

Caracterización de estadios embrionarios de *Cryphiops caementarius* (Crustacea, Palaemonidae)

Characterization embryonic stages of *Cryphiops caementarius* (Crustacea, Palaemonidae)

Walter E. Reyes-Avalos¹, Henry Luján-Monja², Laura Moreno-Fernández² y M. Pesantes-Murillo³.

RESUMEN

El objetivo fue caracterizar estadios embrionarios de *C. caementarius* considerando la morfología y la aparición de cromatóforos. Se emplearon 43 hembras ovíferas. Se consideró tamaño del vitelo; segmentación y gastrulación; desarrollo del abdomen, telson, apéndices cefalotorácicos, ojos y cromatóforos. Se caracterizaron nueve estadios embrionarios.

En el estadio 1, el huevo fue recién desovado; en el estadio 2, hubo segmentación y en el estadio 3, apareció el blastoporo y el primordio embrionario. En el estadio 4, el metanauplio embrionario reciente. El estadio 5, con cromatóforos y pigmentación ocular sobre el vitelo. El estadio 6, con pigmentación ocular granate al borde del vitelo. El estadio 7, con un par de cromatóforos en el tercer segmento abdominal. En el estadio 8, el metanauplio en premuda y en el estadio 9, la pre-zoea con setas más grandes y biplumosas y con similares características morfológicas que la primera zoea. El desarrollo embrionario duró 23 días a 21,2°C.

Palabras clave: Desarrollo, embrión, camarón, *Cryphiops caementarius*.

ABSTRACT

The objective was to characterize stages embryonic of *C. caementarius* being considered the morphology and the appearance of chromatophore. 43 berried females were used. It was considered to be the size of yolk; segmentation and gastrulation; development of the abdomen, telson, cephalotoracic appendices, eyes and chromatophore. Nine embryonic stages were characterized. In stage 1 the egg just was laid eggs; in stage 2 there was segmentation and in stage 3 appeared blastopore and primordium embryonic. In stage 4 metanauplii embryonic recent. Stage 5 with chromatophore and reddish ocular pigmentation. Stage 6 with garnet ocular pigmentation on external border of madness yolk. Stage 7 with a pair of chromatophore in the third abdominal segment. In stage 8 metanauplii was in premoult and stage 9 the pre-zoea with greater and biplumose setae. The embryonic development lasted 23 days at 21,2°C.

Key words: Development, embryo, prawn, *Cryphiops caementarius*.

¹Departamento de Biología, Microbiología y Biotecnología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional del Santa. Perú.

²Asociación Acuicultura y Desarrollo (AQUADES), Chimbote, Perú.

³Marinazul S.A. Tumbes. Perú

INTRODUCCIÓN

El desarrollo embrionario es un proceso continuo desde la fecundación hasta el nacimiento del nuevo ser. En crustáceos, el desarrollo embrionario es descrito morfológicamente por diferentes métodos. En *Macrobrachium rosenbergii*, se describe la morfología del embrión a través del tiempo¹. En cambio en *M. inca*², *M. gallus*³ y *M. digueti*⁴ se describen ciertas estructuras del embrión que determinan cuatro estadios embrionarios. Sin embargo, descripciones microscópicas detalladas de la morfología del embrión establecieron siete estadios en *Jasus frontalis*⁵, diez estadios en *Rynchocinetes typus*⁶ y ocho en *M. olfersi*, *M. potiuna*, *M. pandaliformis* y *Palaemon argentinus*⁷. Además, recientemente se emplea la medida del ojo (índice ocular) para establecer una escala porcentual del desarrollo embrionario en *Homarus americanus*⁸ y en *M. olfersi*⁹.

En el Perú, *Cryphiops caementarius* es el camarón de río de importancia comercial¹⁰, su apareamiento y desove se realizan sin inconvenientes en cautiverio y los huevos son fertilizados y acomodados entre sus pleópodos donde se lleva a cabo el desarrollo, estableciéndose cuatro estadios embrionarios² pero cuya descripción morfológica general no permite distinguir con facilidad un estadio de otro; de igual manera sucede cuando solo se describe el desarrollo embrionario en función al tiempo, sin precisar estadios¹¹.

Si bien el desarrollo embrionario es continuo, sin embargo para propósitos de aplicación biológica, es necesario establecer marcadores morfológicos que permitan distinguir estadios en las etapas de segmentación, gastrulación y organogénesis, principalmente en esta última donde las estructuras se suceden y se diferencian claramente en el tiempo.

La precisión de estadios del desarrollo embrionario del camarón es de importancia para el manejo de reproductores en cautiverio, puesto que la eclosión masiva de larvas es requerida para crianza comercial¹², pues con ello se seleccionan hembras ovíferas cuyos embriones presenten similares estadios de desarrollo. Además es de utilidad en bioensayos¹³, en biología reproductiva¹⁴ y en

aspectos nutricionales¹⁵. Por tanto, el objetivo fue caracterizar estadios del desarrollo embrionario de *C. caementarius*, considerando la morfología y la aparición de cromatóforos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los camarones fueron capturados en la parte baja del río Lacramarca (09°07'70" LS y 78°34'20" LW) de la Provincia del Santa, Departamento de Ancash. En el laboratorio se identificó a la especie *C. caementarius* según Méndez¹⁶ y se determinó la longitud total (LT= Escotadura postorbital - extremo posterior del telson) mediante un compás de dos puntas y una regla graduada en mm, y el peso total (PT) en una balanza digital ($\pm 0,1$ g). Los camarones fueron mantenidos en acuarios con 20 l de agua y aireación continua (2 l min⁻¹) y fueron alimentados con balanceado para camarón de mar (35% proteína total) dos veces al día (08:00 y 18:00 h) durante cinco días de la semana y en cantidad equivalente al 3% de su peso total. La temperatura promedio del agua fue de $21,2 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Se emplearon 43 hembras ovíferas (45,2 3,2 mm LT y 2,5 1,2 g PT), de las cuales ocho fueron obtenidos en laboratorio por apareamiento con camarones machos y las restantes ya portaban embriones al momento de su captura. Se extrajeron 20 embriones vivos de la superficie de la masa ovífera de cada hembra para observarlos con microscopio Carl Zeiss.

Se caracterizaron los estadios embrionarios de *C. caementarius* considerando: (1) tamaño del vitelo; (2) segmentación y gastrulación observados haciendo un seguimiento horario desde las 07:00 hasta las 20:00 h de aquellas hembras cuyo desove se realizó en la madrugada y confirmadas con las que desovaron a las 09:00 h; posteriormente el seguimiento del desarrollo fue de tres veces al día; (3) desarrollo morfológico del abdomen, telson y apéndices cefalotorácicos; (4) pigmentación y desarrollo de los ojos; y (5) aparición y grados de dispersión de cromatóforos, determinado de acuerdo a Wilson¹⁷. Además se realizó disección de los embriones por aplastamiento

inicio de la gástrula (estadio 3); siendo la gastrulación por ingresión de células desde el área gastroporal una regla general¹⁸. Luego, conforme avanzó el desarrollo se observó los primeros esbozos de los apéndices cefálicos característico del nauplio embrionario.

