



First report of a spawning site of *Limulus polyphemus* at Ría Lagartos Biosphere Reserve, Yucatan, Mexico

Primer reporte de un sitio de desove de *Limulus polyphemus* en la Reserva de la Biósfera Ría Lagartos, Yucatán, México

Sandoval-Gío, J. J.^{1*}, Zamora-Bustillos, R.², Avilés-Ramírez, G. A.³,
Ortiz-León, H. J.⁴, Rosas-Correa, C. O.⁵

¹Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tizimín, Yucatán, México.

²Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, México.

³Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Chiná, Campeche, México.

⁴Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Chetumal, Quintana Roo, México.

⁵El Colegio de la Frontera Sur Unidad Chetumal, Quintana Roo, México.

ABSTRACT

This study provides first evidence about a spawning site of American horseshoe crab *Limulus polyphemus* at Río Lagartos, belonging to Biosphere Reserve, in Yucatan, Mexico. In a single day, June 2016, a simple random sampling without replacement was performed. Six transect (BOC 1 - BOC 6) of 10 m of length each one, were measured along the intertidal zone, with 3 quadrants of 1m² (a, b, c) alternated in each transect. The nests, its depth, and the number of eggs found there were quantified. The temperature, dissolved oxygen, pH, electrical conductivity and salinity of the water in every quadrant, for triplicate, were measured. The marine sediment was analyzed by means of grain size analysis of Folk. Two nests, with depths in the sediment of 20.1 and 16.8 cm, containing one cluster each one, with 313 and 194 eggs, respectively, were found. The ANOVA did not show significant differences between the physicochemical parameters of the water measured ($p>0.05$). The results of the sedimentological values demonstrated sediment consisted of sand and poorly classified, presenting a curve very platicurtic. It is possible that the limited number of nests and eggs in our study with regard to the registered on the Atlantic coast of the USA, should be because several

RESUMEN

Se provee una primera evidencia sobre un sitio de desove del cangrejo herradura americano *Limulus polyphemus* en Río Lagartos perteneciente a la Reserva de la Biósfera Ría Lagartos (RBRL) en Yucatán, México. En un solo día, junio de 2016, se realizó un muestreo aleatorio simple sin reemplazo, trazando seis transectos de 10 m de largo cada uno (BOC 1 - BOC 6), medidos a lo largo de la zona intermareal, con tres cuadrantes de 1m² (a, b, c), alternados en cada transecto. Se contabilizaron los nidos encontrados, la profundidad y el número de huevecillos hallados. Se midieron la temperatura, oxígeno disuelto, pH, conductividad eléctrica y salinidad del agua en cada cuadrante, por triplicado, y el sedimento marino se analizó mediante la técnica del tamizado mecánico de Folk. Se encontraron dos nidos sumergidos con profundidades en el sedimento de 20.1 y 16.8 cm, conteniendo un racimo cada uno, con 313 huevecillos y 194 huevos, respectivamente. El ANDEVA no mostró diferencias significativas entre los parámetros fisicoquímicos del agua ($p>0.05$). Los resultados de los valores sedimentológicos evidenciaron un sedimento compuesto de arena media y pobremente clasificado, presentando una curva muy platicúrtica. Es posible que el número reducido de nidos y huevos en el presente estudio con respecto a los registrados en la costa atlántica de los EUA, se deba a factores relacionados con la estacionalidad, la morfología de la playa y las actividades antrópicas registradas en la zona. Se recomienda

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: September 20th 2017.

Accepted/Aceptado: January 29th 2018.

Available on line/Publicado: August 10th 2018.

*Corresponding Author:

Juan José Sandoval-Gío, Final Aeropuerto Cupul s/n C. P. 97700, Tizimín, Yucatán, México. Phone:+52(986) 863 479 Ext. 119-603.

E-mail: jsandoval29@hotmail.com

factors i.e. the seasonal variation, the morphology of the beach and anthropic activities. It is recommended to increase the studies on reproduction and spawning of *L. polyphemus* in the RBRL to encourage actions of preservation of the species in critical habitats of Mexico.

KEY WORDS

American horseshoe crab; spawning site; seasonal variation; grain size analysis of Folk; Río Lagartos.

