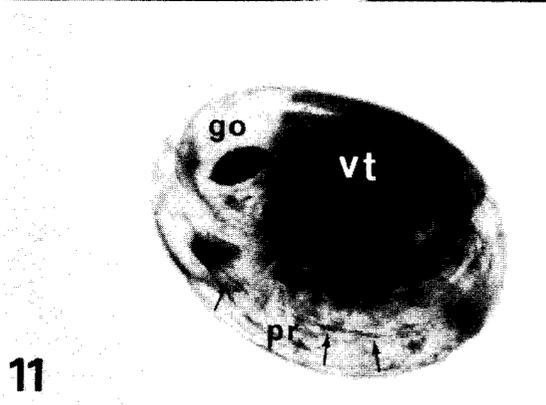
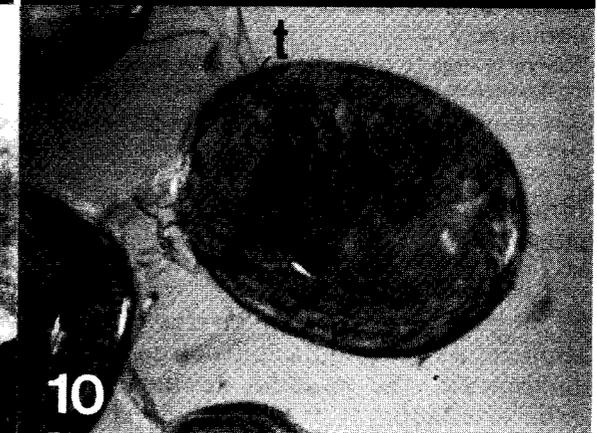
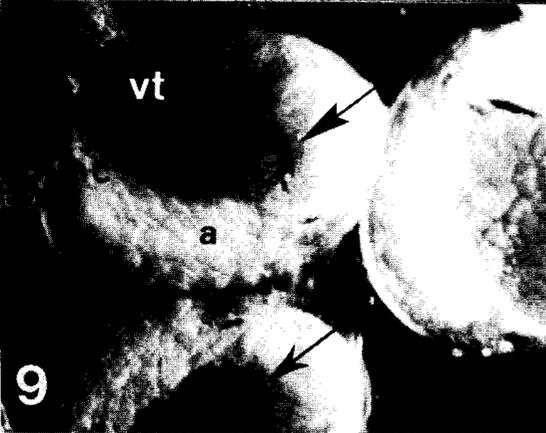
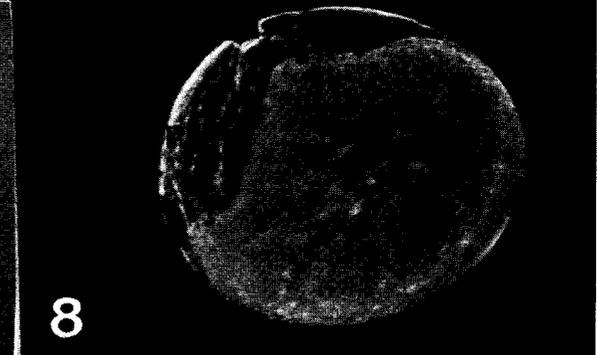
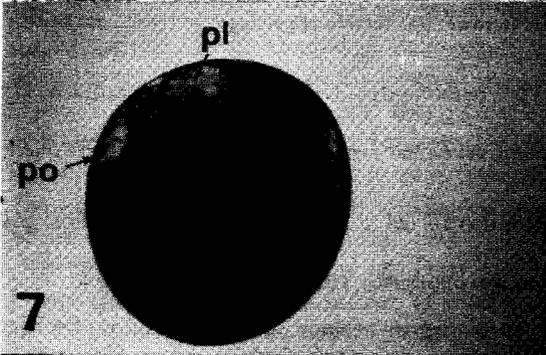
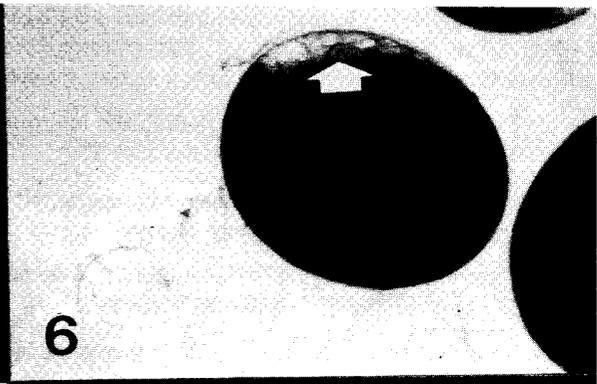
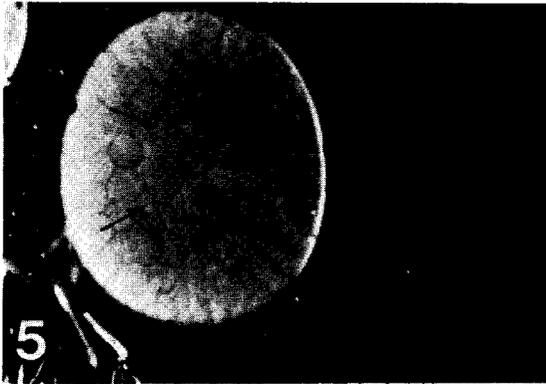


