

## Desarrollo embrionario del camarón de río *Cryphiops caementarius* (Decapoda: Palaemonidae) en condiciones de laboratorio

Cristina Yávar & Enrique Dupré

Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Casilla 117, Coquimbo, Chile; edupre@ucn.cl

Recibido 15-X-2005. Corregido 15-V-2006. Aceptado 16-III-2007.

**Abstract: Embryonic development of the freshwater shrimp *Cryphiops caementarius* (Decapoda: Palaemonidae) under laboratory conditions.** We describe seven stages for the embryonic development of *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) using both light and scanning electron microscopy. Thirty ovigerous females were captured in Limarí River, Chile, and maintained separately in three 35 liter tanks with temperatures of 15, 22 and 28 °C. At the same time, some embryos were separated from the females and placed in a 100 ml beaker for *in vitro* culture at 15 °C. Duration of development at 15, 22, and 28 °C was of 36-39, 30-32 and 25-28 days, respectively, with no differences observed between *in vitro* and *in vivo* cultures. Seven development stages were observed: (I) homogeneously distributed vitellum; the embryo cleavage leads to the morulae stage; (II) first embryonic stage; antennule, antenna and ocular globe are present; (III) primordium lengthens, and the outlines of the pereiopods can be observed; ocular pigmentation appears as a curved line; (IV) ocular pigmentation in hemispherical form; the antennae develop, and the first red pigmentation appears near the eye; heartbeat is visible; (V) the pereiopods touch the base of the antennae; the ocular globe is more evident, in a oval form; (VI) eyes are faceted, and both antenna and third abdominal segment with chromatophores; ocular pigmentation as spherical form; (VII) ocular globe with spherical eye pigmentation and facets on the surface; star-shaped chromatophores on the appendages. Egg volume increased from 0.082 mm<sup>3</sup> at the beginning of the development to 0.125 mm<sup>3</sup> close to hatching, representing a rise of 65.6 %. The diameter of the embryo and eye pigmentation may be used as growth parameters. Rev. Biol. Trop. 55 (Suppl. 1): 15-24. Epub 2007 June, 29.

**Key words:** Embryonic development, prawn, *Cryphiops*.

*Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) es un crustáceo endémico del sur de Perú y norte de Chile, se distribuye desde el río Taymi-Mochumi, Perú (6°32' N) (Bahamonde y Vila 1971), hasta el río Aconcagua en Chile (32°44'45" S; 70°43'30" O) (Valencia 1998, Arriagada 2003). Se lo encuentra en ríos cuyas temperaturas oscilan entre 22 y 28 °C y puede vivir con concentraciones mínimas de oxígeno de hasta 4 ppm (Vinatea 1982); sin embargo, los valores óptimos para su cultivo son entre 7.0 y 8.4 ppm (Valencia 1998). En su distribución altitudinal ha sido encontrados entre el nivel del mar y 1 400 m en el río Pativilea, Perú (Vinatea 1982). Los ejemplares presentan

un marcado dimorfismo sexual; los machos son más grandes que las hembras y presentan la quela del segundo par de pereiópodos izquierdo de mayor tamaño que la derecha, alcanzando una longitud mayor que el cefalotórax y abdomen. Las hembras presentan el segundo par de pereiópodos más pequeños que el cuerpo y su abdomen es más ancho que el de los machos (Modesto 1997). Es una especie que desova durante todo el año, pero presenta un punto máximo entre los meses de noviembre, febrero y marzo, en los ríos del Perú (Vinatea 1982). En los ríos chilenos los máximos ocurren entre noviembre y diciembre (Bahamonde y Vila 1971). La fecundidad varía entre 982 y

36 444 huevos en hembras de 10 a 33 mm de longitud cefalotorácica respectivamente, siendo más frecuentes las tallas de 22-23 mm con una fecundidad de 15 709 a 22 650, huevos respectivamente (Norambuena 1977).

Existen algunos estudios que describen el desarrollo embrionario de *C. caementarius* los cuales realizaron descripciones generales. Bahamonde y Vila (1971), empleando como características fundamentales la coloración de los embriones describieron tres estados de desarrollo, mientras que Norambuena (1977), empleando como características principales la cantidad de vitelo, coloración del huevo y la aparición de los ojos, describe cuatro estados de desarrollo. Norambuena (1977) muestra esquemas de diferentes estados de desarrollo donde los embriones son de aspecto ovoide, lo cual también es descrito con mayor detalle por Vinatea (1982). Este último señala que los embriones presentan un eje mayor de 0.7 mm y llegando a medir 1.8 mm en el momento de la eclosión

Existen numerosos estudios sobre el desarrollo embrionario de crustáceos decápodos y su relación con la temperatura (Wear 1974, Gomez-Díaz 1987, Dupré 1988, Celada *et al.* 1988, Dupré *et al.* 1992, Wehrtmann y López 2003, Brillon y Lambert. 2005), sin embargo el único estudio experimental sobre desarrollo embrionario y temperatura en *C. caementarius* realizado por Vinatea (1982), muestra que la incubación a 19 °C demora 32 días y disminuye a 25 días cuando la temperatura se eleva a 28 °C. Sin embargo no menciona la duración de cada estado, ni caracteres de importancia de cada uno de ellos.

El método de cultivo *in vitro* se ha utilizado en decápodos: por ejemplo, Lavarias *et al.* (2002) describió el desarrollo embrionario en *Macrobrachium borellii* (Palaemonidae) utilizando este método. El método *in vitro* empleado, mostró ser apropiado para estudiar la morfogénesis del desarrollo embrionario y posteriormente para el crecimiento larval (López-Greco *et al.* 2000).