Introducción

Río Lagartos, belonging to Biosphere Reserve, located in the Yucatan Peninsula, is a Natural Reserved Area (NRA) having 74 km of length and an extent of 60,348 hectares; it is the first lagoonal system recorded for Mexico in the RAMSAR Convention (Mauerhofer *et al.*, 2015). Río Lagartos is a zone where despite the restrictions the environmental legislation requires, impacts on the habitats of numerous species of flora and fauna that live there have been detected, situation that has originated the decrease in number of these species, or losing their wildlife quality (Vidal *et al.*, 2015).

The American horseshoe crab *Limulus polyphemus* is an arthropod, from the class merostomata, (order Xiphosura; family Limulidae) whose distribution in Mexico comprehends the Yucatan Peninsula, from Campeche to Bahía de la Ascension (Gomez-Aguirre, 1993; Rosas-Correa and Ortiz-Leon, 2012), with numerous records in the NRA Río Lagartos (Zaldivar-Rae *et al.*, 2009). This species is also distributed in the east coast of the United States of America (USA), from the Florida Peninsula to Maine (Shuster, 1979).

Despite that the *L. polyphemus* is found in high densities in both seashores, its population has recently decreased, due to a mix of factors, among them, pollution is one, also changes in the coast line, the degradation of habitats of egg-laying spots in estuaries and fishing activities for commerce (Gomez-Aguirre, 1993; Zaldivar-Rae *et al.*, 2009) (Figure 1). In the presence of this scenario, these authors acknowledge that, within the main necessities to strengthen the existent data that allows establishing protection programs for this species, there is doing more research about the dynamics of the population and recruitment habitat, as well as growth and young development zones.

incrementar los estudios sobre reproducción y desove de *L. polyphemus* en la RBRL para sustentar acciones de conservación de la especie y su hábitat en México.

PALABRAS CLAVE

Cangrejo herradura americano; sitio de desove; estacionalidad; tamizado de Folk; Río Lagartos.

Introducción

La Reserva de la Biosfera de Río Lagartos (RBRL), situada en la península de Yucatán, es un Área Natural Protegida (ANP) con 74 km de longitud y una extensión de 60,348 ha; es el primer sistema lagunar registrado para México en la Convención RAMSAR (Mauerhofer *et al.*, 2015). La RBRL es una zona donde a pesar de las restricciones que la legislación ambiental exige, se han detectado impactos en el hábitat de numerosas especies de flora y fauna que ahí habitan, situación que ha originado que éstas vayan decreciendo en número o vayan perdiendo su calidad de vida silvestre (Vidal *et al.*, 2015).

El cangrejo herradura americano o cacerolita de mar *Limulus polyphemus* es un artrópodo de la Clase Merostomata, (Orden Xiphosura; Familia Limulidae), cuya distribución en México comprende la península de Yucatán, desde la sonda de Campeche hasta Bahía de la Ascensión (Gómez-Aguirre, 1993; Rosas-Correa y Ortiz-León, 2012), con numerosos registros en la RBRL (Zaldivar-Rae *et al.*, 2009). Esta especie también se distribuye en la costa este de los Estados Unidos de América (EUA), desde la península de Florida hasta Maine (Shuster, 1979).

No obstante que *L. polyphemus* se encuentra en altas densidades en ambas zonas costeras, sus poblaciones han disminuido en tiempos recientes debido a una mezcla de factores; entre los que se pueden mencionar la contaminación, cambios en la línea de costa, la degradación de hábitats de desove en estuarios y actividades pesquero comerciales (Gómez-Aguirre, 1993; Zaldivar-Rae *et al.*, 2009) (Figura 1). Ante este escenario de riesgo, estos autores reconocen que dentro de las primeras necesidades para fortalecer la información existente que permita establecer programas de preservación de la especie, está realizar más estudios sobre la dinámica poblacional y hábitat de reclutamiento, así como de zonas de crecimiento y desarrollo de juveniles.



Figure 1. Zone of sampling at Biosphere Reserve of Ria Lagartos, Yucatan, Mexico.

Figura 1. Zona de muestreo en la Reserva de la Biosfera de Ria Lagartos, Yucatán, México.

Numerous studies have been conducted in order to describe the spawning and reproduction patterns of *L. polyphemus* in the USA (Botton and Loveland, 1989; Brockmann, 1990; Penn and Brockmann, 1994; Smith *et al.*, 2002; James-Pirri *et al.*, 2005; Botton and Loveland, 2011). However, researches that discuss reproductive aspects of the horseshoe crab in environments from the Yucatan Peninsula are scarce (Gomez-Aguirre and Yanez-Martinez, 1995; Rosales-Raya, 1999). Like this, the objective of this work was to identify the spawning sties in the Rio Lagartos zone, within the Biosphere Reserve, characterizing the physiochemical parameters of the water and the sediment of the nests found.

