



Universidad Veracruzana

Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías

Región Veracruz

Posgrado en Ecología y Pesquerías

Efecto de la temperatura y salinidad en embriones y
paralarvas de pulpo *Octopus insularis* Leite & Haimovici, 2008

Tesis para obtener el grado de Maestro en
Ecología y Pesquerías

Presenta:

Fernando Ariel Rodríguez Reyes

Directores:

Dra. María Piedad Sánchez Morillo-Velarde
Dr. César Gabriel Meiners Mandujano

Asesores:

Dr. Roberto González Gómez
Dra. Gabriela Galindo Cortés
Dr. Virgilio Arenas Fuentes

Agosto de 2022

“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”



Universidad Veracruzana

Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías
Región Veracruz

Posgrado en Ecología y Pesquerías

*Efecto de la temperatura y la salinidad en embriones y paralarvas
de pulpo Octopus insularis Leite & Haimovici, 2008*

Tesis para obtener el grado de Maestro en
Ecología y Pesquerías

Presenta:

Biol. Mar. Fernando Ariel Rodríguez Reyes

Directores:

Dra. María Piedad Sánchez Morillo-Velarde

Dr. César Gabriel Meiners Mandujano

Asesores:

Dr. Roberto González Gómez

Dra. Gabriela Galindo Cortés

Dr. Virgilio Fuentes Arenas

Agradecimientos

Primeramente, quisiera agradecer al programa de posgrado en Ecología y Pesquerías perteneciente al Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías (ICIMAP) de la Universidad Veracruzana por su apoyo y conocimientos para que alumnos desarrollen sus propuestas de investigación en el ámbito ecológico, pesquero y acuícola.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (No. CVU 1077674) durante los dos años de maestría, con la cual fue posible el desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Dra. María Piedad Sánchez, por ser mi directora de tesis y tutor académico, y al Dr. Roberto González Gómez que en conjunto confiaron en mí para llevar a cabo esta tesis, por brindarme sus conocimientos, dedicación, tiempo y empeño durante todo este proceso académico. A pesar de la complicación por pandemia COVID-19 y la distancia, con su apoyo y entrega se logró culminar este trabajo.

A mi director/asesor el Dr. César Meiners por brindarme su apoyo académica y administrativamente durante todo este proceso.

A la Dra. Maite Mascaró quien brindó sus conocimientos en estadística multivariada para llevar a cabo el análisis de los resultados de este proyecto.

A mi comité tutorial por sus observaciones y correcciones con las cuales se afianzo el escrito.

A mi compañera de maestría, amiga y pareja Adaline Xocoyotzi por su total apoyo cuando todo parecía ir mal, por confiar siempre en mí y por todo sus ánimos, cariño y amor que me ha brindado.

A mi psicóloga Fer Tufiño, gracias por sus consejos y herramientas para sobrellevar las malas situaciones vividas.

Finalmente, a mi familia, mi padre Victor Manuel, a mi primo Carlos Fabián, mi hermano Victor Iván y a mi madre Francisca Reyes por su apoyo y cariño incondicional, sí se pudo.

Gracias.

Índice

Agradecimientos	1
Índice	3
Resumen.....	3
I. Introducción	5
I.1 El estado de la pesquería y cultivo de pulpo.....	6
I.2 El efecto de la temperatura y la salinidad en pulpos.....	9
I.3 Biología y ecología de <i>Octopus insularis</i>	10
II. Antecedentes.....	11
III. Hipótesis.....	17
IV. Objetivos	17
IV.1 General.....	17
IV.2 Particulares	17
V. Material y métodos.....	18
V.1. Aclimatación de progenitores y obtención de la puesta	18
V.2. Diseño experimental del efecto de la temperatura.....	19
V.3 Diseño experimental del efecto de la salinidad.....	21
V.4 Muestreo de huevos y paralarvas.....	22
V.5 Estimación del porcentaje de eclosión de los huevos	23
V.6 Análisis estadístico de los datos.....	23
VI. Resultados.....	25
VI.1 Efecto de la temperatura en embriones y paralarvas de <i>O. insularis</i>	25
VI.1.1 Tiempo de desarrollo embrionario y estadios Naef	25
VI.1.2 Cambios explicados por las variables morfométricas de los embriones	27
VI.1.4 Diferencias morfométricas entre paralarvas	31
VI.1.5 Porcentaje de eclosión.....	32
VI.1.6 Peso húmedo de huevos y paralarvas	32
VI.2 Efecto de la salinidad en huevos y paralarvas de <i>O. insularis</i>	34
VI.2.1 Tiempo de desarrollo embrionario y estadios Naef	34
VI.2.2 Cambios explicados por las variables morfométricas de los embriones	35
VI.2.4 Diferencias morfométricas entre paralarvas	40
VI.2.5 Porcentajes de eclosión	40

VI.2.6. Peso húmedo de huevos y paralarvas	40
VII. Discusión	42
VIII. Conclusiones	51
Referencias.....	53
ANEXOS	58
Anexo 1. Efecto de la temperatura en huevos y paralarvas de <i>O. insularis</i>	58
Anexo 2. Efecto de la salinidad en huevos y paralarvas de <i>O. insularis</i>	65

Resumen

Octopus insularis ha sido reconocida recientemente como la especie dominante en la pesquería de pulpo del suroeste del Golfo de México, lo cual supone una nueva oportunidad de cultivo de pulpo para la región. El desarrollo de los cefalópodos se encuentra influenciado por variables ambientales como la temperatura y la salinidad, sin embargo, se desconocen los efectos que tienen estos factores en las primeras etapas del desarrollo embrionario de *O. insularis*. En este sentido, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes temperaturas (26, 28 y 30 °C) y salinidades (36, 28 y 40) en embriones y paralarvas de *O. insularis*. Se evaluaron los estadios de desarrollo Naef, el tiempo de desarrollo embrionario, la morfometría embrionaria, el porcentaje de eclosión y el peso húmedo de huevos, así como la morfometría y el peso húmedo de paralarvas recién eclosionadas. Los resultados demostraron que el desarrollo embrionario es interrumpido a 30 °C y en una salinidad de 40. La temperatura de 28 °C obtuvo el menor tiempo de desarrollo embrionario, mientras que el tiempo de desarrollo embrionario para las salinidades de 36 y 38 fue similar, en la salinidad de 38 se observaron malformaciones en algunos embriones. Las temperaturas de 28 y 30 °C mostraron mayores medidas morfométricas durante el desarrollo embrionario, y mayores en 26 °C en días finales del desarrollo y en paralarvas recién eclosionadas. La salinidad de 38 mostró mayores medidas morfométricas durante el desarrollo seguido de 36 y 40, en días finales del desarrollo y en paralarvas recién eclosionadas se mostraron mayores medidas en la salinidad de 36. Los porcentajes de eclosión fueron superiores al 95% en los tratamientos de temperatura y superiores al 80% en los tratamientos de salinidad, con mayores porcentajes en 26 °C y salinidad de 36. Finalmente, el peso húmedo de huevos mostró mayores pesos durante el desarrollo embrionario en las temperaturas de 28 y 30 °C y pesos húmedos similares en paralarvas. Mientras que la variación de salinidad no afectó el peso húmedo de los huevos durante el desarrollo, fue mayor en paralarvas en una salinidad de 36. Los resultados de esta tesis brindan avances en el conocimiento de los efectos de la temperatura y la salinidad en las primeras etapas de vida de *O.*

insularis bajo condiciones de cultivo, necesarios para el desarrollo de biotecnias en acuicultura para esta especie.

Palabras clave: embriología, morfometría, temperatura, salinidad, paralarva, *Octopus insularis*.

I. Introducción

Los pulpos se encuentran clasificados dentro de la clase Cephalopoda (perteneciente al phylum Mollusca) y son considerados los organismos con el sistema nervioso más complejo dentro del grupo de los moluscos e incluso de los invertebrados (Miller y Harley, 2001; Storer *et al.* 2003; Karleskint *et al.* 2010). Dentro de esta clase, se encuentra la subclase Coleoidea cuyas características incluyen la presencia de una concha interna, reducida o ausente, ocho o diez brazos provistos de ventosas, un par de branquias y nefridios, bolsa de tinta, ojos con cristalino y un sifón tubular (Storer *et al.* 2003).

El orden Octopoda (Subclase Coleoidea) está compuesto exclusivamente por pulpos, los cuales presentan únicamente ocho brazos y ausencia de tentáculos. Estos se encuentran ampliamente distribuidos en los océanos del mundo, desde zonas intermareales hasta aguas del mar profundo y presentan tanto hábitos bentónicos como pelágicos (Boyle y Rodhouse, 2005).

Existen dos subórdenes de octópodos; Cirrata e Incirrata. El primer suborden incluye organismos que poseen un cuerpo y brazos semi gelatinosos, un par de aletas redondeadas a elongadas, solamente una fila de ventosas entre dos filas de cirros, carecen de saco de tinta y de alguna modificación de brazos en machos. Por otro lado, el orden Incirrata incluye organismos con un cuerpo muscular y esférico sin aletas, con una o dos filas de ventosas en brazos, en su mayoría con saco de tinta y con un brazo modificado para la reproducción en machos. Este último suborden incluye a un gran número de especies, la mayoría con hábitos bentónicos y aquellas que son objetivo de las pesquerías (Familia Octopodidae con más de 300 especies) (Boyle y Rodhouse, 2005; Jereb *et al.* 2016).

Dependiendo del ambiente en que viven y de su primera etapa de vida, los pulpos pueden clasificarse en dos grandes grupos. Aquellos cuyo ciclo de vida está ligado por completo al bentos, se denominan holobentónicos, y aquellos cuyas crías tienen una etapa planctónica seguida de un vida bentónica como juvenil a adulto, denominados meropelágicos (Villanueva y Norman, 2008; Villanueva *et al.* 2016;

Villanueva *et al.* 2021). En estos últimos, la etapa planctónica se denomina “paralarva”, término propuesto por Young y Harman (1988) para aquellas etapas planctónicas tempranas de algunos cefalópodos, cuyo modo de vida difiere significativamente de conespecíficos adultos.

Durante el proceso reproductivo de los octópodos el macho emplea un brazo modificado (típicamente el tercer brazo derecho) para traspasar paquetes de esperma encapsulado (espermatóforos) a la hembra (Jereb *et al.* 2016). Este brazo modificado, denominado hectocotilo o brazo hectocotilizado, presenta un surco a lo largo de su cara ventral (surco espermatofórico) que termina en una estructura con forma de espátula o de cuchara denominada lígula, cuya parte proximal incluye una proyección cónica denominada cálamo (Jereb *et al.* 2016). Tras la fecundación, que ocurre de manera interna, la hembra procede a depositar los huevos individualmente o en cordones, que usualmente son adheridos a sustratos o conchas (Jereb *et al.* 2016). Tras la puesta, comienza el desarrollo embrionario, el cual consta de XX etapas embrionarias, propuestas por Naef (1928) para los octopódidos, y que engloban la división celular, gastrulación, organogénesis y maduración, hasta el momento de eclosión, así como dos rotaciones del embrión denominadas reversión que ocurren en el estadio VII y XIX.

Se considera que solamente los pulpos incirrados tienen cuidado maternal, el cual consta de limpieza con los brazos y ventilación eyectando chorros de agua a través del sifón (Boletzky y Villanueva, 2014; Jereb *et al.* 2016). Aparentemente la mayoría de estos pulpos son semélparos, es decir, sus gónadas maduran una sola vez durante su ciclo de vida (Jereb *et al.* 2016), ya que, justo después del comienzo de la eclosión de los huevos comienzan un proceso de senescencia y mueren al poco tiempo (Boyle y Rodhouse, 2005; Boletzky y Villanueva, 2014).

1.1 El estado de la pesquería y cultivo de pulpo.

A nivel mundial los desembarcos de pulpo registraron un total de 355, 239 t en el año 2014 (8% de la producción de cefalópodos) teniendo un aumento en las capturas en

el 2015 (FAO, 2016; Warwick *et al.* 2019). Este recurso pesquero, en conjunto con otros cefalópodos como calamares y sepias, es de gran importancia comercial mundial, tan solo en 2016 representaron un 3.8% del total del comercio mundial de pescado y productos pesqueros (FAO, 2018). Sin embargo, en años posteriores los desembarcos disminuyeron en los países proveedores de este recurso provenientes del banco Sahariano (Marruecos, Mauritania y Senegal), los cuales han tomado medidas restrictivas en la pesca de pulpo con la finalidad de proteger el recurso (FAO, 2019). Los efectos de la pandemia por COVID-19 en el 2020 afectaron la economía de pulpo, derivado del cierre de restaurantes y la baja demanda mundial, observando un repunte en demanda y precios para el inicio del 2021. El suministro de pulpo por parte de Marruecos se incrementó en un 19% en 2021, sin embargo, Mauritania y Senegal disminuyeron drásticamente sus desembarcos hacia diciembre del 2020 (FAO, 2021).

México es el principal aportador de pulpo de América y el tercero en el mundo, con tres cuartos del total de los desembarcos provenientes del Banco de Campeche, Golfo de México (Markaida y Gilly, 2016; Warwick *et al.* 2019). En México, tan solo para el año de 2018 se capturaron 56, 754 t de pulpo, ocupando este recurso el séptimo lugar en la producción pesquera del país y el cuarto lugar en valor económico (CONAPESCA, 2018). Sin embargo, en 2020 los desembarcos provenientes de Yucatán registraron un declive en volumen mayor al 50%, reportando capturas de tan solo 8, 000 t (FAO, 2021).

El Golfo de México y el Caribe representan una región importante para la pesca de pulpo (Galindo-Cortes *et al.* 2014). Se tienen registros de capturas de pulpo que datan de 1949 para las zonas de la Península de Yucatán y aguas adyacentes del estado de Veracruz (Solís-Ramírez, 1999). Anteriormente, las especies consideradas más importantes para la pesca de esta región eran *Octopus vulgaris* y *O. maya* (Solís-Ramírez, 1999; Galindo-Cortes *et al.* 2014).

Estudios recientes han determinado la presencia de *Octopus insularis* en el suroeste del Golfo de México y en el Caribe (Lima *et al.* 2017; Flores-Valle *et al.* 2018). Esta especie, previamente registrada oficialmente como *O. vulgaris* tiene una gran importancia comercial pesquera para la región del suroeste del Golfo de México

derivada de su gran abundancia, siendo la especie de pulpo más común para las costas de Veracruz (González-Gómez *et al.* 2018).

Debido al gran aprovechamiento de este recurso, el estado de su pesquería se considera en máximo aprovechamiento para el Golfo de México y el Caribe mexicano, sin embargo, para el Golfo de California y litoral del Pacífico, se considera en explotación plena a sobreexplotada (Arreguín-Sánchez, 2006; Arreguín-Sánchez y Arcos-Huitrón, 2011; Fernández *et al.* 2011). Sin embargo, uno de los principales problemas dentro de la evaluación y gestión de este recurso pesquero es la identificación incorrecta de las especies, pues genera errores sistemáticos en los registros de los desembarcos (Rodhouse *et al.* 2014).

La explotación y mayor demanda de recursos pesqueros de interés comercial ha propiciado que en las últimas décadas la producción por acuicultura haya ido en incremento y ganado mayor importancia a nivel mundial. La FAO, en 2018 reportó una producción acuícola de 51.3 millones de t, equivalente al 62.5% de la producción mundial de pescado comestible cultivado. Dentro de esta producción, la maricultura y acuicultura costera produjeron 30.8 millones de t, atribuidas mayormente a la producción de moluscos que de peces y crustáceos (FAO, 2020).

En ese sentido, el cultivo de pulpo tiene sus primeros registros en la década de los 60's, seguido de avances en tecnologías de cultivo y conocimientos de la biología de las especies, así como de la optimización de cultivo en masa en las décadas posteriores (Sykes *et al.* 2014). Entre los principales retos para el desarrollo de la acuicultura de pulpo se encuentra la nutrición, factor clave para el crecimiento y sobrevivencia de los organismos en cautiverio y la producción en masa (Navarro *et al.* 2014), así también, la escasez de tecnología no había permitido completar el ciclo biológico en sistemas artificiales, por lo que los sistemas de producción se basaban en la captura de subadultos para su engorda (García *et al.* 2014).

Actualmente se realizan estudios a nivel mundial para lograr el cultivo de especies de pulpo de interés comercial como recurso alimenticio (Rey-Méndez, 2015), de repoblamiento, teniendo un papel esencial en el mejoramiento de la situación actual de explotación (Nabithabhata y Segawa, 2014), así como modelos de experimentación

(Maldonado *et al.* 2019). Entre estos estudios se encuentra un nuevo enfoque de cultivo sin cuidado maternal mediante un sistema de incubación artificial que ya ha sido implementado en *O. maya*, el cual ha demostrado ser eficaz en el desarrollo embrionario reduciendo así uso de espacio y agua (Rosas *et al.* 2014). Más recientemente, Spreitzenbarth y Jeffs (2020) desarrollaron un sistema de incubación con tasas de eclosión por encima del 90% lo que demuestra que pueden alcanzarse altas tasas de sobrevivencia con un buen sistema de incubación artificial. Asimismo, los parámetros fisicoquímicos del agua como la temperatura y oxígeno disuelto son considerados un factor clave en el cultivo de pulpo y pueden ser definidos en función de cada especie de pulpo (Rosas *et al.* 2014).

Hoy en día, se tienen expectativas de que algunas especies logren ingresar al cultivo comercial en los próximos años. Para lograr esto, se tienen que tomar en cuenta aspectos zootécnicos para mejorar los cultivos de las diferentes especies de pulpos, adaptándose a cada especie y área de cultivo, es por ello, que al incluir nuevas especies a la acuicultura se requieren estudios preliminares acerca de la biología, ecología y fisiología de la especie a cultivar (Sykes *et al.* 2014, Rey-Méndez, 2015).

1.2 El efecto de la temperatura y la salinidad en pulpos.

La temperatura es uno de los parámetros abióticos más importantes para los organismos ectotermos como los pulpos, ya que determina la sobrevivencia de las crías, la tasa de crecimiento, la edad de asentamiento de juveniles y los tiempos de reproducción (Rodhouse *et al.* 2014). Se ha observado que la tasa de crecimiento y alimentación se ven afectadas en pulpos adultos, teniendo mejores índices dentro del intervalo óptimo de crecimiento, mientras que en los extremos hay pérdida de peso, disminución en la tasa de crecimiento y aumento de mortalidad (Delgado *et al.* 2011). Del mismo modo, la distribución geográfica y madurez reproductiva se encuentran moduladas por la temperatura como ocurre en *O. maya* (Ángeles-González *et al.* 2017). La temperatura también es un factor importante para el desarrollo embrionario, el aumento de la temperatura afecta de forma inversamente proporcional al tiempo de desarrollo embrionario y eclosión y proporcionalmente a la absorción del saco vitelino

(Boletzky, 1994; Caverievèrie *et al.* 1999; Castro-Fuentes *et al.* 2002; Caamal *et al.* 2016; Nande *et al.* 2017).

La salinidad es otro parámetro importante para el desarrollo de los pulpos. Ésta fluctúa menos de manera natural en el medio marino que las temperaturas estacionales, influenciada principalmente por lluvias torrenciales, escorrentías y descargas antropogénicas en áreas aledañas a la costa (Rodhouse *et al.* 2014). En ese sentido, los pulpos adultos presentan una amplia tolerancia a los cambios de salinidad, y aunque sus hábitos alimenticios se ven afectados por estos, no parece haber afectaciones en su crecimiento (Delgado *et al.* 2011). Sin embargo, una baja salinidad puede llegar a causar altas mortalidades (Iglesias *et al.* 2016). La diferencia en la capacidad de osmorregulación puede determinar las diferencias en la tolerancia a la salinidad, como ocurre entre *O. vulgaris* y *O. insularis* (Amado *et al.* 2015). La salinidad tiene un fuerte impacto también en el desarrollo embrionario de los cefalópodos, causando, principalmente, la inhibición del desarrollo y malformaciones embrionarias cuando se exponen a salinidades por encima de los extremos del intervalo óptimo de las especies (Paulij *et al.* 1990; Nabhitabhata *et al.* 2001).

1.3 Biología y ecología de *Octopus insularis*

El pulpo *O. insularis* es un organismo meropelágico de tamaño medio a grande, de color amarillo a café rojizo, con una longitud total registrada de hasta 59 cm y un peso total superior a los 2 kg (Jereb *et al.* 2016; González-Gómez *et al.* 2018; González-Gómez *et al.* 2020). Se distribuye principalmente en hábitats de aguas someras cerca de la costa e islas de Brasil (Leite *et al.* 2009a; Bouth *et al.* 2011), islas del Atlántico medio tropical (Amor *et al.* 2017), el Caribe (Lima *et al.* 2017) y el suroeste del Golfo de México (Flores-Valle *et al.* 2018; González-Gómez *et al.* 2018). El intervalo de temperatura y salinidad del área de distribución es variable, generalmente han sido identificados juveniles y adultos en temperaturas entre los 21.2 °C y 30 °C y con salinidades promedio de 36 - 36.5 (Leite *et al.* 2009a; Bouth *et al.* 2011; González-Gómez *et al.* 2018), aunque ésta última puede diferir según la evaporación en lagunas

arrecifales, pozas intermareales, profundidad y estratificación de la columna de agua del área de distribución.

Usualmente esta especie se encuentra asociada a arrecifes, refugios de rocas, cascajo y en fondos de arena y grava, pero nunca en fondos de arena y fango (Leite *et al.* 2009a). Es considerado un depredador oportunista y en ocasiones un cazador activo con diferentes estrategias de caza. Su alimentación consta mayormente de crustáceos seguido en menor medida por peces y algunos moluscos como bivalvos y gasterópodos (Leite *et al.* 2009b; Rosas-Luis *et al.* 2019).

La temporada de maduración sexual y reproducción de *O. insularis* se registra en diferentes meses a lo largo del año para el suroeste del Atlántico y se asocia a los vientos y temporadas frías (Lima *et al.* 2014), de la misma manera, en el Golfo de México se asocia a los meses de invierno (diciembre-marzo) (González-Gómez *et al.* 2020). Los cambios de la temperatura y disponibilidad de alimento determinan los tiempos de reproducción, asimismo, las diferencias entre otras especies monocíclicas favorecen estos aspectos (Boyle y Rodhouse, 2005).

II. Antecedentes

Una amplia gama de estudios sobre el efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario ha sido realizada dentro del género *Octopus*. Boletzky (1994) determinó que, en varias especies de pulpos de este género, temperaturas muy bajas inhiben el desarrollo embrionario o aumentan el tiempo del desarrollo hasta la eclosión. Entre las especies estudiadas se encuentra *O. vulgaris*, de la cual, el estudio de Caverivière *et al.* (1999) y más tarde el de Hamasaki y Morioka (2003) confirman que el tiempo de desarrollo embrionario es inversamente proporcional a la temperatura. Por otro lado, Nande *et al.* (2016) evaluaron el efecto de la temperatura sobre la demanda energética en los últimos estadios del desarrollo embrionario, resultando la temperatura de 18 °C la que obtuvo menor tiempo de desarrollo. Mientras que, la demanda energética se reflejó en los volúmenes de la yema interna y externa, siendo inversamente proporcional a la temperatura. En continuidad, Nande *et al.* (2018) sugieren que el tiempo de desarrollo puede ser reducido con temperaturas de

incubación dentro del intervalo de tolerancia térmica de *O. vulgaris*, mientras que la temperatura también modula de diferente modo el desarrollo embrionario dentro de las primeras fases del desarrollo, obteniendo medidas morfométricas más elevadas a 14 °C que a 18 °C. La temperatura es un factor que determina el tiempo de eclosión, pero no inhibe los procesos críticos del desarrollo embrionario, lo cual sugiere que el desarrollo de *O. vulgaris* puede ser favorecido a temperaturas relativamente bajas.

El estudio más reciente y completo sobre el efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario de *O. vulgaris* fue desarrollado por Deryckere *et al.* en 2020. Estos autores describen ampliamente todos los estadios del desarrollo embrionario incubados a 19 °C en condiciones de laboratorio, convirtiéndolo en un atlas del desarrollo embrionario, clave para el estudio de diferentes especies dentro del género *Octopus*.

