

Wageningen University & Research

Literary review

De biologie van *Limulus polyphemus* in het kader van aquatische verzorging



Auteur:
Hilmar Derksen



Begeleider:
Max Janse

2017-06-14



Voorwoord

Dit literatuuronderzoek geeft inzage in de biologische achtergrond van de degenkrab *Limulus polyphemus* in het wild met daarbij nadere informatie over de optimale aquatische omstandigheden voor het houden van deze organismen in gevangenschap.

Dit onderzoek heb ik uitgevoerd in het kader van mijn studie om met name mijn biologische kennis te verbreden en tevens te werken aan mijn vaardigheden in het schrijven van wetenschappelijke verslagen.

In reactie op mijn vraag naar een uitdagend onderwerp, bood Max Janse, bioloog van Burgers' Zoo Arnhem, mij aan een verdiepend literatuuronderzoek naar de degenkrab te doen. Momenteel is de nieuwe mangrove op het dierenpark in aanbouw en in het kader daarvan is er behoefte aan een overzicht van de aquatische omstandigheden en biologische achtergrond van deze soort om deze mogelijk in de mangrove los te kunnen laten.

Max Janse is mijn begeleider en ziet toe op het proces van het onderzoek. Dit betreft de keuze van de te behandelen onderwerpen, sturing in waar de focus van het onderzoek ligt, persoonlijke doelen voor dit onderzoek en feedback op de geleverde scripties.

Graag wil ik hem hiervoor bedanken. Gedurende de 5 maanden dat dit literatuuronderzoek liep, heb ik geleerd om zoekend te lezen, resultaten te vergelijken en kritisch te blijven op het referentiemateriaal. Bovendien heb ik door dit project een groot enthousiasme voor degenkrabben ontwikkeld en hoop hier in de toekomst nog veel mee te kunnen doen.

Samenvatting

1. *Limulus polyphemus* is een maritiem-estuarien organisme dat voorkomt in de Atlantische Oceaan langs de kust van Noord Amerika en de Golf van Mexico.
2. Optimale ontwikkeling van *L. polyphemus* embryo's wordt bereikt bij een zoutgehalte van 22 ppt, een temperatuur tussen de 25 en 30 °C en een zuurstofgehalte van 20%.
3. Optimale groei en overleving van juveniele *L. polyphemus* wordt bereikt bij een zoutgehalte van 25 – 27 ppt en een temperatuur van 26°C.
4. Optimale overleving van volwassen *L. polyphemus* wordt bereikt bij een zoutgehalte van 25 - 27 ppt, een temperatuur van 15 – 23 °C en een zuurstofgehalte van 5 – 7 mg/L.
5. De jonge degenkrabben ondergaan ± 18 stadia en vervellen 12 – 18 keer, gedurende een periode van 9 - 12 jaar.
6. *L. polyphemus* kan een leeftijd bereiken van maximaal 20 jaar.
7. De dagelijkse energiebehoefte van *L. polyphemus* voor behoud van lichaamsgewicht is ± 224 J/g lichaamsgewicht.
8. De dagelijkse behoefte aan 'Digestable Protein' voor behoud van lichaamsgewicht is 8.7 mg eiwit/g lichaamsgewicht.
9. Het dieet van *L. polyphemus* in culture bestaat voornamelijk uit pekelgarnaaltjes, microalgen, mosselen, inktvis, aardwormen, zee-egel eitjes en raderdiertjes.
10. In culture worden degenkrabben over het algemeen 0.75% van hun lichaamsgewicht gevoerd, elke 2 – 3 dagen.
11. Het bloed van *L. polyphemus* bevat een speciale stollingsfactor, Coagulogen dat de verspreiding van pathogenen verhindert.
12. Via het dunne arthrodiol membraan in de cardiac sinus kan met een dunne naald tussen de 50 en 150 ml hemolymfe afgenomen worden.
13. Epibionten op het exoskelet kunnen verwijderd worden d.m.v. een bad met zoet water (3 – 12 minuten), azijnzuur (3 – 5% voor max. 1 uur) of formaline (1 – 1.5 ppt voor max. 12 uur).
14. Behandelingen tegen bacteriële infecties omvatten o.a. oxytetracycline, itraconazol en fluconazol.
15. Open wonden kunnen behandeld worden met Tricide oor ontsmetter, chloorhexidine of met 1% zilver sulfadiazine.

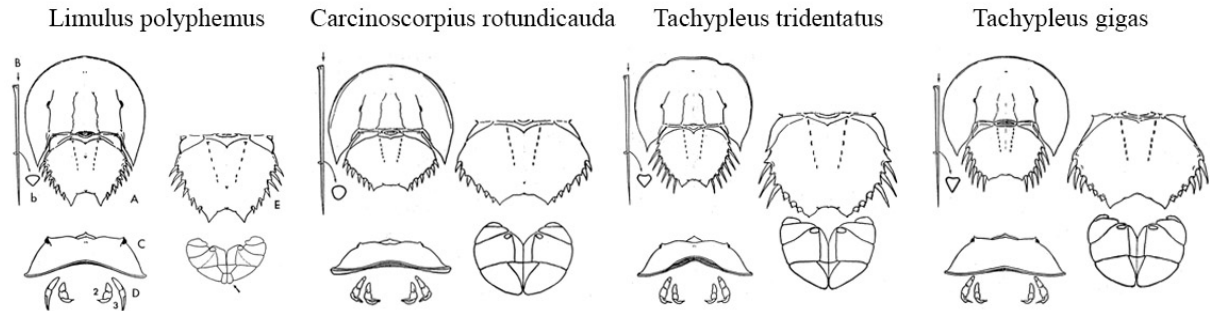
Inhoudsopgave

1. Habitat & niche	
1.1 Verspreiding	pagina 4
1.2 Natuurlijke habitat	pagina 5
1.2.2 Voortplantingshabitat	pagina 5
1.2.2 Ontwikkelingshabitat	pagina 5
1.2.3 Volwassen habitat	pagina 5
1.3 Populaties	pagina 6
1.4 Ecologische niche	pagina 7
1.4.1 Predatie op <i>Limulus polyphemus</i>	pagina 7
1.4.2 Symbiotische relaties	pagina 8
2. Aquatische leefomstandigheden	
2.1 Waterkwaliteit	pagina 9
2.1.1 Zoutgehalte	pagina 9
2.1.2 Zuurstofgehalte	pagina 9
2.1.3 Temperatuur	pagina 10
2.2 Sediment en graafgedrag	pagina 12
3. Levenscyclus	
3.1 Levensfasen & anatomie	pagina 13
3.1.1 Embryonale fase	pagina 13
3.1.2 Larvenstadium	pagina 14
3.1.3 Jonge degenkrab	pagina 14
3.1.4 Volwassen degenkrab	pagina 14
3.2 Groei & vervelling	pagina 18
3.3 Leeftijd	pagina 19
3.4 Onderscheiden van sekse	pagina 19
4. Voortplanting	
4.1 Paargedrag	pagina 20
4.2 Concurrentie	pagina 21
4.3 Nest-site selection	pagina 23
4.3.1 Temperatuur	pagina 23
4.3.2 Zuurstofgehalte	pagina 24
4.3.3 Sulfide	pagina 24
5. Voeding & foerageergedrag	
5.1 Foerageergedrag	pagina 25
5.2 Type voedsel	pagina 26
5.2.1 Natuurlijk dieet	pagina 26
5.2.2 In culture	pagina 28
6. Afweer & verdediging	
6.1 Bloedsamenstelling	pagina 29
6.1.1 Hemocyanine	pagina 29
6.1.2 Immuunrespons	pagina 29
6.1.3 Bloed extractie	pagina 30
6.2 Meest voorkomende ziekten & parasieten	pagina 31
6.2.1 Niet-pathogeen	pagina 31
6.2.2 Parasieten	pagina 31
6.2.3 Infectieziekten	pagina 32
6.2.4 Behandeling	pagina 33
6.2.5 Methode voor lichamelijk onderzoek	pagina 33
7. Literatuur	

1. Habitat & niche

1.1 Verspreiding

Limulus polyphemus is één van de vier soorten degenkrabben die tot nog toe bekend zijn. Naast deze Amerikaanse degenkrab zijn er nog de Indo-Pacifische *Tachypleus gigas*, *Tachypleus tridentatus* en *Carcinoscorpius rotundicauda* (Figuur 1). Ondanks dat deze organismen vaak verward worden met krabben, zijn ze echter nauwer verwant aan schorpioenen en spinnen (Walls et al., 2002) behorende tot de arachniden.



Figuur 1. Illustratie van morfologische verschillen tussen de vier soorten degenkrabben, illustratie door: Carl N. Shuster Jr. Ph.D. Afbeelding: ERDG, 1995.

L. polyphemus komt voor in de Atlantische Oceaan langs de kustlijn van Noord Amerika en de Golf van Mexico (Figuur 2). Dit gebied bevindt zich ongeveer tussen de 19° N en 42° N breedtegraad en loopt van Maine tot het schiereiland van Yucatan (FWC, 2017). Met name ter hoogte van de Delaware Bay en Chesapeake Bay worden grote populaties waargenomen, voornamelijk omdat deze beschutte baaien een geschikte plaats bieden voor de voortplanting en de eerste levensstadia van de degenkrab (ERDG, 1995).



Figuur 2. Grafische weergave van de verspreiding van de verschillende soorten degenkrabben over de wereld. Afbeelding: UNCW, 2015.

1.2 Natuurlijke habitat

De natuurlijke habitat waarin *L. polyphemus* voorkomt bestaat uit een aantal sterk uiteenlopende gebieden, afhankelijk van de breedtegraad en variërend per populatie en het levensstadium waarin de individuen zich bevinden (Figuur 3).

1.2.1 Voortplantingshabitat

Het grootste deel van zijn leven brengt *L. polyphemus* door in de sublitorale zone (SMS, 1997), daar waar de bodem in het tij niet boven water komt te liggen. Bij de jaarlijkse migratie verplaatsen zij zich echter naar de kustlijn om te paren en eitjes te leggen. Hiervoor moet een nest gegraven worden in het zand. Met name baaien en inhammen met licht hellende stranden zijn voor de degenkrab het meest geschikt, omdat deze omgeving beschermt is tegen sterke golfslag (ERDG, 1995). In dit proces speelt 'nest-site selection' een grote rol (4. Voortplanting) en verschilt de plek waar de nesten gegraven worden per baai. De samenstelling van het zand speelt een grote rol bij de ontwikkeling van de eitjes en zelfs kleine variaties in zuurstofgehalte, temperatuur van het sediment (4.3 Nest-site selection) kunnen effect hebben op de geschiktheid als habitat voor de voortplanting van deze degenkrabsoort (Botton et al., 1988).

1.2.2 Ontwikkelingshabitat

(ERDG, 1995) Bij de keuze voor geschikte habitats om zich voort te planten, speelt voor deze degenkrabben ook de aanwezigheid van nabijgelegen ondiepere wateren of lagunes een belangrijke rol. Deze habitat met ondiep (< 2 meter) en voedselrijk water is uitstekend geschikt voor de ontwikkeling van de uit het ei gekomen degenkrabben. Het zoutgehalte in deze wateren blijkt bepalend te zijn voor de geschiktheid voor de ontwikkeling van deze jonge degenkrabben. Meer dan 99% van de jongen verblijft in water met een zoutgehalte hoger dan 5 ppt. en zullen hier ongeveer 2 jaar doorbrengen voordat ze naar diepere wateren trekken om daar verder te ontwikkelen tot ze volwassen en geslachtsrijp zijn.

1.2.3 Volwassen habitat

Volwassen degenkrabben verblijven voornamelijk in diepere wateren van zo'n 6 tot 20 meter onder het wateroppervlak (Walls et al., 2002), maar ook zijn er individuen aangetroffen tot 200 meter diepte (ERDG, 1995). Dit gebied valt buiten de getijdenzone en vormt daarmee een stabiele habitat voor deze dieren. In het paarseizoen stimuleren de stijgende temperatuur van het water en de hoeveelheid licht de degenkrabben om naar de zanderige stranden te migreren en zich voort te planten (Walls et al., 2002). Na afloop van het paarseizoen blijven ze in de diepere wateren van de baaien of trekken ze naar de Atlantische Oceaan om daar te overwinteren (ERDG, 1995).



Figuur 3: De verschillende habitats per levensfase van *L. polyphemus*. Vanaf het moment dat de larven uit de eitjes komen verblijven deze in ondiepe wateren (Tidal Flats). Jaarlijkse migratie van volwassen degenkrabben vindt plaats voor de voortplanting (Afbeelding: ERDG, 1995).

1.3 Populaties

Hoewel *L. polyphemus* langs de gehele Atlantische kust van Amerika verspreid voorkomt, bevinden de grootste populaties zich rond de Delaware Bay tussen Virginia en New Jersey (Shuster, 1982a). Richting het Noorden en het zuiden nemen de aantallen geleidelijk af, mogelijk ten gevolge van de extremere watertemperaturen (Shuster, 1982a).



Figuur 4. Kaart van de Atlantische kust van Amerika. Afbeelding: USGS, science for changing world.

Uit onderzoek naar de fenotypen (Botton & Loveland, 1992; Burton, 1983; Itow, 2004; Shuster, 1982) en de genotypen (Itow, 2004; Pierce et al., 2000) van deze soort blijkt dat er aanzienlijke verschillen zijn in zowel grootte en vorm tussen de verschillende metapopulaties langs de kust. Zelfs tussen populaties bij Delaware Bay en Chesapeake Bay, die geografisch niet ver uiteen liggen (Figuur 4), bleek genetische uitwisseling zeer beperkt (Pierce et al., 2000). Een mogelijke oorzaak hiervoor kan zijn dat deze degenkrabben voor het paren terugkeren naar de plek waar ze geboren zijn.

Meerdere studies over de voorplanting laten zien dat er een verband is tussen populatiegrootte en het gedrag/de voortplantingstactieken van degenkrabben (Jennifer, 2010). Hoewel man/vrouw ratio's een rol spelen (Smith et al., 2002), is het met name de dichtheid van de populatie die de voortplantingstactiek van degenkrabben bepaalt (4.2 Concurrentie).

Uit een onderzoek naar populatieomvang in de Pleasant Bay (Ruth, 2003) werd een gemiddelde van 1.9 volwassen krabben per 100 m² waargenomen, waarvan 20% begraven was in ondiep sediment (2.2 Sediment en graafgedrag) (Tabel 1).

**Populatie-dichtheid *Limulus polyphemus*
Pleasant Bay**

	Mean no. (100 m ⁻²)	Suitable habitat (km ²)	Total no.	CV (%)
Juveniles				
< 25.0 mm	158.1 ± 88.1	8.2	1.3 x 10 ⁷	56
> 25.0 mm	1.9 ± 1.1	26.3	4.9 x 10 ⁵	58
Total Juveniles	-	-	1.35 x 10 ⁷	
Adults				
Surface	1.5 ± 0.41	26.3	4.0 x 10 ⁵	27
Buried	0.4 ± 0.30	26.3	1.0 x 10 ⁵	75
Total Adults	1.9 ± 0.51	26.3	5.0 x 10 ⁵	27

Tabel 1. *Limulus polyphemus*, Geschatte populatieomvang van jonge en volwassen degenkrabben in Pleasant Bay. De jongen zijn opgedeeld in twee groepen op de breedte van het schild en de volwassen krabben op de locatie in het substraat. CV = coefficient of variation (standard error/mean x 100).

1.4 Niche

1.4.1 Predatie op *Limulus polyphemus*

De degenkrabben, maar met name de eitjes ervan zijn een belangrijk onderdeel van het ecosysteem, omdat ze vele organismen van voedsel voorzien (SMS, 1997). In de verschillende levensstadia van de degenkrabben zijn er bepaalde organismen die op hen prederen (zie tabel 2). Vele soorten vissen, zeeschildpadden en schaaldieren eten de eitjes en larven die door de golven uit de nesten op het strand zijn weggeslagen (ERDG, 1995). Ook voor enkele soorten migrerende vogels zijn de eitjes van de degenkrab een essentiële bron van voedsel (Figuur 5) waarmee ze in hun 2 tot 3 weken durende stop de vetreserves kunnen aanvullen (ERDG, 1995).

Volwassen degenkrabben zijn vanwege hun beschermende schild een minder gemakkelijke prooi voor roofdieren. Toch zullen met name de oudere degenkrabben die minder beweeglijk zijn en zich niet meer met hun staart kunnen omkeren gemakkelijk ten prooi vallen aan zeeschildpadden en haaien (Walls et al., 2002).

