



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**ONTOGENIA INICIAL Y FECUNDIDAD DEL
PULPO PIGMEO DEL PACÍFICO *Paroctopus*
digueti (Perrier y Rochebrune, 1984)**

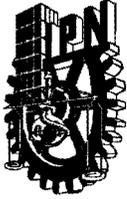
TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

PRESENTA

MARITZA GARCÍA FLORES

LA PAZ B.C.S. DICIEMBRE DE 2017



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 29 del mes de Noviembre del 2017 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"ONTOGENIA INICIAL Y FECUNDIDAD DEL PULPO PIGMEO DEL PACÍFICO
***Paroctopus digueti* (Perrier y Rochebrune, 1894)"**

Presentada por el alumno:

GARCÍA

FLORES

MARITZA

Apellido paterno

materno

nombre(s)

Con registro:

A	1	6	0	9	7	5
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de Tesis


DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ
Director de Tesis

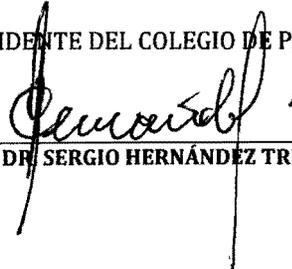

DR. MARTÍN OSCAR ROSALES VELÁZQUEZ
2º Director de Tesis


DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ


DR. RENATO PEÑA MARTÍNEZ

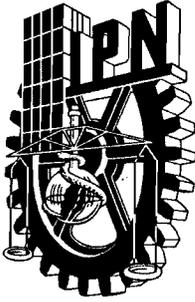

DR. UNAI MARCAIDA ABURTO

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO



I.P.N.
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 04 del mes de Diciembre del año 2017

El (la) que suscribe BM. MARITZA GARCÍA FLORES Alumno (a) del Programa

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro A160975 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ Y DR. MARTÍN OSCAR ROSALES VELÁZQUEZ

y cede los derechos del trabajo titulado:

"ONTONGENIA INICIAL Y FECUNDIDAD DEL PULPO PIGMEO DEL PACÍFICO

Paractopus digueti (Perrier y Rochebrune, 1894)"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: mary.gafm@gmail.com - bpceballos@gmail.com - osrove@hotmail.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BM. MARITZA GARCÍA FLORES

Nombre y firma del alumno

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas por brindarme la oportunidad de continuar con mi formación académica y lograr llevar a cabo el posgrado, asimismo agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al proyecto PIFI por la ayuda económica brindada durante estos dos años.

Agradezco a mis directores, Dra. Bertha Patricia Ceballos Vázquez y Dr. Martín Oscar Rosales Velázquez por aceptarme trabajar en su equipo, agradezco las enseñanzas, el apoyo y todo el tiempo que me brindaron para llevar a cabo este proyecto. Agradezco también a mi comité Dr. Marcial Arellano Martínez, Dr. Renato Peña Martínez y Dr. Unai Marcaida Aburto por las correcciones y valiosos comentarios que dieron pauta para concluir satisfactoriamente con mi trabajo.

Agradezco muy especialmente a mis padres que me ayudaron a conseguir lo que siempre había deseado, sin ellos no habría llegado hasta aquí.

Por último y no menos importante agradezco a todos mis amigos y compañeros que me brindaron su apoyo incondicional, la confianza y los ánimos para salir adelante.

CONTENIDO

Glosario.....	i
Índice de figuras.....	iii
Índice de tablas.....	v
Abreviaciones.....	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Generalidades de <i>Octopus</i>	3
2.2 Cuidado parental.....	6
2.3 Desarrollo embrionario.....	6
2.4 Acondicionamiento en cautiverio.....	9
2.5 Fecundidad.....	10
2.6 Generalidades de la especie	11
2.7. Descripción de <i>Paroctopus digueti</i>	12
III. JUSTIFICACIÓN	15
IV. OBJETIVO GENERAL	16
4.1 Objetivos particulares	16
V. METODOLOGÍA.....	17
5.1 Patrón de desove y cuidado parental.....	17
5.2 Desarrollo embrionario.....	18
5.2.1 Tiempo de desarrollo.....	18
5.2.2 Descripción de estadios de desarrollo embrionario.....	18
5.3. Consumo de vitelo.....	19
5.4 Fecundidad	19
VI. RESULTADOS	20
6.1 Patrón de desove y cuidado parental.....	20
6.2 Desarrollo embrionario.....	23

6.3 Consumo de vitelo	46
6.4 Fecundidad	49
7.1 Patrón de desove y cuidado parental.....	51
7.2 Desarrollo embrionario.....	54
7.3 Consumo de vitelo	57
7.4 Fecundidad	58
VIII. CONCLUSIONES	59
IX. SUGERENCIAS.....	60
X. BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	70

GLOSARIO

Anterior: hacia el extremo de la cabeza o de la punta de los brazos.

Apéndices circumorales: los ocho brazos (calamares, sepias y pulpos) y dos tentáculos (calamares y sepias) o los numerosos tentáculos (Nautilus) que surgen de la cabeza y rodean la boca de los cefalópodos.

Brazos: ocho apéndices circumorales provistos de ventosas en cefalópodos.

Cálamo: Papila cónica o proyección sobre el hectocótilo de los octópodos en el extremo proximal del conducto espermático, distal con respecto a las ventosas.

Cartílago de cierre en el sifón: invaginación cartilaginosa en cada costado ventrolateral de la parte posterior del sifón que se une con el manto para bloquear entre sí el sifón y el manto durante la locomoción, de modo que el agua sea expulsada sólo a través del sifón y no por los costados de la abertura del manto.

Cromatóforos: sacos musculares llenos de pigmento, con control nervioso individual, que se encuentran en la piel y que en conjunto proporcionan el color de fondo.

Desove: Puesta de huevos por parte de las hembras de ciertos animales.

Dorsal: la superficie superior o posterior de un cefalópodo, opuesta a la superficie ventral (donde se encuentra el sifón).

Hectocótilo: uno o más brazos de los machos modificado para transferir espermátóforos a la hembra.

Iteróparo: organismo que se reproduce más de una vez durante su ciclo de vida.

Lígula: estructura terminal en forma de cuchara o espátula del hectocótilo de los octópodos, que tienen el cálamo en la parte basal.

Longitud del manto: en octópodos, medido dorsalmente desde el punto medio entre los ojos hasta el extremo posterior del manto.

Manto: cuerpo carnoso (muscular) tubular o sacciforme de los cefalópodos; se encarga de la propulsión expulsando el agua a chorros; contiene las vísceras.

Paralarva: organismo nacido en fase larvaria tipo pelágica, observados en octópodos y teutoideos.

Posterior: hacia el extremo de la parte superior del manto de los cefalópodos.

Saco de tinta: estructura que produce y almacena la tinta en los cefalópodos; se encuentra a lo largo del intestino y se vacía a través de un conducto que va al recto.

Semélparo: organismo que se reproduce una vez y muere.

Sifón: tubo ventral subcónico a través del cual se expulsa el agua desde la cavidad del manto durante la locomoción y la respiración.

Tentáculos: apéndices circumorales pedunculados y alargados de las sepias y calamares que se utilizan en la captura de presas. Los extremos distales presentan ventosas; los pedúnculos normalmente están desprovistos de ventosas.

Umbrela: lámina membranosa de mayor o menor tamaño que se extiende entre los brazos de muchos pulpos dando aspecto de paraguas cuando se extienden los brazos.

Ventosas: estructuras musculares en forma de copa de succión ubicadas en los brazos y tentáculos de los cefalópodos.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Generalidades de los Octópodos.....	5
Figura 2. Ciclos de vida de los pulpos bentónicos.....	7
Figura 3. <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista dorsal con brazos identificados y localización del tercer brazo hectocotilizado en machos; B) Detalle del brazo Hectocótilo	13
Figura 4. Orientación y terminología de los patrones específicos de cromatóforos.....	19
Figura 5. Desarrollo embrionario asincrónico de <i>Paroctopus digueti</i>	20
Figura 6. Huevos de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Pedúnculos unidos con la parte libre agrandada (flecha); B) Vista completa del huevo	21
Figura 7. Cuidado parental de <i>P. digueti</i> . A) Protección dentro de la concha hasta el día de nacimiento; B) Agarre de las valvas con las ventosas; C) Expansión de la umbrela y D) Ingestión de toda la puesta.....	22
Figura 8. Clasificación de los estadios de desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i>	23
Figura 9. Estadios II y III del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Formación del blastodisco en el polo animal (estadio II); B) Inicio del proceso de gastrulación con el blastodermo expandiéndose hasta cubrir el resto del huevo (estadio III).....	24
Figura 10. Estadios III y IV del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Estadio III; B) Estadio IV, primera inversión del embrión migrando del polo animal (asterisco) al polo vegetal (cabeza de flecha); C) Estadio IV, con esbozos de manto, cabeza y brazos.....	25
Figura 11. Estadio V de desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Diferenciación de los brazos y manto; B) Esbozo de la cabeza, manto en crecimiento.....	26
Figura 12. Estadio VI del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i>	27

Figura 13. Estadios VII y XVIII del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Estadios VII y VIII, revestimiento de la cabeza por el manto; B) Estadio VIII, brazos en crecimiento; C) Estadio VIII, ojos grandes color marrón.....	28
Figura 14 Estadio IX del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i>	29
Figura 15. Estadio X del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Diferenciación de la boca; B) Crecimiento de manto, brazos y ventosas; C) Sifón en desarrollo, ojos grandes color marrón.....	30
Figura 16. Estadios XI y XII del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Estadio XI, manto en desarrollo; B) Estadio XII, boca por debajo de los ojos migrando a la parte ventral del embrión; C) Sifón en desarrollo, brazos y ventosas en crecimiento.	31
Figura 17. Estadio XIII al XV del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . Abreviaturas: B: boca; M: manto; O: ojo; S: sifón; ve: ventosas; Vi: Vitelo.....	32
Figura 18. Estadios XVI XVII del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> , vista dorsal.....	33
Figura 19. Estadio XVIII del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> , vista dorsal.	34
Figura 20. Estadio XIX del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista ventral; B) Vista dorsal.....	35
Figura 21. Estadio XX del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista lateral; B) Vista ventral	36
Figura 22. Estadio XXI del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista dorsal; B) Vista ventral	37
Figura 23. Estadio XXII del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i>	38
Figura 24. Estadio XXIII y XXIV del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A, C) Vista dorsal; B, D) Vista ventral	39

Figura 25. Estadio XXV del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista dorsal; B) vista ventral.....	40
Figura 26. Estadio XXVI del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista ventral, B) Vista dorsal.....	41
Figura 27. Estadio XXVII del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista ventral, B) Vista dorsal.	42
Figura 28. Estadio XXVIII del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista lateral; B) Vista ventral; C) Vista dorsal.....	43
Figura 29. Estadio XXIX del desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . A) Vista ventral; B) Vista lateral; C) Vista dorsal	44
Figura 30. Desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i> . Digestión de las reservas vitelinas externas	45
Figura 31. Juvenil de <i>Paroctopus digueti</i> recién nacido.....	46
Figura 32. Consumo de vitelo durante el desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i>	47
Figura 33. Consumo del vitelino con respecto a los estadios de desarrollo embrionario de <i>Paroctopus digueti</i>	48
Figura 34. Relación del crecimiento del manto con respecto al consumo de vitelo.....	49
Figura 35. Relación de la fecundidad conforme a la longitud del manto de la hembra..	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Especies con talla de huevo pequeñas/grandes	8
Tabla II. Estimación de la fecundidad.....	11

Abreviaciones utilizadas en el texto y figuras			
AMd	Anterior manto dorsal	Ev	Epitelio visceral
AMv	Anterior manto ventral	M	Manto
B	Brazo	Md	Manto dorsal
Bb	Base del brazo	Mp	Manto posterior
Bl	Blastodermo	Mv	Manto ventral
Bo	Boca	mvc	Masa visceral
C	Cabeza	O	Ojo
Cd	Cabeza dorsal	S	Sifón
Cr	Cristalino	Ve	Ventosas
Ct	Cromatóforos	Vi	Vitelo
Cv	Cabeza ventral		

RESUMEN

El pulpo pigmeo del Pacífico *Paroctopus digueti*, es endémico al Golfo de California y Pacífico adyacente en México. Presenta una talla máxima total de 15 cm, un ciclo de vida corto, una tasa de crecimiento elevada y un desarrollo directo. Estas características hacen a *P. digueti* un candidato ideal para su cultivo. Sin embargo, hasta la fecha existe poca información sobre su historia de vida, información que permitiría obtener una mejor evaluación del potencial de cultivo de esta especie. El objetivo de este estudio fue describir el desarrollo embrionario y estimar la fecundidad real de *P. digueti* en condiciones de laboratorio. Las hembras capturadas con puestas se aclimataron en un sistema de recirculación con filtros mecánico, biológico y UV a una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Se colectaron huevos en diferentes estadios de desarrollo, los cuales se midieron y fijaron en formaldehído (5%). La fecundidad real fue estimada como el número de huevos desovados por hembra. El patrón de desove de *P. digueti* es monocíclico, ocurriendo en parches temporalmente separados. La duración del desarrollo embrionario fue de 38 días, comprendido por 31 estadios de desarrollo embrionario. En el estadio VI comienza el proceso de organogénesis, el patrón de los cromatóforos da inicio en el estadio XVI, la segunda reversión del embrión y completo desarrollo tiene lugar en el estadio XIX, el estadio XXXI corresponde a un organismo nacido (juvenil). La fecundidad estimada fue de 80 a 300 huevos por hembra.

Palabras clave: desarrollo embrionario, cuidado parental, desove, cromatóforos, cautiverio

ABSTRACT

The Pacific pygmy octopus *Paroctopus digueti*, is endemic to the Gulf of California and adjacent Pacific in Mexico. It has a maximum size of 15 cm, a short life cycle, a high growth rate and a direct development. These characteristics make *P. digueti* an ideal candidate for culture. However, to date there is little information on their life history, information that would allow a better evaluation of the potential culture of this species. The objective of this study was to describe the embryonic development and to estimate the fecundity of *P. digueti* under laboratory conditions. The captured females were acclimatized in a recirculation system with mechanical, biological and UV filters at a temperature of $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Eggs were collected at different stages of development, which were measured and fixed in formaldehyde (5%). Fecundity was estimated as the number of eggs spawned per female. The spawning pattern of *P. digueti* is monocyclic occurring in temporally separated patches. The duration of embryonic development was 38 days, comprising 31 stages of embryonic development. At stage VI begins the process of organogenesis, the pattern of the chromatophores begins in stage XVI, the second reversal of the embryo and complete development takes place in stage XIX, stage XXXI corresponds to a born (juvenile) organism. The estimated fecundity was 80-300 eggs per female.

Key words: embryonic development, parental care, spawning, chromatophores, captivity

I. INTRODUCCIÓN

Los cefalópodos son una clase exclusivamente marina del filo de los Moluscos; debido a sus singulares características y a su potencial como recurso, el interés científico abarca desde la acuicultura, cuestiones teóricas en biología poblacional y ecología evolutiva (Boyle y Boletzky, 1996; Rodhouse, 1998). En cuanto a biología básica, los estadios tempranos de vida de los cefalópodos son de gran interés, tanto como componente del ciclo de vida de una especie o como modelos de patrones y procesos ontogénicos (Boletzky, 2003).

Los pulpos bentónicos se caracterizan por presentar un crecimiento rápido, una madurez temprana, una fertilidad alta y un ciclo de vida corto (Boyle y Boletzky, 1996), exhibiendo dos estrategias reproductivas principales: La primera corresponde a la producción de pocos huevos grandes dando lugar a crías bentónicas completamente desarrolladas; la segunda estrategia consiste en la producción de numerosos huevos pequeños que dan lugar a paralarvas planctónicas de natación libre (Villanueva y Norman, 2008). La dificultad para identificar los huevos y los juveniles de los pulpos es un impedimento para el progreso en varios campos de investigación de estos cefalópodos ya que hasta la fecha son desconocidos los primeros estadios de vida de muchas especies, especialmente de especies comercialmente valiosas, y para las cuales, contar con información sobre etapas tempranas de vida sería de gran utilidad para el manejo sostenible de las poblaciones (Sweeney *et al.*, 1992). Sin embargo, este problema poco a poco se ha ido solucionando gracias a las descripciones de crías de varias especies de pulpo, y se ha demostrado que el número y distribución de cromatóforos en la piel funcionan como caracteres diagnósticos para identificar a especies (Young *et al.*, 1989).

El pulpo es un producto culinario altamente apreciado, lo que lo ha llevado al aumento explosivo de su pesca en las últimas décadas (Boletzky, 1989b). La información disponible sobre cultivo de pulpo en nuestro país se centra en algunos estudios sobre su biología y cultivo en laboratorio, y tienden a indicar que estos organismos son en su mayoría, especies de gran potencial para la acuicultura.

Actualmente la única especie que está siendo cultivada y comercializada con éxito en México es *O. maya* en Yucatán (Domingues *et al.*, 2012).

Paroctopus digueti (Perrier y Rochebrune, 1984) es una especie de pulpo pigmeo que se distribuye en México, dentro del Golfo de California y costa del Pacífico a la mitad del sur de la Península de Baja California, presenta una talla máxima total de 15 cm, un ciclo de vida corto, una elevada tasa de crecimiento, un desarrollo directo y se adapta fácilmente a vivir en cautiverio (DeRusha *et al.*, 1987, Jereb *et al.*, 2016). Todas estas características hacen de *P. digueti* un candidato ideal para su cultivo.

Sin embargo, los requerimientos biológicos de una especie cultivada se deben entender a fondo durante todos los estadios del ciclo de vida (Iglesias *et al.*, 2014). Hasta la fecha existe poca información publicada sobre la biología y la historia de vida de *P. digueti* (DeRusha *et al.*, 1987) y no existen estudios que describan a detalle el desarrollo embrionario y su fecundidad; información que además de ser una gran contribución al conocimiento biológico de la especie, permitiría obtener una mejor evaluación del potencial de cultivo al igual que sus requerimientos nutricionales de esta especie. Por lo anterior, en este estudio se describe el desarrollo embrionario y se estima la fecundidad de *P. digueti* en condiciones de cultivo.

II. ANTECEDENTES

El grupo conocido como cefalópodos se encuentra dentro del phylum Mollusca y es considerado comercialmente el más importante (Ignatius y Srinivasan, 2006). Ésta clase está conformada por cuatro grupos Nautiloideos, Sepioideos, Teuthoideos y Octopodos los cuales, a diferencia de otros moluscos, presentan un sistema nervioso central más desarrollado destacando la compleja estructura de los ojos y un cuerpo bilateralmente simétrico (Wilbur, 1983; Roper *et al.*, 1995).

2.1 Generalidades de Octopus.

Los octópodos mejor conocidos como pulpos son uno de los grupos más destacados entre los cefalópodos debido a su habilidad para mimetizarse y su gran capacidad de aprender (Norman, 2016). Este grupo se encuentra distribuido en todas las latitudes que van desde el Ecuador hasta las aguas polares, abarcando zonas someras hasta por lo menos 5,000 m de profundidad; encontrándose en todo tipo de hábitat desde corales y arrecifes rocosos hasta praderas de pastos marinos, esponjas y sustratos finos (Roper *et al.*, 1995; Norman, 2016).

Entre los octópodos se reconocen dos subórdenes: los pulpos cirrata que se conforman por formas pelágicas y betónicas de aguas profundas (caracterizados principalmente por cirros a lo largo de los brazos y por aletas en forma de remo) y los pulpos incirrata conformados por formas bentónicas y epibentónicas de aguas someras (caracterizados por ausencia de cirros y aletas). Este último suborden es de gran interés para la pesca y algunas especies de *Octopus* constituyen la base de algunas de las grandes pesquerías de cefalópodos (Roper *et al.*, 1995; Garcia, 2010; Norman, 2016).

Los pulpos incirrata se caracterizan por presentar un cuerpo blando generalmente corto y redondeado carentes de concha externa (Fig. 1A); poseen ocho brazos móviles con ventosas, sin anillos quitinosos o ganchos, dispuestas en una o dos hileras a lo largo del brazo, que convergen en la cabeza con pliegues de piel (umbrela) que van de moderados a profundos (Fig.1B), en ese punto de convergencia se encuentra la boca provista de mandíbulas quitinosas semejantes al pico de un loro

y de una rádula. La coloración de la piel es variable según el hábitat en el que se encuentren, contienen numerosos cromatóforos e iridiocitos que les permiten un rápido cambio de color y textura. Presentan una abertura en la parte inferior de la cabeza denominada cavidad del manto, de la cual sobresale el sifón o embudo, que expulsa el agua de la cavidad del manto permitiéndoles desplazarse y eliminar desechos metabólicos, el manto se encuentra fusionado con la cabeza, pero no con el sifón. Dentro de la cavidad del manto se encuentra la masa visceral conformada por los sistemas reproductor y digestivo, un par de branquias, tres corazones de los cuales dos irrigan a las branquias y el tercero al resto del cuerpo, una glándula digestiva, un saco de tinta, en los pulpos la concha interna se encuentra reducida en dos pequeñas estructuras vestigiales semirrígidas de tipo cartilaginosa denominadas estiletes dentro del manto por arriba de las branquias (Fig. 1C). En la cabeza se alojan los ojos, el cerebro el cual lleva al sistema nervioso hasta la cavidad del manto y las glándulas salivales. En todos los pulpos, excepto en algunas formas pelágicas, el tercer brazo (hectocótilo) de los machos (generalmente el derecho) se modifica con un canal a lo largo del borde ventral, que conduce a una punta triangular con forma de cuchara (lígula) la cual tiene como función la transferencia de los espermátóforos desde el macho hasta el lugar de implantación en la hembra (Fig. 1B) (Wells, 1978; Guerra Sierra, 1992; Roper *et al.*, 1995; Boyle y Rodhouse, 2005; Garcia, 2010; Norman, 2016)

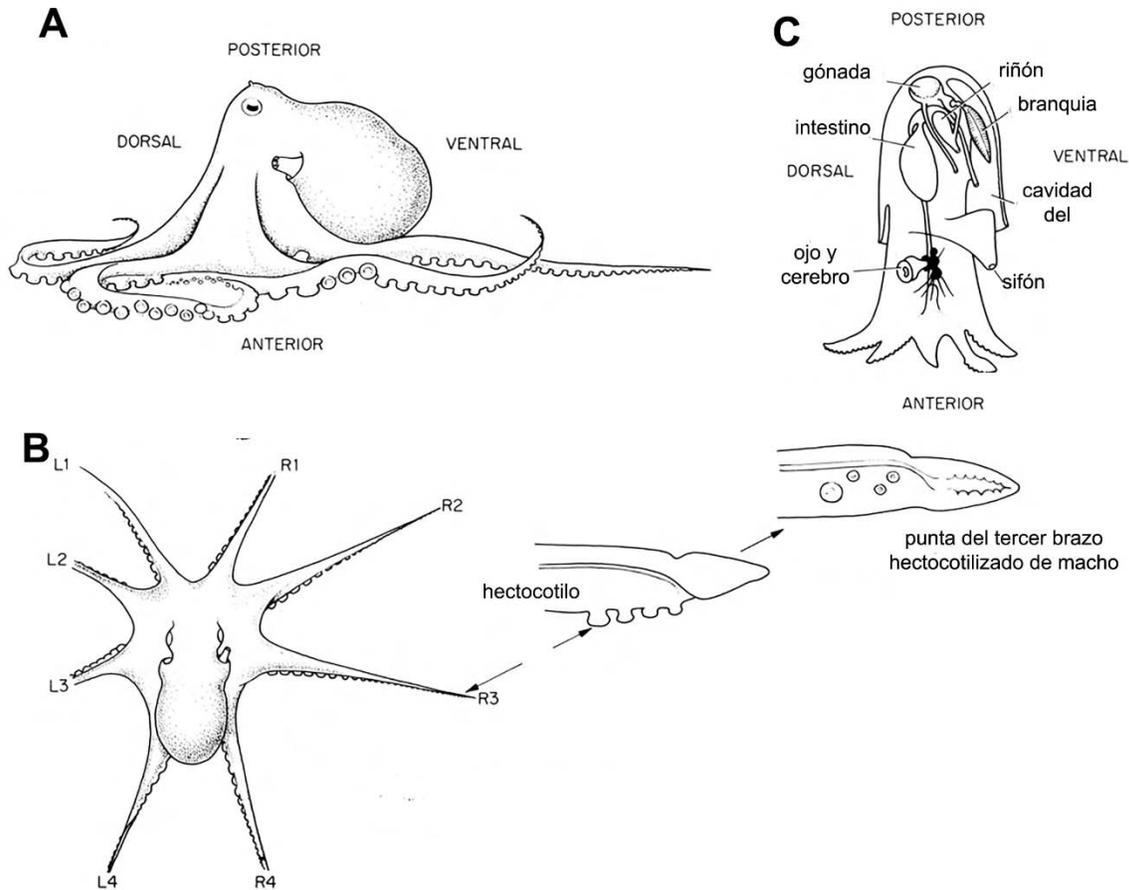


Figura 1. Generalidades de los Octópodos, A) Orientación del pulpo; B) Vista dorsal del pulpo con brazos identificados y detalle del tercer brazo hectocotilizado en machos; C) Orientación en cuanto a órganos internos y contenido de la cavidad del manto. Imagen tomada de Wells (1978) con modificación.

Son desconocidas las historias de vida de la mayoría de los pulpos y el conocimiento que se tiene acerca de su ciclo de vida aún se encuentra incompleto. Los pulpos son animales dioicos, es decir, presentan sexos separados y su fertilización es interna, la cual ocurre a medida que el ovocito pasa a través de la glándula oviductal hacia los oviductos, para que posteriormente la hembra coloque los huevos individualmente o en racimo (festones) sobre el sustrato, conchas o en la piel de la hembra como lo reportan Tranter y Augustine (1973) para el pulpo de anillos azules *Hapalochlaena maculosa*, con la finalidad de ser resguardados hasta el día del

nacimiento (Wells, 1978; Boyle y Rodhouse, 2005; Ignatius y Srinivasan, 2006; Norman, 2016).

2.2 Cuidado parental

El cuidado parental que presentan los pulpos es uno de los factores clave para promover el éxito en el desarrollo de los huevos. Una vez que desova, la hembra deja de buscar alimento, y por lo tanto deja de alimentarse, con el fin de proteger a los embriones de los depredadores potenciales; asimismo, durante el desarrollo se encarga de ventilar los huevos mediante el lavado con agua utilizando el sifón. Por otra parte, limpia la superficie de los huevos y elimina los embriones muertos. Por lo general, las hembras viven hasta completar todo el desarrollo embrionario, sin embargo, en algunos casos y de acuerdo a su condición nutricional pueden morir poco antes de que los embriones nazcan, en estos casos la supervivencia de los embriones se ve comprometida ocasionando incluso la muerte de toda la puesta (Arkhipkin, 1992; Boyle y Rodhouse, 2005; Vidal *et al.*, 2014).

2.3 Desarrollo embrionario

Los pulpos del suborden Incirrata han desarrollado el modo de vida bentónico y su estrategia reproductiva ha cambiado considerablemente de sus ancestros, por lo que dentro del suborden se presentan dos tipos de desarrollo: directo e indirecto (Fig. 2).

En el desarrollo directo, el organismo nace como un juvenil (Fig. 2A) con características similares a las del adulto, e inmediatamente habita el bentos, está presente en especies con huevos de tallas grandes, mayores al 10% de la longitud del manto. El desarrollo indirecto comprende una fase larvaria pelágica (Fig. 2B) denominada paralarva y está presente en especies con huevos de tallas pequeñas, menores al 10% de la longitud del manto (Arkhipkin, 1992; Norman, 2016).

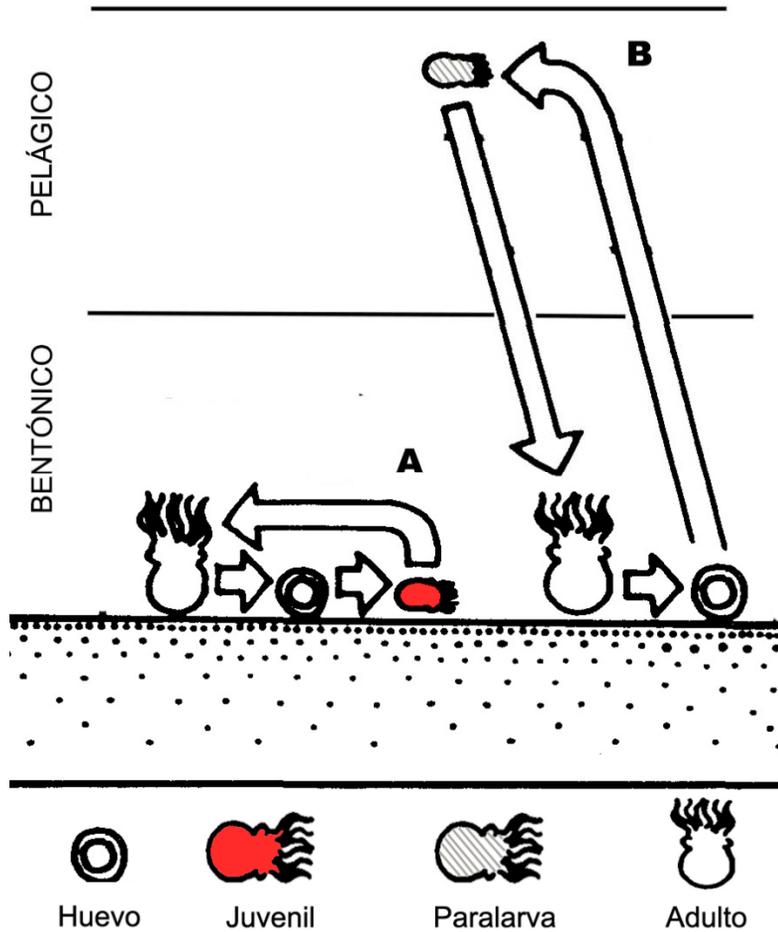


Figura 2. Ciclos de vida de los pulpos bentónicos (tomado y modificado de Arkhipkin, 1992). A) Desarrollo directo, el organismo nace como juvenil e inmediatamente habita el bentos. B) Desarrollo indirecto, el organismo presenta fase paralarva pelágica.

Se han reportado algunas descripciones del desarrollo embrionario de numerosas especies de pulpo (Tabla 1), para especies con huevos de tallas pequeñas como *O. bimaculatus* (Ambrose, 1981), *O. vulgaris* (Naef, 1928), *O. hubbsorum* (Alejo Plata y Herrera, 2014), *O. aegina* (Ignatius y Srinivasan, 2006), *O. insularis* (Lenz *et al.*, 2015). De igual manera, se ha reportado la descripción del desarrollo embrionario para especies que presentan huevos de tallas grandes, incluyendo *O. joubini*, *O. briareus* (Boletzky, 1969; Hanlon y Forsythe, 1985), *Hapalochlaena maculosa* (Tranter y Augustine, 1973), *Hapalochlaena lunulata* (Overath y Boletzky, 1974) y *O.*

bimaculoides (Forsythe *et al.*, 1983; Hanlon y Forsythe, 1985; Forsythe y Hanlon, 1988), *O. maya* (Solis-Ramírez, 1967; Hanlon y Forsythe, 1985; Iglesias *et al.*, 2014).

Tabla 1. Especies con talla de huevo pequeño/grande. LM=Longitud del manto (Adulto), Hábitat planctónico (P) o bentónico (B) (nacido paralarva/juvenil), LH= longitud de huevo y Fecundidad (número de huevos por puesta) (Sweeney *et al.*, 1992).