Con la aparición de los esbozos de pedúnculos oculares, abdomen y maxilípedos, el metanauplio embrionario inició su desarrollo (estadio 4). Luego aparecieron los esbozos de los ojos (estadio 5) en cuyo desarrollo adoptaron forma alargada (estadio 6) que se tornaron negros con esbozos de facetas omatidiales (estadio 7) hasta volverse redondos con facetas omatidiales definidas (estadios 8 y 9). Similar desarrollo de los ojos del metanauplio embrionario fueron observados en *J. frontalis*⁵ y *R. typus*⁶. Además, el índice ocular fue determinado a partir del estadio 5 cuando transcurrió el 55% del desarrollo; siendo similar a lo reportado para *R. typus*⁶ y *M. olfersi*⁹ que corresponde al 50-65% del desarrollo. Paralelamente al desarrollo del ojo se evidenciaron los latidos del corazón, la aparición de rudimentos del intestino y el crecimiento de las antenas y anténulas, que se diferenciaron desde el estadio 4 al 8, y la rápida utilización del vitelo, fueron los que indicaron maduración y funcionalidad de los sistemas orgánicos del metanauplio, siendo similar al desarrollo de *M. potiuna*, *M. pandaliformis*, *P. argentinus*⁷, *M. olfersi*⁹, *Heterozius rotundifrons* y *Cyclograpsus lavauxi*²⁰.

La aparición de cromatóforos en el embrión de *C. caementarius* ayudaron a precisar el estadio 5 al aparecer siete pares de cromatóforos rojos punteados, y el estadio 7 al aparecer dos grandes cromatóforos rojos punteados en la parte dorsal del tercer segmento abdominal. En cambio en los otros estadios, las características morfológicas ya descritas fueron más evidentes. Así mismo todos los cromatóforos, desde su aparición, se mantuvieron punteados y en los dos últimos estadios embrionarios adoptaron las condiciones puntoestelada, estrellada o retículoestrellada, aunque no sabemos porque de esta variación. Similar desarrollo de los cromatóforos sucede en embriones de *R. typus*⁶.

La presencia de conductos tubulares en el

tegumento de los maxilípedos, de las antenas, de las anténulas y del telson del metanauplio, fue indicador de setogénesis y de una muda metanaupliar embrionaria en el estadio 8, siendo el primer reporte sobre éste evento morfológico en *C. caementarius*. En embriones de *P. serratus* próximos a la eclosión, se ha observado la formación del órgano Y seguida de una cuticulogénesis activa²¹. En adultos de *C. caementarius* en el subestadio D₂ del ciclo de muda se observa con claridad los conductos tubulares que indica cercanía de la ecdisis²². Así mismo, la presencia de una membrana transparente que cubrió las setas de los apéndices cefalotorácicos mencionados y del telson del embrión en estadio 8, correspondería a la separación de la vieja cutícula, lo cual corrobora la muda embrionaria. Similar descripción de la muda metanaupliar embrionaria fue reportada en *H. americanus*⁸.

Después de producida la ecdisis del metanauplio embrionario, las setas desnudas de todos los apéndices mencionados anteriormente fueron más grandes y se tornaron biplumosas, diferenciándose el último estadio embrionario (estadio 9) con un IO de 135,5 µm, y el hecho de no haber cambios morfológicos hasta la eclosión y al compararlo con la morfología de la zoea recién eclosionada sugiere que el metanauplio fue una pre-zoea. Williamson²³ considera que en carídeos después de la eclosión se libera una zoea al tener natación torácica. En *P. serratus* la eclosión se produce después de una muda embrionaria y se libera una zoea²¹, en cambio en *H. americanus* después de dos mudas⁸.

La duración del desarrollo embrionario de *C. caementarius*, desde la oviposición hasta la eclosión (23 días a 21,2°C) fue similar a lo reportado en la misma especie²⁴ y durante este tiempo hubo disminución del vitelo (hasta 10%), producto del metabolismo durante la embriogénesis²⁵ para el desarrollo y crecimiento del embrión, como sucede en numerosos crustáceos decápodos^{1, 2, 4, 5, 15, 26, 27}.

El proceso de eclosión de los embriones de *C. caementarius* fue similar a lo descrito en la especie^{24, 28} y en otros palaemonidos^{1, 4, 9, 29} observándose incremento significativo del volumen del embrión en el último estadio, atribuido al ingreso de agua para facilitar la