Aun cuando estas descripciones pueden servir para conocer los cambios que experimenta el embrión a través del tiempo, no son suficientes para definir patrones de desarrollo

de cada estado, que permitan realizar un diagnóstico preciso del desarrollo embrionario de la especie en estudio. Sólo un estudio reciente (Lavarias *et al.* 2002) en *M. borellii*, basado en mediciones morfométricas aplicando un analizador de imágenes para analizar el volumen de vitelo, pigmentación ocular y diámetro, ha permitido determinar patrones de crecimiento durante el desarrollo embrionario.

La importancia del establecimiento de patrones morfológicos, y de tiempos de desarrollo de los embriones portados por las hembras, radica no sólo en los aspectos biológicos de la especie, sino también en aspectos ecológicos debido al impacto negativo que producen los contaminantes sobre el desarrollo embrionario de los invertebrados en general, produciendo alteraciones en los procesos biológicos de las especies, en especial durante los primeros estadios del desarrollo. Estas alteraciones pueden ser variadas de acuerdo al contaminante y a la etapa del desarrollo en que el embrión se expone a él.

En los últimos años se ha detectado un aumento de la contaminación de los ríos en que habita *C. caementarius*, tanto en la zona norte como central de Chile, especialmente por metales pesados que pueden alterar los gradientes osmóticos o mecanismos enzimáticos de los embriones (López-Greco *et al.* 2000). Por esto, el presente estudio describe los patrones morfológicos del desarrollo embrionario en *C. caementarius*, que permitan determinar la existencia de alteraciones causadas por la contaminación de los ríos en que habita este camarón.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ejemplares utilizados.** Entre octubre y febrero de 2002 y 2003, se capturaron hembras ovígeras de *C. caementarius* en el río Limarí (IV Región) las que se transportaron hasta los laboratorios de cultivo, de la Universidad Católica del Norte, Coquimbo. Durante su traslado, con el fin de disminuir efectos de estrés, se transportaron en una caja de espuma aislante para mantener temperaturas inferiores a 15 °C y se colocaron esponjas húmedas en

el fondo, para absorber los desechos. Estas hembras se mantuvieron en acuarios de 35 l, en cuyo fondo se ubicaron rocas y tubos de PVC de 12 cm de longitud y 5 cm de diámetro como refugio (Rudolph e Iracabal 1994). Se realizaron recambios diarios con agua potable declorinada y se mantuvieron con aireación constante. Dentro de los acuarios, cada hembra fue aislada por un vidrio para evitar canibalismo. Los acuarios fueron forrados externamente con papel plástico negro hasta 10 cm antes del borde para evitar estrés de las hembras y mantener el fotoperíodo natural.

Diariamente los camarones fueron alimentados con arroz cocido y pescado fresco, que fue dado en las tardes en cantidades aproximadas al 2 % de su peso corporal. Cada mañana, se limpiaron los acuarios mediante un sistema de sifón, para extraer las sobras de alimentos y los desechos fecales.

**Diseño experimental.** Se mantuvieron dos grupos de embriones, un grupo permaneció adherido a los pleópodos durante todo el desarrollo, este es el cultivo *in vivo*. El otro grupo fue aislado de la hembra para ser cultivado *in vitro*. Diariamente se determinó el estado de desarrollo mediante la extracción de embriones desde los pleópodos de las hembras ovígeras y de los cultivos *in vitro*.

**Embriones portados por las hembras.** Se establecieron tres estanques con temperaturas de 15, 22 y 28 °C respectivamente, conteniendo cada uno 10 hembras separadas por vidrios. Se realizaron tres réplicas para cada temperatura; para mantener estables las temperaturas, se usaron calefactores conectados a termostatos Jagger. Para determinar la supervivencia embrionaria, se contó el número de huevos que la hembra desechaba diariamente y los embriones muertos de aspecto opaco adheridos a los pleópodos. Al momento de eclosionar, se determinó la supervivencia del grupo de embriones, de cada temperatura.

**Embriones cultivados *in vitro*.** Se extrajo la masa total de embriones de tres hembras, se separaron grupos de 20 embriones cada uno y se los

ubicó en tres vasos precipitados de 250 ml, con recambio diario de agua. En total se cultivaron 60 embriones, a una temperatura de 15° C mantenida con un termostato Jagger. Se consideraron como controles aquellos embriones portados por las hembras, a esta misma temperatura.

**Análisis de embriones.** Diariamente se extrajeron 3-6 embriones de cada hembra; estos fueron observados en un microscopio binocular (Nikon, modelo Alphaphot YS), y fotografiados con una cámara digital, Sony FD Mavica (1.2 megapíxeles) superpuesta al ocular del microscopio. Cada estado se caracterizó mediante la determinación de la cantidad de vitelo, forma de la pigmentación ocular, aparición de antena, anténula, mandíbula, pereiópodos y telson; para los cromatóforos se determinó su aparición y cambios de forma experimentados. En los cultivos *in vitro*, diariamente, se eliminaron los embriones muertos que presentaron coloraciones opacas (los vivos permanecen transparentes). Se extrajeron tres embriones vivos y se montaron sobre portaobjetos excavados para determinar el estado de desarrollo. Posteriormente estos embriones fueron devueltos al sistema de cultivo.

**Microscopía electrónica de barrido.** Antes de la fijación de los especímenes en glutaraldehído (Merck) al 2 % en agua destilada, se les extrajo la cubierta externa. Después de una hora, se lavaron tres veces con agua destilada y luego se deshidrataron en una batería de alcoholes de gradación creciente desde 20° hasta etanol absoluto, con cambios cada 10 minutos. Los embriones se secaron a punto crítico con CO<sub>2</sub> líquido; en un equipo Samdri 780A se montaron en cilindros de bronce, se cubrieron con oro en una metaladota Ion-Sputler JFC-1100 y fueron analizadas en un microscopio electrónico de barrido Jeol modelo T-300.