Espece	LM (cm)	Hábitat P/B	LH (mm)	Fecundidad
HUEVOS DE TALLA PEQUEÑA				
<i>O. rubecens</i>	8 - 10	P	3 – 4	4,000-45,000
<i>O. vulgaris</i>	25	P	1.5-2.7	100,000-500,000
<i>O. bimaculatus</i>	20	P	2.5-4	20,000
<i>O. dofleini</i>		P	6-8	30,000-180,000
<i>O. hubbsorum</i>	11	P	1.6	105,000-144,000
<i>Hapalochlaena lunulata</i>	5	P	2.5-3.5	50+
<i>O. defilippi</i>	9	P	1.5-2.1	10,000+
HUEVOS DE TALLA GRANDE				
<i>O. joubini</i>	4.5	B	6-10	25-300
<i>Hapalochlaena maculosa</i>	5.7	B	6-9	100-200
<i>O. digueti</i>	6	B	6-8	50-250
<i>O. tehuelchus</i>		B	9-12	80+
<i>O. minor</i>	8	B	21-22	50-200
<i>O. bimaculoides</i>	8.5	B	12-17	200-750
<i>O. briareus</i>	12	B	10-14	150-950
<i>O. maya</i>	12	B	11-17	500-5,000
<i>O. californicus</i>	14	B	14-17	50-100

Todos los estudios anteriormente mencionados han utilizado el sistema de clasificación de los estadios de desarrollo embrionario propuesto por Naef (1928) para *O. vulgaris*. Este sistema excluye características anatómicas internas, y las etapas del desarrollo embrionario se basan principalmente en la morfología externa reconocible de muestras preservadas (Osborn, 1995).

2.4 Acondicionamiento en cautiverio

Además del comportamiento y las descripciones morfológicas del desarrollo embrionario, se han realizado estudios que profundizan un poco más en el desarrollo de sistemas de cultivo y aclimatación en condiciones de laboratorio de pulpos, como por ejemplo para *O. joubini* (Bradley, 1974; Forsythe y Halon, 1980), *O. digueti* (DeRusha *et al.*, 1987), *O. vulgaris* (Moxica *et la.*, 2002; Oltra *et al.* 2005; Socorro *et al.*, 2005), *O. insularis* (Lenz *et al.*, 2015), *O. bimaculoides* (Forsythe y Hanlon, 1988) y *O. mimus* (Baltazar *et al.*, 2000), los cuales han dado pauta para nuevas investigaciones como son garantizar los desoves a partir de reproductores silvestres, nutrición óptima para el crecimiento, la engorda de juveniles y cerrar el ciclo con la producción de reproductores en laboratorio capaces de producir desoves similares o mayores a lo observado en el ambiente silvestre (DeRusha *et al.*, 1987; Forsythe y Hanlon, 1988; Boletzky, 1994; Caverivière *et al.*, 1999; Moxica *et al.*, 2002; Oltra *et al.*, 2005; Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez-Serna y Carmona Osalde, 2008; Repolho *et al.*, 2014).

Las especies de pulpo que presentan huevos de tallas grandes y desarrollo directo son las más atractivas para la acuicultura principalmente a nivel comercial, debido a que presentan fácil adaptación a vivir en cautiverio, tasas de crecimiento elevadas, ciclos de vida cortos y no presentan la fase larvaria, lo que hace más fácil su cultivo. Algunas especies han sido cultivadas en pequeña o mediana escala durante los últimos años, entre estas se encuentran *O. joubini* (Bradley, 1974), *O. digueti* (DeRusha *et al.*, 1987), *O. bimaculoides* (Forsythe y Hanlon, 1988) y *O. maya* (Narváez, 2015).

2.5 Fecundidad

En algunas especies de pulpo la fecundidad es bastante alta y comparable a las especies de peces (Saville, 1987), teniendo como resultado un gran número de huevos de talla pequeña y la producción de paralarvas; por otro lado, hay especies de pulpo que presentan una baja fecundidad, con una menor producción de huevos de talla grande y crías bentónicas (Vidal *et al.*, 2014). Estas crías con desarrollo directo son miniaturas de adultos, nacidos con un sistema nervioso altamente desarrollado y habilidades de caza innata.

Se han realizado pocos estudios acerca de la fecundidad en cefalópodos, la escasa información que se tiene se ha obtenido de especies que presentan importancia comercial (principalmente calamares). Los pocos datos obtenidos sobre las estimaciones de fecundidad en pulpo han sido a partir del número máximo de ovocitos intraováricos (fecundidad potencial). Sin embargo, esta estimación tiene la desventaja de no solo estimar los huevos que logran alcanzar la madurez completa, la fertilización y su completo desarrollo, lo cual conlleva a una sobreestimación de la fecundidad. Son pocos los estudios que muestran la fecundidad real del pulpo, es decir, el número de huevos que logran alcanzar la madurez completa, la fertilización y su completo desarrollo. La mayoría de los datos sobre la fecundidad de los pulpos se han obtenido de observaciones de desoves en laboratorio, algunas estimaciones de fecundidad se presentan en la Tabla 2 (Osborn, 1995; Boyle y Rodhouse, 2005).

Tabla 2. Estimación de la fecundidad. (Tomada de Boyle y Rodhouse, 2005).

Especie	Número de huevos	Tamaño de huevo (mm)
<i>Octopus briareus</i>	200-500, <955	5.0 x 14.0
<i>Octopus cyanea</i>	<700 000	<3.0 long
<i>Octopus dofleini</i>	18 000-70 000	<8.0 long
<i>Octopus joubini</i>	<321	4.0x8.0
<i>Octopus maya</i>	3000-5000	3.9 x 11.0
<i>Octopus tetricus</i>	<700 000	0.9 x 2.4
<i>Octopus vulgaris</i>	100 000- 500 000	1.0 x 2.0
<i>Eledone cirrhosa</i>	2000-54 000	2.5 x 7.5
<i>Eledone moschata</i>	100-500	5.0 x 16.0
<i>Bathypolypus arcticus</i>	20-80	6.0 x 14.0

2.6 Generalidades de la especie

El género *Paroctopus* presenta como características diagnosticas un cuerpo pequeño, manto corto y fusiforme, brazos gruesos y cortos, en machos se presenta un brazo hectocotilizado (tercer brazo derecho) con órgano copulador (lígula). Las hembras presentan glándulas oviductales, con huevos de tamaño grande y con tallos cortos, que se utilizan para adherirse individualmente durante el desove a conchas de bivalvos (Jereb *et al.*, 2016).

De acuerdo a la última actualización del Catálogo de especies para fines pesqueros de la FAO (Jereb *et al.*, 2016), el género *Paroctopus* fue propuesto por Naef (1923) basado en la observación de los huevos relativamente grandes (10 mm de longitud) de *P. digueti*, comparado con cualquier otro organismo con los que Naef estaba familiarizado en el Mediterráneo. Sin embargo, años después, el mismo Naef abandonó el nombre del género *Paroctopus* debido a que lo consideró inválido, sin discutir razones. En 1929, Robson intentó validar el género amplificando el diagnóstico con características adicionales como la posesión de un órgano copulador largo, brazos

cortos y cuerpo fusiforme. En el Atlántico occidental *Octopus joubini* Robson (1929) y *O. mercatoris* Adam (1937) han sido reportados como posibles congéneres. En este sentido, la existencia de al menos tres especies distintas apoya firmemente la validez del género *Paroctopus*, siendo *P. digueti* la especie tipo (Jereb *et al.*, 2016). Hasta la fecha no se sabe si el género *Paroctopus* se encuentra restringido solo a especies distribuidas en los mares del continente Americano o presenta rangos geográficos más amplios. *O. superciliosus* Quoy y Gaimard (1932) y *O. warringa* Stranks (1990) de las costas de Australia podrían estar relacionados con el género, sin embargo, es necesario compararlos más a detalle (Stranks, 1988, 1990).

2.7. Descripción de *Paroctopus digueti*

P. digueti es una especie de pulpo pigmeo con ojos grandes que sobresalen de la cabeza, presenta brazos cortos de 2 a 3 veces la longitud del manto con umbrela poco profunda (~25 % de la longitud del brazo) (Fig. 3A) y ventosas de tamaño mediano (del 8-14 % de longitud del manto), con un total de 138 ventosas contadas en brazo normal. Los machos maduros presentan de 1 a 3 ventosas agrandadas cerca de la inserción de la umbrela (hasta el 23 % de longitud del manto) y el tercer brazo derecho hectocotilizado de entre 70 a 90 ventosas, lígula de tamaño mediano (5-8 % de la longitud del brazo) (Fig. 3B), espátula copuladora acanalada, y calamus pequeño, de 35% de longitud de lígula. El cartílago de cierre del sifón en forma de W, extremidades desiguales en longitud. Branquias con 6 a 8 lamelas. Los huevos presentan un tamaño de 7 a 10 mm y un tallo corto de 3 a 5 mm, unidos individualmente o en pares, los cuales son depositados durante el desove dentro de conchas de bivalvos, gasterópodos, botellas y latas vacías en zona intermareal y sublitoral somero (Perrier y Rochebrune, 1894; Rochebrune, 1895; Robson, 1929; Hanlon y Forsythe, 1985; DeRusha *et al.*, 1987; Warr, 1987; Voigth, 1987, 1990; Roper *et al.*, 1995; Stoskopf y Oppenheim, 2006).

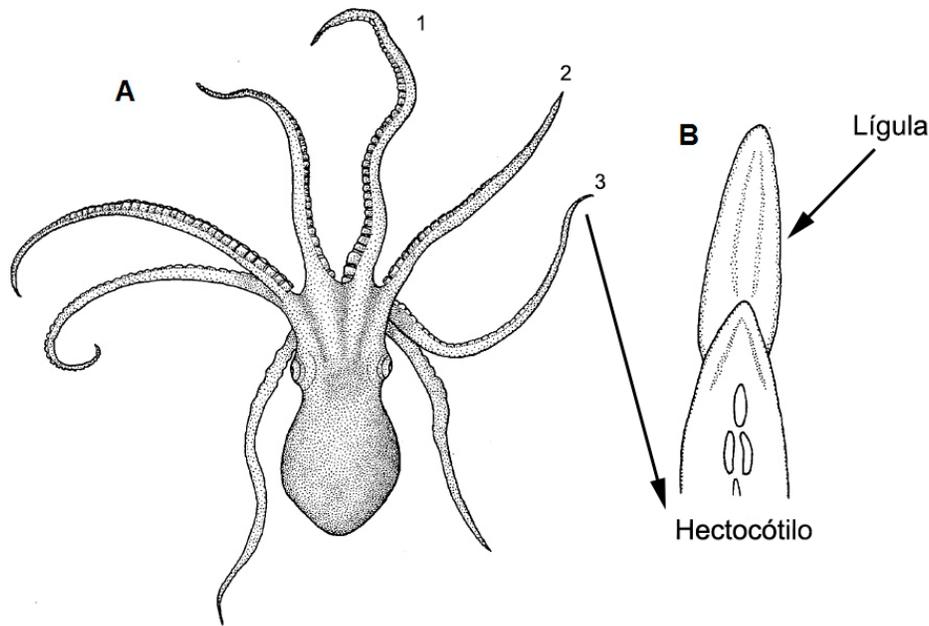


Figura 3. *Paroctopus digueti*. A) Vista dorsal con brazos identificados y localización del tercer brazo hectocotilizado en machos; B) Detalle del brazo Hectocótilo. Imagen modificada de Roper *et al.*, (1995).

P. digueti se distribuye en México, dentro del Golfo de California y costa adyacente del Pacífico hasta la mitad de la costa oeste de la Península de Baja California. Vive en áreas areno-fangosas de poca profundidad y típicamente se encuentra en áreas de agua estancada tal como canales de arena con acumulación de conchas vacías (Perrier y Rochebrune, 1894; Hanlon y Forsythe, 1985; DeRusha *et al.*, 1987; Warr, 1987; Voigth, 1987, 1990; Roper *et al.*, 1995).

Se han realizado estudios de campo y laboratorio sobre su biología y comportamiento. El crecimiento, la reproducción y la duración de vida han sido estudiados en condiciones de laboratorio debido a que presenta la facilidad de criarse, ya que es una especie pequeña con huevos grandes y se adapta fácilmente a las condiciones de cautiverio (DeRusha *et al.*, 1987). El desove a una temperatura de 25°C es de 50 a 150 huevos, el desarrollo embrionario dura aproximadamente de 35 a 42 días y el ciclo de vida se completa en 125 a 240 días, con un promedio aproximado de 7 meses. Su dieta consiste de camarones, cangrejos, pequeños moluscos y peces (Perrier y Rocheburne, 1984; Rochebrune, 1895; Robson, 1929; Hanlon y Forsythe,

1985; DeRusha *et al.*, 1987; Warr, 1987; Voight, 1990; Roper *et al.*, 1995; Sánchez, 2003; Stoskopf y Oppenheim, 2006).

El pulpo como recurso tiene una gran importancia pesquera a nivel mundial debido a que es un producto culinario altamente apreciado, lo cual ha llevado al aumento de su pesquería en las últimas décadas (CONAPESCA, 2013). Esto ha motivado que en algunos países se esté desarrollado la técnica para el cultivo de algunas especies, principalmente *O. vulgaris* en España (Iglesias *et al.*, 1999; Moxica *et al.*, 2002; Oltra *et al.*, 2005; Socorro *et al.*, 2005; Rey-Mendéz, 2015), *O. mimus* en Perú (Baltazar *et al.*, 2000, Iglesias *et al.*, 2014), y *O. minor* en China (Iglesia *et al.*, 2014). La producción de pulpo en México ocupa el quinto lugar a nivel nacional por su valor comercial, superada por camarón, atún, mojarra y sardina. En las exportaciones se encuentra en el segundo lugar de las especies pesqueras, siendo Italia y España sus principales destinos (Martínez y Martínez, 2014). Actualmente en el Caribe mexicano, se está desarrollando el cultivo de *Octopus maya*, donde se han logrado avances importantes en la técnica de cultivo, especialmente el éxito en el acondicionamiento de los reproductores para la copula, el desove, el desarrollo de los huevos sin la hembra y finalmente la obtención de juveniles hasta llegar a su comercialización (Rosas, 2005, Iglesias *et al.*, 2014; Narváez, 2015).

En el Pacífico mexicano se distribuyen seis especies de importancia comercial y algunas otras especies que no son atractivas como recurso pesquero, ya sea por su escasa abundancia o por su talla pequeña (CONAPESCA, 2013). Sin embargo, en otros países se ha tenido éxito en la comercialización de pulpos de tallas pequeñas al ser ofrecidos como platillos gourmet, como es el caso del pulpo *Octopus minor* en China, donde se cultiva y se comercializa (Iglesia *et al.*, 2014).

Hasta la fecha hay poca información publicada sobre la biología y la historia de vida de *P. digueti* y no existen estudios que describan en detalle el desarrollo embrionario y su fecundidad. Esta información además de ser una gran contribución al conocimiento biológico de la especie, permitirá obtener una mejor evaluación del potencial de cultivo de la misma.

III. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo embrionario de los cefalópodos es considerado único entre los moluscos, sin embargo, su conocimiento es limitado y provoca una dificultad para la identificación de los huevos y juveniles en estudios de distribución y dispersión, lo cual frena el avance en los campos de investigación de estos moluscos. En especies con importancia comercial, el conocimiento de las historias de vida es necesario para proponer estrategias de manejo sostenible de sus poblaciones (Sweeney *et al.*, 1992).

Las historias de vida de la mayoría de los pulpos aún son desconocidas. Sin embargo, las descripciones de huevos y juveniles que se tienen hasta el momento han demostrado que el número y patrón de cromatóforos en la piel sobre los brazos, sifón, ojos, cabeza y manto durante la ontogenia son útiles para diferenciar entre especies, del mismo modo que el número y tamaño de ventosas después del nacimiento (Young *et al.*, 1989).

Los estudios acerca de la biología e historia de vida del pulpo pigmeo del Pacífico *Paroctopus digueti* son escasos. En la actualidad no hay información detallada disponible acerca de su desarrollo embrionario o estimación de la fecundidad. *P. digueti* al ser un pulpo de talla pequeña y con un desarrollo directo es factible para su acondicionamiento en cautiverio y ser criado en condiciones de laboratorio (DeRusha *et al.*, 1987).

Este trabajo proporciona información potencialmente útil sobre el desarrollo embrionario y características morfológicas de los huevos y las crías de *Paroctopus digueti*. Conocimiento de las etapas de vida temprana que nos permitirá tener una mejor comprensión de su ciclo de vida y ecología. Adicionalmente este conocimiento ayudará a documentar el comportamiento reproductivo en cautiverio y el tiempo de desarrollo embrionario. Por su parte, la estimación de la fecundidad es importante debido a que es un parámetro de gran interés en los estudios de equilibrio de poblaciones y representa un aspecto básico en el conocimiento de la estrategia reproductiva, constituyendo un elemento esencial en los estudios sobre el potencial reproductivo de las especies y sobre dinámica de poblaciones.

IV. OBJETIVO GENERAL

Describir el desarrollo embrionario y estimar la fecundidad del pulpo *Paroctopus digueti*.

4.1 Objetivos particulares

- Describir el patrón de desove y cuidado parental.
- Estimar la duración del desarrollo embrionario hasta el nacimiento.
- Clasificar y describir los estadios del desarrollo embrionario.
- Estimar la fecundidad real de la especie.

V. METODOLOGÍA

Los ejemplares se capturaron en la Laguna de La Paz durante marea baja. Las hembras con puesta (huevos) se encontraron dentro de conchas de bivalvos vacías (principalmente *Anadara multcostata* y *Megapitaria squalida*). Los ejemplares se trasladaron en cubetas con agua hasta las instalaciones del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN) en La Paz, Baja California Sur, México.

Condiciones de mantenimiento

En el Laboratorio de Biología Experimental las hembras con puesta fueron colocadas individualmente en jaulas artificiales construidas con PVC y malla sombra de 30cm x 20cm x 20cm dentro de un tanque de 320 L de capacidad, acondicionado con aireación constante y un flujo de agua de mar filtrada por medio de un sistema de recirculación mediante filtros mecánico, biológico y lámpara UV. La temperatura se mantuvo a 27 ± 1 °C controlada con calentadores automáticos. Se realizó un monitoreo de la temperatura cada hora mediante sensores Pendant-temp HOBO®. Se les proporcionó alimento vivo de almejas (*Chione Californiensis*).

5.1 Patrón de desove y cuidado parental

Las hembras fueron monitoreadas diariamente. Una vez aclimatadas en el sistema se abrió la concha refugio cuidadosamente para llevar a cabo la observación del patrón de desove (semélparo o iteróparo), el grado de desarrollo de los embriones y la extracción de los diferentes estadios de desarrollo embrionario encontrados. Al mismo tiempo se realizaron anotaciones sobre el comportamiento de la hembra durante el cuidado del desarrollo de los huevos y especialmente durante la manipulación al momento en que se realizaba la apertura de la concha y la extracción de embriones.

5.2 Desarrollo embrionario

5.2.1 Tiempo de desarrollo

Se determinó el tiempo de desarrollo embrionario con hembras que se encontraron con ninguno o con pocos huevos en las conchas de bivalvos al momento del acondicionamiento. Cada hembra se monitoreó solamente durante los primeros días para evitar el estrés y conseguir el desove. El tiempo de desarrollo embrionario se estimó como el tiempo transcurrido desde el inicio del desove hasta el nacimiento.

5.2.2 Descripción de estadios de desarrollo embrionario

Los huevos muestreados se fijaron en formaldehído al 5% para su preservación y su posterior análisis de estadios ontogénicos. La clasificación y descripción de los estadios del desarrollo embrionario de la especie, se realizó mediante la observación del grado de desarrollo de cada una de las puestas de acuerdo al sistema de clasificación propuesto por Naef (1928) para *O. vulgaris*, considerando el desarrollo del manto, ojos, brazos, sifón y patrón de cromatóforos. Sin embargo, esta clasificación fue modificada de acuerdo a las observaciones particulares de la especie. Una vez determinados los estadios de los embriones de *P. digueti*, estos fueron fotografiados con la ayuda de un estereoscopio y a partir de las imágenes digitalizadas se registró mediante el software LAS de Leica (Leica Application Suite) la longitud del manto (comprendida desde el extremo distal del manto hasta la altura media de los ojos) y la longitud total del huevo.

Para la determinación del patrón de cromatóforos se utilizó la orientación descrita por Sweeney *et al.* (1992) (Fig. 4).

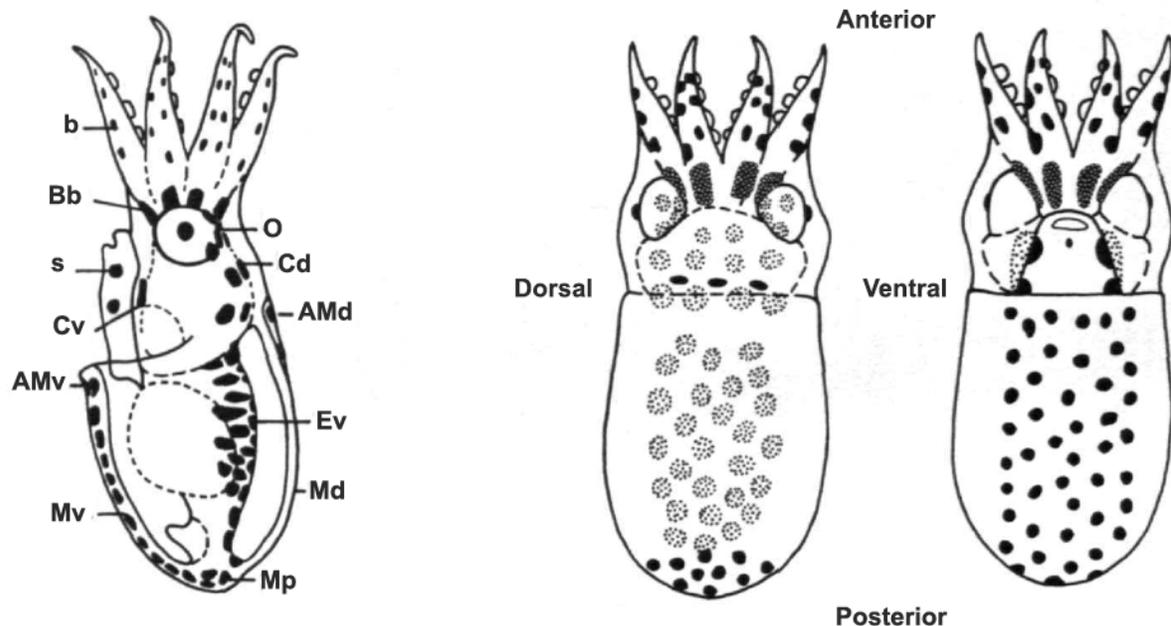


Figura 4. Orientación y terminología de los patrones específicos de cromatóforos. Abreviaturas: AMd: Anterior del manto dorsal; AMv, Anterior del manto ventral; b, Brazos; Bb: Base de los brazos; Cd; Cabeza dorsal; Cv: Cabeza ventral; Ev: Epitelio visceral; Md: Manto dorsal; Mv: Manto ventral; Mp: Manto posterior; O: Ojo. Tomado de Sweeney *et al.* (1992)

5.3. Consumo de vitelo

Para cuantificar el consumo de vitelo, a partir de las imágenes digitalizadas de los embriones y mediante el software LAS de Leica (Leica Application Suite) se midió la longitud del saco vitelino en cada uno de los estadios de desarrollo embrionario, su disminución en relación a la longitud del manto es indicativo de consumo.

5.4 Fecundidad

Para determinar la fecundidad real (número de huevos puestos por la hembra durante toda su vida), se contabilizó el número de huevecillos puestos por cada hembra dentro de la concha. Al número de huevos nacidos se le agregó el número de huevos extraídos anteriormente para el análisis ontogénico.

VI. RESULTADOS

6.1 Patrón de desove y cuidado parental

Se observó que el patrón de desove de *Paroctopus digueti* es monocíclico. La hembra coloca los huevos de manera individual o en pares, la puesta ocurre en parches separados temporalmente durante el período de desove, colocados dentro de una concha. A consecuencia de este desfase, el desarrollo embrionario presente en *P. digueti* es asincrónico con diferentes grados de desarrollo en una misma puesta (Fig. 5). Se encontraron embriones con diferentes tallas, presencia o ausencia de cromatóforos y desarrollo inicial o completo de los ojos. La hembra muere tras el nacimiento de todos los huevos.



Figura 5. Desarrollo embrionario asincrónico de *Paroctopus digueti*. Se encuentran embriones con marcadas diferencias de desarrollo embrionario, con presencia o no de cromatóforos, con mayor tamaño y desarrollo inicial o completo de los ojos.

P. digueti presenta huevos de talla grande, con un intervalo de longitud total de 7 a 10 mm. El corión tiene forma de pera, presenta un pedúnculo corionico alargado con el extremo libre agrandado el cual es pegado a la concha, ya sea en forma individual o en pares (Fig. 6A). El vitelo es visible a través de la capsula del corión (Fig. 6B).

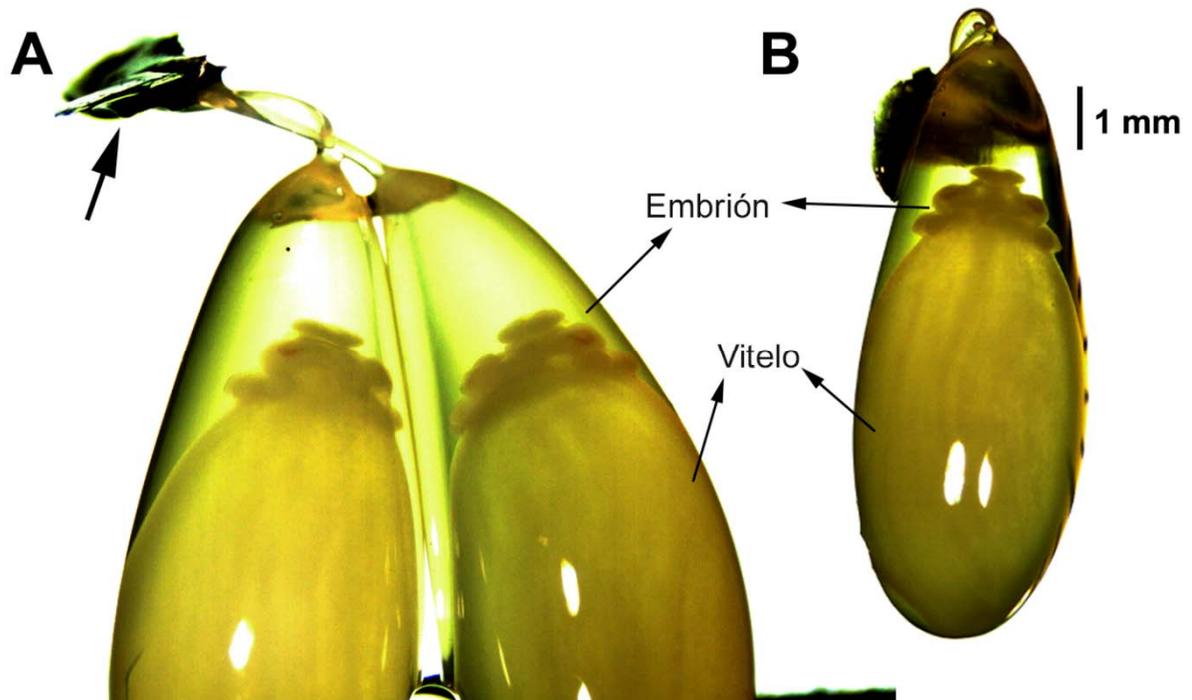


Figura 6. Huevos de *Paroctopus digueti*. A) Pedúnculos unidos con la parte libre agrandada (flecha). B) Vista completa del huevo.

Una vez comenzado el desove, las hembras dejan de alimentarse y se mantienen ocultas dentro de la concha, cuidando a los huevos hasta el día del nacimiento (Fig. 7A). Solo una de las hembras se alimentó de almejas vivas (*Chione californiensis*) por dos días, después del desove.

Durante la obtención de los huevos, se observaron comportamientos de protección en cada una de las hembras. El primero y más frecuente consistió en sujetar con fuerza mediante las ventosas las dos valvas de la concha para evitar ser abierta (Fig. 7B).

Una vez que la concha fue abierta, la hembra colocaba sus brazos en las orillas de las dos valvas sosteniéndose fuertemente con las ventosas y desplegando lo más posible la umbrela de los brazos con el fin de cubrir toda la puesta (Fig. 7C). Otro comportamiento consistió en la expulsión de agua a presión por medio del sifón en repetidas ocasiones, en el intento de ahuyentar al intruso. A lo largo del desarrollo embrionario se observó que algunas hembras retiraron embriones de la puesta. Finalmente el comportamiento en una de las hembras fue la ingesta de todos sus embriones (Fig. 7D).

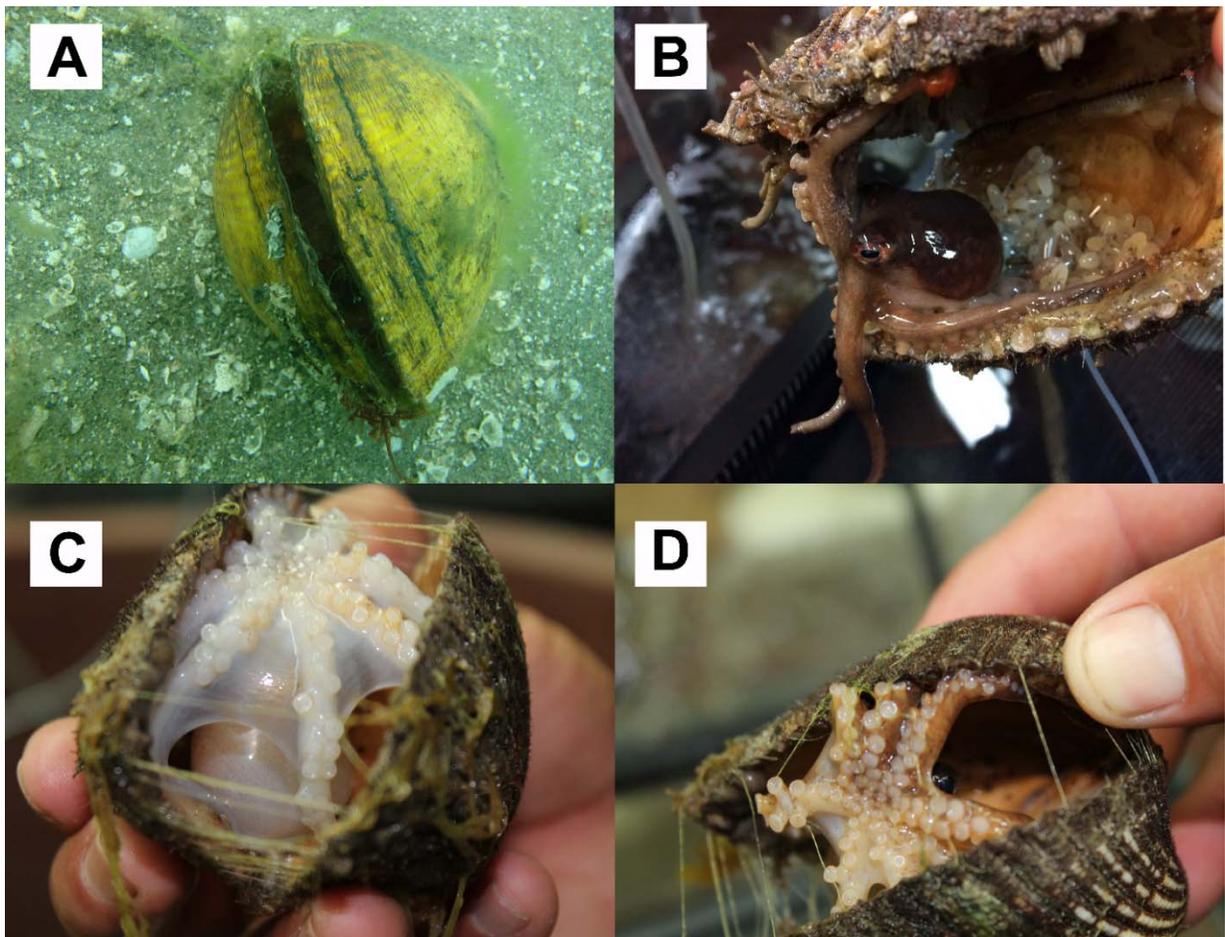


Figura 7. Cuidado parental de *P. digueti*. A) Protección dentro de la concha hasta el día de nacimiento; B) Agarre de las valvas con las ventosas; C) Expansión de la umbrela y D) Ingestión de toda la puesta.