eclosión. Similares resultados se ha obtenido en *M. rosenbergii*¹, en *J. frontalis*⁵ y en *Sesarma haemotacheir*. Sin embargo, la eclosión de embriones incubados en los recipientes de vidrio sugiere que dicho proceso fue controlado por el propio embrión a través de los movimientos de estiramiento que ocasiona ruptura de la cubierta embrionaria, lo cual es de importancia para futuros trabajos de incubación *in vitro*. Así mismo, de acuerdo con la cronología de los estadios embrionarios es posible predecir el momento de la eclosión, aunque es conveniente acumular información, principalmente a diferentes temperaturas de incubación porque éste es uno de los factores ambientales que afecta la tasa de desarrollo en diferentes crustáceos^{5,8}.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ling SW. The general biology and development of *Macrobrachium rosenbergii*. FAO Fish. Rep., 1969; 3 (57): 589-606.
- Mantilla CA. 1973. Características embriológicas de *Macrobrachium inca* Holthuis, 1959 y *Cryphiops caementarius* Molina, 1782. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 1973.
- Guerra A. Biología reproductiva de *Macrobrachium gallus* Holthuis, 1952 (Decapoda, Palaemonidae). Trabajo de Habilitación. Universidad Nacional de Trujillo. 1974.
- Gómez A. Desarrollo embrionario y larvario de *Macrobrachium digueti* Bouvier, 1895 (Decapoda, Palaemonidae) en condiciones de laboratorio. Trabajo de Habilitación. Universidad Nacional de Trujillo. 1984.
- Dupré E. Desarrollo embrionario de la langosta de Juan Fernández *Jasus frontalis* (Decapoda, Macrura, Palinuridae). Invest. Mar., Valparaíso, 1988; 16: 49-62.
- Dupré E, Bellolio G, Lohrmann K. Desarrollo embrionario del camarón roca (*Rhynchocinetes typus*, H. Milne Edwards, 1837) en condiciones de laboratorio. Revista Chilena de Historia Natural, 1992; 65: 435-442.
- Müller Y, Ammar D, Nazari E. Embryonic development of four species of palaemonid prawn (Crustacea, Decapod): pre-naupliar, naupliar and post naupliar periods. *Revista Brasileira de Zoologia*, 2004; 21 (1): 27-32.
- Helluy SM, Beltz BS. Embryonic development of the american lobster (*Homarus americanus*): quantitative staging and characterization of an embryonic molt cycle. *Biol. Bull.*, 1991; 180 (3): 355-371.
- Simões-Costa M, Pacheco C, Nazari EM, Müller MR, Ammar D. Estagiamento de embriões de *Macrobrachium olfersi* (Wiegman) (Crustacea, Palaemonidae) através de criterios morfológicos nos dias embrionarios. *Revista Brasileira de Zoologia*, 2005; 22 (2): 501-508.
- Yépez V, Bandín R. Evaluación del recurso camarón de río *Cryphiops caementarius* en los ríos Ocoña, Majes-Camaná y Tambo, Octubre 1997. Inf. Prog. Inst. Mar Perú, 1997; 77: 3-21.
- Vegas M, Ruiz L, Vega A, Sánchez S. El camarón *Cryphiops caementarius* (Palaemonidae): desarrollo embriológico, contenido estomacal y reproducción controlada: primeros resultados. *Rev. Lat. Acui.*, 1981; 9: 11-23.
- Lee DO'C, Wickins JF. *Cultivo de crustáceos*. 1ra. Edic. Edit. Acribia S.A. Zaragoza. España. 1997.
- Foss SS, Rayburn JR. Effects of culture duration on toxicity of ethanol to developing embryos of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1997; 59: 467-471.
- Schuldt M, Damborenea MC. La fecundidad en *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Palaemonidae) en el canal Villa Elisa (Puerto Lara, Provincia de Buenos Aires, Argentina). *An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso*, 1987; 18:33-39.
- Graeve M, Wehrtmann LS. Lipid and fatty acid composition of antarctic shrimp eggs (Decapoda: Caridea). *Polar Biol.* 2003; 26: 55-61.
- Méndez M. Claves de identificación y distribución de los langostinos y camarones (Crustacea: Decapoda) del mar y ríos de la costa del Perú. *Bol. Inst. Mar*

- Perú-Callao, 1981; 5: 1-170.
16. Wilson JA. Fundamentos de fisiología animal. Edit. Limusa, S.A. México. 1989.
 17. Waterman TH, Chace FA. General crustacean biology. In T.H. Waterman (Ed). Physiology of crustacea. Vol. I. Metabolism and growth. Acad. Press. New York. 1960; 1-33.
 18. Valentine JW. Cleavage patterns and the topology of the metazoan tree of life. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1997; 94: 8001-8005.
 19. Taylor HH, Leelapiyanart N. Oxygen uptake by embryos and ovigerous female of two intertidal crabs *Heterozius rotundifrons* (Bellidae) and *Cyclograpsus lavauxi* (Grapsidae): scaling and the metabolic costs of reproduction. *J. Exp. Biol.*, 2001; 204: 1083-1092.
 20. Van-Wormhoudt A, Bellon-Humbert C. Bases biológicas de los cultivos de crustáceos. In Barnabé (Ed). Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Edit. Acibia, S.A. Zaragoza. España. 1996; 219-279.
 21. Reyes WE, Lujan H. Estados y subestados del ciclo de muda del camarón de río (*Cryphiops caementarius* Molina, 1872) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). In: II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura 2003: 808-817. Disponible en URL: <http://www.civa2003.org>.
 22. Williamson DI. Names of larvae in the Decapoda and Eufausiacea. *Crustaceana*, parte 2, 1969; 16: 210-213.
 23. Viacava M, Aitken R, Llanos J. Estudio del camarón de río en el Perú 1975-1976. *Bol. Inst. Mar Perú*, 1978; 3 (5): 161-232.
 24. Anger K, Moreira GS. Patterns of larval and early juvenile growth in a semi terrestrial crab *Armases angustipes* (Decapoda: Sesarmidae) comparison with a congener with abbreviated development. *Mar. Biol.*, 2002; 141: 733-740.
 25. Glas PS, Courtney LA, Rayburn JR, Fisher WS. Embryonic coat of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. *Biol. Bull.*, 1997; 192: 231-242.
 26. Hernáez P, Palma S. Fecundidad, volumen del huevo y rendimiento reproductivo de cinco especies de porcelánidos intermareales del norte de Chile (Decapoda, Porcellanidae). *Invest. Mar., Valparaiso*, 2003; 31 (2): 35-46.
 27. Vega PA. Desarrollo embrionario en condiciones de laboratorio de *Cryphiops caementarius* (Molina). [Tesis de grado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú. 1974.
 28. Arana F. Experiencias sobre el cultivo del langostino *Macrobrachium americanum* BATE, en el noroeste de México. *FAO Informes de Pesca*, 1977; 1 (159): 139-147
 29. Saigusa M. Control of hatching in a estuarine terrestrial crab. I. Hatching of embryos detached from the female and emergence of mature larvae. *Biol. Bull.*, 1997; 183: 401-405.

Correspondencia:

Walter Eduardo Reyes Avalos.

Dirección:

Calle Chiclayo 256 Urb. Aranjuez. Trujillo. Perú.

Teléfono:

(044)346700 Cel. 949751665

E-mail:

wreyes@uns.edu.pe

del embrión entre láminas con agua salobre (20%) para confirmar la descripción morfológica desde el estadio 5.

La caracterización morfológica fue complementada midiendo el eje mayor (L) y menor (l) de los huevos (n20) en un microscopio de luz convencional equipado con ocular micrométrico (EM-15x Lomo) y el volumen (mm^3) fue calculado aplicando la fórmula de un elipsoide ($V = \pi \cdot L \cdot l^2 / 6$). Además se determinó el crecimiento (%) considerando el incremento del volumen promedio del huevo de cada estadio embrionario. También se consideró el Índice Ocular⁹ [$\text{IO} = (\text{eje mayor del ojo} - \text{eje menor del ojo}) / 2$].

Para describir el proceso de eclosión se seleccionaron cinco hembras con embriones en último estadio, extrayéndose 100 embriones para ser incubados en recipientes de vidrio con 100 ml de agua dulce y lenta aireación ($0,5 \text{ l min}^{-1}$). Los embriones fueron observados frecuentemente bajo microscopio hasta la eclosión. La morfología de la larva recién eclosionada fue descrita de acuerdo a Gómez⁴. Las fotomicrografías de los estadios embrionarios y de la larva, fueron tomadas con una cámara Contax 139 montada en microscopio Carl Zeiss.