Fig. 5: Mórula de 40 horas posfecundación a 14°-15°C. Note las células en disposición radial (flechas) 54 X.

Morula of 40 hours postfertilization at 14°-15°C. Note the radial arrangement of the cells. 54 X.

Fig. 6: Embrión en estado 3 (flecha: primordio embrionario). 47 X.

Embryo in stage 3 (arrow: embryo primordium). 47 X.

Fig. 7: Embrión en estado 4 (po: primordio ocular, pl: pleón, vt: vitelo). 47 X.

Embryo in stage 4 (po: optic primordium, pl: pleon, vt: yolk). 47 X.

Fig. 8: Embrión en estado 5 (flechas: rudimentos de pereiópodos). 60 X.

Embryo in stage 5 (arrows: pereiopod rudiments). 60 X.

Fig. 9: Embrión en estado 7, inicio de la pigmentación del globo ocular (flechas), (a: apéndices torácicos, vt: vitelo, ac: área cardíaca). 60 X.

Embryo in stage 7, beginning of pigmentation of the optic lobe (arrows), (a: toraxic appendages, vt: yolk, ac: cardiac region). 60 X.

Fig. 10: Embrión en estado 8 (o: pigmentación ocular, pr: pereiópodos, t: telson, ac: área cardíaca, vt: vitelo, flechas: tubo digestivo). 60 X.

Embryo in stage 8 (o: optic pigmentation, pr: pereiopods, t: telson, ac: cardiac region, vt: yolk, arrows: digestive tract). 60 X.

Fig. 11: Embrión en estado 9 (vt: vitelo, o: pigmentación dentro del globo ocular, pr: pereiópodos, go: globo ocular, flechas: tubo digestivo). 55 X.

Embryo in stage 9 (vt: yolk, o: pigmentation inside the optic globe, go: optic globe, arrows: digestive tract). 55 X.

Fig. 12: Embrión en estado 10 (go: globo ocular con su pigmento ovalado, pr: pereiópodos, flechas: cromatóforos del tubo digestivo, pigmentación del tubo digestivo; puntas de flechas: cromatóforos de la antena). 60 X.

Embryo in stage 10 (go: optic globe ovally pigmented, arrows: chromatophores of the digestive tract, pigmentation of the digestive tract; arrow head: chromatophore of the antenna). 60 X.

Influencia de la temperatura en la duración del desarrollo

Se observó una relación inversa entre la temperatura y la duración del desarrollo embrionario. El período de incubación entre el estado 1 y la eclosión de la larva puede variar entre 19,8 y 50 días a temperaturas que van desde 13° a 21°C. La duración total promedio a 13°-14°C es de 52 días, a 14°-15°C es de 33,6 días, a 18°-19°C es de 21,8 días y a 19°-21°C es de 20,8 días. Por lo cual el desarrollo embrionario se acorta en 30 días al incubarse los embriones a temperaturas de 19°-21°C.