**Tamaño del huevo.** Para estimar el tamaño de los huevos en cada estado, se midieron los diámetros mayor y menor con microscopio binocular, mediante un ocular micrométrico; luego se calculó el volumen usando la siguiente fórmula de un elipsoide:  $V = \pi * l * h^2 / 6$

(Odinetz y Rabelo 1996), donde “l” y “h” son respectivamente, el eje mayor y menor del huevo elipsoidal. Se calcularon estas dimensiones midiendo 30 embriones de cada estado, usando los embriones que diariamente se extraen de la hembra.

## RESULTADOS

**Estado I:** luego de la fecundación, los ovocitos son esféricos o levemente ovalados (Fig. 1A) y de color café claro. El vitelo está distribuido homogéneamente, no se observan células ni estructuras. Hacia el final de este estado el embrión se divide de modo superficial y desigual para originar el estado de mórula, con un color café rojizo y de forma redonda (Fig. 1B). El volumen del embrión es aproximadamente de  $0.083 \text{ mm}^3$  y su diámetro mayor de  $0.58 \pm 0.006 \text{ mm}$ .

**Estado II:** en el polo animal aparecen los primeros rudimentos embrionarios, donde se pueden observar tres prolongaciones transparentes, que darán origen a la anténula, antena y mandíbula (Fig. 1B). El volumen del embrión es aproximadamente  $0.083 \text{ mm}^3$  y el diámetro mayor es de  $0.59 \pm 0.005 \text{ mm}$ .

**Estado III:** el primordio embrionario se alarga en forma de medialuna (Fig. 1C), se pueden observar los globos oculares con pigmentación negra en forma de una línea curva, también son visibles las antenas, las anténulas y el abdomen, donde comienzan a aparecer los pereiópodos como proyecciones digitiformes. El volumen del embrión es aproximadamente  $0.087 \text{ mm}^3$  y presenta un diámetro mayor de  $0.62 \pm 0.007 \text{ mm}$ .

**Estado IV:** los pereiópodos se proyectan hacia la región antero ventral, envolviendo parte de la zona ocupada por el vitelo (Fig. 1D). La pigmentación ocular presenta la forma de una semi-esfera oscura. Además, se comienzan a desarrollar las antenas, que se proyectan por debajo de los ojos y muestran las primeras pigmentaciones rojas cerca del ojo. El latido cardiaco en el sector postero-dorsal es eviden-

te. El volumen del embrión es aproximadamente  $0.098 \text{ mm}^3$  y su diámetro mayor es de  $0.66 \pm 0.009 \text{ mm}$ .

**Estado V:** los pereiópodos se prolongan hasta la base de las antenas, en las cuales aparece pigmentación (Fig. 1E-F). El globo ocular adquiere forma esferoidal alargada y se desplaza hacia la región anterior; su pigmentación oscura es en forma ovalada. Por detrás del ojo se observa un cromatóforo esférico rojizo (Fig. 1E). La antena presenta en su extremo distal, unas prolongaciones cortas y gruesas que posteriormente originan setas (Fig. 2A-B). El corazón se visualiza como un saco redondo y transparente que se contrae en la zona dorsal, a continuación de la masa de vitelo; la frecuencia de latidos es mayor respecto al estado anterior. El telson presenta dos lóbulos terminales redondeados (forma de corazón), con numerosas setas en su borde. El volumen del embrión es aproximadamente  $0.112 \text{ mm}^3$ , con un diámetro mayor de  $0.72 \pm 0.010 \text{ mm}$ .

**Estado VI:** aparece el rostro como prolongación redondeada que se hace visible en vista dorsal. Pigmentación ocular en forma de esfera levemente alargada (Fig. 2C). La segmentación del abdomen se hace más evidente; en el tercer segmento se observa un cromatóforo esférico en posición dorso-lateral (Fig. 2D). En el extremo de la anténula se pueden apreciar varias setas. La antena está segmentada, termina en punta aguda y posee un cromatóforo esférico. Los pereiópodos son segmentados y presentan setas terminales. El telson es triangular y en su borde terminal presenta seis pares de setas. El volumen del embrión es de aproximadamente  $0.123 \text{ mm}^3$ , y el diámetro mayor de  $0.76 \pm 0.007 \text{ mm}$ .

**Estado VII:** la pigmentación del globo ocular tiene una forma esférica y de mayor diámetro que en el estado anterior (Fig. 2E); el ojo se presenta facetado (Fig. 3G). Las antenas presentan seis segmentos y largas setas en su extremo distal (Fig. 2G-H). La anténula no está segmentada y su exopodito termina en numerosas setas (Fig. 3A). El embrión que está a punto de eclosionar, está medianamente