Con los datos de volumen de cada estadios embrionario, se determinó homogeneidad de varianza, análisis de varianza de una vía y se realizó comparación de medias con la prueba de Tukey con 5% de significancia. Los análisis estadísticos se efectuaron utilizando el Software SPSS versión 12 para Windows. Las diferencias significativas fueron consideradas significativas cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

La cubierta embrionaria completamente transparente permitió observar nítidamente la morfología del embrión de *C. caementarius*, caracterizándose nueve estadios del desarrollo embrionario los cuales fueron definidos e identificados con un simple examen con microscopio óptico convencional.

Estadio 1: Huevos recién desovados. - Los huevos son de forma ovoide y el vitelo conformado por pequeños gránulos

anaranjados distribuidos uniformemente. No se observó división del huevo ni otras estructuras internas. Pegada externamente a la cubierta embrionaria, se encontraron restos de setas (Fig.1).

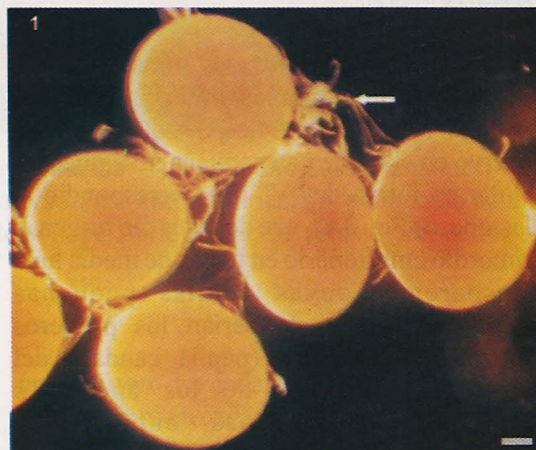


Fig. 1: Estadio 1 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. Huevos recién ovipositados, con restos de setas ovíferas (). (4x). Escala de la barra: 100 μm .



Fig. 2: Estadio 2 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Inicio de la segmentación con cuatro blastómeros (4x). B) Estado de formación de mórula (10x). Escala de la barra oscura 100 μm ; y barra clara 50 μm .

Estadio 2: Huevos en segmentación.- La segmentación ocurrió a las 12 horas después del desove. La primera y segunda segmentación superficial del huevo originó cuatro (Fig. 2A) y ocho blastómeros iguales, respectivamente. Las siguientes divisiones originaron a la mórula y los blastómeros cada vez más pequeños adoptaron disposición en espiral (Fig 2B).

Estadio 3: Embrión con blastoporo y primordio embrionario.- Embrión con 99% de vitelo. A las 36 horas después del desove se observó en el borde una pequeña invaginación celular en forma de "V" que correspondió al blastoporo (Fig. 3A), que después dio origen al primordio embrionario en forma de media luna transparente, cuyas células pequeñas desprovistas de vitelo serían los primeros esbozos del abdomen (papila caudal), del pedúnculo ocular y de los apéndices cefalotorácicos (antenas, anténulas y mandíbulas) (Fig. 3B).

Estadio 4: Metanauplio embrionario reciente.- Embrión con 90% de vitelo y está rodeado por dos membranas embrionarias. Las células embrionarias transparentes aumentaron en número y en tamaño y se observaron con nitidez los esbozos de los pedúnculos oculares, abdomen y maxilípedos (Fig. 4A). También se observaron esbozos de periódos (Fig. 4B).

Estadio 5: Metanauplio embrionario con cromatóforos y pigmentación ocular sobre el vitelo.- Embrión con 60% de vitelo. En el plano dorsolateral se observó tenuemente el contorno del cefalotórax y en su parte dorsal posterior el corazón latió esporádica y pausadamente. Apareció una delgada pigmentación ocular rojiza ligeramente encorvada, ubicado lateralmente sobre el vitelo (Fig. 5A). Los tres pares de maxilípedos fueron birramosos. Las antenas con exopodito con siete setas desnudas anchas y pequeñas; y endopodito digitiforme con dos setas apicales. Las anténulas con seta desnuda.

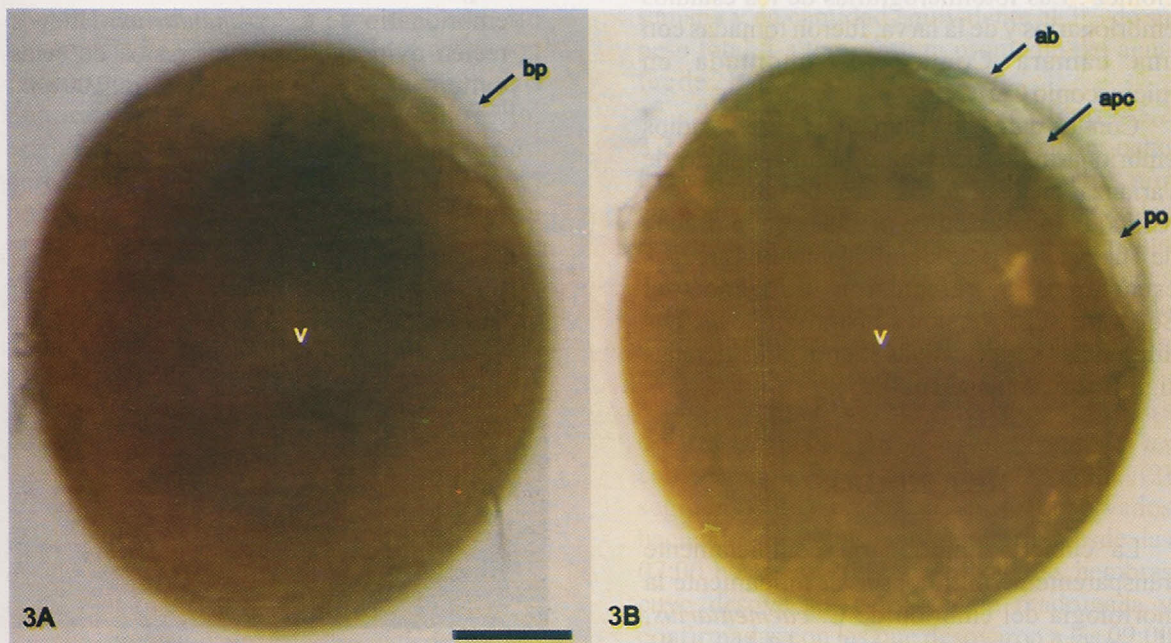


Fig. 3: Estadio 3 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Embrión con blastoporo. B) Formación del nauplio embrionario. Abreviaturas: apc: apéndices cefalotorácicos; bp: blastoporo; v: vitelo; po: pedúnculo ocular; ab: abdomen. (10x). Escala de la barra: 100 μ m.