Overzicht predators van *Limulus polyphemus*

Group	Species	Prey	Group	Species	Prey	
Birds	Semipalmated plover (<i>charadrius semipalmatus</i>)	Eggs	Fish	Silver Perch (<i>Bairdiella chrysura</i>)	Eggs and larvae	
	Black-Bellied plover (<i>Phuvialis squatarola</i>)	Eggs		Weakfish (<i>Cynoscion regalis</i>)	Eggs and larvae	
	Pectoral sandpiper (<i>Calidris melanotos</i>)	Eggs		Northern kingfish (<i>menticirrhus saxatilis</i>)	Eggs and larvae	
	Least sandpiper (<i>Calidris minutilla</i>)	Eggs		Atlantic silverside (<i>Menidia menidia</i>)	Eggs and larvae	
	Laughing Gull (<i>Larus artricilla</i>)	Eggs		Summer flounder (<i>Paralichthys dentatus</i>)	Eggs and larvae	
	Boat-tailed grackle (<i>Cassidix major</i>)	Eggs		Winter flounder (<i>Pseudopleuronectes americanus</i>)	Eggs and larvae	
	Red knots (<i>Calidris canutus</i>)			Leopard Shark (<i>Triakis semifasciata</i>)	Adults	
	Ruddy turnstones (<i>Arenaria interpres</i>)	Eggs		Catfish	Eggs	
	Herring Gull (<i>Larus argentatus</i>)	Eggs		Puffers (<i>Tetraodontidae</i>)	Juveniles	
	Greater black-backed Gull (<i>Larus marinus</i>)	Adults		Swordfish (<i>Xiphiidae</i>)	-	
Arthropods	Sand Schrimp (<i>Crangon septemspinosa</i>)	Eggs	Mollusks	Mullet (<i>Mugilidae</i>)	Eggs and larvae	
	Fiddler crab (<i>Uca pugnax</i>)	Young adults		Striped bass (<i>Morone saxatilis</i>)	Eggs	
	Blue crab (<i>Cullinectes sapidus</i>)	Juveniles		White perch (<i>Morone americana</i>)	Eggs	
	Green crab (<i>Carcinides maenus</i>)	Juveniles		American eel (<i>Anguilla rostrata</i>)	Eggs and larvae	
	Spider crab (<i>Libinia spp.</i>)	Juveniles		(<i>Melongena spp.</i>)	Adults	
	Amphipods	Larvae		Reptiles	Loggerhead sea turtle (<i>Caretta caretta</i>)	Adults

Tabel 2. Overzicht van alle organismen die op *L. polyphemus* prederen en op welk levensstadium (Walls et al., 2002).

1.4.2 Symbiotische relaties

Naarmate *L. polyphemus* ouder wordt, zal deze minder vaak vervellen (3.2 Groei & vervelling) waardoor verscheidene organismen de kans krijgen zich op dit rugschild te vestigen (SMS, 1997). De meeste van deze symbiotische relaties zijn een vorm van commensalisme, waarbij het schild van de degenkrab een geschikte habitat biedt voor bijvoorbeeld sponzen, algen, mosdiertjes, zeepokken (Figuur 5), en kleine schaaldieren als modderkrabben en zandgarnalen (Shuster, 1982). Mosselen vestigen zich op de rand van het schild, waar water rondgepompt wordt om de kieuwen van de degenkrab van zuurstof te voorzien. Slakken leggen eitjes op het schild, waardoor de degenkrab in de lente geheel bedekt kan zijn met de eitjes.

Daarnaast zijn er nog enkele parasiterende soorten (6.2 Meest voorkomende ziekten & parasieten) waaronder de platworm *Bdelloura candida*. Deze soort vestigt zich rond de kieuwen en gewrichten van de krab, met name bij oudere vrouwtjes. Deze wormen leggen hun eitjes in de lamellen van de kieuwen die van buiten af zichtbaar te herkennen zijn aan donkere stippen (ERDG, 1995).

De ploegende bewegingen van *L. polyphemus* tijdens het foerageren heeft een belangrijk aandeel in de soortenrijkdom in het ecosysteem (SMS, 1997), omdat het bijdraagt aan het zuurstofrijk houden van het substraat, wat een stimulerend effect heeft op de groei van micro-organismen en fytoplankton.



Figuur 5. Degenkrabben zijn het meest kwetsbaar wanneer zij ondersteboven komen te liggen, bijvoorbeeld door golfslag aan het strand (A). De grote mantelmeeuw predeert *L. polyphemus* op degenkrabben (B). Epibionten op het exoskelet (C). Foto (A) : Jan van den Kam (Conserve Wildlife Foundation of NJ). Foto (B): DCWild Gallery. Foto (C): SERTC Marine Resources Research Institute.

2. Aquatische leefomstandigheden

2.1 Waterkwaliteit

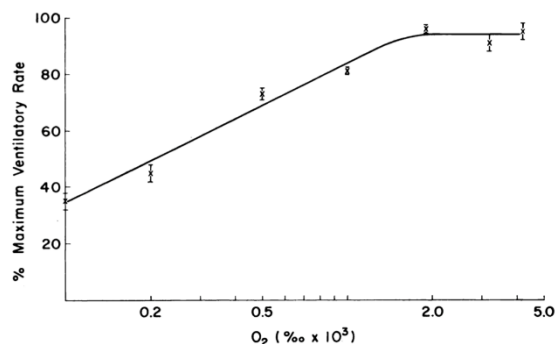
L. polyphemus is een organisme dat bestand is tegen een grote variatie in o.a. temperatuur en zoutgehalte van het water, wat het voor de degenkrabben in het wild mogelijk maakt te overleven in extreme omstandigheden. Vele studies zijn al gedaan naar het houden van degenkrabben in gevangenschap en de optimale omstandigheden (zoutgehalte, watertemperatuur, zuurstof- en kalkgehalte). Voor een overzicht van de optimale omstandigheden (Tabel 6).

2.1.1 Zoutgehalte

Degenkrabben zijn maritieme organismen en moeten dus in redelijk zout water verblijven om te kunnen overleven. De geschikte waarden voor het zoutgehalte van de omgeving van *L. polyphemus* verschilt per levensfase. In het wild verblijven volwassen degenkrabben in de diepere wateren met een gehalte van 5 tot 34 ppt (Smith, 2005) en lagunes met een grotere schommeling in zoutgehalte, tussen de 5 en 55 ppt. Dit wordt veroorzaakt door het lage water, verdamping en eventuele instroom van zoet water (Shuster, 1982; Botton et al., 1988). De eitjes van de degenkrabben worden in nesten op het strand gelegd, waar ze blootgesteld worden aan verschillende omstandigheden, afhankelijk van de afstand tot de zee en hoe diep de eitjes begraven zijn (4.3 Nest-site selection). Geschikte waarden voor het zoutgehalte m.b.t. de ontwikkeling van de embryo's ligt tussen de 20 en 30 ppt met een optimum bij 22 ppt (Jegla, 1982; Laughlin, 1983). Wanneer de larven uitkomen verblijven deze ongeveer 2 jaar in ondiepe wateren en lagunes. Het zoutgehalte heeft grote invloed op de ontwikkeling van de degenkrabben. Er zijn verschillende stadia (3.1 Levensfasen & anatomie), waarbij een zoutgehalte van 5 ppt het minimum is om naar de 'trilobite stage' te ontwikkelen (Laughlin, 1983). Dit is echter niet genoeg om naar 'the first tailed stage' door te gaan, omdat lage zoutgehalten een negatief effect hebben op het gewicht van deze jonge degenkrabben (Laughlin, 1983). Een mogelijke verklaring hiervoor is de inzet van organische koolstofverbindingen in de osmotische regulatie van het interne milieu van *L. polyphemus*, wat de groei en ontwikkeling verstoort. De optimale zoutconcentratie voor volwassen degenkrabben is 25 – 27 ppt (Nolan & Smith, 2009).

2.1.2 Zuurstofgehalte

Met behulp van kieuwen neemt *L. polyphemus* zuurstof op uit het zeewater. De kieuwen bevinden zich onder aan het lichaam, achter de poten. Beweging van de kieuwen en de looppoten zorgen voor een aanvoerende stroom van zuurstofrijk- en een afvoerende stroom van zuurstofarm water (Page, 1973). De mate van beweging is afhankelijk van de hoeveelheid zuurstof in het water die via sensoren tussen de poten en in de kieuwen worden gemeten (Figuur 6). In onderzoeken naar degenkrabben in culture werd de concentratie opgeloste zuurstof respectievelijk boven de 5 mg/L (Schreibman & Zarnoch, 2009) en tussen de 6 en 7.6 mg/L (Carmichael, 2009) gehouden.



Figuur 6. Het verloop van de ventilatiesnelheid door *L. polyphemus* ten opzichte van de zuurstofconcentratie in het zeewater (weergegeven als logaritme). Data komt van volwassen dieren. Verandering in de ventilatiesnelheid is apart berekend voor elk dier, waarbij de gemiddelden zijn weergegeven met de standaarddeviatie. De meetwaarden zijn verkregen uit de experimenten, waarbij stikstof langzaam aan werd vervangen door zuurstof d.m.v. beluchting. (Page, 1973)

2.1.4 Temperatuur

Dat degenkrabben goed tegen uiteenlopende temperaturen kunnen is mede de oorzaak dat ze zich vanaf de Golf van Mexico tot Maine aan de Amerikaanse kust hebben gevestigd. Toch blijkt temperatuur wel een grote invloed te hebben op de verspreiding en overlevingskansen van deze organismen (Walls et al., 2002). Ook hier zijn de overlevingskansen van de verschillende levensstadia van *L. polyphemus* afhankelijk van bepaalde temperaturen (Smith, 2005). Degenkrabben zijn koudbloedige dieren, wat betekent dat omgevingstemperatuur een aanzienlijke rol speelt in hoe snel de ontwikkeling van zowel de embryonale als de larve stages verlopen. Watertemperatuur voor een optimale ontwikkeling en hoogste overlevingskansen waren rond de 33°C. Voor de jongen in de larvenstadia lag de optimale temperatuur voor groei en overlevingskansen rond de 26°C (Carmichael, 2012). In natuurlijke omgeving komen volwassen degenkrabben voor in wateren met temperaturen tussen de -5°C en 35°C (Smith, 2005). Optimale temperatuur voor het houden van *L. polyphemus* in gevangenschap ligt tussen de 15°C en 23°C (Carmichael, 2012).

Limulus polyphemus (Embryos)

Source	Trial length	Growth (days to hatch)	Survival (%)	Temp (°C)	Salinity (g/L)
Schreibman and Zarnoch (2009)	1.5 Years	31	> 75	-	-
<i>Ehlinger and Tankersley (2004)</i>	75 Days	17	-	30	30 - 40
Sekiguchi et al.,(1988 b)	-	14	96	30	34 – 35
<i>Jegla and Costlow (1982)</i>	-	10	-	30 – 35	20
Brown and Clapper (1981)	-	27	95	15 - 32	50 – 125 % RS

Tabel 3. Gevonden waarden voor de maximale groei (minimum aantal dagen tot het uitkomen van de eieren) en overlevingskansen van volwassen Amerikaanse degenkrabben, *L. polyphemus* in gevangenschap. “-“ gegevens niet beschikbaar, RS (Raw Seawater), trial length is de duur van het experiment (Carmichael, 2012)

Limulus polyphemus (Juvenile)

Source	Trial length	Growth (PW in mm / week)	Survival (%)	Temp (°C)	Salinity (g/L)
Carmichael et al.,(2009)	120 Days	0.06 ± 0.01	87	17 – 23	34
<i>Schreibman and Zarnoch (2009)</i>	1.5 Years	0.3 ± 0.2	-	20 – 25	27 – 33
Tsuchiya (2007)	3 years	-	-	21	17 – 34
<i>Smith and Berkson (2005)</i>	-	-	-	15 – 21	27
Ehlinger and Tankersley (2004)	30 Days	1.4 ± 0.3	100	30	30
<i>Sekiguchi et al.,(1988 b)</i>	7 Years	1.0 ± 0.3	-	-	30
Laughlin (1983)	-	-	-	30	15
<i>Jegla and Costlow (1982)</i>	-	-	100	25	-
Brown and Clapper (1981)	1.5 Years	3.3 ± -	90	19 - 22	40

Tabel 4. Gevonden waarden voor de maximale overlevingskansen van jonge Amerikaanse degenkrabben, *L. polyphemus* in gevangenschap. Groei is uitgedrukt in de breedte van het schild (Prosoma) in (PW) mm / week, trial length is de duur van het experiment (Carmichael, 2012).

Limulus polyphemus (Adult)

<i>Source</i>	Trial length	Survival (%)	Temp (°C)	Salinity (g/L)
<i>Smith and Berkson (2005)</i>	-	-	15 – 21	27
<i>Ehlinger and Tankersley (2004)</i>	-	-	20 – 23	30
<i>Brown and Clapper (1981)</i>	1.5 Years	82	11 – 22	-

Tabel 5. Gevonden waarden voor de maximale overlevingskansen van volwassen Amerikaanse degenkrabben, *L. polyphemus* in gevangenschap, trial length is de duur van het experiment (Carmichael, 2012)

Limulus polyphemus
Overzicht

	Embryo	Larven/Juvenile	Adult
<i>Salinity (g/L)</i>	20 - 30	17 - 34	25 - 27
<i>Oxygen (mg/L)</i>	-	-	5.0 – 7.6
<i>Temp (°C)</i>	33	26	15 – 23
<i>Acidity (pH)</i>	-	-	7.4 – 8.4
<i>Alkalinity (dKH)</i>	-	-	8 – 12
<i>Specific gravity</i>	-	-	1.023 – 1.025
<i>Ammonia (mg/L)</i>	-	-	< 1.2
<i>Nitrite (mg/L)</i>	-	-	< 0.15

Tabel 6. Een overzicht van de optimale omstandigheden voor het houden van *L. polyphemus* in gevangenschap, gegevens gebaseerd op studies naar de verschillende factoren (Carmichael, 2012) en (Liveaquaria). “-“ niet bekend. dKH = degree of KH, de hardheid van het water ofwel de hoeveelheid calciumcarbonaat in het water. 1 dKH = 17.848 mg/L calciumcarbonaat.

2.2 Sediment en graafgedrag

Degenkrabben brengen een groot deel van de dag door, begraven in het zand, met de ventrale zijde van de prosoma zo'n 10 – 15 cm diep. Met name de jonge degenkrabben doen dit om voedsel uit het zand te filteren (Kuilan, 2015) zonder energie te verbruiken in het zoeken ernaar. Uit onderzoek (Smith, 2005) blijkt dat natuurlijk zand of koraalzand het meest bevorderlijk is voor de groei van jonge-, en de overlevingskans van volwassen degenkrabben (Smith, 2005). In het zand zitten voedingsdeeltjes met essentiële suikers en mineralen voor de aanmaak van de polysacharide chitine, waaruit het schild van deze organismen bestaat (Carmichael, 2009). Daarnaast is het zand ook van belang bij het schoon houden van het schild (ontdoen van parasieten en bacteriën door het schuren) en helpt het bij het vervellen (Smith, 2005). Het type substraat of sediment dat optimaal is voor de degenkrab hangt af van het levensstadium. Voor embryo's is een zuurstofrijke, losse, maar vochtige grond ideaal. Het bevordert de groei en maakt het voor de larven mogelijk om naar de oppervlakte te bewegen als ze uitgekomen zijn (Gerhart, 2007).

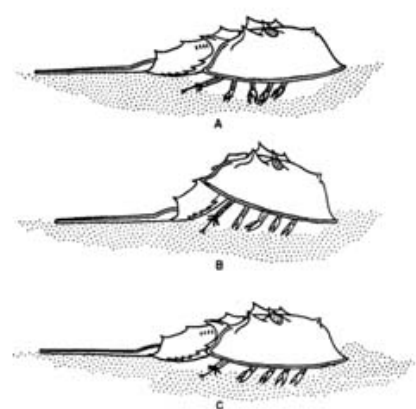
Limulus polyphemus Sediment (nestsite)

Source	Site	Depth (m)	Sand (%)	Gravel (%)	Grain size Mean (mm)	Porosity (phi)
D. Penn and H. J. Brockmann (1994)	Florida	0.11	100	0	0.31	1.67
	Delaware	0.09	18.0 – 99.9	0.1 – 82.0	1	0.008
N. L. Jackson et al.,(2005)	Delaware	0.15	-	-	0.51	0.82
	Delaware	0.30	-	-	0.91	1.39

Tabel 7. Overzicht van onderzocht sediment van verschillende stranden waar *L. polyphemus* haar eieren legt

In culture is het voor de uitgekomen larven belangrijk dat het sediment steriel is (Smith, 2005), waardoor de kans op infecties en parasieten nihil is. Stephens (1964) beweert dat volwassen degenkrabben zich voornamelijk begraven wanneer de watertemperatuur daalt en wanneer er predatoren, zoals haaien, in de omgeving zijn.

Het begraven verloopt in drie stappen (Figuur 7) (Niles, 1970); Tijdens de eerste stap graaft *L. polyphemus* met zijn eerste 4 paar poten het zand onder zich weg waardoor een kuiltje ontstaat. Vervolgens wordt het afgegraven zand met de 'pushing legs' (3.1 Levensfasen & anatomie) weggeveegd. In de tweede stap zet de degenkrab zich af met de 5 paar looppoten, waardoor het dier een gebogen vorm krijgt en zich met de voorkant van het schild in het zand duwt. In de derde stap strekt *L. polyphemus* zich uit, waardoor het opgeduwde zand boven op het schild terecht komt. Dit proces herhaalt zich enkele malen totdat de degenkrab zich diep genoeg onder het zand bevindt. Wanneer dat precies zo is verschilt per studie (Niles, 1970). Soms begraven ze zich volledig onder het zand, soms tot de facetogen.