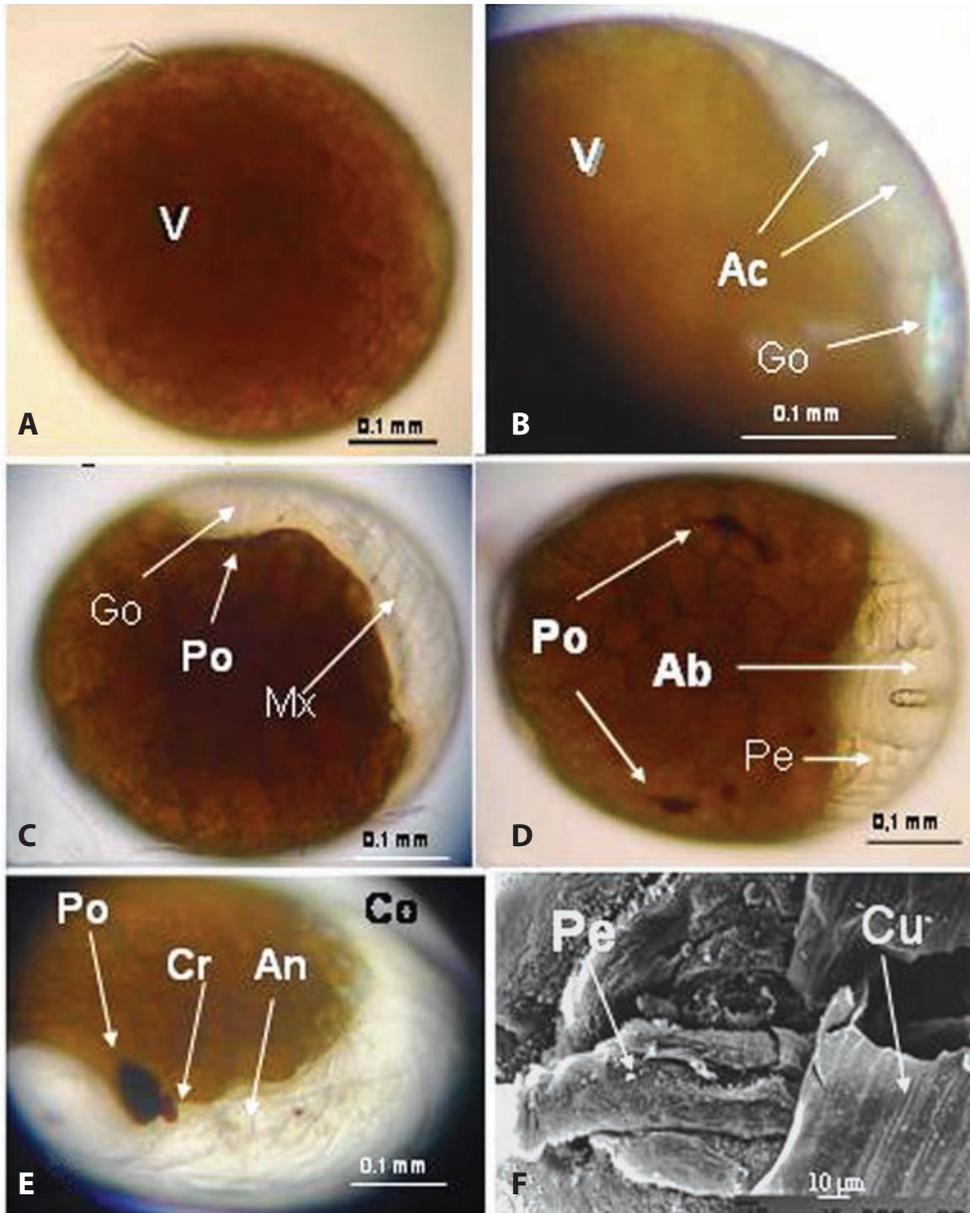


Fig. 1. Primeros estados del desarrollo de *Cryphiops caemantarius*. **A.** Estado I: se observan los esbozos del globo ocular y de los apéndices cefálicos (escala= 0.117 mm). **B.** Estado II (escala= 0.118 mm). **C.** Estado III: aparece pigmentación ocular (escala= 0.126 mm). **D.** Estado IV: vista dorsal (escala= 0.138 mm). **E.** Estado V (escala= 0.146 mm). **F.** Estado V: vista ventral; pereiópodos con MEB (escala= 10  $\mu$ m). An: antena. Cu: cubierta externa. Ab: abdomen y tubo digestivo en el centro. Ac: esbozo de apéndices cefálicos. Co: corazón. Cr: cromatóforo. Go: globo ocular. Mx: maxilípedos. Pe: pereiópodos. Po: pigmentación ocular. V: vitelo.

Fig. 1. Early embryonic development of *Cryphiops caemantarius*. **A.** Stage I: cephalic appendages and ocular globe buds can be seen (scale= 0.117 mm). **B.** Stage II (scale= 0.118 mm). **C.** Stage III: ocular pigmentation is observed (scale= 0.126 mm). **D.** Stage IV: dorsal view (scale= 0.138 mm). **E.** Stage V (scale= 0.146 mm). **F.** Stage V: ventral view of pereiopods; scanning electron microscopy view (scale= 10  $\mu$ m). An: antenna. Cu: outer coat of the embryo. Ab: abdomen. Ac: cephalic appendage buds. Co: heart. Cr: chromatophore. Go: ocular globe. Mx: maxillipeds. Pe: pereiopods. Po: ocular pigmentation. V: vitellum.