En relación con el efecto que tiene la temperatura en el desarrollo embrionario de pulpos, huevos de *O. mimus* fueron cultivados a 12, 15, 18 y 21 °C por Uriarte *et al.* (2012). Sus resultados indican que los huevos cultivados a 21 °C reducen su tiempo de desarrollo, mientras que a 12 °C el tiempo de desarrollo se incrementa. De igual manera, la absorción del saco vitelino es afectado en relación proporcional a la temperatura de cultivo, es decir, a mayor temperatura se observó una mayor absorción del saco vitelino y viceversa. En consecuencia, se sugiere que la temperatura óptima para el desarrollo de los embriones de *O. mimus* oscila entre los 15 y 18 °C.

En el mismo sentido, Juárez *et al.* (2015) evaluaron si la temperatura era un factor que determinaba la reproducción en *O. maya*. Observaron que las hembras solo desovaban por debajo de los 27 °C, mientras que puestas incubadas a 24 °C obtenían mejor tiempo y tasa de eclosión y, temperaturas superiores a 27 °C tienen efectos negativos en la fertilización y desarrollo embrionario. Posteriormente, Caamal-Monsreal *et al.* (2016) estudiaron el efecto de la temperatura en el metabolismo y desarrollo embrionario de *O. maya*. Sus resultados resaltan una diferencia en el tiempo de eclosión de huevos de 50 días entre la temperatura más alta y baja (30 y 18 °C, respectivamente). Además, el desarrollo morfométrico óptimo se obtuvo a 22 °C, mientras que la actividad metabólica obtuvo valores más altos a 26 °C. Asimismo, la

mejor tasa de eclosión se obtuvo para los huevos incubados a 22 °C (76%), seguido de aquellos cultivados a 26 °C (60%). Por lo anterior, dichos autores sugieren que el intervalo de óptimo desarrollo para el cultivo de huevos de *O. maya* es de 22-26 °C.

Recientemente, Braga *et al.* (2021) estudiaron el efecto de la temperatura de cultivo a 13 y 16 °C en *O. tehuelchus*. De la misma manera que los estudios predecesores, la temperatura alta de 16 °C obtuvo un tiempo de eclosión más corto que aquellos huevos cultivados a 13 °C. Además, el desarrollo embrionario a 16 °C se observó constante, mientras que a 13 °C se observaron dos etapas, la primera más acelerada entre el estadio I-II a XV-XVI de Naef (1928) y la segunda más lenta entre el estadio XV-XVI y la eclosión. De la misma manera, la morfometría de los embriones obtuvo mejores valores en la temperatura más alta, mientras que el volumen del saco vitelino fue mayor a la temperatura más baja. Por último, la sobrevivencia de los huevos no fue significativamente diferente entre ambas temperaturas, obteniéndose una media del 64% de eclosión.

Mientras que, Spreitzenbarth y Jeffs (2021) estudiaron el efecto de cinco temperaturas de incubación en *O. tetricus* (16, 19, 22, 25 °C y temperatura ambiente). El tiempo de eclosión fue inversamente proporcional a la temperatura. Se obtuvo una reducción del doble de tiempo entre las temperaturas de 16 °C (67-69 días) y 25 °C (26-32 días). Sin embargo, a pesar de las marcadas diferencias en el tiempo de desarrollo no hubo diferencias en la sobrevivencia y calidad de las paralarvas, aunque sí una ligera tendencia en la disminución del saco vitelino interno en temperaturas más elevadas.

En contraparte a los estudios de temperatura, no se han desarrollado estudios sobre el efecto de la salinidad en el desarrollo embrionario en pulpos. No obstante, se han desarrollado estudios en otros cefalópodos que han permitido hipotetizar sobre el efecto de la salinidad en el desarrollo embrionario de pulpos.

Con referencia al efecto de la salinidad en el desarrollo embrionario en cefalópodos, Peng *et al.* (2016) evaluaron el desarrollo embrionario de *Sepia pharaonis* a salinidades de 18, 21, 24, 27, 30, 33 y 36. Como resultado, el desarrollo embrionario solo se observó en los tratamientos de 24 a 33 de salinidad y un 100% de

mortalidad a 18, 21 y 36. El tiempo de desarrollo embrionario obtuvo los menores intervalos a 30 y 33 de salinidad. La tasa de eclosión disminuyó por debajo de una salinidad de 30 en relación inversa a la concentración, sin embargo, se observó una tasa de eclosión superior al 80% entre 30 y 33. Por último, la mejor eficiencia de absorción del saco vitelino fue observada a 30 de salinidad (89.28%), por lo tanto, las sepias recién eclosionadas a 30 obtuvieron los mejores valores en peso.

De manera semejante, Sen (2004) midió el efecto de la salinidad en el calamar *Loligo vulgaris* incubado a salinidades de 37, 34, 31, 28 y 0. En este estudio, solo en concentraciones de 37 y 34 se observó un desarrollo embrionario completo. El tiempo de eclosión entre ambas salinidades no tuvo diferencias significativas. Por otro lado, la viabilidad de la eclosión fue de 82% y 56% para 37 y 34 de salinidad respectivamente. No obstante, no se observaron diferencias significativas entre la longitud dorsal del manto de ambos tratamientos.

Por su parte, Nabhitabhata *et al.* (2001) estudiaron la tolerancia de huevos y recién eclosionados de *Sepioteuthis lessoniana* y *S. pharaonis* a cambios de salinidad. Estos autores concluyeron que, ambas especies tienen un intervalo óptimo de desarrollo embrionario y de tolerancia, por lo que, el desarrollo embrionario en salinidades más altas, o bajas, fuera de este intervalo ocurre de manera anormal o el animal muere justo después de ocurrir la organogénesis. Por otra parte, aquellos que se desarrollan de manera normal tienen una eclosión prematura. Anteriormente, Paulij *et al.* (1990) habían reportado un desarrollo anormal y malformaciones derivadas del estrés salino en *Sepia officinalis*, así como la interrupción del desarrollo a bajas salinidades.

La combinación del estudio de ambos parámetros abióticos (temperatura y salinidad) podría significar mejores resultados para el desarrollo de un cultivo comercial. Como consecuencia de esto, Palmegiano y D'Apote (1982) evaluaron la posible relación entre la temperatura y la salinidad en el desarrollo embrionario de *S. officinalis*. Sus resultados mostraron que salinidades bajas inhiben el desarrollo embrionario independientemente de la temperatura de cultivo, mientras que salinidades más elevadas mejoran el desarrollo y tasa de eclosión de los huevos.

Posteriormente, Ito y Sakurai (2004) evaluaron el efecto de la salinidad en el desarrollo embrionario de *Loligo bleekeri* a dos temperaturas diferentes. De la misma manera que Palmegiano y D'Apote (1982), las salinidades bajas inhibieron el desarrollo embrionario o redujeron la tasa de eclosión independientemente de la temperatura de cultivo. A partir de ello, se determinó que la temperatura no mostró relación directa con la salinidad. Sin embargo, la temperatura determinó el tiempo de desarrollo y eclosión de los huevos.

La especie objeto de estudio en el presente trabajo, *O. insularis*, fue descrita genética y morfológicamente por primera vez por Leite *et al.* 2008. A partir de este momento, comenzaron a desarrollarse estudios sobre ecología, distribución, pesquería y estrategias reproductivas, principalmente en las costas de Brasil (Leite *et al.* 2009a; Bouth *et al.* 2011; Lima *et al.* 2014). La determinación de identidades genéticas en pulpos de México por Flores-Valle (2010) fue a su vez la primera en reportar una separación genética de ejemplares de *O. vulgaris* del Golfo de México con sus conespecíficos de otras regiones y una afinidad genética con *O. insularis* de las costas de Brasil.

Recientemente se ha estudiado y reportado la presencia de *O. insularis* en costas del Caribe y del Golfo de México (Lima *et al.* 2017; Flores-Valle *et al.* 2018; González-Gómez *et al.* 2018; Rosas-Luis *et al.* 2019). Esta especie previamente identificada erróneamente como *O. vulgaris*, es abundante en las costas de Veracruz (González-Gómez *et al.* 2018). Esta región presenta variaciones en la temperatura y la salinidad, principalmente influenciadas por las descargas de ríos hacia el Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano (PNSAV), así como de las temporadas de lluvias, secas y nortes, como reportan Salas-Monreal *et al.* (2009) y Avendaño *et al.* (2019). En ese sentido, estos autores reportan fluctuaciones estacionales de salinidad de entre 30 y 36.5 y de temperatura superficial del mar entre 22.4°C y 31°C. Sin embargo, se pueden encontrar salinidades por encima de 38, principalmente asociadas a la elevada evaporación que se produce en las aguas someras de las crestas arrecifales.

La primera descripción del desarrollo embrionario de *O. insularis* se realizó por Morales-Ortega (2009) (identificada erróneamente como *O. vulgaris*). Los huevos fueron cultivados con cuidado maternal bajo condiciones de temperatura entre 25 y 28 °C, y salinidad entre 36 y 40, completando el desarrollo al cabo de 22 días. Posteriormente la primera descripción de huevos y paralarvas se llevó a cabo por Lenz *et al.* (2015) bajo condiciones de cultivo. Los huevos fueron cultivados con cuidado maternal a una temperatura de 26 ± 1 °C y 32 ± 1 de salinidad, completándose el desarrollo embrionario en un intervalo de tiempo de 30 a 38 días. Sin embargo, los autores no mencionan la tasa de eclosión obtenida. En ese sentido, Maldonado *et al.* (2019) obtuvieron una eclosión de huevos de *O. insularis* del 67.7% a una temperatura constante de 27°C. Este resultado fue obtenido mediante un baño de los huevos previo al cultivo en una solución diluida de hipoclorito de sodio y recambios diarios de agua.

Finalmente, la tolerancia térmica de embriones de *O. insularis* es sugerida por Ángeles-González *et al.* (2020) a partir de datos aun no publicados. Estos autores sugieren una temperatura óptima para el desarrollo embrionario con un intervalo de 24 a 29 °C, con un mínimo de tolerancia térmica no óptima de 18 °C y una máxima de 33 °C.

Derivado de que los estudios sobre esta especie son relativamente escasos y muy pocos se han enfocado en la posibilidad de desarrollar un método de cultivo viable, el presente estudio contribuye a la generación de conocimiento sobre el desarrollo embrionario en condiciones de laboratorio para determinar los parámetros más adecuados para el mejor desarrollo embrionario viable y establecer así las bases para un método de acuicultura adecuado para esta especie.

III. Hipótesis

- Los embriones y paralarvas de *O. insularis* incubados a 28 °C tendrán mayores medidas morfométricas durante el desarrollo embrionario y post eclosión, mayor absorción del saco vitelino y porcentaje de eclosión en comparación con aquellos incubados a 26 y 30°C, y un menor tiempo de desarrollo embrionario que a 26 °C y mayor que a 30 °C.
- Los embriones y paralarvas de *O. insularis* incubados a una salinidad de 38 tendrán mayores medidas morfométricas durante el desarrollo embrionario y post eclosión, mayor absorción del saco vitelino y porcentaje de eclosión en comparación con aquellos incubados a salinidades de 36 y 40.

IV. Objetivos

IV.1 General

- Evaluar el efecto de la temperatura y la salinidad en el desarrollo morfométrico de los embriones y paralarvas del pulpo *Octopus insularis*, en los umbrales máximos superiores.

IV.2 Particulares

- Identificar los cambios morfométricos durante el desarrollo de embriones y paralarvas de *O. insularis* incubados a 26, 28 y 30 ° C, y a salinidades de 36, 38 y 40.
- Estimar el porcentaje de eclosión de huevos de *O. insularis* incubados a 26, 28 y 30 °C, y salinidades de 36, 38 y 40.
- Evaluar el peso húmedo de huevos durante el desarrollo embrionario y de paralarvas de *O. insularis* incubado a 26, 28 y 30 °C, y a salinidad de 36, 38 y 40.

V. Material y métodos

V.1. Aclimatación de progenitores y obtención de la puesta

Una hembra y un macho de *O. insularis* fueron capturados con la ayuda de pescadores en el Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano (PNSAV). Posteriormente fueron trasladados y aclimatados en un tanque circular de 700 l en el Laboratorio de Biología Pesquera y Acuicultura, Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías.

El agua marina del tanque de los reproductores se mantuvo a temperatura de 26 °C (26.1 ± 0.2 °C), una salinidad de 37 y oxigenación por encima de 80% de saturación mediante una piedra difusora. Asimismo, se adecuó un refugio en forma de casita elaborado con dos azulejos enfrentados. El tanque fue cubierto con malla sombra para evitar el escape de los ejemplares y el exceso de calentamiento del agua por luz solar. Los organismos fueron alimentados con jaiba (*Callinectes sapidus*) diariamente.

Una vez observada la cópula, la hembra se trasladó a una tina circular de fondo blanco de 100 l perteneciente a un sistema de recirculación de agua marina de menor capacidad (Fig. I). Después de detectar el comienzo de la puesta, se esperó siete días con la finalidad de no interrumpir el proceso de puesta de huevos (Seixas y Rey-Méndez, 2006; Iglesias *et al.* 2014; Lenz *et al.* 2015; Fajardo-Alvarado *et al.* 2018), y finalmente, se procedió a la obtención aleatoria de 55 cordones de huevos para el establecimiento de los experimentos de incubación a diferente temperatura y salinidad.

Los intervalos de temperatura y salinidad para los experimentos fueron delimitados para estudiar los umbrales máximos de tolerancia de la especie, con una temperatura y salinidad anual promedio del PNSAV (~26 °C y salinidad de ~36.5; Mateos-Jasso *et al.* 2012) y valores superiores con base en la presencia de juveniles (longitud del manto <50 mm) en pozas arrecifales de Brasil que alcanzan temperaturas elevadas mayores a 27 °C (Paiva *et al.* 2007; Bouth *et al.* 2011), similar a áreas arrecifales someras con alta evaporación presentes en el PNSAV (Salas-Monreal *et al.* 2009). Así como de una mayor eficiencia para mantener estas temperaturas y

salinidades en sistemas de recirculación e incubación artificial para la acuicultura en zonas costeras tropicales.

V.2. Diseño experimental del efecto de la temperatura

Se establecieron tres tratamientos de temperatura: T26 (26.32 ± 0.31 °C), T28 (28.04 ± 0.95 °C) y T30 (29.75 ± 1.09 °C); en tinas circulares de fondo blanco (~70 l) de un sistema de recirculación de agua marina con salinidad de 37 (37.1 ± 0.73). El tratamiento T26 se mantuvo a dicha temperatura mediante un enfriador, mientras que T28 y T30 se controlaron con calentadores. La hembra y su puesta fueron mantenidas dentro del sistema a la misma temperatura que el tratamiento de 26 °C.

Tres cordones de huevos se colocaron por triplicado en cada tratamiento. Estos grupos fueron sostenidos a la misma distancia entre ellos mediante una cuerda a lo largo del diámetro de la tina por la superficie de la columna de agua (ver Fig. 2). Se colocaron piedras difusoras en cada tina tratamiento, a una distancia de 15 cm de los cordones, con las burbujas de aire en dirección hacia los huevos de manera que los cordones alcanzaran una posición horizontal como sugieren Spreitzenbarth y Jeffs (2020).

Por su parte, el sistema de recirculación y cultivo constó de tres tinas tratamiento y una tina con cuidado maternal (Fig. I). Todas las tinas se conectaron a su respectiva entrada de agua marina a manera de surgencia. Esto mediante un tubo de PVC introducido de manera perpendicular al fondo y separado a una distancia de 1 cm aproximadamente de éste (ver Fig. II). Por otra parte, un tubo PVC de, aproximadamente, 30 cm se colocó en el centro de la tina para drenar el exceso de agua mediante gravedad. El agua marina del sistema fue recirculada con ayuda de una bomba y filtrada mediante un filtro de arena (filtración mecánica), un filtro compuesto por bio-bolas y eliminador de nitratos (Seachman; filtro biológico) seguidamente por un esterilizador de luz ultravioleta (Vecton 2 de 15 watts).

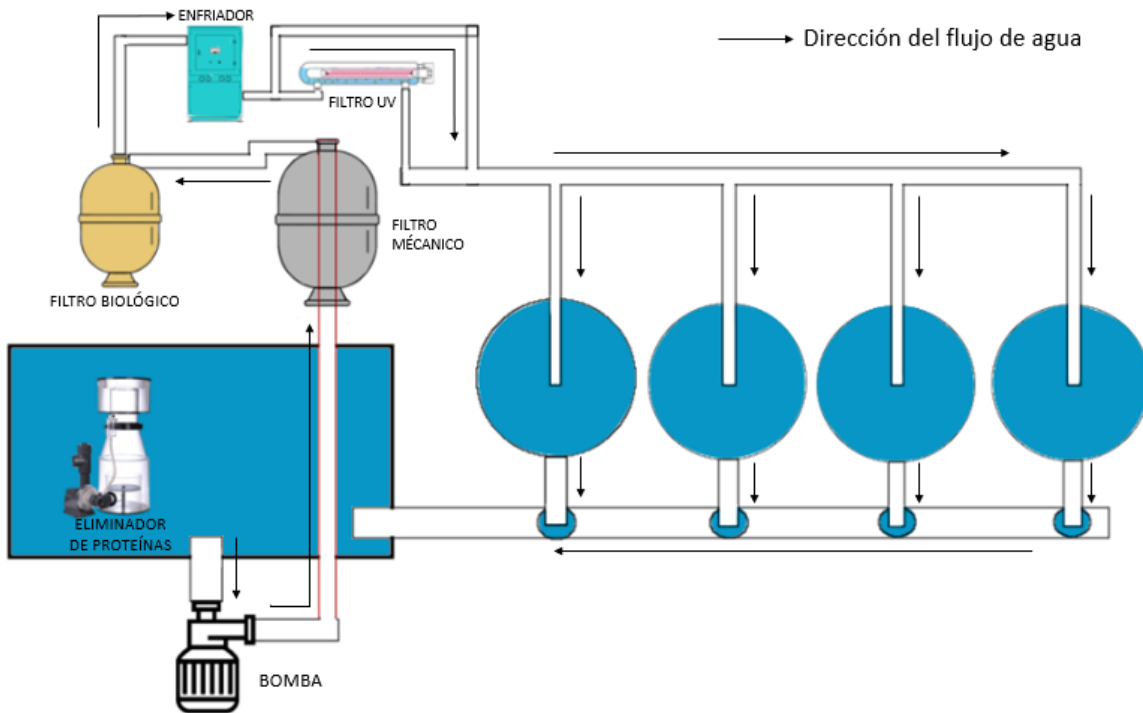


Figura I. Sistema de recirculación y filtración de agua marina para los tratamientos a diferente temperatura.

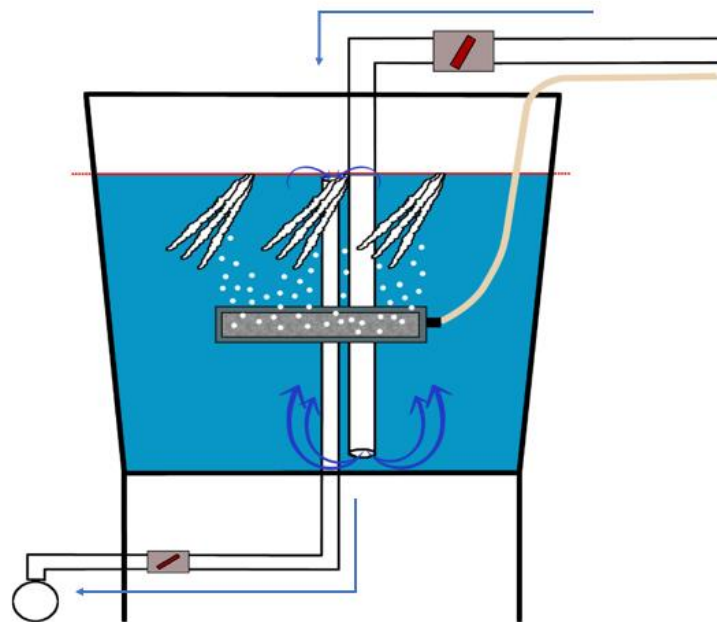


Figura II. Sistema de incubación con recirculación y flujo de agua en modo de surgencia y aireación mediante piedra difusora.

V.3 Diseño experimental del efecto de la salinidad

De la misma manera que en el diseño experimental relacionado con la temperatura, se establecieron tres tratamientos con agua marina a diferentes salinidades: S36 (36.58 ± 1.11), S38 (38.81 ± 0.87) y S40 (40.6 ± 0.93); en tinas rectangulares con fondo blanco de 30cm de largo, 27cm de ancho y 17cm de alto (13.77 l, aproximadamente). Y una temperatura de 26 °C (26.7 ± 0.69 °C). La salinidad se mantuvo mediante la evaporación o adición de agua dulce para elevar o disminuir la concentración salina respectivamente.

Tres cordones de huevos se colocaron por triplicado en cada tratamiento. Estos grupos fueron sostenidos a la misma distancia entre ellos mediante una cuerda a lo largo de la tina por la superficie de la columna de agua. Se colocó un sistema de aireación simple compuesto por una bomba de aire (ELITE 801) y piedras difusoras de 25 cm de largo colocadas en el fondo en la parte central de cada tina a manera que las burbujas de aire con dirección hacia los huevos los eleven a una posición horizontal (ver Fig. III). La salinidad y calidad de agua de cada tratamiento se controlaron mediante adición de agua filtrada, así como con recambios de agua, mientras que la temperatura se mantuvo con ayuda de aire acondicionado.

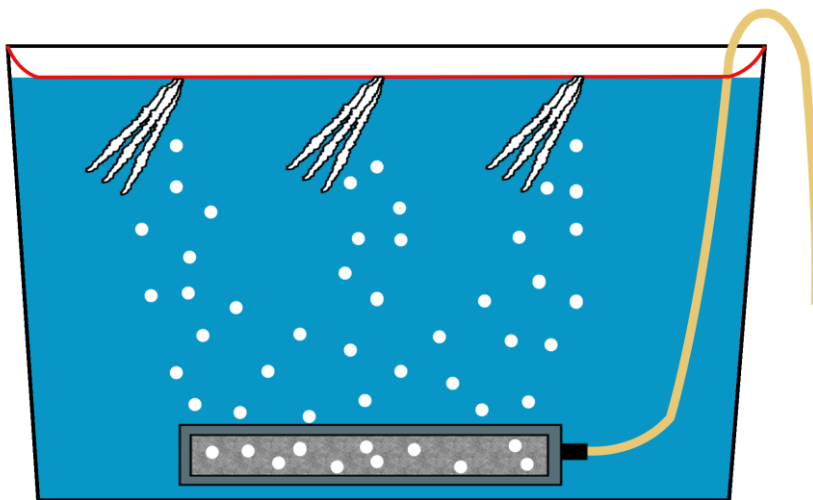


Figura III. Sistema de incubación con aireación mediante piedra difusora para los tratamientos con diferentes salinidades.

V.4 Muestreo de huevos y paralarvas

Un total de 5 huevos por réplica (15 por tratamiento) fueron muestreados de cada tratamiento cada tercer día desde el día 7 del inicio de la puesta hasta el día de la eclosión de las paralarvas. Durante el muestreo de los huevos se examinó el estado de los huevos, ausencia/presencia de algas y algunos otros microorganismos.

Cada uno de los huevos muestreados fue fotografiado con la ayuda de un microscopio óptico (Motic BA 210) con cámara integrada. Posteriormente, las imágenes digitales se analizaron mediante el software auxiliar de microscopía Motic Image Plus 2.0 para obtener los datos morfométricos de los embriones (Fig. 4). Para ello, se midió la longitud total del huevo (LTH), ancho del huevo (AH), longitud del manto (LM), longitud total del embrión (LTE), longitud del brazo (LB), volumen del saco vitelino interno y externo (VSVi/VSVe) y se determinó la etapa embrionaria según Naef (1928). El volumen del saco vitelino se obtuvo mediante las siguientes ecuaciones (Uriarte *et al.* 2014):

$$\text{Volumen esférico} = 4/3\pi r^3$$

$$\text{Volumen de elipsoide de rotación} = (4\pi AB^2)/3$$

Donde el volumen se encuentra determinado en mm³ y A y B corresponden a la mitad del largo y la mitad del ancho del saco vitelino, respectivamente; “r” es igual al radio de la esfera, mientras que π es igual a 3.14159.

Posterior a la toma fotográfica, las muestras de huevos fueron pesadas para obtener su peso húmedo. Para ello, primero los huevos de cada réplica fueron enjuagados por 2 s en agua destilada y posteriormente, secados en papel absorbente. Por último, los 5 huevos de cada réplica fueron colocados en tubos Eppendorf, previamente rotulados, pesados y tarados en balanza analítica. El peso húmedo se obtuvo de la diferencia entre los pesos del tubo Eppendorf con huevos y vacío.