Figuur 7. Geïllustreerde weergave van het graafgedrag van *L. polyphemus* (A). A: het weggraven van materiaal, B: buigen van het lichaam en afzetten in het zand, C: strekking van het lichaam en begraven onder het zand. *L. polyphemus* begraaft zich zo'n 10 – 15 cm diep, zodat de facetogen onbedekt blijven. Illustratie (A) door: Vosatka E. D. (1970). Foto (B): Nancy Bill

B

3. Levenscyclus

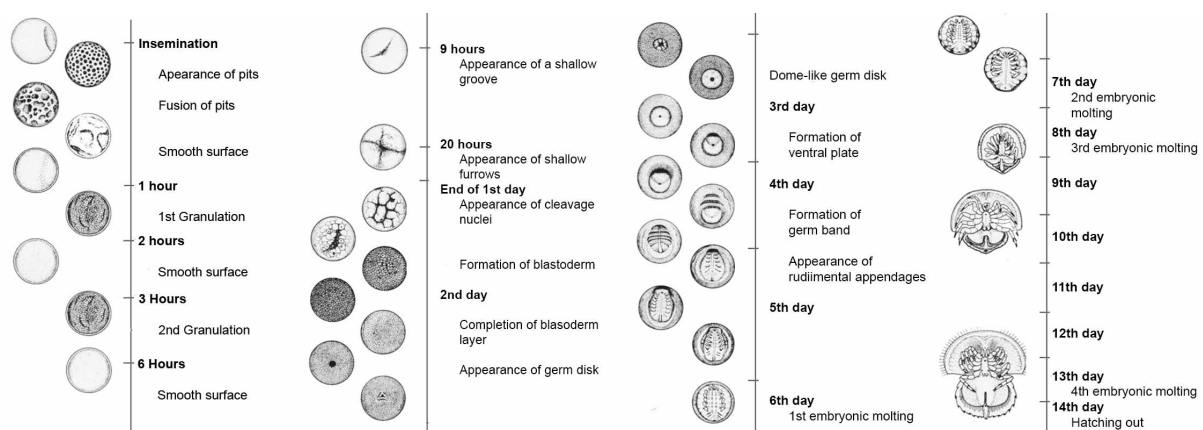
3.1 Levensfasen & anatomie

3.1.1 Embryonale fase

Nadat de eieren (1.6 – 1.8 mm) zijn bevrucht, ontwikkelt zich in het ei een embryo. Dit proces verloopt via duidelijke stadia (Figuur 8), van de eerste celdeling en de eerste embryonale vervellingen tot het uitkomen van de larven (Figuur 8) en duurt ongeveer twee tot vier weken, afhankelijk van temperatuur en het tij (Jegla & Costlow, 1982; Sekiguchi et al., 1982; Botton, 1995). Vlak na de bevruchting (stadia 1.1 tot 1.8) ontstaan kleine putjes in het chorion (Sekiguchi et al., 1988a; Hajeb et al., 2009) die gedurende het eerste uur met elkaar versmelten, tot een glad oppervlak ontstaat.

Tijdens de kiemlaagformatie (stadia 1 t/m 10) vinden de eerste celdelingen plaats en na verloop van tijd verdwijnen de blastomeren. De vruchtkiem wordt gevormd en gedurende de kiemlaaguitbreiding (stadia 11 t/m 14) wordt deze groter. Ondertussen vinden de eerste insnoeringen plaats die de poten zullen vormen en verder ontwikkelen door differentiatie en deling van de kiemcellen tijdens de ‘Limb Bud Stage’ (stadia 15 t/m 17). De poten, monddelen en eerste organen worden duidelijker zichtbaar bij de eerste embryonale vervelling (stadium 18). Ook de eerste bloedcellen worden nu gevormd. Bij de tweede embryonale vervelling (stadium 19) differentiëren de cellen aan de uiteinden van de poten zich tot klauwen en begint de segmenten (prosoma en abdomen) vorm te krijgen. Ongeveer twee dagen voor het uitkomen, bij de derde embryonale vervelling (stadium 20) slijt het buitenste vlies, het chorion, in tweeën, waardoor het embryo (± 3 mm) duidelijk zichtbaar wordt. De poten vormen zich tot onafhankelijk beweegbare segmenten en de kieuwen ontwikkelen in hoog tempo. De compound-, en median eyes zijn al zichtbaar op het rugschild (prosoma). Vlak voor het uitkomen, bij de vierde embryonale vervelling (stadium 21), vervelt het embryo nog éénmalig. Het embryo is nu getransformeerd in het eerste larvenstadium. De kieuwen zijn duidelijk grotere en bewegen snel. Morfologisch lijkt deze larve in grote mate op een volwassen degenkrab, afgezien van de telson die nog mist.

Larven (2 – 4 mm) komen uit het ei wanneer vloed de nesten overspoelt, voornamelijk met hoogtij (Rudloe, 1979; Ehlinger et al., 2003; Botton & Loveland, 2003). Gedurende de ontwikkeling van de embryo's is het interne milieu van de eieren sterk hypertoon (Ehlinger & Tankersley, 2003). Wanneer zeewater het nest bereikt ondergaan de eieren osmotische stress (~ 70 mmol/kg), waardoor deze opzwellen en het membraan verzwakt, wat het voor de larven makkelijker maakt uit te komen en het water te bereiken. Ook hogere vloedlijnen gedurende de nachten in mei en augustus spelen hier mogelijk een rol (Botton, 2010).



Figuur 8. Embryonale stadia in de ontwikkeling van het bevruchte ei tot het eerste larvenstadium. (ERDG, 1995)

3.1.2 Larvenstadium

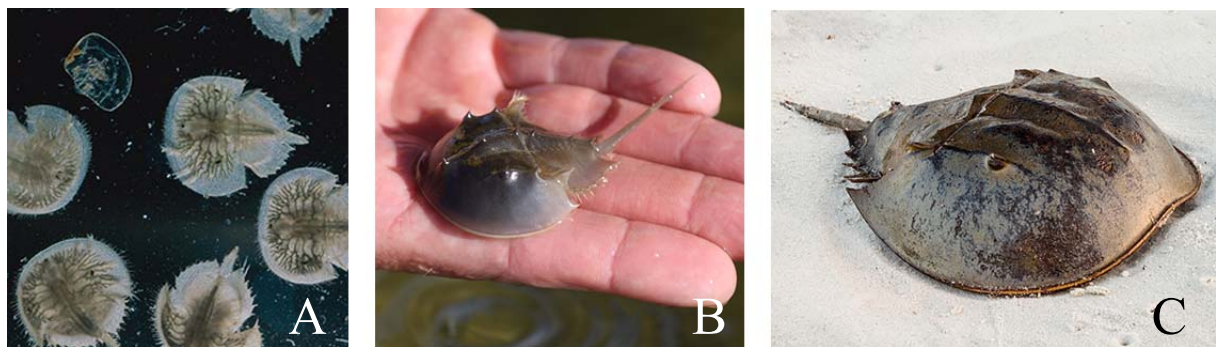
Wanneer de degenkrablarven –met een prosoma-breedte van 2 tot 4 mm- uit het nest komen en het water hoog staat, zijn ze voor een korte tijd afhankelijk van de stroming en golfslag in waar ze terechtkomen (Shuster, 1982b). Vervolgens ondervinden ze een ‘swimming frenzy’ (Shuster, 1982), vergelijkbaar met pas uitgekomen jongen van schildpadden, waarbij ze gedurende ± 6 dagen, urenlang –voornamelijk ’s nachts- aan één stuk doorzwemmen (Figuur 9A), voordat ze zich op de bodem in lagunes en moddervlakten vestigen (Botton & Loveland, 2003). Hier vindt de tweede vervelling plaats, waarbij de larve transformeert naar het tweede ‘instar’ stadium, waarbij de telson gevormd wordt (Botton, 2010).

3.1.3 Jonge degenkrab

De nu jonge degenkrabben (Figuur 9B) verblijven ongeveer 2 jaar in de ondiepe wateren van lagunes en moddervlakten, waarin ze voornamelijk foerageren en groeien (Shuster, 1982b). Gedurende deze periode nemen ze in grootte toe en zullen geleidelijk aan van de ondiepe lagunes naar de diepere wateren trekken (Shuster, 1978), waar ze verder ontwikkelen tot ze volwassen en geslachtsrijp zijn (Shuster, 1982b). De jonge degenkrabben ondergaan daarvoor ongeveer 18 stadia (instars) gedurende een periode van 9 - 12 jaar, waarin ze tussen de 12 en 18 keer vervellen tot ze uitgegroeid zijn (Shuster & Sekiguchi, 2003).

3.1.4 Volwassen degenkrab

Na 9 tot 12 jaar, wanneer de degenkrabben het volwassen stadium hebben bereikt, verblijven deze voornamelijk buiten de getijdenzone op een diepte van 6 tot 20 meter (Walls et al., 2002). Volwassen degenkrabben zijn bodemdieren (Figuur 9C) en zullen afwisselend over de bodem kruipen of zich begraven in het sediment (Rudloe, 1980). Daarnaast kunnen ze zich ook verplaatsen of obstakels vermijden door te zwemmen. Dit doen ze ondersteboven, waarbij ze zich verplaatsen met de poten en het ritmisch bewegen van de kieuwlamellen (Shuster, 1982b). Zowel jonge als volwassen degenkrabben zijn actief gedurende de dag, maar waar jonge degenkrabben zich ’s nachts begraven kunnen volwassen degenkrabben nog wel actief zijn. Degenkrabben migreren seizoensgewijs terug naar het strand om te paren (4. Voortplanting).



Figuur 9. *L. polyphemus* larven die net uit het ei gekomen zijn (A). Jonge degenkrabben (B) lijken morfologisch gezien identiek aan volwassen degenkrabben. Volwassen degenkrab (C). Foto (A): Doug Wechsler, Nature Picture Library. Foto (B): Jackie Sones, 2012. Foto (C): CapeCod, 2016.

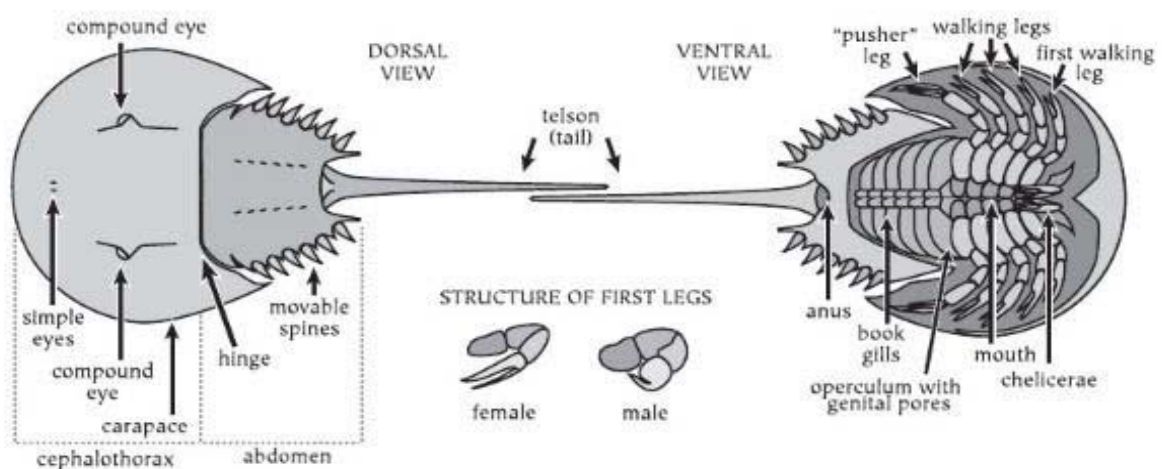
Exoskelet

Het harde exoskelet van *L. polyphemus* is voornamelijk gemaakt van chitine, een polysacharide (Ruppert & Barnes, 1994) en bestaat uit drie segmenten (Figuur 10) (Smith & Berkson, 2005): de prosoma (cephalothorax), de opisthosoma (abdomen) en de telson (tail).

De prosoma omvat de vitale organen (ERDG, 1995), waaronder het darmkanaal, het zenuwstelsel met een bolvormig brein, het hart en grote bloedvaten, klieren voor de uitscheiding -aan de basis van de looppoten-, bindweefsel en kraakbeen platen die verbonden zijn met de poten. Aan de buitenkant van het schild bevinden zich o.a. twee facetogen en enkele lichtgevoelige receptoren (Smith & Berkson, 2005). Over de rug van het schild loopt een richel met een zacht membraan dat dienst doet als scharnier, die de prosoma met de opisthosoma verbindt. Aan de onderzijde van de prosoma bevinden zich zes paar poten (ERDG, 1995). Het eerste paar, de cheliceren, zijn vrij klein en worden gebruikt om voedsel naar de mondholte te bewegen. De volgende vier paar zijn looppoten, de pedipalpen, waarvan de eerste twee paar bij mannetjes zijn aangepast (3.4 Onderscheiden van sekse). Het 6^e en daarmee laatste paar wordt ook wel 'pusher legs' genoemd, die voornamelijk gebruikt worden voor het graven en het verversen van water rond de kieuwen (Ruppert & Barnes, 1994). Waar aan de andere looppoten scharen zitten, heeft het laatste paar propellervormige uitsteeksels die helpen bij het wegvegen van modder en zand (Ruppert & Barnes, 1994).

Aan de opisthosoma zitten onafhankelijk bewegelijke stekels die o.a. voor het mannetje als houvast dienen tijdens het paren (Cohen & Brockman, 1983; Brockman & Penn, 1992; Walls et al., 2002). De opisthosoma omvat bovendien de spieren en organen die betrokken zijn bij de ademhaling via de kieuwen (ERDG, 1995). Onder aan de opisthosoma bevinden zich de kieuwplaten (ERDG, 1995). Dit zijn 6 paar platen, bestaande uit een membraan dat zuurstof kan doorlaten, vergelijkbaar met dat van vissen. Het eerste paar heet het operculum en dient als bescherming van de vijf overige paar kieuwplaten daaronder (Ruppert & Barnes, 1994; Smith & Berkson, 2005). Daarnaast zitten er in het operculum ook de genitale openingen waar eitjes en zaadcellen uitgescheiden worden (ERDG, 1995).

De telson dient voornamelijk voor stabiliteit en *L. polyphemus* gebruikt deze staart om zich weer om te keren wanneer het dier ondersteboven komt te liggen (Ruppert & Barnes, 1994; Smith & Berkson, 2005). Dit is namelijk een uiterst kwetsbare positie, omdat de onderkant niet sterk bepantserd is.



Figuur 10. Schematische weergave van de anatomie van *L. polyphemus*. Enkele verduidelijkende termen: compound eyes = facetogen; simple/median eyes = lichtgevoelige receptoren; book gills = kieuwplaten. Illustratie door: FWC, Florida Fish and Wildlife Conservation Commission

Zicht

Degenkrabben beschikken over twee speciale facetogen die bij geen enkele andere soort binnen de chelicerata voorkomt (ERDG, 1995). Deze boonvormige ogen bevinden zich vlak onder de richels die aan beide zieden van de prosoma lopen. Elk van deze facetogen bevat tot 1.000 lichtreceptoren en wordt voornamelijk gebruikt bij het vinden van partners tijdens het paren (ERDG, 1995). Daarnaast bevinden zich op het schild nog vijf extra ogen, waarvan twee ‘median eyes’, een ‘endoparietal eye’ en twee ‘rudimentary lateral eyes’ (Figuur 11A). De ‘median eyes’ hebben fotoreceptoren die zichtbaar licht waarnemen, de overige zijn gevoelig voor ultraviolet straling (ERDG, 1995). Boven op de staart zitten nog enkele lichtsensoren (Shuster, 1982) die het brein helpen het dag-nachtritme aan te houden. Aan de onderzijde van de prosoma zitten nog twee ‘ventral eyes’ die *L. polyphemus* een functie hebben bij de oriëntatie tijdens het zwemmen (ERDG, 1995).