Materials and Methods

The study was performed in Rio Lagartos, Yucatan, Mexico (21° 36' N, 88°09' - 88°10' W) belonging to the Biosphere Reserve, with Awo weather (*x'*) (Koppen, modified by Garcia, 2004). The pluvial precipitation in this coastal locality was 669.9 mm in the 1981-2010 period (CNA). A diurnal journey was carried out on June 30th, 2016, to spot nesting sites of the species. A simple random sampling without replacement was performed, 6 transects of 10 m of length each (BOC 1, BOC 2, to BOC 6), measured along the intertidal zone. In each transect, 3 quadrants of 1m² (a, b, and c), measured alternately between the high tide and the low tide, respectively (Rosales-Raya, 1999). In each quadrant, 40 cm were dug using a shovel, then, the sediment was manually checked to spot presence of

Numerosos estudios se han conducido para describir los patrones de desove y reproducción de *L. polyphemus* en EUA (Botton y Loveland, 1989; Brockmann, 1990; Penn y Brockmann, 1994; Smith *et al.*, 2002; James-Pirri *et al.*, 2005; Botton y Loveland, 2011). Sin embargo, las investigaciones que abordan los aspectos reproductivos de la cacerolita de mar en ambientes de la península de Yucatán son escasas (Gómez-Aguirre y Yáñez-Martínez, 1995; Rosales-Raya, 1999). Así, el objetivo de este trabajo fue identificar sitios de desove en la zona de Río Lagartos, dentro de la RBRL, caracterizando los parámetros fisicoquímicos del agua y el sedimento de los nidos encontrados.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en Río Lagartos, Yucatán, México, (21° 36' N, 88°09' - 88°10' W), perteneciente a la RBRL, con clima Awo (*x'*) (Köppen, modificado por García, 2004). La precipitación pluvial en esta localidad costera fue de 669.9 mm en el periodo 1981-2010 (CNA). Se llevó a cabo un recorrido diurno el 30 de junio de 2016, para detectar sitios de anidamiento de la especie. Se realizó un muestreo aleatorio simple sin reemplazo, trazando seis transectos de 10 metros de largo, medidos a lo largo de la línea intermareal, nombrándolos BOC 1, BOC 2, hasta BOC 6. En cada transecto, se seleccionaron tres cuadrantes de 1m² (nombrados a, b y c), medidos en forma alternada entre la línea de marea alta y baja, respectivamente (Rosales-Raya, 1999). En cada cuadrante se cavó con una pala hasta una profundidad de 40 cm, se

eggs (Figure 2). The number of nests found was counted, the depth in which the eggs were found was measured and then, they were put stored in plastic jars, with humid sand in the middle. The sampling was tagged with the according data to place, date, and time of gathering, for its transportation and further quantification to the Laboratorio de Biotecnología Acuicola y Marina del Instituto Tecnológico de Tizimin. The regathering was authorized by the Mexican Wildlife Agency (Dirección General de Vida Silvestre in Spanish), September 2015 (SGPA/DGVS/10056/15).

The temperature, dissolved oxygen, pH, electrical conductivity and water salinity were measured in each quadrant, by triplicate, with an YSI 550A multi-parameter. The acquisition of the marine sediment was performed with a sediment tube of PVC of 40 cm of length and 5 cm of diameter, putting it in Ziplock® resealable plastic bags of 18 x 20 cm, tagged, which were taken to the laboratory from the Instituto Tecnológico de China for their analysis through the Folk mechanical sieve technique (1966). The physiochemical parameters of water were analyzed through an ANOVA, using Tukey's post-hoc test, to evaluate the difference among measures ($p>0.05$). The granulometry of the sediment was recorded (phi, classification, symmetry, and type of curve), using the GRADISTAT program.

Results and Discussion

The site where the current report of nesting was observed is a mangrove zone with elements from lower forest and vegetation submerged by marine grass and macroalga,

procedió a revisar manualmente el sedimento para detectar la presencia de huevos (Figura 2). Se contó el número de nidos encontrados, se midió la profundidad en la que se encontraron los huevecillos y almacenaron en frascos de plástico, con arena húmeda del medio. Se etiquetó la muestra con los datos correspondientes al lugar, fecha y hora de colecta, para su traslado y posterior cuantificación, al Laboratorio de Biotecnología Acuicola y Marina del Instituto Tecnológico de Tizimín. La recolecta se autorizó por la Dirección General de Vida Silvestre, de septiembre de 2015 (SGPA/DGVS/10056/15).