Los datos obtenidos en este estudio se graficaron realizando un ajuste de curva por mínimos cuadrados (Fig. 13). La ecuación correspondiente a la curva resultante para *Rhynchocinetes typus* es la siguiente:

$$PI = 12.950,6 T^{-2,7}$$

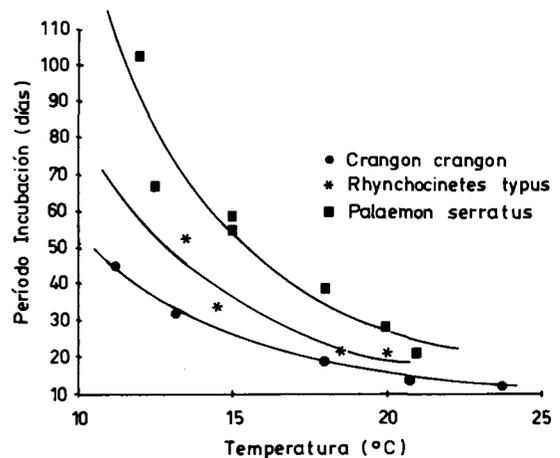


Fig. 13: Período de incubación en días desde el desove hasta la eclosión en tres especies de crustáceos decápodos a diferentes temperaturas. Los datos experimentales para *Crangon crangon* y *Palaemon serratus* son de Wear (1974). Las curvas fueron ajustadas por mínimos cuadrados. Period of incubation in days from spawning to hatching in three species of decapod crustaceans at different temperatures. Experimental data for *Crangon crangon* and *Palaemon serratus* were obtained from Wear (1974). Curves were fitted by the minimum squares.

en que PI es el período de incubación desde el estado 1 hasta la eclosión y T es la temperatura a la cual se incubaron los embriones. Para comparar estos resultados con otras especies de carideas se graficaron curvas para *Palaemon serratus* y *Crangon crangon* basadas en los datos sobre períodos de incubación proporcionados por Wear (1974).

DISCUSION

La secuencia de la aparición de apéndices durante el desarrollo embrionario de *R. typus* sigue el patrón general descrito para crustáceos decápodos (Anderson 1982). Sin embargo, para carideos se han descrito diversas modalidades de segmentación temprana. En *Astacus* (Zehnder 1934, Reichenbach 1886, en: Kumé & Dan 1968) y en *Pacifastacus leniusculus* (Celada *et al.* 1987) el clivaje es superficial; en cambio, en *Palaemon* no se observa segmentación externa hasta el estado de 8 células, en que el huevo se divide totalmente (Kumé & Dan 1968). La segmentación temprana de *R. typus* es holoblástica, e igual siendo similar a lo descrito por Nair (1949 en: Kumé & Dan 1968) para *Cariadina laevis*, en ambas especies el embrión se divide holoblásticamente hasta 16 blastómeros y en las siguientes divisiones los surcos no se prolongan hasta el interior del embrión dejando una masa central de vitelo sin dividir.

En este estudio el reconocimiento de los estados embrionarios está basado en la coloración del huevo, el volumen de vitelo, la aparición de apéndices y la pigmentación del globo ocular, aun cuando otros autores (Perkins 1972, Helluy & Beltz 1991) utilizaron el tamaño de la pigmentación del ojo como indicador del estado del desarrollo en *Homarus americanus*. Este índice de pigmentación del ojo resulta adecuado para aquella especie, ya que da cuenta del 86,8% del período total de incubación; sin embargo, en *R. typus* el pigmento ocular sólo aparece a partir del estado 7 del desarrollo, cuando ha transcurrido 50-65% del tiempo total de incubación (a temperatura de 13°-21°C). Es

por esto que el uso del índice ocular propuesto por Perkins (1972) es sólo aplicable desde el estado 7 en adelante. Una alternativa para determinar en forma más exacta el avance del desarrollo embrionario tardío de *R. typus*, que debiera ser analizada con más atención, se basa en la formación de los cromatóforos. Estos comienzan a aparecer desde el estado 7. Al inicio presentan formas esféricas u ovaladas y con borde regular, pero a medida que transcurre el desarrollo se expanden en formas estrelladas.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros agradecimientos al señor Manuel Navea, académico de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Católica del Norte, por su apoyo matemático. Este proyecto fue financiado parcialmente por CIDERE-IV Región, Pesquera Dal Nord y por proyecto DGI 39-91 de la Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica de la U. Católica del Norte.