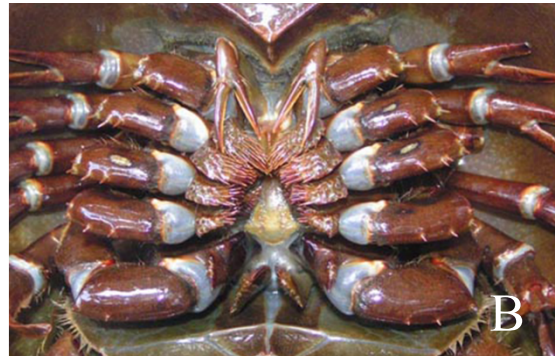
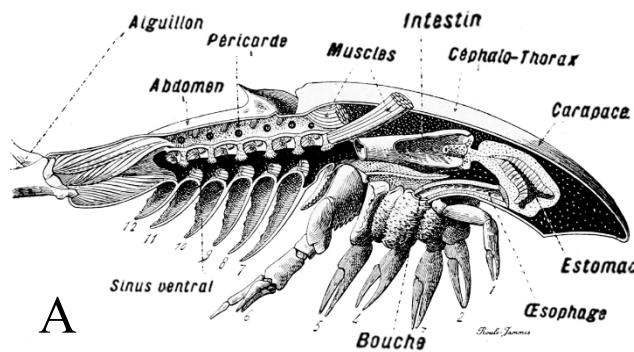


Figuur 11. Overzicht van de verschillende visuele zintuigen van *L. polyphemus* (A) en een vergrote weergave van het facetoog ‘compound eye’ (B). Illustratie (A): ERDG 1995. Foto (B): Milan Korinek

Verteringsstelsel

Degenkrabben zijn de enige soorten binnen de Chelicerata, onderstam van de geleedpotigen, die een verteringsstelsel hebben dat aangepast is aan het verteren van vast voedsel (ERDG, 1995). Wanneer voedsel is gedetecteerd, wordt het door de klauwen aan de uiteinden van de poten naar de ‘gnathobases’ (Figuur 12B) verplaatst (Ruppert & Barnes, 1994). Dit zijn primitieve kaken die zich rond de mondholte bevinden, bekleedt met stekels die het voedsel in stukken breken. De mond bevindt zich tussen de poten aan de onderzijde van het dier (Ruppert & Barnes, 1994).

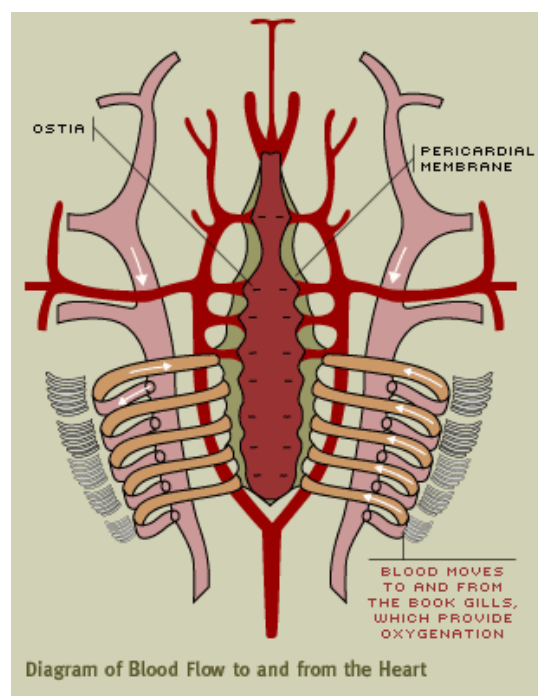
Vanaf de mondholte gaat het voedsel via een slokdarm naar de proventriculus (Figuur 12A), die bestaat uit een krop en een spiermaag (ERDG, 1995). De krop is bedoeld voor het opslaan van ingenomen voedsel en kan aanzienlijk in omvang toenemen. Vervolgens wordt het voedsel naar de spiermaag getransporteerd (Smith & Berkson, 2005), waar het door de dikke gespierde wanden fijn gemalen wordt en onverteerbare delen zoals botten en kalkskelet worden uitgebraakt (ERDG, 1995). Vanaf daar gaat het fijngemalen voedsel naar de middendarm en door de dikke darm om uiteindelijk als onverteerbare resten bij de anus –aan het begin van de telson- terecht te komen (ERDG, 1995).



Figuur 12. Doorsnede in het mediane vlak van *L. polyphemus* (A) en de mondopening met de ‘gnathobases’ (B), primitieve kaken. Illustratie (A): Roule Jammes. Foto (B): David Hodgson.

Bloedsomloop

L. polyphemus heeft een langwerpige, buisvormige hart waarvandaan een goed ontwikkeld bloedvatstelsel (Figuur 13) via weefselholtes uitloopt in een open bloedsomloop (Smith & Berkson, 2005). Bloed wordt via drie paar aorta, een paar slagaders dat direct in verbinding staat met de hersenen en een frontale slagader naar het weefsel vervoerd (Shuster, 1982). Zuurstofarm bloed uit alle weefsels wordt verzameld in twee grote weefselholten, de ‘longitudinal sinuses’ (Ruppert & Barnes, 1994), die het bloed richting de kieuwen transporteren. Door de beweging van de kieuwen ontstaat een continu toevoer van zuurstofrijk water en een pompbeweging die het bloed door de kieuwen doet stromen (Ruppert & Barnes, 1994). Vanaf daar gaat het bloed door het ‘pericardial membrane’ waarna het via 8 paar spleetvormige openingen –elk met twee kleppen– het hart in wordt gepompt (Ruppert & Barnes, 1994). De gemiddelde hartslag van *L. polyphemus* is 32 slagen per minuut (ERDG, 1995).



Figuur 13. Schematische weergave van de bloedsomloop rondom het hart van *L. polyphemus*. Illustratie: ERDG, 1995

Zenuwstelsel

L. polyphemus heeft een primitief zenuwstelsel met centraal gelegen ‘hersenen’ die verbonden zijn met een ventrale zenuwstreng (Ruppert & Barnes, 1994). Deze zenuwstreng heeft vijf kleinere ganglia die uitlopen in een paar optische zenuwen die direct verbonden zijn met de facetogen, 8 paar zenuwen die betrokken zijn bij de bloedsomloop en enkele zenuwen die zijdelings aftakken naar de opisthosoma (Ruppert & Barnes, 1994). Daarnaast beschikt *L. polyphemus* over verscheidene smaakreceptoren op zowel de prosoma als op de poten waar ze het meest ontwikkeld zijn (ERDG, 1995). Over het gehele oppervlakte van het lichaam heeft de degenkrab zogenaamde ‘cuticular peg sensillum’, kleine mechanoreceptoren die de degenkrab laten ‘voelen’. Zo’n 60.000 op de prosoma en ruim 40.000 op de opisthosoma en de poten, voornamelijk aan de randen en uitsteeksels van het lichaam. ‘Pit sensilla’ zijn de chemoreceptoren, externe poriën waar dendrieten in contact komen met het water (ERDG, 1995).

3.2 Groei & vervelling

Om te kunnen groeien moet *L. polyphemus* regelmatig vervellen (Figuur 14). Dit proces van groeien en vervellen verloopt stapsgewijs en herhaalt zich ongeveer 18 keer totdat de degenkrab volwassen is (Shuster, 1950). De mate van groei neemt geleidelijk af per stadium gedurende de levenscyclus van de degenkrab (ERDG, 1995), waardoor de jonge degenkrabben in hun eerste twee jaar meerdere malen moeten vervellen en een spanwijdte bereiken van ± 1.5 cm (ERDG, 1995). Na 3 tot 4 jaar vervelt de degenkrab slechts eenmaal per jaar, voornamelijk in de periode tussen juli en augustus (ERDG, 1995), wanneer de temperatuur van het water stijgt. Jonge degenkrabben vervellen bovendien eerder in het seizoen dan de ouderen (ERDG, 1995), die instinctief op zoek gaan naar plekken langs de rand van de lagunes om zich daar volledig in te graven voordat het vervellen kan beginnen. Dit biedt bescherming tegen predatoren en het vochtige sediment voorziet de degenkrab van zuurstof.

Voordat vervelling plaatsvindt, wordt er eerst een nieuwe huid gevormd. Deze zachte huid vormt plooien en is vanaf de buitenkant te herkennen aan een diep olijfgroene kleur en geel getinte randen (ERDG, 1995). Het proces van vervellen wordt gereguleerd door het hormoon 20-hydroxyecdysone (Jegla, 1982). Wanneer de nieuwe huid zich heeft gevormd begint de degenkrab water op te nemen, waardoor deze in omvang toeneemt, de huid kan ontplooiën en het oude schild slijt open (ERDG, 1995). De opening vormt zich langs de rand aan de onderkant van het prosoma, tussen de rug en buikdelen van het harde schild, waar de degenkrab vervolgens uit kruipt. Dit proces verloopt aanvankelijk zeer langzaam, wat de degenkrab met het nieuwe, nog zachte schild zeer kwetsbaar maakt. De tijd die hier voor nodig is hangt af van de omvang van het dier (Shuster, 1982a). Jonge degenkrabben in de 'first-tailed stage' kunnen binnen een uur klaar zijn, maar de vervelling van dieren met een spanwijdte van 10 cm kan ruimt 24 uur in beslag nemen. De nieuwe zachte huid heeft ± 24 uur nodig om hard te worden en per vervelling kan de omvang van het dier zo'n 25% tot 30% toenemen (ERDG, 1995). Vrouwtjes kunnen een lengte van 60 cm - en een gewicht van rond de 5 kg bereiken (MarineBio, 2017).



Figuur 14. Het vervellingsproces van *L. polyphemus*. Foto (A): National Oceanic and Atmospheric Administration, Department of Commerce. Foto (B): Agriculture, Fisheries and Conservation Department, 2013. Foto (C): Joe Reynolds, 2013

3.3 Leeftijd

L. polyphemus kan een leeftijd bereiken van maximaal 20 jaar (Thompson et al., 2011). Het schatten van de leeftijd van een degenkrab kan alleen indirect, door middel van tagging (zie hieronder), het bepalen van de leeftijd van symbiotische organismen op het schild (Botton & Ropes, 1988) of door de staat van het schild te bekijken. Omdat volwassen degenkrabben niet meer vervellen is de staat van het schild een goede indicatie van de leeftijd van het dier. Beschadigingen en markeringen op het schild als gevolg van o.a. predatie, parasitisme en concurrentie bij de voortplanting (Walls, 2001) zullen met de leeftijd van het dier steeds talrijker worden. Aan de hand hiervan worden over het algemeen drie categorieën gebruikt om de leeftijd van de degenkrabben vast te stellen:

Jonge volwassen degenkrabben: Het schild is glanzend met weinig krassen en weinig epibionten. Maagdelijke vrouwen kunnen herkend worden aan het onbeschadigde en onbekraste exoskelet.

Middeljarige volwassen degenkrabben: De glans van het schild is verdwenen, waaronder een zwarte laag tevoorschijn komt. Zowel mannetjes als vrouwtjes vertonen duidelijke krassen en epibionten op het schild. Vrouwtjes hebben grote zwarte plekken op het midden en aan de achterzijde van de abdomen ten gevolge van schuring met mannetjes tijdens de paring. Deukjes zijn te herkennen aan de randen van het schild waar de mannetjes met de scharen het schild hebben vastgehouden.

Oude volwassen degenkrabben: Het schild is zo goed als volledig zwart door het afschuren van de glimmende laag. In extreme gevallen kan ook deze zwarte laag al verweerd zijn, waardoor een bruinachtige laag met een eventueel groene waas tevoorschijn komt. Het schild is dun en is makkelijk in te deuken. Er zijn vrijwel altijd epibionten aanwezig en deze hebben vaak grote afmetingen gekregen.

Source: (Shuster, personal communication, 1999)

Het taggen van degenkrabben is mogelijk (Smith & Berkson, 2005) door kleine, genummerde plastic labels met dunne tyraps aan de prosoma van het dier te bevestigen (Figuur 15). Hiervoor worden twee kleine gaatjes in de rand aan de achterste zijde van de prosoma geboord (Figuur 15). Het is aangeraden hier een zo klein mogelijk boortje voor te gebruiken om weglekkend hemolymfe en kans op schade aan onderliggend weefsel en de onderliggende poten te minimaliseren. Het is onverstandig om jonge degenkrabben te taggen i.v.m. de nog sterke groei en het vervellingsproces.



Figuur 15. Tagging d.m.v. labelen

3.4 Onderscheiden van sekse

Het is niet mogelijk om het geslacht van *L. polyphemus* vast te stellen voordat deze volwassen en geslachtsrijp zijn (Smith & Berkson, 2005). Er is wel sprake van een duidelijk seksueel dimorfisme wat betreft de grootte. Vrouwtjes zijn gemiddeld anderhalf tot drie keer zo groot als de mannetjes (Shuster, 1982). Bij het mannetje is het eerste paar looppoten aangepast voor de paring, waarbij zich een haak in plaats van een schaar heeft gevormd (Figuur 10). Deze haak wordt gebruikt om zich vast te klampen aan de rand van het schild van de vrouwtjes, wanneer deze het strand op komen om zich voort te planten (Walls & Berkson, 2000; Brockman & Penn, 1992).

4. Voortplanting

4.1 Paargedrag

Het paringsseizoen van *L. polyphemus* varieert afhankelijk per breedtegraad, maar bereikt een hoogtepunt in de periode van mei tot en met juni (ERDG, 1995). Degenkrabben migreren dan van de diepere kustwateren van de Atlantische oceaan naar baaien en stranden die redelijk beschermd zijn van de golfslag (ERDG, 1995). Voordat de degenkrabben tijdens het hoge (spring) tij aan land komen, voornamelijk bij nieuwe en volle maan, verblijven de mannetjes in ondiep (tot 2 meter diep) water (Barlow et al., 1982) in afwachting van de vrouwtjes.

Voor het lokaliseren van vrouwtjes maken mannelijke degenkrabben gebruik van een combinatie aan sensoren (Brockmann, 2010). *L. polyphemus* beschikt over twee facetogen waarvan de gevoeligheid in het donker met een factor 106 kan toenemen (Barlow et al., 1982; Herzog et al., 1996), wat hen in staat stelt de vrouwtjes visueel te lokaliseren, zelfs 's nachts (Powers et al., 1991). Daarnaast zitten er mechanoreceptoren op de looppoten (Wyse, 1971), de telson (Eldredge, 1970), de stekels aan de opisthosoma (Eagles, 1973) en verspreid over de gehele bovenkant van de prosoma (Thompson & Page, 1975). Deze receptoren reageren op druk die erop uitgeoefend wordt en zijn mogelijk betrokken bij de paring. Deze aanname is gebaseerd op observaties van mannelijke degenkrabben die eerst het vrouwtje of nestend paar aftasten voordat deze zich vastklampen om te paren (Barlow & Powers, 2003). Wanneer een gepaard mannetje door een 'satellite' wordt aangeraakt, reageert deze door zich verder op het vrouwtje te bewegen en de competierende 'satellite' met fysiek contact weg te drijven (Brockmann, 1990; Brockmann, 2003). Verreweg de belangrijkste sensorische input voor de lokalisatie van vrouwtjes is afkomstig van de chemoreceptoren (ERDG, 1995). Vrouwtjes laten een spoor van chemische 'lokstoffen' achter, feromonen genoemd (ERDG, 1995), die waargenomen worden door de chemoreceptoren op de flabella en het reukorgaan (rond de facetogen) van mannetjes (Waterman & Travis, 1953; Patten, 1894). Ook kunnen de vrouwtjes m.b.v. waterstofsulfide-receptoren de stranden vinden die geschikt zijn voor het leggen van eitjes (Botton et al., 1988).

De vrouwtjes moeten zich op het strand manoeuvreren om de eitjes te leggen en zich zo voort te planten. Wanneer het mannetje een vrouwtje heeft gevonden, beweegt deze zich op het opisthosoma van het vrouwtje en klampt zich aan de stekels van haar opisthosoma vast (Figuur 16) met zijn gemodificeerde voorste paar poten (Cohen & Brockman, 1983; Brockman & Penn, 1992; Walls et al., 2002). Dergelijke broedparen blijven geregeld nog enkele weken bij elkaar –het mannetje lift mee op het schild van het vrouwtje-, waarbij ze geregeld terugkomen naar het strand om eitjes te leggen en deze te bevruchten (Brockman & Penn, 1992). Gedurende het hoogtepunt van het paarseizoen komt het vaak voor dat deze broedparen worden omgeven door andere mannetjes, de zogenaamde 'satellites' die proberen te competieren met het vastgeklampte mannetje (Brockman & Penn, 1992).

Wanneer het broedpaar een geschikte plek op het strand heeft bereikt (4.3 Nest-site selection), graaft het vrouwtje zich in het zand (Cohen & Brockman, 1983) en legt hier vervolgens \pm 3650 eitjes in (Shuster, 1950) op een diepte van 5 tot 30 cm (Brockman, 1990), die direct door het mannetje d.m.v. vrij zwemmend sperma worden bevrucht (Jamieson, 1987). Na ongeveer 3 – 15 minuten op dezelfde plek zal het vrouwtje zo'n 10 tot 20 cm verder kruipen en zich daar weer ingraven om een nieuwe klomp met eitjes te leggen (Brockmann, 1990). Dit proces herhaalt zich 5 tot 7 maal, en deze achtereenvolgend gelegde eierklompen samen worden een nest genoemd. Het broedpaar keert dan naar zee om later terug te komen, hetzij met dezelfde partner, hetzij met een ander (Shuster, 1979; Botton & Loveland, 1992; Brockmann & Penn, 1992). Vrouwtjes kunnen over het gehele broedseizoen tot wel 88,000 eitjes leggen (Shuster, 1982).

