

An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín	21	85 - 93	Santa Marta - Colombia, 1992	ISSN 0120 - 3959
------------------------------------	----	---------	------------------------------	------------------

SEGUIMIENTO DEL CICLO REPRODUCTIVO EN EL ANFÍPODO MARINO *PARHYALE HAWAIENSIS* (DANA) (GAMMARIDEA: HYALIDAE)

Herbert Quintero, Carlos Vanin y Patricia Moreno

RESUMEN

En el litoral rocoso de Cartagena (Caribe colombiano) se colectó el anfípodo *Parhyale hawaiiensis* en estado copulatorio y ovado. En el seguimiento de la etología y características del período de fecundación se definieron seis fases. Así mismo, en el seguimiento del desarrollo marsupial se establecieron cinco estados que caracterizaron la evolución de los huevos y embriones. Por último, se estableció el desarrollo post-marsupial para cuatro períodos de vida, los cuales se determinaron por la variación de la longitud total, longitud de la cabeza, número de artejos en las antenas, forma del gamópodo 2 y el incremento en el número de espinas medias marginales del gamópodo 2 y los pereiópodos. El proceso de fecundación y desarrollo embrionario comprendió 16 días, con un promedio de 13 crías por hembra, las cuales se desarrollan simultáneamente; sin embargo la salida de los organismos del marsupio es asincrónica. Durante el desarrollo post-marsupial la diferenciación sexual se alcanzó a las 4 semanas de vida, evidenciada por el mayor tamaño y forma redondeada del gamópodo 2, además del mayor número de artejos en las antenas 1 y 2 del macho.

ABSTRACT

The amphipod *Parhyale hawaiiensis* was collected in copulative and ovate states in the rocky shore of Cartagena (Colombian Caribbean). Six phases were defined during the fecundation period. Five characteristic stages in the evolution of the eggs and embryos were established for the marsupial development. It was defined the post-marsupial development as consisting of four life periods, based on variations in total length, head length, antennal article number, shape of gnathopod two, and the increase in number of medial marginal thorns in the gnathopod two and pereopods. The fecundation process and the embryologic development lasted sixteen days. Embryos developed simultaneously in number of 13 per female. The release of juveniles was asynchronous. In the male, sexual dimorphism was reached after four weeks as evidenced by the size and shape of the gamopod 2 and the number of articles in antennae 1 and 2.

INTRODUCCION

El anfípodo *Parhyale hawaiiensis* (Dana, 1853), perteneciente a la familia Hyalidae, se constituye en un nuevo registro en el Caribe colombiano. En esta área se han realizado dos inventarios de anfípodos, por Calero (1982) y Ortiz (1983). La especie se

encuentra ampliamente distribuída en el litoral rocoso de Cartagena (10°23-27'N y 75°31-34'W), en las zonas de Crespo, Marbella, Bocagrande, Castillogrande y Bahía Interna. El anfípodo se ubica en el supralitoral inferior y mesolitoral superior en diversas macroalgas, siendo abundante en *Cladophora repens*, *Bryopsis plumosa* y *Ulva lactuca* v. *rigida*. La especie se reconoce por los grandes saltos que realiza al ser expuesta al aire, así como por la coloración violeta en el cuerpo y roja en la boca (Moreno *et al.*, 1991). De distribución pantropical (Galán, 1984), *P. hawaiiensis* ha sido registrada en el Golfo de México y en el Mar Caribe.

Aunque los anfípodos desempeñan un papel importante en la cadena trófica por ser un grupo representativo en la fauna litoral bentónica, han sido poco estudiados en Colombia. Así mismo, a pesar de los amplios estudios a nivel internacional respecto al crecimiento y estado de desarrollo de varias especies de anfípodos, *P. hawaiiensis* no ha sido investigada. La información del crecimiento y estados de desarrollo en los anfípodos constituye una gran ayuda en la identificación de las especies y en la obtención de grupos homogéneos de organismos en cualquier período de vida, ya sea para estudios ecológicos de poblaciones, reproducción en laboratorio y elaboración de bioensayos entre otros. Entre los diversos estudios realizados en anfípodos de la superfamilia Talitroidea (Wildish, 1972; Morino 1978; Page, 1979), se destaca el realizado en *Hyale media* por Leite y Wakabara (1989), el cual se tomó como base metodológica del presente trabajo. Esta investigación establece la etología y características del período de fecundación, el desarrollo marsupial y post-marsupial de *P. hawaiiensis*.