LITERATURA CITADA

- AIKEN DE & SL WADDY (1980) Reproductive biology: J Cobb & B Phillips (eds). The biology and management of lobster 1: 215-276. Academic Press.
- AIKEN DE & SL WADDY (1985) Production of seed stock lobster culture. *Aquaculture* 44: 103-114.
- ANDERSON DT (1982) Embryology. In: Abele LG (eds). The Biology of Crustacea. 2, Embryology, Morphology and Genetics: 1-41 Academic Press.
- BARROS C, E DUPRE & L VIVEROS (1986) Sperm-egg interactions in the shrimp *Rhynchocinetes typus* Gamete Research, 14: 171-180.
- BRANDFORD JR (1978) Incubation period for the lobster *Homarus gammarus* at various temperatures. *Marine Biology* 47: 363-368.
- CELADA J, P DE PAZ, VR GAUDIOSO & R FERNANDEZ (1987) Embryonic development of the freshwater crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana): a scanning electron microscopic study. *Anatomical Record* 219: 304-310.
- DUPRE E (1991) Interacción gamética en *Rhynchocinetes typus* (Crustacea, Decapoda, Natantia). Destino de las estructuras espermáticas y formación del pronúcleo macho. Tesis de Magister. Facultad de Medicina Universidad de Chile.
- DUPRE E & C BARROS (1983) Fine structure of the mature spermatozoon of the shrimp *Rhynchocinetes typus* (Crustacea, Decapoda). *Gamete Research* 7: 1-18.
- FISHER WS, EH NILSON, LF FOULLET & RA SHLESER (1976) Hatching and rearing lobster larvae (*Homarus americanus*) in disease situation. *Aquaculture* 7: 75-80.
- HELLUY SM & BS BELTZ (1991) Embryonic development of the american lobster (*Homarus americanus*): Quantitative staging and characterization

- of an embryonic molt cycle. *Biological Bulletin* 180: 355-371.
- HUGHES JT, RA SHLESER & G TCHOBANOGLIOUS (1974) A rearing tank for lobster larvae and other aquatic species. *Progress in Fish Culture* 36: 129-133.
- IGARASHI MA, J KITAKA & E KAWAHARA (1990) *Phyllosoma* culture with inoculation of marine bacteria. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56: 1781-1786.
- JUINIO MA (1987) Some aspects of the reproduction of *Panulirus penicillatus* (Decapoda, Palinuridae). *Bulletin of Marine Science* 41: 242-252.
- KITAKA J (1987) Culture of the palinurid *Jasus lalandii* from egg stage to puerulus. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 87-93.
- KITAKA J & K KIMURA (1989) Culture of the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* from egg to juvenile stage. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 963-970.
- KUME M & K DAN (1968) Arthropoda. In: *Invertebrate Embryology*: 333-388. Nolit Publishing House, Belgrade, Yugoslavia.
- MARTINEZ G & P ARANA (1983) Crecimiento del camarón de roca (*Rhynchocinetes typus*, Milne Edwards 1837) en la zona de Valparaíso (Chile). *Ciencia y Tecnología del Mar. CONA* 7: 85-107.
- MARTINEZ G, L PIZARRQ & E YAÑEZ (1988) El camarón de roca (*Rhynchocinetes typus* H. Milne Edwards 1837) en la zona de Valparaíso-Chile: un análisis del rendimiento por recluta. *Investigaciones Marinas* 16: 41-48.
- PERKINS H (1972) Development rates at various temperatures of embryos of the northern lobster (*Homarus americanus* Milne Edwards). *Fishery Bulletin* US 70: 95-99.
- SAN FELIU JM (1987) La acuicultura marina en la comunidad valenciana. Publicaciones del Excelentísimo Ayuntamiento de Castellón de la Plana.
- SILBERBAUER BI (1971) The biology of the south-african rock lobster *Jasus lalandii* (H. Milne Edwards) II. The reproductive organs, mating and fertilization. *Investigational Report Division Sea Fisheries South Africa* 93: 1-46.
- VASQUEZ JA & JC CASTILLA (1982) Areas de reclutamiento y estructura poblacional de *Rhynchocinetes typus* H. Milne Edwards 1837 (Crustacea Rhynchocinetidae) en Chile central. *Investigaciones Marinas* 10: 1-14.
- WEAR RG (1974) Incubation in british decapod crustacea, and the effect of temperature on the rate and success of embryonic development. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom* 54: 745-762.