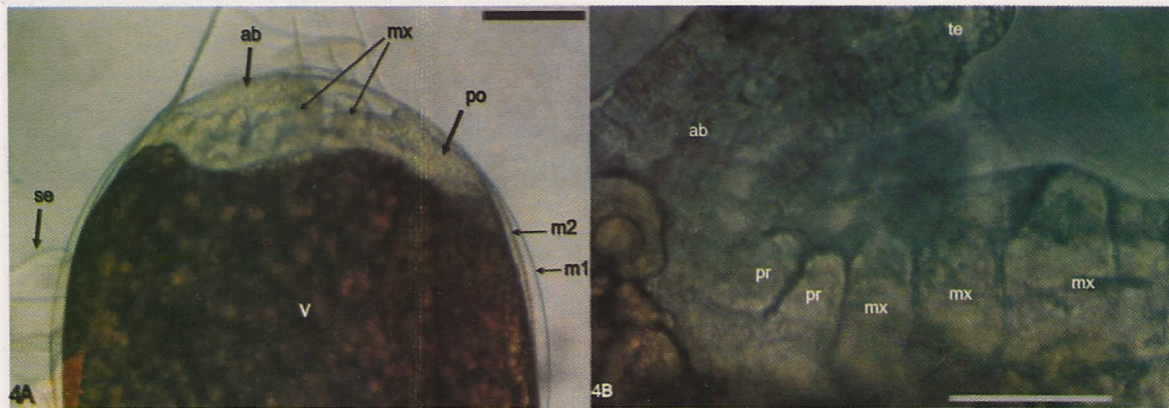


Fig. 4: Estadio 4 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Desarrollo del metanauplio vista a 10x y B) vista a 40x. Abreviaturas: m1 y m2: membranas embrionarias; po: pedúnculo ocular; ab: abdomen; v: vitelo; mx: maxilípedos; te: telson; pr: periópodos; se: setas ovíferas. Escala de la barra: 100 μ m.

en la parte apical. El intestino empezó a diferenciarse desde ambos extremos del abdomen. Esbozo ancho del telson ligeramente bilobulado, con 12 (6+6) pequeñas setas desnudas en el margen posterior (5B). Aparecieron siete pares de cromatóforos rojos punteados y de distribución simétrica bilateral: cinco pares en la cara ventral del vitelo del embrión; un

cromatóforo en cada pedúnculo ocular; y un cromatóforo en cada anténula.

Estadio 6: Metanauplio embrionario con pigmentación ocular granate al borde del vitelo.- Embrión con 50% de vitelo. El corazón fue más grande y latió rítmica y pausadamente. Pigmentación ocular ancha, granate oscuro, ovalada de contornos irregulares ubicados al borde lateral del

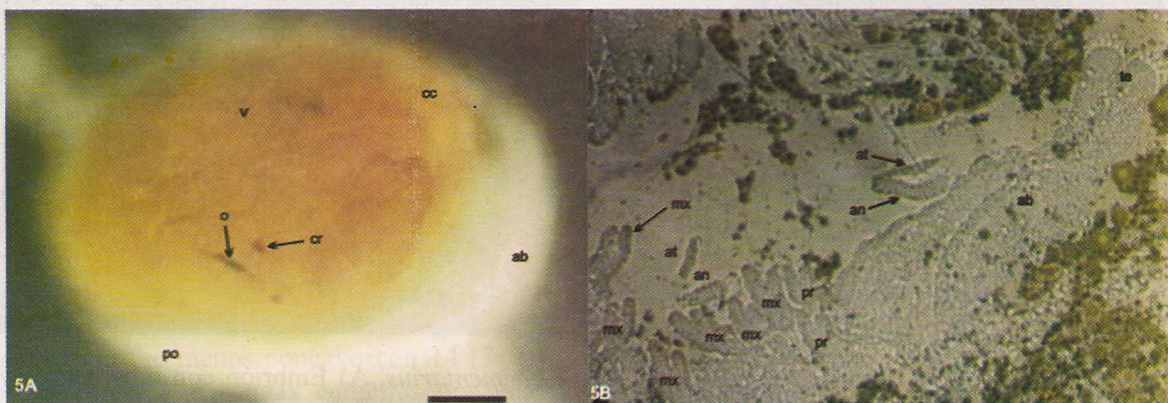


Fig. 5: Estadio 5 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Embrión con esbozos de ojos. B) Embrión disectado. Abreviaturas: o: ojo; v: vitelo; cr: cromatóforos; cc: cavidad cardíaca; po: pedúnculo ocular; ab: abdomen; an: antenas; at: anténulas; mx: maxilípedos; te: telson; pr: periópodos. (10x). Escala de la barra: 100 μ m.

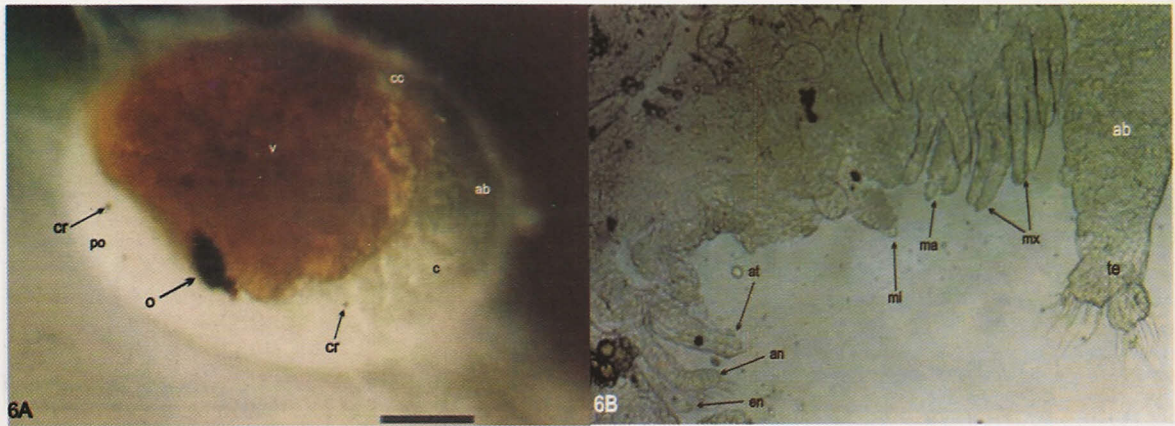


Fig. 6: Estadio 6 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Embrión con ojos granates. B) Embrión disectado. Abreviaturas: o: ojo; v: vitelo; po: pedúnculo ocular; cc: cavidad cardíaca; an: antenas; en: endopodito de la antena; at: anténulas; ma: maxilas; mi: maxílulas; mx: maxilípedos; ab: abdomen; te: telson; cr: cromatóforos; c: contorno del cefalotórax. (10x). Escala de la barra: 100 *um*.

vitelo (Fig. 6A). Exopodito de los tres pares de maxilípedos con dos a cuatro esbozos de setas desnudas; endopodito más grandes. Exopoditos de las antenas con nueve setas gruesas y cortas en el borde interno; endopoditos con dos setas cortas. En las anténulas el flagelo interno del pedúnculo fue

largo y puntiagudo, y el flagelo externo ancho con cuatro setas desnudas una más larga. En el margen posterior del telson las 14 (7+7) setas desnudas fueron más grandes (Fig. 6B). Aparecieron dos pares más de cromatóforos granates, punteados, en las maxilas y el primer par de maxilípedos.