La temperatura, oxígeno disuelto, pH, conductividad eléctrica y salinidad del agua se midieron en cada cuadrante, por triplicado, con un multiparámetro YSI 550A. La obtención del sedimento marino se realizó con un tubo sedimentador de PVC de 40 cm de largo y 5 cm de diámetro, depositándolo en bolsas de plástico resellables Ziplock® de 18 x 20 cm, etiquetadas, que se transportaron al laboratorio del Instituto Tecnológico de Chiná para su análisis mediante la técnica del tamizado mecánico de Folk (1966). Los parámetros fisicoquímicos del agua se analizaron mediante un ANDEVA, con la prueba post-hoc de Tukey, para evaluar la diferencia entre medias ($p>0.05$). Se registró la granulometría del sedimento (phi, clasificación, simetría y tipo de curva), utilizando el programa GRADISTAT.

Resultados y Discusión

El sitio donde se observó el actual reporte de anidamiento es una zona de manglar con elementos de



Figure 2. Beach sediment collected in a nest of Río Lagartos, Yucatán, Mexico. The arrow shows the egg cluster of American horseshoe crab.

Figura 2. Sedimento de playa recolectado en un nido de Río Lagartos, Yucatán, México. La flecha muestra el grupo de huevos de cangrejo de herradura americano.

with slight slopes; characteristics which correspond to the Yucatan Peninsula, place described as the ones where this species performs reproductive activities (Gomez-Aguirre, 1993). The inspection of the sandy soil at the edge of the mangrove, included the flooded zone, going through 6 transects in 6 hours of observation (from 7 a.m. to 1 p.m.). 2 nests were found, having depths of 20.1 and 16.8, respectively. In the other quadrants and transects, there were no nests found. The depth in which the eggs were found, corresponds to the ones reported on the works of Rudloe (1980), and Weber and Carter (2009), performed in Florida and Delaware, USA, respectively, where depths of nests of *L. polyphemus*, between 12 and 19 cm.

It is important to highlight that the nests found correspond to transects BOC4b, where a cluster with 313 eggs was quantified and in BOC5c, a cluster with 194 eggs. This discovery was the first one to be documented in the Biosphere Reserve and represents a reduced number according to the ones recorded in the coastal localities from the Atlantic coast in the USA, where between 2000 to 8600 eggs per cluster were quantified (Cohen and Brockmann, 1983; Weber and Carter, (2009). The considerably lower number of eggs per cluster found in the Biosphere Reserve can be attributed to the reproductive activity of *L. polyphemus* in Yucatan, it remains in the period of night high tides from fall to winter (Gutiérrez-Barrera and Zaldivar-Rae, 2013), unlike their congeners from the northeastern coast of the US, where the reproductive activity is in the period from spring to summer (Botton and Loveland, 2011). It has been described that the horseshoe crab is reproduced during the whole year in some regions of Campeche (west from the Yucatan Peninsula) (Zaldivar-Rae et al., 2009), as so it happens in localities in the Florida Peninsula (Rudloe, 1980; Ehlinger et al., 2003); therefore, it is possible that in the Biosphere Reserve, favorable environmental conditions for a greater reproduction and spawning in colder seasons can be found. In order to verify this reproductive pattern, influenced by the marked seasonal condition, it would be convenient to carry out studies about reproduction and spawning of *L. polyphemus* in the Biosphere Reserve in the season of "norths" (from November to February) when a marked decrease in the environmental temperature occurs.

In our study, the range of water temperature in the 6 sampling sites goes from 29.2 and 30.2 °C, optimal for the embryonic growth of the species (Ehlinger and

selva baja y vegetación sumergida de pastos marinos y macroalgas, con ligeras pendientes; características que corresponden a la península de Yucatán, lugar descrito donde esta especie realiza actividades reproductivas (Gómez-Aguirre, 1993). La inspección del terreno arenoso al borde del manglar, incluyó la zona inundada, recorriendo los seis transectos en seis horas de observación (de las 7 a las 13 horas). Se encontraron dos nidos, con una profundidad de 20.1 y 16.8 cm, respectivamente. En los demás cuadrantes y transectos no se encontraron nidos. La profundidad a la que se encontraron los huevecillos, coincide con la reportada en los trabajos de Rudloe (1980) y Weber y Carter (2009), realizados en Florida y Delaware, EUA, respectivamente, donde registraron profundidades de nidos de *L. polyphemus*, entre 12 y 19 cm.