6.2 Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario de *P. digueti* duró 38 días, abarcando desde el inicio del desove, hasta el nacimiento de los juveniles a una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$. El resultado del análisis de las características morfológicas de desarrollo embrionario de *P. digueti* (desarrollo del manto, ojos, brazos, sifón, patrón de cromatóforos y consumo de vitelo) mostró 31 estadios distintivos (30 estadios de desarrollo y un estadio de nacimiento) (Fig. 8), los tres primeros estadios (I-III) corresponden a los procesos de blastulación y gastrulación, los restantes (IV-XXX) abarcan el proceso de organogénesis.

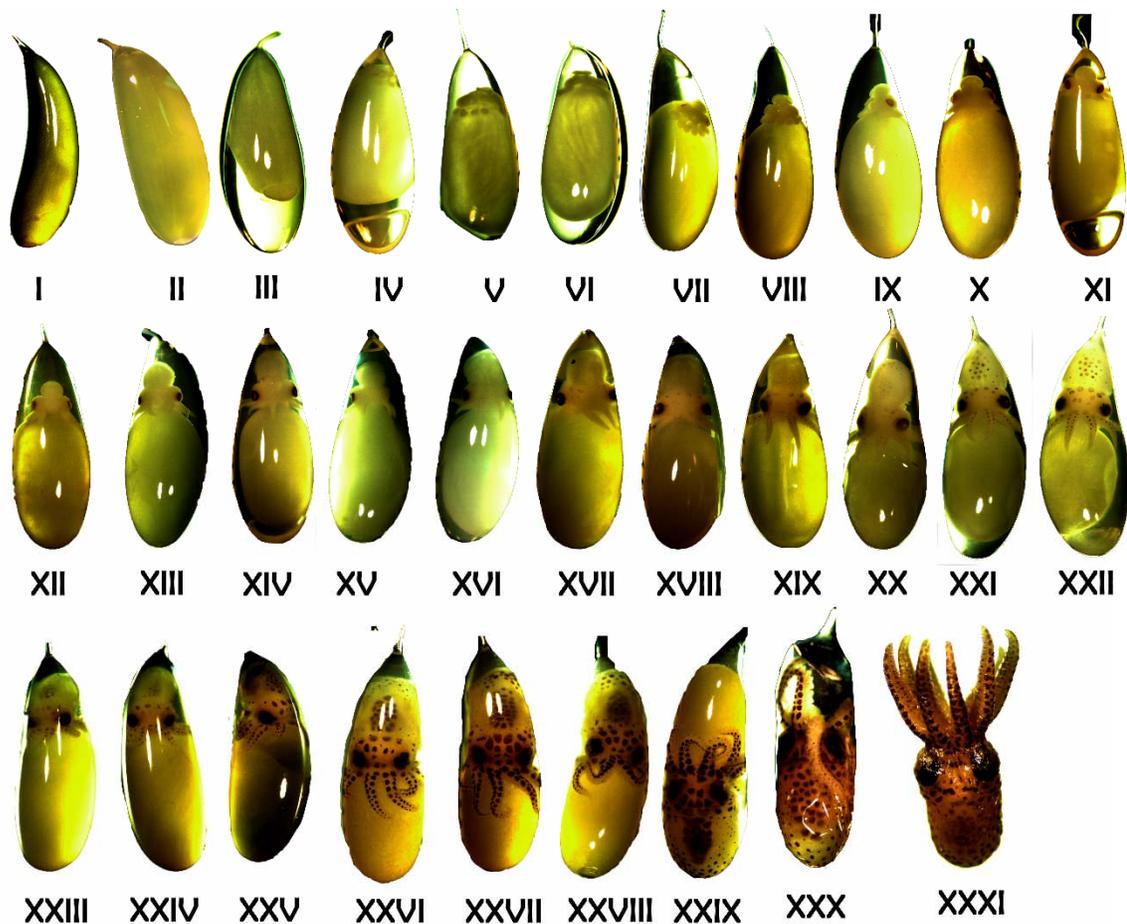


Figura 8. Clasificación de los estadios de desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*.

Dentro de los primeros estadios tiene comienzo la blastulación con la formación del blastodisco (estadio II, Fig. 9A) seguido por la división celular, hasta llegar a conformar un blastodermo. Una vez formado el blastodermo se da inicio al proceso de gastrulación (estadio III, Fig. 9B), expandiéndose el blastodermo hasta cubrir completamente el resto del huevo. El huevo presenta una longitud promedio de 8.34 mm y un ancho de 2.38 mm.

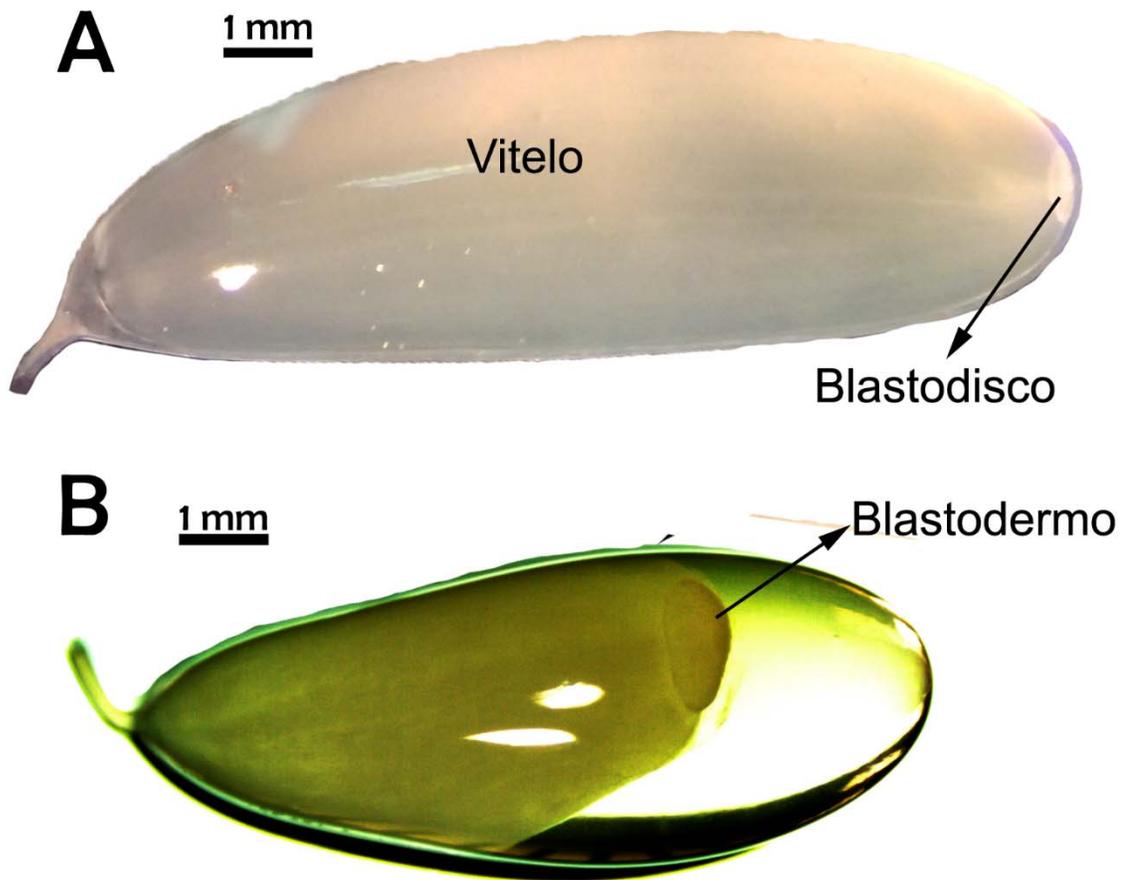


Figura 9. Estadios II y III del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Formación del blastodisco en el polo animal (estadio II); B) Inicio del proceso de gastrulación con el blastodermo expandiéndose hasta cubrir el resto del huevo (estadio III).

La primera inversión se lleva a cabo entre los estadios III al IV, cuando el embrión migra del polo animal al polo vegetal (Fig.10 A, B), en donde se llevará a cabo la mayor parte del desarrollo embrionario.

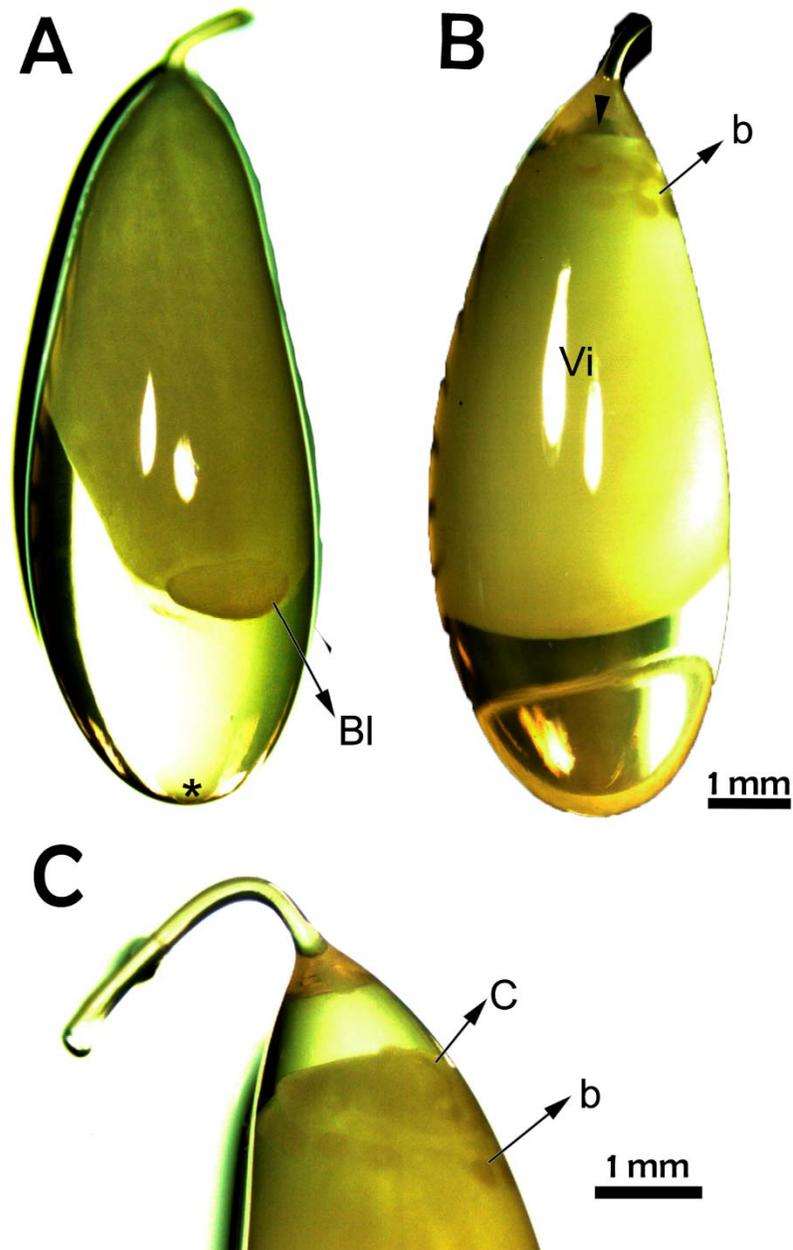


Figura 10. Estadios III y IV del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Estadio III; B) Estadio IV, primera inversión del embrión migrando del polo animal (asterisco) al polo vegetal (cabeza de flecha); C) Estadio IV, con esbozos de manto, cabeza y brazos. Abreviaturas: b: brazos; BI: blastodermo; C, cabeza; Vi: vitelo.

La organogénesis tiene comienzo en el estadio IV (Fig. 10B), cuando el saco vitelino cubre el 78% de la longitud del huevo y el embrión es ligeramente visible, empiezan a formarse los primeros esbozos de la cabeza, manto y brazos. A partir de este momento se logra observar un incremento progresivo de la longitud del huevo y del manto del embrión (Fig. 10C). En este estadio la longitud y ancho promedio del huevo son 9.2 mm y 3.54 mm respectivamente.

Entre los estadios V al VIII se logra observar un desarrollo gradual de la cabeza y el manto. Los esbozos de los ocho brazos se observan unidos en pares y con una forma redonda (Fig. 11A). En la figura 11B se observa la diferenciación del manto en forma de hongo con una longitud promedio de 0.20 mm, por debajo de esta se observa el resto de cuerpo alargado.

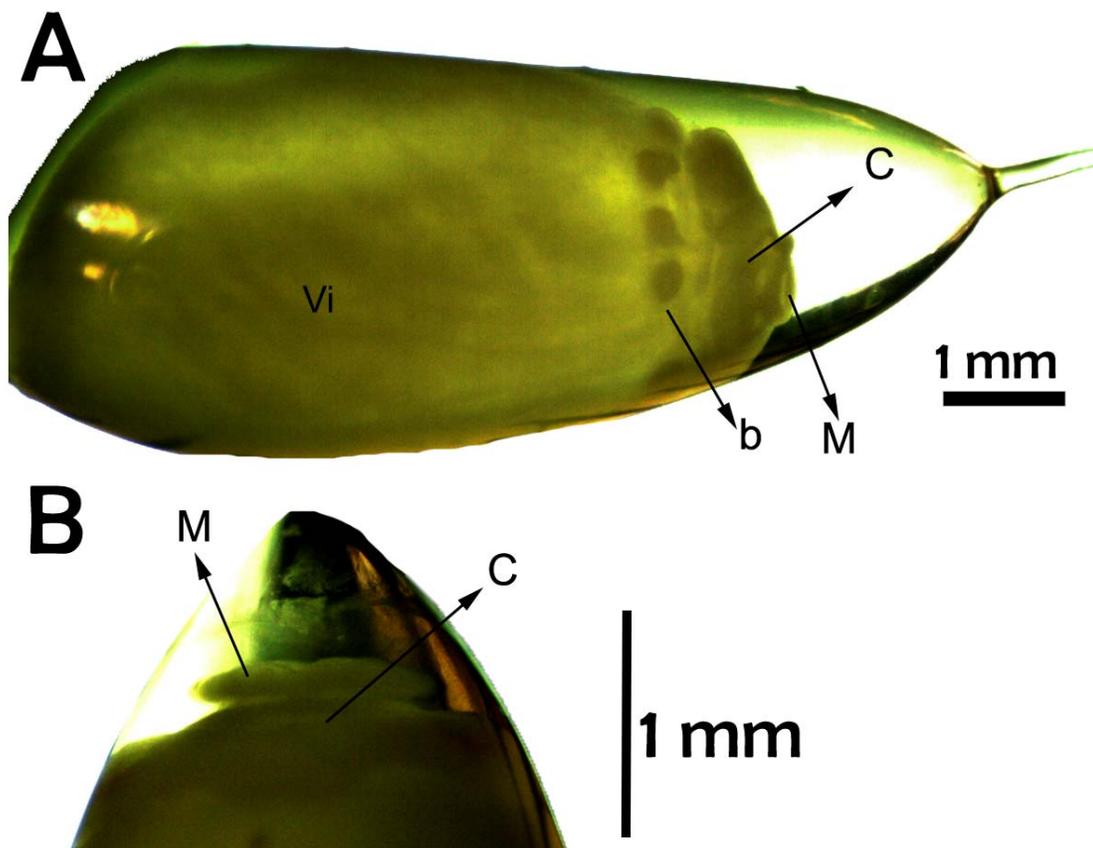


Figura 11. Estadio V de desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Diferenciación de los brazos y manto; B) Esbozo de la cabeza. Abreviaturas: b: brazo; C: cabeza; M: manto; Vi: Vitelo.

En el estadio VI los brazos se observan alargados casi ovoides. Los primordios oculares comienzan a ser visibles y se observan de una coloración que va de marrón a rojiza muy tenue (Fig. 12). Para una descripción más detallada del desarrollo del ojo ver Anexo I.

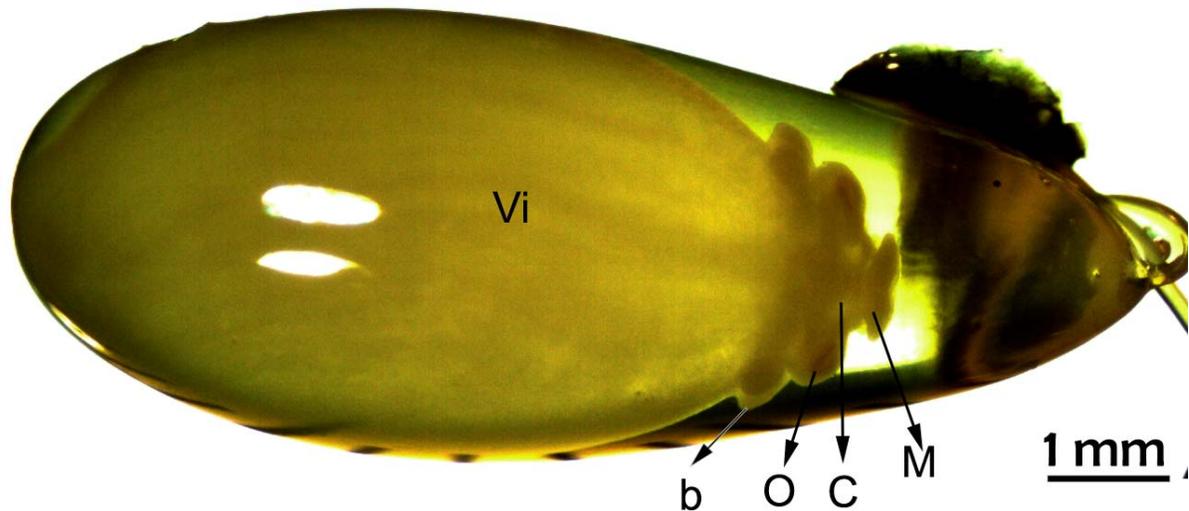


Figura 12. Estadio VI del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*, Abreviaturas: b: brazo; C: cabeza; O: ojo; M: manto; Vi: vitelo.

En los estadios VII y VIII el manto comienza el recubrimiento del tejido visceral desarrollándose hacia la parte ventral con una longitud promedio de 0.710 mm (Fig. 13A). El manto se observa como un tejido transparente cubriendo el borde de la masa visceral conforme esta va creciendo (Fig. 13B). El saco vitelino presenta un consumo del 65%, los ojos se observan más grandes y con una coloración naranja más notoria (Fig. 13C).

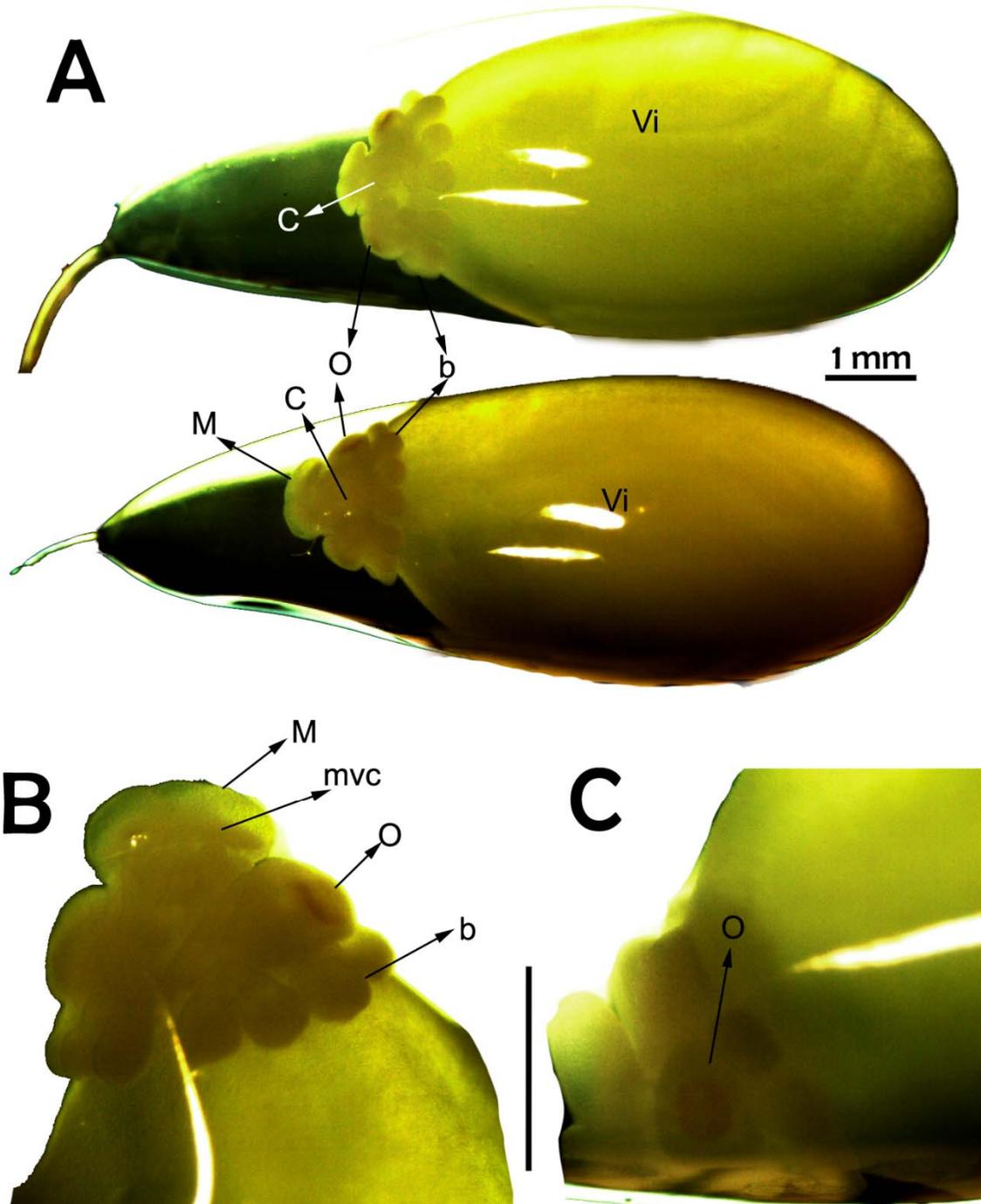


Figura 13. Estadios VII y XVIII del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Estadios VII y VIII, revestimiento de la cabeza por el manto; B) Estadio VIII, brazos en crecimiento; C) Estadio VIII, ojos grandes color marrón. Abreviaturas: b: brazo; C: cabeza; M: manto; mvc: masa visceral; O: ojo; S: sifón; Vi: vitelo.

En el estadio IX comienza a ser más visible la boca del embrión, con una forma de tubo poco alargada posicionada en la parte media de los ojos, la cual irá migrando hacia la parte ventral conforme avance el desarrollo. Por otro lado, los brazos se observan organizados en pares con forma de corazón alargados. Los ojos se observan grandes con una coloración naranja (Fig. 14). El desarrollo de los órganos es poco visible, sin embargo, se observa una agregación de células en proliferación en la parte central del manto.

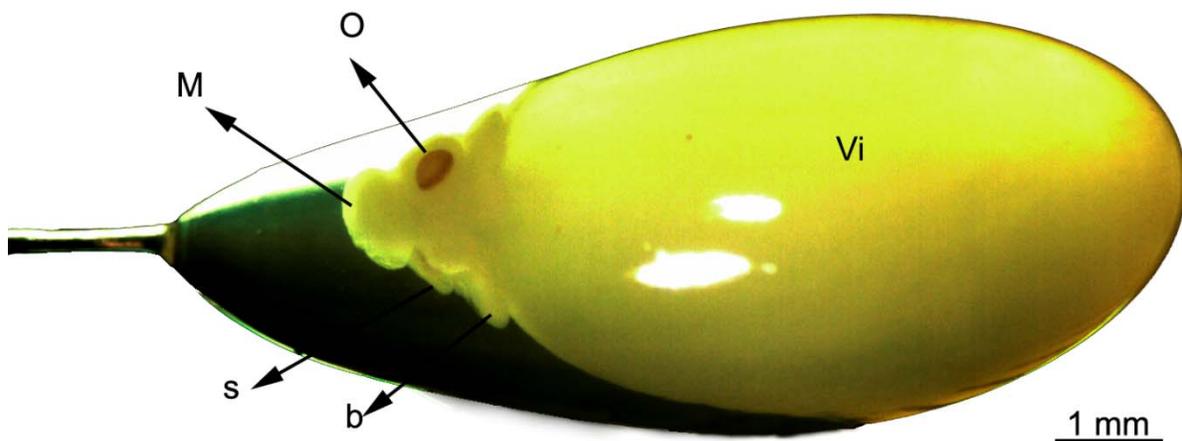


Figura 14. Estadio IX del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. Abreviaturas: b: brazos; M: manto; O: ojo; s: sifón; Vi: vitelo.

En el estadio X la boca se observa en la parte media de los ojos (Fig. 15A) se hace evidente la aparición de las ventosas que van de tres a cuatro ventosas por brazo en dos hileras, las cuales irán creciendo y desarrollándose en conjunto con los brazos durante todo el desarrollo embrionario. En este estadio el manto presenta una longitud de 0.9 mm (Fig. 15B). Los ojos se observan un poco más grandes de color naranja y el sifón se observa en desarrollo (Fig. 15C).

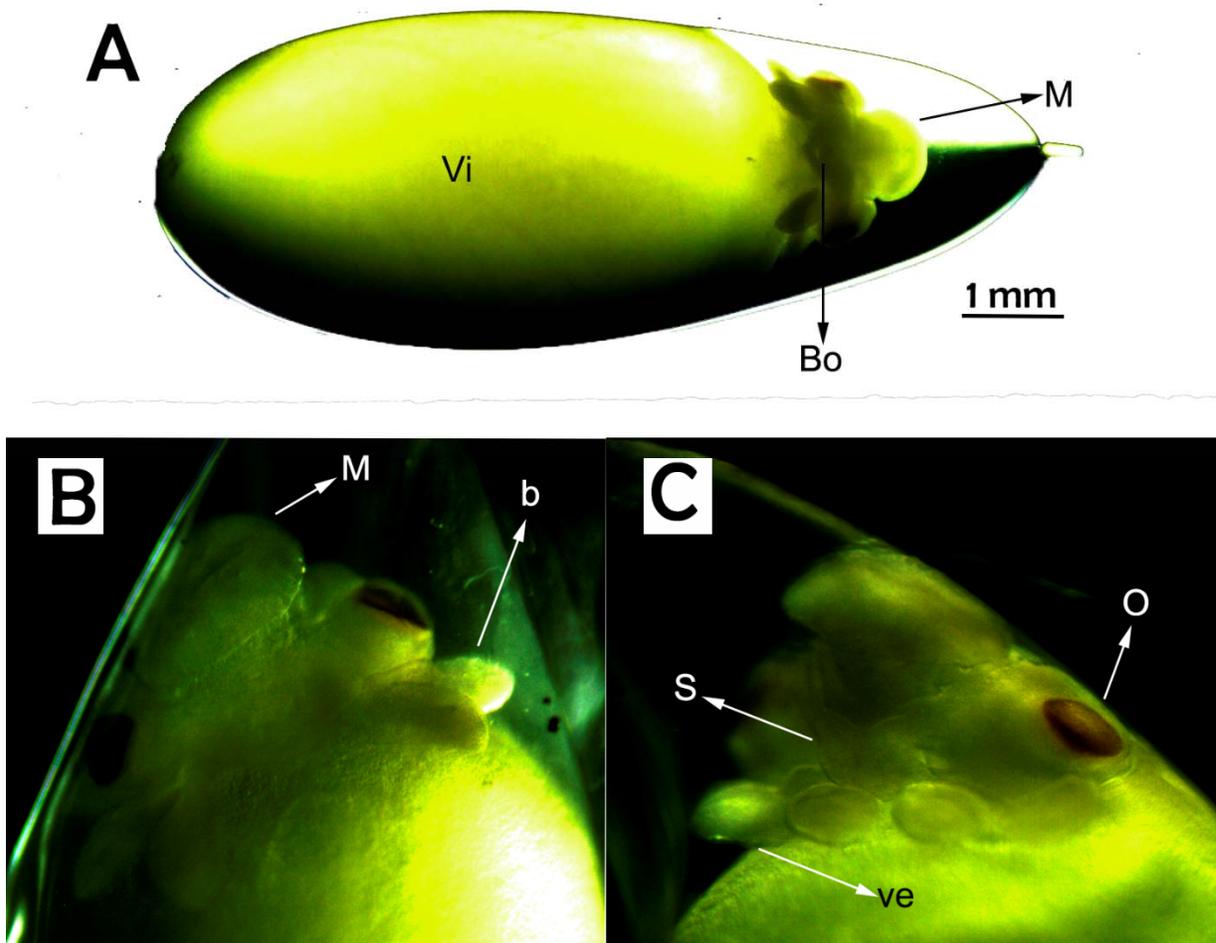


Figura 15. Estadio X del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Diferenciación de la boca; B) Crecimiento de manto, brazos y ventosas; C) Sifón en desarrollo, ojos grandes color marrón. Abreviaturas: b: brazo; Bo: boca; M: manto; O: ojo; S: sifón; ve: ventosas; Vi: vitelo.

En los estadios XI y XII el manto presenta un desarrollo del 50% con una longitud de manto de 1.22 mm (Fig. 16A). La boca se observa en una posición ventral por debajo de los ojos (Fig. 16B). Los ojos presentan una coloración rojiza y en el centro del ojo se observa el esbozo del cristalino con una coloración beige claro. El desarrollo del sifón comienza a ser más notorio y los brazos se observan de manera individual y con forma definida (Fig. 16C). La longitud y ancho promedio del huevo es de 8.029 mm y 3.30 mm respectivamente, el saco vitelino cubre un 61%.