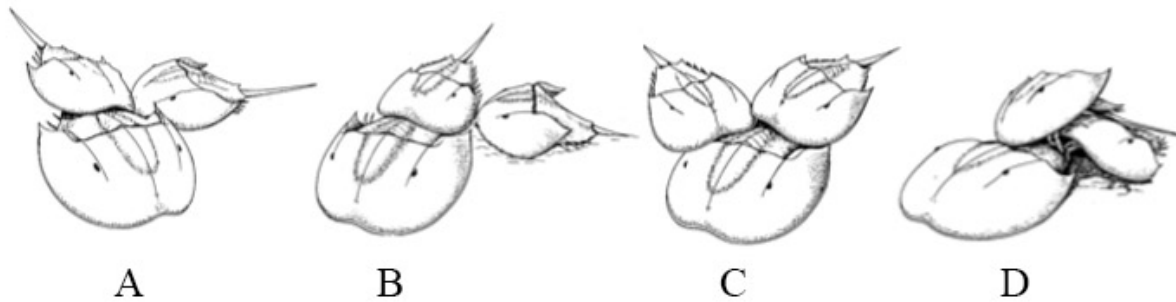


Figuur 16. Mannetje vastgeklampt aan de opisthosoma van het vrouwtje. Het is duidelijk te zien dat het mannetje kleiner is dan het vrouwtje. Foto: Jackquiline Bedell.

4.2 Concurrentie

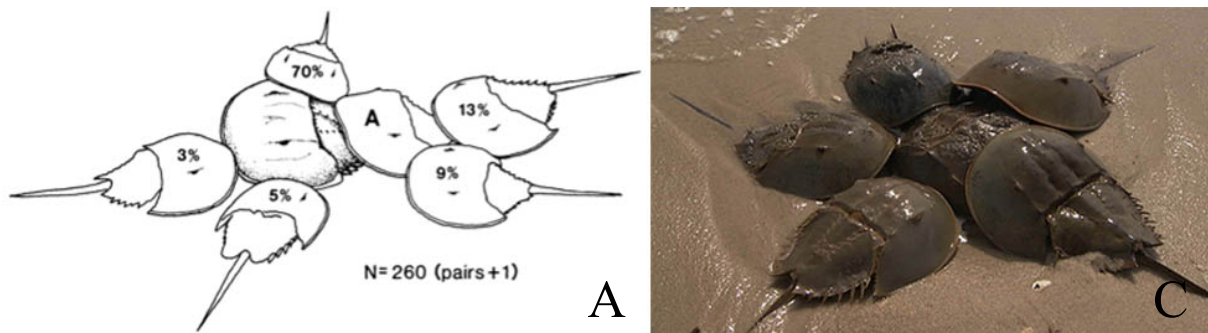
Op het strand tijdens het paarseizoen zijn mannelijke degenkrabben over het algemeen in grotere aantallen aanwezig dan de vrouwtjes. Dit komt met name doordat mannetjes gedurende de maanden die het paarseizoen vaker naar het strand komen om te paren (Rudloe, 1980; Cohen & Brockman, 1983; Brockman & Penn, 1992) dan de vrouwtjes, die slechts een beperkt aantal eitjes kunnen leggen. Ook de ongepaarde 'satellite' mannetjes komen het strand op en groeperen zich om de nestende broedparen om te competieren met het vastgeklampte mannetje (Brockmann, 1994). Voor de 'satellites' is dit vrij riskant, omdat ongepaarde mannetjes een grotere kans hebben om door de golfslag ondersteboven geworpen te worden (Brockmann, 1994), wat hen zeer kwetsbaar maakt voor predatoren. Gepaarde en ongepaarde mannetjes verschillen niet in grootte (Brockmann, 1994), maar de ongepaarde 'satellite' mannetjes zijn vaak donkerder van kleur, vertonen meer beschadigingen en parasieten op hun prosoma (Brockmann & Penn, 1992) en zijn kortom in slechtere conditie dan de gepaarde mannetjes (Brockmann, 1994).

In enkele gevallen zullen ongepaarde mannetjes competieren met het gepaarde mannetje voor de positie op het vrouwtje (Figuur 17) (Brockmann, 1990). Hiertoe moet de satellite zich onder het mannetje graven om zich vervolgens tussen het opisthosoma van het vrouwtje en het prosoma van het mannetje te manoeuvreren (Brockmann, 1990). Op deze manier tilt de 'satellite' het gepaarde mannetje op en houdt deze zo'n 3 tot 8 minuten in deze positie, totdat het gepaarde mannetje loslaat van het vrouwtje. Uit observaties van Brockmann (1990) was een dergelijke actie slechts in 1 op de 7 pogingen succesvol. Bij dergelijke competitie wordt er geselecteerd op de mannetjes die het beste zijn in het lokaliseren en het bezet houden van vrouwtjes (Brockmann, 1990). Omdat dit met name de sterke jonge mannetjes zijn, zullen de oudere, ongepaarde mannetjes weinig tot geen kans maken in competitie om het vrouwtje (Brockmann, 1990; Botton & Loveland, 1992).



Figuur 17. Het gedrag van competitie tussen gepaarde en ongepaarde mannetjes. Het ongepaarde mannetje duwt tegen het gepaarde mannetje (A). Het ongepaarde mannetje positioneert zichzelf tussen het gepaarde mannetje en de opisthosoma van het vrouwtje (B) en zet zich vervolgens af tegen het zand (C). In enkele gevallen slaagt het ongepaarde mannetje erin om zich volledig tussen het gepaarde mannetje en het vrouwtje te positioneren (D). Illustratie: Brockmann, 1994

Daartoe gaan de meeste ‘sattelites’ over op een tweede tactiek, de zogenaamde ‘sperm competition’ (Brockmann, 1994). De ongepaarde mannetjes zullen zich om het broedpaar manoeuvreren (Figuur 18) en dan, wanneer het vrouwtje haar eitjes gelegd heeft, hun vrij zwemmend sperma loslaten om op die manier alsnog een deel van de eitjes te kunnen bevruchten (Brockmann, 1994). De ‘sattelites’ zullen met elkaarCompeteren voor de beste posities rondom het broedpaar, waardoor het reproductief succes van satellite mannetjes kan variëren tussen de 0 en 88% (Brockmann, 1994). Uit DNA-analyses (Brockmann, 1994) bleek dat gepaarde mannetjes ruim 51% van de eitjes bevruchtten, satellites bevruchtten gemiddeld 40%, 5% kon niet met zekerheid bevestigd worden en 4% was noch door het gepaarde, noch door omringende satellites bevrucht. Dat laatste kan verklaard worden met het feit dat tijdens het paarseizoen grote hoeveelheden sperma in het zand en het water terecht komen. In het laboratorium bleek het sperma minstens 96 uur in zeewater levensvatbaar te blijven (Brown & Knouse, 1973), dus is het aannemelijk dat een deel van de eitjes bevrucht kan worden door mannetjes die zich niet in de buurt van een broedend paar bevinden.



Figuur 18. Het gepaarde mannetje en vrouwtje worden vaak omringd door meerdere satellites. Deze zullen met elkaarCompeteren om de meest gunstige posities rond het paar voor het loslaten van sperma. In de linkerfiguur is de frequentie van de ongepaarde mannetjes op een bepaalde positie rond het paar weergegeven (populatie grootte van het onderzoek = 260 paren). Illustratie links: Brockmann, 1990. Foto rechts: Island Ecology UNCW, 2015.

4.3 Nest-site selection

Na het leggen van de eitjes en de bevruchting ervan, spelen volwassen degenkrabben geen rol in de verdere ontwikkeling van de embryo's. De overlevingskansen van de eitjes zijn daarmee volledig afhankelijk van de omgevingsfactoren. Voor de volwassen vrouwtjes is het daarom van groot belang om een geschikte plek voor het nest te vinden, zogenaamde 'nest-site selection' (Brockmann, 1994). De nesten van *L. polyphemus* bevinden zich voornamelijk op een diepte van 16 cm in de hoogtij en springtij zones (Vasquez, 2015), al kan dit variëren per populatie (Vasquez, 2015). Het strand kan onderverdeeld worden in 3 zones, de laag-, gemiddeld- en hoog gelegen zone. Vrouwtjes nesten in de zone die de overlevingskansen en ontwikkeling van de eitjes optimaliseren. Enkele belangrijke factoren die een rol spelen in de 'nest-site selection' m.b.t. de overlevingskansen van de eitjes, zijn de temperatuur, zuurstofgehalte, vochtigheid, waterstofsulfide en de getijdencyclus (Vasquez, 2015; Brockmann & Penn, 1994). Elk van deze factoren verschilt per zone, waardoor 'trade-offs' een grote rol spelen in de 'nest-site selection' van vrouwelijke degenkrabben (Vasquez, 2015).

4.3.1 Temperatuur

Degenkrabben zijn koudbloedige organismen, waardoor de ontwikkelingsnelheid van de embryo's voor een aanzienlijk deel bepaald wordt door de temperatuur. Optimale ontwikkeling vindt plaats bij een temperatuur van 25 – 30 °C (Jegla & Costlow, 1982; Laughlin, 1983). Temperaturen onder de 25 °C en boven de 35 °C hebben negatieve gevolgen voor de ontwikkeling en de overlevingskansen van de eitjes (Brown & Clapper, 1981; Sekiguchi et al., 1982), bij temperaturen onder de 15 °C stopt de ontwikkeling volledig (Jegla & Costlow, 1982). Uit studies (Vasquez, 2015) naar de rol van sedimenttemperatuur in nest-site selection bleek dat de gemiddelde temperatuur van het sediment tussen de verschillende zones en dieptes van de nesten nauwelijks verschilde (23-24 °C). Er werden geen nesten aangetroffen in zones en diepten met een temperatuur onder de 20 °C, dus door nest-site selection werd negatieve impact van lage temperaturen op de ontwikkeling van de eitjes geminimaliseerd. De gevolgen van uitdroging (Brockmann & Penn, 1994) van de eitjes t.g.v. hoge temperaturen was echter veel groter, met name in de midden- en hooggelegen zones, waar temperaturen zo nu en dan boven de 35 °C stegen. In laboratorium omstandigheden (Ehlinger & Tankersley, 2004) bleek dat de embryo's onder constante blootstelling aan 35 °C wel konden ontwikkelen tot het laatste stadium, maar niet in staat waren uit het ei te komen. Bij continue blootstelling aan 40 °C vond er in het geheel geen embryonale ontwikkeling plaats. Ruim 80% van de nesten worden aangetroffen in de hooggelegen zones, op een diepte van meer dan 5 cm (Vasquez, 2015). Wat betreft de temperatuur kan hieruit afgeleid worden dat de vrouwtjes een afweging maken tussen de gevaren van zeldzame, maar mogelijk letaal hoge temperaturen en de voordelen die de hogere temperaturen in deze zone hebben op de ontwikkelingsnelheid van de embryo's (Vasquez, 2015).

4.3.2 Zuurstofgehalte

De groeiend embryo's van *L. polyphemus* zijn afhankelijk van opgeloste zuurstof in de bodem. Normaal, met zuurstof verzadigd zeewater bevat ongeveer 21% opgeloste O₂ (normoxia) (Vasquez, 2015). Embryo's die zich in het laboratorium (Palumbi & Johnson, 1982) ontwikkelden onder anoxische omstandigheden (minder dan 2% O₂) werden direct inactief, maar embryonale ontwikkeling was nog mogelijk als de eitjes weer onder normoxische omstandigheden werden gebracht binnen een periode van 9 dagen. Na 9 dagen onder anoxische omstandigheden liep de mortaliteit van de embryo's echter op tot 50% (Palumbi & Johnson, 1982). Dat de embryo's niet in staat zijn te overleven in zuurstofarme omstandigheden geeft aan dat nestende vrouwtjes rekening moeten houden met het zuurstofgehalte in de grond en anoxisch sediment moeten vermijden (Brockmann & Penn, 1994).

Volwassen degenkrabben kunnen het zuurstofgehalte in de omgeving bepalen met speciale zuurstofgevoelige receptoren op de kieuwen (Crabtree & Page, 1974), op de prosoma (Thompson & Page, 1975) en op de looppoten (Vasquez, 2015). Tijdens het nesten maken deze receptoren contact met het sedimentoppervlakte, wat de degenkrabben in staat stelt om anoxisch sediment te vermijden (Brockmann & Penn, 1994).

Enkele factoren die de hoeveelheid zuurstof in de bodem beïnvloeden zijn de afstand tot de zee en de korrelgrootte van het sediment. De korrelgrootte van het sediment beïnvloedt de afwatering van het strand (Gordon, 1960; Brafield, 1964; Eagle, 1983). Fijn tot middelfijn zand houdt water goed vast en bevindt zich met name in de laaggelegen zone (Brockmann & Penn, 1994). Omdat het water de ruimte tussen de zandkorrels opvult, is er nauwelijks zuurstof beschikbaar. Grote zandkorrels zorgen juist voor een goede afwatering en een hoog zuurstofgehalte in de bodem (Brockmann & Penn, 1994). Uit onderzoek (Vasquez, 2015) blijkt dat de hoeveelheid zuurstof in de bodem varieert tussen de verschillende zones, maar niet tussen de verschillende dieptes (Vasquez, 2015). De laagste waarde van het zuurstofgehalte (5.9%) werd waargenomen in de laaggelegen zone op een diepte van 18cm, terwijl de gemiddelde waarden van het zuurstofgehalte in de midden- en hooggelegen zones rond de 20% zaten (Vasquez, 2015). Sediment in de laaggelegen zone bevat onvoldoende zuurstof voor de ontwikkeling van *L. polyphemus* embryo's en door de laaggelegen zone te vermijden, limiteert het vrouwtje dat het nest aan zuurstofgebrek lijdt (Brockmann & Penn, 1994).

4.3.3 Sulfide

Botton (1988) suggereerde dat nestende degenkrabben sediment met een hoog waterstofsulfidegehalte waarnemen en deze vermijden. Dit werd bevestigd door het onderzoek van (Vasquez, 2015) naar nest-site selection van *L. polyphemus*, waar bleek dat er nauwelijks vrouwtjes waren die hun eitjes in sediment met een hoog waterstofsulfide gehalte legden (tot 276.4 µmol/L H₂S) (Vasquez, 2015). Sulfide vermindert de overlevingskansen en ontwikkeling van de embryo's en resulteert in zwarte, kruimelige eitjes (Brockmann & Penn, 1994).

In het laboratorium (Vasquez, 2015) bleek dat blootstelling van de eitjes en larven aan respectievelijk 100 en 300 µmol/L H₂S voor 72 uur, nauwelijks effect had op de ontwikkeling van de embryo's. De embryo's en larven van *L. polyphemus* zijn in het algemeen zeer tolerant voor een grote verscheidenheid aan verontreinigingen in de bodem (zwarte metalen, olie, organische stoffen) (Botton & Itow, 2009), ervan uitgaande dat dit niet onder zeer zuurstofarme omstandigheden (anoxisch) is (Vasquez, 2015). Op het strand werden echter

extreme waterstofsulfideconcentraties waargenomen, met name in de laaggelegen zone, waar concentraties opliepen tot 825 $\mu\text{mol/L}$ H_2S (Jørgensen, 1977). Dergelijk hoge concentraties hebben in tegenstelling tot de resultaten uit het laboratorium, wel een negatieve invloed op de ontwikkeling van embryo's. Door het nesten in de hooggelegen zone en op gemiddelde diepte, minimaliseren de vrouwtjes blootstelling aan sulfide en alle negatieve effecten die sulfide heeft op de overleving en ontwikkeling van de eitjes (Vasquez, 2015).

5. Voeding & foerageergedrag

5.1 Foerageergedrag

Gedurende de verschillende levensstadia van larve tot volwassen degenkrab treden er aanzienlijke veranderingen op in het dieet en foerageergedrag van *L. polyphemus* (Tzafrir-Prag, 2010). Degenkrabben staan echter bekend om hun generalistische foerageergedrag (Botton et al., 2003), waarbij ze zich voeden met een grote verscheidenheid aan lokaal beschikbare prooien. De meest voorkomende prooien zijn tweekleppigen als de *Mulinia lateralis* en *Mya arenaria*, beiden met een dunne schelpwand (Botton, 1984). Hoewel ook de jonge degenkrabben zich voeden met een grote verscheidenheid aan prooien, zijn ze door het ontbreken van een volledig ontwikkeld maag-darmkanaal (Tzafrir-Prag, 2010) en hun eigen lichaamsgrootte gelimiteerd in het consumeren van bepaalde prooien, zoals schelpdieren (Tzafrir-Prag, 2010). Degenkrabben zullen gedurende hun leven steeds hoger in de voedselketen komen te staan (Gaines et al., 2002; Carmichael et al., 2004).