MATERIALES Y METODOS

Durante el mes de marzo de 1990 en el área de Crespo y Marbella se colectaron organismos maduros en estado copulatorio y hembras ovadas del anfípodo *P. hawaiiensis*. En el laboratorio, los individuos se ubicaron por parejas en beakers de 1000 ml con un volumen de 500 ml de agua de mar y aireación continua, observándose un total de 30 parejas. Se adicionó el alga *U. lactuca* v. *rigida* como alimento (además de sustrato) y nauplios de *Artemia* (1 nauplio/ml).

Diariamente se hicieron observaciones del comportamiento de la pareja y de la posición de los huevos en el marsupio de la madre. A partir de estas observaciones se separaron 30 hembras con huevos característicos de cada una de las fases previamente identificadas, procediéndose luego a extraer y contar los huevos. El desarrollo marsupial se determina a partir de la medición del diámetro en la parte más ancha, así como la coloración y estructuras en cada huevo (5 por hembra). De otra parte, se aislaron crías recién nacidas obtenidas en el laboratorio en beakers de 1000 ml, siendo alimentadas con el alga *U. Lactuca* v. *rigida*, a las cuales se les determinó el desarrollo post-marsupial a 0, 2, 4 y más de 4 semanas de vida; para ello se estableció la longitud total del cuerpo (del rostro al telson), longitud de la cabeza (del rostro al inicio del primer pereión), número de artejos en las antenas, forma del gamópodo 2 y el incremento en el número de espinas medias marginales del gamópodo 2 y los

pereiópodos 1 al 5. Se observó un número de 30 organismos por estado. En los beakers donde se ubicaron los organismos maduros y las crías, se mantuvo en promedio una temperatura de $28.8^{\circ}\text{C} \pm 0.83$, salinidad de $30 \text{ o/oo.} \pm 0.8$, oxígeno de $6.73 \text{ mg/l} \pm 0.15$ y un pH de 8.08 ± 0.05 .

Los huevos y organismos a observar se montaron sobre portaobjetos inmersos en glicerina para facilitar su manejo y evitar la desecación. Las observaciones se realizaron en un microscopio Nikon Labophot Tipo 104 y las mediciones se tomaron con un micrómetro ocular y un calibrador Solingen. Los dibujos se efectuaron con ayuda de una cámara lúcida. En el caso de las observaciones externas del marsupio se utilizó un estereoscopio Wild M7A. En la identificación de la especie se usaron los trabajos de Barnard (1969, 1971), Galán (1984) y Largade (1987).

RESULTADOS

El seguimiento de la etología y características del período de fecundación, de *P. hawaiiensis* se definió en 6 fases (Tabla I), teniendo en cuenta la posición de los huevos respecto a la parte ventral de la hembra. En la fase A el macho y la hembra están sexualmente desarrollados (Fig. 1 a , b) no observándose un comportamiento precopulatorio definido; en la siguiente fase ocurre el apareamiento ubicándose el macho