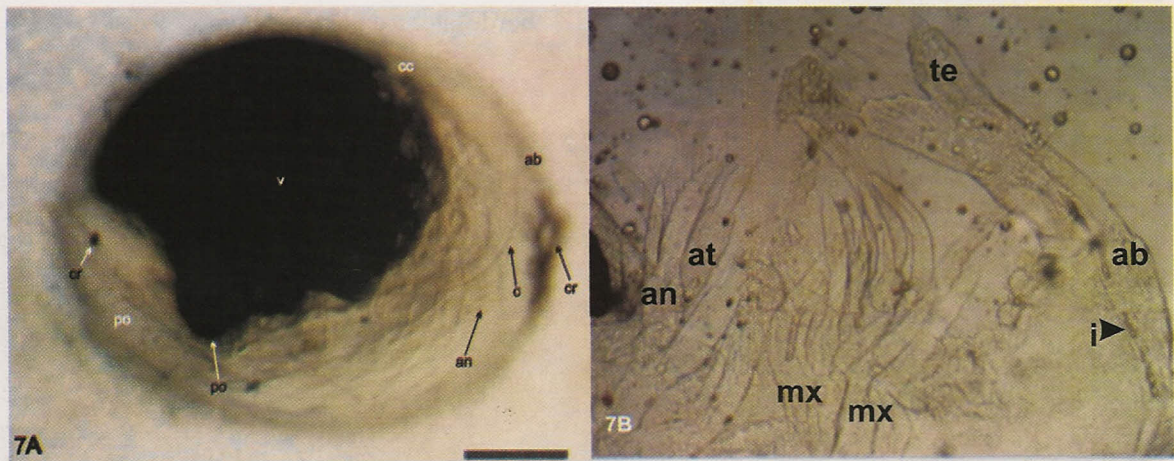


Fig. 7: Estadio 7 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Embrión con ojos negros y ovalados. B) Embrión disectado. Abreviaturas: o: ojo; v: vitelo; po: pedúnculo ocular; cc: cavidad cardíaca; c: contorno del cefalotórax; an: antenas; at: anténulas; ma: maxilas; mi: maxílulas; mx: maxilípedos; ab: abdomen; i: intestino; te: telson; cr: cromatóforos. (10x). Escala de la barra: 100 *um*.

Estadio 7: Metanauplio embrio-nario con cromatóforos en el tercer segmento abdominal.- Embrión con 45% de vitelo. Corazón fue más evidente y latió

rítmicamente. Pigmentación ocular grande, negra, ovalada y con esbozos de facetas omatidiales (Fig. 7A). Aparecieron dos cromatóforos grandes, rojos y de condición

punteada, ubicados en la parte dorsal del tercer segmento abdominal. Los exopoditos de los tres pares de maxilípedos fueron más grandes y con dos a cuatro esbozos de setas desnudas apicales. Los dos primeros pares de periópodos crecieron doblados hacia delante. En las antenas, el exopodito con nueve setas cortas, gruesas y desnudas, y el endopodito con dos setas desnudas; una corta y otra larga. Se diferenció el propodio en las antenas. Las anténulas ahora con pedúnculo definido y flagelo externo con cuatro setas desnudas de diferente tamaño. El abdomen con seis segmentos. El intestino se diferenció casi por completo y se observó con productos metabólicos del vitelo. El telson triangular con 14 (7+7) setas cortas y desnudas y con margen posterior muy cóncavo; que se situó sobre los pedúnculos oculares (Fig. 7B).

Estadio 8: Metanauplio embrio-nario en pre-muda.- Embrión con 24% de vitelo de gránulos grandes, añaranjados claro y transparentes, distribuidos en cuatro lóbulos. Corazón latió rápido y rítmicamente. Pigmentación ocular negra, con halo rojizo y con facetas omatidiales (Fig. 8A). En el extremo de los exopoditos de los maxilípedos se observaron pequeñas setas desnudas cubiertas por una membrana transparente; además, conductos tubulares dirigidos hacia dentro de la epidermis. El borde interno de los exopoditos de las antenas con seis artejos a manera de escalera, desde donde se proyectaron pequeñas setas desnudas cubiertas por una membrana transparente, pero además aparecieron conductos tubulares (Fig. 8B). En la base del flagelo de las anténulas también se observaron conductos tubulares. El intestino completó su desarrollo y continuó recibiendo productos del metabolismo del vitelo. El margen posterior del telson fue menos cóncavo con 14 (7+7) setas cortas y desnudas cubiertas por una membrana transparente y con conductos tubulares (Fig. 8B). Parte dorsal del tercer segmento abdominal con un tercer cromatóforo grande de condición punteada o estrellada. Los cromatóforos en diferentes grados de dispersión y con pigmentos rojo, anaranjado y amarillo.

Estadio 9: Pre-zoea.- Los restos del vitelo (10%) dentro del hepatopáncreas fueron transparentes. Cefalotórax bien definido, pero el rostro, simple y pequeño estuvo superpuesto por el sexto segmento abdominal. Corazón latió rápidamente. Ojos sésiles con pigmentación ocular oscura y con facetas omatidiales cuadradas bien definidas (Fig. 9A). Las antenas presentaron protopodito unisegmentado; endopodito largo y cilíndrico en cuyo extremo distal hubo una pequeña espina y una larga seta biplumosa; exopodito con seis artejos: en el margen externo una pequeña seta biplumosa subterminal y una espina terminal; en el margen interno nueve setas largas y biplumosas.