El muestreo de paralarvas se llevó a cabo 24 horas después de la observación de la eclosión en cada experimento. Las paralarvas muestreadas se analizaron bajo microscopio óptico (Motic BA 210) con cámara integrada. Posteriormente, las imágenes digitales se analizaron mediante el software auxiliar de microscopía Motic

Image Plus 2.0 para obtener los datos morfométricos de las paralarvas (Fig. IV). Para ello, se midió la longitud total (LT), longitud del manto (LM), longitud del brazo (LB), número de ventosas por brazo y volumen del saco vitelino interno (VSVi). El volumen del saco vitelino se obtuvo mediante las ecuaciones descritas con anterioridad.

Para obtener el peso húmedo y seco de las paralarvas, se procedió con la misma metodología que para los huevos.

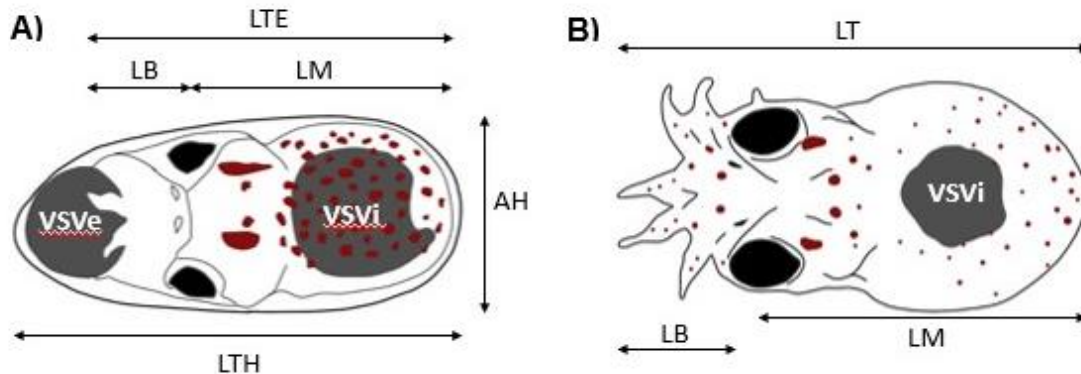


Figura IV. Localización de las medidas morfométricas de huevos (A) y paralarvas (B) de *O. insularis*. Abreviaturas: LTE: Longitud total del embrión, LTH: Longitud total del huevo, LB: Longitud del brazo, LM: Longitud del manto, AH: Ancho del huevo, LT: Longitud total, VSVi: Volumen del saco vitelino interno, VSVe: Volumen del saco vitelino externo. Modificado de: Spreitzenbarth y Jeffs. 2020.

V.5 Estimación del porcentaje de eclosión de los huevos

Finalmente, al concluir cada experimento se contabilizaron los huevos no eclosionados por cordones para obtener la estimación de la tasa de eclosión correspondiente a cada tratamiento. Para ello, previamente al experimento, se llevó a cabo la estimación de huevos por cordón de la puesta. Los huevos no eclosionados por cordón fueron contabilizados y, en conjunto con la estimación de huevos previa, se procedió a obtener el porcentaje de eclosión.

V.6 Análisis estadístico de los datos

Se creó una matriz de los datos numéricos con las diferentes variables morfométricas, ID's, estadio Naef, fechas de los datos obtenidos, así como el experimento

correspondiente para estimar primeramente el tiempo de desarrollo embrionario, así como el estadio Naef más frecuente y sus amplitudes durante los días de muestreo para cada tratamiento aplicado.

Se llevó a cabo un análisis que tuvo como objetivo evaluar los cambios morfológicos a lo largo de todo el desarrollo embrionario empezando desde los primeros días del muestreo. Derivado de que, en los primeros días del desarrollo embrionario de los experimentos de la temperatura y la salinidad, sólo se pudieron registrar las variables LTH y AH, este primer análisis solo comprendió de estas dos variables morfométricas. Para ello, los datos numéricos se normalizaron restando la media y dividiendo entre la desviación estándar, se calculó una matriz con base en distancias euclidianas para evaluar la relación de disimilitud entre los embriones y se realizó un gráfico de Ordenación de Coordenadas Principales (PCoA), un ANOVA multivariado con permutaciones (Permanova) y pruebas post hoc en los casos necesarios (pairwise test). Todo esto con ayuda del programa estadístico PRIMER-e y con un nivel de significación $p < 0.05$.

Un segundo análisis se realizó siguiendo el mismo procedimiento para el primer análisis utilizando todas las variables morfométricas (LTE, LTH, LB, LM, AH, VSVi y VSVe), pero sólo incluyó embriones a partir del día 13 después de la puesta, cuando dichas variables pudieron registrarse sin problema. Aquellos embriones con estadios tempranos en días avanzados fueron excluidos del análisis, mientras que los datos no posibles de medir de algunas variables en estadios avanzados fueron subsanados mediante regresiones lineales antes de la normalización: p. ej. para el manto se usó la relación con el largo total del huevo ($LM = a + LTH * b$) mientras que para el resto de las variables la relación con el largo del manto ($Y = a + LM * b$).

Posteriormente, para determinar diferencias significativas de cada variable morfométrica de las paralarvas entre los tratamientos de cada experimento que presentaron eclosión se realizaron pruebas t de Student con un nivel de significación $p < 0.05$.

Finalmente se llevó a cabo un ANOVA de dos vías con un nivel de significación $p < 0.05$ con los pesos húmedos de los huevos de cada tratamiento durante

los días de muestreo de cada experimento para comparar los cambios en peso húmedo entre tratamientos durante el desarrollo embrionario. Se llevaron a cabo pruebas t de Student ($p < 0.05$) entre los pesos húmedos de los tratamientos de cada experimento para los días 10, 16 y 25 post puesta, así como para el peso húmedo de las paralarvas para comparar estas diferencias en peso en días al inicio, mitad y días avanzados del experimento.

VI. Resultados

VI.1 Efecto de la temperatura en embriones y paralarvas de *O. insularis*

VI.1.1 Tiempo de desarrollo embrionario y estadios Naef

La temperatura tuvo un efecto en el tiempo y desarrollo embrionario de *O. insularis* (Figura V). El tiempo de desarrollo embrionario más corto se presentó en el tratamiento T28 el cual se completó en 31 días desde el inicio de la puesta hasta el fin de la eclosión, seguido del tratamiento T26 con 37 días. En contraparte, el tratamiento T30 generó un efecto deletéreo en el desarrollo embrionario causando el desprendimiento de los huevos del cordón y su consecuente muerte. Por otro lado, el desarrollo embrionario con cuidado maternal se extendió 27 días.

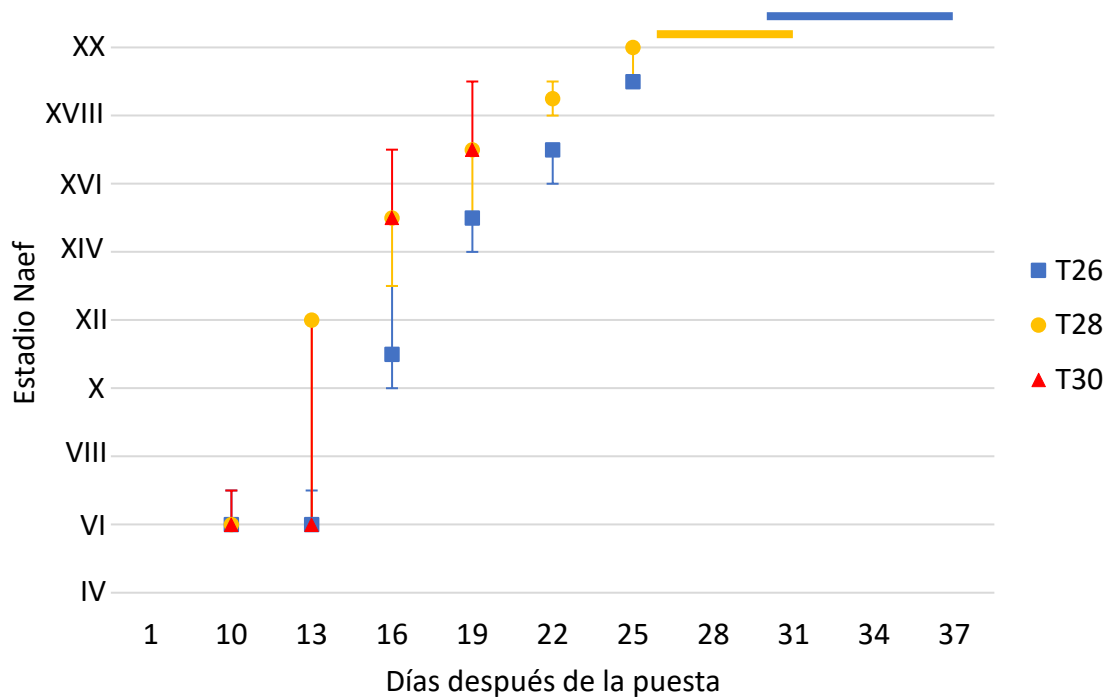


Figura V. Estadios de desarrollo embrionario de *O. insularis* incubados en T26 (cuadros azules), T28 (círculos amarillos) y T30 (triángulos rojos). Las figuras representan la moda del estadio Naef a días postpuesta de cada tratamiento correspondiente, los bigotes representan los estadios mínimos y máximos observados y las barras superiores el intervalo de eclosión.

El aumento de la temperatura generó una aceleración en el desarrollo embrionario alcanzando estadios más avanzados en menor tiempo en el tratamiento T30 en comparación a los tratamientos T26 y T28. Sin embargo, T30 mostró irregularidades en el tamaño y forma del saco vitelino, brazos y manto reducidos (cuerpo comprimido) de los embriones desde el día 13 postpuesta, siendo más prominentes en el día 16 y los consecuentes días (ver Anexos; Fig. XIX, XX y XXI).

Mientras tanto, los tratamientos T26 y T28, aunque lograron un desarrollo embrionario completo, se observaron algunas diferencias en el desarrollo como lo es la longitud de los brazos y el grado de absorción del saco vitelino (ver Anexos; Fig. XXII).

VI.1.2 Cambios explicados por las variables morfométricas de los embriones

El análisis de coordenadas principales aplicado para las variables morfométricas de ancho del huevo (AH) y largo total del huevo (LTH) mostró los cambios observados de estas variables durante el crecimiento de los embriones, con un crecimiento general con medidas mayores en días avanzados del desarrollo embrionario (>16 DPP) (Fig. VI).

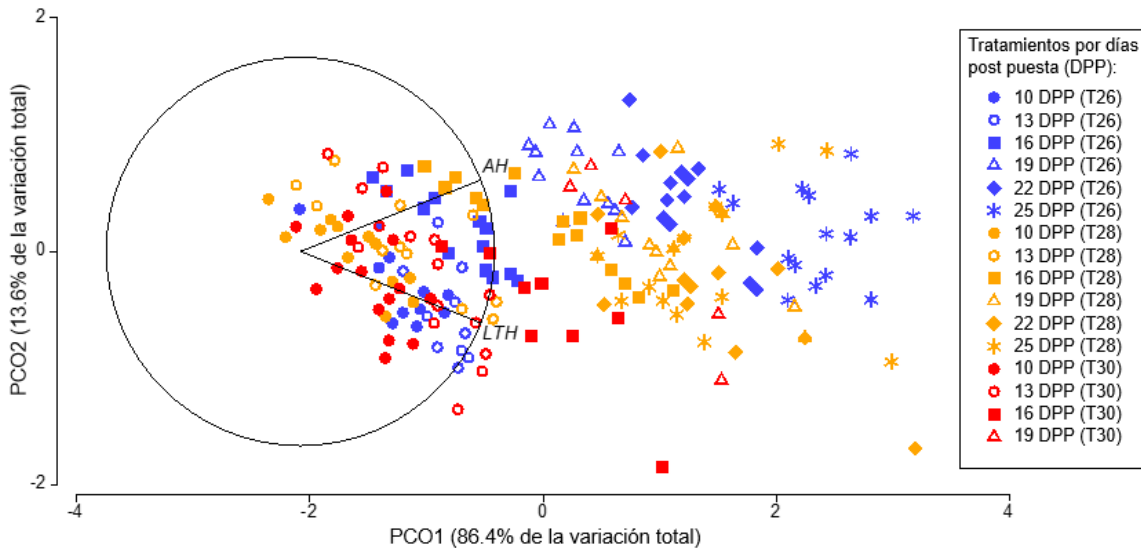


Figura VI. Análisis de coordenadas principales de las variables AH y LTH de embriones de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo incubados a diferentes temperaturas.

Los embriones de los tres tratamientos al inicio del experimento tuvieron un tamaño de AH y LTH similar (entre el día 10 y 13 postpuesta). Posteriormente, los embriones de T26 y T28 continuaron con un desarrollo y aumento progresivo (Fig. VII; figuras color azul y amarillo), mientras que, los de T30, aunque mostraron un incremento de estas variables el desarrollo se vio interrumpido a partir del día 19 postpuesta (Fig. VII; figuras color rojo).

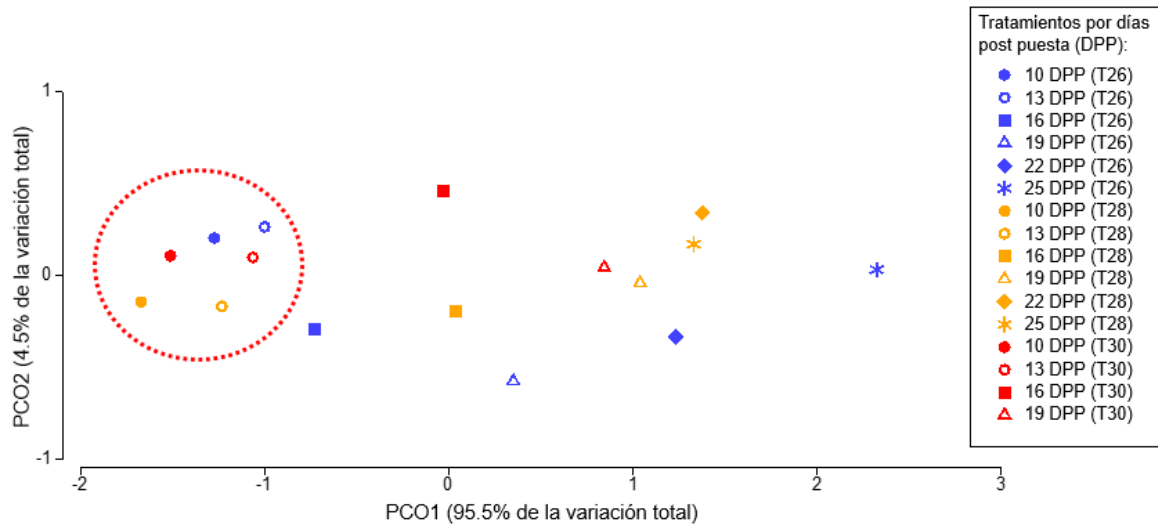


Figura VII. Análisis de centroides de las variables AH y LTH de embriones de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo incubados a diferentes temperaturas. El círculo punteado muestra los días sin diferencias significativas ($p < 0.05$).

El análisis de varianza multivariada (Permanova) mostró de manera general que la interacción entre el factor tratamiento térmico y la variable tiempo (días) fue significativa ($p < 0.05$) (Tabla 1). Sin embargo, derivado que el modelo no es simétrico (asteriscos en la tabla denotan que hubo días en los que no estuvieron presentes todos los tratamientos por la interrupción del desarrollo embrionario) los resultados se abordaron desde las pruebas post hoc de los factores independientes (ver Anexos; Tabla 8 y 9).

Las pruebas por pares para el factor tratamiento térmico mostraron diferencias significativas en el ancho y largo del huevo entre los tratamientos T26 y T30 y entre T28 y T30 ($p < 0.05$), pero no así entre T26 y T28. Mientras que, las pruebas por pares de los huevos por días post puesta mostraron que los huevos tuvieron diferencias significativas en tamaño de AH y LTH a lo largo del experimento ($p < 0.05$), excepto entre el día 10 y el día 13 postpuesta.

Tabla 1. Análisis de varianza multivariado (Permanova) sobre el efecto en el ancho y largo del huevo de *O. insularis* sometidos a diferentes temperaturas de incubación (Tr) sobre el tiempo de

desarrollo (Di) y su interacción (Tr x Di). ** denotan que hubo días en los que no estuvieron representados todos los tratamientos.

Origen de la variación	g.l.	S.C.	C.M.	Pseudo-F	P(perm)	Permutaciones únicas
Tr	2	32.743	16.372	17.086	0.0001	9950
Di	5	297.81	59.562	61.454	0.0001	9934
Tr x Di**	8	27.721	3.4651	3.6756	0.0012	9949
Res	179	62.157	0.34725			
Total	225	450				

El segundo análisis de coordenadas principales aplicado a las variables morfométricas mostró que la primera coordenada explicó el 74.2% de la variación total observada en los cambios de los embriones durante el crecimiento. Las variables de AH, LM, LB y VSVe tuvieron una contribución importante para explicar la variación de este eje, teniendo valores altos en estas variables aquellas muestras situadas hacia la derecha a lo largo del eje horizontal. Con respecto a la segunda coordenada, ésta explicó el 8.7% de la variación de los datos, correlacionada principalmente con AH, LB y VSVi. Entre ambas coordenadas se explicó el 82.9% de la variación total de los datos (Fig. VIII).

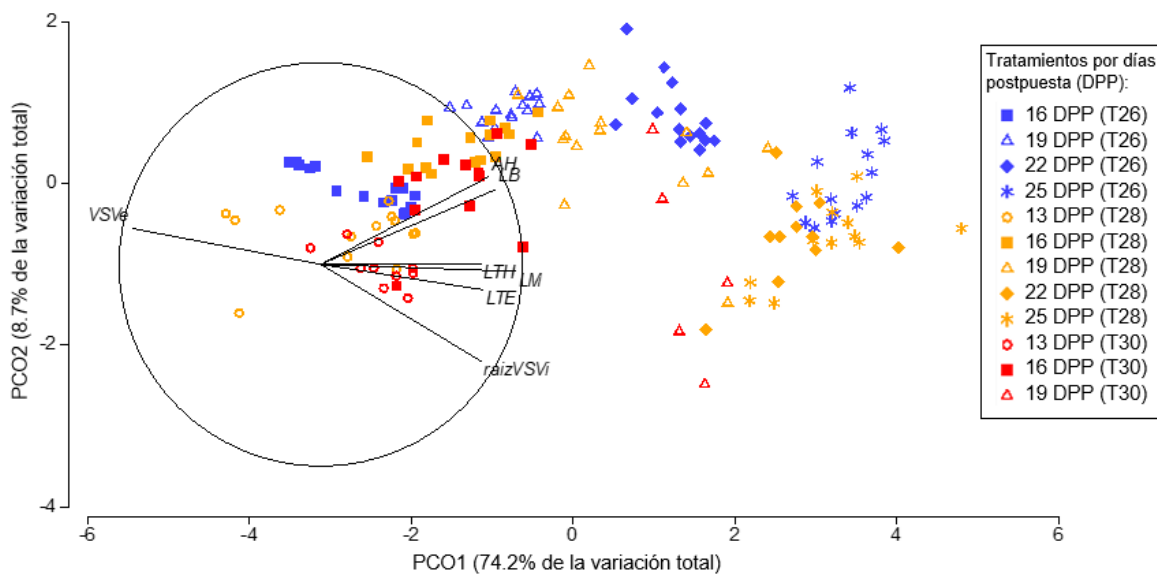


Figura VIII. Análisis de coordenadas principales de las variables morfométricas de embriones de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo incubados a diferentes temperaturas.

La morfometría de los embriones de los tres tratamientos mostró cambios a lo largo del tiempo y entre los diferentes tratamientos térmicos, siendo en el T30 en el que se mostró la mayor variación de las variables morfométricas, en especial la longitud del brazo (LB) y el ancho del huevo (AH) (Fig. VIII y IX; figuras color rojo). De la misma manera, aunque el volumen del saco vitelino externo disminuyó de manera general a lo largo del tiempo, el tratamiento T30 fue el que al término del experimento obtuvo mayor volumen de éste, esto derivado de la interrupción del desarrollo embrionario por estrés térmico a partir del día 19 postpuesta.

Por otra parte, el tratamiento T26 tuvo un desarrollo más lento en los primeros días comenzando la organogénesis aproximadamente al día 16 postpuesta, continuando con un crecimiento progresivo (Fig. IX; figuras color azul). Finalmente, el tratamiento T28 inició el desarrollo de las variables morfométricas desde el día 13 postpuesta, aumentando el tamaño de las variables más rápido, pero frenando el aumento en tamaño en los últimos días del experimento (Fig. IX; figuras color amarillo).

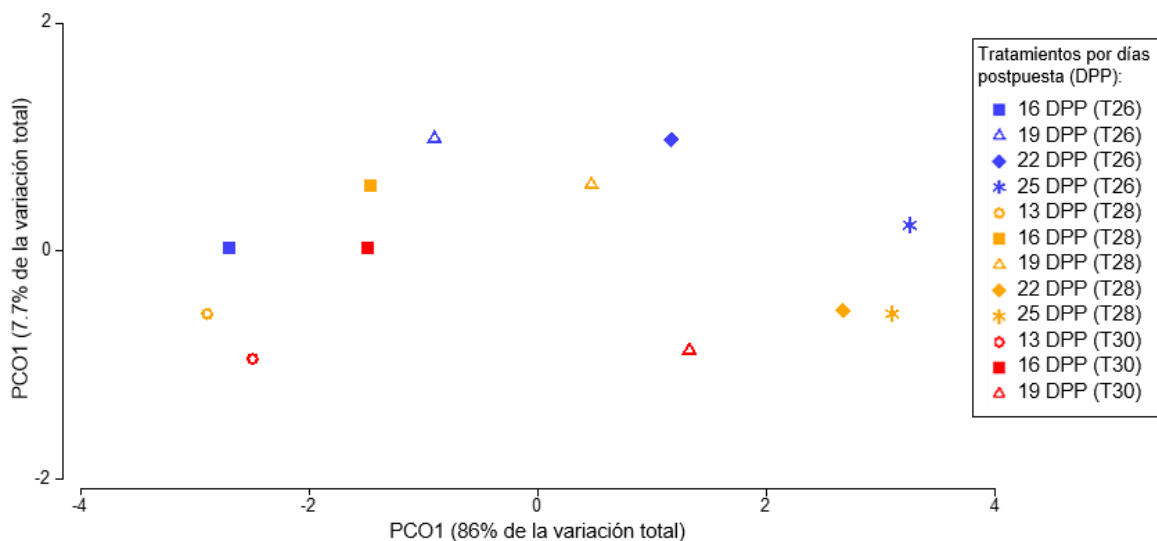


Figura IX. Análisis de centroides de las variables morfométricas de embriones de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo incubados a diferentes temperaturas.

La prueba Permanova mostró que la interacción entre el factor térmico y la variable tiempo fue significativa ($p < 0.05$) (Tabla 2), indicando que el cambio de las diferentes variables morfométricas en embriones de la misma edad (días postpuesta) fue diferente con respecto a aquellos incubados a diferentes temperaturas.

Tabla 2. Análisis de varianza multivariado (Permanova) sobre el efecto en diferentes variables morfométricas de embriones de *O. insularis* sometidos a diferentes temperaturas de incubación (Tr) sobre el tiempo de desarrollo (Di) y su interacción (Tr x Di). ** denotan que hubo días en los que no estuvieron representados todos los tratamientos.

Origen de la variación	g.l.	S.C.	C.M.	Pseudo-F	P(perm)	Permutaciones únicas
Tr	2	91.545	45.773	10.553	0.0001	9942
Di	4	705.99	176.5	39.839	0.0001	9961
Tr x Di**	5	58.735	11.747	2.7769	0.0006	9915
Res	120	123.49	1.0291			
Total	153	1071				

VI.1.4 Diferencias morfométricas entre paralarvas

Solo los embriones de los tratamientos T26 y T28 lograron completar el desarrollo embrionario y eclosionar de manera exitosa en ambos casos (ver Anexos; Fig. XXIII y XXIV), mostrando el tratamiento T26 medias significativamente mayores que T28 para las medidas morfológicas de longitud total, longitud del brazo y volumen del saco vitelino interno, pero no así para la longitud del manto (Tabla 3).