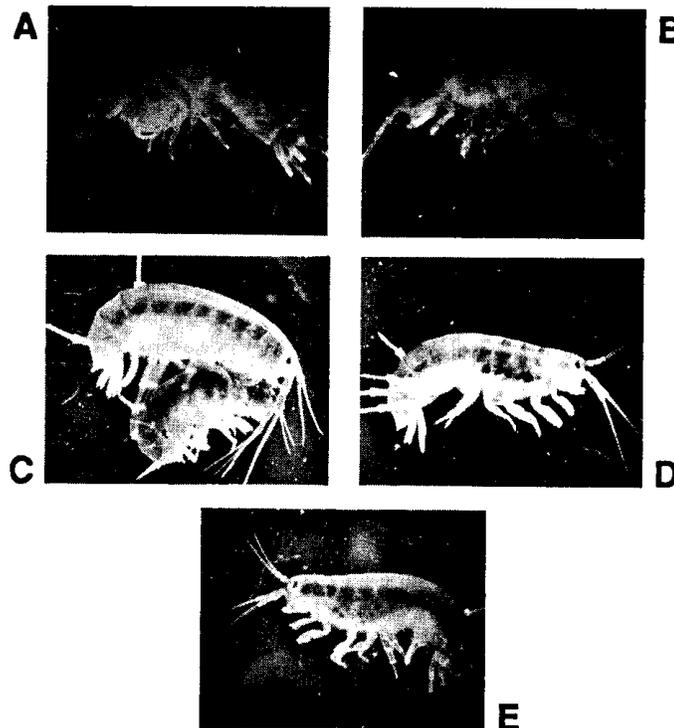


Figura 1. Comportamiento reproductivo de *Parthysia hawaiiensis*. a y b. macho y hembra en estado maduro (Fase A); c. estado de apareamiento (fase B); d. hembra con huevos en posición proximal (Fase C); e. hembra con huevos en posición media (Fase E).

Tabla 1. Fases de la etología y características del período de fecundación de *Parhyale hawaiiensis*

FASE	CONDICION DE PADRES	POSICION DE HUEVOS O EMBRIONES	DUACION FASE (DIAS)	ESTADO MARSUPIAL
A	Separados	No presentes	-	-
B	Apareados	No presentes	1	-
C	Separados	Proximal	2	1 y 2
D	Unidos o separados	Proximal y Media	3 a 4	3
E	Separados	Media	4 a 5	4
F	Unidos	Distal	5	5

en el dorso de la hembra sujetándola con los gamópodos 1 y 2 (Fig. 1 c). Posteriormente ocurren contactos ocasionales (Fase D y F) en forma simultánea al desarrollo de los huevos en el marsupio. Las Figs. 1 d y e ilustran la diferente posición de los huevos en la Fase C y E respectivamente. El tiempo total del proceso de fecundación y desarrollo embrionario comprendió 16 días, luego de lo cual los individuos completamente formados están listos para salir del marsupio de la madre. El promedio de crías por hembra correspondió a 13, valor que puede ser mayor teniendo en cuenta que estas salen asincrónicamente del marsupio.

El desarrollo marsupial se caracterizó en 5 estados (Tabla 2) que comprenden desde la fecundación de los huevos hasta la liberación de las crías. A partir de la aparición de huevos redondeados de coloración oscura (violeta-café) con un diámetro de 0.43 a 0.63 mm, hay un aumento en el diámetro, además de una tendencia a tomar forma oval. Se destaca el estado 3 donde aparece claramente diferenciada la cabeza y el estado 4 donde se aprecian los rudimentos de los apéndices. Por último, el desarrollo culmina con un individuo juvenil de longitud total entre 1.17 y 1.95 mm. de coloración blanca. En cada uno de los marsupios observados se encontró huevos con el mismo grado de desarrollo, sin embargo la eclosión de los huevos es asincrónica pues se observaron algunos juveniles con movimiento libre en el marsupio y embriones aún sin eclosionar.