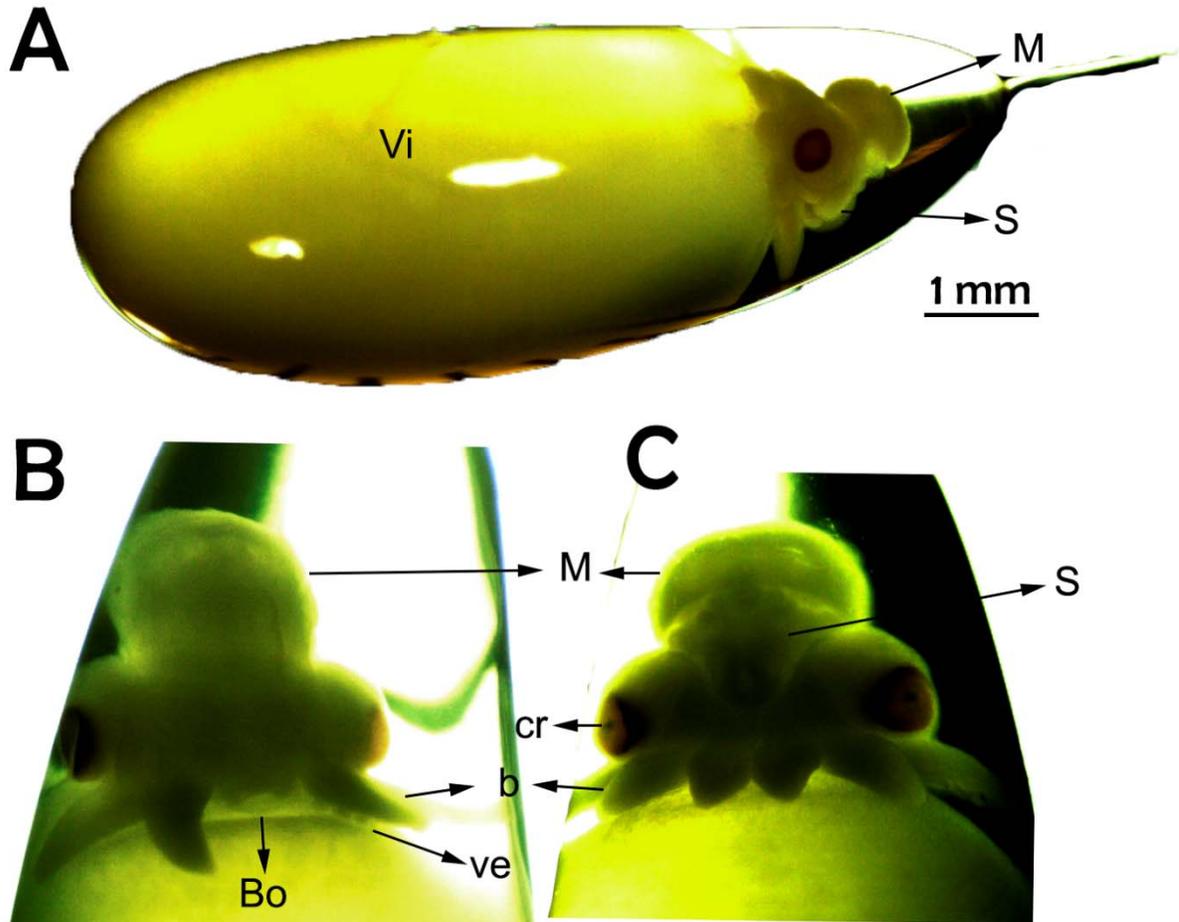


Figura 16. Estadios XI y XII del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Estadio XI, manto en desarrollo, B) Estadio XII, boca por debajo de los ojos migrando a la parte ventral del embrión, C) Sifón en desarrollo, brazos y ventosas en crecimiento. Abreviaturas: b: brazo; Bo: boca; cr: cristalino; M: manto; O: ojo; S: sifón; ve: ventosas; Vi: vitelo.

En los estadios XIII al XV la boca alcanza su posición ventral, siendo el punto de convergencia de los brazos (Fig. 17). El desarrollo del manto continúa cubriendo la masa visceral en un 80% en el estadio XIII con una longitud de 1.4 mm (Fig. 17A) y un 90% en el estadio XIV (Fig. 17B), hasta terminar cubriéndola totalmente en el estadio XV alcanzando una longitud de 1.6 mm (Fig.17C). El desarrollo del sifón finaliza al ser

cubierto por el manto hasta la parte media. En el estadio XV el cristalino se encuentra visible y los brazos presentan de 4 a 5 pares de ventosas (Fig. 17C).

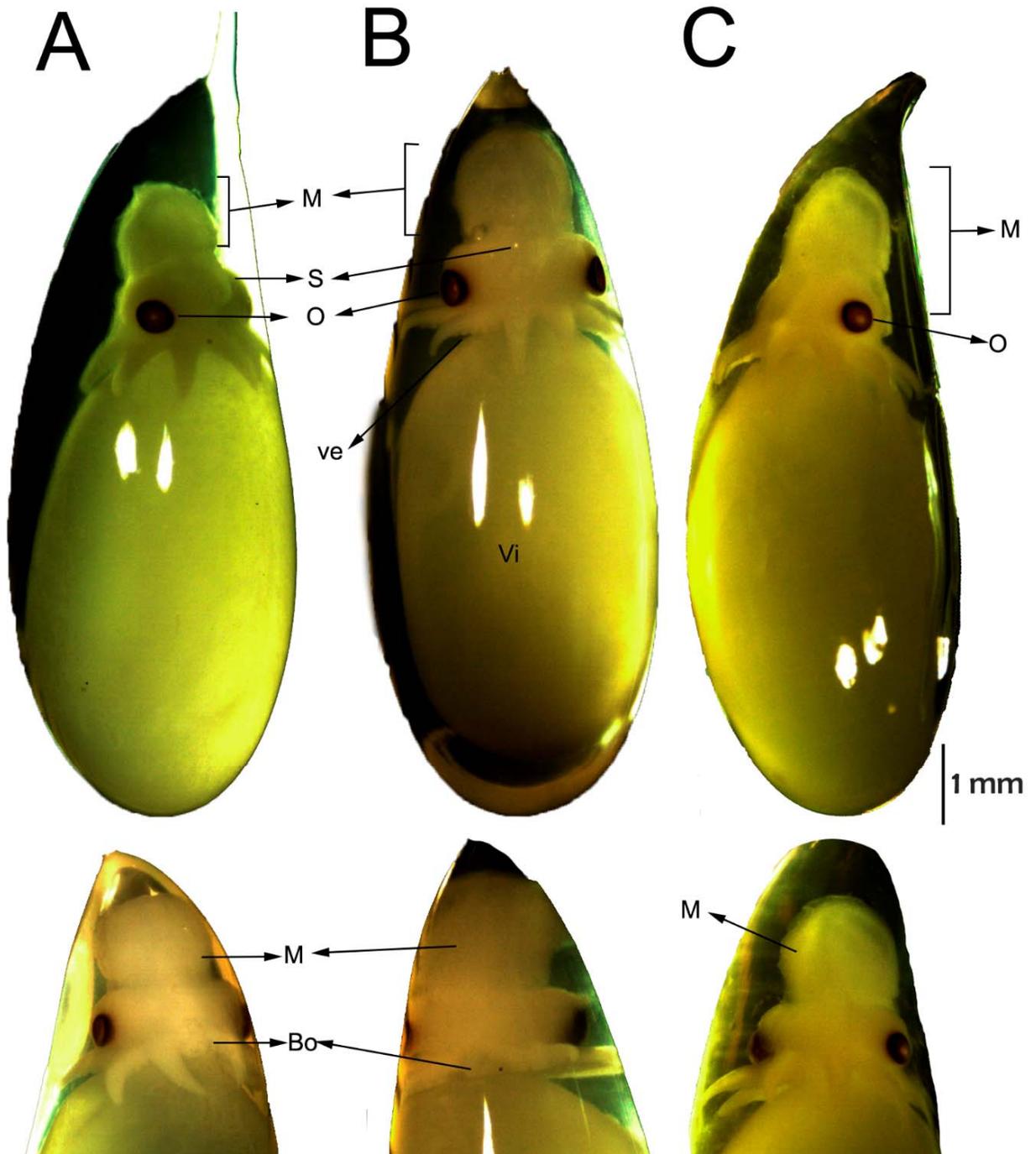


Figura 17. Estadio XIII al XV del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Estadio XIII; B) Estadio XIV; C) Estadio XV. Abreviaturas: Bo: boca; M: manto; O: ojo; S: sifón; ve: ventosas; Vi: Vitelo.

En el estadio XVI se observó movimiento y expulsión de agua por medio del sifón, lo que indica que el sifón se encuentra ya en funcionamiento. En este estadio inicia la aparición de los cromatóforos.

Los primeros cromatóforos en observarse durante el desarrollo embrionario son cafés y se ubican en la base de los brazos (Fig. 18A). En el estadio XVII los cromatóforos son poco visibles, en la cabeza de la parte dorsal se observan 2 cromatóforos color café/amarillo (Fig. 18B), en los brazos se observan dos hileras de 4 a 6 cromatóforos. Adicionalmente se observan las branquias, los tres corazones y muy poco visible las glándulas salivales. Los ojos se observan de un color rojo a marrón.

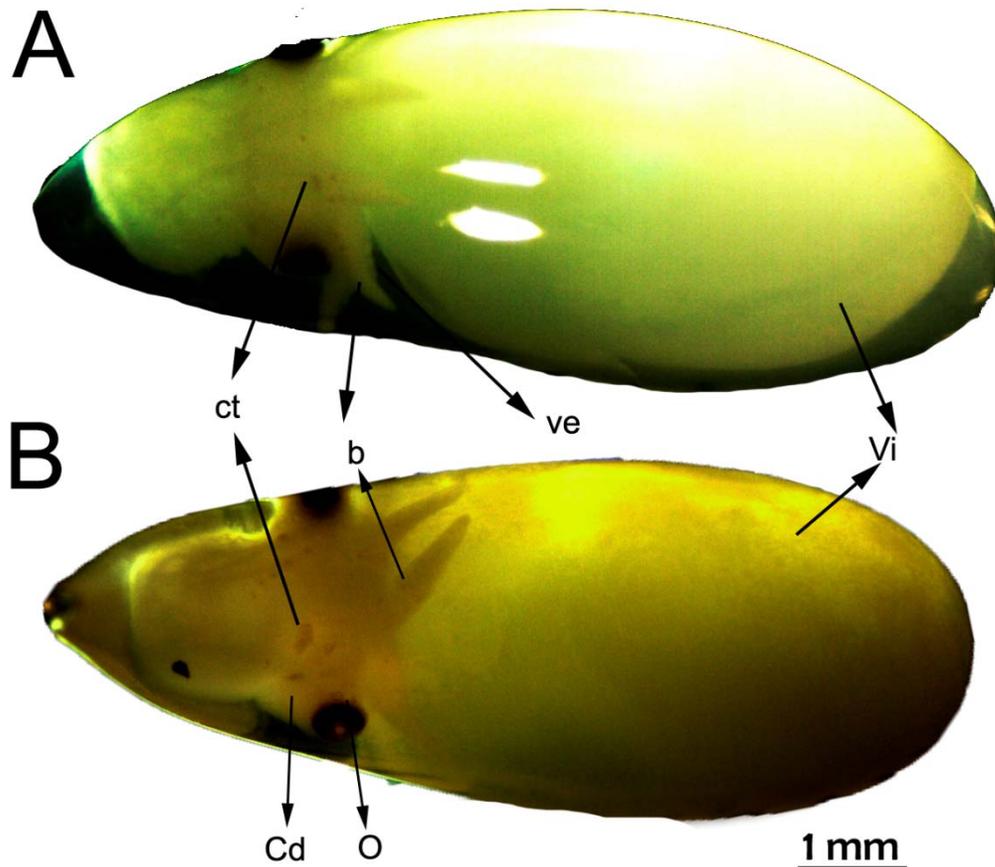


Figura 18. Estadios XVI XVII del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*, vista dorsal. A) Estadio XVI; B) Estadio XVII. Abreviaturas: b: brazo; Cd: Cabeza dorsal; ct: Cromatóforos; O: Ojo; ve: ventosas; Vi: vitelo.

En el estadio XVIII se observan en la cabeza de la parte dorsal 4 cromatóforos grandes. En el ojo se observan 2 cromatóforos pequeños. En la base de los brazos se observan 2 cromatóforos grandes y en los brazos dos hileras de 5 cromatóforos (Fig. 19). Los ojos se observan color marrón a café y el manto presento una longitud de 1.79 mm.

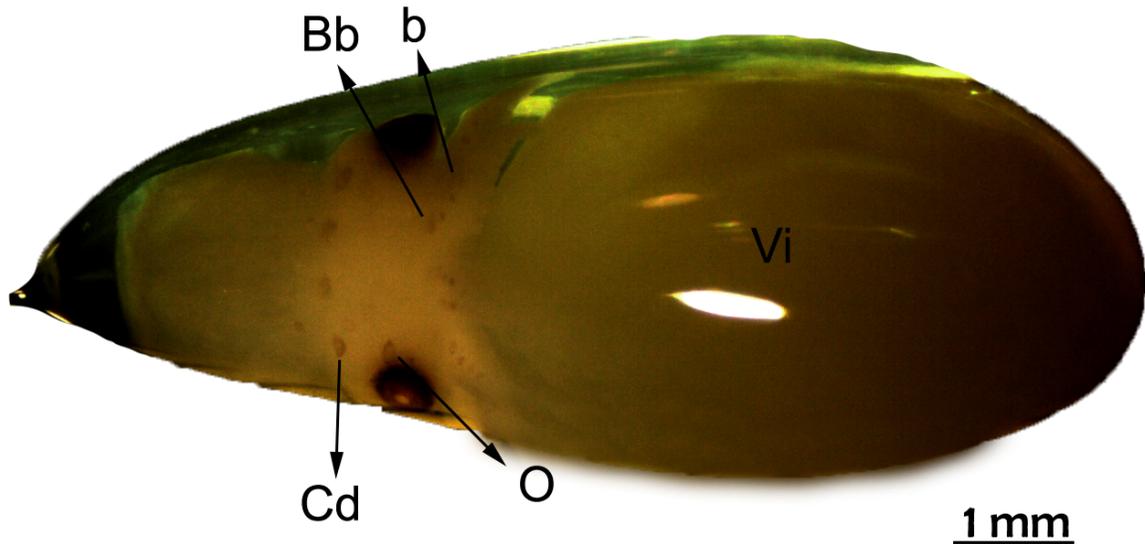


Figura 19. Estadio XVIII del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*, vista dorsal. Abreviaturas: Bb: base de los brazos; b: brazo; Cd: Cabeza dorsal; O, Ojo; Vi: Vitelo.

En el estadio XIX el margen anterior del manto ventral presenta 6 cromatóforos (Fig. 20A). Los cromatóforos del epitelio visceral comienzan a ser visibles con un total de 6 cromatóforos y en la parte posterior del manto se observan 6 pequeños cromatóforos. En el ojo se observan 2 cromatóforos, y en los brazos se observa el mismo número que en el estadio anterior (Fig. 20B). En este estadio la masa visceral se observa conformada por los tres corazones, las branquias, la glándula digestiva, saco de tinta, el sistema digestivo y las glándulas salivales en desarrollado y en funcionamiento a excepción del sistema reproductor que no fue posible verse. El manto mide una longitud promedio de 1.7 mm.

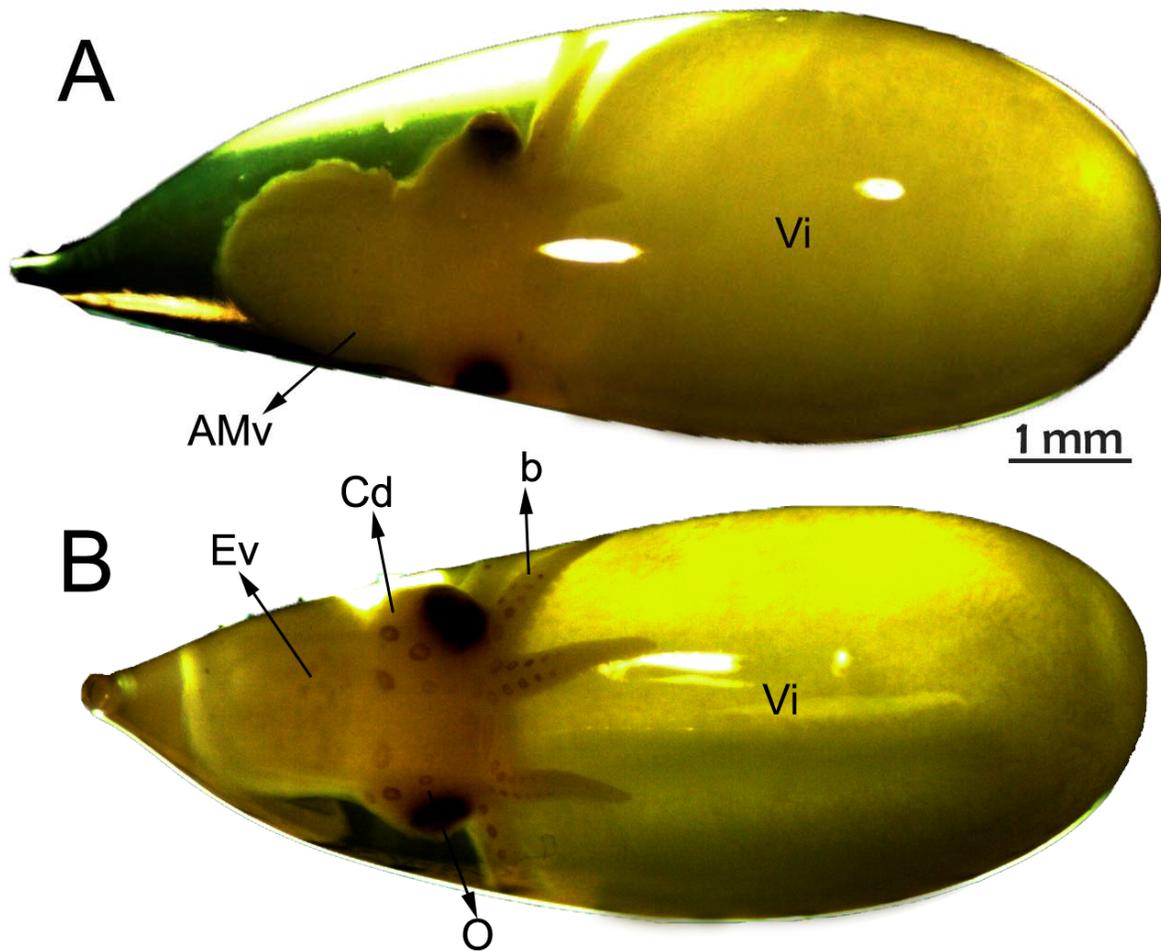


Figura 20. Estadío XIX del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista ventral; B) Vista dorsal. Abreviaturas: AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Cd: Cabeza dorsal; O, Ojo, Vi: Vitelo.

En el estadío XIX se observaron órganos internos completos en el embrión. A partir del estadío XX los embriones continúan solo con su crecimiento y con la digestión de sus reservas vitelinas externas, caracterizado por marcadas contracciones en la parte del manto del embrión y en el saco vitelino externo.

En el estadío XX se observan 10 cromatóforos en el epitelio visceral de color café y amarillo, en la cabeza de la parte dorsal se observan 6 cromatóforos amarillos y en los ojos se observan 2 cromatóforos en cada lado (Fig. 21A). En la base de los brazos se

observan 2 cromatóforos amarillos, en los brazos se observan dos hileras de 8 cromatóforos cada una y de 7 a 9 ventosas. En el margen anterior del manto ventral están presentes 10 cromatóforos amarillos poco visibles (Fig. 21B). Los ojos se observan de color café y el cristalino de color blanquecino es evidente.

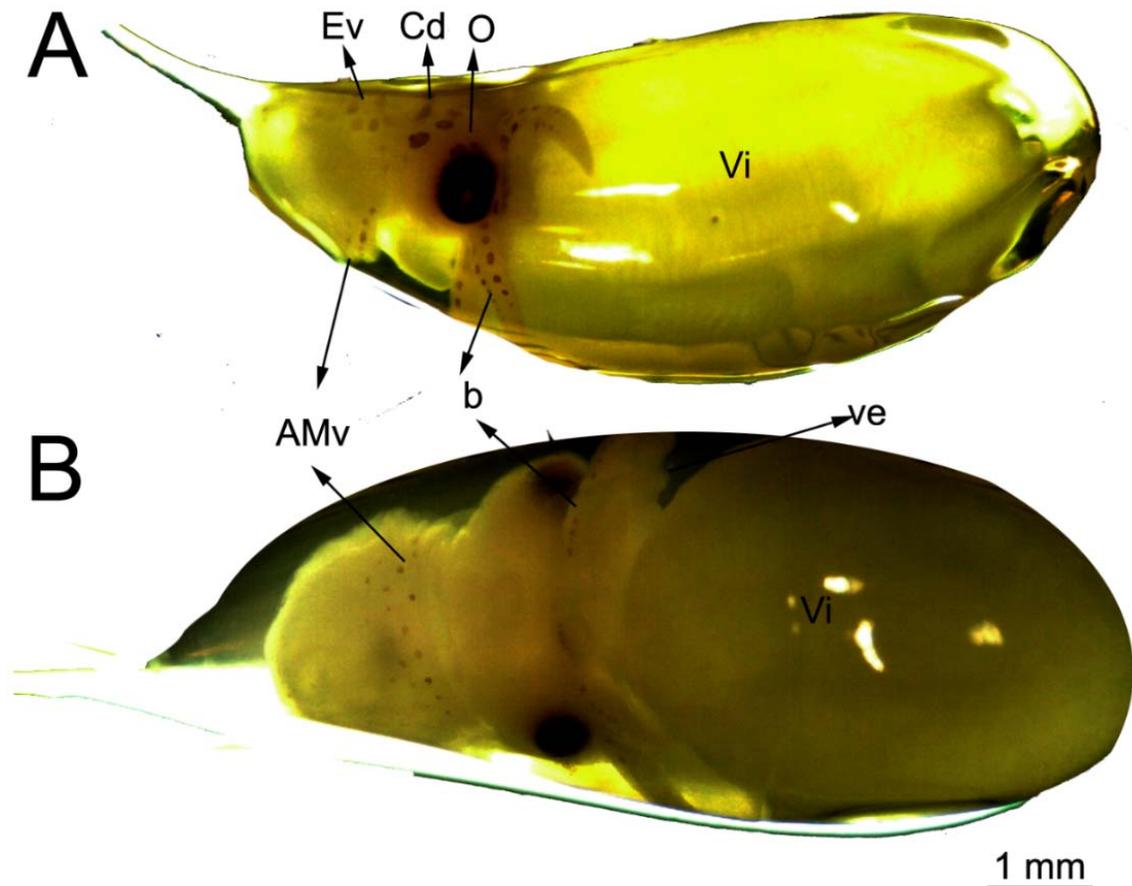


Figura 21. Estadio XX del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista lateral; B) Vista ventral. Abreviaturas: AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Cd: Cabeza dorsal; O, Ojo; ve: Ventosas; Vi: Vitelo.

En el estadio XXI los brazos presentan dos hileras de 10 cromatóforos, 6 cromatóforos en la cabeza de la parte dorsal, 3 cromatóforos en cada ojo y en el epitelio visceral se observan aproximadamente 10 cromatóforos poco visibles (Fig. 22A). En el margen anterior del manto ventral se observan de 10 a 12 cromatóforos (Fig. 22B). La longitud promedio del manto es de 2.07 mm.

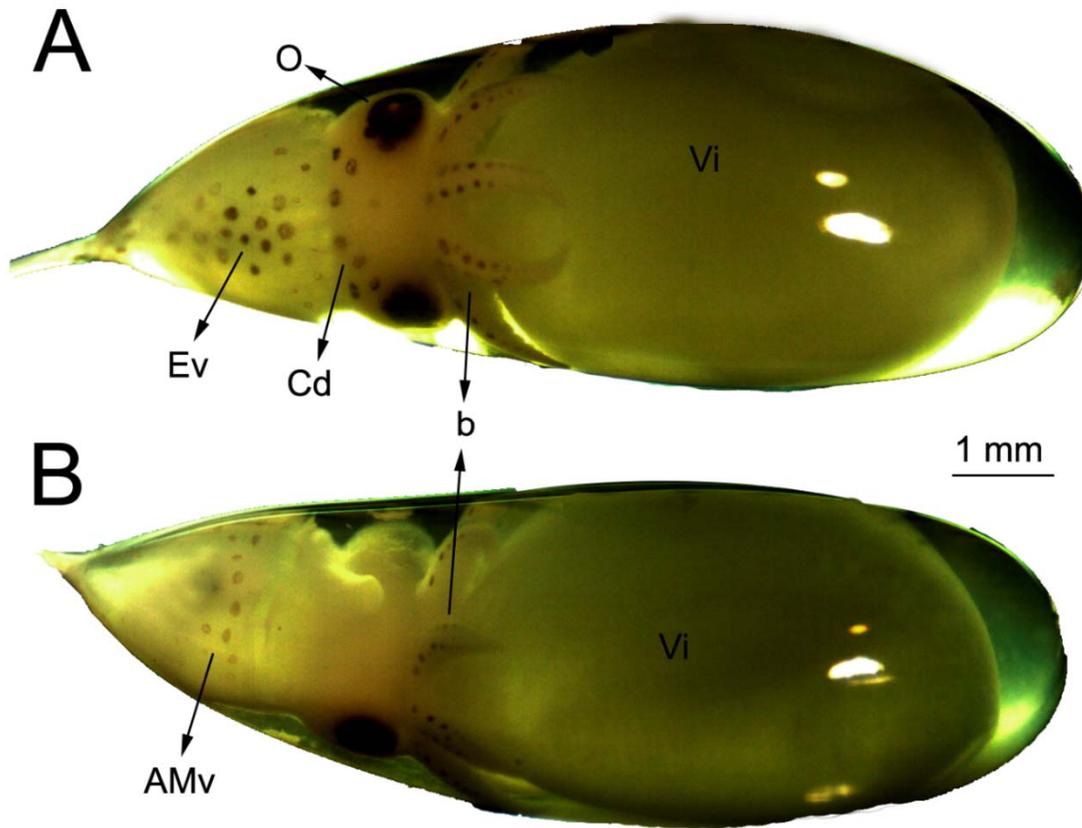


Figura 22. Estadio XXI del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista dorsal; B) Vista ventral. Abreviaturas: AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral; O, Ojo; Vi: Vitelo.

En el estadio XXII los brazos presentan 12 cromatóforos en dos hileras, 8 cromatóforos en la cabeza de la parte dorsal y 3 cromatóforos en cada uno de los ojos. En el epitelio visceral se observa un patrón de cromatóforos definido en forma de rombo con 20 cromatóforos, en la parte posterior del manto son poco visibles 5 cromatóforos. El ojo comienza a presentar un color tornasol.

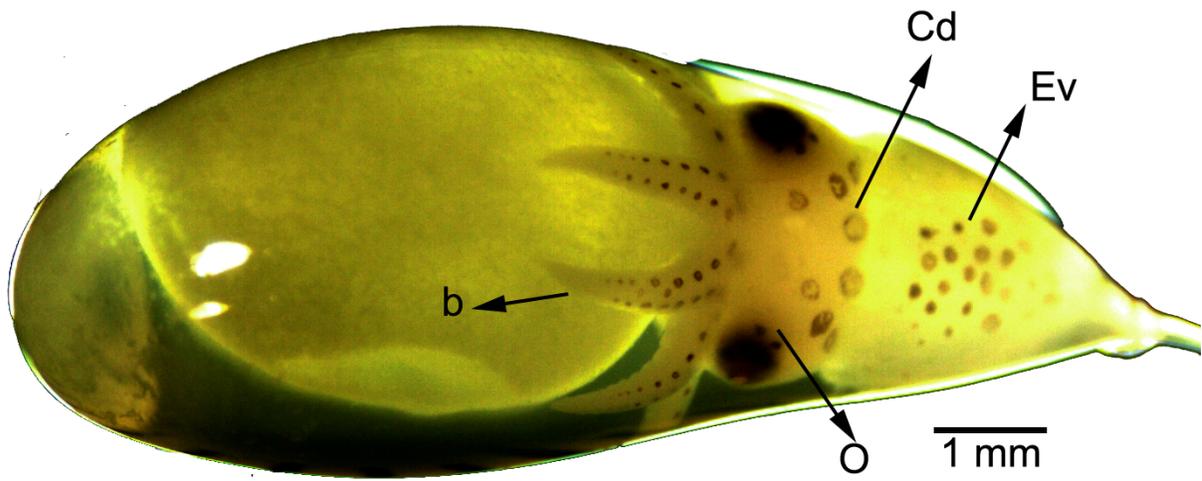


Figura 23. Estadio XXII del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. Abreviaturas: b: brazo; Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral; O, Ojo.

En los estadios XXIII (Fig. 24A y B) y XXIV (Fig. 24C y D) los cromatóforos aumentan de tamaño en los brazos, en la cabeza de la parte dorsal y en el epitelio visceral (Fig. 24 A, C). En el ojo se observan dos cromatóforos por encima de la retina (Fig. 24C) y en la parte posterior del manto son más visibles un total de siete los cromatóforos (Fig. 24B). La longitud promedio del manto es de 2.16 mm.

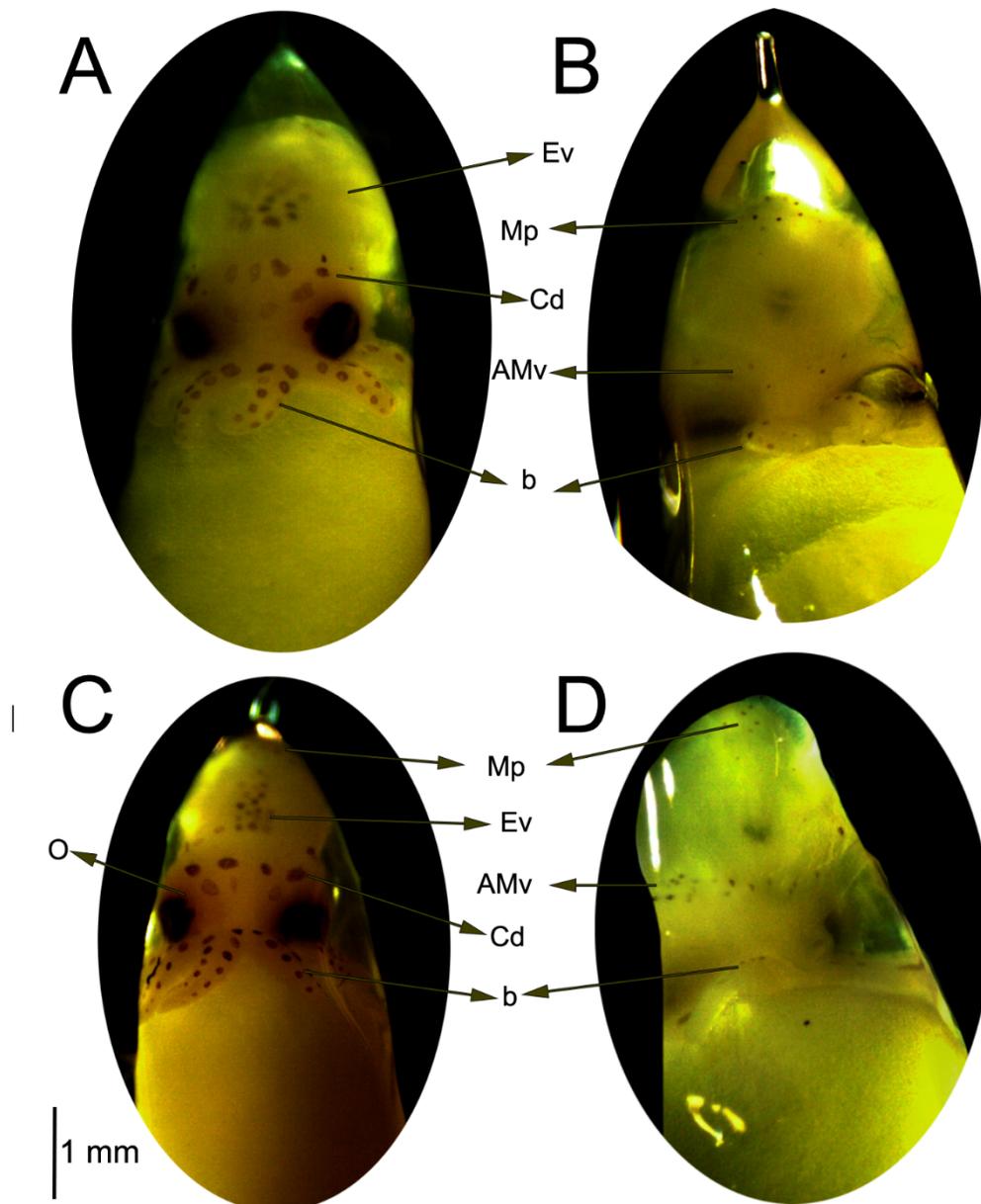


Figura 24. Estadios XXIII y XXIV del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A, C) Vista dorsal; B, D) Vista ventral. Abreviaturas: AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral; Mp: Manto posterior; O: Ojo.