De variatie in de hoeveelheid voedsel die door *L. polyphemus* gedurende een periode van 24 uur wordt geconsumeerd is zeer waarschijnlijk het gevolg van een onderliggend dag-nachtritme (Botton, 1989). Het moment waarop degenkrabben het meest actief zijn varieert per levensfase. Larven zijn nachtdieren (Rudloe, 1979), terwijl de jonge- (3.1 – 6.0 cm diameter van de prosoma) en volwassen degenkrabben voornamelijk actief zijn gedurende de dag (Rudloe, 1981). Ondanks dat er een aanzienlijk verschil is in de grootte tussen volwassen mannetjes en vrouwtjes (Botton, 1984), is er geen verschil in dieet of voedselvoorkeur. Vrouwtjes kunnen echter wel dieper graven dan mannetjes (Shuster, Personal Communication), wat hen in staat stelt om bij prooien te komen die voor mannetjes minder bereikbaar zijn. In experimentele omstandigheden (Botton, 1984) reageerden mannetjes en vrouwtjes qua voorkeur hetzelfde op voedselaanbod, de enige verschillen zaten in de hoeveelheid voedsel, waarbij vrouwtjes meer consumeerden dan de mannetjes.

5.2 Type voedsel

5.2.1 Natuurlijk dieet

Jonge degenkrabben (instar stadia 2 tot 7) zijn qua voedselaanbod voornamelijk afhankelijk van klein organisch materiaal dat zich in de bodem of zwevend in het water bevindt (Gaines et al., 2002; Carmichael et al., 2004). Dit organisch materiaal (POM) oftewel Particulate Organic Matter, bestaat onder andere uit: detritus, bacteriën, zeegras, verscheidene landplanten en een breed scala aan maritieme micro- en macroalgen (Carmichael et al., 2009). Gedurende de ontwikkeling van de jonge degenkrabben (instar stadia 8 - 11), waarbij onder andere het maag-darmkanaal zich heeft gevormd, zullen ook kleine dierlijke organismen als borstelwormen (Polychaeta), vlokreeftjes (Amphipoda) en pissebedden (Isopoda) aan het dieet toegevoegd worden (Botton & Ropes, 1989; Gaines et al., 2002).

Naast dit klein dierlijk voedsel, voeden volwassen degenkrabben zich ook met grotere organismen (Tabel 9) als: tweekleppigen (Bivalvia), geleedpotigen (Arthropoda), ringwormen (Annelida) en slakken (Gastropoda) (Botton, 1984). Met name tweekleppige soorten als de *Gemma gemma* en *Mya arenaria* vormen een belangrijke bron van voedsel tijdens het paarseizoen in Delaware Bay (Botton, 1984), vanwege de grote aantallen waarin ze voorkomen. *L. polyphemus* heeft een voorkeur voor tweekleppigen met een lange schelp, bleek uit onderzoek (Botton, 1984) waarbij *L. polyphemus* grote (>10 mm) *M. lateralis* verkoos boven de kleine (4 tot 10 mm). De rol van schelpdikte werd vastgesteld aan de hand van een proef waarbij *L. polyphemus* de dunwandige soort *M. lateralis* prefereerde over *Marcenaria marcenaria* die een dikkere wand heeft. Deze voorkeur voor schelpen met een dunnere wand is te verklaren met het feit dat een dikke schelp moeilijker te breken en te verteren is. Dit kan de rede zijn dat *G. gemma* wordt vermeden wanneer er soorten met een grotere en dunnere schelp als *M. arenaria* en *M. lateralis* in de buurt zijn. *M. marcenaria* bleek namelijk een substantiële prooi (Botton, 1984), waarbij de rol van degenkrabben als predator op deze soort vergelijkbaar is met die van de rots- en modderkrabben (Landers, 1954; MacKenzie, 1977; Whetstone & Eversole, 1978).

Uit hetzelfde onderzoek (Botton, 1984) bleek ook dat de eitjes en larven van *L. polyphemus* zelf onderdeel uitmaken van het dieet van volwassen degenkrabben. Deze werden in ruim (50%) van de proefdieren aangetroffen. Daarnaast werd ook plantaardig materiaal in bijna 90% van de dieren gevonden, wat duidt op het feit dat deze een belangrijke en mogelijk onmisbare (Elner, Personal Communication) toevoeging zijn in het dieet van *L. polyphemus* (Botton, 1984).

<i>Food item</i>	<i>M.L. Botton (1984)</i>			<i>M. L. Botton and J.W. Ropes (1989)</i>		
	Freq	n	% of total	Freq	N	% of total
<i>Bivalvia</i>	78	744	50.20	75.0	3656	93.2
Ensis	17	17		31.9	418	
Gemma	51	97		1.4	1	
Geukensia	1	1		-	-	
Mulinia	55	521		-	-	
Mya	19	49		-	-	
Mytilus	17	48		-	-	
Spisula	1	1		38.9	262	
Tellina	-	-		26.4	452	
Nucula	-	-		22.2	2445	
<i>Unidentifiable</i>	-	-		-	78	
<i>Gastropoda</i>	32	68	4.59	31.9	112	5.21
Crepidula	1	1		-	-	
Nassarius	-	-		23.7	91	
Ilyanassa	16	22		-	-	
Polinices	-	-		4.2	4	
Odostomia	1	1		1.4	1	
<i>Unidentifiable</i>	-	-		-	16	
<i>Annelida</i>	33	119	8.03	55.6	129	0.33
Nereis	9	22		2.8	2	
Oligochaeta	5	6		-	-	
Polydora	2	41		-	-	
Sabellaria	8	30		-	-	
Setae	12	12		-	-	
Glyceridae	4	4		-	-	
Lumbrineridae	-	-		19.4	53	
<i>Unidentifiable</i>	-	-		-	74	
<i>Arthropoda</i>	54	353	23.82	43.1	117	0.24
Gammaridae	3	3		16.7	80	
Cirrepedia	7	7		15.3	12	
Decapoda	-	-		9.7	7	
Copepoda	15	91		-	-	
Limulus eggs	27	229		-	-	
<i>Unidentifiable</i>	-	-		-	18	
<i>Miscellaneous</i>		116	7.83	-	-	
Turbellaria	14	108		-	-	
Foraminifera	7	7		15.3	52	
Teleostei	1	1		23.6	17	0.10
Echinoidea				30.6	22	0.91
<i>Plant material</i>	82	82	5.53	30.6	22	-

Tabel 8. Overzicht van de meest voorkomende prooien die aangetroffen zijn in het maag-darmkanaal van *L. polyphemus* in twee afzonderlijke studies. M.L. Botton (1984), totaal aantal van 72 proefdieren van de middle Atlantic continental shelf, resultaten verkregen gedurende de herfst van 1984 en lente van 1985. M. L. Botton and J.W. Ropes (1989), totaal aantal van 96 proefdieren uit Delaware Bay, zomer 1978 en 1979. Afzonderlijke resultaten voor mannetjes en vrouwtjes zijn samengevoegd. Freq = frequentie van het voorkomen van degenkrabben met minimaal één herkenbaar exemplaar van een specifieke soort prooi, n = het totaal aantal exemplaren van een bepaalde soort prooi uit alle proefdieren, % of total = het aandeel van n (specifieke prooi) t.o.v. het totaal aantal van alle gevonden prooien.

5.2.2 In culture

In experimentele omstandigheden worden jonge degenkrabben (instar stadia 2 - 12) succesvol gekweekt door ze te voeden met pekelgarnaaltjes (*Artemia nauplii*) en microalgen (Brown & Clapper 1981; Smith & Berkson 2005; Mishra, 2009; Schreibman & Zarnoch 2009).

Maximale groei werd bereikt met een dieet dat bestond uit een samenstelling van *Artemia* (ca. 450 μm) en andere kleine ongewervelden (Brown & Clapper, 1981; Jegla & Costlow, 1982; Hong et al., 2009; Mishra, 2009), wat impliceert dat de grootte van prooi en voedseldeeltjes een belangrijk aspect is bij het samenstellen van een dieet voor degenkrabben in gevangenschap (Carmichael, 2012).

In culture wordt aan het dieet van volwassen degenkrabben vaak makkelijk verkrijgbare vormen van voedsel toegevoegd, waaronder mosselen, inktvis, aardwormen, zee-egel eitjes en raderdiertjes (Smith & Berkson, 2005). In een onderzoek van Carmichael (2009) bleek het aanvullen van het dieet met algen de groei aanzienlijk te verhogen, echter gingen de overlevingskansen van jonge degenkrabben omlaag.

Een dieet dat hoog is aan eiwitten wordt beweerd de groei van degenkrabben te stimuleren (Schreibman & Zarnoch 2009), er zijn echter weinig studies die het relatieve belang van eiwitrijke voeding ten opzichte van plantaardige voeding hebben beschreven (Carmichael et al., 2009; Schreibman & Zarnoch 2009). Het onderzoek van Carmichael (2009) heeft aangetoond dat ook een dieet hoog aan eiwitten resulteerde in een bevorderde groei van jonge degenkrabben, maar een verlaagde overlevingskans. Deze resultaten impliceren dat zowel eiwitrijk (dierlijk) voedsel als plantaardig voedsel van essentieel belang zijn in het dieet van *L. polyphemus*. Een mogelijke verklaring voor de verlaagde overlevingskansen door eiwitrijk voedsel is dat een groot deel van deze eiwitten slecht verteerbaar is (Schreibman & Zarnoch, 2009). Plantaardig voedsel is met name voor jonge degenkrabben in culture van belang, omdat deze zich in natuurlijke omstandigheden ook voornamelijk voeden met klein organisch materiaal, POM, dat niet bepaald rijk is aan eiwitten (Gaines et al., 2002).

Uit het onderzoek van Carmichael (2009) blijkt dat de dagelijkse energiebehoefte van *L. polyphemus* voor het behouden van lichaamsgewicht ongeveer 224 J per gram lichaamsgewicht is. De opslag en omzet efficiëntie van 'Digestable Energy' (K_{DE}) voor groei, is 0.13. De dagelijkse behoefte aan 'Digestable Protein' voor behoud van lichaamsgewicht is 8.7 mg eiwit per gram lichaamsgewicht. De opslag en omzet efficiëntie van DP (K_{DP}) voor groei is 0.11.

In culture worden degenkrabben over het algemeen 0.75% van hun lichaamsgewicht gevoerd, elke 2 – 3 dagen (Nolan & Smith, 2009).

6. Afweer & verdediging

6.1 Bloed & immuumsysteem

6.1.1 Hemocyanine

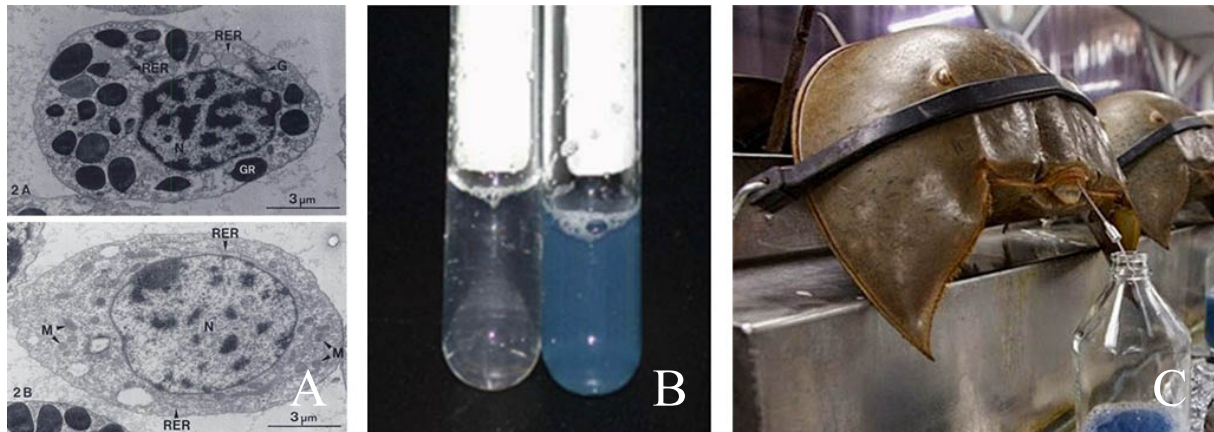
Van de ruim 70 soorten polypeptiden die zich los in de hemolymfe van *L. polyphemus* bevinden, is hemocyanine de meest voorkomende (Peter et al., 1989). Hemocyanine is een eiwit dat het transport van zuurstof via het bloed faciliteert en bevat hiervoor twee koperatomen die zuurstof kunnen binden (Smith & Berkson, 2005). Dit eiwit zit voornamelijk opgelost in het hemolymfe en zuurstofbinding veroorzaakt een kleurverandering van kleurloos ongeoxideerd Cu^+ (I) naar blauw geoxideerd Cu^{++} (II). In tegenstelling tot het hemocyanine en hemoglobine bij andere organismen, ondervindt de hemocyanine van *L. polyphemus* een omgekeerd Bohr effect (Sullivan et al., 1974). Hierbij wordt de affiniteit van het hemocyanine eiwit voor de binding van zuurstof groter wanneer de pH van het hemolymfe daalt t.g.v. accumulatie van melkzuur.

6.1.2 Immuunrespons

De granulocyten (amoebocyten) vormen ongeveer 99% van de hemocyt-cellen in het bloed van *L. polyphemus* (Peter et al., 1989). Granulocyten (Figuur 17A) hebben een kern met sterk opeengepakt chromatine, onderontwikkeld RER, slechts enkele vrije ribosomen en mitochondriën, maar veel grote secretiegranula (Peter et al., 1989). Deze cellen zijn verantwoordelijk voor immuunrespons van degenkrabben op pathogene infecties (Muta et al., 1993). Deze reactie wordt geïnitieerd door herkenning van bacteriële endotoxines en lipopolysachariden (Muta et al., 1993), waardoor granulocyten de in granulen opgeslagen stollingsfactoren en een speciaal gel-vormend eiwit, coagulogen, via exocytose afgeven aan het hemolymfe (Toh et al., 1991). Coagulogen hindert de verspreiding van pathogenen door ze te immobiliseren en de klot -die gevormd wordt door een cascade effect via stollingsfactoren- geeft antibacteriële proteasen, eiwitten en andere enzymen de kans om de pathogenen onschadelijk te maken (Thompson et al., 2011).

Plasmocyten, cyanoblasten en cyanocyten zijn ook aanwezig in de bloedsomloop van *L. polyphemus* (Fahrenbach, 1970; Sherman, 1981). Cyanoblasten en cyanocyten zijn herkenbaar aan de grote afmetingen (tot 100 μm diameter) en de aanwezigheid van cytoplasmatische hemocyanine. Plasmocyten hebben een celkern met euchromatine, uitgebreid RER met buis- en plaatvormige cisternen, veel vrije ribosomen en mitochondriën, maar weinig granulen (Peter et al., 1989). Plasmocyten zijn mogelijk gedegranuleerde granulocyten (Peter et al., 1989).

De genezing van wonden in degenkrabben wordt geïnitieerd door migratie van granulocyten in de hemolymfe naar de plek van beschadiging of infectie, waar vervolgens stollingen ontstaan en celdeling kan plaatsvinden (Smith & Berkson, 2005).



Figuur 19. (A) granulocyten (A boven) en Plasmocyten (A onder) zijn de meest voorkomende immuun cellen in de hemolymfe van *L. polyphemus*. De granulen met stollingseiwitten zijn duidelijk te zien in de granulocyt en zijn duidelijk afwezig in de plasmocyt. De hemolymfe is een indicator voor de gezondheid van het dier. (B) normaal hemolymfe is blauw van kleur en duidt op een hoge concentratie aan koperhoudend hemocyanine en opgeloste eiwitten. De hemolymfe kan verkregen worden door een naald in de cardiac sinus in te brengen (C). Foto (A & B): Peter et al., 1989. Foto (C): Sarah Laskow

6.1.3 Bloed extractie

Hemolymfe monsters van *L. polyphemus* kunnen makkelijk verkregen worden (Smith & Berkson, 2005) door het dier in een gebogen positie (Figuur 17C) te houden en een dunne naald via het dunne arthrodistal membraan in de cardiac sinus in te brengen. Afhankelijk van de grootte, sekse en de periode tussen twee monsternemingen (Rudloe, 1983) kan tussen de 50 en 150 ml hemolymfe afgenomen worden. Kleine monsters van 1-2 ml kunnen ook verkregen worden door een dunne naald in de membranen tussen pootsegmenten in te brengen. Biochemische waarden van het hemolymfe kunnen nu worden verkregen en vergelijking hiervan met referentiemateriaal is mogelijk (Tabel 9). Studies (Novisky, 1984) hebben aangetoond dat dieren waarvan grote monsters zijn afgenomen, in 3-7 dagen hun bloedvolume weer kunnen aanvullen, maar herstel van de aanvankelijke hoeveelheid granulocyten kan tot 4 maanden duren.