Tabla 3. Medias (mm o mm², \pm D.E.) de diferentes medidas morfológicas de paralarvas de *O. insularis* después de eclosionar, y comparación de las variables morfológicas entre tratamientos de temperatura.

Medidas morfológicas	Tratamientos de incubación		Parámetros estadísticos	
	26 °C	28 °C	Valor t	Valor p
Número de individuos	15	15		
Longitud total (LT)	2.48 \pm 0.12	2.35 \pm 0.16	2.55	0.0165
Longitud del manto (LM)	1.67 \pm 0.07	1.65 \pm 0.10	0.77	0.4486
Longitud del brazo (LB)	0.66 \pm 0.05	0.57 \pm 0.10	3.11	0.0043
Volumen del saco vitelino interno (VSVi)	0.07 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	2.59	0.0151

VI.1.5 Porcentaje de eclosión

De los tres tratamientos de temperatura, solo en el T30 no se logró completar el desarrollo embrionario con un porcentaje de eclosión del 0%, mientras que en los tratamientos T26 y T28 se lograron porcentajes de eclosión estimados del 99.8% y 99.4%, respectivamente.

Sin embargo, debido al sistema de recirculación empleado se cree que algunos huevos se desprendieron de los cordones y pudieron ser extraídos por el propio sistema de incubación. Por lo tanto, se presentaron muy pocos huevos en los cordones al finalizar el experimento resultando en una estimación muy alta, lo cual podría subestimar el porcentaje de eclosión.

VI.1.6 Peso húmedo de huevos y paralarvas

El peso húmedo de los huevos de los tres tratamientos de temperatura tuvo un incremento durante el desarrollo del experimento a excepción de T30, en el cual se interrumpió el desarrollo embrionario, mientras que T28 mostró un declive alrededor del día 25 DPP, pero con una línea de tendencia de aumento (Fig. X). El resultado ANOVA mostró que la interacción entre el factor tratamiento térmico y la variable tiempo (días) fue significativa ($F = 5.2058$; $p = 0.003$) (ver Anexo; Tabla 10), es decir que el peso húmedo de los huevos fue diferente a lo largo del tiempo, pero también lo fue entre cada tratamiento.

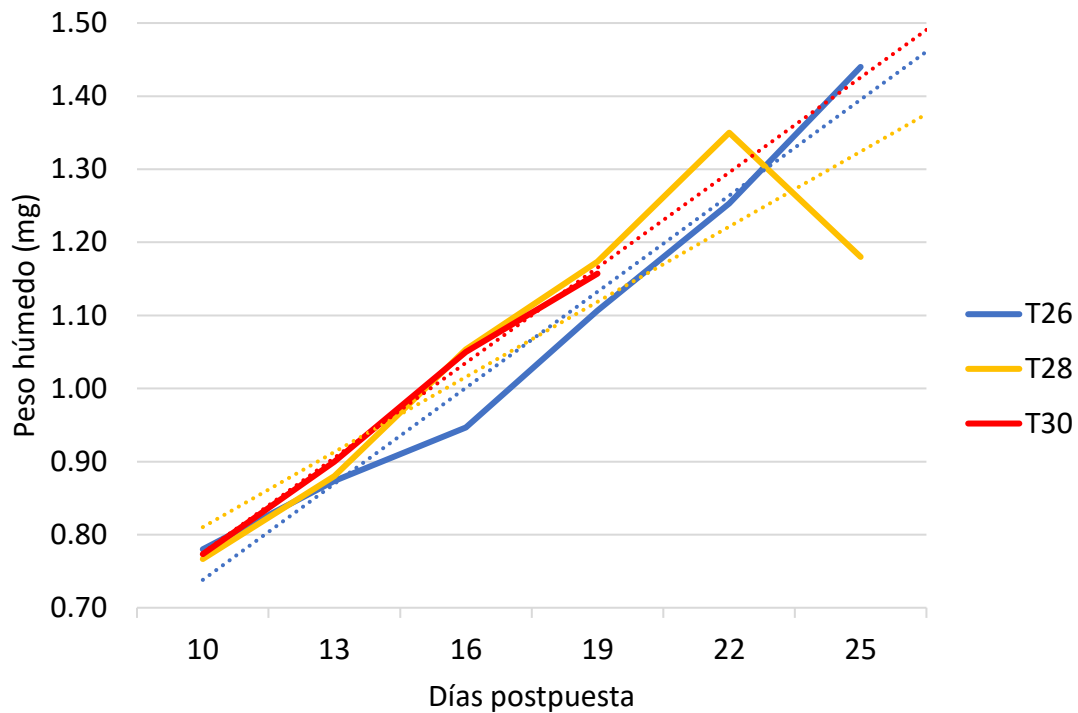


Figura X. Relación del peso húmedo del huevo durante diferentes días del desarrollo embrionario en diferentes tratamientos de temperatura (líneas sólidas) con su respectiva línea de tendencia (líneas punteadas).

El análisis del peso húmedo entre tratamientos en diferentes días del desarrollo mostró diferencias significativas solamente alrededor del día 16 postpuesta ($p < 0.05$), siendo las temperaturas de incubación más elevadas aquellas que tuvieron un peso húmedo mayor hacia el final del desarrollo, en donde el peso húmedo tuvo un mayor incremento en T26, mientras que el peso húmedo de las paralarvas de los tratamientos que concluyeron el desarrollo embrionario no mostró diferencias significativas entre sí (Fig. XI).

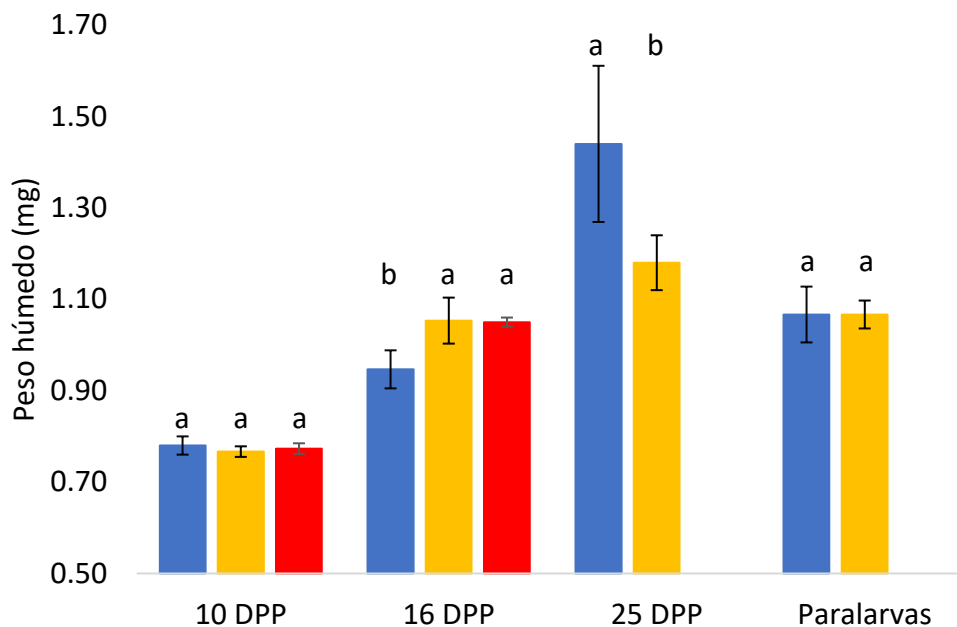


Figura XI. Peso húmedo (\pm D.E.) de huevos en diferentes días post puesta (DPP) y paralarvas a diferentes temperaturas de incubación. Barras azul representan T26, amarillo a T28 y rojo a T30. Las letras diferentes marcan las diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

VI.2 Efecto de la salinidad en embriones y paralarvas de *O. insularis*

VI.2.1 Tiempo de desarrollo embrionario y estadios Naef

La salinidad tuvo un efecto importante en el desarrollo de los embriones, pero no tuvo efecto en el tiempo (Fig. XII). El tiempo de desarrollo embrionario desde el inicio de la puesta hasta el final de la eclosión fue de 33 días para los tratamientos S36 y S38. Mientras que S40 generó un efecto deletéreo en los embriones.

Aunque los embriones incubados de los tratamientos S36 y S38 se desarrollaron progresivamente similar hasta la eclosión (ver Anexos; Fig. XXV y XXVI), en S38 se logró observar algunos embriones con manto reducidos o malformados, así como malformaciones asociadas al tamaño y forma del vitelo interno y externo (ver Anexo; Fig. XXVII), equivalentes al 7.77% del total de huevos muestreados del tratamiento durante todo el experimento.

La mayoría de los embriones del tratamiento S40 mostraron múltiples variaciones en los embriones y su estado de desarrollo durante el experimento (ver

Anexo; Fig. XXVIII), observándose cuerpos comprimidos (manto y brazos reducidos), manto mal desarrollado, así como malformaciones del vitelo (interno y externo).

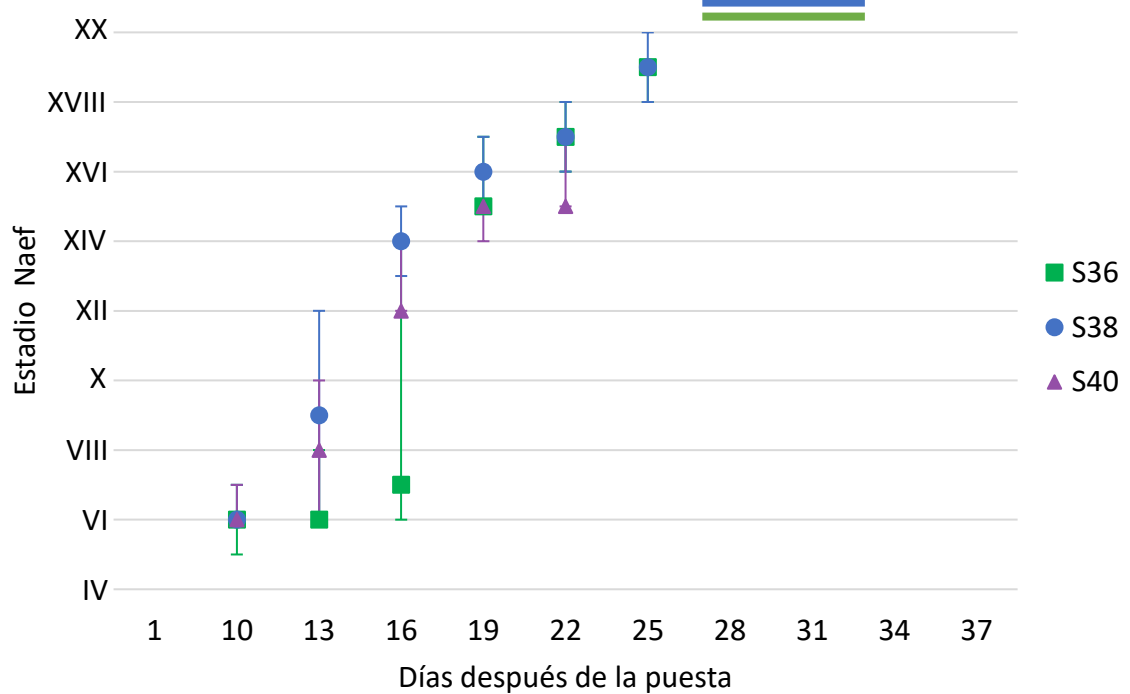


Figura XII. Estadios de desarrollo embrionario de *O. insularis* incubados en S36 (cuadros verdes), S38 (círculos azules) y S40 (triángulos morados). Las figuras representan la moda del estadio Naef a días post puesta, los bigotes representan los estadios mínimos y máximos observados y las barras superiores el intervalo de eclosión.

VI.2.2 Cambios explicados por las variables morfométricas de los embriones

El análisis de coordenadas principales aplicado para las variables morfométricas de AH y LTH mostró los cambios observados de las variables durante el crecimiento de los embriones en los diferentes tratamientos de salinidad, en donde los mayores valores de las variables se registraron a los 25 DPP en los tratamientos S36, S38 y S40 (Fig. XIII).

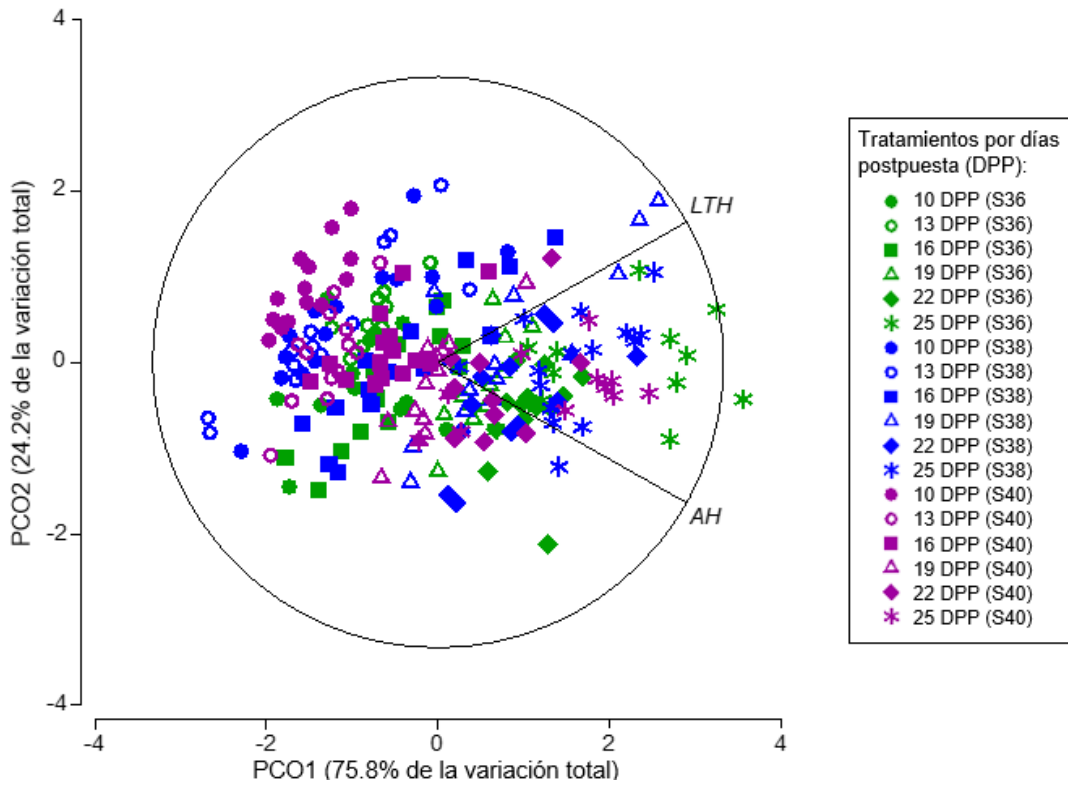


Figura XIII. Análisis de coordenadas principales de las variables AH y LTH de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo embrionario incubados a diferentes salinidades.

Los embriones de los tres tratamientos al inicio del experimento tuvieron un tamaño de AH y LTH similar (entre el día 10 y 16 postpuesta). Posteriormente las medidas de las variables de los tres tratamientos continuaron con un incremento gradual, sin embargo, los embriones del tratamiento S40 fueron los que mostraron menores valores de las variables, seguido del tratamiento S38 (Fig. XIV).

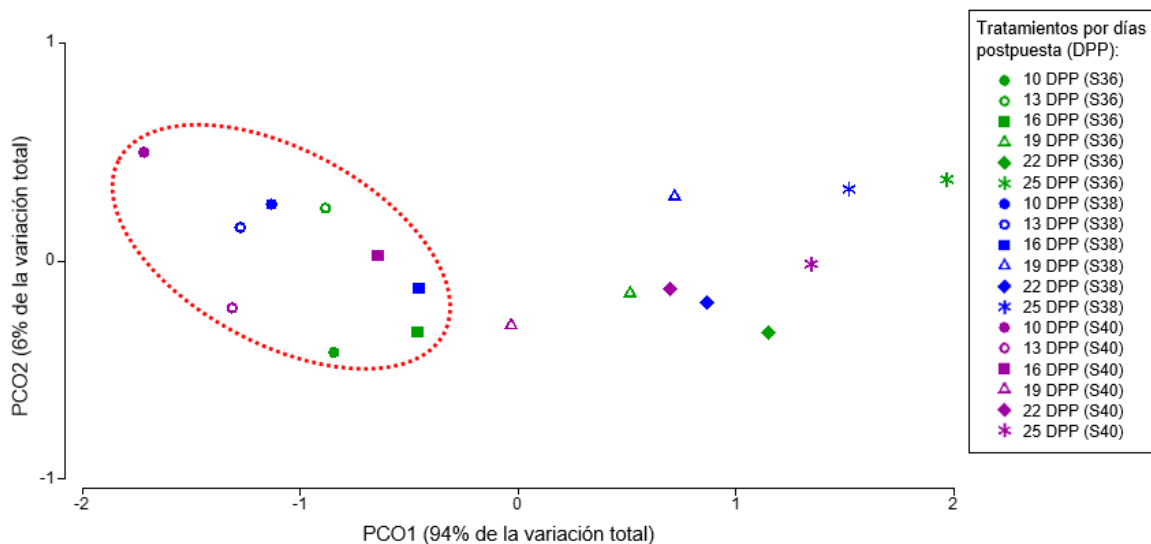


Figura XIV. Análisis de centroides de las variables AH y LTH de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo embrionario incubados a diferentes salinidades. El círculo punteado muestra los días sin diferencias significativas ($p < 0.05$).

El análisis Permanova mostró que la interacción entre el factor tratamiento salino y la variable tiempo (días) no fue significativa, pero sí lo fue entre tratamientos y entre días ($p < 0.05$) (Tabla 4). Las diferencias significativas entre los tratamientos se mostraron entre S36 y S40, pero no así entre tratamientos contiguos ($p < 0.05$, ver Anexo; Tabla 11). Por otra parte, las pruebas por pares de los huevos por días post puesta mostraron que hubo diferencias significativas en tamaño de AH y LTH a lo largo del experimento, excepto entre los días 10, 13 y 16 postpuesta ($p < 0.05$, ver Anexo; Tabla 12).

Tabla 4. Análisis de varianza multivariado (Permanova) sobre el efecto en el ancho y largo del huevo de *O. insularis* sometidos a diferentes salinidades de incubación (Tr) sobre el tiempo de desarrollo embrionario (Di) y su interacción (Tr x Di).

Origen de la variación	g.l.	S.C.	C.M.	Pseudo-F	P(perm)	Permutaciones únicas
Tr	2	20.701	10.35	4.4507	0.0064	9950
Di	5	292.68	58.535	25.139	0.0001	9949
Tr x Di	10	16.335	1.6335	0.71036	0.7522	9941
Res	208	111.26	0.5349			
Total	261	522				

El segundo análisis de coordenadas principales aplicado a las variables morfométricas mostró que la primera coordenada explicó el 78.7% de la variación total observada con una contribución importante de AH, LTE, LM, LB y VSVe. Con respecto a la segunda coordenada, ésta explicó el 10.4% de la variación total observada, representada fuertemente por LTH. Entre ambas coordenadas se explicó el 89.1% de la variación total de los datos (Fig. XV).

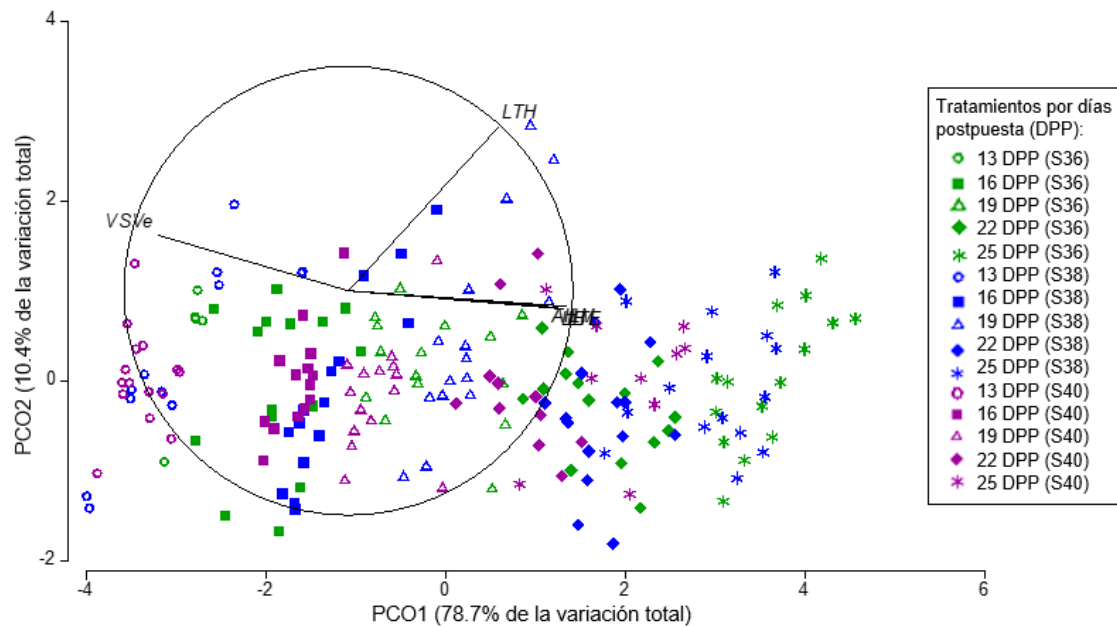


Figura XV. Análisis de coordenadas principales de las variables morfométricas de embriones de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo incubados a diferentes salinidades.

La morfometría de los embriones de los tres tratamientos mostró cambios a lo largo del tiempo y entre los distintos tratamientos salinos, siendo el tratamiento S40 el que mostró la mayor variación de las variables morfométricas. Los embriones de S40 mostraron las medidas más pequeñas de los tres tratamientos, mientras que el tratamiento S36 mostró un efecto en el incremento en tamaño de las variables más lento durante los primeros días de la organogénesis (13, 16 y 19 días postpuesta), teniendo un incremento acelerado en los últimos días del desarrollo en comparación al tratamiento S38 (Fig. XVI).

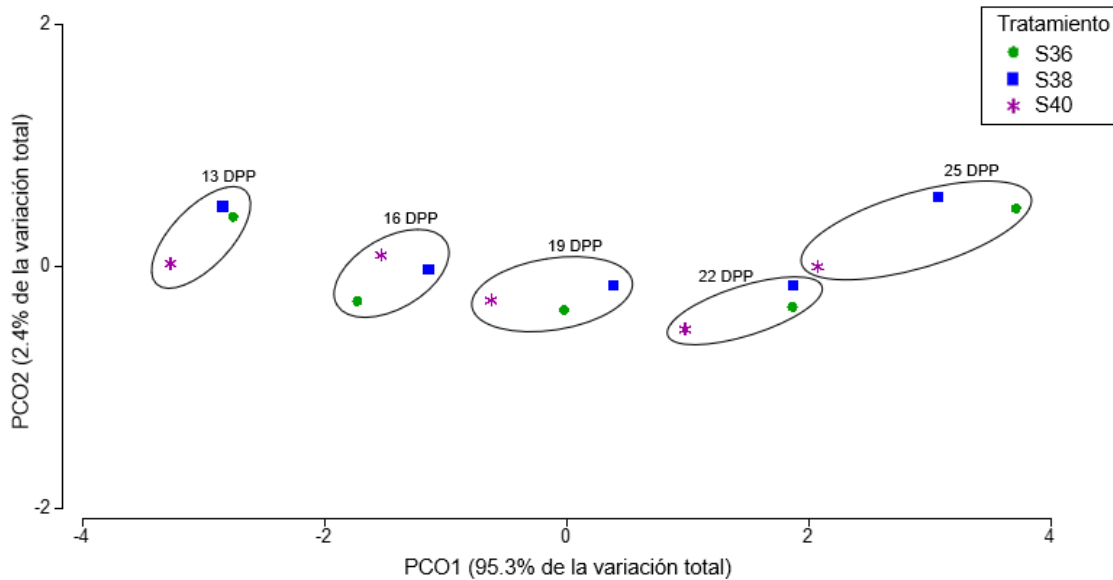


Figura XVI. Análisis de centroides de las variables morfométricas de embriones de *O. insularis* en diferentes días del desarrollo incubados a diferentes salinidades.