En el estadio XXV entre 24 y 26 cromatóforos grandes del epitelio visceral comienzan a tener una forma circular. En la cabeza de la parte dorsal se observan 9 cromatóforos grandes. En la base de los brazos se observa un par de cromatóforos por brazo y 16 cromatóforos en dos hileras (Fig. 25A). En el margen anterior del manto ventral se observa una hilera horizontal de 12 cromatóforos y en la parte posterior del manto se observan cromatóforos (Fig. 25B).

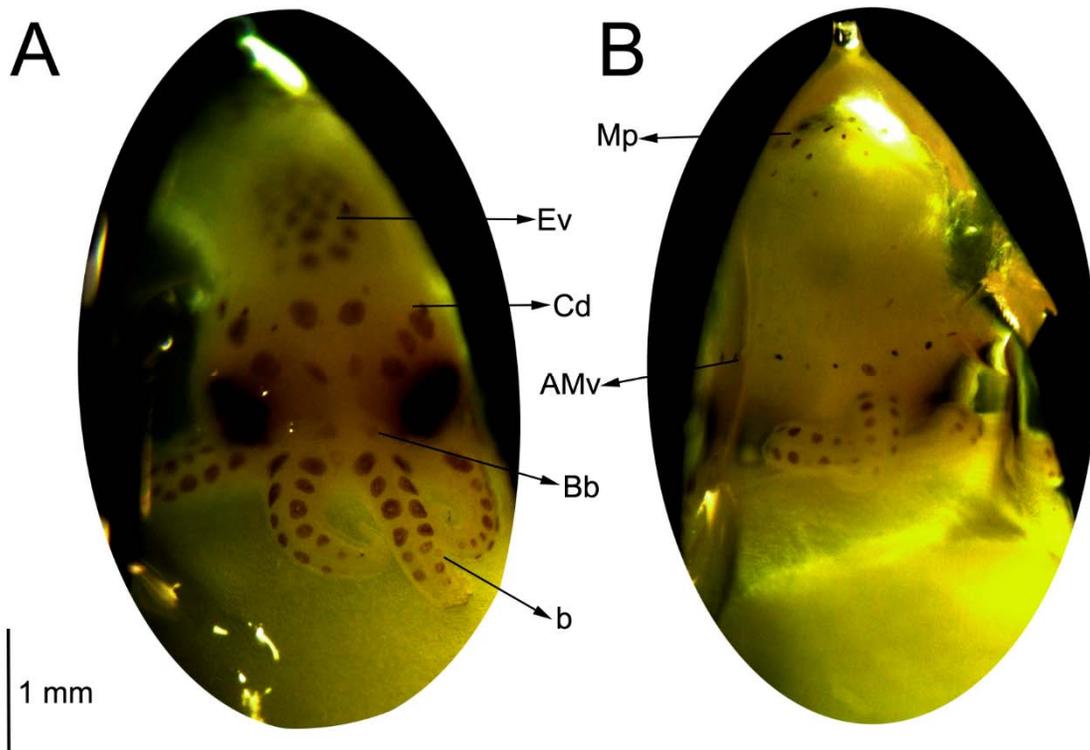


Figura 25. Estadío XXV del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista dorsal; B) vista ventral. Abreviaturas: AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Bb: base del brazo; Mp: Manto posterior Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral.

En los estadío XXVI y XXVII los cromatóforos de la parte posterior del manto son más abundantes con una distribución circular (Fig. 26 A, B y Fig. 27B). En la cabeza de la parte dorsal se observan de 8 a 9 cromatóforos grandes y 5 cromatóforos en el margen

anterior del manto dorsal (Fig.26B y 27B). Los brazos presentan 26 cromatóforos en dos hileras por brazo. En el manto ventral se comienza a observar un patrón circular de pequeños cromatóforos amarillos(Fig. 26 y Fig. 27).

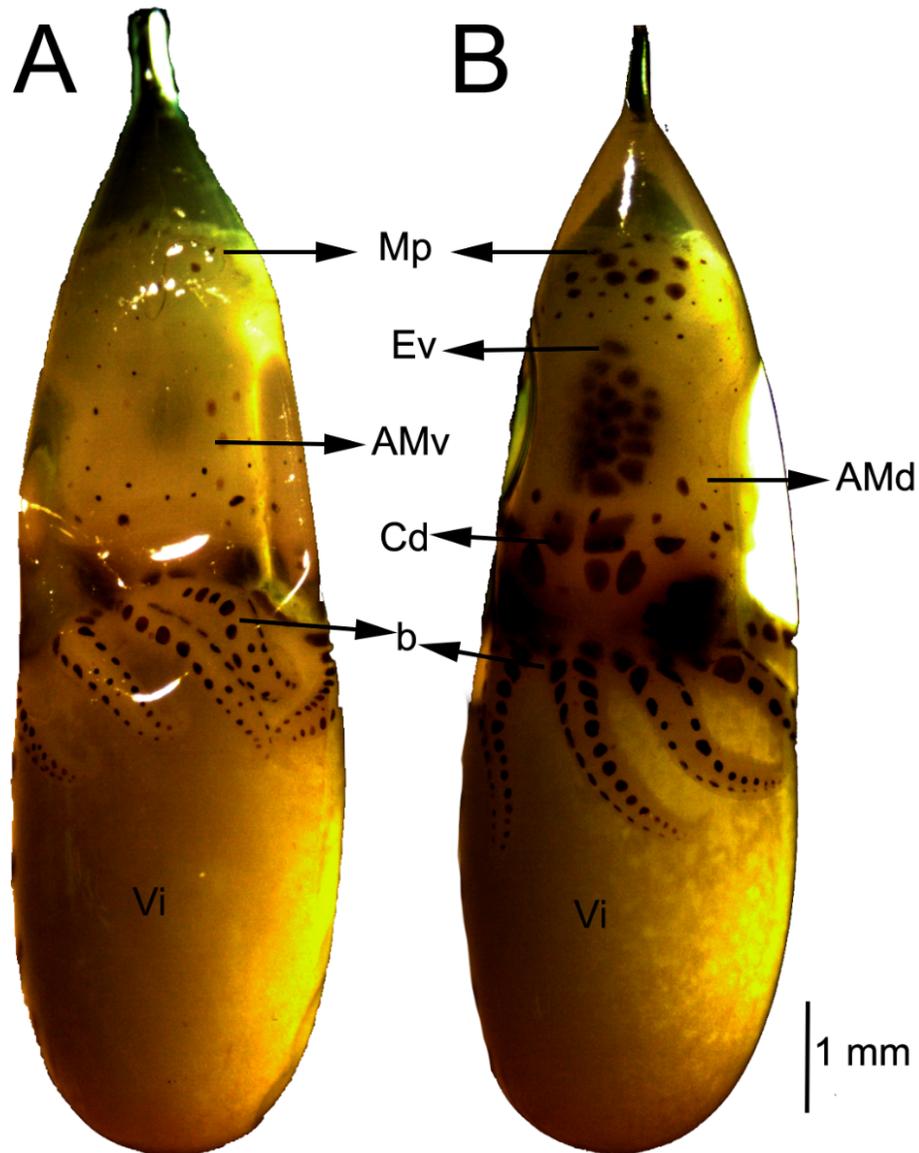


Figura 26. Estadio XXVI del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista ventral, B) Vista dorsal. Abreviaturas: AMd: Margen anterior del manto dorsal; AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Mp: Manto posterior; Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral, Vi: Vitelo.

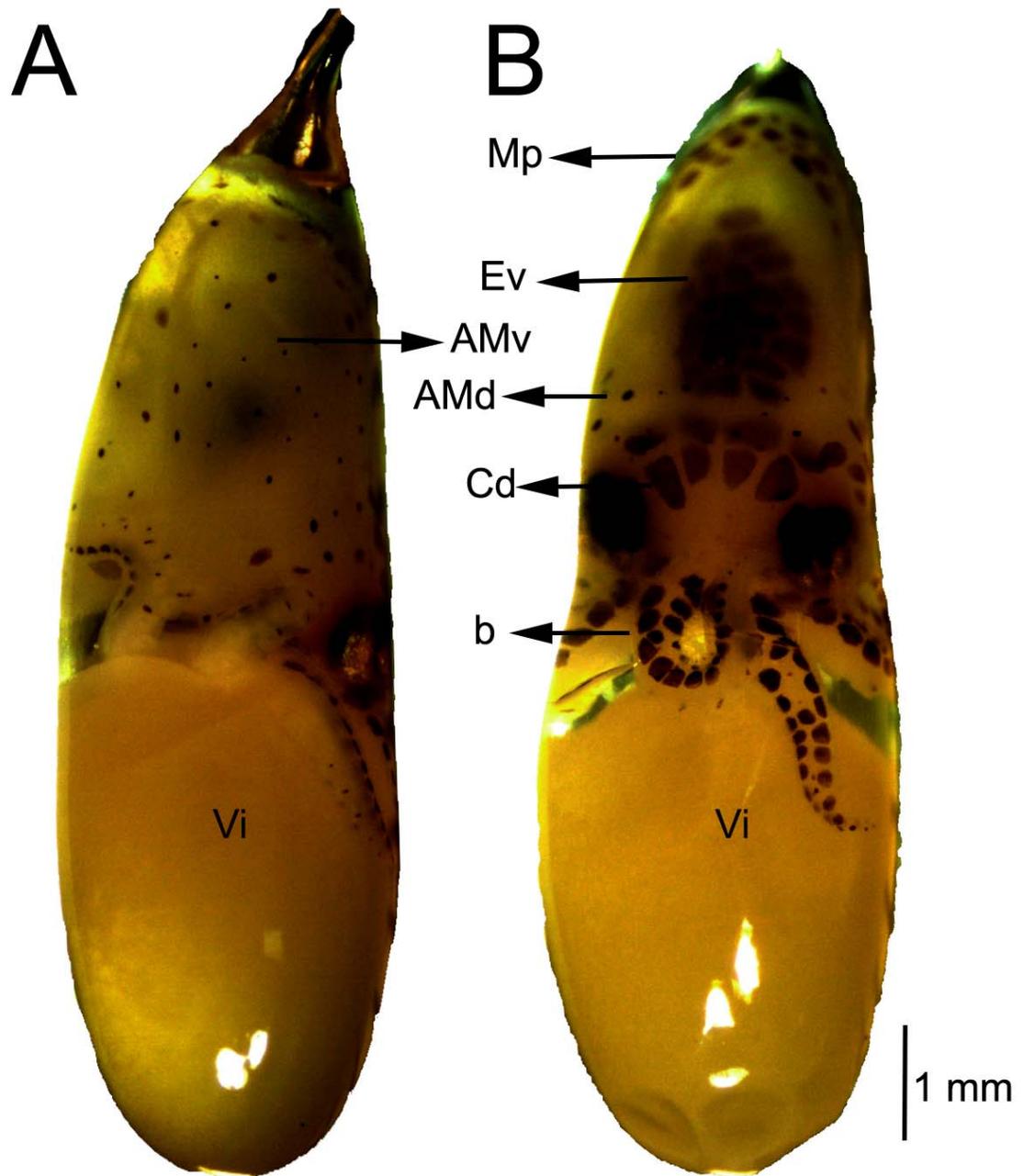


Figura 27. Estadío XXVII del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista ventral, B) Vista dorsal. Abreviaturas: AMd: Margen anterior del manto dorsal; AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Mp: Manto posterior; Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral, Vi: Vitelo.

En el estadio XXVIII los ojos presentan 4 cromatóforos grandes cerca de la retina. Los brazos contienen dos hileras de 32 cromatóforos, en la parte posterior del manto los cromatóforos son de mayor tamaño (Fig. 28A). La distribución de cromatóforos se observa completa en la parte ventral del manto, con 3 cromatóforos en el sifón (Fig. 28B). Los cromatóforos del epitelio visceral de 35-40 cromatóforos presentan una forma ovalada y compacta. El margen anterior del manto dorsal exhibe cromatóforos amarillos y cafés rodeando el patrón del epitelio visceral. En la cabeza de la parte dorsal se observan 9 – 10 cromatóforos grandes (Fig. 28C). La longitud promedio del manto en este estadio es de 3.04 mm.

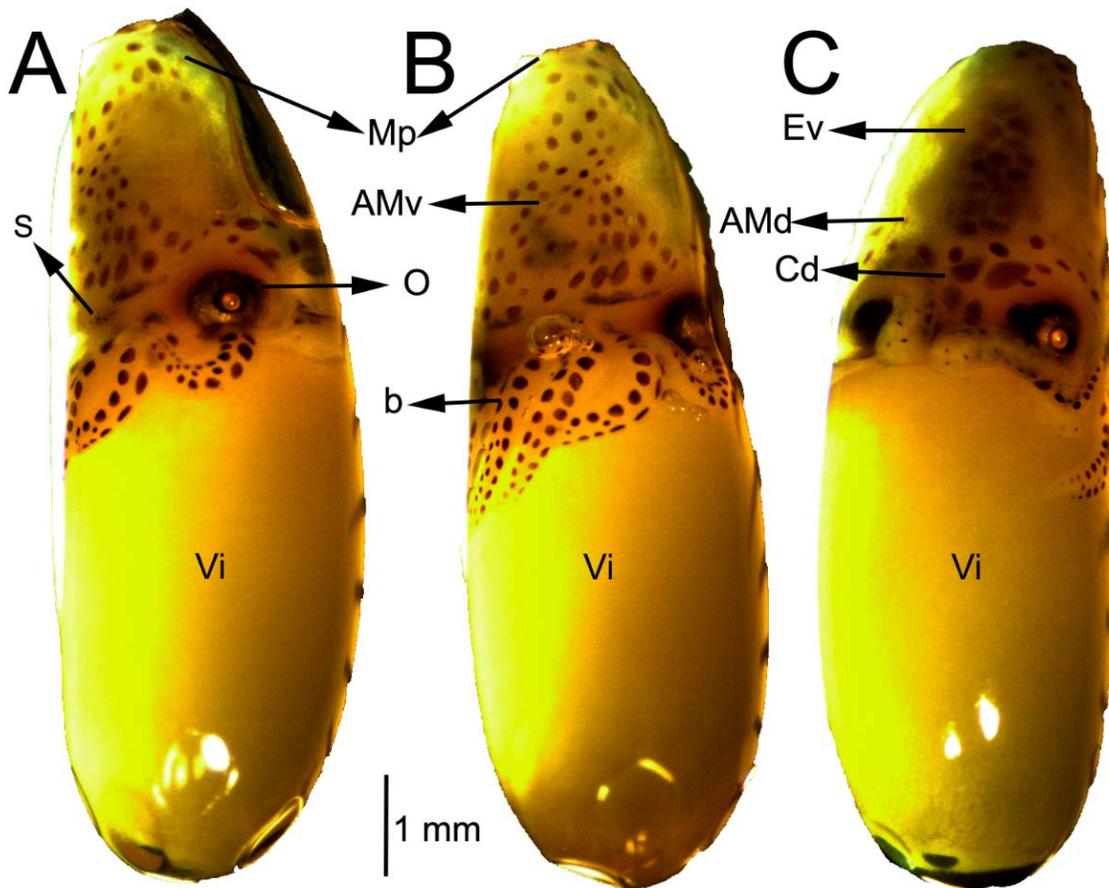


Figura 28. Estadio XXVIII del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista lateral; B) Vista ventral; C) Vista dorsal. Abreviaturas: AMd: Margen anterior del manto dorsal; AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Mp: Manto posterior; Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral; O: ojo, Vi: Vitelo.

El estadio XXIX comprende un desarrollo completo del patrón de cromatóforos (ver Anexo II), cubriendo las partes laterales del margen anterior del manto dorsal con 10 cromatóforos por cada lado (Fig. 29 A, B). Asimismo, se lleva a cabo la segunda reversión, en donde el embrión adquiere una mejor posición para su posterior nacimiento (Fig. 29C).

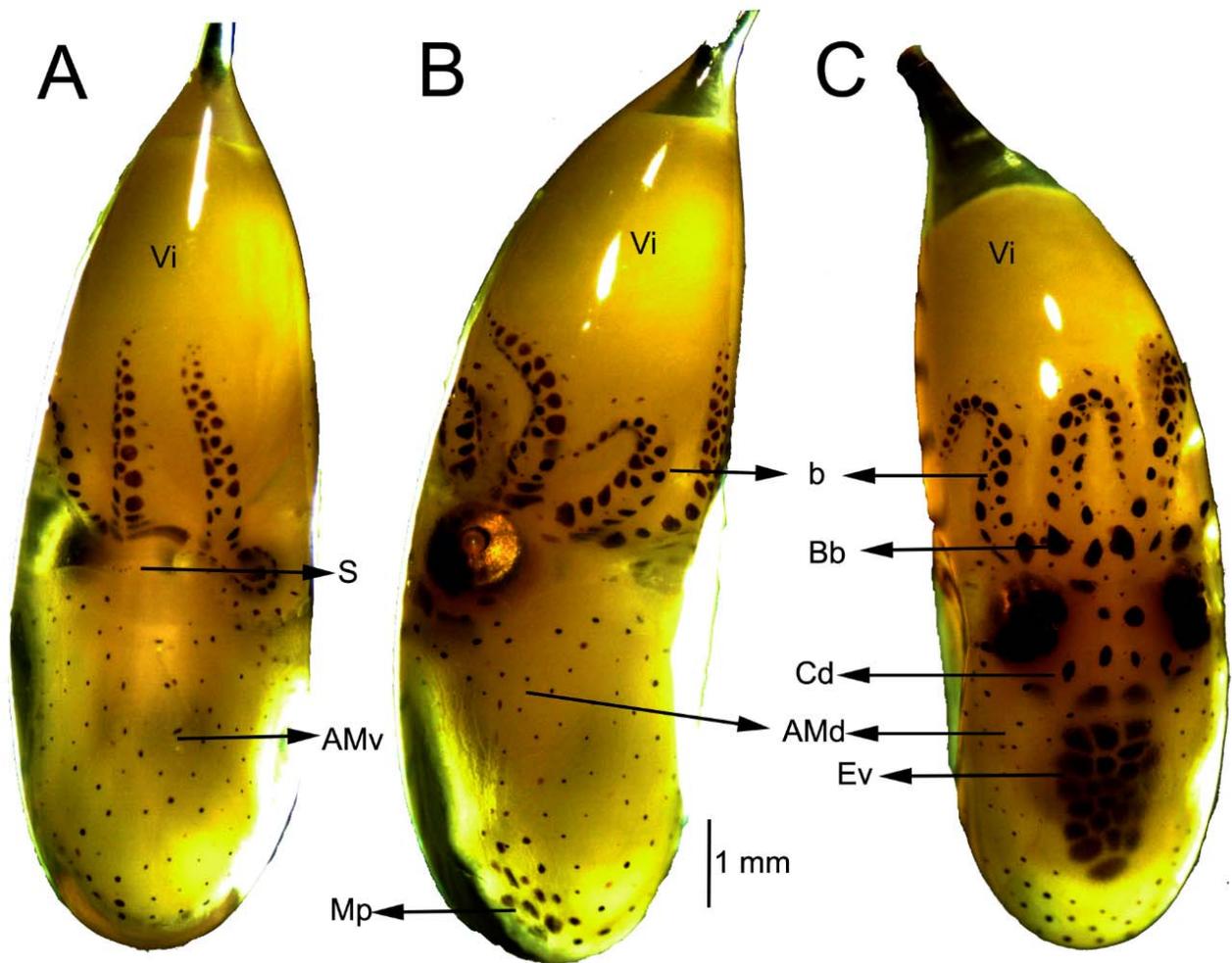


Figura 29. Estadio XXIX del desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. A) Vista ventral; B) Vista lateral; C) Vista dorsal. Abreviaturas de la posición de cromatóforos: AMd: Margen anterior del manto dorsal; AMv: Margen anterior del manto ventral; b: brazo; Bb: base del brazo; Cd: Cabeza dorsal; Ev: Epitelio visceral; Mp: Manto posterior; O: ojo; Sifón, Vi: Vitelo.

A partir del estadio XXIX se observa un crecimiento considerable del embrión y por lo tanto una mayor disminución de las reservas vitelinas externas dando lugar a un embrión completamente desarrollado y listo para su nacimiento (estadio XXX). La longitud promedio del manto en el estadio XXX es de 5.6 mm, con un consumo total del vitelo (ver siguiente sección).

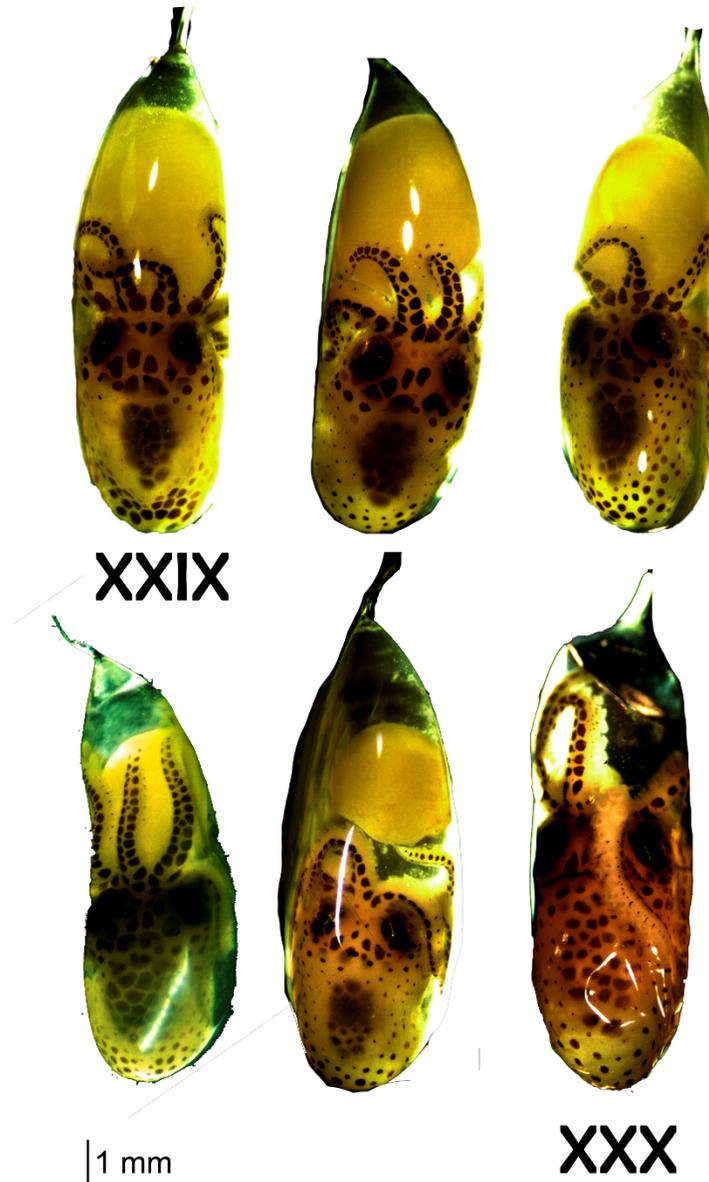


Figura 30. Desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*. Digestión de las reservas vitelinas externas.

Finalmente, el estadio XXXI corresponde a un organismo recién nacido, completamente desarrollado y con las características similares a las de un adulto, lo cual lo convierte en un organismo con la capacidad de habitar inmediatamente el ambiente bentónico (Fig. 31).

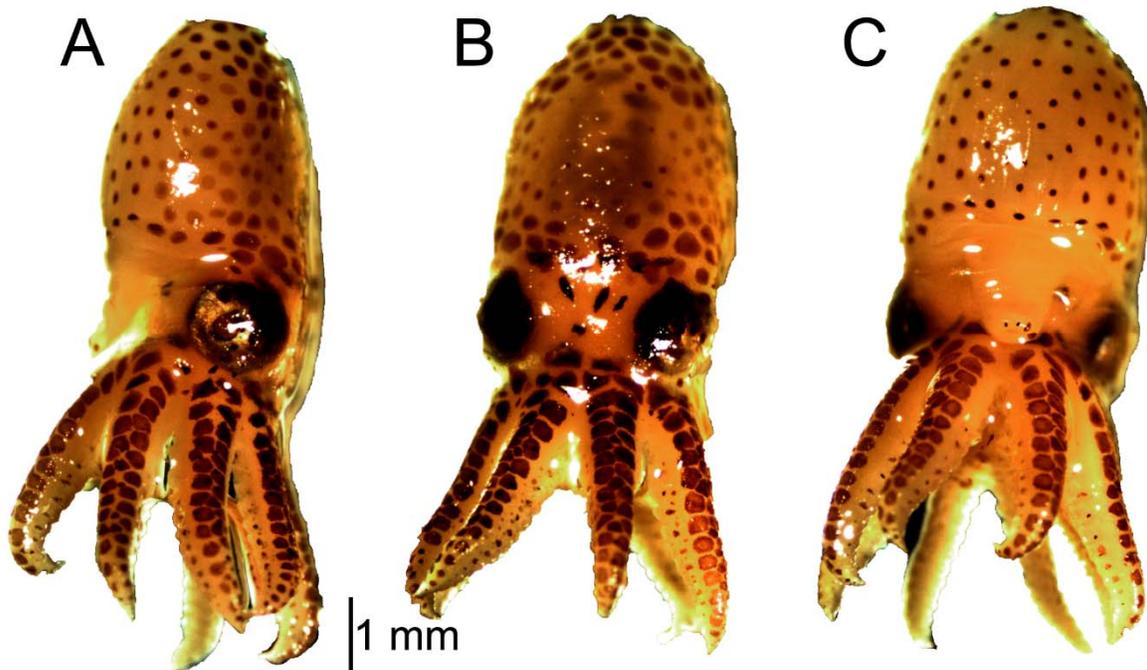


Figura 31. Juvenil de *Paroctopus digueti* recién nacido, A) Vista lateral; B) Vista dorsal; C) Vista ventral.

6.3 Consumo de vitelo

Durante el desarrollo embrionario de *P. digueti* la mayor parte del vitelo se absorbió en el penúltimo estadio del desarrollo embrionario antes del nacimiento, a una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ (Fig. 32). En los primeros estadios del desarrollo embrionario el consumo de vitelo no es significativo. Se observó que el consumo de vitelo fue más evidente a partir del estadio X con una cantidad del 63%. En el estadio XIX se observa la completa conformación de la masa visceral y el consumo de vitelo aumenta de un 58% a un 51% para el estadio XXVI. El embrión en el estadio XXIX se observa completamente desarrollado, con un aumento del consumo de vitelo del 46%, a partir

de este momento continúa solo con su crecimiento y digestión de las reservas vitelinas externas dando lugar al estadio XXX. A medida que se absorbía la masa vitelina, la forma del saco cambió de forma cilíndrica a cónica, observándose el consumo del vitelo acelerado, pasando de un consumo del 46% a un 10 % para el estadio XXX (Fig. 33). En contraste con el avance de la organogénesis, el consumo de la masa vitelina disminuye considerablemente con respecto al tamaño del manto. Esta relación fue inversamente significativa ($R=0.81$) (Fig. 34).

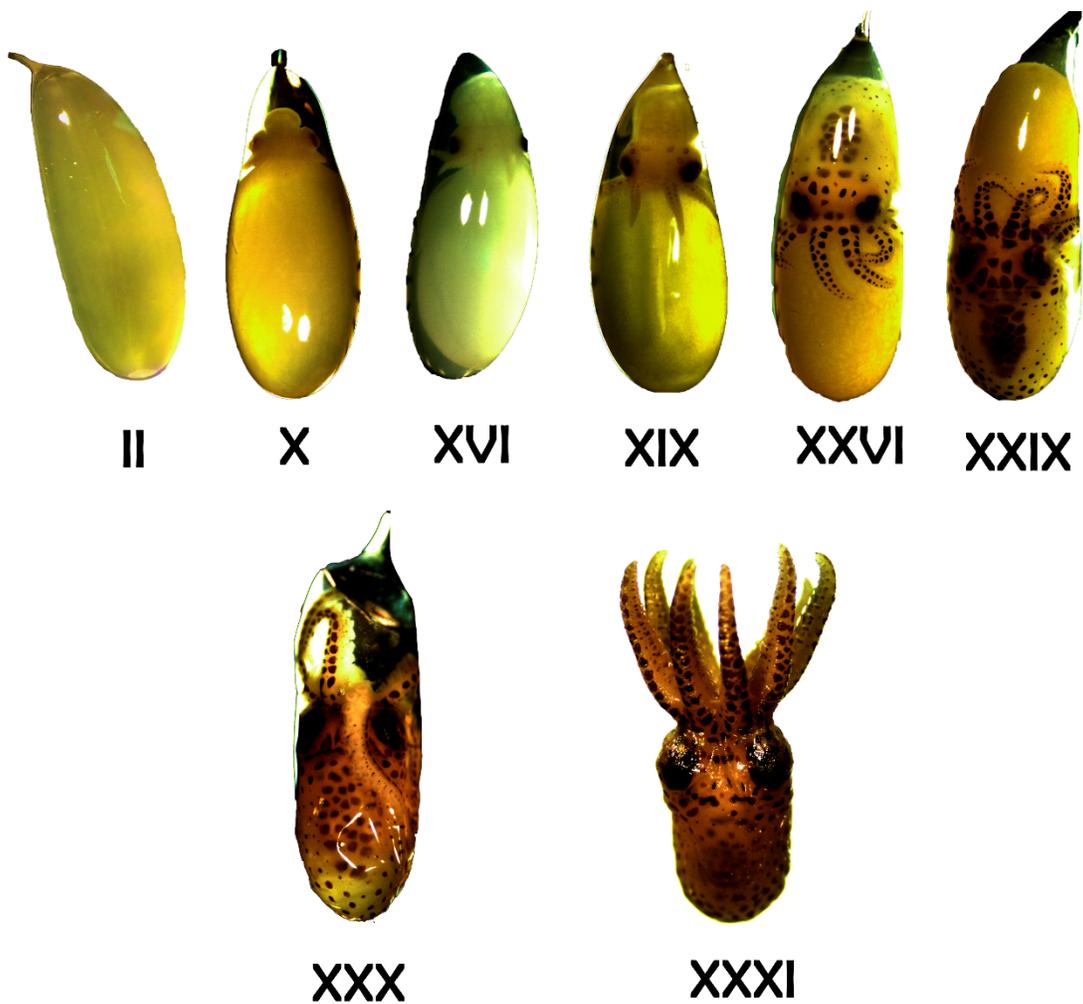


Figura 32. Consumo de vitelo durante el desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*.