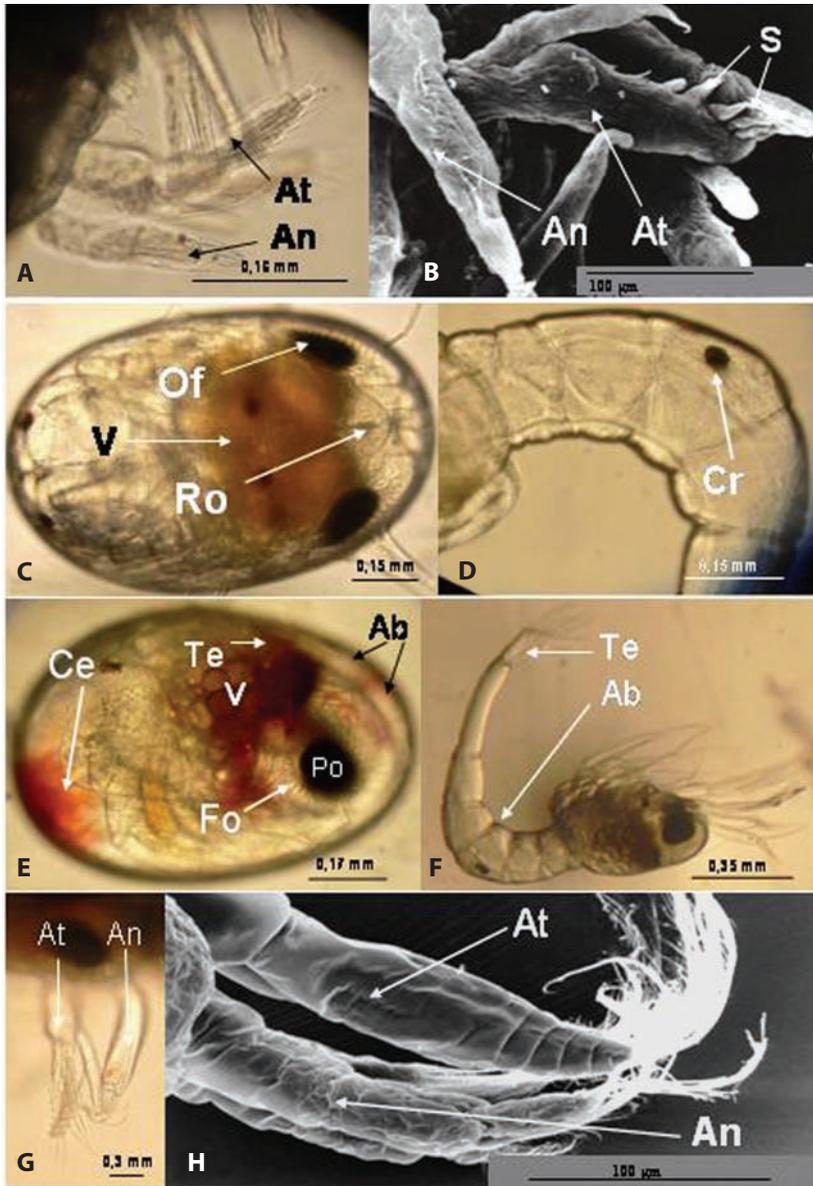


Fig. 2. Estados avanzados del desarrollo embrionario de *Cryphiops caementarius*. **A.** Estado V: antenas y anténulas (escala= 0.152 mm). **B.** Estado V: antena y anténula vista con MEB (escala= 100  $\mu$ m). **C.** Estado VI: vista dorsal (escala= 0.150 mm). **D.** Estado VI: vista lateral del abdomen (escala= 0.150 mm). **E.** Estado VII: vista lateral (escala= 0.168 mm). **F.** Estado VII: vista total de embrión extraído del corion (escala= 0.350 mm). **G.** Estado VII: antena y anténula vistas con microscopía de luz (escala= 0.320 mm). **H.** Estado VII: antena y anténula vistas con MEB (escala= 100  $\mu$ m). Ab: abdomen. An: anténula. At: antena. Ce: cromatóforo estrellado. Cr: cromatóforo. Fo: facetas oculares. Ps: esbozos de setas. Ro: rostrum. Te: telson.

Fig. 2. Advanced stages of embryonic development of *Cryphiops caementarius*. **A.** Stage V: antenna and antennula (scale= 0.152 mm). **B.** Stage V: scanning electron microscopy view of the antenna and antennula (scale= 100  $\mu$ m). **C.** Stage VI: dorsal view (scale= 0.150 mm). **D.** Stage VI: lateral view of the abdomen (scale= 0.150 mm). **E.** Stage VII: lateral view (scale= 0.168 mm). **F.** Stage VII: view of the embryos without the outer coat (scale= 0.350 mm). **G.** and **H.** Stage VII: antenna and antennula, light microscopy and scanning electron microscopy view (scale= 0.320 mm). Ab: abdomen. An: antennula. At: antenna. Ce: star-like chromatophore. Cr: chromatophore. Fo: ocular facets. Ps: setae. Ro: rostrum. Te: telson.

pigmentado, presentando cromatóforos estrellados en las antenas, pereiópodos y telson. Los globos oculares presentan facetas de forma pentagonal (Fig. 3B). Los pereiópodos también están segmentados y con setas plumosas (Fig. 3C). El telson tiene forma triangular con una depresión en el borde distal donde se insertan siete pares de setas plumuladas; el par central es mucho más corto y no plumulado (Fig. 3D). En este estado se puede observar movimiento de las antenas, pereiópodos y abdomen. El volumen del embrión es aproximadamente  $0.125 \text{ mm}^3$  y con un diámetro mayor de  $0.78 \pm 0.008 \text{ mm}$ .

El embrión aumentó su volumen en 65.6% desde el estado I hasta el estado VII. El incremento de volumen fue más rápido entre el estado III y el V respecto al aumento entre el estado I y III y entre el VI y VII (Fig. 4).

**Desarrollo embrionario a diferentes temperaturas.** El desarrollo embrionario total *in vivo* a  $15^\circ\text{C}$  tuvo una duración de 36-39 días. Sin embargo cuando la temperatura del cultivo fue de  $20^\circ\text{C}$  la duración total del desarrollo disminuyó a 30-32 días. Este tiempo disminuyó aun más, entre 25-28 días, cuando la temperatura del cultivo fue de  $25^\circ\text{C}$ . La duración del desarrollo en cultivos *in vitro* a  $15^\circ\text{C}$ , fue de entre 36 y 38 días, similar al cultivo *in vivo* con una supervivencia cercana al 50 %, para las tres réplicas. La eclosión de los embriones portados por la hembra ocurrió en la noche, ya que las larvas fueron encontradas por la mañana cuando se procedía a cambiar el agua del acuario, y no se encontraron embriones sin eclosionar, por lo que se asume una supervivencia del 100 % para las réplicas de cada temperatura. La supervivencia de las hembras durante el cultivo fue del 100 %.