Limulus polyphemus Bloedwaarden

	Captive	Wild caught
<i>Prosomal width (mm)</i>	230.8 ± 3.8	221.9 ± 4.1
BUN (mg/dL)	5.1 ± 0.1	5.3 ± 0.3
<i>Ca²⁺ (mmol/L)</i>	6.4 ± 0.1	4.9 ± 0.2
Cl⁻ (mmol/L)	455.1 ± 13.7	320.0 ± 11.5
<i>Creatine (mg/dL)</i>	0.09 ± 0.03	0.22 ± 0.02
Glucose (mg/dL)	7.8 ± 0.4	11.3 ± 1.2
<i>K⁺ (mmol/L)</i>	10.7 ± 0.08	12.1 ± 0.5
Mg²⁺ (mmol/L) diluted	15.1 ± 0.2	12.4 ± 0.4
<i>Na⁺ (mmol/L)</i>	485.7 ± 2.2	369.2 ± 11.2

Tabel 9. Overzicht van de verschillende parameters in de hemolymfe van *L. polyphemus* in gevangenschap en in het wild (Smith et al., 2002). BUN: Blood Urea Nitrogen

6.2 Meest voorkomende ziekten & parasieten

6.2.1 Niet-pathogeen

Verschillende oorzaken kunnen de overlevingskansen van *L. polyphemus* in gevangenschap drastisch verlagen en de dood tot gevolg hebben. Allereerst kunnen traumatische letsels opgelopen bij vangst, transport en behandeling (Nolan & Smith, 2009) resulteren in steekwonden en breuken in het exoskelet (Smith & Berkson, 2005). Daarnaast kunnen degenkrabben in gevangenschap elkaar verwonden, vooral bij te grote aantallen, wat resulteert in missende poten en scharen of kannibalisme tijdens het vervellen (Smith & Berkson, 2005). Een andere grote doodsoorzaak in culture is ondervoeding. Mogelijke oorzaken zijn een onvoldoende gebalanceerd dieet en nutriënten gebrek, een slecht werkende lever en nefrose. Deze aandoening kan optreden bij alle volwassen dieren en resulteert in 100% sterfte. Binnen 3-4 weken na de vangst beginnen de eiwitgehalten in de hemolymfe te dalen en na 3 tot 4 maanden zijn deze onder het minimum (3.4 – 11.7 g/dL; Smith et al., 2002). De symptomen –anorexia en het ontbreken van eetlust- zijn pas zichtbaar zo'n 5 weken voordat het dier er uiteindelijk aan zou bezwijken.

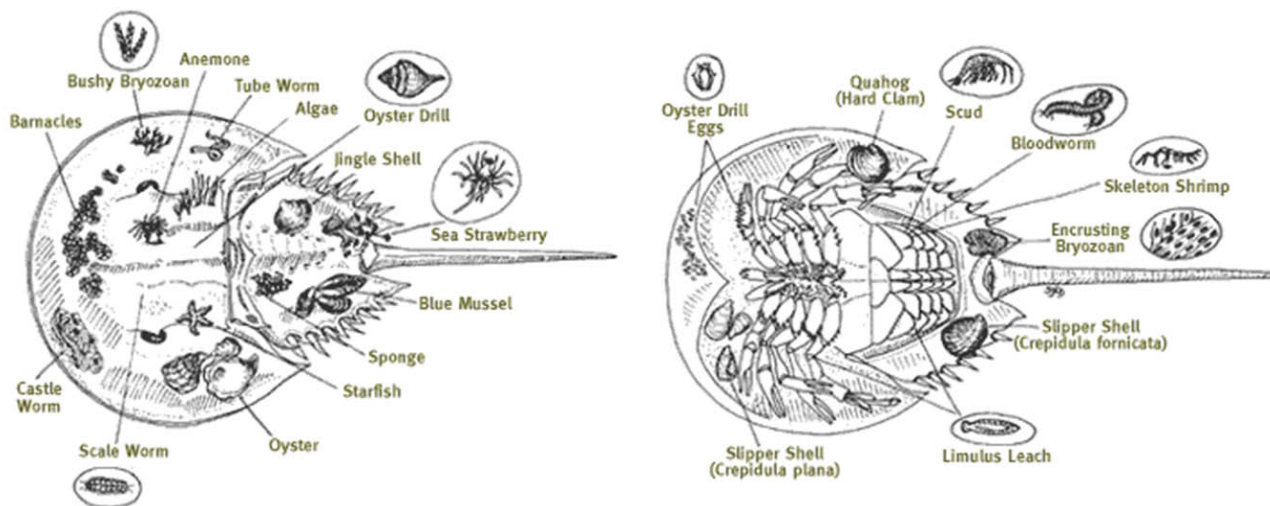
De staat van het dier kan gemonitord worden aan de hand van het eiwitgehalte in de hemolymfe. Dit kan met een refractometer, maar na enige tijd zal de daling van het eiwitgehalte ook zichtbaar worden. De tijd voor het klonteren neemt toe en normaal hemolymfe is blauw, hemolymfe van een ziek dier zal na verloop van tijd transparant en kleurloos worden (Figuur 19B).

6.2.2 Parasieten

Gedurende het leven van *L. polyphemus* zal deze minder vaak vervellen en krijgen parasitaire organismen de kans om zich te vestigen in en op het exoskelet (Figuur 20). Sponzen, mosdiertjes, mosselen, slakken en zeepokken zijn enkele van de soorten die zich geregeld aan de buitenkant van het schild bevinden en zo duidelijk opvallen (ERDG, 1995). Deze soorten zijn echter slechts zelden schadelijk voor de degenkrab (Smith & Berkson, 2005). Een bad met zoet water (3 – 12 minuten), azijnzuur (3 – 5% voor max. 1 uur) of formaline (1 – 1.5 ppt voor max. 12 uur) wordt gebruikt om degenkrabben in gevangenschap van deze epibionten te ontdoen (Nolan & Smith, 2009).

Verschillende soorten parasitaire trilhaarwormen (Turbellaria) werden waargenomen in degenkrabben (Groff and Leibovitz, 1982; Kawakatsu, 1989; Ryder, 1882; Wheeler, 1894). De meest voorkomende, *Bdelloura candida*, vestigt zich voornamelijk tussen de kieuwplaten, op de looppoten en aan de onderzijde van het exoskelet (Smith & Berkson, 2005). Deze soort maakt wondjes in de dunne membranen van de kieuwen en neemt hierdoor nutriënten uit de hemolymfe op. Bovendien leggen deze wormen hun eitjes in de kieuwlamellen -te herkennen aan donkere stippen (ERDG, 1995)-, waardoor ze de ademhaling via verhinderen (Smith & Berkson, 2005). Enkele andere soorten platwormen die bekend staan op degenkrabben voor te komen zijn; *B. parasitica*, *B. propinqua*, *B. wheeleri* en *Syncoelidium pellucidum* (Smith & Berkson, 2005).

Van nematoden als die van de *Monhysterida* is vastgesteld dat zij het exoskelet van degenkrabben binnendringen en zich daar vestigen (Leibovitz & Lewbart, 2004).



Figuur 20. Overzicht van waar de meest voorkomende parasieten en pathogenen van *L. polyphemus* zich op het exoskelet van vestigen. *Limulus leach* duidt hier op de trilhaarworm *Bdelloura candida*, die tussen de kieuwplaten, bij de poten en aan de onderzijde van het exoskelet voorkomt. Illustratie: Dave Grant

6.2.3 infectieziekten

Door o.a. stressfactoren en grote aantallen dieren bijeen, zijn degenkrabben in gevangenschap in sterke mate vatbaar voor infecties met bacteriën, algen en of schimmels (Smith & Berkson, 2005). Deze pathogenen komen binnen via het voedsel, het substraat of overplaatsing van geïnfecteerde dieren (Paillard, 2004) en filtersystemen zijn vaak niet in staat alle pathogenen in het water te elimineren (Meyer, 1991; Schulze et al., 2006).

Shell disease, een infectie veroorzaakt door een Chlorophycophyta (groene alg), is een van de meest voorkomende ziekten bij degenkrabben (Leibovitz & Lewbart, 1987, 2004) in zowel gevangenschap als in het wild. Deze ziekte kenmerkt zich door verkleuring en erosie van het exoskelet waarbij zich groene tot grijze vlekken vormen aan de oppervlakte van het schild en in het dieper gelegen weefsel van het exoskelet (Nolan & Smith, 2009).



Figuur 21. Infectie van Chlorophycophyta rond het facettoeg

Infectie van de kieuwplaten wordt veroorzaakt door een blauwgroene cyanobacterie (*Oscillatoria* spp.) is bekend bij volwassen degenkrabben (Leibovitz & Lewbart, 2004). Deze bacterie penetreert het dunne chitine membraan van de kieuwen en vestigt zich in het weefsel (Smith & Berkson, 2005). De infectie kan zich uitbreiden naar dieper kieuwweefsel en vervolgens de bloedstroom binnendringen, wat resulteert in opgezwollen kieuwplaten, afsterving van weefsel en uiteindelijk de dood van het dier (Smith & Berkson, 2005). Daarnaast kunnen ook andere delen van het lichaam geïnfecteerd raken, waaronder de facetogen, de membranen die de gewrichten omgeven en het exoskelet zelf waar vervolgens gaten in ontstaan (Smith & Berkson, 2005). Een vergelijkbare bacterie, *Beggiatoa* spp., staat ook bekend voor het infecteren van de kieuwplaten, maar is minder agressief als *Oscillatoria* spp. (Leibovitz & Lewbart, 2004). Andere soorten bacteriën die geregeld van wonden in het exoskelet worden geïsoleerd zijn: *Leucothrix* spp., *Vibrio* spp., *Flavobacterium* spp., *Pseudomonas* spp. en *Pasteurella* spp. (Nolan & Smith, 2009).

6.2.4 Behandeling

In studies naar infectieziekten en gezondheid van degenkrabben zijn verschillende behandelingen uitgevoerd, waaronder antibiotica kuren en schimmelwerende medicijnen. Oxytetracycline (enkele dosering van 25 of 50 mg/kg lichaamsgewicht) (Bio-Mycin 200, Boehringer Ingelheim Vetmedica) werd direct in de bloedsomloop ingebracht en itraconazole (enkele dosering van 10 mg/kg lichaamsgewicht) (Allender, 2008) werd oraal toegedient via een rubber buisje. Een dergelijke toediening zou elke 24 uur nodig zijn om de behandeling effectief te laten zijn (Allender, 2008)

Volgens Tristan (2010) zou een toediening van fluconazol (2 mg/kg lichaamsgewicht) direct in de cardiac sinus, elke 4 dagen met een totaal van 6 toedieningen een effectieve behandeling zijn tegen *Aspergillus niger*. Daarnaast werden wonden in het exoskelet behandeld met Tricide oorontsmetter (Molecular Therapeutics), chloorhexidine of met 1% zilver sulfadiazine.

Helaas blijken de meeste behandelingen tegen bacteriële en schimmelinfecties ineffectief (Smith & Berkson, 2005), omdat de infecties vaak te laat opgemerkt worden en al te diep in het weefsel binnengedrongen zijn. De degenkrabben worden lethargisch en anorectisch waarna ze uiteindelijk overlijden aan de infectie. Ethisch verantwoorde euthanasie is mogelijk met een injectie van 1 tot 2 ml fenobarbital ingespoten via de dorsale cardiac sinus (Smith, 2006).

Daarentegen kunnen nieuwere schimmelwerende medicijnen als voriconazol en posaconazol wel een effectieve behandeling vormen tegen schimmelinfecties door o.a. *Fusarium solani* (Tuxbury, 2014).

6.2.5 Methode voor lichamelijk onderzoek

Wanneer er lichamelijk onderzoek op een degenkrab uitgevoerd dient te worden, is het nodig deze eerst uit het verblijf te halen en op een harde ondergrond (tafel o.i.d.) te plaatsen (Smith & Berkson, 2005). Wanneer het dier ondersteboven wordt geplaatst (dorsale kant boven) zal deze continu de spieren in de opisthosoma en telson aanspannen in een poging zichzelf weer om te draaien, wat de behandeling lastiger maakt. Het is daarom aan te raden om het dier gewoon met de ventrale zijde onder te plaatsen, waarbij wel rekening gehouden moet worden met enig kruipgedrag.

Het onderzoeken van de fysieke gesteldheid van een degenkrab kan problematisch zijn i.v.m. het harde, ondoorzichtige exoskelet (Smith & Berkson, 2005). Een controle moet in ieder geval inspectie op wonden en parasieten op de dorsale en ventrale zijden van het exoskelet omvatten, naast een grondige inspectie van de kieuwplaten. Deze moeten onderzocht worden op bloedingen, bloedstolling, zwellingen, emfyseem en mogelijke infecties.

7. Literatuur

- Allender, M. C., Schumacher, J., Milam, J., George, R., Cox, S., Martín-Jiménez, T. (2008). Pharmacokinetics of intravascular itraconazole in the American horseshoe crab (*Limulus polyphemus*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, volume 31, 83–86.
- Barlow, R. B., Ireland, L. C., Kass, L. (1982). Vision has a role in *Limulus* mating behaviour. *Nature*, volume 296, 65–66.
- Barlow, R. B., Powers, M. K. (2003). Seeing at night and finding mates: The role of vision. In C. N. Shuster, R. B. Barlow, H. J. Brockmann (Ed.), *The American Horseshoe Crab* (pp. 83–102). Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Botton, M. L., Itow, T. (2009). The effects of water quality on horseshoe crab embryos and larvae. In J. T. Tanacredi, M. L. Botton, D. R. Smith (Ed.), *Biology and conservation of horseshoe crabs* (pp. 439–463.). New York: Springer.
- Botton, M. L., Loveland, R. E. (1992). Body size, morphological constraints, and mated pair formation in four populations of Horseshoe Crabs (*Limulus polyphemus*) along a geographic cline. *Marine Biology*, volume 112, 409–415.
- Botton, M. L., Loveland, R. E., Tiwari A. (2003a). Distribution, abundance, and survivorship of young of the year in a commercially exploited population of horseshoe crabs *Limulus polyphemus*. *Marine Ecology Progress Series*, volume 265, 175–184.
- Botton, M. L., Ropes, J. W. (1988). An indirect method for estimating longevity of the Horseshoe Crab (*Limulus polyphemus*) based on epifaunal slipper shells (*Crepidula fornicata*). *Journal of Shellfish Resources*, volume 7, 407–412.
- Botton, M. L., Ropes, J. W. (1989). Feeding ecology of Horseshoe Crabs on the continental shelf, New Jersey to North Carolina. *Bulletin of Marine Science*, volume 45(3), 637–647.
- Botton, M. L., Tankersley, R. A., Loveland, R. E., (2010). Developmental ecology of the American horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *Current Zoology*, volume 56(5), 550–562.
- Brafield, A. E. (1964). The oxygen content of interstitial water in sandy shores. *Journal of Animal Ecology*, volume 33, 97–116.
- Brockman, H., Penn, D. (1992). Male Mating Tactics in the Horseshoe Crab, *Limulus polyphemus*. *Animal Behaviour*, volume 44, 653–665.
- Barlow, R. B., Powers, M. K., Howard, H., Kass, I. (1986). Migration of *Limulus* for mating: relation to lunar phase, tide height, and sunlight. *Biology bulletin*, volume 171(3), 10–329.
- Botton, M. L. (1984). Diet and food preferences of the adult horseshoe crab *Limulus polyphemus* in Delaware Bay, New Jersey, USA. *Marine Biology*, volume 81, 199–207.
- Botton, M. L., Harrington, B. A., Tsipoura, N., Mizrahi, D. S. (2003b). Synchronies in migration: Shorebirds, horseshoe crabs, and Delaware Bay. In: C. N. Shuster, R. B. Barlow, H. J. Brockmann (Ed.), *The American Horseshoe Crab* (pp. 6–32). Cambridge Massachusetts: Harvard University Press.
- Brockmann, H. J. (1990). Mating behavior of horseshoe crabs *Limulus polyphemus*. *Behaviour*, volume 114, 206–220.
- Brockmann, H. J. (2003). Male competition and satellite behavior. In C. N. Shuster, R. B. Barlow, H. J. Brockmann (Ed.), *The American Horseshoe Crab* (pp. 50–82). Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Brockmann, H. J. (2010). Male horseshoe crabs *Limulus polyphemus* use multiple sensory cues to locate mates. *Current Zoology*, volume 56(5), 485–498.
- Brockmann, H. J., Colson, T., Potts, W. (1994). Sperm competition in horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*). *Behavioural Ecology Sociobiology*, volume 35, 153–160.
- Brockmann, H. J., Penn, D. (1994). Nest-site selection in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *Biological Bulletin*, volume 187, 373–384.
- Brown, G. G., Clapper, D. L. (1981). Procedures for maintaining adults, collecting gametes, and culturing embryos and juveniles of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus* (L.). In R. Hinegardner, J. Atz, R. Fay, M. Fingerman, R. Josephson, N. Meinkoth (Ed.), *Laboratory Animal Management, Marine Invertebrates* (pp. 268–290). Washington: National Academy Press.
- Brown, G., Knouse, J. (1973). Effects of Sperm Concentration, Sperm Aging, and Other Variables on Fertilization in the Horseshoe Crab, *Limulus polyphemus* L. *Biological Bulletin*, volume 144(3), 462–470.
- Burton, R.S. (1983). Protein polymorphisms and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Marine biology*, volume 4, 193–206.