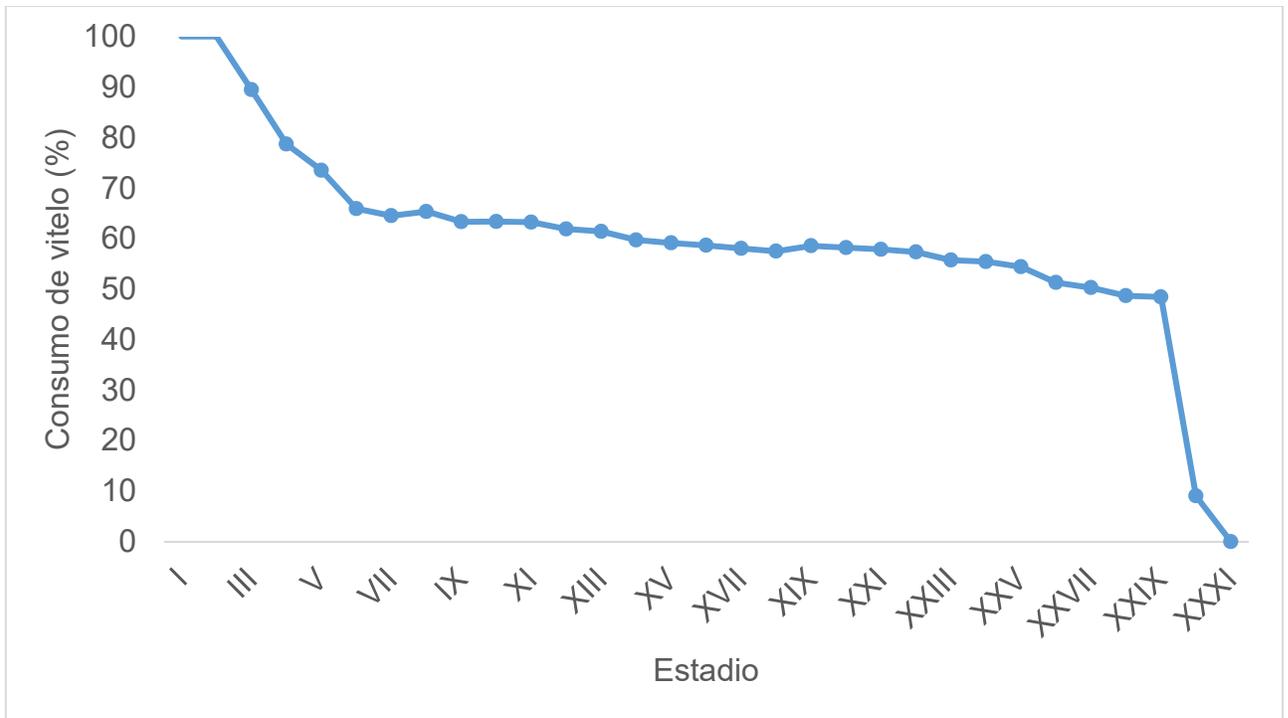


Figura 33. Consumo del vitelino con respecto a los estadios de desarrollo embrionario de *Paroctopus digueti*.

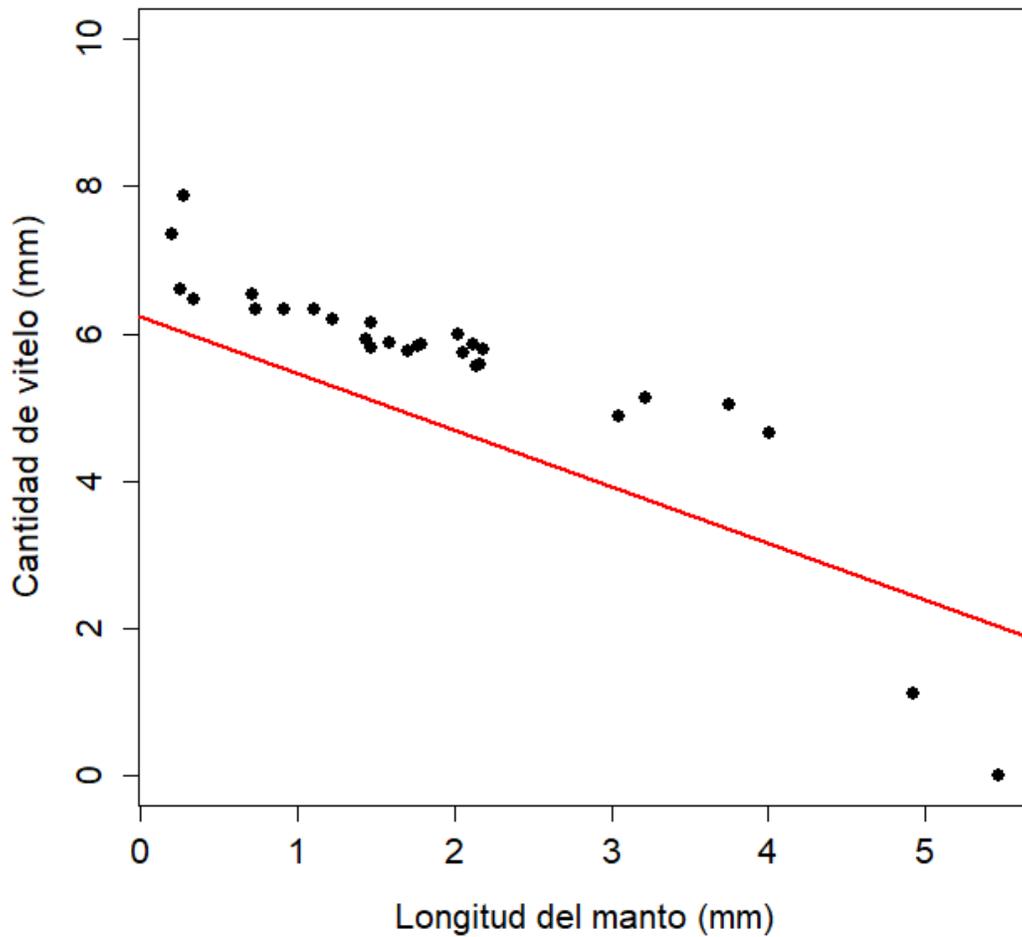


Figura 34. Relación del crecimiento del manto con respecto al consumo de vitelo.

6.4 Fecundidad

La fecundidad real de *P. digueti* se estimó mediante la suma de los huevos extraídos más los juveniles que nacen por hembra, encontrando una fecundidad de 80 a 300 huevos por hembra, la cual tuvo relación de acuerdo a la longitud del manto (Fig. 35). En una sola hembra se encontraron huevos dentro de los oviductos encaminados al desove.

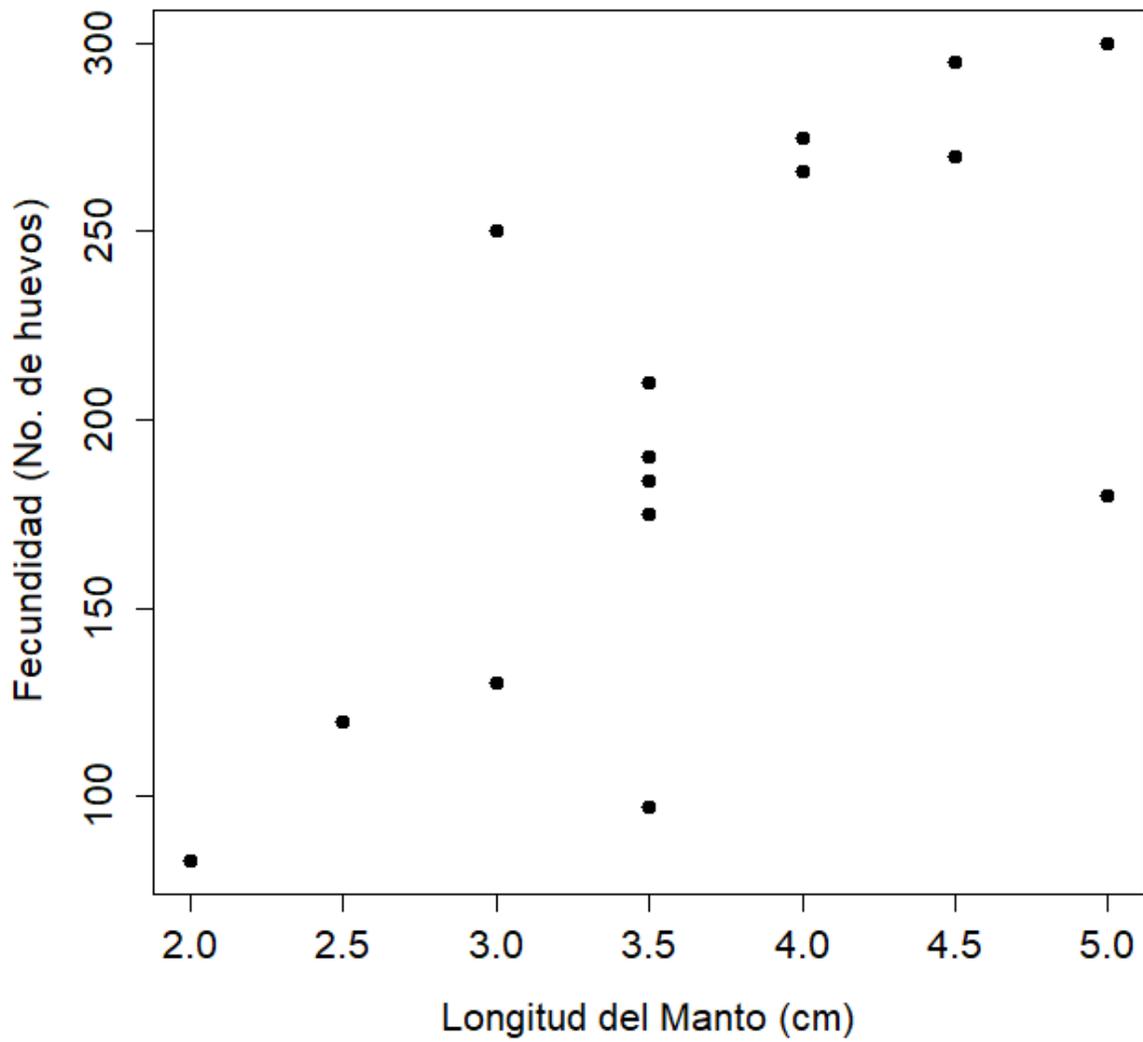


Figura 35. Relación de la fecundidad conforme a la longitud del manto de la hembra.

VII. DISCUSIÓN

7.1 Patrón de desove y cuidado parental

De acuerdo a Kirkendall y Stenseth (1985) para referirse al patrón de desove se utilizan dos términos, semelparidad (desove una sola vez) e iteroparidad (desove más de una vez). Los cefalópodos eran considerados moluscos marinos semelparos, es decir, las hembras ponen sus huevos en un solo desove para después morir (Wells, 1962). Esta estrategia reproductiva es característica de muchas especies con excepción del *Nautilus*, el único cefalópodo considerado iteróparo (Ward, 1987), aunque, años más tarde se observó que algunas otras especies de cefalópodos son también iteróparas, tal es el caso de *Octopus chierchiae*, Jatta (1889); *Argonauta bottgeri*, Maltzan (1881) y *Argonauta hians*, Lightfoot (1786) (Nesis, 1977; Rodaniche, 1984). En el caso de los organismos semelparos, los pulpos presentan como táctica reproductiva el *desove simultáneo terminal*, donde la ovulación es sincrónica y no existe maduración de ovocitos durante el periodo de desove. En esta estrategia el patrón de desove es monocíclico y la puesta de huevos se produce en un período corto al final de la vida del animal (Rocha *et al.*, 2001). En este sentido, se observó que *Paroctopus digueti* es semelparo con desove simultáneo terminal (monocíclico) por parches temporales, y con embriones en diferentes estadios de desarrollo en la misma puesta. El desove simultáneo terminal se ha observado en *Octopus cyanea*, Gray (1849); *Octopus vulgaris*, Cuvier (1797); *Octopus mimus*, Gould (1852); *Vitreledonella sp.*, y en *Haliphron sp.* (Van Heukelem, 1983; Mangold *et al.*, 1993; Cortez *et al.*, 1995; Nesis, 1996; Rocha *et al.*, 2001).

Los huevos de pulpo han sido descritos morfológicamente por varios autores y en general, estos presentan variaciones en su talla (Mangold *et al.*, 1971; Boletzky, 1989a; Villanueva y Norman, 2008), relacionado a su estrategia de desarrollo, es decir, organismos con desarrollo embrionario indirecto, producirán huevos pequeños (entre 1.5 a 5 mm), que dan lugar a larvas planctónicas. Por el contrario, organismos con desarrollo embrionario directo producen huevos grandes (de 6 mm en adelante), que dan lugar a organismos juveniles bentónicos (Sweeney *et al.*, 1992). Dentro de los

pulpos de desarrollo directo, el tamaño del huevo, también está relacionado a la talla de la especie de la que se trate, es decir, pulpos grandes producirán huevos grandes, como es el caso de *O. maya* (Solis-Ramírez, 1967); *O. briareus* (Boletzky, 1969), *O. bimaculoides* (Forsythe *et al.*, 1983); *O. californicus* (Sweeney *et al.*, 1992) con excepción de *O. minor* (Okutani, 1984) (ver Anexo IV), el cual es un pulpo de talla pequeña que produce huevos grandes, incluso más grandes que lo reportado. Mientras que pulpos de talla chica producirán huevos pequeños.

En este estudio, se encontró que *P. digueti* produce huevos de entre 8 a 10 mm. Esta talla de huevo fue mayor a lo reportado para esta misma especie (6 a 8 mm de longitud) en las costas de Sonora, México y mantenidos en cautiverio (DeRusha *et al.* (1987). Esta diferencia en tamaño de huevo pudo ser debido a las diferencias microambientales entre localidades y en las condiciones bajo las cuales se mantuvieron los organismos en cautiverio.

De igual manera, los huevos poseen un pedúnculo coriónico de cierta longitud que los une entre sí, formando racimos o colocándolos individualmente (Boletzky, 1989a). En este estudio *P. digueti* desova los huevos colocándolos de manera individual y en pares sujetos a una superficie natural o artificial (cuevas, conchas o botellas), similar a lo descrito para otras especies de pulpo de talla pequeña como *O. tehuelchus*, *O. minor*, *O. fitchi* y *O. joubini*, sin embargo, se ha reportado para *Hapalochlaena maculosa* y *Hapalochlaena lunulata* que los huevos se encuentran sueltos y transportados sobre la membrana de la umbrela (Tranter y Agustine, 1973; Overath y Boletzky, 1974; Hochberg, 1980; Iribarne, 1991; Sweeney *et al.*, 1992).

Se observó que las hembras de *P. digueti* cambiaron su comportamiento alimenticio al alcanzar su estado de madurez, dejando de alimentarse con el fin de utilizar toda su energía en el desove y resguardo de sus crías, tal como sucede en muchas especies de pulpos (Mangold, 1987). Algunos patrones similares en el comportamiento de alimentación de pulpos se han relacionado con la presencia del inhibidor de la síntesis de proteínas, particularmente las enzimas digestivas asociado con el período de senescencia (O'Dor y Wells, 1978; Wodinsky, 1978; Mangold, 1987). Una vez nacidas las crías de *P. digueti*, las hembras se encuentran en una etapa de senescencia, lo

cual se caracteriza por un aspecto de debilidad, ojos nublados, amputación de brazos y piel floja sin pigmentación, características que darían paso a su muerte (Voight, 1990). El cuidado parental tiene dos funciones; para maximizar la supervivencia de las crías y promover su desarrollo (Smith y Wootton, 1995). Los pulpos, durante el periodo de incubación, la hembra cuida y protege a sus crías manteniéndose cerca de los huevos con el fin de protegerlos de los depredadores. Al mismo tiempo, la hembra balancea con frecuencia sus brazos y cuerpo con el propósito de oxigenarlos y con ayuda del sifón arroja chorros de agua sobre los huevos para mantenerlos limpios y libres de cualquier contaminación y bacterias. Además de la depredación, el oxígeno es el factor predominante que afecta el desarrollo exitoso de embriones; la reducción de oxígeno retarda el desarrollo embrionario y causa mortalidad (Kamler, 1992). Este comportamiento se observó en *P. digueti* el cual ha sido reportado para muchas especies de octópodos litorales (Sarvesan, 1969; Arkhipkin, 1992; Boyle y Rodhouse, 2005; Alejo-Plata y Herrera, 2014; Carrasco, 2014; Mereu *et al.*, 2014; Vidal *et al.*, 2014).

En pulpos adultos es común el canibalismo como parte de su alimentación (Jareb *et al.*, 2016), sin embargo, en este estudio se observó que una de las hembras, ingirió la totalidad de los huevos desovados. A este comportamiento se le conoce como *Canibalismo filial*, el cual consiste en el consumo de la propia descendencia ya sea total o parcial. Este acto se presenta comúnmente en especies que brindan cuidado parental como es el caso de insectos, mamíferos y en varias especies de peces (Smith y Wootton, 1995; Manica, 2002) sin embargo, aún no se había tenido reporte en pulpos. Se piensa que este tipo de canibalismo representa una estrategia adaptativa en muchos animales, en la cual la energía obtenida de los huevos se utiliza para aumentar una reproducción futura o un mejor cuidado para la descendencia restante (Manica, 2002; Klug y Lindström, 2008). También, con el canibalismo total de las crías, se espera finalizar la atención del cuidado, cuando su costo es más alto que el beneficio (Clutton-Brock, 1991), es decir, al no proporcionar cuidado a las crías, el padre o la madre puede reasignar la energía y el tiempo para aumentar su supervivencia, crecimiento y obtener una nueva pareja (Manica, 2002). En este sentido, la hembra de *P. digueti* pudo haber ingerido la puesta completa para aumentar

su supervivencia al verse atacada constantemente, debido a que fue sometida (a diferencia de las otras) a una intensa manipulación en el sistema de cultivo al quitarle constantemente huevos, lo que le produjo un mayor estrés. Por otro lado se observó una estrategia reproductiva en algunas de las hembras, quienes retiraban los huevos de la puesta que posiblemente no alcanzarían a desarrollarse completamente, con la finalidad de reducir el consumo energético en el cuidado parental.

En general, los pulpos de talla grande usan los huecos entre las rocas como protección y para la puesta de sus huevos. Por el contrario, las especies de tallas pequeñas, incluyendo a *O. joubini*, *O. aegina* y ocasionalmente *O. membranaceous* y *O. fitchi* (Voigth, 1987) prefieren conchas de bivalvos vacías, botellas de vidrio y latas como refugio, tal como fue el caso de *P. digueti*. Los pulpos de talla pequeña suelen ser menos móviles ya que su cuerpo pequeño los expone a un mayor riesgo en la depredación (Voigth, 1987). En este estudio las almejas en las que se encontraron hembras de *P. digueti* fueron la almeja chocolata (*Megapitaria squalida*), la almeja roñosa (*Chione californiensis*) y mayormente en la “pata de mula” *Anadara multicosata*. Al parecer, *P. digueti* prefiere esta almeja debido a que tiene una concha equivalva dura, de contorno ovalado oblicuo y alargada, características que le brindan una mayor protección y espacio para la puesta de los huevos, además de que esta almeja se encuentra en fondos arenosos y areno-fangoso, sustrato preferido por *P. digueti*. Voigth (1990) reportó para la Bahía Cholla en Sonora, México que la almeja más utilizada por *P. digueti* fue *Chione californiensis*, la cual presenta conchas cóncavas y es la más abundante en la zona entre mareas, de igual manera, las conchas de los gasterópodos son abundantes y más resistentes contra el oleaje que la de los bivalvos, por lo que también reporta que son seleccionadas por *P. digueti* para su protección.

7.2 Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario de *P. digueti* fue similar al de otras especies que presentan desarrollo embrionario directo. En este estudio el tiempo estimado desde el desove hasta el nacimiento fue de 38 días, a una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$. En este sentido, Hanlon y Forsythe (1985) y DeRusha *et al.*, (1987) reportaron para esta misma especie

36 a 50 días de desarrollo embrionario, a una temperatura de 25°C. por otro lado, el de *O. joubini* a 25°C tarda de 30 a 40 días (Bradley, 1974; Forsythe y Hanlon, 1980; Forsythe, 1984; Hanlon y Forsythe, 1985), mientras que el de *Hapalochlaena maculosa* es de 60 días a una temperatura de 20.8 – 22.5°C (Tranter y Augustine, 1973). En pulpos de tallas grandes como *O. maya*, *O. bimaculoides*, *O. briareus* el tiempo de desarrollo embrionario a 25°C es de entre 45 a 70 días (ver Anexo IV) (Solis-Ramírez, 1967; Hanlon 1983; Van Heukelem, 1983; Hanlon y Forsythe, 1985; Forsythe y Hanlon, 1988). Con respecto a los límites de temperatura se ha encontrado que a temperaturas más altas se reduce el desarrollo embrionario y el metabolismo de *O. maya* y la longitud de los brazos fue mayor en embriones mantenidos a temperaturas de 22°C (Caamal-Monsreal *et al.*, 2015). Diversos estudios han demostrado que el tiempo de desarrollo embrionario puede reducirse cuando la incubación de los huevos presenta un intervalo adecuado de temperatura y de acuerdo a DeRusha *et al.*, (1987) los embriones se desarrollan más lentamente en temperaturas bajas que en altas. Existen pruebas que señalan que retrasar el desarrollo embrionario puede producir alteraciones en los componentes bioquímicos del vitelo, lo cual afecta el desarrollo de las crías (Uriarte *et al.*, 2014).

La organogénesis en *P. digueti* inicio a partir de la primera inversión del embrión dentro del huevo, que va del polo animal al polo vegetal, al igual que otras especies de octópodos (Naef, 1928; Mangold y Boletzky, 1973; Tranter y Augustine, 1973; Overath y Boletzky, 1974; Ambrose, 1981; Sweeney *et al.*, 1992; Boletzky, 2003; Ignatius y Srinivasan, 2006; Ortiz *et al.*, 2006; Alejo-Plata y Herrera, 2014; Iglesias *et al.*, 2014; Lenz *et al.*, 2015). Unas de las características más sobresalientes en el desarrollo temprano de los pulpos son la diferenciación de la cabeza y la aparición de los rudimentos de los brazos, que posteriormente formaran extensiones individuales (Naef, 1928; Yamamoto, 1988), tal como sucedió en *P. digueti* en este estudio y las pocas diferencias que se observan son cambios menores en el tiempo del desarrollo embrionario, ya que las secuencias del desarrollo de cada órgano es similar a la de otros octópodos.

Según Osborn (1995) las diferencias más reconocidas en la embriogénesis entre las especies que producen huevos de talla grandes (desarrollo directo) y huevos de talla

pequeña (desarrollo indirecto) es el patrón de la distribución de cromatóforos. Se han realizado descripciones de varias crías de especies de pulpo (tanto juveniles como paralarvas), y se ha demostrado que el número y el patrón de cromatóforos sobre los brazos, sifón, ojos, cabeza, manto y epitelio visceral son específicas (Young *et al.*, 1989). Debido a ello se pueden usar como caracteres diagnósticos de la especie.

En *P. digueti* los primeros cromatóforos son cafés y se observan a partir del estadio XVI. Forsythe y Ronald (1991) mencionan que los cromatóforos cafés son los primeros cromatóforos que aparecen en el desarrollo del embrión del pulpo, siendo los más grandes y profundos del cuerpo. En *P. digueti* se inició el desarrollo del patrón de cromatóforos con unos pocos cromatóforos observados de la base de los brazos, y cabeza dorsal, similar para otras especies como *O. joubini*, *E. megalocyathus* y *H. maculosa* (Tranter y Augustine, 1973; Forsythe y Ronald, 1991; Ortiz *et al.*, 2006). Los cromatóforos tegumentales más pequeños y más numerosos son a menudo los más fáciles de usar para la identificación como especies. El número y la distribución de los cromatóforos que cubren el sifón, manto, cabeza y los brazos son específicos de cada especie (Boletzky, 2003) véanse ejemplos en Anexo III. *P. digueti* presentó 4 cromatóforos en el sifón, similar a *O. hubbsorum* y *O. huttoni*, 180-200 en el manto, 10 en la cabeza y 32 cromatóforos por brazo los cuales lo diferencian entre estas dos especies. El desarrollo completo del patrón de cromatóforos en *P. digueti*, tuvo lugar en el estadio XXIX, junto con la segunda reversión del embrión, con un total de 244 cromatóforos en la parte dorsal del embrión y 240 en la parte ventral. En *P. digueti* los cromatóforos totalizan 484, similar a lo descrito para *O. joubini* con 420 cromatóforos, para *E. megalocyathus* con 463 cromatóforos y *O. insularis* con 112 cromatóforos (Forsythe y Ronald, 1991; Ortiz *et al.*, 2006; Lenz *et al.*, 2015). Se ha reportado que los cromatóforos asumen sus funciones definitivas hasta el nacimiento (Messenger, 2001). Sin embargo, en *P. digueti* el funcionamiento de los cromatóforos se observó antes, en embriones de estadios tardíos (XXV-XXX). Asimismo, la tinta fue expulsada en estadios próximos al nacimiento, contrario a lo que sucede en *H. maculosa*, el cual uso su tinta cuatro semanas después del nacimiento (Tranter y Augustine, 1973). Finalmente, *P. digueti* nace con características similares a las de un adulto, lo cual lo convierte en un organismo con la capacidad de habitar inmediatamente el bentos, con

una LM de 5.4 mm. A en comparación con otras especies de tallas pequeñas como *O. joubini*, *O. tehuelchus* y *O. maya* quienes nacen con una LM de 5.5 mm, 5.64 mm y 7 mm respectivamente (Solis-Ramírez, 1967; Bradley, 1974; Forsythe y Hanlon, 1980; Hanlon y Forsythe, 1985; Iribarne, 1991).

7.3 Consumo de vitelo

En *P. digueti*, la cantidad de vitelo en las primeras etapas no fue consumido significativamente. En este sentido, Boletzky (1989b, 1993) observó que en los primeros procesos de blastulación e inicio de la gastrulación en los cefalópodos la cantidad real de vitelo no parece ser influenciado. Boletzky (1989a) también menciona, que en términos funcionales, el saco vitelino externo funciona como “branquia y corazón” transitorio, encerrando las reservas de nutrientes. La función provisional como superficie respiratoria se ve reforzada por una densidad de cilios que cubre la superficie del saco vitelino, teniendo una actividad de circulación continua en el fluido perivitelino, apoyando la difusión del oxígeno y la absorción del mismo por el embrión (Boletzky, 2003).

En *P. digueti* a partir del estadio XIX se observaron órganos internos completos en el embrión, lo cual continuó con el crecimiento del embrión y el consumo de las reservas vitelinas externas, observándose ligeras pero marcadas contracciones en el manto y la masa vitelina externa. De acuerdo con Tanabe *et al.*, (1991) bajo condiciones normales de desarrollo embrionario, el manto sufre contracciones progresivas, ocasionadas por la extrusión parcial del saco vitelino externo, resultado de una disposición más compacta de los diferentes órganos, que poco a poco van asumiendo su posición definitiva en el animal en desarrollo (Bouchaud y Galois, 1990; Fioroni y Boletzky, 1990). El proceso de consumo de las reservas vitelinas externas de *P. digueti* comenzó a partir del estadio XIX y finalizó hasta el estadio XXX, antes de su nacimiento. Tras el nacimiento, el volumen del vitelo interno será uno de los principales factores que influirán en las condiciones alimenticias iniciales del organismo recién nacido (O’Dor *et al.*, 1986).

7.4 Fecundidad

El pulpo pigmeo del Pacífico *Paroctopus digueti* produce huevos grandes y organismos bentónicos. La fecundidad estimada en este estudio de esta especie fue de 80 a 300 huevos por hembra. Sin embargo, en una sola hembra que murió antes de finalizar el desarrollo embrionario se le encontraron huevos dentro de los oviductos encaminados al desove, lo que es probable que las hembras que presentaron un menor número de huevos aún no terminaban el proceso de desove. Voigth (1990) reportó para la misma especie en la localidad de Bahía Cholla, Sonora, México una fecundidad menor que osciló entre los 50 a 150 huevos por hembra. Este autor mencionó que la baja fecundidad de esta especie en esa localidad pudo haber sido por las altas temperaturas intermareales (36°C) que se presentan en el Norte del Golfo de California, lo que ocasiona estrés a los organismos, perjudicando a los huevos y embriones en desarrollo. Los datos de fecundidad de *P. digueti* son similares a las fecundidades de otras especies de tallas pequeñas con desarrollo directo como *O. joubini* (25 a 300 huevos por hembra), *Hapalochlaena maculosa* (100 a 200 huevos), *O. tehuelchus* (más de 80 huevos) y *O. minor* (50 a 200 huevos) (Tranter y Agustine, 1973; Bradley, 1974; Forsythe y Hanlon, 1980; Hanlon y Forsythe, 1985; Iribarne, 1991; Sweeney *et al.*, 1992). Asimismo, se encontró una similitud con *O. californiensis*, una especie de talla grande (con LM de 14 cm), el cual presentó una fecundidad de tan solo 50 a 100 huevos por hembra y a diferencia con otras especies de talla similar como *O. bimaculoides*, *O. maya* y *O. briareus*, presentan fecundidades relativamente mayores que van de 150 a 5,000 huevos (Solis-Ramírez, 1967; Boletzky, 1969; Hanlon y Forsythe, 1985; Sweeney *et al.*, 1992).

VIII. CONCLUSIONES

Las condiciones de mantenimiento en laboratorio a temperaturas de $27 \pm 1^\circ$, con niveles de oxígeno de 60.1 mg/L, fueron adecuadas para la sobrevivencia de las hembras y el desarrollo completo de los embriones de *Paroctopus digueti*.

El tiempo de desarrollo embrionario de *P. digueti* en condiciones de laboratorio con una temperatura de 27°C fue menor, comparado con lo reportado por DeRusha *et al.*, (1987) para la misma especie y con lo descrito para otras especies con desarrollo directo, lo que sugiere que las condiciones de laboratorio fueron favorables para un desarrollo embrionario rápido y un nacimiento exitoso.

Los huevos desovados de *P. digueti* dentro de La Bahía de La Paz fue mayor a lo reportado para la misma especie en las costas de Sonora, lo cual puede ser atribuido a las diferencias microambientales entre localidades y en las condiciones bajo las cuales se mantuvieron los organismos en cautiverio.

El análisis y clasificación de las características morfológicas en los embriones de *P. digueti* dio como resultado un total de 36 estadios de desarrollo embrionario.

P. digueti nace completamente desarrollado y con los órganos en funcionamiento, obteniendo inmediatamente un organismo juvenil, esto lo hace una de las especies con alto potencial para la acuicultura, ya que organismos con fase larvaria han tenido aún dificultades para alcanzar que la paralarva se asiente en el bentos.

La fecundidad estimada para *P. digueti* fue mayor a la reportada para la especie en la localidad de Bahía Cholla, Sonora, siendo esto una característica más que favorece el potencial de la especie para su cultivo.

El presente estudio proporciona información fundamental sobre los primeros estadios de vida de *P. digueti* que serán esenciales para lograr un mejor conocimiento de su biología, ecología y el potencial de su cultivo.

IX. SUGERENCIAS

Profundizar la observación del comportamiento de las hembras en cautiverio para un mejor entendimiento del canibalismo filial que se observó en una de las hembras de este estudio.

Realizar cortes histológicos de los estadios de desarrollo embrionario para corroborar y profundizar la descripción más a detalle de la organogénesis inicial.

Hacer el estudio bajo diferentes tratamientos de temperatura, debido a que se sabe que este factor influye en el tiempo del desarrollo embrionario y la calidad de los embriones.