Las anténulas largas y pedunculadas, con dos flagelos: el interno largo y biplumoso y el externo ancho y cilíndrico en cuyo ápice externo tuvo cuatro setas desnudas (aestatas) de diferentes tamaños y una seta biplumosa subapical. Los maxilípedos birramosos con exopoditos más largo que los endopoditos; exopoditos con cuatro setas apicales largas y biplumosas y en el primer tercio apical dos pequeñas setas desnudas, una en cada borde; endopodito del primer maxilípedo pequeño unisegmentado con tres setas desnudas en su extremo distal y con la seta central más ancha y larga; endopodito del segundo y tercer maxilípedo con tres segmentos: propodos con seta plumosa en el extremo apical; dáctilo con dos a tres setas desnudas y con una espina terminal grande y curvada con pequeñas espínulas en un borde; basipodito con dos setas plumosas en el extremo distal. Los maxilípedos crecieron tanto que circundaron los ojos. Primer y segundo par de periópodos birramosos, inarticulados; exopodito y endopodito casi de igual tamaño pero el exopodito fue bilobulado distalmente. Sexto segmento abdominal sobre el pedúnculo ocular. Intestino con productos del metabolismo de vitelo. Telson, fusionado con el sexto segmento abdominal, fue triangular con 14 (7+7) setas, de las cuales el primer par del borde laterodistal fueron plumosas y las demás biplumosas de diferentes tamaños que se proyectaron dorsalmente; margen posterior del telson ligeramente cóncavo (Fig. 9B). Cromatóforos alrededor de los ojos adquirieron la condición punteada o estrellada.

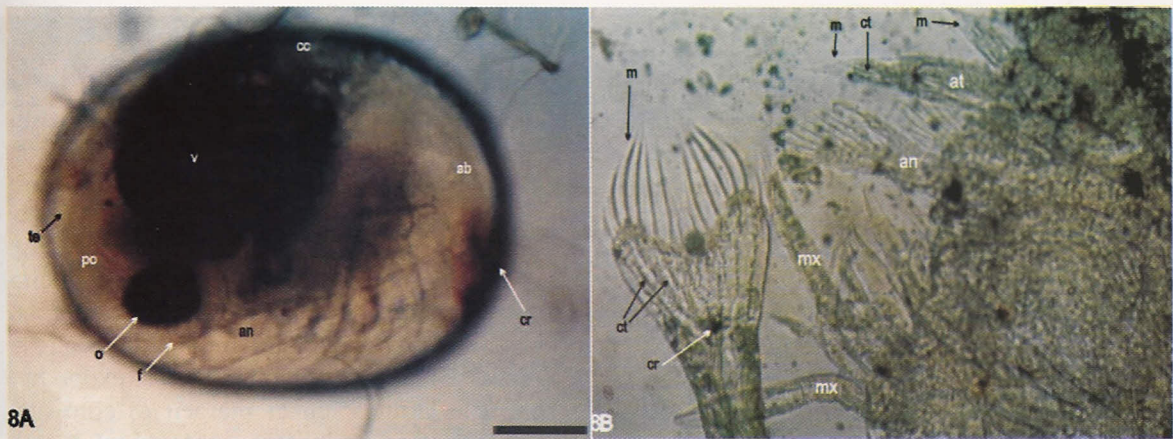


Fig. 8: Estadio 8 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Embrión con ojos negros, redondos y con facetas. B) Embrión disectado. Abreviaturas: o: ojo; f: facetas omatidiales; v: vitelo; po: pedúnculo ocular; cc: cavidad cardíaca; an: antenas; at: anténulas; mx: maxilípedos; ct: conductos tubulares; m: membrana transparente; ab: abdomen; te: telson; cr: cromatóforos. (10x). Escala de barra 100 μ m.

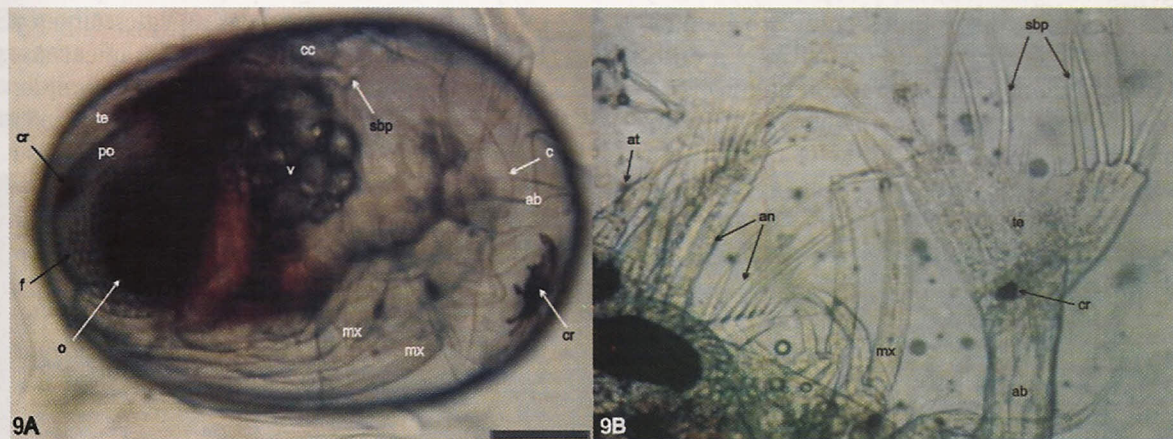


Fig. 9: Estadio 9 del desarrollo embrionario de *C. caementarius*. A) Embrión con ojos completamente formados. B) Embrión disectado. Abreviaturas: o: ojo; f: facetas omatidiales; v: vitelo; po: pedúnculo ocular; cc: cavidad cardíaca; c: contorno del cefalotórax; an: antenas; at: anténulas; mx: maxilípedos; sbp: setas biplumas; ab: abdomen; te: telson; cr: cromatóforos. (10x). Escala de la barra: 100 μ m.

Eclosión: Durante el proceso de eclosión, se observó continuos movimientos de estiramiento del cuerpo de la pre-zoea, principalmente del abdomen y de los apéndices cefalotorácicos que ocasionó estiramiento de la cubierta embrionaria y la formación de una ligera depresión en la parte media (Fig. 10). Posteriormente la cubierta embrionaria se rompió por su parte media y permitió la salida de la zoea que nadó activamente.

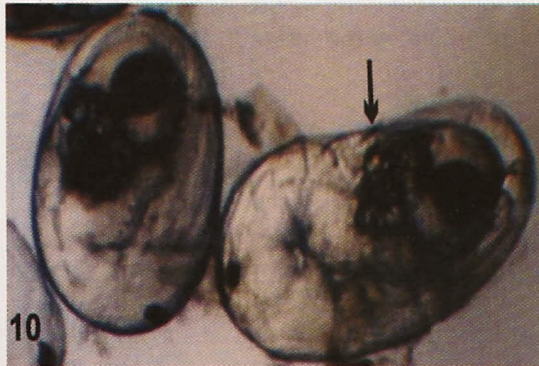


Fig. 10: Embriones de *C. caementarius* en proceso de eclosión. (4x). Se observa una depresión media en la cubierta embrionaria (). Escala de la barra: 100 μ m.