No se observaron diferencias morfológicas entre los embriones cultivados *in vitro* y aquellos portados por las hembras.

## DISCUSIÓN

El presente estudio determinó que el tiempo de desarrollo embrionario en *C. caementarius* a

una temperatura de  $25^\circ\text{C}$  fue de 25-28 días lo cual concuerda con lo señalado por Vinatea (1982) y Viacava *et al.* (1978) para esta especie. Sin embargo Norambuena (1977) señala que el desarrollo a esta temperatura es de 13 días. Estas diferencias se repiten a  $15^\circ\text{C}$ , donde el presente estudio estableció que la duración del desarrollo es de 36-39 días; en cambio Norambuena (1977) señaló una duración de 25 días. Estas diferencias podrían deberse a que el desarrollo de *C. caementarius* se alteraría cuando ocurre fuera del rango  $20\text{--}25^\circ\text{C}$ . Esta sugerencia es apoyada por el estudio de Vinatea (1982) para esta misma especie, donde señala una contradicción en la relación inversa entre el tiempo de desarrollo y la temperatura del cultivo que ha sido demostrada por numerosos autores (Wear 1974, Gomez-Díaz 1987, Dupré 1988, Helluy y Beltz 1991, Dupré *et al.* 1992, Wehrtmann y López 2003, Brillon y Lambert 2005). Vinatea (1982) señala que a  $24\text{--}27^\circ\text{C}$  el tiempo de desarrollo es 21 días y cuando se eleva la temperatura a  $28^\circ\text{C}$  el tiempo también se eleva a 25 días. Lo mismo ocurre cuando se realiza el desarrollo a  $15^\circ\text{C}$  donde las diferencias de tiempos de desarrollo son notables.

Durante el desarrollo se observó un aumento del volumen del embrión en un 65.6 % el cual se alcanza en tres periodos notorios. Entre los estados I y II el volumen no aumenta, aun cuando se observó un aumento del diámetro mayor. Luego entre los estados III y V hay un aumento exponencial en el diámetro mayor del huevo, que se refleja en un aumento exponencial del volumen; y desde el estado V al VII, nuevamente el aumento del volumen es moderado y similar al primer periodo. Este aumento de volumen es coincidente con lo señalado para otros camarones de agua dulce (Gomez-Díaz 1987, Odinetz y Rabelo 1996, Lavarias *et al.* 2002, López-Greco *et al.* 2002, Müller *et al.* 2003). Este incremento de volumen ha sido explicado en otras especies como un incremento en la tasa de ingreso de agua al embrión (en *Chasmamathus granulate*, Giménez y Anger 2001; en *Necrura pubers*, Valdes *et al.* 1991; en *Jasus frontalis*, Tavonatti y Dupré 2001; en *Rhynchocinetes typus*, Dupré *et al.* 1992 y

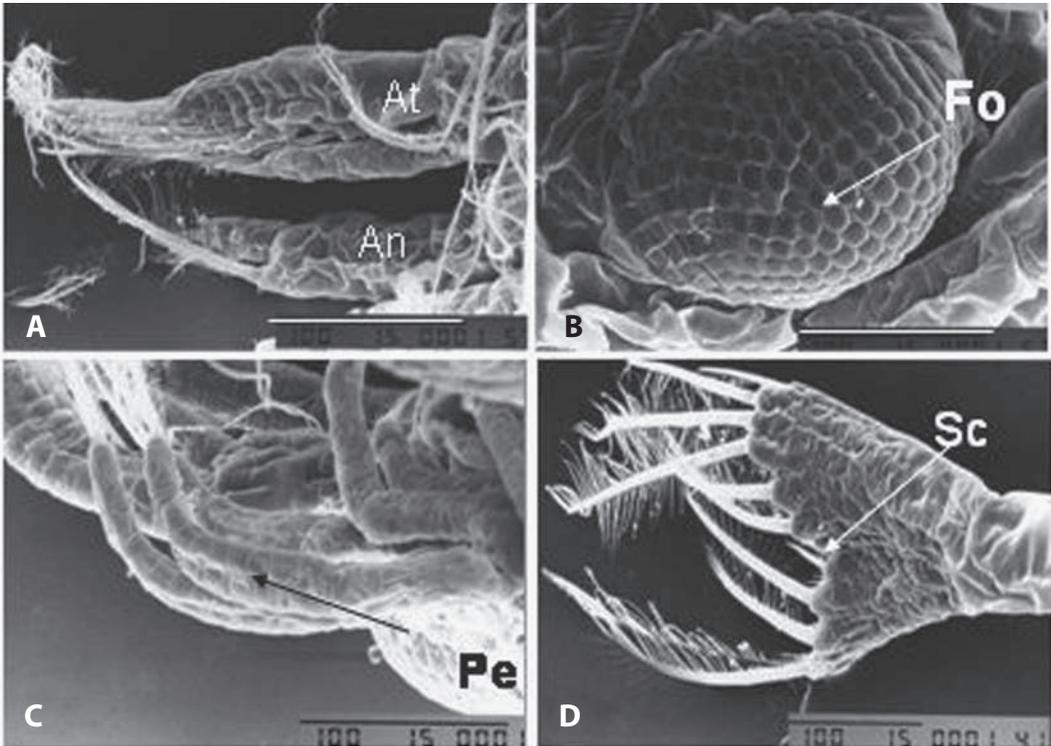


Fig. 3. Detalle de estructuras larvianas del estado VII de *Cryphiops caementarius*, vistas al MEB. **A.** Anténula y antena. **B.** Globo ocular facetado. **C.** Pereiópodos. **D.** Telson. At: antena. An: anténula. Sc: setas centrales. Fo: facetas oculares. Pe: pereiópodos. Barras = 100 µm

Fig. 3. Stage VII of *Cryphiops caementarius*, structural details observed by scanning electron microscopy. **A.** Antenna and antennula. **B.** Faceted ocular globe. **C.** Pereiopods. **D.** Telson. An: antennula. At: antenna. Sc: central setae. Fo: ocular facets. Pe: pereiopods. Bars = 100 µm.