Cabe destacar que los nidos encontrados correspondieron a los transectos BOC4b, donde se cuantificó un racimo con 313 huevecillos y en BOC5c un racimo con 194 huevos. Este hallazgo es el primero documentado en la RBRL y representa un número reducido con respecto a los registrados en las localidades costeras de la costa atlántica de los EUA, donde se han cuantificado entre 2000 y hasta 8600 huevecillos por racimo (Cohen y Brockmann, 1983; Weber y Carter, 2009). El número considerablemente menor de huevecillos por racimo encontrados en la RBRL podría atribuirse a la actividad reproductiva de *L. polyphemus* en Yucatán prevalece en el periodo de las mareas altas nocturnas del otoño y el invierno (Gutiérrez-Barrera and Zaldivar-Rae, 2013) a diferencia de sus congéneres de la costa nororiental de Estados Unidos, donde la actividad reproductiva es en el periodo primavera-verano (Botton and Loveland, 2011). Se ha descrito que el límulo se reproduce durante todo el año en algunas regiones de Campeche (al occidente de la península de Yucatán) (Zaldivar-Rae et al., 2009), como sucede en localidades de la península de la Florida, (Rudloe, 1980; Ehlinger et al., 2003); por lo tanto, es posible que en la RBRL se encuentren condiciones ambientales propicias para una mayor reproducción y desove en épocas más frías. Para comprobar este patrón reproductivo influenciado por la marcada estacionalidad sería recomendable llevar a cabo estudios sobre reproducción y desove de *L. polyphemus* en la RBRL en la época de "nortes" (noviembre a febrero) cuando ocurre un marcado decremento de la temperatura ambiental.

En nuestro estudio el rango de temperatura del agua en los seis sitios de muestreo se ubicó entre 29.2 y 30.2°C, óptimo para el desarrollo embrionario de la especie (Ehlinger

Tankersley, 2004). The pH oscillated between 7.74 and 8.10 and the conductivity went from 57.52 and 59.1 mS/cm. The salinity went from 32.3 and 32.9 ‰, and the dissolved oxygen fluctuated between 6.01 and 6.98 mg L⁻¹. The physiochemical parameters of water recorded did not change significantly among themselves ($p>0.05$). Previous studies have established that the oxygenation plays an important role for giving recently fertilized eggs an optimal environment for their growth, being this physiochemical parameter influenced by the morphology of the beach (Gerhart, 2007). This way, in the granulometrical analysis of the sediment, it was found that the percentage of sand was the most predominant among the 6 sampling sites (95.71 ± 1.80). In like manner, the percentage of mud was 4.21 ± 1.87 and the percentage of clay was 0.05 ± 0.12 . The results of sedimentology demonstrate a compound sediment of medium sand and poorly classified, almost symmetric, presenting a very platycurtic curve. The presence of nests of *L. polyphemus* related to the morphology of the beach and the energetic flow of the tides has been well characterized by Smith *et al.*, (2002), and has to be reviewed along with the influence of the abiotic conditions; water and sediment.

Finally, consider that the reduced number of nests could have a relation to the degradation of habitats and fishing activities for commerce in the area of study, condition that has already been established beforehand in habitats of the horseshoe crab with an anthropogenic impact in the Yucatan Peninsula (Gomez-Aguirre, 1993). It is important to highlight that in the present research, the danger scenario was evident.

Acknowledgements

This work was financed by TecNM and CONACYT, with the projects 5431.14-15 PR and PDCPN 2015-1097, respectively.