La prueba Permanova mostró que la interacción entre el factor tratamiento salino y la variable tiempo (días) no fue significativa, pero sí lo fue entre tratamientos y entre días ($p < 0.05$) (Tabla 5). La morfometría de los embriones cambió a lo largo del tiempo, pero lo hizo de la misma manera para todos los tratamientos salinos. Las pruebas por pares mostraron que los embriones del tratamiento S40 tuvieron una morfología significativamente diferente que los otros tratamientos a lo largo de todo el experimento, pero no hubo diferencias entre los tratamientos S36 y S38 ($p < 0.05$, ver Anexos; Tabla 13).

Tabla 5. Análisis de varianza multivariado (Permanova) sobre el efecto en diferentes variables morfométricas de embriones de *O. insularis* sometidos a diferentes salinidades de incubación (Tr) sobre el tiempo de desarrollo embrionario (Di) y su interacción (Tr x Di).

Origen de la variación	g.l.	S.C.	C.M.	Pseudo-F	P(perm)	Permutaciones únicas
Tr	2	84.349	42.174	10.266	0.0001	9954
Di	4	839.19	209.8	51.204	0.0001	9950
Tr x Di	8	27.314	3.4143	0.84803	0.6571	9905
Res	160	152.54	0.95339			
Total	202	1212				

VI.2.4 Diferencias morfométricas entre paralarvas

Solo los embriones de los tratamientos S36 y S38 lograron completar el desarrollo embrionario y eclosionar de manera exitosa (ver Anexos; Fig. XXIX y XXX), siendo el tratamiento S36 el que mostró medias significativamente mayores para la longitud total, longitud del manto y longitud del brazo en comparación con S38 (Tabla 6).

Tabla 6. Medias (mm o mm³, \pm D.E.) de diferentes medidas morfológicas de paralarvas de *O. insularis* después de eclosionar, y comparación de las variables morfológicas entre tratamientos de salinidad.

Medidas morfológicas	Tratamiento de incubación		Parámetros estadísticos	
	S36	S38	Valor t	Valor p
Número de individuos	15	15		
Longitud total (TL)	2.53 \pm 0.13	2.31 \pm 0.13	4.41	0.0001
Longitud del manto (ML)	1.71 \pm 0.07	1.57 \pm 0.09	4.67	6.9E-05
Longitud del brazo (AL)	0.70 \pm 0.06	0.61 \pm 0.07	3.64	0.0011
Volumen del saco vitelino interno (VSVi)	0.13 \pm 0.03	0.12 \pm 0.04	0.77	0.4450

VI.2.5 Porcentajes de eclosión

De los tres tratamientos de salinidad, solo S40 no logró terminar el desarrollo embrionario con un 0% de eclosión, mientras que los tratamientos S36 y S38 lograron porcentajes de eclosión estimados superiores al 80%. Para el tratamiento S36 se estimó un 91% de eclosión, siendo este el porcentaje más alto de los tratamientos de salinidad. En cambio, para el tratamiento S38 se estimó un porcentaje de eclosión del 81.8%.

VI.2.6. Peso húmedo de huevos y paralarvas

El peso húmedo de los huevos de los tres tratamientos de salinidad tuvo un incremento progresivo similar durante el desarrollo del experimento (Fig. XVII). El ANOVA mostró que la interacción entre el factor tratamiento salino y la variable tiempo (días) no fue significativa, mientras que entre tratamientos salinos no hubo diferencias significativas, sí las hubo entre días post puesta ($p < 0.05$) (Tabla 7).

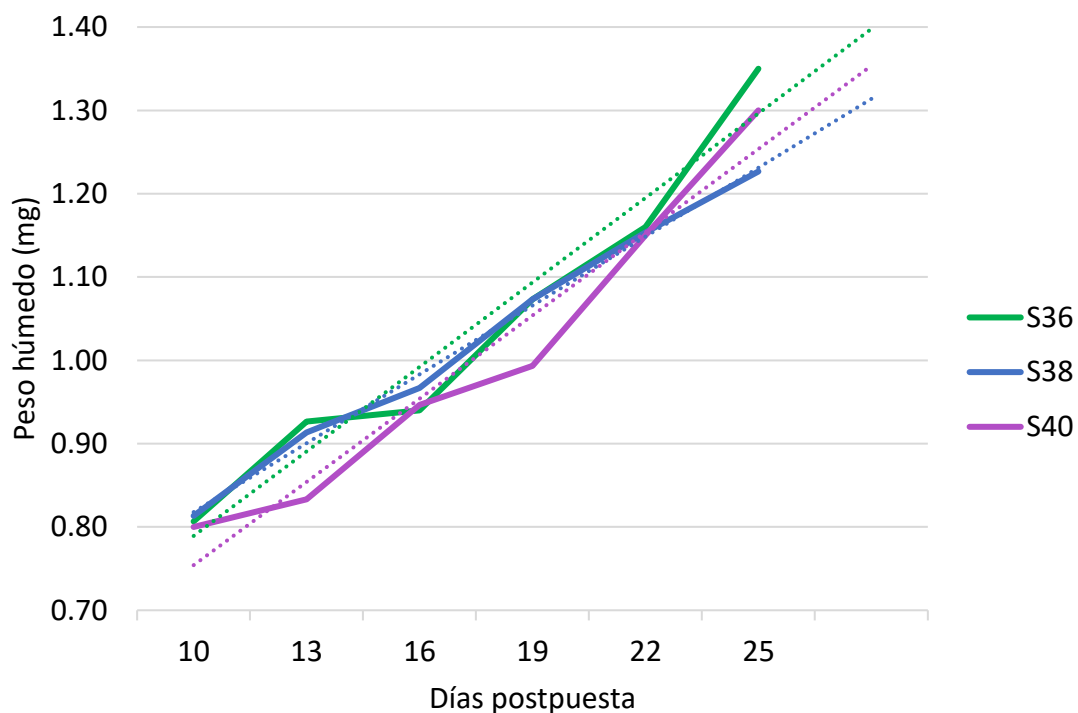


Figura XVII. Relación del peso húmedo de embriones dentro de la cápside durante diferentes días del desarrollo embrionario en diferentes tratamientos salinos (líneas sólidas) con su respectiva línea de tendencia (líneas punteadas).

Tabla 7. Tabla de ANOVA sobre el efecto en el peso húmedo de embriones dentro de la cápside de *O. insularis* sometidos a diferentes salinidades de incubación (Tr) sobre el tiempo de desarrollo embrionario (Di) y su interacción (Tr x Di).

Origen de la variación	g.l.	S.C.	C.M.	F valor	Pr(>F)
Tr	2	0.00929	0.004646	1.6649	0.2034
Di	5	1.36885	0.273771	98.0997	<2e-16
Tr x Di	10	0.03220	0.003220	1.1537	0.3524
Res	36	0.10047	0.002791		

Finalmente, el peso húmedo de las paralarvas de los tratamientos que concluyeron el desarrollo embrionario (S36 y S38) mostraron diferencias significativas entre sí ($t = 3.20$; $p = 0.03$), siendo la media de S36 la que obtuvo un peso húmedo mayor que S38 (Fig. XVIII).

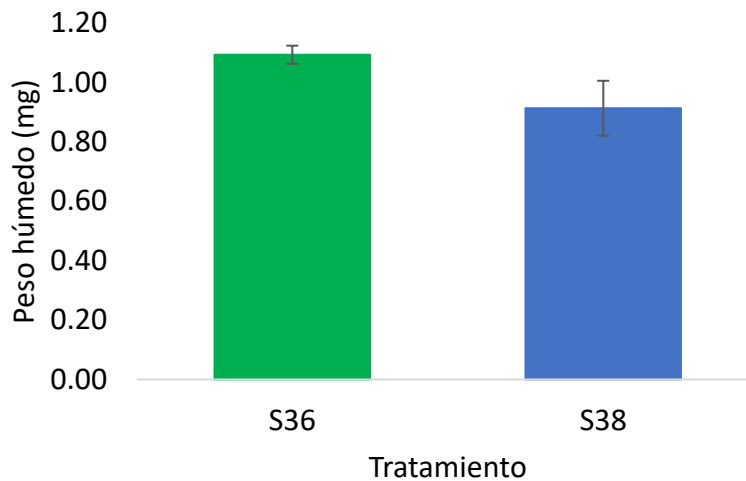


Figura XVIII. Peso húmedo de paralarvas de recién eclosión de *O. insularis* sometidas a diferentes salinidades de incubación (n=15), bigotes representan la desviación estándar.

VII. Discusión

El desarrollo embrionario de *O. insularis* fue interrumpido a una temperatura elevada de 30 °C, así mismo se observaron brazos y mantos reducidos de los embriones e irregularidades en el tamaño y forma del saco vitelino. La interrupción del desarrollo embrionario ha sido observada en otras especies de pulpo fuera de su intervalo óptimo de desarrollo (Juárez *et al.* 2015; Sánchez-García *et al.* 2017). Asimismo, se han observado malformaciones similares en embriones de *Sepioteuthis australis* ante el incremento de la temperatura del fondo en poblaciones naturales (Gowland *et al.* 2002) y en embriones de calamar (*Loligo vulgaris*) cuando fueron expuestos a una temperatura elevada (Rosa *et al.* 2012). Temperaturas por arriba de los intervalos óptimos del desarrollo generan efectos deletéreos en la ontogenia de los cefalópodos, siendo 30 °C la temperatura que generó estos efectos en embriones de *O. insularis*.

El tiempo de desarrollo embrionario fue menor a una temperatura de incubación de 28 °C (31 días) seguido de 26 °C (37 días). Éste se comportó de manera inversa a la temperatura de incubación como se registra para distintos cefalópodos (Boletzky, 1989, 1994; Uriarte *et al.* 2012; Braga *et al.* 2021; Spreitzenbarth y Jeffs,

2020, 2021). Pérez-Rodríguez (2021) registró un intervalo de tiempo de 21 a 28 días (25 ± 3.95 días) a una temperatura de 25.52 ± 0.97 °C para cuatro puestas con cuidado maternal provenientes de hembras del PNSAV. Mientras que, Lenz *et al.* (2015) registraron un tiempo de desarrollo embrionario de 30 a 38 días para tres hembras provenientes de la costa de Brasil y a una temperatura de 26 ± 1 °C. Las diferencias en el tiempo de desarrollo embrionario reportadas en este estudio demostraron que se pueden obtener intervalos de desarrollo embrionario en huevos incubados artificialmente en temperaturas entre 26 y 28 °C ajustados a los reportados con cuidado maternal.

No todos los embriones observados en este estudio realizaron la primera reversión embrionaria independientemente de la temperatura de incubación como se ha reportado anteriormente para *O. insularis* (Lenz *et al.* 2015; Maldonado *et al.* 2019). La ausencia de la primera reversión se ha atribuido a que los embriones inician la actividad ciliar en etapas tardías para la reversión (Boletzky, 1971), sin embargo, este hecho no evitó el desarrollo embrionario. Embriones de pulpo de *O. tetricus* que no realizaron la primera reversión se desarrollaron de manera normal, con aparentes restricciones de espacio (Joll, 1978). Este efecto en el desarrollo embrionario, por lo tanto, no es atribuido a la temperatura ni a la salinidad de incubación.

El efecto de la temperatura se vio reflejado en medidas morfométricas mayores marcadas fuertemente por el largo del brazo, largo del manto y volumen del saco vitelino interno en embriones de *O. insularis* incubados a 28 °C durante el desarrollo embrionario, y con medidas menores al final, en comparación con aquellos embriones incubados a 26 °C. En embriones de *O. vulgaris* se registró mayor volumen de vitelo interno en una temperatura baja (14 °C) debido a la baja actividad metabólica (Nande *et al.* 2016) y un retraso en el aumento de los valores de las variables morfométricas cuando huevos fueron incubados en un tratamiento rampa (incremento de 1 °C cada 3 días de 24 a 30°C), principalmente cuando se alcanzaron temperaturas de 30 °C (Sánchez-García, 2016). En embriones de *O. mimus* y *O. tehuelchus* incubados en temperaturas elevadas (18 y 21 °C; y 16 °C respectivamente) se observaron medidas mayores de la longitud del brazo, la longitud del manto, el diámetro del ojo y menor

volumen de saco vitelino externo que en aquellos incubados en temperaturas bajas (12 y 15 °C; y 13 °C respectivamente) (Uriarte *et al.* 2012; Braga *et al.* 2021). En *O. maya* se observó un óptimo desarrollo embrionario a 22 °C principalmente diferenciado de otras temperaturas (18, 26 y 30 °C) por una mayor medida en el largo del brazo y en consecuencia la longitud total del embrión en estadios avanzados (estadio XIX) (Caamal-Monsreal *et al.* 2016). De la misma manera, embriones de *O. tetricus* (Spreitzenbarth y Jeffs, 2020) mostraron medidas significativamente mayores durante el desarrollo embrionario (LT, LM, LB y VSVi) en aquellos embriones incubados a 16.7 ± 1.2 °C que en aquellos incubados a 18.7 ± 1.2 °C y 21.0 ± 0.5 °C. Temperaturas elevadas mostraron medidas morfométricas mayores durante el desarrollo embrionario de *O. insularis*, sin embargo al final del desarrollo la temperatura más baja de 26 °C fue la que obtuvo mayores medidas indicando que un intervalo de óptimo desarrollo se encuentra entre 26 y 28 °C.

El efecto de la temperatura en paralarvas de *O. insularis* se vio en medidas de la longitud total, la longitud del brazo y el volumen del saco vitelino interno mayores en una temperatura de incubación de 26 °C que en 28 °C. Del mismo modo, paralarvas de *O. tetricus* cultivadas en temperaturas más bajas mostraron una morfometría mayor en comparación con las cultivadas en temperaturas alta (Spreitzenbarth y Jeffs, 2020). Por el contrario, paralarvas de *O. tehuelchus* mostraron en su mayoría medidas morfométricas mayores en aquellas incubadas a 16 °C que aquellas incubadas a 13 °C (Braga *et al.* 2021). Estas diferencias en las medidas se asocian a los intervalos óptimos de desarrollo de cada especie, reafirmando un intervalo para *O. insularis* en temperaturas entre 26 y 28 °C, con mayores medidas en 26 °C, para este estudio.

El presente estudio registró paralarvas con mayores medidas en una temperatura de 26.32 ± 0.31 °C en un sistema de incubación artificial (LT = 2.48 ± 0.12 , LM = 1.67 ± 0.07 y LB = 0.66 ± 0.05). Pérez-Rodríguez (2021) registró medidas morfométricas de paralarvas de *O. insularis* recién eclosionadas con cuidado maternal a 25.52 ± 0.97 °C mayores para LT y LB en comparación a las registradas en este estudio. En cambio, la primera descripción de paralarvas realizada por Lenz *et al.* (2015) (cuidado maternal a 26 ± 1 °C) registró medidas menores para LT y similares

para LM y LB. Estas diferencias podrían atribuirse al cuidado maternal y estado de salud de los progenitores. Las medidas registradas en este estudio se encontraron en un intervalo similar a los registrados con anterioridad, obteniendo óptimos resultados de incubación en un sistema artificial.

El porcentaje de eclosión de huevos reportado para este experimento de temperatura alcanzó valores del 99% para las temperaturas de 26 y 28 °C. Sin embargo, se cree que el porcentaje de eclosión podría verse afectado de manera inversa a la temperatura como ocurre en otros pulpos (Caamal-Monsreal *et al.* 2016). No obstante, se ha demostrado que se pueden lograr tasas de eclosión superiores al 90% en sistemas de recirculación con diferentes flujos de agua y apoyo de piedras difusoras similar al empleado por Spreitzenbarth y Jeffs (2020; 2021). El porcentaje de eclosión fue similar en temperaturas de incubación de 26 y 28 °C y nulo en 30 °C, mostrando una alta eclosión en estas temperaturas en un sistema de incubación artificial.

El peso húmedo de *O. insularis* mostró mayores medidas durante el desarrollo embrionario en temperaturas de incubación altas (28 y 30 °C), mientras que la temperatura de 26 °C obtuvo mayor peso al final del experimento, las paralarvas de 26 y 28 °C tuvieron valores similares. El peso húmedo registrado para *O. maya* mostró huevos y paralarvas más pesados en una temperatura de 22 °C y menos pesados en 18, 26 y 30 °C (Caamal-Monsreal *et al.* 2016). Por el contrario, *O. tetricus* registró huevos más pesados durante el desarrollo embrionario en aquellos que fueron incubados a una temperatura baja de 16.7 ± 1.2 °C, mientras que paralarvas recién eclosionadas tuvieron mayor peso húmedo en una temperatura de 18.7 ± 1.2 °C (Spreitzenbarth y Jeffs, 2020). De la misma manera, los pesos húmedos de organismos recién eclosionados de *O. bimaculatus* resultaron ser más grandes en una temperatura de 18 °C en comparación con aquellos incubados a 16 y 20 °C (Suárez-Salcido, 2016). Por otro lado, paralarvas de *O. tehuelchus* mostraron ser significativamente más pesadas para una temperatura de incubación de 16 °C que en 13 °C (Braga *et al.* 2021). El peso húmedo de huevos y paralarvas de *O. insularis* sugiere que durante el desarrollo embrionario existen diferencias entre los tratamientos, sin embargo, al

eclosionar se mostraron valores similares en las temperaturas de 26 y 28 °C, por lo que el peso húmedo dentro del intervalo óptimo de desarrollo no se ve afectado en los organismos recién eclosionados.

El tiempo de desarrollo embrionario de *O. insularis* no fue afectado por la salinidad de incubación de 36 y 38 (33 días), mientras que el tratamiento de 40 inhibió el desarrollo. Embriones de *Sepia pharaonis* completaron el desarrollo en salinidades entre 24 y 33 con un tiempo similar entre 27 y 33 pero diferente en 24, mientras que en salinidades menores y mayores a este intervalo se interrumpió el desarrollo embrionario (Peng *et al.* 2016). Los resultados obtenidos sugieren que el tiempo de desarrollo embrionario no es influenciado por la salinidad, el cual es atribuido a la temperatura de incubación, como se ha registrado en estudios de ambos parámetros en conjunto (Palmegiano y D'Apote, 1893; Ito y Sakurai, 2004), pero salinidades fuera del intervalo óptimo de *O. insularis* inhiben su desarrollo.

En este trabajo se reportan por primera vez malformaciones observadas en embriones de *O. insularis* asociadas a variaciones en la salinidad. Una salinidad alta, de 40, inhibe el desarrollo embrionario debido a las alteraciones generadas, principalmente atribuidas a la absorción anormal del saco vitelino y manto reducido o malformado. El desarrollo embrionario de *S. officinalis* se vio más lento y se observaron malformaciones, desde un manto acortado hasta deformidades completas y el cese del desarrollo en aquellos incubados en salinidades inferiores a 26 (Paulij *et al.* 1990). El cese fue atribuido al estrés osmótico por la gran demanda de energía la cual no puede ser usada para el desarrollo, este estrés osmótico no mostró efectos letales inmediatos cuando los embriones en estadios tardíos fueron expuestos a cambios de salinidad (Paulij *et al.* 1990), pero sí cuando el cambio ocurrió en estadios tempranos (Ito y Sakurai, 2004). Estas malformaciones se han reportado a salinidades bajas, indicando los límites inferiores de salinidad para lograr el desarrollo embrionario de cada especie. En el presente estudio, se sugiere un límite superior de 38 para lograr un desarrollo óptimo embrionario de *O. insularis*, existiendo un porcentaje inferior al 10% de posibilidad de malformaciones.

Las medidas morfométricas de embriones de *O. insularis* fueron mayores en aquellos organismos incubados a una salinidad de 36 en comparación de 38 y 40, mientras que paralarvas de *O. insularis* incubadas a una salinidad de 36 mostraron mayores medidas morfométricas en la longitud total, la longitud del manto y del brazo, pero no así en el volumen del saco vitelino interno, en comparación a aquellas incubadas a una salinidad de 38. Esta diferencia no significativa en el saco vitelino puede ser explicada a que el metabolismo y consumo del vitelo es atribuido al efecto de la temperatura, como anteriormente se ha descrito (Boletzky, 1975; Caamal-Monsreal *et al.* 2016; Nande *et al.* 2016). En recién eclosionados de *L. vulgaris* se reportó una longitud del manto mayor en una salinidad de 37 que en 34 (Sen, 2004). Variaciones en las medidas de las variables morfométricas de huevos y paralarvas de *O. insularis* incubados a diferentes salinidades se reportan por primera vez, estos resultados sugieren un intervalo de óptimo desarrollo en salinidades entre 36 y 38, con medidas morfométricas mayores en salinidad de 36. Aunque el tratamiento S38 mostró paralarvas bien desarrolladas, se observó una paralarva muestreada con el saco vitelino externo aún presente, así como otra con un saco vitelino irregular, similar a una protuberancia. Sin embargo, al no interferir de manera estricta estas afectaciones con los procesos vitales del embrión, éste se pudo desarrollar de manera normal y eclosionar.

El porcentaje de eclosión reportado en este estudio fue superior al 80% en salinidades de 36 y 38, siendo mayor en la salinidad de 36. Se ha reportado porcentajes de eclosión elevados (>70%) en *S. officinalis* a salinidades entre 29 y 33, mientras que salinidades inferiores a 26 no registraron eclosión aparentemente por muerte en estadios embrionarios tempranos (Palmegiano y D'Apote, 1983; Paulij *et al.* 1990). De la misma manera, el porcentaje de eclosión en *Loligo vulgaris* fue mayor (88.5%) en una salinidad de incubación de 37 y menor (60%) en 34 (Sen, 2004). Por otra parte, en *L. bleekeri* los valores más altos (>80%) se registraron en salinidades entre 28 y 34, mientras que salinidades inferiores mostraron tasas de eclosión bajas o nulas, asimismo los pocos organismos que lograron eclosionar se observaron con manto reducido y natación anormal (Ito y Sakurai, 2004). El porcentaje de eclosión para *O.*

insularis mostró que dentro del límite superior de tolerancia salina de 38 y 36 se obtienen valores elevados, con un mayor porcentaje en una salinidad de 36.

Por su parte, no se registraron efectos significativos de la salinidad en el peso húmedo de huevos de *O. insularis*, mientras que el peso húmedo de paralarvas incubadas en una salinidad de 36 fue mayor que aquellas de 38. En relación con el peso húmedo de huevos de *S. pharaonis* (Peng *et al.* 2016), éste no mostró diferencias durante el desarrollo embrionario en diferentes salinidades, pero reportó una disminución en los primeros estadios, y posteriormente un aumento hacía estadios tardíos en comparación al peso húmedo de pulpo que tuvo un incremento en peso continuo. El peso húmedo de recién eclosionados de *S. pharaonis* fue mayor a una salinidad de 30, al igual que la relación de eficiencia de utilización del vitelo y porcentaje de eclosión, en comparación de sus continuos inferior y superior (27 y 33, respectivamente) (Peng *et al.* 2016). La variación en peso húmedo solo se vio en recién eclosionados de *O. insularis*, en donde la salinidad de 36 obtuvo mayores valores siendo ésta la más adecuada para obtener mayores pesos húmedos.

Estudios previos con ejemplares provenientes de costas de Brasil se han desarrollado bajo una salinidad de 32 ± 1 (Lenz *et al.* 2015), y de 37 ± 1 para organismos provenientes del PNSAV (Pérez-Rodríguez, 2021). Con anterioridad, Ortega-Morales (2009) reportó el desarrollo embrionario de *O. insularis* del PNSAV (identificado erróneamente como *O. vulgaris*) a una salinidad entre 36 y 40. Las diferencias de salinidad se atribuyen a la capacidad de osmorregulación que poseen los adultos de *O. insularis*, siendo organismos más eurihalinos y tolerantes tanto al aumento como a la disminución de la salinidad (Amado *et al.* 2015). Sin embargo, se ha determinado que ejemplares recién eclosionados de sepias y calamares no tienen buena capacidad de sobrevivencia a cambios bruscos de salinidad, y mediana sobrevivencia relativa a cambios con periodos de aclimatación (Nabhitabhata *et al.* 2001; Ito y Sakurai, 2004). Por lo que, esta capacidad osmorregulatoria no podría poseer tanta plasticidad en embriones que en adultos de *O. insularis*. Dados estos resultados y en comparación a los descritos en otras especies de cefalópodos, se infiere que las diferentes medidas obtenidas en este estudio serían menores en salinidades

inferiores a 36 (p. ej. ~34). Por lo que, un intervalo de incubación adecuado reportado en este estudio ocurre entre 36 a 38 de salinidad, con un óptimo en 36. Estudios a futuro deberán realizarse para determinar si existe un efecto de salinidades más bajas y así ampliar el intervalo de incubación hacia salinidades inferiores (p. ej. 34 - 38).