Hacer estudios de la bioquímica del vitelo para conocer de mejor manera los requerimientos alimenticios de la madre para una progenie exitosa.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Alejo-Plata, M., y Herrera Alejo, S. 2014. First description of eggs and paralarvae of green octopus *Octopus hubbsorum* (Cephalopoda: Octopodidae) under laboratory conditions. *American Malacological Bulletin*, 32(1), 132-139.
- Ambrose, R. 1981. Observations on the Embryonic Development and Early Post-Embryonic Behavior of *Octopus bimaculatus*. *The Veliger*, 24(2), 139-146.
- Arkhipkin, A. 1992. Reproductive System Structure, Development and Function in Cephalopods with a New General Scale for Maturity Stages. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 12, 63-74.
- Baldrati, G. 1989. Handling, marketing and processing of cephalopods in Italy. En J. Socorro, J. Roo, A. Fernández-López, R. Guirao, T. Reyes, H. Fernández-Palacios, y M. Izquierdo, *Engorde de pulpo Octopus vulgaris Cuvier, 1797 en jaulas flotantes alimentado exclusivamente con boga Boops boops (L., 1758) de descarte de la acuicultura*. Boletín. Instituto Español de Oceanografía.
- Baltazar, P., Rodríguez, P., Rivera, W., y Valdivieso, V. (2000). Cultivo experimental de *Octopus mimus*, Gould 1852 en Perú. *Revista Peruana de Biología*, 7(2), 151-160.
- Boletzky, S. 1969. Zum Vergleich der Ontogenesen von *Octopus vulgaris*, *O. joubini* and *O. briareus*. *Revue suisse de zoologie*, 76, 558-560.
- Boletzky, S. 1989a. Recent studies on spawning, embryonic development and hatching in the cephalopoda. *Advances in Marine Biology*, 143-203.
- Boletzky, S. 1989b. Early ontogeny and evolution: the cephalopod model viewed from the point of developmental morphology. *Geobios mémoire spécial.*, 67-78.
- Boletzky, S. 1993. The arm crown in cephalopod development and evolution: a discussion of morphological and behavioral homologies. *American Malacological Bulletin*, 61-69.
- Boletzky, S. 1994. Embryonic development of cephalopods at low temperatures. *Antarctic Science*, 6(2), 139-142.
- Boletzky, S. 2003. Biology of early life stages in cephalopod molluscs. *Advances in Marine Biology*, 144-184.

- Bouchaud, O., y Galois, R. 1990. Utilization of egg-yolk lipids during the embryonic development of *Sepia officinalis* L. in relation to temperature of the water. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 611-616.
- Boyle, P., y Boletzky, S. 1996. Cephalopod populations: definition and dynamics. En S. Boletzky, *Biology of early life stages in cephalopod molluscs*, 144-145. Academic Press.
- Boyle, P., y Rodhouse, P. 2005. *Cephalopods: Ecology and Fisheries*. Iowa, USA: Blackwell Science Ltd.
- Bradley, E. 1974. Some observation of *Octopus joubini* reared in an inland aquarium. *Journal Zoology London*, 173, 355-368.
- Caamal-Monsreal, C., Uriarte, I., Farias, A., Díaz, F., Sánchez, A., Re, D., y Rosas, C. 2015. Effects of temperature on embryo development and metabolism of *O. maya*. En *Aquaculture* (págs. 156-162). Elsevier.
- Carrasco, S. 2014. The early life history of two sympatric New Zealand octopuses: eggs and paralarvae of *Octopus huttoni* and *Pinnoctopus cordiformis*. *New Zealand Journal of Zoology*, 32-45.
- Caverivière, A., Domain, F., y Diallo, A. 1999. Observations on the influence of temperatures on the length of embryonic development in *Octopus vulgaris* (Senegal). *Aquatic Living Resources*, 12(2), 121-154.
- Clutton-Brock, T. 1991. The evolution of Parental Care. *Princeton University Press*. Princeton.
- CONAPESCA. 2013. Programa Rector Nacional de Pesca y Auicultura: Pulpo.
- Cortez, T., Castro, B., y Guerra, A. 1995. Reproduction and condition of female *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda). *Marine Biology*, 505-510.
- DeRusha, R., Forsythe, J., y Hanlon, R. 1987. Laboratory growth, reproduction and life span of the Pacific Pygmy Octopus, *Octopus digueti*. *Pacific Science*, 141(1-4), 104-121.
- Domingues, P., López, N., y Rosas, C. 2012. Preliminary trials on the use of large outdoor tanks for the ongrowing of *Octopus maya* juveniles. *Aquaculture Research*, 26-31.
- Fioroni, P., y Boletzky, S. 1990. Morphologische Aspekte der Dotterresorption in der späteren Embryonalperiode von Octopoden unter besonderer Berücksichtigung

- von zwei Eledone-Arten. En S. Boletzky, *Biology of early life stages in cephalopod molluscs* (págs. 1-21).
- Forsythe , J., y Ronald, B. 1991. Clarification of the western Atlantic Ocean pygmy octopus complex: The identity and life history of *Octopus joubini* (Cephalopoda: Octopodinae). *Bulletin of Marine Science*, 88-97.
- Forsythe, J. 1984. *Octopus joubini* (Mollusca: Cephalopoda): a detailed study of growth through the full life cycle in a closed seawater system. *Journal Zoology London*, 393-417.
- Forsythe, J., y Hanlon, R. 1980. A closed marine culture system for rearing *Octopus joubini* and other large-egged benthic octopods. *Laboratory Animals*, 14, 137-142.
- Forsythe, J., y Hanlon, R. 1988. Effect of temperature on laboratory growth, reproduction and life span of *Octopus bimaculoides*. *Marine Biology*, 98, 367-379.
- Forsythe, J., DeRusha, R., y Hanlon, R. 1983. Notes on the Laboratory culture of *Octopus bimaculoides*, the California Mud-flat Octopus. *American Malacological Bulletin*, 92-93 [Abstract].
- Garcia, A. 2010. Comparative study of the morphology and anatomy of octopuses of the family Octopodidae. *Master of Applied Science*, 266. Auckland University of Technology, Australia.
- Guerra-Sierra, A. 1992. *Mollusca: Cephalopoda* (Vol. 1). Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales.
- Hanlon, R. 1983. *Octopus briareus*. En P. Boyle, *Cephalopod life cycles, Vol I: Species accounts*. London: Academic Press, 475.
- Hanlon, R., y Forsythe, J. 1985. Advances in the laboratory culture of octopuses for biomedical research. *Laboratory Animal Science*, 33-40.
- Hochberg , F. 1980. Class Cephalopoda. En R. Brusca , *Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California* (págs. 201-204). Tucson, Arizona: University of Arizona Press.
- Iglesias, J., Fuentes, L., y Villanueva, R. 2014. *Cephalopod culture*. Netherlands: Springer, 494.

- Iglesias, J., Sánchez, F., Otero, J., y Moxica, C. 1999. Cultivo de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier): Situación actual, problemas y perspectivas. *Foro Internacional de la Conservación de productos de la pesca de Galicia*, 311-320.
- Ignatius, B., y Srinivasan, M. 2006. Embryonic development in *Octopus aegina* Gray, 1849. *Current Science*, 91(8), 1089-1092.
- Iribarne, O. 1991. Life history and distribution of the small south-western Atlantic octopus, *Octopus tehuelchus*. *Journal Zoology London*, 549-565.
- Jereb, P., Roper, C., Norman, M., y Finn, J. 2016. *Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volumen 3. Octopods and Vampire Squids* (Vol. 3). Rome: FAO Species Catalogue for Fishery Purposes.
- Kamler, E. 1992. Early life histories of fish: an energetics approach. *London: Chapman y Hall*.
- Kirkendall, L., y Stenseth, N. 1985. On defining 'breeding once'. *American Naturalist*, 125, 189-204.
- Klug, H. y Lindström, K. 2008. Hurry-up and hatch: selective filial cannibalism of slower developing eggs. *Biology Letters*, 160-162.
- Lenz, T. M., Elias, N. H., Leite, T. S., y Vidal, E. A. 2015. First description of the Eggs and Paralarvae of the Tropical Octopus, *Octopus insularis*, under culture conditions. *American Malacological Bulletin*, 33(1), 1-9.
- Mangold, K. 1987. Reproduction. En P. Boyle, *Cephalopod life cycles*, 157-200.
- Mangold, K., Boletzky, S., y Frösch, D. 1971. Reproductive biology and embryonic development of *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda: Octopoda). *Marine Biology*, 109-117.
- Mangold, K., Young, R., y Nixon, M. 1993. Growth versus maturation in cephalopods. En T. Okutani, R. O'Dor, y T. Kubodera, *Recent advances in cephalopod fisheries biology*. Tokai University press.
- Mangold, W., y Boletzky, S. 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Marine Biology*, 7-12.
- Manica, A. 2002. Filial cannibalism in teleost fish. *Biological Reviews*, 261-277.

- Martínez y Martínez, E. 2014. Plan de manejo pesquero del pulpo (*O. maya* y *O. vulgaris*) del Golfo de México y Mar Caribe. *Diario Oficial de la Feredación (DOF)*.
- Mereu, M., Agus, B., Alvito, A., Atzori, G., Fois, M., y Cuccu, D. 2014. Artificial dens for *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 in the Sarinian sea. *Biologpia Marina Mediterranea*, 287-288.
- Messenger, J. 2001. Cephalopod chromatophores: neurbiology and natural history. *Biological Reviews*, 473-528.
- Moxica, C., Linares, F., Otero, J., Ilgesias, J., y Sánchez, F. 2002. Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1799, en tanques de 9 m³. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 18(1-4), 31-36.
- Naef, A. 1923. Cephalopoda. Part II. *Fauna and Flora of the Gulf of Naples*, 1, 313-917.
- Naef, A. 1928. *Cephalopoda Embriology. Part I.* (Vol. II). Fauna and Flora of the Bay of Napoles.
- Narváez, M. 2015. *Cultivo de pulpo: Innovacion Tecnológica con trascendencia Ecológica y Social*.
- Nesis, K. 1977. The biology of paper nautiluses, *Argonauta boettgeri* and *A. hians* (Cephalopoda, Octopoda), in the western Pacidic and the seas of the East Indian Archipelago. *Zoologicheskii Zhurnal*, 1004-1014.
- Nesis, K. 1996. Mating, spawning, and death in oceanic cephalopods: a review. *Ruthenica*, 23-64.
- Norman, M. D. 2016. General remarks on Octopods. En FAO, *Species Catalogue for Fishery Purposes: Vol. 3. Cephalopods of the world* (Vol. 3, pág. 398).
- O'Dor, R., y Wells, M. 1978. Reproduction versus somatic growth: hormonal control in *Octopus vulgaris*. *Journal of Experimental Biology*, 15-31.
- O'Dor, R., Foy, E., Helm, P., y Balch, N. 1986. The locomotion and energetics of hatchling squid, *Ollex illecebrosus*. *American Malacological Bulletin*, 55-60.
- Okutani, T. 1984. Biology of Cephalopoda, 34: Systematics and Life History of Benthic Octopoda (2). *Aquabiology*, 330-335.

- Oltra, R., Alemany, F., Roig, M., y Mezquita, F. 2005. Engorde de pulpo *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 en jaula flotante en la costa mediterránea de Levante. *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 21(1-4), 187-194.
- Ortiz, N., Ré, M. E., y Márquez, F. 2006. First description of eggs, hatchlings and hatchling behaviour of *Enteroctopus megalocyathus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Journal of Plankton Research*, 28(10), 881-890.
- Osborn, S. 1995. Fecundity and embryonic development of *Octopus rubescens* Berry from Monterey Bay, California. *Master's Theses*. San Jose State University: SJSU ScholarWorks.
- Overath, H., y Boletzky, S. v. 1974. Laboratory Observations on Spawning and Embryonic Development of a Blue-Ringed Octopus. *Marine Biology*, 27, 333-337.
- Perrier, E., y Rocheburne, A. 1984. Sur octopus nouveau de la basse Californie, habitant les coquilles des Mollusques bivalves. *Comptes Rendus des Seances de l'Academie des Sciences*, 118, 770-773.
- Repolho, T., Baptista, M., Pimentel, M., Dionísio, G., Trübembach, K., Lopes, V., Rosa, R. 2014. Developmental and physiological challenges of octopus (*Octopus vulgaris*) early life stages under ocean warming. *Journal of Comparative Physiology B*, 184, 55-64.
- Rey-Mendéz, M. 2015. Cultivo de pulpo: una alternativa en la producción a pequeña escala. *VII Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura.*, 179-192.
- Robson, G. 1929. A monograph of the Recent Cephalopoda. Part I. Octopodinae. 236. London, British Museum (Natural History).
- Rocha, F., Guerra, A., y González, A. 2001. A review of reproductive strategies in cephalopods. *Cambridge Philosophical Society*, 291-304.
- Rochebrune, A. 1895. Note sur les Mollusques recueillis par M. Diguët en Basse-Californie. 2, 1-2.
- Rodaniche, A. F. 1984. Iteroparity in the lesser pacific striped octopus *Octopus chierchiae* (Jatta, 1889). *Bulletin of marine science*, 99-104.
- Rodhouse, P. 1998. Physiological progenesis in cephalopod molluscs. *Biological Bulletin*, 17-20.

- Rodríguez Serna, M., y Carmona Osalde, C. 2008. Crecimiento y supervivencia de crías de pulpo (*Octopus maya*): alimentados con dietas inertes bajo condiciones de laboratorio en Yucatán, México. *Hidrobiología*, 18(3), 209-214.
- Roper, C., Sweeney, M., y Hochberg, F. 1995. Cefalopodos. En W. Fischer, F. Krupp, C. Sommer, K. Carpenter, y V. Niem, *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: Pacífico Centro-Oriental. Vol 1 Platas e Invertebrados* (Vol. 1). Roma: FAO.
- Rosas, C. 2005. Baby Octopus Production and Farming; Technological Offer of UNAM Available in Mexico. *Panorama Acuicola Magazine*, 9.
- Sánchez, P. 2003. Cephalopods from off the Pacific coast of Mexico: Biological aspects of the most abundant species. *Scientia Marina*, 67(1), 81-90.
- Sarvesan, R. 1969. Some observation on parental care in *Octopus dolifusi* Robson (Cephalopoda: Octopodidae). *Journal of the Marine Biological Association of India*, 203-205.
- Saville, A. 1987. Comparisons between cephalopods and fish of those aspects of the biology related to stock management.
- Smith, C., y Wootton, R. 1995. The costs of parental care in teleost fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7-22.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Fernández-Palacios, H., y Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 en jaulas flotantes alimentado exclusivamente con boga *Boops boops* (L., 1758) de descarte de la acuicultura. *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 21(1-4), 207-212.
- Solis Ramirez, M. 1967. Aspectos biológicos del pulpo *Octopus Maya* Voss y Solis. *Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras*, 1-90.
- Stoskopf, M., y Oppenheim, B. 2006. Anatomical features of *Octopus bimaculoides* and *Octopus digueti*. *Zoo and Wildlife Medicine*, 27(1), 1-18.
- Stranks, T. 1988. Redescription of *Octopus Pallidus* (Cephalopoda: Octopodidae) from south eastern Australia. *Malacologia*, 29(1), 275-287.
- Stranks, T. 1990. Three new species of *Octopus* (Mollusca: Cephalopoda) from south-eastern Australia. *Meoirs of the Museum of Victoria*, 50 (2), 457-465.

- Sweeney, M., Roper, C., Mangold, K., Clarke, M., y Boletzky, S. 1992. *"Larval" and Juvenile cephalopods: A Manual for Their Identification*. Washington D.C.: Smithsonian Institution Press.
- Tanabe, K., Tsukahara, J., Fukuda, Y., y Taya, Y. 1991. Histology of living Nautilus embryo: preliminary observations. *Journal of Cephalopod Biology*, 13-22.
- Tranter, D., y Augustine, O. 1973. Observation on the Life History of the Blue-Ringed Octopus *Hapalochlaena maculosa*. *Marine Biology*, 18, 115-128.
- Uriarte, I., Espinoza, V., Gutiérrez, R., Zúñiga, O., Olivares, A., Carbonell, P., Farias, A. 2014. Key aspects of egg incubation in Patagonian red octopus (*Enteroctopus megalocyathus*) for cultivation purposes. *Aquaculture*, 158-166.
- Van Heukelem, W. 1983. *Octopus cyanea*. En B. P.R., *Cephalopod Life Cycles, vol 1. Species Accounts*. London: Academic Press, 267-276
- Vidal, E. A., Villanueva, R., Andrade, J. P., Gleadall, I. G., Iglesias, J., Koueta, N., Wood, J. 2014. Cephalopod Culture: Current Status of Main Biological Models and Research Priorities. En B. E. Curry (Ed.), *Advances in Marine Biology* (Vol. 67, pág. 98). Elsevier Ltd.
- Villanueva, R., y Norman, M. 2008. Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. *Oceanography and Marine Biology*, 105-202.
- Voight, J. 1987. Shell use by the Pacific pygmy Octopus. *Hawaiian Shell News*, 9-11.
- Voight, J. 1990. Population Biology of *Octopus digueti* and the Morphology of American Tropical Octopods. (Ph.D. dissertation). 196. University of Arizona, Tucson, Arizona.
- Ward, P. 1987. The natural history of Nautilus. *Allen y Unwin Inc*.
- Warr, D. 1987. *Seashore Biology Notes: A Field Guide to the Common Animals in the Northern Gulf of California Tidepools*. Tucson, Arizona: Winter Publishing Co.
- Wells, J. 1962. Brain and behavior in Cephalopods. *Stanford University Press*, 171.
- Wells, M. J. 1978. Octopus: Physiology and Behaviour of an Advanced Invertebrate. Chapman and Hall.
- Wilbur, K. M. 1983. *The Mollusca* (Vol. 5). New York: Academic Press.
- Wodinsky, J. 1978. Feeding behavior of broody female *Octopus vulgaris*. *Animal Behaviour*, 803-813.

- Yamamoto, M. 1988. Normal embryonic stages of the pygmy cuttlefish, *Idiosepius pygmaeus paradoxus* Ortmann. *Zoological Science*, 989-998.
- Young, R., Harman, R., y Hochberg, F. 1989. Octopodid paralarvae from Hawaiian waters. *Veliger*, 152-165.

ANEXOS

ANEXO I. Histología del desarrollo embrionario del ojo de *P. digueti*

Los primordios oculares comenzaron a ser visibles en el estadio VI, sin embargo fue difícil obtener los cortes histológicos de estos primeros estadios.

En el estadio IX, el ojo se encuentra formado por una retina neural no diferenciada, se logra observar tejido lentigenico primordial y células de la córnea. En este estadio el desarrollo del lente se observa ligeramente avanzado proyectándose del borde de la retina neural hacia la cámara posterior del ojo (Fig. 1).

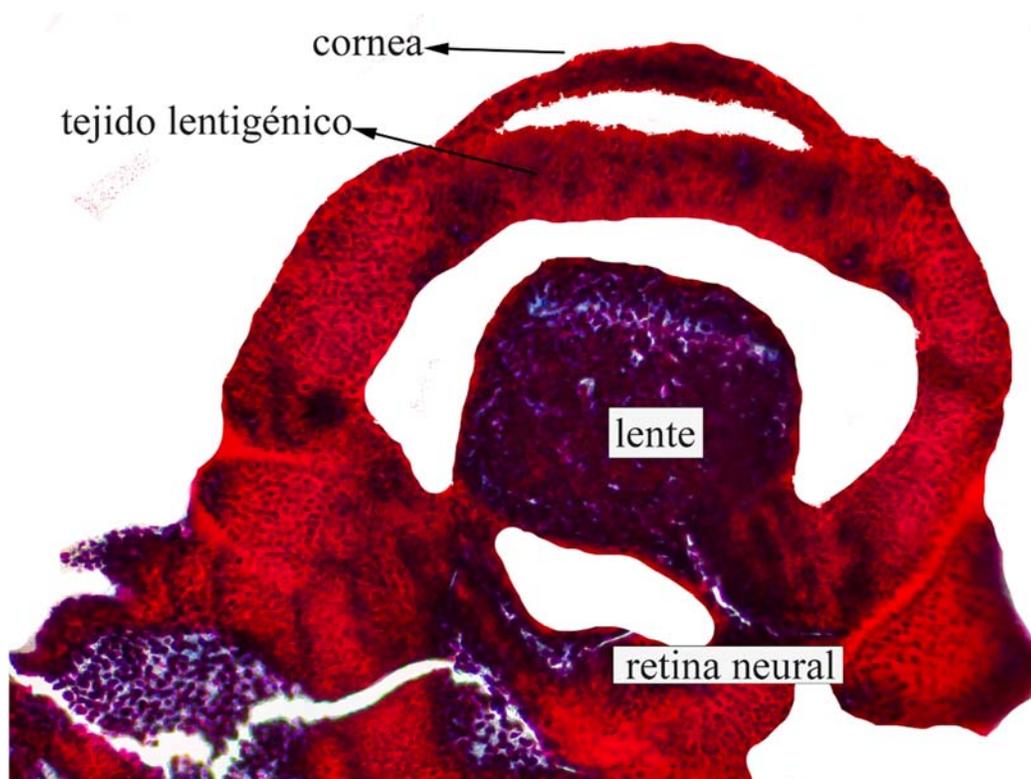


Figura 1. Lente primordial y retina neural, estadio IX del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

En el estadio XIII se observa la diferenciación de las células fotorreceptoras distales y una pequeña diferenciación en la retina neural observándose la membrana basal. El lente presenta un desarrollo considerable presentando una forma ovalada e iniciando la cristalización de las proteínas de la lente (Fig. 2). El lóbulo óptico en este estadio se encuentra ya formado y en desarrollo.

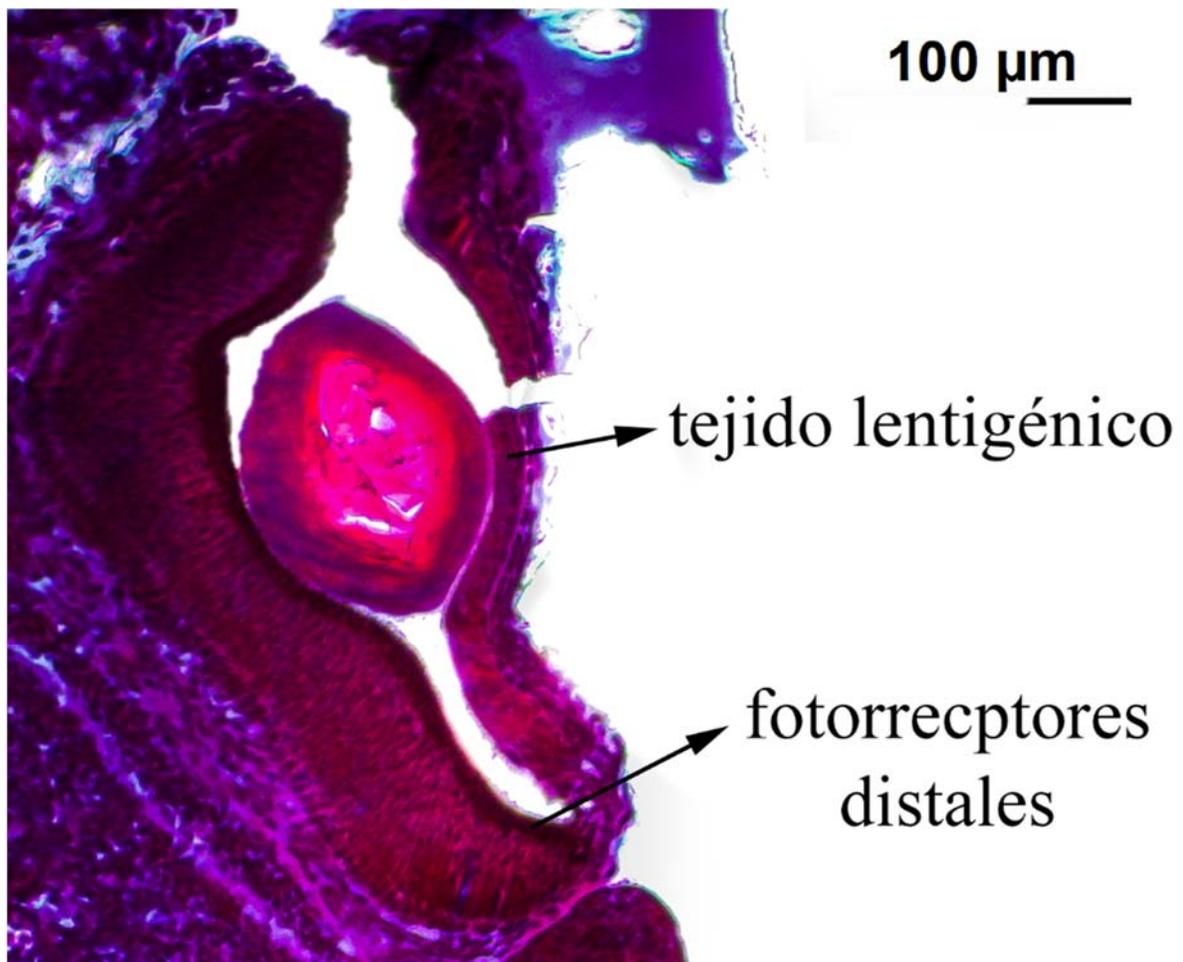


Figura 2. Ojo en estadio XIII del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

En el estadio XV el lente presenta una forma esférica y una mayor cristalización. Por encima del tejido lentigénico se observa el inicio del desarrollo del iris (Fig. 3). Por otro lado el lóbulo óptico se logra observar una capa granular interna con numerosas somas neuronales y poco neuropilo entre las células, se observa ligeramente la diferenciación de la capa plexus y una capa granular externa (Fig. 4).

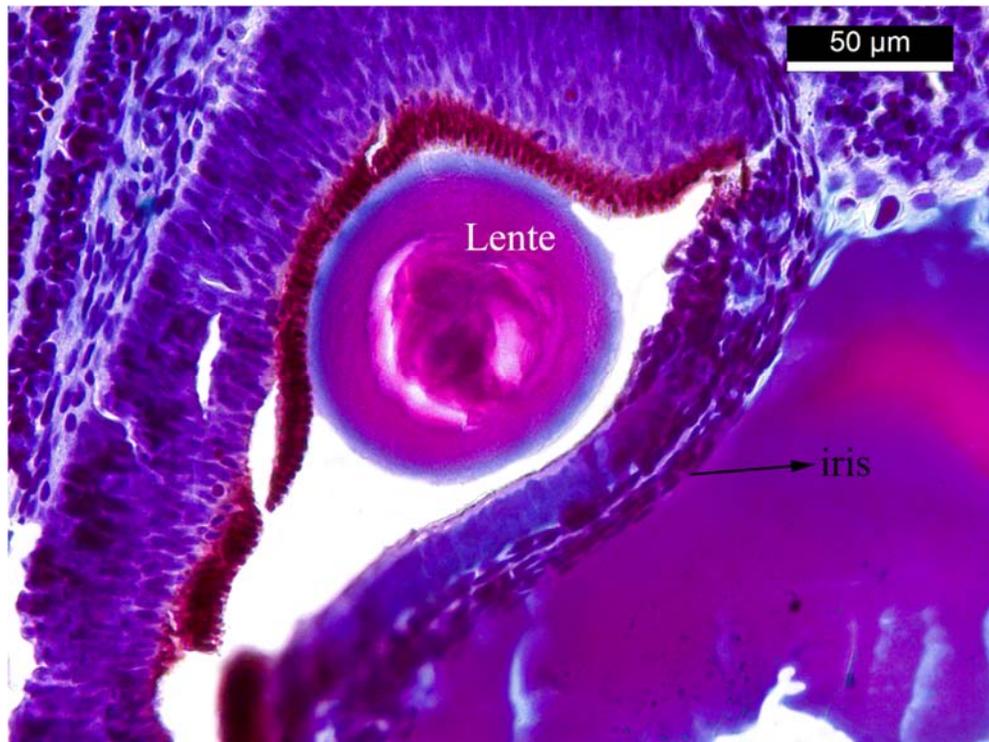


Figura 3. Lente en estadio XV del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

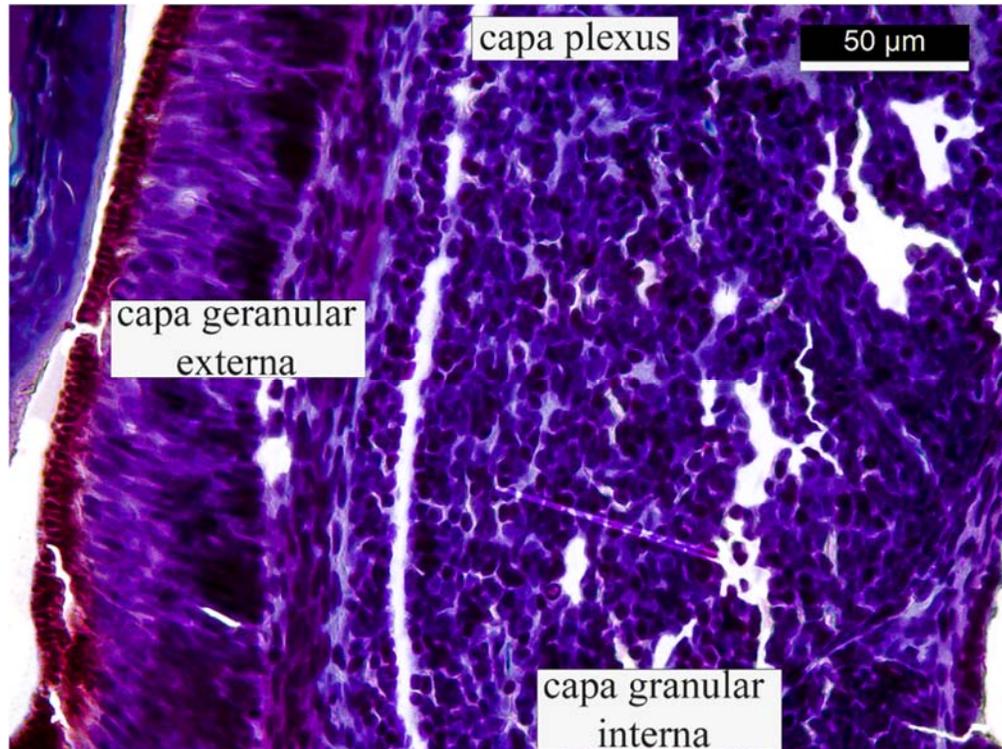


Figura 4. Lóbulo óptico, estadio XV del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

En el estadio XVI el lente se encuentra con una forma más definida y con un mayor volumen. Se observa la diferenciación de la retina, de manera que los núcleos de los fotorreceptores y los núcleos de las células de soporte se encuentran claramente delineados y separados por una membrana basal. En este estadio el pigmento de melanina es visible en el tejido del iris (Fig. 5).