References

- Botton, M. L. and Loveland, R. E. (1989). Reproductive risk: high mortality associated with spawning by horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*) in Delaware Bay, USA. *Marine Biology* 101: 143–151. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00391453>.
- Botton, M. L. and Loveland, R. E. (2011). Temporal and spatial patterns of organic carbon are linked to egg deposition by beach spawning horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*). *Hydrobiologia* 658: 77–85. DOI: [10.1007/s10750-010-0451-0](https://doi.org/10.1007/s10750-010-0451-0)
- Brockmann, H. J. (1990). Mating behavior of horseshoe crabs *Limulus polyphemus*. *Behaviour* 114: 206–220. https://www.jstor.org/stable/4534876?seq=1#page_scan_tab_contents.

and Tankersley, 2004). El pH osciló entre 7.74 y 8.10 y la conductividad se situó entre 57.5 y 59.1 mS/cm. La salinidad estuvo entre 32.3 y 32.9 ‰ y el oxígeno disuelto fluctuó entre 6.01 y 6.98 mg L⁻¹. Los parámetros fisicoquímicos del agua registrados, no cambiaron significativamente entre sí ($p>0.05$). Estudios previos han establecido que la oxigenación juega un papel importante para ofrecer a los huevos recién fertilizados un ambiente óptimo para su desarrollo, siendo este parámetro fisicoquímico influenciado por la morfología de la playa (Gerhart, 2007). Así, en el análisis granulométrico del sedimento, se encontró que el porcentaje de arena fue el tipo más predominante en los seis sitios de muestreo (95.71 ± 1.80). Asimismo, el porcentaje de limo fue 4.21 ± 1.87 y el de arcilla fue de 0.05 ± 0.12 . Los resultados de la sedimentología evidencian un sedimento compuesto de arena media y pobremente clasificado, casi simétrico, presentando una curva muy platycúrtica. Esta presencia de nidos de *L. polyphemus* vinculada a la morfología de la playa y el flujo energético de las mareas ha sido bien caracterizada por Smith *et al.*, (2002), y debe revisarse junto a la influencia de las condiciones abióticas: agua y sedimento.

Por último, considérese que el reducido número de nidos podría tener relación con la degradación de hábitats y actividades pesquero comerciales en el área de estudio, condición que ya se ha establecido anteriormente en hábitats del límulo con impacto antropogénico en la península de Yucatán (Gómez-Aguirre, 1993). Es importante recalcar que en la presente investigación fue evidente este escenario de riesgo.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el TecNM y el CONACYT, con los proyectos 5431.14-15 PR y PDCPN 2015-1097, respectivamente.