La presente investigación mostró que los embriones de *O. insularis* son sensibles a altas temperaturas, así como a altas salinidades. En este contexto, fue posible observar que los embriones pueden tolerar temperaturas de 28 °C y salinidades de 38 y desarrollarse hasta la eclosión. Sin embargo, aunque se logró un desarrollo completo y se observó un porcentaje de eclosión alto para ambos tratamientos, los resultados sugieren que para obtener resultados óptimos en el desarrollo embrionario en condiciones de cultivo la temperatura debe mantenerse entre los 26 y 28 °C, y salinidades entre 36 y 38. Estas temperaturas de desarrollo concuerdan con las mencionadas por Ángeles-González *et al.* (2018); estos autores toman de referencia temperaturas de óptimo desarrollo embrionario de *O. insularis* de entre 24 a 28 °C con registros de anomalías morfológicas a una temperatura de 30 °C indicando el inicio de la zona “Pejus” (áreas no óptimas pero tolerables donde disminuye el alcance aeróbico). Por su parte, Morales-Ortega (2009) registró un desarrollo embrionario de *O. insularis* (identificado erróneamente como *O. vulgaris*) proveniente del PNSAV con temperaturas entre los 25 a 28 °C. Por lo que, se confirma que las temperaturas óptimas del desarrollo óptimo embrionario se encuentran en las reportadas en este estudio.

Estos resultados brindan avances sobre el conocimiento de la respuesta de embriones y paralarvas bajo diferentes condiciones de cultivo para así obtener óptimos resultados de desarrollo en las etapas tempranas de *O. insularis*, y así, optimizar el cultivo de esta especie en cautiverio. Estudios más recientes sobre variables morfométricas de embriones incluyen la fuente de variación genética en donde los efectos de los tratamientos térmicos pueden generar cambios no significativos entre tratamientos, pero sí entre la relación del tratamiento y diferentes puestas de hembras (Spreitzenbarth y Jeffs, 2021). Estas observaciones sugieren que,

estudios a futuro deben incluir más hembras para reducir el sesgo que genere la variabilidad genética y obtener resultados con menor incertidumbre.

VIII. Conclusiones

- El desarrollo embrionario de *O. insularis* ocurre desde el inicio de la puesta hasta la eclosión en temperaturas de incubación de 26 y 28 °C en condiciones de cultivo. Una temperatura elevada de 30 °C afecta reduciendo el tamaño de brazos y manto del embrión y generando irregularidades en el tamaño y forma del saco vitelino, así como la interrupción del desarrollo embrionario.
- El desarrollo embrionario de *O. insularis* ocurre desde el inicio de la puesta hasta la eclosión en salinidades de incubación de 36 y 38 en condiciones de cultivo. Una salinidad de 40 afecta reduciendo el tamaño de los brazos y manto y generando irregularidades en el tamaño y forma del saco vitelino, así como la interrupción del desarrollo embrionario.
- Las temperaturas de 26, 28 y 30 °C afecta de manera distinta al tamaño de las medidas morfométricas durante el desarrollo embrionario. Una temperatura elevada de 28 °C permite obtener medidas morfométricas mayores durante el desarrollo, así como un tiempo de desarrollo embrionario más corto que en 26 °C. Y un incremento mayor en las medidas morfométricas de los embriones en la temperatura de 26 °C al final del desarrollo embrionario.
- El tiempo de desarrollo embrionario de los tratamientos de salinidad de 36 y 38 fue de 33 días, sin embargo, la salinidad de 38 afectó a la ontogenia, observándose medidas morfométricas mayores durante los primeros días del desarrollo que en la salinidad de 36 y el inicio de malformaciones en algunos embriones (menos del 10% del total de huevos).
- La temperatura de incubación de 26 °C tuvo un efecto en el tamaño de las medidas morfométricas de las paralarvas, relacionándose con medidas morfométricas mayores que en la temperatura de 28 °C.
- La salinidad de incubación de 36 tuvo un efecto en el tamaño de las medidas morfométricas de las paralarvas, relacionándose con medidas morfométricas mayores que en la salinidad de 38.

- El porcentaje de eclosión estimado para las temperaturas de incubación de 26 y 28 °C fue superior a 95, con mayor porcentaje en la temperatura de 26 °C.
- El porcentaje de eclosión estimado para las salinidades de incubación de 36 y 38 fue superior a 80, con mayor porcentaje en la salinidad de 36.
- El peso húmedo de los huevos de las temperaturas de 28 y 30 °C fue mayor que en 26 °C durante el desarrollo embrionario, pero fueron de similar peso al final del desarrollo y en paralarvas recién eclosionadas en las temperaturas de 26 y 28 °C.
- El peso húmedo de los huevos en los tratamientos de salinidad fue similar durante el desarrollo embrionario, aunque las paralarvas en una salinidad de 36 tuvieron un mayor peso.

Referencias

- Amado, E.M., Souza-Bastos, L.R., Vidal, E.A.G., Leite, T.S., y C.A. Freire. 2015. Different abilities to regulate tissue hydration upon osmotic challenge *in vitro*, in the cephalopods *Octopus vulgaris* and *Octopus insularis*. *Marine and Freshwater Behavior and Physiology* 48(3): 205-211. <https://doi.org/10.1080/10236244.2015.1024078>
- Amor, M.D., Laptikhovsky, V., Norman, M.K. y J.M. Strugnell. 2017. Genetic evidence extends the known distribution of *Octopus insularis* to the mid-Atlantic island Ascension and St Helena. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom* 97(4): 753-758. <https://doi.org/10.1017/S0025315415000958>
- Ángeles-González, L.E., Calva, R., Santos-Valencia, J., Ávila-Poveda, O.H., Olivares, A., Díaz, F. y C. Rosas. 2017. Temperature modules spatio-temporal variability of the functional reproductive maturation of *Octopus maya* (Cephalopoda) on the shelf of Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Molluscan Studies* 83: 280-288. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyx013>
- Ángeles-González, L.E., Lima, F.D., Caamal-Monsreal, C., Díaz, F. y C. Rosas. 2020. Exploring the effects of warming seas by using the optimal and pejus of temperatures of the embryo of three Octopoda species in the Gulf of Mexico. *Journal of Thermal Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102753>
- Arreguín-Sánchez, F. 2006. Pesquerías de México: (Diagnóstico y Perspectivas). In: P. Guzmán-Amaya & D. Fuentes-Castellanos (Eds.). *Pesca, Acuicultura e Investigación en México*. Cámara de Diputados, LIX Legislatura / Congreso de la Unión. México. pp. 13-36.
- Arreguín-Sánchez, F. y E. Arcos Huitrón. 2011. La pesca en México: estado de la explotación y uso de los ecosistemas. *Hidrobiológica* 21(3): 431-462.
- Avendaño, O., Salas-Monreal, D., Anis, A., Salas-de-León, D.A. y M.A. Monreal-Gómez. 2019. Monthly surfaces hydrographical variability in a coral reef system under the influence of river discharges. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 222 (2019): 53-65. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.04.012>
- Boletzky, S.v. 1971. Rotation and first reversion in the *Octopus* embryo – A case of gradual reversal of ciliary beat. *Experientia* 27(5): 558-560.
- Boletzky, S.v. 1975. A contribution to the study of yolk absorption in the Cephalopoda. *Zoomorphology*, 80: 229-246.
- Boletzky, S.v. 1989. Recent studies on spawning, embryonic development, and hatching in the Cephalopoda. *Advances in Marine Biology*, Volume 25: 85-115. ISBN 0-12-026125-1
- Boletzky, S.v. 1994. Embryonic development of cephalopods at low temperatures. *Antarctic Science* 6(2): 139-142.
- Boletzky, S.v., Villanueva, R. 2014. Cephalopod biology. In: Iglesias, J., Fuentes, L., Villanueva, R. (Eds). *Cephalopod culture*. Springer. pp 3-16.
- Bouth, H.F., Leite, T.S., de Lima, F.D. y J.E. Lins-Oliveira. 2011. Atol das Rocas: an oasis for *Octopus insularis* juveniles (Cephalopoda: Octopodidae). *Zoologia* 28(1): 45-52. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702011000100007>
- Boyle, P. R. y P.G. Rodhouse. 2005. *Cephalopods: ecology and fisheries*. Blackwell Publishers. 452pp.
- Caamal-Monsreal, C., Uriarte, I., Farias, A., Díaz, F., Sánchez, A., Re, D. y C. Rosas. 2016. Effects on temperature on embryo development and metabolism of *O. maya*. *Aquaculture* 451(2016): 156-162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.09.011>
- Castro-Fuentes, H., Olivares-Paz, A., Quintana-Fellay, A. y O. Zúñiga-Romero. 2002. Descripción del desarrollo embrionario y paralarva de *Octopus mimus* (Gould, 1852) (Mollusca: Cephalopoda) en cautiverio. *Estud. Oceanol.* 21: 13-25.
- Caverivière, A., Domain, F. y A. Diallo. 1999. Observations of the influence of temperature on the length of embryonic development in *Octopus vulgaris* (Senegal). *Aquatic Living Resources* 12(2): 151-154. [https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(99\)80024-2](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(99)80024-2)
- CONAPESCA. 2018. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2018. https://www.conapesca.gob.mx/work/sites/cona/dgppe/2018/ANUARIO_2018.pdf
- Delgado, M., Gairín, J.G., Carbó, R., J. y C. Aguilera. 2011. Growth of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) in tanks in the Ebro Delta (NE Spain); effects of temperature, salinity and culture density. *Scientia Marina* 75(1): 53-59. <https://doi.org/10.3989/scimar.2011.75n1053>

- Deryckere, A., Styfhals, R., Vidal, E.A.G., Almansa, E. y E. Seuntjens. 2020. A practical staging atlas to study embryonic development of *Octopus vulgaris* under controlled laboratory conditions. *BMC Developmental Biology* (2020) 20:7. <https://doi.org/10.1186/s12861-020-00212-6>
- Fajardo-Alvarado, G., González-Gómez, R., Meiners-Mandujano, C., Jiménez-Badillo, L. y P.S. Morillo-Velarde. 2018. Comportamiento reproductivo del pulpo común (*Octopus insularis*) de Veracruz, bajo condiciones de cultivo. In: Vinay, V. J. C., V. A. Esqueda E., O. H. Tosquy V., R. Zetina L., A. Ríos U., M. V. Vázquez, H., A. L. Del Angel P. y C. Perdomo M. (comps.). *Avances En Investigaciones Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola, Pesquera, Desarrollo rural, Transferencia de tecnología, Biotecnología, Ambiente, Recursos naturales y Cambio climático*. INIFAP, CP, UACH, INAPESCA, UV, TecNM. Año 2. Núm. 1. 1130-1139.
- FAO. 2016. *GLOBEFISH Highlights Quarterly ISSUE, including Jan. – Jun. 2016 Statistics – A quarterly update on world seafood markets*. GLOBEFISH Highlights no. 4-2016.
- FAO. 2018. El estado mundial de la pesca y acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- FAO. 2019. *GLOBEFISH Highlights October 2019 ISSUE, with Jan. -Jun. 2019 Statistics – A quarterly update on world seafood markets*. GLOBEFISH Highlights no. 4-2019.
- FAO. 2020. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. Versión resumida. La sostenibilidad en acción. Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9231es>
- FAO. 2021. *GLOBEFISH Highlights - A quarterly update on world seafood markets: 2nd issue 2021, with Annual 2020 Statistics*. GLOBEFISH Highlights, 2-2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb6414en>
- Fernández, J.I., Álvarez-Torres, P., Arreguín-Sánchez, F., López-Lemus, L.G., Ponce, G., Díaz-de-León, A., Arcos-Huitrón, E. y P. del Monte-Luna. 2011. Coastal fisheries of Mexico. In S. Salas, R. Chuenpagdee, A. Charles and J.C. Seijo (eds). *Coastal fisheries of Latin America and the Caribbean*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 544. Rome. pp. 231–284.
- Flores-Valle, A. 2010. Descripción morfológica y determinación de identidades genéticas de pulpos de costas mexicanas. Tesis de maestría en Biología. Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa. 118p. <https://doi.org/10.24275/uami.gx41mj077>
- Flores-Valle, A., Pliego-Cárdenas, R., Jiménez-Badillo, M. de L., Arredondo-Figueroa, J.L. y I.A. Barriga-Sosa. 2018. First Record of *Octopus insularis* Leite and Haimovici, 2008 in the *Octopus* Fishery of a Marine Protected Area in the Gulf of Mexico. *Journal of Shellfish Research* 37(1):221-227. <https://doi.org/10.2983/035.037.0120>
- Galindo-Cortes, G., Hernández-Flores, A. y J. Santos-Valencia. Pulpo del Golfo de México *Octopus maya* y *Octopus vulgaris*. 2014. In: Beléndez-Moreno, L.F.J, Barr, E.E., Galindo-Cortes, G., Gaspar-Dillanes, M.T., Huidobro-Campos, L., Morales-Bojórquez, E. (Eds.). *Pesquerías del Golfo de México y Caribe Mexicano*. Instituto Nacional de Pesca.
- García, J.G., Luaces, M., Veiga, C. y M. Rey-Méndez. 2014. Farming Coast and Benefits, Marketing Details, Investment Risk: The case of *Octopus vulgaris* in Spain. In: Iglesias J., Fuentes, L., Villanueva, R. (eds.), *Cephalopod Culture*, Springer Science + Business Media Dordrecht, pp. 149-164. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5_4
- González-Gómez, R., Barriga-Sosa, I. A., Pliego-Cárdenas, R., Jiménez-Badillo, L., Markaida, U., Meiners-Mandujano, C. y P.S. Morillo-Velarde. 2018. An integrative taxonomy approach reveals *Octopus insularis* as the dominant species in the Veracruz Reef System (southwestern Gulf of Mexico). *PeerJ* 6:e6015. <https://doi.org/10.7717/peerj.6015>
- González-Gómez, R., Meiners-Mandujano, C., Morillo-Velarde, P.S., Jiménez-Badillo, L. y U. Markaida. 2020. Reproductive dynamics and population structure of *Octopus insularis* from the Veracruz Reef System Marine Protected Area, Mexico. *Fisheries Research* 221 (2020) 105385. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2019.105385>
- Gowland, F.C., Moltschanivskyj, M. y M.A. Steer. 2002. Description and quantification of development abnormalities in a natural *Sepioteuthis australis* spawning population (Mollusca: Cephalopoda). *Marine Ecology Progress Series* (243): 133-141, 2002.
- Hamasaki, K. y T. Morioka. 2003. Effects of temperature on egg incubation period, and paralarval survival and growth of common octopus, *Octopus vulgaris*, reared in the laboratory. *Suisanzoshoku*. 50(4): 407-413. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.50.407>
- Iglesias J., Fuentes, L. y R. Villanueva. 2014. *Cephalopod Culture*. Springer Science + Business Media Dordrecht. p. 494.

- Iglesias, P., Picón, P., Nande, M., Lago, M.J., Otero, J.J., Trujillo, V. y J. Iglesias. 2016. Effect of low salinity on survival and ingested food of the common octopus *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797. *Journal of Applied Aquaculture* 28(3): 267-271. <https://doi.org/10.1080/10454438.2016.1190953>
- Ito, K. y Y. Sakurai. 2004. Effects of low salinity on embryonic development and hatchling of the squid, *Loligo bleekeri* (Cephalopoda: Loliginidae). *Suisanzoshoku* 52(1): 99-100.
- Jereb, P., Roper, C. F. E., Norman, M.D. y J.K. Finn. 2016. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 3. Octopods and Vampire Squids. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. Rome, FAO, 370pp. <http://www.fao.org/docrep/019/i3489e/i3489e.pdf>
- Joll, L.M. 1978. Observations on the embryonic development of *Octopus tetricus* (Mollusca: Cephalopoda). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 29: 19-30.
- Juárez, O.E., Galindo-Sánchez, C.E., Díaz, F., Re, D., Sánchez-García, A.M., Caamal-Monsreal, C. y C. Rosas. 2015. Is temperature conditioning *Octopus maya* fitness? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 467:71-76. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2015.02.020>
- Karleskint, G., Turner, R. y J.W. Small. 2010. Introduction to marine biology. Third edition. Brooks/Cole, Cengage Learning. 584pp.
- Leite, T.S., Haimocivi, M. y J. Mather. 2009b. Octopus insularis (Octopodidae), evidence of a specialized predator and a time-minimizing hunter. *Marine Biology* 156: 2355-2367. <https://doi.org/10.1007/s00227-009-1264-4>
- Leite, T.S., Haimovici, M., Mather, J. y J.E. Lins-Oliveira. 2009a. Habitat, distribution, and abundance of the commercial octopus (*Octopus insularis*) in a tropical oceanic island, Brazil: Information for management of an artisanal fishery inside a marine protected area. *Fisheries Research* 98(2009): 85-91. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2009.04.001>
- Leite, T.S., Haimovici, M., Molina, W. y K. Warnke. 2008. Morphological and genetic description of *Octopus insularis*, a new cryptic species in the *Octopus vulgaris* complex (Cephalopoda: Octopodidae) from the tropical southwestern Atlantic. *Journal of Molluscan Studies* 74:63-74. <https://doi.org/10.1093/mollus/eym050>
- Lenz, T.M., Elias, N.H., Leite, T.S. y E.A.G. Vidal. 2015. First Description of the Eggs and Paralarvae of the Tropical Octopus, *Octopus insularis*, Under Culture Conditions. *American Malacological Bulletin*, 33(1):1-9. <https://dx.doi.org/10.4003/006.033.0115>
- Lima, F.D. Leite, T.S., Haimovici, M., Nóbrega, M.F. y J.E. Lins-Oliveira. 2013. Population structure and reproductive dynamics of *Octopus insularis* (Cephalopoda: Octopodidae) in a coastal reef environment along the northeastern Brazil. *Fisheries Research* 152(2014): 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2013.08.009>
- Lima, F.D., Berbel-Filho, W.M., Leite, T.S., Rosas, C. y S.M.Q. Lima. 2017. Occurrence of *Octopus insularis* Leite and Haimovici, 2008 in the Tropical Northwestern Atlantic and implications of species misidentification to octopus fisheries management. *Marine Biodiversity* 47, 723-734 (2017). <https://doi.org/10.1007/s12526-017-0638-y>
- Lima, F.D., Leite, T.S., Haimovici, M. y J.E. Lins Oliveira. 2014. Gonadal development and reproductive strategies of the tropical octopus (*Octopus insularis*) in northeast Brazil. *Hydrobiologia* (2014) 725:7–21. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1718-z>
- Markaida, U. y W.F. Gilly. 2016. Cephalopods of Pacific Latin America. *Fisheries Research*. 173: 113-121. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2015.09.014>
- Mateos-Jasso, A., Zavala-Hidalgo, J., Romero-Centeno, R. y M.E. Allende-Arandía. 2012. Variability of thermohaline structure in the northern Veracruz Coral Reef System, Mexico. *Continental Shelf Research* 50-51(2012): 30-40. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2012.10.001>
- Miller, S.A. y J.P. Harley. 2001. *Zoology, Fifth edition*. The Mc-Graw Hill Companies. 540pp.
- Morales-Ortega, J.C. 2009. Desarrollo embrionario del pulpo *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) proveniente del Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad de las Américas Puebla. 68p.
- Nabhitabhata, J., Asawangkune, P., Amornjaruchit, S. y P. Promboon. 2001. Tolerance of eggs and hatchlings of neritic cephalopods to salinity changes. *Phuket Marine Biological Center Special Publication* 25(1):91-99.

- Nabhitabhata, J. y S. Segawa. 2014. Aquaculture to Restocking. In: Iglesias J., Fuentes, L., Villanueva, R. (eds.), *Cephalopod Culture*, Springer Science + Business Media Dordrecht, pp. 113-130. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5_4
- Naef, A. 1928. Die cephalopoda. *Fauna und Flora des Golfes von Naepel* 35, 357p.
- Nande, M., Domingues, P. y C. Rosas. 2018. Effects of temperature on the embryonic development of *Octopus vulgaris*. *Journal of Shellfish Research*. 37(5): 1013-1019. <https://doi.org/10.2983/035.037.0512>
- Nande, M., Iglesias, J., Domingues, P. y M. Pérez. 2016. Effect of temperature on energetic demands during the last stage of embryo development and early life of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) paralarvae. *Aquaculture Research* 2016, 1-11. <https://doi.org/10.1111/are.13032>
- Navarro, J.C., Monroig, Ó. y A.V. Sykes. 2014. Nutrition as a Key Factor for Cephalopod Aquaculture. In: Iglesias J., Fuentes, L., Villanueva, R. (eds.), *Cephalopod Culture*, Springer Science + Business Media Dordrecht, pp. 77-96. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5_4
- Palmegiano, G.B. y M.P. D'Apote. 1983. Combined effects of temperature and salinity on cuttlefish (*Sepia officinalis* L.) hatchling. *Aquaculture* 35: 259-264. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(83\)90096-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(83)90096-0)
- Paiva, P.C., Young, P.S. y C.A. Echeverría. 2007. The Rocas Atoll, Brazil: A preliminary survey of the crustacea and polychaete fauna. *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 65(3): 241-250. ISSN 0365-4508
- Paulij, W.P., Bogaards, R.H. y J.M. Denucé. 1990. Influence of salinity on embryonic development and the distribution of *Sepia officinalis* in the Delta Area (South Western part of the Netherlands). *Marine Biology* 107: 17-23. <https://doi.org/10.1007/BF01313238>
- Peng, R.B., Wang, P.S., Jiang, M.W., Ruan, P., Han, Q.X. y H.M. Jiang. 2016. Effect of salinity on embryonic development of the cuttlefish *Sepia pharaonis*. *Journal of the world aquaculture society*. 48(4). <https://doi.org/10.1111/jwas.12321>
- Pérez-Rodríguez, L.J. 2021. Variaciones morfológicas y bioquímicas en las primeras etapas de vida del pulpo *Octopus insularis*. Tesis de maestría en Ecología y Pesquerías. Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías, Universidad Veracruzana. 48p.
- Rey-Méndez, M. 2015. Cultivo de pulpo: una alternativa de producción a pequeña escala. *Foro Iberoam. Rec. Mar. Acuí.* VII (2015): 179-192.
- Rodhouse, P.G.K., Pierce, G.J., Nichols, O.C., Sauer, W.H.H., Arkhipkin, A.I., Laptikhovsky, V.V., Lipinki, M.R., Ramos, J.E., Gras, M., Kidokoro, H., Sadayasu, K., Pereira, J., Lefkaditou, E., Pita, C., Gasalla, M., Haimovici, M., Sakai, M. y N. Downey. 2014. Environmental Effects on Cephalopod Population Dynamics: Implications for Management of Fisheries. *Advances in Marine Biology* 67: 99-233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800287-2.00002-0>
- Rosa, S., Pimentel, M.S., Boavida-Portugal, J., Teixeira, T., Trübenbach, K. y M. Diniz. 2012. Ocean warming enhances malformations, premature hatching, metabolic suppression and oxidative stress in the early life stage of keystone squid. *PLoS One*. 7(6): e38282. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038282>
- Rosas, C., Gallardo, P., Mascaró, M., Caamal-Monsreal, C. y C. Pascual. 2014. *Octopus maya*. In: Iglesias J., Fuentes, L., Villanueva, R. (eds.), *Cephalopod Culture*, Springer Science + Business Media Dordrecht, pp. 383-396. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5_4
- Rosas-Luis, R., Jiménez-Badillo, M. de L., Montoliu-Elena, L. y P.S. Morillo-Velarde. 2019. Food and feeding habits of *Octopus insularis* in the Veracruz Reef System National Park and confirmation of its presence in the southwest Gulf of Mexico. *Marine Ecology*; 2019; e12535. <https://doi.org/10.1111/maec.12535>
- Salas-Monreal, D., Salas-de-León, D.A., Monreal-Gómez, M.A. y M.L. Riverón-Enzástiga. 2009. Current rectification in a tropical coral reef system. *Coral Reefs* 28: 281 (2009). <https://doi.org/10.1007/s00338-009-0521-9>
- Sánchez-García, A.M., Rodríguez-Fuentes, G., Díaz, Fernando, Galindo-Sánchez, C.E., Ortega, K., Mascaró, M., López, E., Caamal-Monsreal, C., Juárez, O., Noreña-Barroso, E., Re, D. y C. Rosas. 2017. Thermal sensitivity of *O. maya* embryos as a tool for monitoring the effects of environmental warming in the Southern of Gulf of Mexico. *Ecological indicators* 72(2017): 574-585. <http://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.08.043>
- Sánchez-García, A.M. 2017. Efecto del incremento de la temperatura en el desarrollo embrionario y estado fisiológico de embriones de *Octopus maya* (Voss & Solís Ramírez, 1966) y *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797. Tesis de maestría en Ciencias. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. 133p.
- Warwick H.S., Gleadall, I.G., Downey-Breedy, N., Doubleday, Z., Gillespie, G., Haimovici, M., Ibáñez, C.M., Katugin, O.N., Leporati, S., Lipinski, M., Markaida, U., Ramos, J.E., Rosa, R., Villanueva, R., Arguelles,