El desarrollo post-marsupial (Tabla 3; Figs. 2 y 3), se inicia a partir de la liberación de (crías) del marsupio, caracterizándose el desarrollo del organismo hasta su diferenciación sexual. A los individuos recién nacidos, es decir de 0 semanas de vida, se les denomina juveniles y se caracterizan por su color blanco y la no definición de caracteres sexuales. En su tiempo de 2 semanas se pueden encontrar organismos con coloración violeta en el cuerpo, pero aún sin diferenciación sexual, de ahí que se sigan denominando juveniles. Para un período de 4 semanas de vida se encuentran organismos que recién alcanzan su madurez sexual, la coloración del cuerpo es violeta y se puede diferenciar claramente la hembra del macho por el mayor desarrollo y tamaño del gamópodo 2 en éste último. Por último, para un período mayor a 4 semanas de vida, la hembra y el macho presentan un considerable incremento de tamaño, manteniendo

Tabla 2. Estados y características del desarrollo marsupial en *P. hawaiiensis*

CARACTERÍSTICAS Y MORFOMETRÍA DE HUEVOS Y EMBRIONES							
ESTADO	FORMA	COLOR	ESTRUCTURAS	DIAMETRO	LONG CABEZA (mm)	Nº HUEVOS EMBRIONES	DIAS
1	Redondos, semiovalados	Oscuros Violeta-Café	Se ven algunas células y gotas de aceite.	0.43 - 0.63	-	6 - 27	1 a 2
2	Casi ovalados	Café-crema	Se ve un surco medio.	0.45 - 0.56	-	8 - 19	1 a 2
3	Variación Redondo - Oval	Violeta Oscuro y verde	Se diferencia la cabeza grande y el cuerpo	0.45 - 0.57	0.17 - 0.26	3 - 24	3 a 4
4	Oval	Naranja Café Oscuro	Embrión formado, se diferencian cabeza, apéndices doblados y ojos.	0.55 - 0.61	0.13 - 0.16	3 - 20	4 a 5
5		Blanco	Anfipodos totalmente formados con movimiento libre en el marsupio	-	0.18 - 0.24	3 - 11	5

Tabla 3. Longitud media de cabeza y cuerpo (en milímetros) y número de artejos en las antenas 1 y 2 a 0, 2, 4, y más de 4 semanas de vida en *P. hawaiiensis*

TIEMPO DE VIDA (SEMANAS)	LONGITUD DE CABEZA	LONGITUD DEL CUERPO	NUMERO DE ARTEJOS	
			ANTENA 1	ANTENA 2
0	0.22 ± 0.05	1.72 ± 0.34	4 - 5	6 - 8
2	0.38 ± 0.07	2.92 ± 0.26	6 - 7	12 - 13
4	Macho	5.75 ± 0.45	8 - 14	15 - 26
	Hembra	6.28 ± 0.57	7 - 13	17 - 23
>4	Macho	9.46 ± 1.16	14 - 20	27 - 38
	Hembra	8.81 ± 0.18	13 - 15	24 - 25