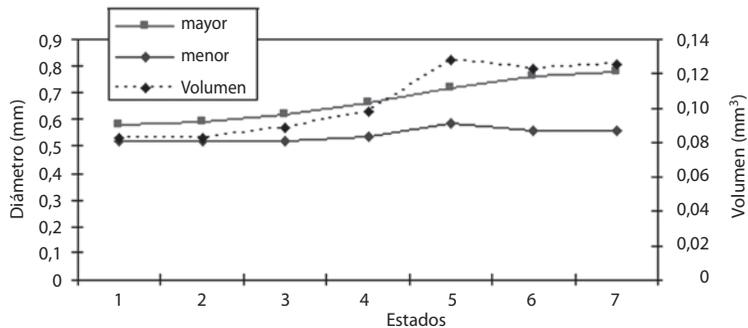


Fig. 4. Variación de diámetros y volumen del embrión de *Cryphiops caementarius* durante el desarrollo.

Fig. 4. Diameter and volume variation of the embryos of *Cryphiops caementarius* during the development.

en *Betaeus emarginatus*, Wehrmann y López 2003), siendo más elevada cuando comienzan los latidos del corazón. Esto último concuerda con el presente estudio, donde los latidos del corazón comienzan en el estado III. Glas *et al.*

(1997) han establecido que durante los estados finales del desarrollo, la membrana se hace más permeable, lo cual genera un mayor ingreso de agua y como consecuencia el aumento del volumen del embrión.

Aun cuando el desarrollo de estructuras embrionarias es similar al de otros camarones, es posible distinguir algunas características que pueden permitir la diferenciación de algunos estados. En *C. caementarius* la diferenciación de los estados se basa en el vitelo y la aparición de esbozos de apéndices cefálicos, como globo ocular y antena en el estado II, y en la pigmentación ocular que varía desde la forma de una línea curva de color negro en el estado III pasando por la forma de semi-circunferencia en el estado IV, la forma ovoidal en el estado V y la forma esférica a partir del estado VI.

Debido a que la cantidad de vitelo que se puede visualizar desde el inicio del desarrollo, y la pigmentación ocular desde el estado III cuando ha ocurrido sólo el 30 % del desarrollo, es posible establecer los diferentes estados del desarrollo de *C. caementarius* con base en estas dos características, las cuales pueden ser apoyados por otras características, como los cromatóforos que aparecen en el estado V y los ojos facetados a partir del estado VI.

Aun cuando las características definidas anteriormente, permiten determinar con exactitud de los diferentes estados, para establecer patrones más exactos de desarrollo en esta especie, que permitan determinar alteraciones generadas por contaminación del medio, es necesario realizar mediciones morfométricas, como lo señalan Lavarias *et al.* (2002). En este aspecto, es especialmente crítico el periodo entre el estado III y VI donde ocurre el mayor ingreso de agua al embrión.

Durante los días finales del desarrollo, el embrión presenta todas las características del estado de primera zoea. La comparación con las ilustraciones y descripciones de la zoeas I (Morales 1997), muestran que el patrón de setación, la proporción entre abdomen y cefalotórax, la complejidad de los ojos y los apéndices cefálicos y los apéndices cefálicos ya se observan en el estado VII.

## RESUMEN

Se describen siete estados del desarrollo embrionario de *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782), tanto

a microscopía de luz, como electrónica de barrido, y se establece el tiempo de desarrollo en embriones cultivados a tres temperaturas. Además se realizó un cultivo *in vitro* a 15 °C en vasos precipitados de 100 ml. Hembras ovígeras capturadas en el río Limarí, Chile se ubicaron en estanques de 35 litros a temperaturas de 15, 22 y 28 °C. La duración del desarrollo a 15, 22 y 28 °C fue de 36-39, 30-32 y 25-28 días, respectivamente. El cultivo *in vitro* a 15 °C no presentó diferencias con los cultivos *in vivo*. Se establecieron siete estados de desarrollo. (I) vitelo distribuido homogéneamente, durante este estado comienza dividirse llegando a estado de mórula; (II) aparece el primordio embrionario con los esbozos de la anténula, antena y mandíbula; (III) se observan los esbozos de los pereiópodos y abdomen; pigmentación ocular en forma de línea curva; (IV) pigmentación ocular en forma de una semiesfera, aparece pigmentación roja en las antenas, cerca del ojo; se observa latido cardíaco; (V) los pereiópodos se extienden hasta la base de las antenas; la pigmentación ocular es oscura y con forma ovalada; (VI) pigmentación ocular esférica y con algunas facetas en la superficie; cromatóforos en la antena y tercer segmento abdominal; (VII) la pigmentación ocular tiene forma esférica y aparecen cromatóforos estrellados en los pereiópodos. El embrión aumenta su volumen en 65.6 %, desde 0.082 mm<sup>3</sup> en el estado I hasta 0.125 mm<sup>3</sup> en del estado VII. El diámetro del embrión y la pigmentación del ojo pueden ser utilizados como parámetros de crecimiento en esta especie.