- J., Briceño, F.A., Carrasco, S.A., Che, L.J., Chen, C.S., Cisneros, R... A. Yamrungrueng. 2019. World Octopus Fisheries. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1680603>
- Sen, H. 2004. A preliminary study on the effects of salinity on egg development of European squid (*Loligo vulgaris* Lamarck, 1798). *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah* 56(2): 93-99.
- Sen, H. 2005. Incubation of European squid (*Loligo vulgaris* Lamarck, 1798) eggs at different salinities. *Aquaculture Research* 36: 876-881. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01296.x>
- Seixas, P. y M. Rey-Méndez. 2006. Octopus: Promising New Species for Aquaculture? *Hatchery International* 7(6): 1-3.
- Solís-Ramírez, M.J. 1999. Importancia de la pesquería de pulpo en el Golfo de México y Caribe mexicano. In: *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, 45, pp. 482-498.
- Spreitzenbarth, S. y A. Jeffs. 2020. Egg survival and morphometric development of a merobenthic octopus, *Octopus tetricus*, embryos in an artificial octopus egg rearing system. *Aquaculture* 526(2020) 735389. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735389>
- Spreitzenbarth, S. y A. Jeffs. 2021. Temperature induced changes in the development of embryos and paralarvae of the merobenthic octopus, *Octopus tetricus*. *Aquaculture* 538(2021) 736547. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736547>
- Storer, T.I., Usinger, R.L., Stebbins, R.C. y J.W. Nybakken. 2003. *General Zoology*. Mc-Graw hill Book Company. 954pp.
- Suárez-Salcido, A.L. 2016. Efecto de la temperatura de incubación sobre la tolerancia térmica y composición de ácidos grasos de juveniles recién eclosionados de *Octopus bimaculatus*. Tesis de maestría en Ciencias. Programa de Posgrado en Ciencias en Acuicultura, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 40p.
- Sykes, A. V., Koute, N. y C. Rosas. 2014. Historical review of cephalopods culture. In: Iglesias J., Fuentes, L., Villanueva, R. (eds.), *Cephalopod Culture*, Springer Science + Business Media Dordrecht, pp. 59-76. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5_4
- Uriarte, I., Espinoza, V., Herrera, M., Zúñiga, O., Olivares, A., Carbonell, P., Pino, S., Fariás, A. y C. Rosas. 2012. Effect of temperature on embryonic development of *Octopus mimus* under controlled conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 416-417(2012) 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.03.003>
- Uriarte, I., Espinoza, V., Gutiérrez, R., Zúñiga, O., Olivares, A., Rosas, C., Pino, S. y A. Fariás. 2014. Key aspects of egg incubation in Patagonian red octopus (*Enteroctopus megalocyathus*) for cultivation purposes. *Aquaculture* 424-425(2014): 158-166. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.039>
- Vidal, E., DiMarco, F., Wormuth, J. y P.G. Lee. 2002. Influence of temperature and food availability on survival, growth and yolk utilization in hatchling squid. *Bulletin of Marine Science*, 71(2): 915-931, 2002.
- Villanueva, R., Coll-Lladó, M., Bonnaud-Ponticelli, L., Carrasco, S.A., Escolar, O., Fernández-Álvarez, F.Á., Gleadall, I.G., Nabhitabhata, J., Ortiz, N., Rosas, C., Sánchez, P., Voight, J.R. y J. Swoger. 2021. Born With Bristles: New Insights on the Kölliker's Organs of Octopus Skin. *Frontiers in Marine Science*. May 2021, Volume 8, Article 645738: <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.645738>
- Villanueva, R. y M.D. Norman. 2008. Biology of the Planktonic Stages of Benthic Octopuses. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 2008(46): 105-202.
- Villanueva, R., Vidal, E.A.G., Fernández-Álvarez, F.Á. y J. Nabhitabhata. 2016. Early Mode of Life and Hatchling Size in Cephalopod Molluscs: Influence of the Species Distributional Ranges. *PLoS ONE* 11(11): e0165334. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165334>
- Young, R.E. y R.F. Harman. 1988. "Larva", "Paralarva" and "Subadult" in cephalopods terminology. *Malacología*, 29(1): 201-207.

ANEXOS

Anexo 1. Efecto de la temperatura en huevos y paralarvas de *O. insularis*

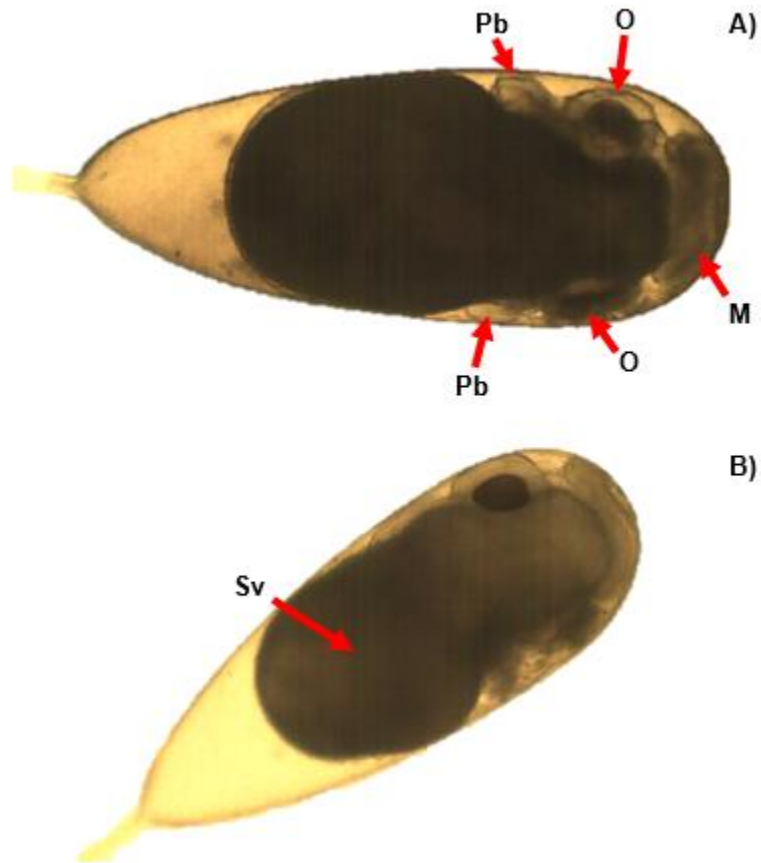


Figura XIX. Embriones de T30 a 13 días desde la puesta con estadios Naef X sin primera reversión. A) Embrión con ambos ojos (O), manto (M) y primordio de brazos (Pb) bien desarrollados. B) Embrión con un ojo mayormente desarrollado, primordio de brazos no distinguibles y saco vitelino irregular (Sv).

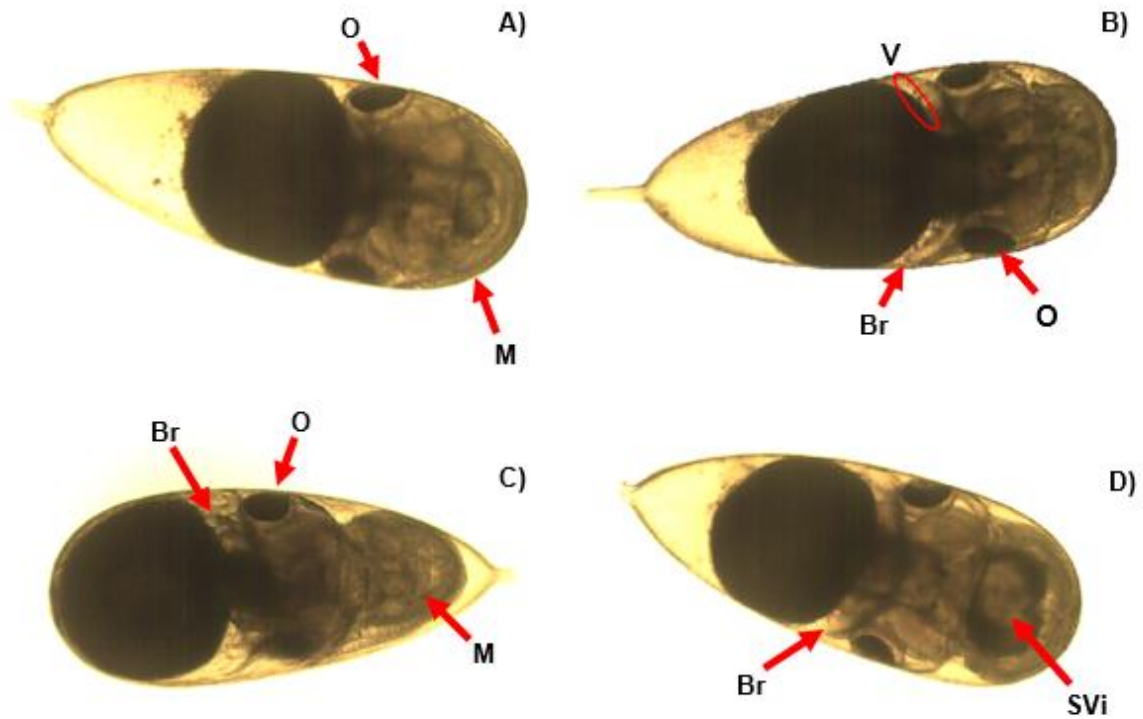


Figura XX. Embriones de T30 a 16 días postpuesta: A) Embrión en estadio Naef XV con brazos casi irreconocibles y cuerpo comprimido, sin primera reversión. B) Embrión en estadio XV con brazos (Br) y ventosas (V) reconocibles, sin primera reversión. C) Embrión en estadio XVII con brazos poco reconocibles y manto (M) alargado, con primera reversión. D) Embrión en estadio XVII con manto comprimido, brazos y saco vitelino interno (SVi) reconocibles, sin primera reversión.

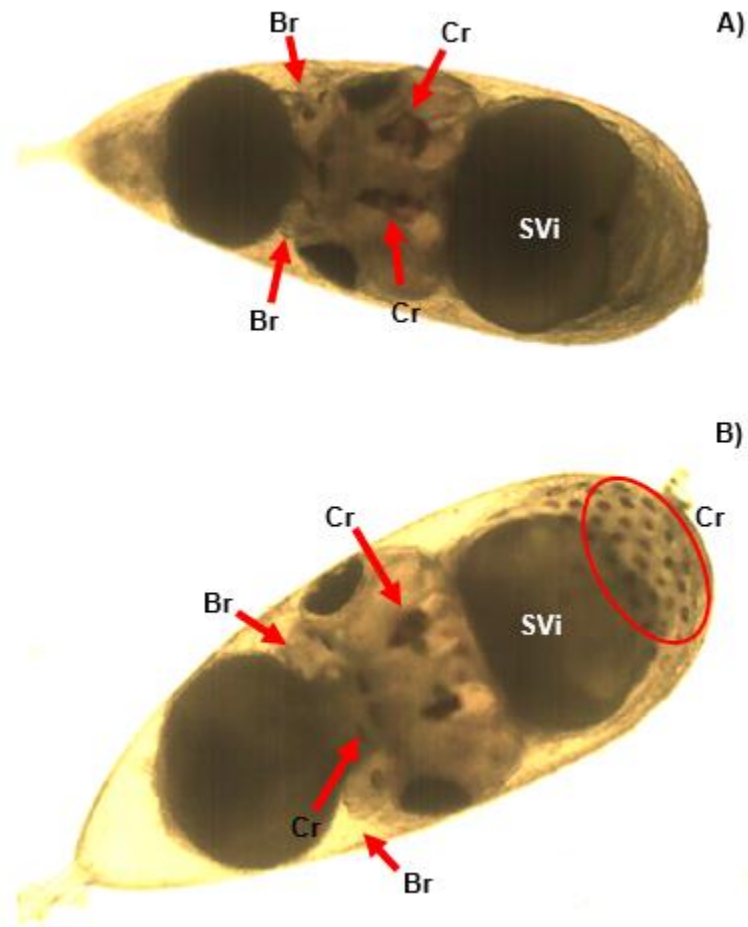


Figura XXI. Embriones de T30 a 19 días: A) Embrión en estadio Naef XII sin primera reversión, primer par de cromatóforos (Cr) visibles, saco vitelino interno (SVi) muy grande, brazos (Br) derechos poco desarrollados y brazos izquierdos con nulo desarrollo; B) Embrión en estadio XVII-XVIII con brazos sin desarrollo, cromatóforos de cabeza y manto (M) visibles y saco vitelino interno esférico.

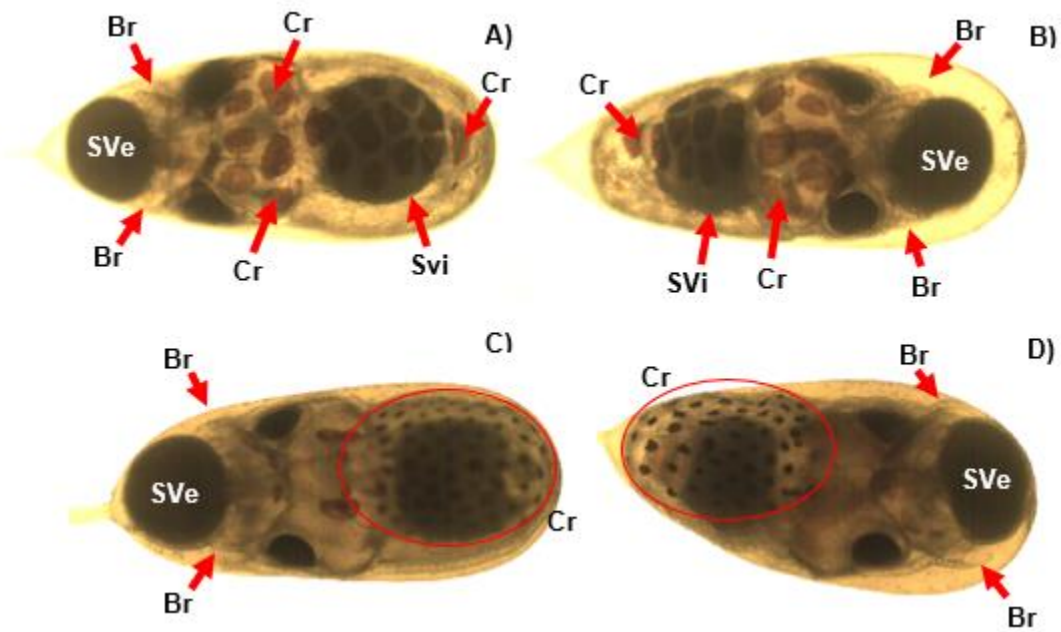


Figura XXII. Embriones en estadio Naef XIX: A) y B) incubados en T28 presentan brazos (Br) y vitelo externo (SVe) más reducido, vitelo interno (SVi) bien desarrollado y cromatóforos (Cr) estimulados ante la luz; C) y D) incubados en T26 presentan brazos mejor desarrollados y cromatóforos no estimulados. En ambas temperaturas se observan embriones con primera reversión embrionaria (B y D) y sin reversión (A y C).

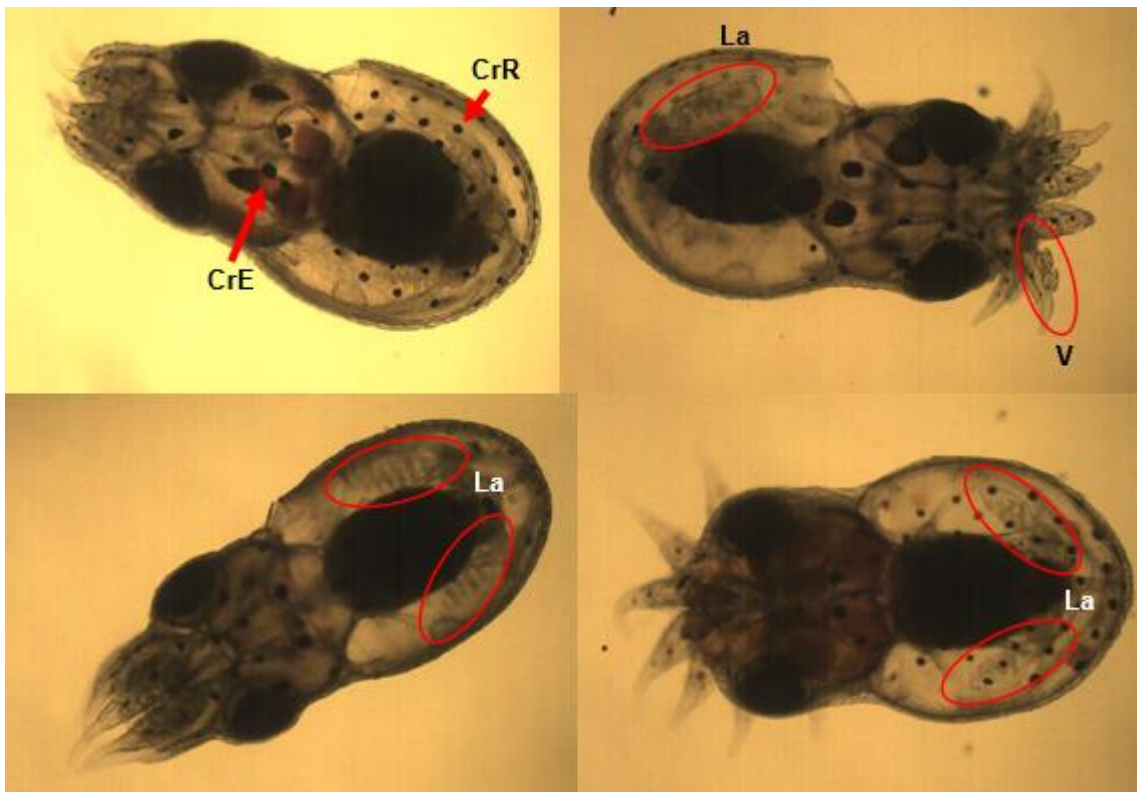


Figura XXIII. Paralarvas de *O. insularis* de recién eclosión incubadas a una temperatura de 26°C. Se logran observar cromatóforos expandidos (CrE) y retraídos (CrR), ventosas (V) prominentes y lamelas (La).

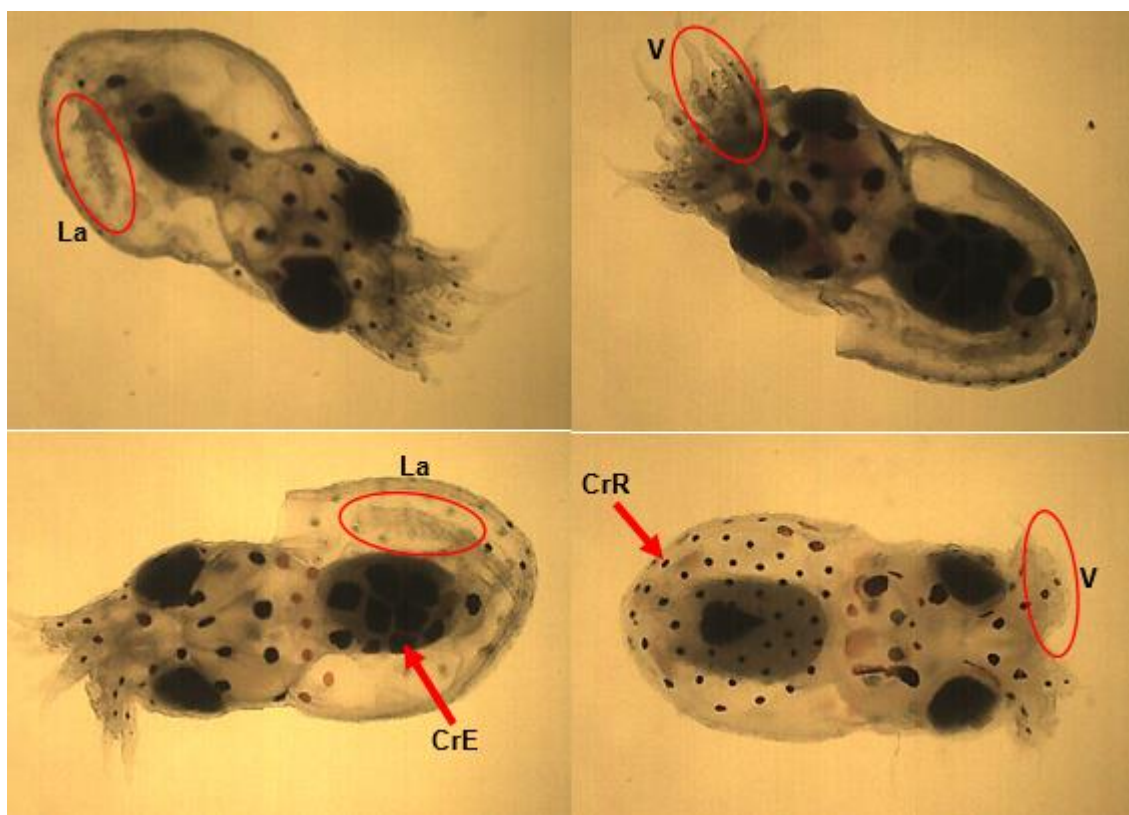


Figura XXIV. Paralarvas de *O. insularis* de recién eclosión incubadas a una temperatura de 28 °C. Se logran observar cromatóforos expandidos (CrE) y retraídos (CrR), ventosas (V) prominentes y lamelas (La).

Tabla 8. Tabla de resultados de las pruebas por pares sobre el efecto en el ancho y largo del huevo de *O. insularis* sometidos a diferentes temperaturas de incubación.

Tratamientos	t	P(perm)	Permutaciones únicas
T26, T28	0.78528	0.4946	9941
T26, T30	6.5427	0.0001	9934
T28, T30	4.4212	0.0001	9958

Tabla 9. Tabla de resultados de las pruebas por pares sobre el efecto en el ancho y largo del huevo de *O. insularis* por días postpuesta.

Días Postpuesta	t	P(perm)	Permutaciones únicas
10, 13	1.7137	0.0825	9954
10, 16	5.7513	0.0004	9946
10, 19	10.567	0.0001	9928
10, 22	12.757	0.0001	9917
10, 25	15.229	0.0001	9905
13, 16	3.407	0.0015	9957

13, 19	7.3289	0.0001	9938
13, 22	8.8532	0.0001	9928
13, 25	10.831	0.0001	9934
16, 19	4.2298	0.001	9943
16, 22	6.5388	0.0002	9932
16, 25	8.6462	0.0001	9931
19, 22	2.9726	0.0137	9922
19, 25	5.2342	0.0007	9927
22, 25	2.7214	0.007	8912

Tabla 10. Tabla de ANOVA sobre el efecto en el peso húmedo de embriones dentro de la cápside de *O. insularis* sometidos a diferentes temperaturas de incubación (Tr) sobre el tiempo de desarrollo embrionario (Di) y su interacción (Tr x Di).