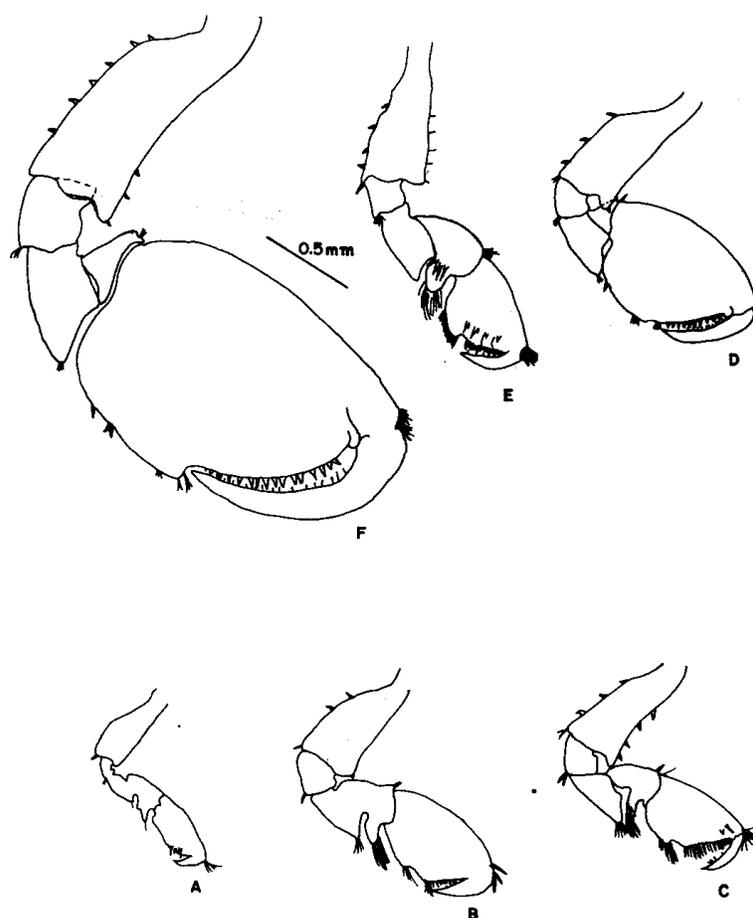


Figura 2. Desarrollo post-marsupial del gamópodo 2 en hembras y machos de *P. hawaiiensis*. a. juvenil de 0 semanas; b. juvenil de 2 semanas; c. hembra de 4 semanas; d. macho de 4 semanas; e. hembra mayor de 4 semanas; f. macho mayor de 4 semanas.

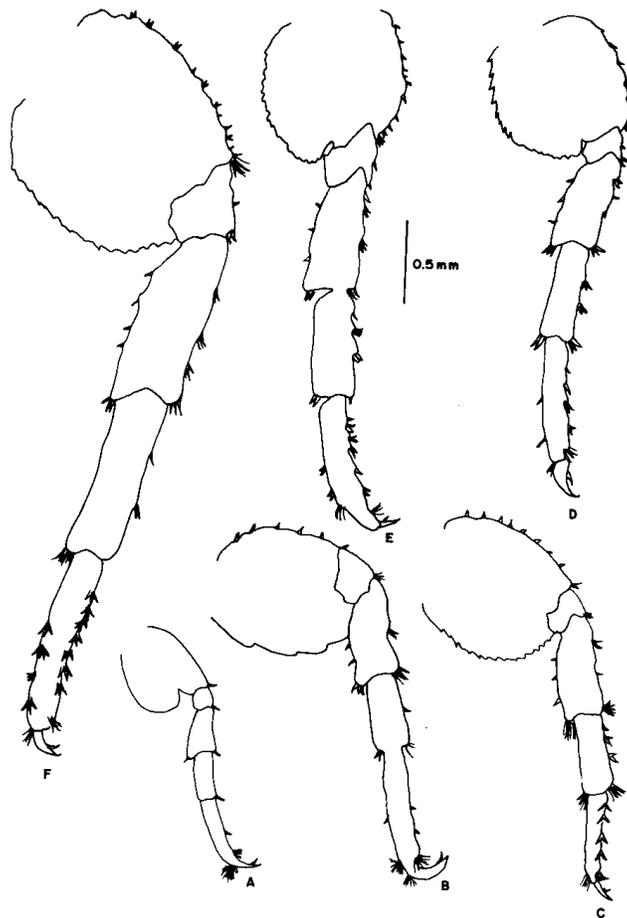


Figura 3. Desarrollo post-marsupial del pereiópodo 5 en hembras y machos de *P. hawaiiensis*. a. juvenil de 0 semanas; b. juvenil de 2 semanas; c. hembra de 4 semanas; d. macho de 4 semanas; e. hembra mayor de

Tabla 4. Número de espinas marginales medias en los artejos del gamópodo 2 (G2) y el periópodo 5 (P5) a 0, 2, 4 y más de 4 semanas de vida en *P. hawaiiensis* (A: Número de artejo, a: margen anterior, p: margen posterior)