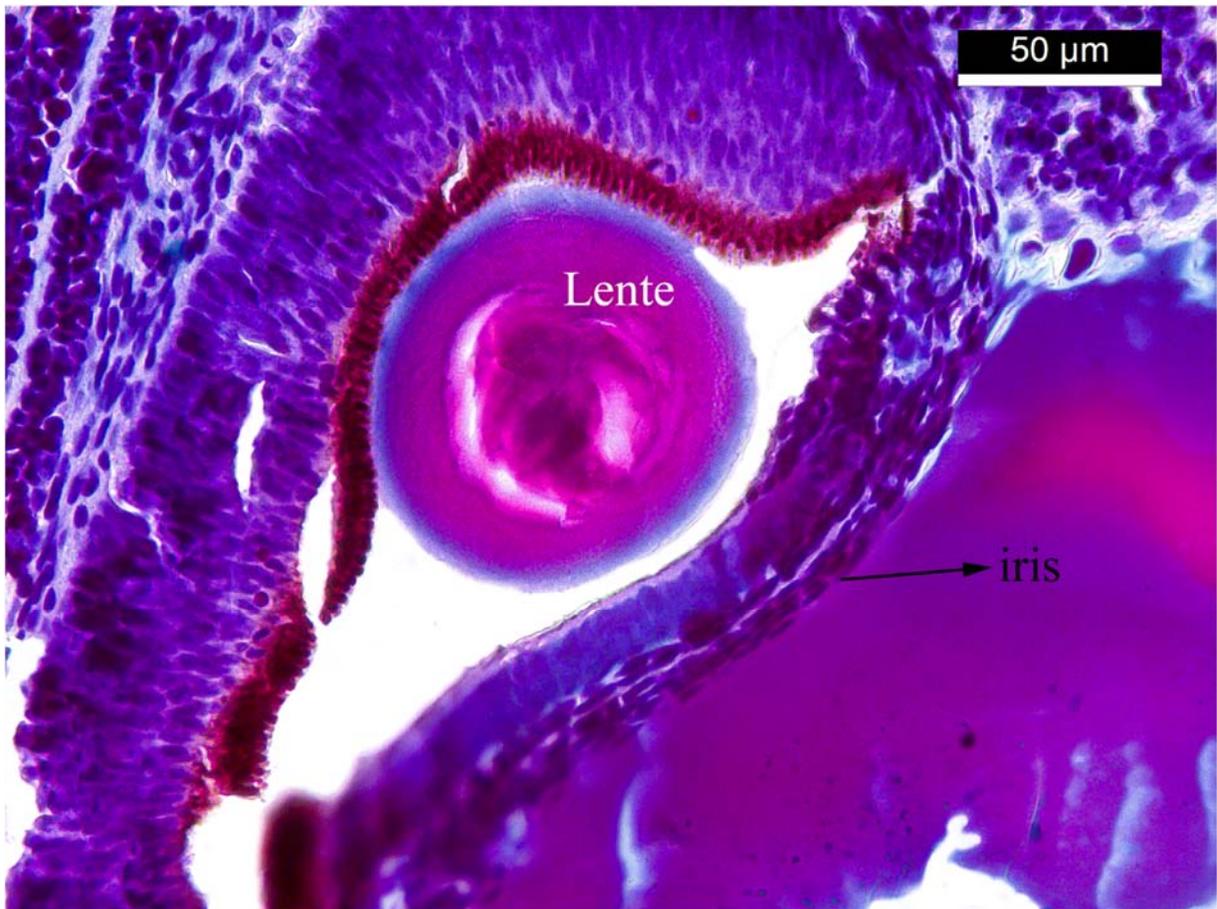


Figura 5. Lente en estadio XVI del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

Las capas del lóbulo óptico se ven completamente diferenciadas y claramente delineadas por los somas neuronales, la capa plexiforme se observa sin neuropilo al igual que en la capa granulosa interna, la cual presenta pequeños manchones de neuropilo que separa a los somas neuronales (Fig. 6).

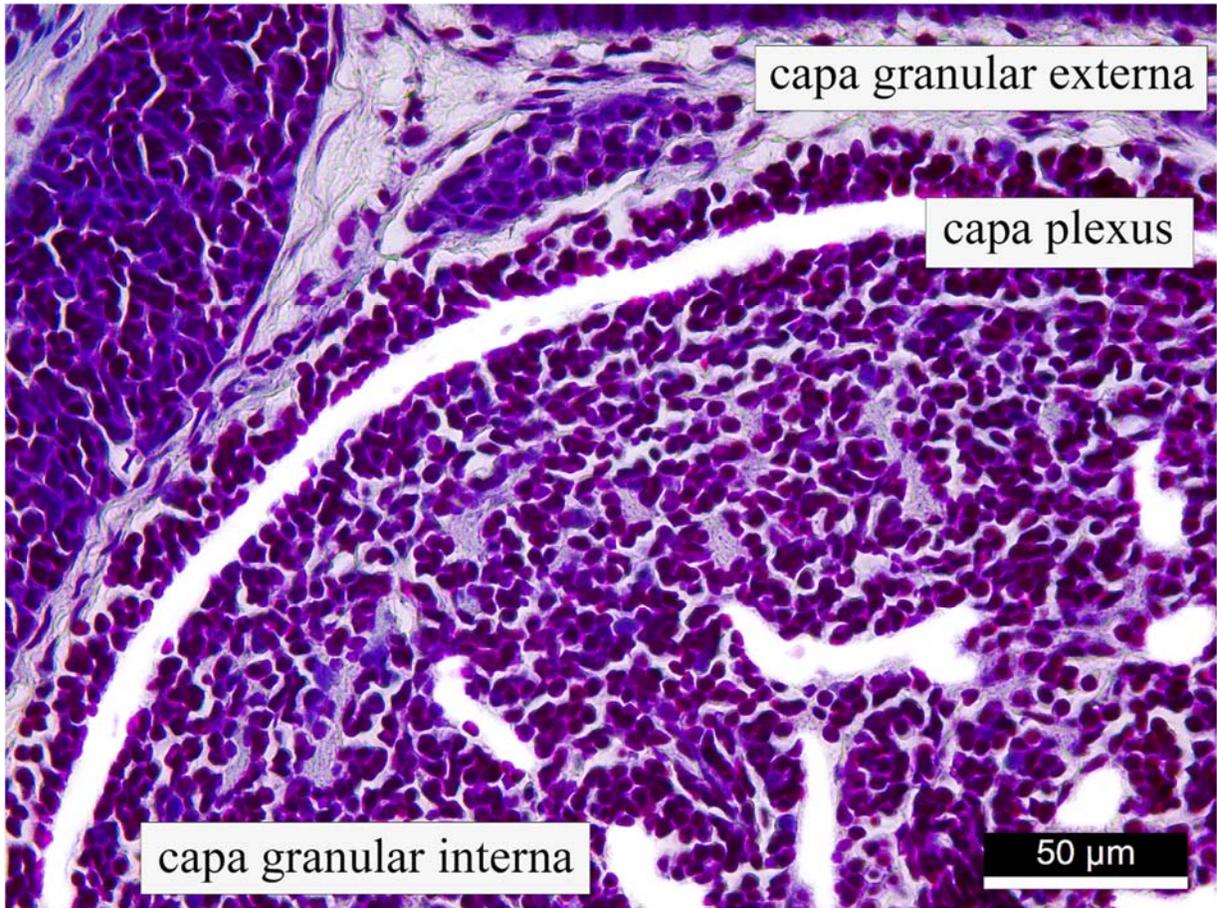


Figura 6. Lóbulo óptico, estadio XVI del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

En el estadio XX el lente se observa de un mayor tamaño y se observan anillos cristalizados definidos y humor vítreo, el tejido lentigenico comienza a dividirse posicionándose en la parte lateral del lente, dando lugar a los cuerpos ciliares (Fig. 7).

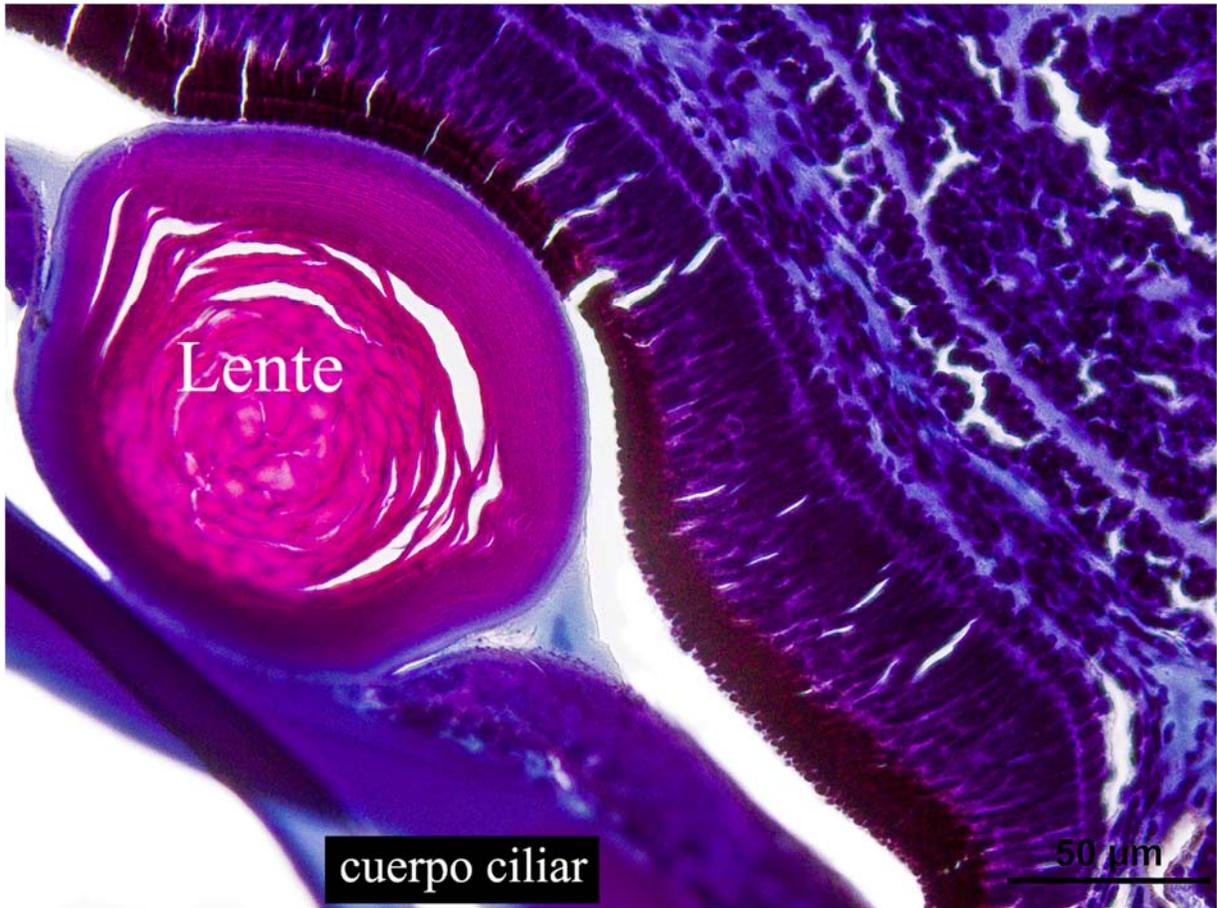


Figura 7. Ojo en estadio XX del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

En el estadio XXIII el lente se observa posicionado en la cámara posterior del ojo unida a los cuerpos ciliares, el tejido del iris es más evidente por el aumento del pigmento de melanina. La lámina de fotorreceptores distales presenta un engrosamiento (Fig. 8)

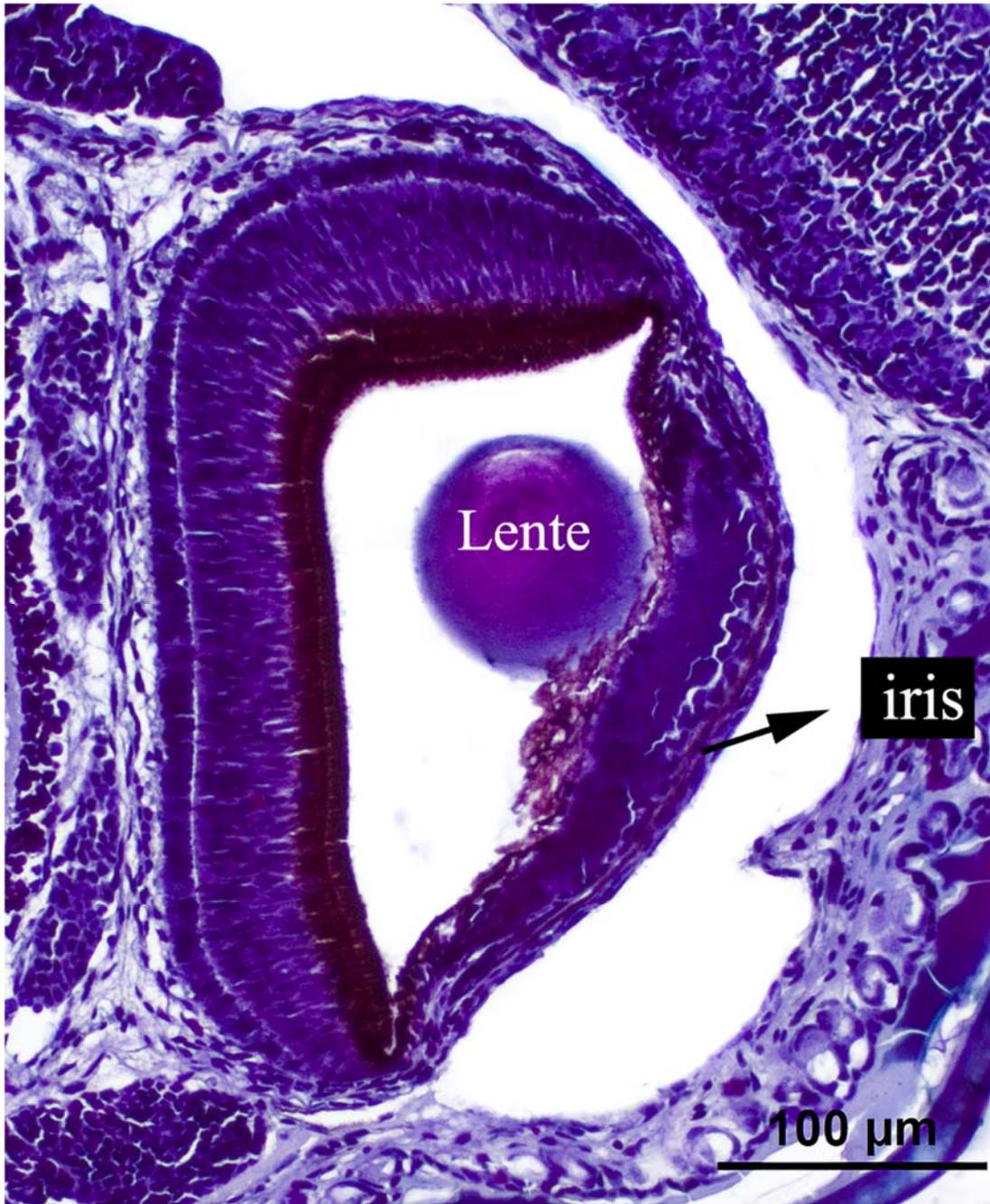


Figura 8. Ojo en estadio XXIII del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

El lóbulo óptico en este estadio presenta una mayor concentración de neuropilo en la capa plexus y en la separación de somas neuronales de la capa granulosa interna (Fig. 9)

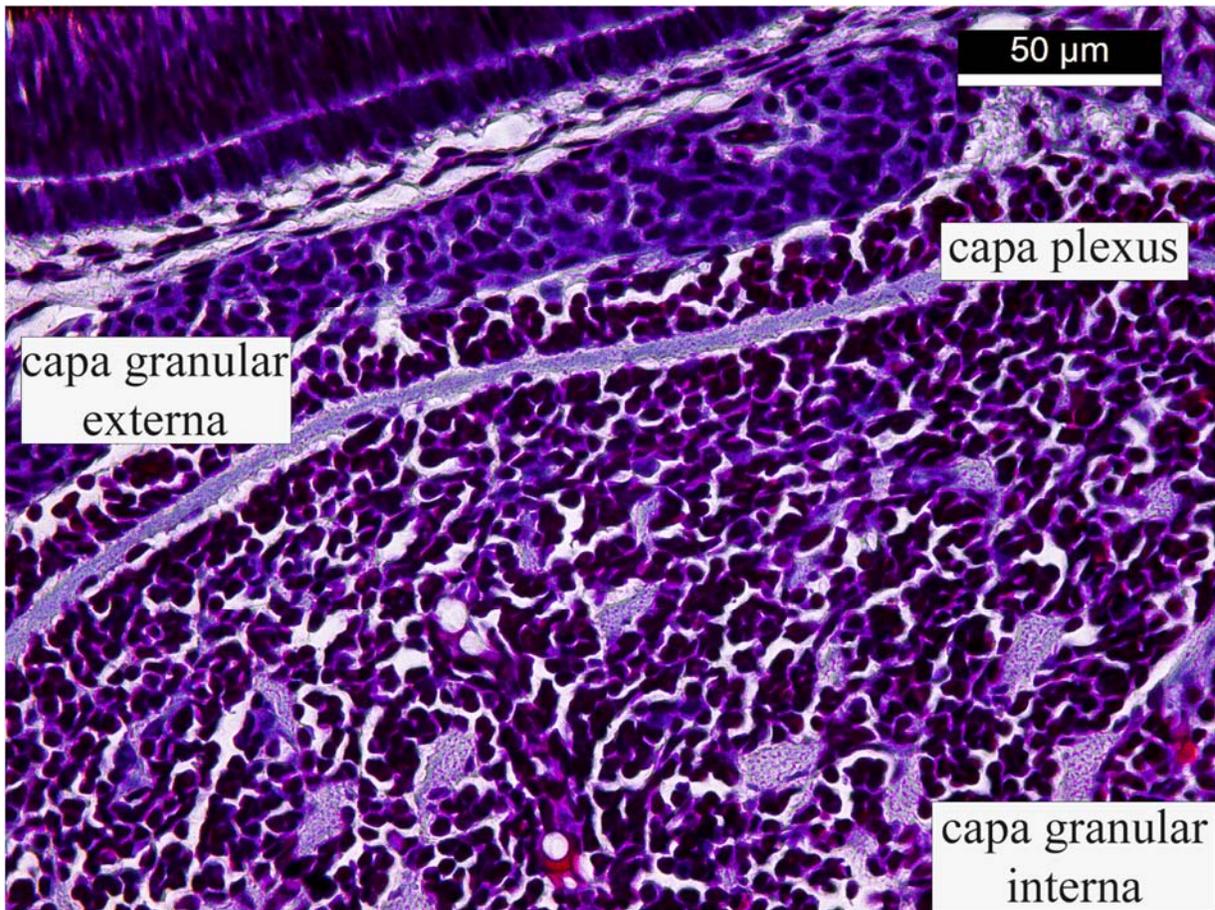


Figura 9. Lóbulo óptico, estadio XXIII del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

En el estadio XXVII se observa una formación del núcleo del lente, los cuerpos ciliares se observan completamente diferenciados. Por otro lado la retina se encuentra diferenciada con la presencia de los fotorreceptores distales y diferenciación de los rbdomeros, las células de soporte, la membrana basal y finalmente los fotorreceptores proximales (Fig. 10). El tejido de la córnea se extiende cubriendo toda la parte frontal del ojo.

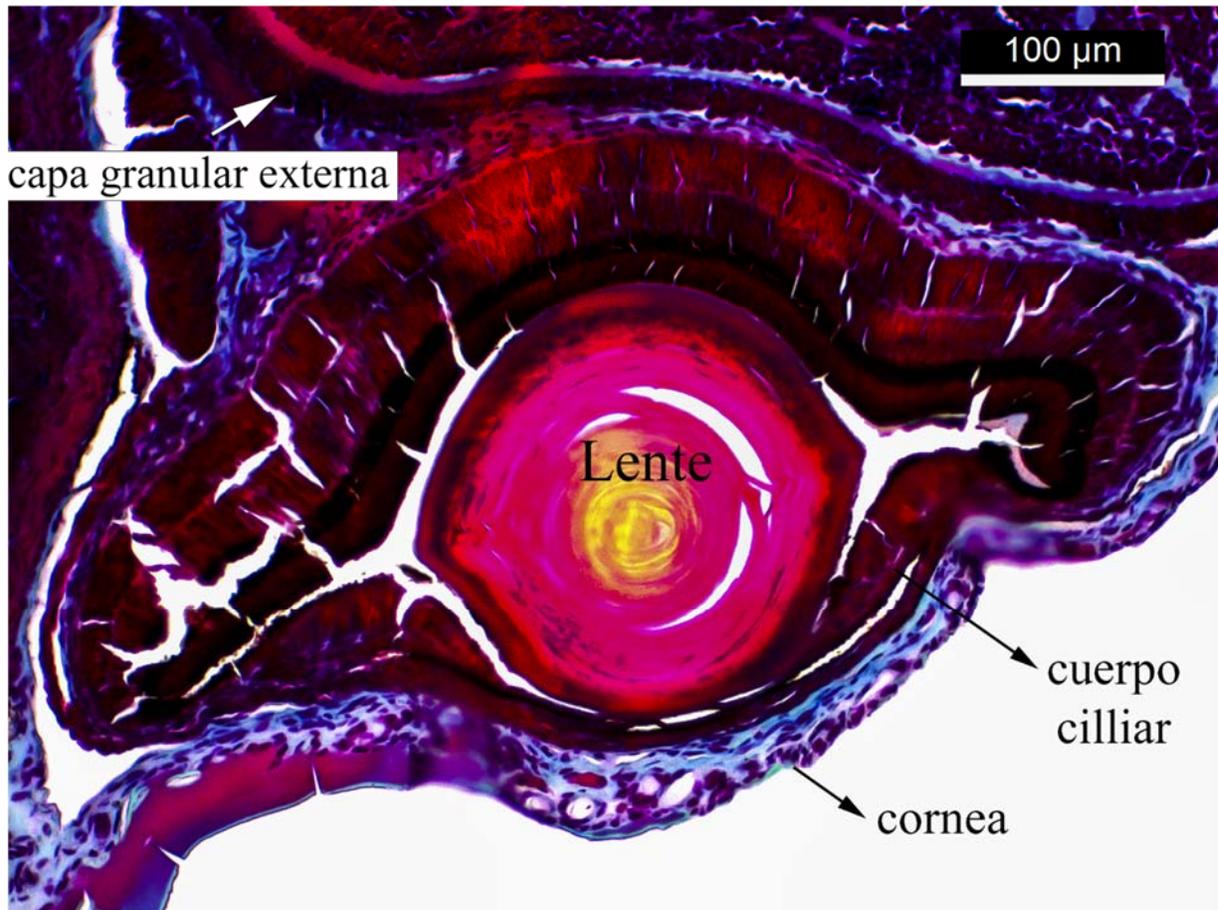


Figura 10. Ojo en estadio XVI del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

El estadio XXVIII se observa con mayor definición el desarrollo del núcleo del lente, rodeado por una corteza delgada. La formación de segmentos de lente interno y externos es evidente (Fig. 11).



Figura 11. Ojo en estadio XVI del desarrollo embrionario de *P. digueti*.

Finalmente en el organismo nacido, estadio XXXVI, se observa un ojo completamente desarrollado con un lente de mayor tamaño, el lente interno y externo se observan con mayor claridad y diferenciación. Las células fotorreceptoras aumentan de tamaño, junto con los rabdómeros y las células nucleares de soporte se disminuyen (Fig. 12)

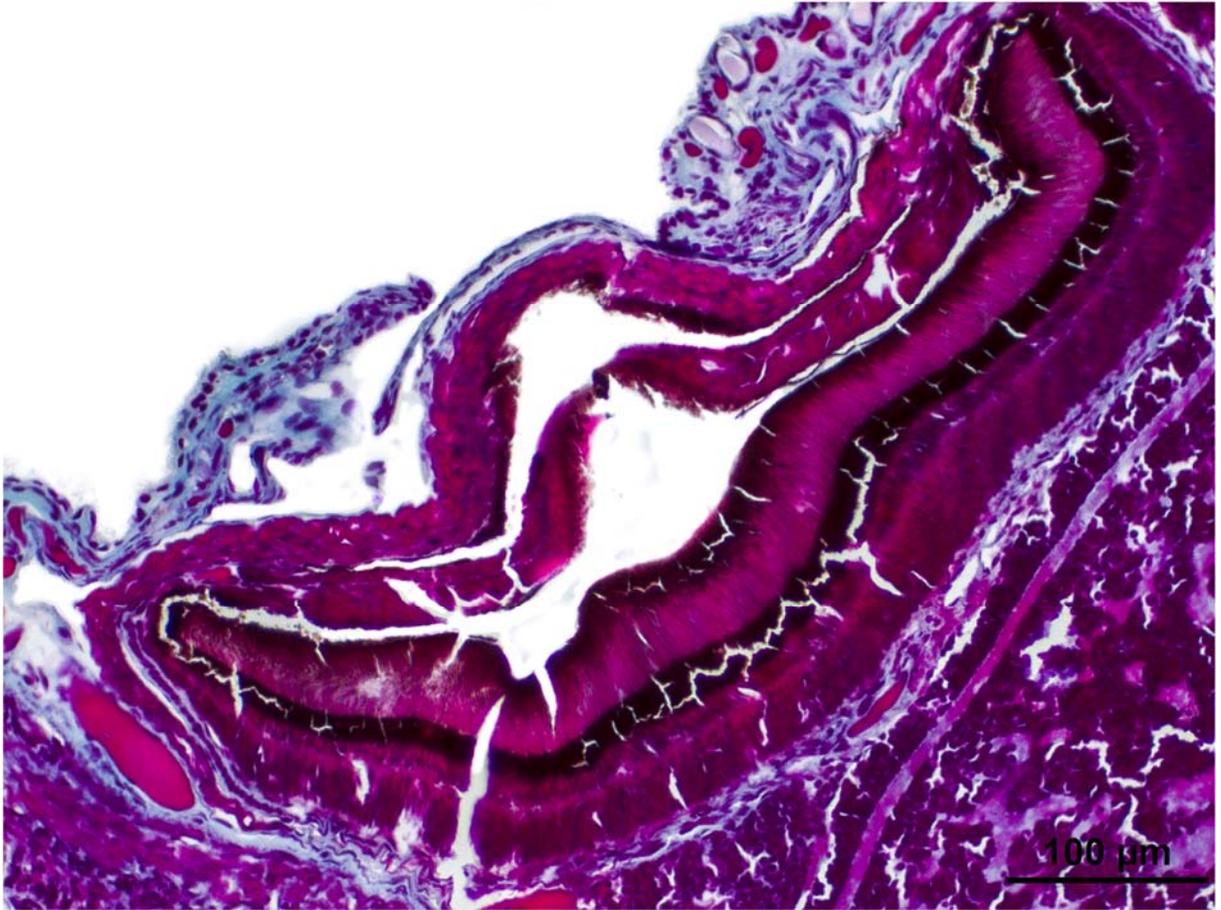
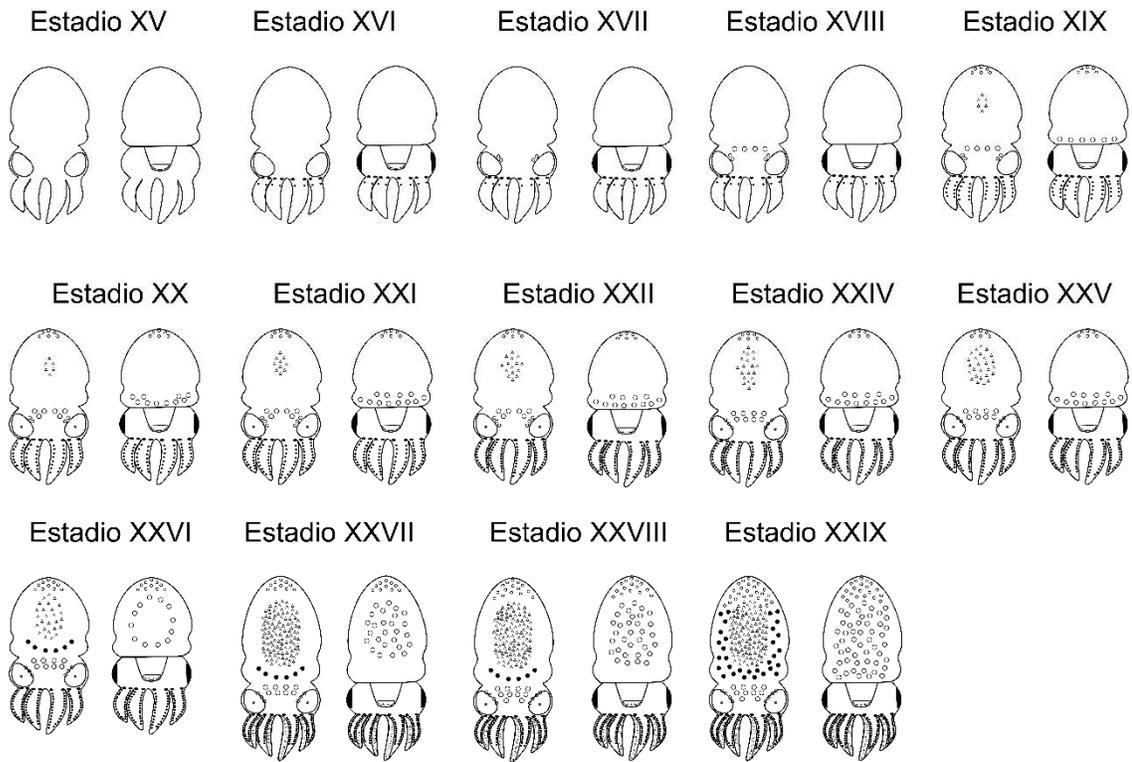


Figura 12. Ojo en completo desarrollo en estadio XXXVI de *P. digueti*.

ANEXO II. Patrón de cromatóforo de *Paroctopus digueti*. Esquema izquierdo dorsal, esquema derecho ventral.



ANEXO III. Intervalos en la superficie corporal de pulpos y Patrón de cromatóforos.

Especie	Cromatóforos				Referencias
	Sifón	Manto	Cabeza	Brazos	
<i>O. insularis</i>	8	44-92	6	4-5	Lenz <i>et al.</i> , 2015
<i>O. bimaculatus</i>	8	50-65	20-26	8	Ambrose, 1981
<i>Enteroctopus megalocyathus</i>	11-18	135-241	42-95	14-23	Ortiz <i>et al.</i> , 2006
<i>O. hubbsorum</i>	4	52-59	15	4	Alejo-Plata y Herrera, 2014
<i>O. huttoni</i>	4	7-23	8	4	Carrasco, 2014
<i>Pinnoctopus cordiformis</i>	3	6-20	2-7	6-14	Carrasco, 2014

ANEXO IV. Tiempo de desarrollo embrionario y fecundidad de especies de pulpo con desarrollo directo. LM= longitud del manto, LH= longitud del huevo, Tiempo de desarrollo en días.

DESARROLLO DIRECTO						
Especie	Talla	LM (cm)	LH (mm)	Fecundidad	Tiempo desarrollo	Referencias
<i>O. joubini</i>	Pequeña	4.5	6-10	25-300	30-40	Bradley, 1974; Forsythe y Hanlon, 1980; Hanlon y Forsythe, 1985
<i>Hapalochlaena maculosa</i>	Pequeña	5.7	6-9	100-200	60 (20.8-22.5°C)	Tranter y Agustine, 1973
<i>P. digueti</i>	Pequeña	6	6-8	50-250	36-50	Hanlon y Forsythe, 1985, DeRusha et al., 1987
<i>O. tehuelchus</i>	Pequeña		9-12	80+	120 (14 a 19°C)	Iribarne, 1991
<i>O. minor</i>	Pequeña	8	21-22	50-200	72-89	Okutani, 1984, Iglesias et al., 2014
<i>O. bimaculoides</i>	Grande	8.5	12-17	200-750	55	Forsythe et al., 1983; Hanlon y Forsythe, 1985
<i>O. briareus</i>	Grande	12	10-14	150-950	60-70	Boletzky, 1969; Hanlon y Forsythe, 1985

<i>O. maya</i>	Grande	12	11-17	500-5,000	50-65 natural 45 en lab.	Solis, 1967; Hanlon y Forsythe, 1985; Iglesias <i>et al.</i> ,2014
<i>O. californicus</i>	Grande	14	14-17	50-100		Sweeney, 1999