Origen de la variación	g.l.	S.C.	C.M.	F valor	Pr(>F)
Tr	2	0.07887	0.03944	11.5631	0.0001
Di	5	1.74566	0.34913	102.3725	< 2.2e-16
Tr x Di	8	0.14203	0.01775	5.2058	0.0003
Res	32	0.10913	0.00341		

Anexo 2. Efecto de la salinidad en huevos y paralarvas de *O. insularis*

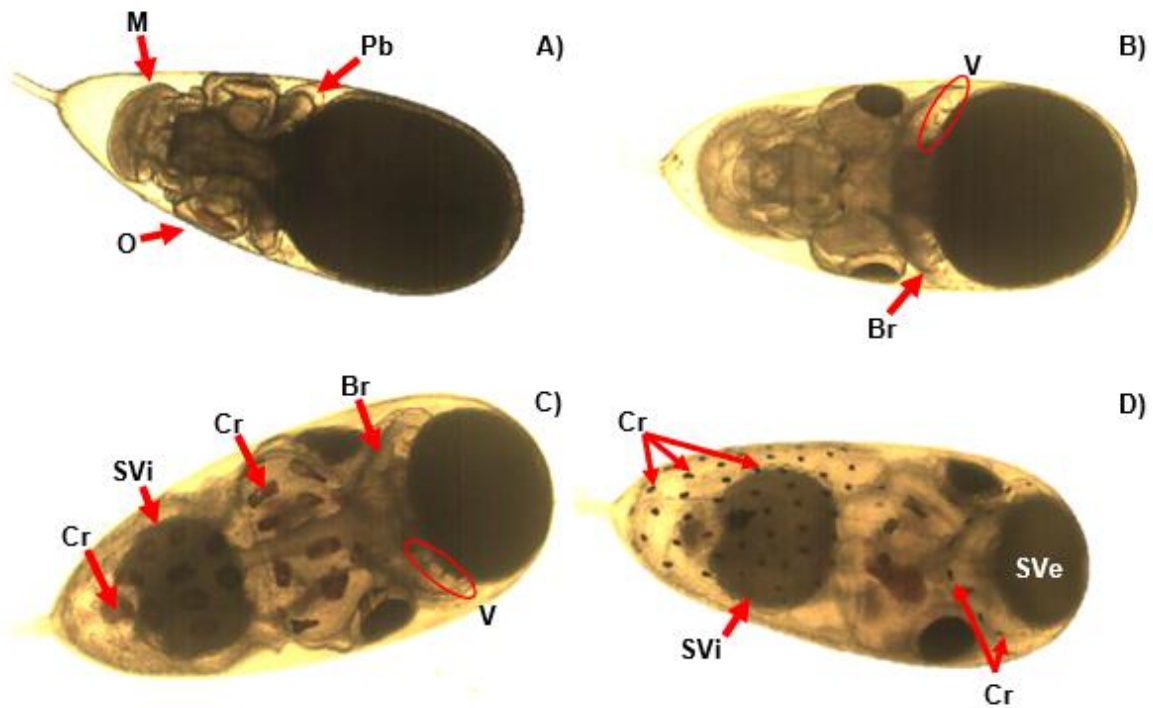


Figura XXV. Embriones del tratamiento S36: A) embrión en estadio XII con manto (M), ojos (O) y primordios de brazos (Pb) bien definidos; B) embrión en estadio XV con brazos (Br) bien desarrollados y ventosas (V) visibles; C) embrión en estadio XVII con cromatóforos (Cr) estimulados por luz, presencia de saco vitelino interno (SVi) y brazos con ventosas más prominentes; D) Embrión en estadio XIX, cromatóforo del manto y brazos visibles, presencia de saco vitelino interno y saco vitelino externo (SVe) reducido.

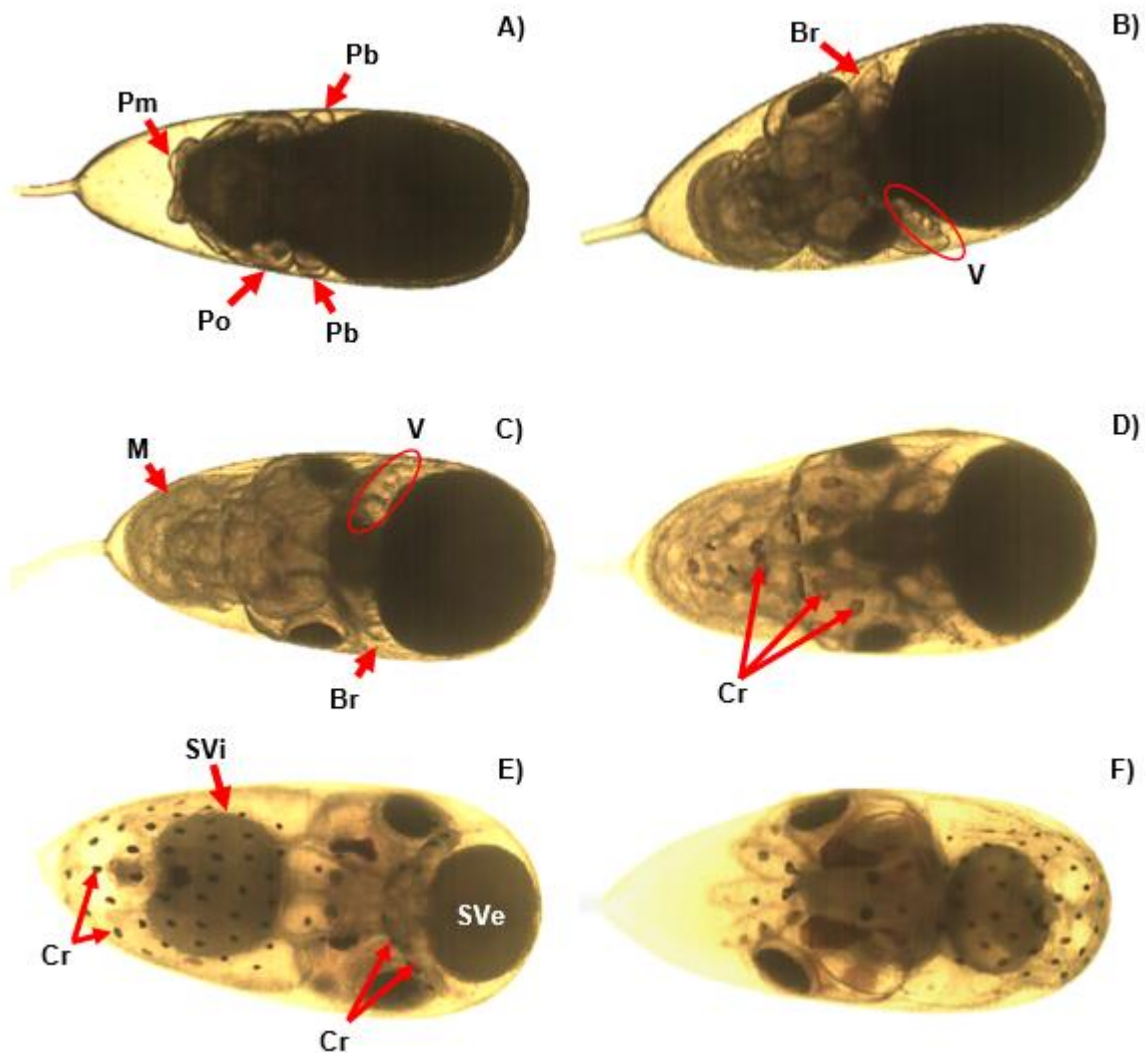


Figura XXVI. Embriones del tratamiento S38: A) embrión en estadio IX con primordios de manto (Pm), ojos (Po) y brazos (Pb); B) embrión en estadio XV con brazos (Br) bien desarrollados y ventosas (V) visibles; C) embrión en estadio XVI con brazos y ventosas prominentes, manto (M) más desarrollado; D) embrión en estadio XVII, cromatóforos (Cr) del manto visibles; E) embrión en estadio XIX, saco vitelino interno (SVi) bien definido, cromatóforos del manto y brazos visibles, y vitelo externo (SVe) muy reducido; F) embrión en estadio XX, segunda reversión embrionaria y absorción completa del saco vitelino externo.

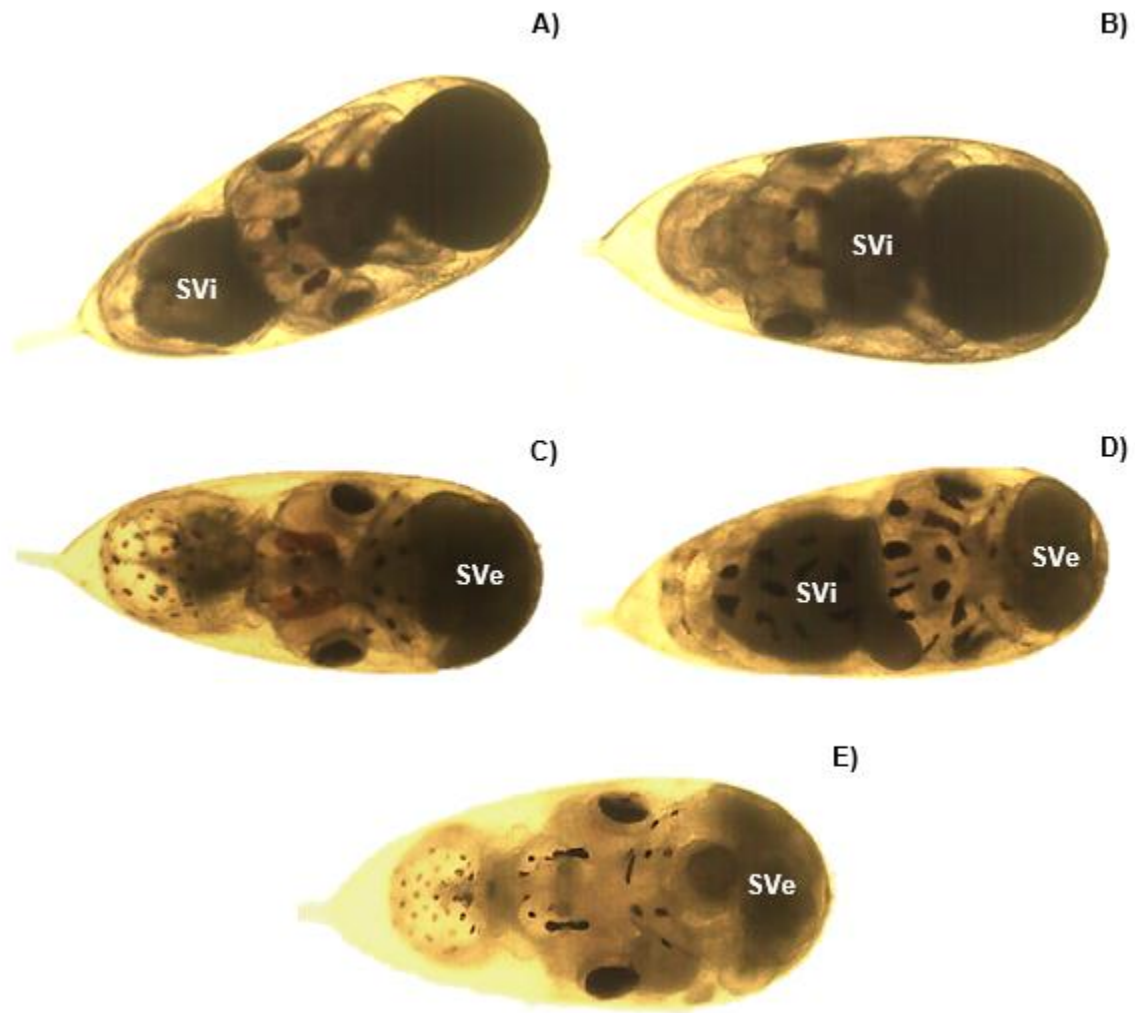


Figura XXVII. Embriones con malformaciones del tratamiento S38: A) embrión en estadio XVII con vitelo interno irregular (SVi) y parte del vitelo acumulado en el anillo de brazos; B) embrión en estadio XVI con manto reducido y vitelo interno acumulado en anillo de brazos; C), D) y E) embriones (estadios XVIII, XIX y XVIII, respectivamente) con vitelo interno y externo irregulares y grumosos (SVe).

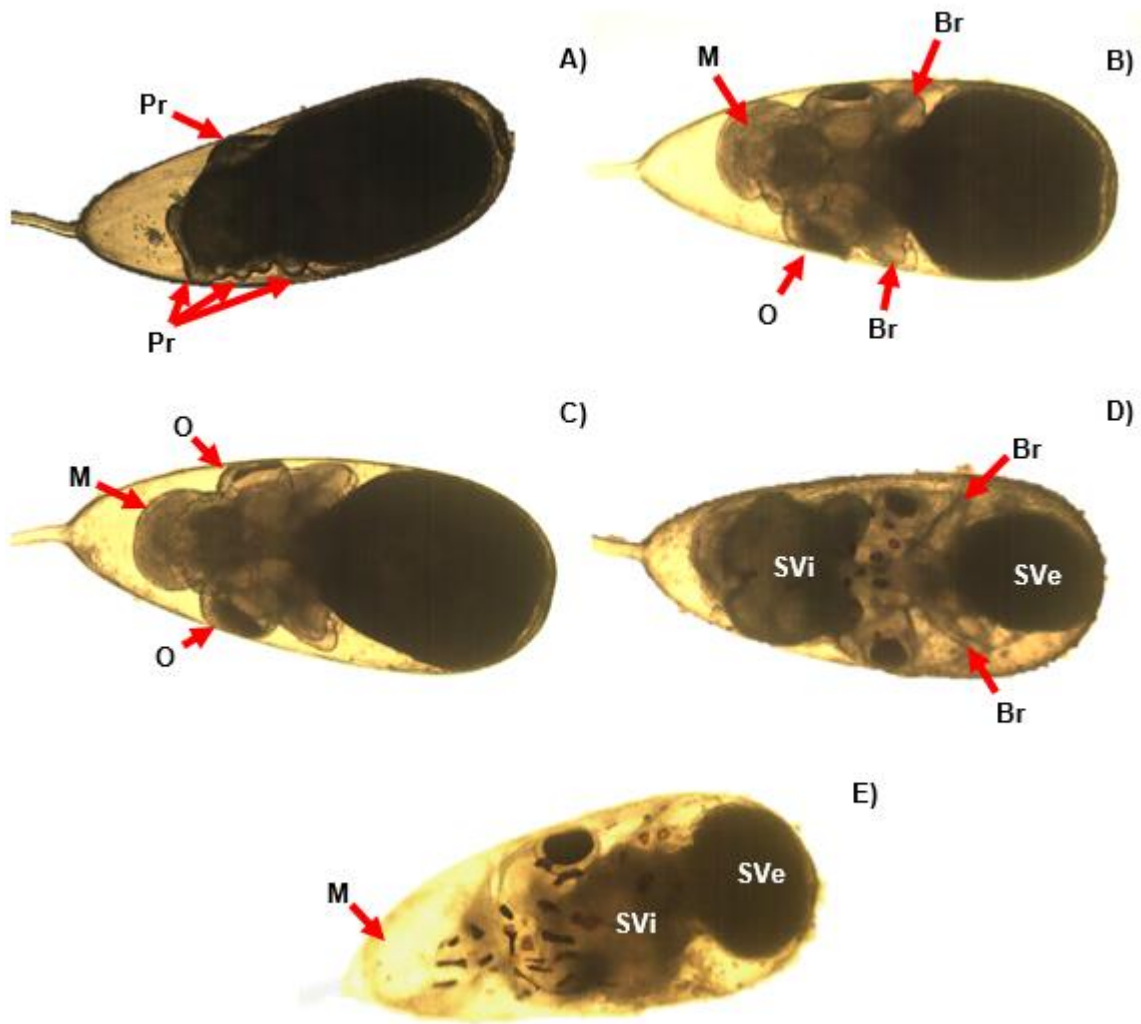


Figura XXVIII. Embriones del tratamiento S40. A) Embrión en estadio IX, con primordios (Pr) irregulares; B) y C) embriones en estadio XIII, poseen cuerpo comprimido, manto (M) reducido y ojos (O) grandes; D) embrión en estadio XVI con presencia de algas, brazos delgados (Br), vitelo externo (S_{Ve}) ovalado y vitelo interno (S_{Vi}) irregular; E) embrión en posible estadio XVIII-XX, manto deforme y vitelo interno acumulado en el anillo de brazos.

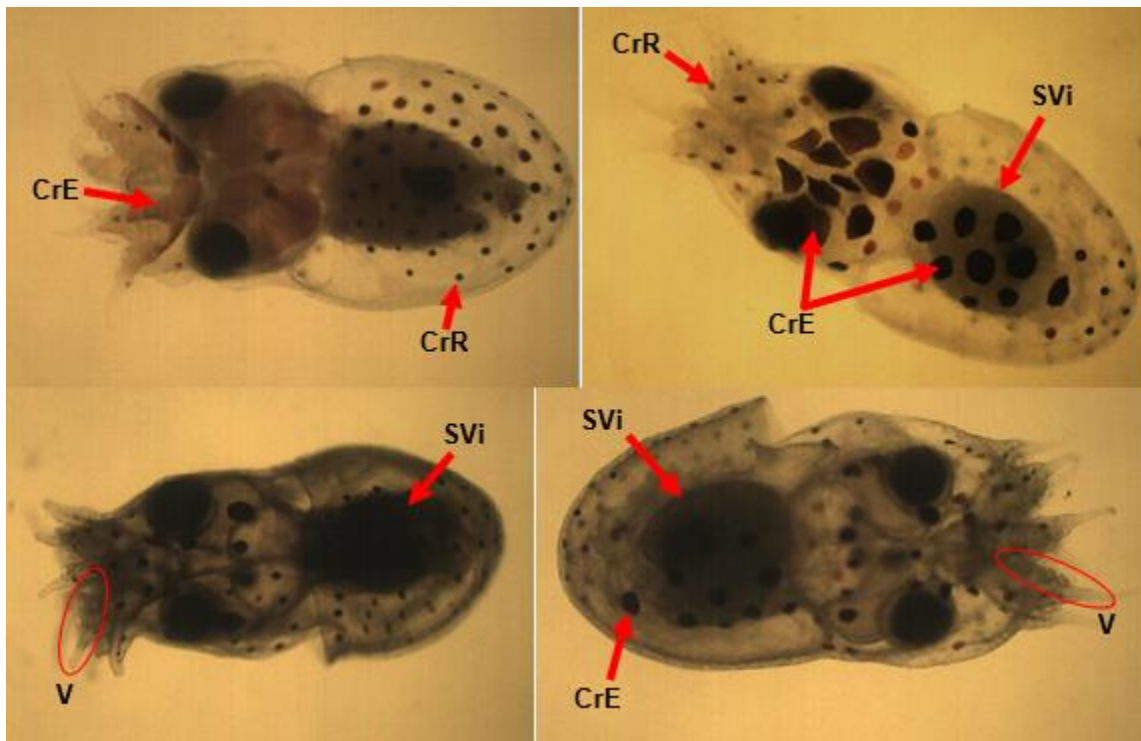


Figura XXIX. Paralarvas de *O. insularis* de reciente eclosión incubadas a una salinidad de 36. Se logran observar cromatoforos expandidos (CrE) y retraídos (CrR), ventosas (V) bien formadas en los brazos, saco vitelino interno (Svi) bien formado y uniforme.

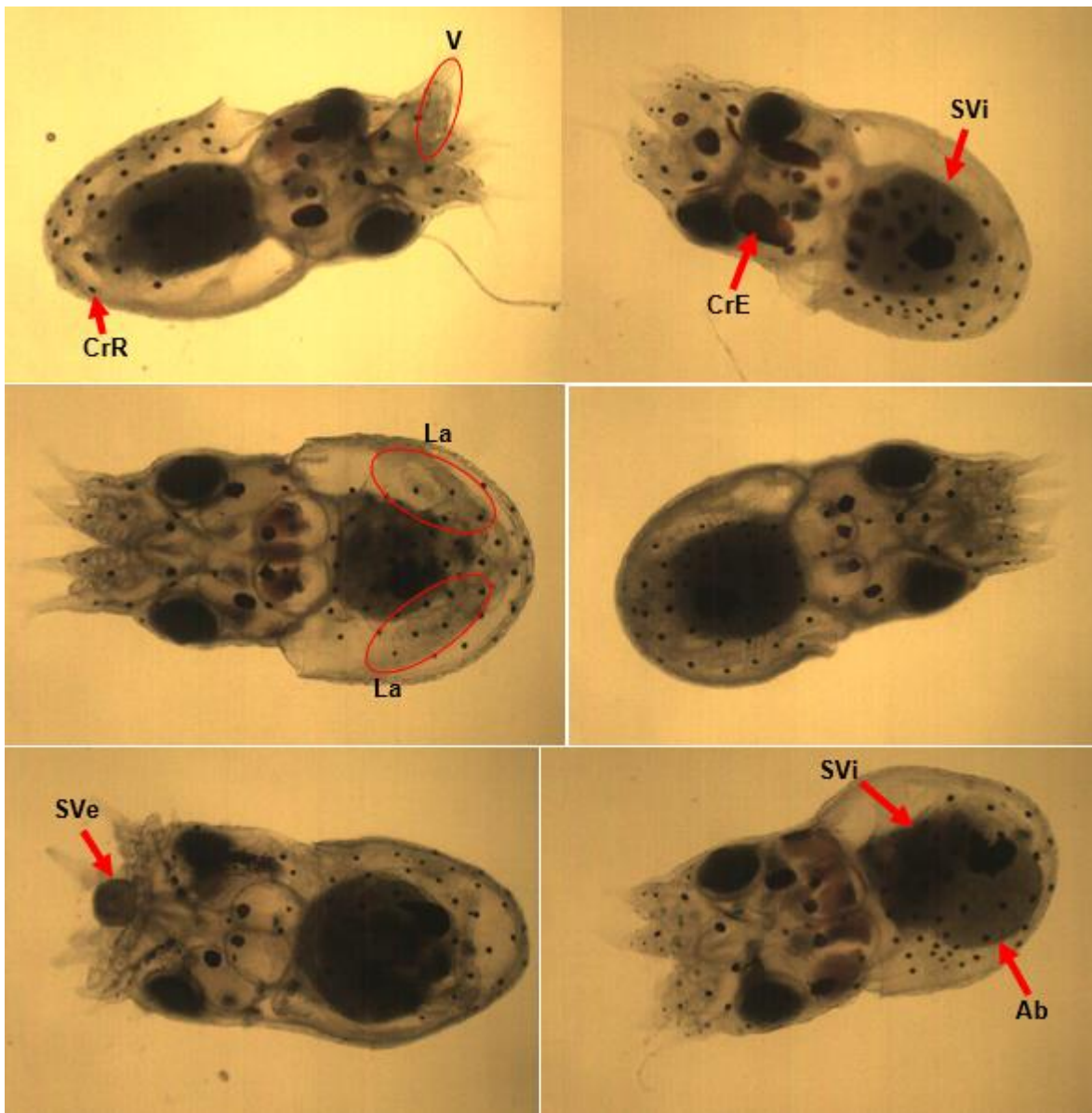


Figura XXX. Paralarvas de *O. insularis* de reciente eclosión incubadas a una salinidad de 38. Se logran observar cromatóforos expandidos (CrE) y retraídos (CrR), ventosas (V) e inclusive se puede observar el par de lamaelas (La; fotos de enmedio). La foto inferior izquierda presenta una paralarva con el saco vitelino externo (SVE) aún presente, mientras que, en la foto inferior derecha se presenta un abultamiento (Ab) en el saco vitelino interno (SVi).

Tabla 11. Tabla de resultados de las pruebas por pares sobre el efecto en el ancho y largo del huevo de *O. insularis* sometidos a diferentes salinidades de incubación.

Tratamientos	t	P(perm)	Permutaciones únicas
S36, S38	1.1666	0.2512	9945
S36, S40	4.2125	0.0001	9950
S38, S40	1.7607	0.0796	9921

Tabla 12. Tabla de resultados de las pruebas por pares sobre el efecto en el ancho y largo del huevo de *O. insularis* por días postpuesta.

Tratamientos	t	P(perm)	Permutaciones únicas
10, 13	0.26982	0.8656	9937
10, 16	2.2531	0.0154	9950
10, 19	4.9697	0.0001	9928
10, 22	8.4437	0.0001	9929
10, 25	8.2042	0.0001	9931
13, 16	1.8796	0.0539	9957
13, 19	4.4566	0.0002	9938
13, 22	7.3844	0.0001	9940
13, 25	7.5729	0.0001	9938
16, 19	2.6704	0.0095	9948
16, 22	5.1656	0.0005	9948
16, 25	5.9942	0.0002	9941
19, 22	1.9535	0.0286	9956
19, 25	3.4557	0.0035	9942
22, 25	3.0625	0.0075	9932

Tabla 13. Tabla de resultados de las pruebas por pares sobre el efecto de diferentes salinidades de incubación sobre diferentes variables morfométricas en embriones de *O. insularis*.

Tratamientos	t	P(perm)	Permutaciones únicas
S36, S38	1.1975	0.2296	9950
S36, S40	4.6518	0.0001	9942
S38, S40	3.4298	0.0001	9955

“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”

www.uv.mx