- Cohen, J. A. and Brockmann, H. J. (1983). Breeding activity and mate selection in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *Bulletin of Marine Science* 33: 274–281. <http://www.ingentaconnect.com/content/umrsmas/bullmar/1983/00000033/00000002/art00007?crawler=true>.
- CNA. Comisión Nacional del Agua. <http://smn.conagua.mx/es/información-climatológica-verestado?estado=yuc>, (Last checked: september 11st 2017).
- Ehlinger, G. S., Tankersley, R. A. and Bush, M. B. (2003). Spatial and temporal patterns of spawning and larval hatching by the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*, in a microtidal coastal lagoon. *Estuaries* 26: 631–640. DOI: [10.1007/BF02711975](https://doi.org/10.1007/BF02711975)
- Ehlinger, G. S. and Tankersley, R. A. (2004). Survival and development of horseshoe crab *Limulus polyphemus* embryos and larvae in hypersaline conditions. *The Biological Bulletin* 206: 87–94. DOI: [10.2307/1543539](https://doi.org/10.2307/1543539)
- Folk, R. L. (1966). A review of grain-size parameters. *Sedimentology* 6: 73-93. DOI: [10.1111/j.1365-3091.1966.tb01572.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3091.1966.tb01572.x)
- García, E. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Serie Libros No. 6, Instituto de Geografía. México. UNAM.
- Gerhart, S. D. (2007). A review of the biology and management of horseshoe crabs, with emphasis on Florida populations. Fish and Wildlife Research Institute Technical Report TR-12. St. Petersburg. ii + 24 p. <http://aquaticcommons.org/123/>.
- Gómez-Aguirre, S. (1993). Cacerolita de mar (*Limulus polyphemus* L.) en la Península de Yucatán. En: Biodiversidad marina y costera de México. SalazarVallejo, S. I. and González, N. E., ed. 650659 pp. México. CONABIO-CIQRO.
- Gómez-Aguirre S. and Yáñez-Martínez, A. (1995). Evaluación estacional de las poblaciones de *Limulus polyphemus* L. en el norte de la Península de Yucatán. (1994–1995). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 46: 49–54. <http://repositorio.fcien.unam.mx:8080/xmlui/handle/11154/142991?show=full>.
- Gutiérrez-Barrera, R. J. and Zaldívar-Rae, J. A. (2013). Abundancia y estacionalidad reproductiva de cacerolitas de mar, *Limulus polyphemus*, en la laguna costera de Chuburná Puerto, Yucatán. En: 3er. simposium para el conocimiento de los recursos costeros del sureste de México. 83-84 pp. Yucatán, México. http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/KU011_Anexo_Libro_Resumenes.pdf. (Last checked: septiembre 16th 2017).
- James-Pirri, M. J., Tuxbury, K., Marino, S. and Koch, S. (2005). Spawning densities, egg densities, size structure, and movement patterns of spawning horseshoe crabs *Limulus polyphemus* within four coastal embayments on Cape Cod, Massachusetts. *Estuaries* 28: 296–313. http://www.edc.uri.edu/nrs/classes/NRS555/assets/readings_06/ESTU2005_28_2_296_313.pdf.
- Mauerhofer, V., Kim, R. E., and Stevens, C. (2015). When implementation works: A comparison of Ramsar Convention implementation in different continents. *Environmental Science and Policy*. 51: 95-105. DOI: [10.1016/j.envsci.2015.03.016](https://doi.org/10.1016/j.envsci.2015.03.016).
- Penn, D. and Brockmann, H. J. (1994). Nest site selection in horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *The Biological Bulletin* 187: 373–384. <https://www.jstor.org/stable/1542294>.
- Rosales-Raya, M. (1999). Caracterización ambiental de sitios de anidación de *Limulus polyphemus* L. Estudio en Isla Aguada, Isla Pájaros, Cabrera e Icahao, Campeche, México (1990-1992). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 38 pp.
- Rosas-Correa C. O. and Ortiz León H. J. (2012). Cacerolita de mar, *Limulus polyphemus* en Holbox, Quintana Roo. Dinámica poblacional. Editorial Académica Española, 45 pp.
- Rudloe, A. E. (1980). The breeding behavior and patterns of movement of horseshoe crabs *Limulus polyphemus* in the vicinity of breeding beaches in Apalachee Bay, Florida. *Estuaries* 3: 177–183. https://www.jstor.org/stable/1352067?seq=1#page_scan_tab_contents.
- Shuster C. N. Jr. (1979). Distribution of the American horseshoe crab, *Limulus polyphemus* (L.). In: Bonaventura, J., Bonaventura, C., Tesh, S. eds Physiology and Biology of Horseshoe Crabs. Alan R Liss, New York, pp 1–52.
- Smith, D. R., Pooler, P. S., Loveland, R. E., Botton, M. L., Michels, S. F., Weber, R. G. and Carter, D. B. (2002). Horseshoe crab (*Limulus polyphemus*) reproductive activity on Delaware Bay beaches: Interactions with beach characteristics. *Journal of Coastal Research* 18:730–740. <http://journals.fcla.edu/jcr/article/view/81355/78494>.

- Vidal, L., Vallarino, A., Benítez, I. and Correa, J. (2015). Implementación del plan estratégico Ramsar en humedales costeros de la Península de Yucatán: normativas y regulación. *Latinoamerican Journal of Aquatic Research*. 43: 873-887. http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-560X2015000500007
- Weber, R. G., and Carter, D. B. (2009). Distribution and development of *Limulus* egg clusters on intertidal beaches in Delaware Bay. In: Tanacredi, J. T., Botton, M. L., Smith, D. R. eds. *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs*. Springer, New York, 249–266. DOI: [10.1007/978-0-387-89959-6_15](https://doi.org/10.1007/978-0-387-89959-6_15)
- Zaldívar-Rae, J., R. E. Sapién-Silva, M. Rosales-Raya, and Brockmann, H. J. (2009). American Horseshoe Crabs, *Limulus polyphemus* in Mexico: Open Possibilities. In: Tanacredi, J. T., Botton, M. L., Smith, D. R. eds. *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs*. Springer, New York, 97-113. DOI: [10.1007/978-0-387-89959-6_6](https://doi.org/10.1007/978-0-387-89959-6_6)

Cite this paper/Como citar este artículo: Sandoval-Gío, J. J., Zamora-Bustillos, R., Avilés-Ramírez, G. A., Ortiz-León, H. J., Rosas-Correa, C. O. (2018). First report of a spawning site of *Limulus polyphemus* at Ría Lagartos Biosphere Reserve, Yucatan, Mexico. *Revista Bio Ciencias* 5, e354. doi: <http://dx.doi.org/10.15741/revbio.05.2018.05>