TIEMPO DE VIDA (SEMANAS)	NUMERO DE ESPINAS										
	A2 - a		A2 - p		A3 - a	A4 - a	A4 - p	A5 - a	A6 - a	A6 - p	
	G2	P5	G2	P5	P5	P5	P5	P5	P5	G2	P5
0	0	0-1	0	0	0	0	0	0	1-2	0	0-1
2	0-2	4-5	1-3	0	1-2	2	1	2-3	0	1-2	0
4 Hembra	3-4	8-9	3-4	0	2-3	3	2-3	4	0	2-3	0
4 Macho	0-2	6-8	3-4	0-1	2-3	3	2-3	4	1-3	2-3	0
> 4 Hembra	3-6	8-10	3-5	0-1	3-4	3-4	2-3	4-6	0	1-2	0
> 4 Macho	1-4	10-11	5-7	0-1	3-4	4	2-3	6-7	0-2	2-4	0

características similares a las presentadas en el período de 4 semanas.

La longitud de cabeza y cuerpo durante el desarrollo post-marsupial (Tabla 3) se vió incrementada a través del tiempo, determinándose en individuos de más de 4 semanas un mayor tamaño en el macho (longitud del cuerpo en machos 9.46 mm y en hembras 8.28 mm en promedio); sin embargo a las 4 semanas de vida la hembra tiene mayor longitud (machos 5.75 mm y hembras 6.28 mm).

La especie se caracterizó por tener la antena 1 más corta que la 2, y un aumento progresivo en el número de arteios a medida que crecen los individuos, así por ejemplo, a 0 semanas el número de artejos en la antena 2 es de 6 a 8 y en machos de más de 4 semanas de vida de 27 a 38. El número de artejos en ambas antenas es menor en hembras que en machos (Tabla 3). El desarrollo post marsupial del gamópodo 2 (Tabla 4; Fig. 2) muestra un mayor tamaño para los machos, caracterizado además por una menor setación respecto a las hembras juveniles; el artejo 6 (própodo) del macho es de forma redondeada, mientras que en la hembra es de forma triangular. Observando la variación de las espinas marginales medias en el pereiópodo 5 (Tabla 4; Fig 3), se notó un incremento en el número y el tamaño a través del tiempo sin existir una diferenciación clara entre hembra y macho a éste nivel.

DISCUSION

La condición de los padres de presentar contactos ocasionales, luego de ocurrir la fecundación, (Fase B), pueden ser explicada por: un comportamiento intrínseco en la especie; un ahorro de energía para la hembra, ya que el macho en condición de apareamiento es quién realiza y dirige el desplazamiento de la pareja, de manera que la hembra se limitaría exclusivamente a crear una corriente ventilatoria con los pleópodos, aireando así los huevos en el marsupio; una contribución del macho a crear corriente ventilatoria para los huevos; y por último, a la producción constante de feromonas por parte de la hembra durante todo el proceso reproductivo, lo que mantendría cercano al macho. La producción de feromonas en hembras de anfípodos ha sido registrada por Barnes (1985), quien establece que es la forma como la hembra atrae al macho.

El hecho de encontrar huevos en el mismo estado de desarrollo, evidenciado por su similar longitud y forma en el marsupio, define a *Parhyale hawaiensis* como una especie con fertilización y desarrollo embriológico simultáneo, lo que ha sido observado en otras especies de anfípodos por Leite y Wakabara (1989), Green (1965) y Moore (1981). De otra parte, la variación del diámetro y número de huevos entre y en cada estado de desarrollo es explicado por Margalef (1986), lo que lleva a esperar que hembras de gran tamaño y avanzada madurez sexual generen crías de mayor tamaño y más numerosas. El mayor tamaño alcanzado por las hembras durante las primeras 4 semanas de vida es igualmente observado por Kannevorf (1965) en el anfípodo *Ampelisca macrocephala*. En general las observaciones a nivel de desarrollo post-marsupial permiten determinar el grado de madurez y la edad de los individuos de la especie, lo cual permite no solo su identificación en cualquier estado de vida sino que