Zoea 1: La longitud total fue de 2,37 0,07 mm. Cefalotórax bien definido y con rostro simple, pequeño y ligeramente curvado hacia abajo. El corazón ubicado en la parte dorsal posterior del cefalotórax. El hepatopáncreas, lobulado, ocupó un área pequeña (10%) y se observó con grandes gránulos de vitelo anaranjado claro y transparente. El intestino con productos del metabolismo del vitelo. Los cromatóforos tuvieron diferentes grados de dispersión de los pigmentos rojo, anaranjado y amarillo. Los apéndices cefalotorácicos tuvieron la misma morfología que la indicada para la pre-zoea en estadio 9. Las zoeas nadan con el cefalotórax hacia abajo y con la parte abdominal hacia arriba (Fig. 11).

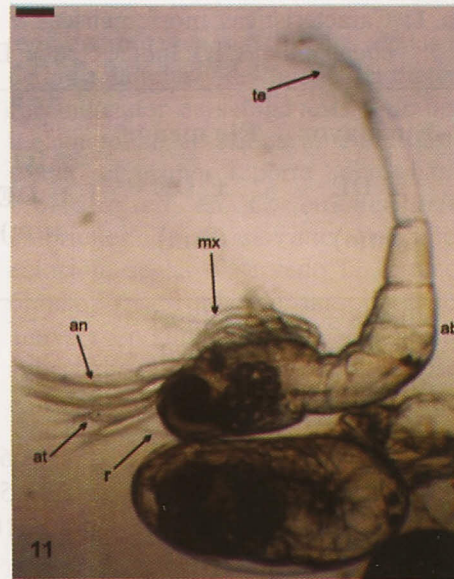


Fig. 11: Zoea 1 de *C. caementarius* (4x). r: rostro; te: telson; mx: maxilípedos; an: antena; at: anténula; ab: abdomen. Escala de la barra: 100 μ m.

La duración del desarrollo embrionario de *C. caementarius* fue de 23 días desde el desove hasta la eclosión y de acuerdo al estadio embrionario fue posible determinar los días que faltan para la eclosión (Tabla 1). El índice ocular solo fue evidente desde el estadio 5 e incrementó de 54,4 μ m hasta 135,7 μ m en el estadio 9. El volumen de los embriones varió durante el desarrollo y estadísticamente se determinó que los tres primeros estadios fueron iguales; luego se incrementó en el estadio 4; los estadios 5, 6 y 7 también fueron iguales; hubo incremento en el estadio 8 y en el estadio 9 (Fig. 12)

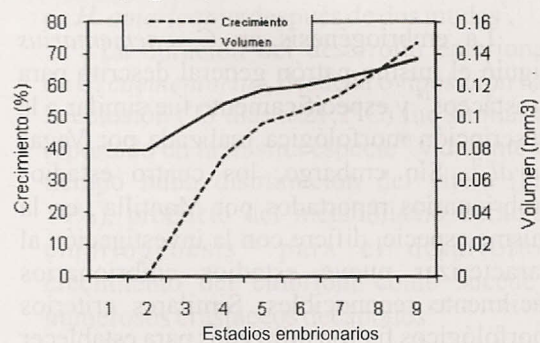


Fig. 12: Variación del crecimiento y del volumen de cada estadio embrionario de *C. caementarius*.

Tabla 1: Características morfométricas y cronológicas de los estadios embrionarios (EE) de *C. caementarius*. IO: Índice Ocular. DE: Desviación estándar.

E E	Eje mayor	Eje menor	IO ± DE (µm)	Volum en (mm ³)	Crecimie nto acumulad o (%)	Duraci ón (días)	Días para eclosión ± DE
	± DE (mm)	± DE (mm)					
1	0,628 ±	0,489 ±	-	0,079 ^a	-	0,5	23,0 ± 1,5
2	0,024	0,020	-	0,079 ^a	0	1,5	22,5 ± 1,5
3	0,628 ±	0,489 ±	-	0,094 ^a	18,9	2,0	21,0 ± 1,0
4	0,024	0,021	-	0,109 ^b	37,9	4,0	19,0 ± 1,0
5	0,627 ±	0,536 ±	54,4± 6,1	0,117 ^c	48,1	5,0	15,0 ± 1,0
6	0,020	0,021	75,3± 5,2	0,120 ^c	51,9	4,0	10,0 ± 1,0
7	0,669 ±	0,559 ±	98,2±10,	0,124 ^c	56,9	3,0	6,0 ± 0,5
8	0,021	0,027	4	0,130 ^d	64,6	2,0	3,0 ± 0,5
9	0,688 ±	0,570 ±	111,2±	0,137 ^e	73,4	1,0	1,0 ± 0,5
	0,023	0,015	5,8				
	0,690 ±	0,577 ±	135,7±				
	0,035	0,014	1,1				
	0,708 ±	0,570 ±					
	0,045	0,018					
	0,772 ±	0,568 ±					
	0,028	0,011					
	0,819 ±	0,565 ±					
	0,019	0,015					

Datos con letras en superíndice iguales en la columna indica que no hay diferencia estadística significativa ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

La embriogénesis en *C. caementarius* siguió el mismo patrón general descrito para crustáceos¹⁸ y específicamente fue similar a la descripción morfológica realizada por Vegas *et al.*¹¹. Sin embargo, los cuatro estadios embrionarios reportados por Mantilla³, en la misma especie, difiere con la investigación al caracterizar nueve estadios embrionarios fácilmente reconocibles. Similares criterios morfológicos fueron utilizados para establecer siete estadios embrionarios en *J. frontalis*⁵ y diez estadios en *R. typus*⁶.

En el primer estadio embrionario de *C. caementarius*, el vitelo fue indiviso y en los estadios 2 y 3 los embriones estuvieron en

segmentación y gastrulación, respectivamente.

La segmentación superficial comenzó con la formación de cuatro blastómeros de igual tamaño, es decir hubo dos cariocinesis antes de la primera citocinesis, tal como fue reportado en la misma especie¹¹ y en *M. rosenbergii*¹¹. Después de la formación de ocho blastómeros, las sucesivas divisiones fueron asincrónicas cuyas células, cada vez pequeñas, adoptaron la disposición en espiral propia de los crustáceos¹⁹; existiendo dificultad para determinar con exactitud la mórula; aunque se ha descrito en la misma especie, a los blastómeros alargados y la formación de la mórula con 32 blastómeros¹¹. No se determinó el inicio de la blástula pero la invaginación celular que originó la aparición del blastoporo marcó el final de la blástula y el