**Palabras clave:** desarrollo embrionario, camarón, *Cryphiops*.

## REFERENCIAS

- Arriagada, C. 2003. Cultivo del camarón de río del norte (*Cryphiops caementarius*) desarrollado en el límite sur de su distribución, San Felipe V Región, durante los años 1998-2001. Tesis de Ingeniero en Acuicultura, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile. 120 p.
- Bahamonde, N. & I. Vila. 1971. Sinopsis sobre la biología del camarón de río del norte. Biol. Pesquera, Chile 5: 3-60.
- Brillon, S. & R. Lambert. 2005. Egg survival, embryonic development, and larval characteristics of northern shrimp (*Pandalus borealis*) females subject to different temperature and feeding conditions. Mar. Biol. 147: 895-911.
- Celada, J., J. Carral, V. Gaudinoso, C. Temiño & R. Fernández. 1988. Effects of thermic manipulation throughout egg development on the reproductive efficiency of the freshwater crayfish (*Pacifastacus lemniscus*). Aquaculture 12: 341-348.

- Dupré, E. 1988. Desarrollo embrionario de la langosta de Juan Fernández *Jasus frontalis* (Decapoda, Macrura, Palinuridae). Invest. Mar., Valparaíso 16: 49-62.
- Dupré, E., G. Bellolio & K. Lohrmann. 1992. Desarrollo embrionario del camarón de roca (*Rhynchocinetes typus*, H. Milne Edwards 1837), en condiciones de laboratorio. Rev. Chilena Hist. Nat. 65: 435-442.
- Giménez, L. & K. Anger. 2001. Relationship among salinity, egg size, embryonic development, and larval biomass in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 260: 241-257.
- Glas, P., L. Courtney & J. Rayburn. 1997. Embryonic coat of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. Biol. Bull. 192: 231-242.
- Gomez-Díaz, G. 1987. Effect of environmental embryonic temperature on larval development of the *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 114: 39-47.
- Helluy, S.M & B.S. Beltz. 1991. Embryonic development of the American lobster (*Homarus americanus*): quantitative staging and characterization of an embryonic molt cycle. Biol. Bull. 180: 355-371.
- Lavarias, S., H. Heras, S. Demichelis, E. Portiansky & R. Pollero. 2002. Morphometric study of embryonic development of *Macrobrachium borellii* (Arthropoda: Crustacea). Invert. Reprod. Dev. 41: 157-163.
- López-Greco, L., E. Rodríguez, J. Bolaños, G. Hernández & M. Fingerman. 2000. Differential toxicity of copper during early and late embryonic development of Palaemonidae shrimps. 9<sup>th</sup> Internat. Congr. Invert. Reprod. Dev. Grahamstown, South Africa. p. 81.
- Modesto, J. 1997. Evaluación biológica del camarón de río (*Cryphiops caementarius*) en el Río Sama con fines de protección. Universidad Nacional Jorge Basadre Groiimann. Facultad de Ingeniería Pesquera. Tacna, Perú. 20 p.
- Morales, M.C. 1997. Desarrollo larval del camarón de río *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) (Crustacea: Decapoda) en laboratorio. Tesis de Ingeniero en Acuicultura. Univ. Católica del Norte, Coquimbo, Chile. 112 p.
- Müller, Y.M., E.M. Nazari & M.S. Simoes-Costa. 2003. Embryonic stages of the freshwater prawn *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae). J. Crust. Biol. 23: 869-875.
- Norambuena, R. 1977. Antecedentes biológicos de *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) en el estero "el Culebron" (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). Biol. Pesquera, Chile 9: 7-19.
- Odinetz, O. & H. Rabelo. 1996. Variation in egg size of the fresh-water prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae). J. Crust. Biol. 16: 684-688.
- Rudolph, E. & J. Iracabal. 1994. Desarrollo embrionario y postembrionario del camarón de río *Samastacus spinifrons* (Philipi, 1882) (Decapoda, Parastacidae), en condiciones de laboratorio. Bol. Soc. Biol. Concepción, Chile 65: 43-49.
- Tavonatti, S. & E. Dupré. 2001. Scanning electron microscopy of development stages of the spiny lobster *Jasus frontalis* Milne-Edwards, 1836. Invert. Reprod. Dev. 40: 87-94.
- Valdes, L., M. Alvarez & E. González. 1991. Incubation of eggs of *Necrura puber* (L., 1767) (Decapoda, Brachyura, Portunidae). Volume and biomass changes in embryonic development. Crustaceana 60: 163-177.
- Valencia, C. 1998. Repoblación gradual y controlada del camarón (*Cryphiops caementarius*) en los ríos Sama y Locumba. Universidad Nacional Jorge Basadre Groiimann. Fac. Ingeniería Pesquera. Tacna, Perú. 17 p.
- Viacava, M., R. Aitken & J. Llanos. 1978. Reproducción en laboratorio del camarón de río (*Cryphiops caementarius*). Ministerio de Pesquerías, Lima, Perú. 67 p.
- Vinatea, E. 1982. Acuicultura Continental en: Camarones y Langostinos. Peces, Artemias y Dafnias. Librería Estudio (Ed.), Lima, Perú. p. 172-196.
- Wear, R., 1974. Incubation in British decapod Crustacea and the effects of temperature on the rate and success of embryonic development. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 54: 745-762.
- Wehrtmann, I.S. & G. López. 2003. Effects of temperature on the embryonic development and hatchling size of *Betaeus emarginatus* (Decapoda: Caridea: Alpheidae). J. Nat. Hist. 37: 2165-2178.