además facilita desarrollar prácticas a nivel de obtención de organismos en condiciones de laboratorio.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo hace parte de la tesis de grado de los autores para obtener el título de Biólogo Marino de la Facultad de Biología Marina de la Universidad Jorge Tadeo Lozano(UJTL); agradecemos al Centro de Investigaciones de la UJTL Secc. Caribe, por la financiación del material fotográfico, y al Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas, (Cartagena), por facilitar las instalaciones del Laboratorio de Bioensayos. Así mismo, nuestro agradecimiento a Manuel Ortíz (Univ de la Habana) por la confirmación de la especie; a Arturo Acero (Univ. Nacional de Colombia) y Oscar Solano (UJTL), por la revisión del manuscrito; por último, a Alvaro Zuluaga "Radar" por su colaboración en la realización de las fotografías.

BIBLIOGRAFIA

- Barnard, J.L. 1969. The families and genera of marine gammaridean amphipoda. U.S. Nat. Mus. Bull., 271: 1-173.
- _____. 1971. Keys to the Hawaiian marine Gammaridea, 0-30 m. Smithsonian Contrib. Zool., 58:1-135.
- Barnes, R. 1985. Zoología de los invertebrados. 4a Ed. Interamericana, México, 1157 p.
- Calero, L. A. 1982. Anfípodos bentónicos de la Bahía de Cartagena (Caprellidae y Gammaridea). Tesis de Grado, Univ. Jorge Tadeo Lozano, Cartagena, 79 p.
- Galán, A. 1984. Systematic studies on Amphipoda (Crustacea) of the Venezuelan Caribbean coast. Tesis Doctoral, Imperial College of Sciences and Technol, Univ. London, no pag.,
- Green, J. 1965. Chemical embryology of the Crustacea. Biol. Rev. 40: 580-600
- Kanneworff, E. 1965. Life cycle, food, and growth of the amphipod *Ampelisca macrocephala* Liljeborg from the Oresund. Ophelia, 2(2): 305 - 318.
- Laqarde, G. 1987. Anfípodos Gammaridea del litoral del Golfo Triste y áreas adyacentes. Carib. J.Sci., 23(2): 260-277.
- Leite, F.P.P. y Y. Wakabara. 1989. Aspects of marsupial and postmarsupial development of *Hyale media* (Dana), 1853 (Hyalidae, Amphipoda). Bull. Mar. Sci., 45 (1) : 85 - 97.
- Margalef, R. 1986. ecología. Omega, Barcelona, 951 p.
- Moore, P.G. 1981. The life histories of the amphipods *Lembos websteri* Bate and *Corophium bonelli*. Milne Edwards in Kelp holdfasts. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 49 (1) : 1-50.
- Moreno, M. P., H. E. Quintero y C.I. Vanin. 1991. Comportamiento de *Parhyale hawaiensis* como organismo de prueba y ensayos de toxicidad aguda a 96 horas con Cd ++ y DDT. Tesis de Grado, Univ. Jorge Tadeo Lozano, Cartagena, 107 p.
- Morino, H. 1978. Studies on the Talitridae (Amphipoda, Crustacea) in Japan III. Life history and breeding activity of *Orchestia platensis* Kroyer. Publ. Seto Mar. Biol. Lab., 24 (4/6): 245 - 267.
- Ortiz, M. 1983. Los anfípodos (Gammaridea) de las costas del mar Caribe de la República de Colombia. Rev. Inv. Mar. Hab., 4(1): 23-31
- Page, H. M. 1979. Relationship between growth, size, molting and number of antennal segments in *Orchestia traskiana* stimpson (Amphipoda, Talidridae). Crustaceana, 37 (3): 248 - 267.
- Wildist, D. J. 1972. Post-embryonic growth and age in some littoral *Orchestia* (Amphipoda, Talitridae). Crustaceana, (suppl. 3): 267 - 274.

DIRECCION DE LOS AUTORES

Apartado Aéreo 6712 Cartagena, Colombia (H.Q.); Apartado Aéreo 020220, Cartagena, Colombia (P.M. y C.V.)