- Carmichael R. H., Gaines, E., Sheller, Z., Tong, A., Clapp, A., Valiela, I. (2009). Diet composition of juvenile horseshoe crabs: implications for growth and survival of natural and cultured stocks. In J. Tanacredi, M. Botton, and D. Smith (Ed.), *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs* (pp. 521–534). New York: Springer.
- Carmichael, R. H., Erik, B. (2012). Three decades of horseshoe crab rearing: a review of conditions for captive growth and survival. *Reviews in Aquaculture, volume 4*, 32-43.
- Carmichael, R. H., Rutecki, D., Annett, B., Gaines, E., Valiela, I. (2004). Position of horseshoe crabs in estuarine food webs: N and C stable isotopic study of foraging ranges and diet composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, volume 299*, 231 – 253.
- Cohen, J. A., Brockmann, H. J. (1983). Breeding activity and mate selection in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *Bulletin of Marine Science, volume 33*, 274–281.
- Cohen, J., Brockman, J. (1983). Breeding Activity and Mate Selection in the Horseshoe Crab, *Limulus polyphemus*. *Bulletin of Marine Science, volume 33*, 274-281.
- Crabtree, R. L., Page, C. H. (1974). Oxygen-sensitive elements in the book gills of *Limulus polyphemus*. *Journal of Experimental Biology, volume 60*, 631–639.
- Eagle, G. A. (1983). The chemistry of sandy beach ecosystems: a review. In A. McLachlan, B. Erasmus (Ed.), *Sandy Beaches as Ecosystems* (pp. 203-325). Boston: Dr. Junk.
- Eagles, D. A. (1973). Lateral spine mechanoreceptors in *Limulus polyphemus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, volume 44A*, 557–575.
- Ecological Research & Development Group (ERDG). (2017). The Horseshoe Crab. Geraadpleegd van <http://www.horseshoecrab.org/nh/habitat.html>
- Ehlinger, G. S., Tankersley, R. A., 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, volume 26*, 631–640.
- Eldredge, N. (1970). Observations on burrowing behavior in *Limulus polyphemus* (*Chelicerata, Merostomata*), with implications on the functional anatomy of trilobites (No. 2436, pp. 1–17). American Museum Novitates.
- Fahrenbach, W. H. (1970). The cyanoblast: hemocyanin formulation in *Limulus polyphemus*. *The Journal of Cell Biology, volume 44*, 445-453.
- Florida Fish and Wildlife Conservation Commission (FWC). (2017). *Limulus polyphemus*, Horseshoe Crab. Geraadpleegd van <http://myfwc.com/research/saltwater/crustaceans/horseshoe-crabs/facts/>
- Gaines, E. F., Carmichael, R. H., Grady, S. P., Valiela, I. (2002). Stable isotopic evidence for changing nutritional sources of juvenile horseshoe crabs. *Biological, volume 203*, 228–230.
- Gerhart, S. D. (2007). A review of the biology and management of horseshoe crabs, with emphasis on Florida populations. Florida Fish and Wildlife Research Institute Technical Report TR-12.
- Gordon, M. S. (1960). Anaerobiosis in marine sandy beaches. *Science, volume 132*, 616-617.
- Gretchen, E. S., Tankersley R. A. (2004). Survival and Development of Horseshoe Crab (*Limulus polyphemus*) Embryos and Larvae in Hypersaline Conditions. *Biological Bulletin, volume 206*, 87-94.
- Groff, J. F., Leibovitz, L. (1982). A gill disease of *Limulus polyphemus* associated with triclad turbellarian worm infections. *Biological Bulletin, volume 163*, 392.
- Herzog, E. D., Powers, M. K., Barlow, R. B. (1996). *Limulus* vision in the ocean day and night: Effects of image size and contrast. *Visual Neuroscience, volume 13*, 31–41.
- Hieb E. E., et al. (2015). Effects of Sediment Type and Tank Shape on Horseshoe Crab (*Limulus polyphemus*) Growth and Survival in Culture. In *Changing Global Perspectives on Horseshoe Crab Biology* (pp. 198-302). Switzerland: Conservation and Management.
- Hong, S., Zhang, X., Zhao, Y., Xie, Y., Zhang, Y., Xu, H. (2009). Effect of sediment type on growth and survival of juvenile horseshoe crabs (*Tachypleus tridentatus*). In J. Tanacredi, M. Botton, D. Smith (Ed.), *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs* (pp. 535–540). New York: Springer.
- Itow, T. (2004). Living fossil horseshoe crabs continue to evolve. *Zoological Science, volume 21*, 1271.
- James-Pirri, M. J., Tuxbury, K., Marino, S., 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, volume 28*(2), 296-313.

- Jamieson, B. G. M. (1987). The ultrastructure and phylogeny of insect spermatozoa. Cambridge: Cambridge University Press.
- Jegla T. C., Costlow, J. D. (1982). Temperature and salinity effects on developmental and early posthatch stages of *Limulus polyphemus*. In J. Bonaventura, C. Bonaventura, S. Tesh (Ed.), *Physiology and Biology of Horseshoe Crabs: Studies on Normal and Environmentally Stressed Animals* (pp. 103–113). New York: Alan R. Liss, inc.
- Jennifer, H. M., Mark, A. B., Adam R., Alyssa W. (2010). Reproductive behavior in Horseshoe Crabs: does density matter? *Current Zoology*, volume 56(5), 634-642.
- Jørgensen, B. B. (1977). The sulfur cycle of a coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark). *Limnology and Oceanography*, volume 22, 814–831.
- Kawakatsu, M. (1989). Redescription of an ectoparasitic marine triclad, *Bdelloura candida* (Girard, 1850) (*Burbellaria*; *Tricladida*; *Maricola*), collected from the American horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Bull of the Biogeographical Society of Japan*, volume 44, 183–198.
- Kuilan, A. (2015). *Limulus polyphemus*. Geraadpleegd van <http://antoniokuilan.com/blog/the-environmental-adaptations-of-limulus-polyphemus/>
- Landers, W. S. (1954). Notes on the predation of the hard clam, *Venus mercenaria*, by the mud crab, *Neopanope texana*. *Ecology* 35, volume 442.
- Laughlin, R. (1983). The effects of temperature and salinity on larval growth of the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *Biological Bulletin*, volume 164, 93–103.
- Leibovitz, L., Lewbart, G. A. (2004). A green algal (*chlorophycophyta*) infection of the dorsal surface of the exoskeleton and associated organ structures in the horseshoe crab (*Limulus polyphemus*). *Biological Bulletin*, volume 173, 430.
- Leibovitz, L., Lewbart, G. A. (2004). Diseases and symbionts: Vulnerability despite tough shells. In C. N. Shuster, R. B. Barlow, H. J. Brockmann (Ed.), *The American Horseshoe Crab* (pp. 245–275). Cambridge: Harvard University Press.
- Live Aquaria. (2017). Horseshoe Crab Culture. Geraadpleegd van http://m.liveaquaria.com/product/prod_display.cfm?c=796+2663+614&pcatid=614
- MacKenzie, C. L. (1977). Predation on hard clam (*Mercenaria mercenaria*) populations. *Transactions of the American Fisheries Society*, volume 106, 530-537.
- MarineBio Conservation Society. (2017, 05 maart). Horseshoe Crabs, *Limulus polyphemus*. Geraadpleegd van: <<http://marinebio.org/species.asp?id=281>>. Last update: 1/14/2013 2:22:00 PM
- Meyer, P. (1991). Aquaculture Disease and Health Management. *Journal of Animal Science*, volum 69, 4201-4208.
- Million Years of Existence, 100 Years of Study. *Reviews In Fisheries Science*, volume 10(1), 39-73.
- Mishra, J. K. (2009). Larval culture of *Tachypleus gigas* and its molting behavior under laboratory conditions. In J. Tanacredi, M. Botton, D. Smith (Ed.), *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs* (pp. 513–519). New York: Springer.
- Muta, T., Oda, T., Iwanaga, S. (1993). Horseshoe crab coagulation factor B. *Journal of Biological Chemistry*, volume 268, 21384-21388.
- Niles, E. (1970). Observations on Burrowing Behavior in *Limulus polyphemus* (*Chelicerata Merostomata*), with Implications on the functional Anatomy of Trilobites (No. 2436). New York: American Museum of Natural History.
- Nolan, M., Smith, S. (2009). Clinical Evaluation, Common Diseases, and Veterinary Care of Horseshoe Crabs, *Limulus polyphemus*. In J. T. Tanacredi, M. L. Botton, D. Smith (Ed.), *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs* (pp. 479-499). New York: Springer.
- Novisky, T. (1984). Discovery to Commercialization: The Blood of the Horseshoe Crab. *Oceanus*, volume 27, 13-18.
- Page, C. H., (1973). Localization of *Limulus polyphemus* oxygen sensitivity. *Biological Bulletin*, volume 144, 383-390.
- Paillard, C., Le Roux, F., Borrego, J. (2004). Bacterial Disease in Marine Bivalves, a Review of Recent Studies: Trends and Evolution. *Aquatic Living Resource*, volume 17, 477-498.
- Palumbi, S. R., Johnson, B. A. (1982). A note on the influence of life-history stage on metabolic adaptation: The responses of *Limulus* eggs and larvae to hypoxia. In J. Bonaventura, C. Bonaventura, S. Tesh (Ed.), *Physiology and biology of horseshoe crabs: studies on normal and environmentally stressed animals* (pp. 115–124). New York: Alan R. Liss Inc.

- Patten, W. (1894). On the morphology and physiology of the brain and sense organs of *Limulus*. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, volume 35, 1–96.
- Peter, S., Baek, L., Jakobsen, P. P. (1989). Microscopical, Biochemical, and Immunological Studies of the Immune Defense System of the Horseshoe Crab, *Limulus polyphemus*. *Biological Bulletin*, volume 176, 290-300.
- Pierce, J. C., Tan G., Gaffney P. M. (2000). Delaware Bay and Chesapeake Bay populations of the Horseshoe Crab *Limulus polyphemus* are genetically distinct. *Estuaries*, volume 23, 690-698.
- Powers, M. K., Barlow, R. B., Kass, L. (1991). Visual performance of horseshoe crabs day and night. *Visual Neurosci*, volume 7, 179–190.
- Rudloe, A. (1979). Locomotor and light responses of larvae of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus* (L.). *Biological Bulletin*, volume 157, 494-505.
- Rudloe, A. (1980). The breeding behavior and patterns of movement of horseshoe crab, *Limulus polyphemus*, in the vicinity of breeding beaches in Apalachee Bay, Florida. *Estuaries*, volume 3, 177-183.
- Rudloe, A. (1981) Aspects of the biology of juvenile horseshoe crabs *Limulus polyphemus*. *Bulletin of Marine Science*, volume 31, 125–133.
- Ruppert, E. E., Barnes, R. D. (1994). Invertebrate Zoology (6th ed., pp. 1056). Saunders College Publishing.
- Ruth, H. C., Rutecki D., Valiela I. (2003). Abundance and population structure of the Atlantic horseshoe crab *Limulus polyphemus* in Pleasant Bay, Cape Cod. *Marine Ecology Progress Series*, volume 246, 225-239.
- Ryder, J. A. (1882). Observations on the species of planarians on *Limulus*. *The American Naturalist*, volume 16, 48–51.
- Schreibman, M. P., Zarnoch, C. B. (2009). Aquaculture methods and early growth of juvenile horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*). In J. Tanacredi, M. Botton, D. Smith (Ed.), *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs* (pp. 501–511). New York: Springer, New York.
- Smith, S. A. (2006). Diseases and Health Management of the Horseshoe crab (*Limulus polyphemus*). In G. A. Lewbart (Ed.), *Invertebrate Medicine* (pp. 133–142). Ames: Blackwell Publishing.
- Schulze, A., Alabi, A., Tattersall-Sheldrake, A., Miller, K. (2006). Bacterial Diversity in a Marine Hatchery: Balance Between Pathogenic and Potentially Probiotic Bacterial Strains. *Aquaculture*, volume 256, 50-73.
- Sekiguchi, K. (1988). Biology of Horseshoe Crabs (pp. 428.). Tokyo: Science House Co., Ltd.
- Sekiguchi, K., Yamamichi, Y., Costlow, J. D. (1982). Horseshoe crab developmental studies I. Normal embryonic development of *Limulus polyphemus* compared with *Tachypleus tridentatus*. In J. Bonaventura, C. Bonaventura, S. Tesh, (Ed.), *Physiology and Biology of Horseshoe Crabs: Studies on Normal and Environmentally Stressed Animals* (pp. 53-13). New York: Alan R. Liss, Inc.
- Sherman, R. G. (1981). Chilicerates. In N. A. Ratcliffe, A. F. Rowley (Ed.), *Invertebrate Blood Cells* (2nd ed., pp. 335-384). New York: Academic Press.
- Shuster, C. (1950). Observations on the Natural History of the American Horseshoe Crab, *Limulus polyphemus*. *Woods Holes Oceanography Institute Contribution*, volume 564, 18-23.
- Shuster, C. N. (1979). Distribution of the American horseshoe "crab" *Limulus polyphemus*. In E. Cohen (Ed.), *Biomedical applications of the horseshoe crab (Limulidae)* (pp. 3-26). New York: Alan R. Liss, Inc.
- Shuster, C. N. (1982a). A pictorial review of the natural history and ecology of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*, with reference to other limulidae. In J. Bonaventura, C. Bonaventura, S. Tesh (Ed.), *Physiology and Biology of Horseshoe Crabs: Studies on Normal and Environmentally Stressed Animals* (pp. 1–52). New York: Alan R. Liss, Inc.
- Shuster, C. N., Botton, M. L. (1985). A contribution to the population of Horseshoe Crabs, *Limulus polyphemus* (L.), in Delaware Bay. *Estuaries*, volume 8, 63–372.
- Smith, D. R., Pooler, P. S., Swan B. L., Michels, S., Hall, W. R. (2002). Spatial and temporal distribution of Horseshoe Crab *Limulus polyphemus* spawning in Delaware Bay: Implications for monitoring *Estuaries*, volume 25(1), 115-125.
- Smith, S. A., Berkson, J. (2005). Laboratory culture and maintenance of the horseshoe crab (*Limulus polyphemus*). *Resource*, volume 34(7).

- Smith, S. A., Berkson, J. M., Barratt, R. A. (2002). Horseshoe crab (*Limulus polyphemus*) hemolymph, biochemical and immunological parameters. *International Association for Aquatic Animal Medicine*, volume 33, 101–102.
- Smithsonian Marine Station at Fort Pierce (SMS). (2017). *Limulus polyphemus*. Geraadpleegd van http://www.sms.si.edu/irlspec/Limulu_polyph.htm
- Stephens, W. M. (1964). The incredible horseshoe crab. *Sea Frontiers*, volume 10(3), 131-138.
- Sullivan, B., Bonaventura, J., Bonaventura C. (1974). Functional differences in the multiple hemocyanins of the Horseshoe Crab, *Limulus polyphemus* (L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, volume 71, 2558-2562.
- Thompson, C., Page, C. H. (1975). Nervous control of respiration: Oxygen-sensitive elements in the prosoma of *Limulus polyphemus*. *Journal Experimental Biol*, volume 62, 545–554.
- Thompson, J., Ben Ahmeid, A. A., Pickett, C., Neil, D. (2011). Identification of Cost-Effective Measures to Improve Holding Conditions and Husbandry Practices for the Horseshoe Crab *Limulus polyphemus*. Project Report. University of Glasgow, Glasgow, UK.
- Toh, Y., Mizutani, A., Tokunaga, F., Iwanaga, S. (1991). Morphology of the granular hemocytes of the japanese horseshoe crab, *Tachypleus tridentatus*, and immunocytochemical localization of clotting factors and antimicrobial substances. *Cell Tissue Research*, volume 266, 137-147.
- Tuxbury, K. A., Shaw, G. C., Montali, R. J., Clayton, L. A., Kwiatkowski, N. P., Dykstra, M. J., Mankowski, J. L. (2014). *Fusarium solani* species complex associated with carapace lesions and branchitis in captive American horseshoe crabs *Limulus polyphemus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, volume 109, 223-230.
- Tzafirir-Prag, T., Schreiberman, M. P., Lupatsch, I., Zarnoch, C. B. (2010). Preliminary Studies of Energy and Protein Requirements of Atlantic Horseshoe Crabs, *Limulus polyphemus*, Grown in Captivity. *Journal of the World Aquaculture Society*, volume 41, 874–883. doi:10.1111/j.1749-7345.2010.00430.x
- Vasquez, M. C., Johnson, S. L., Brockmann, H. J., Julian, D. (2015). Nest site selection minimizes environmental stressor exposure in the American horseshoe crab, *Limulus polyphemus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, volume 463, 105-114.
- Walls, E. A. (2001). A horseshoe crab demographic study (M. S. Thesis). Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.
- Walls, E. A., Berkson, J., Smith, S. A. (2002). The Horseshoe Crab, *Limulus polyphemus*: 200
- Waterman, T. H., Travis, D. F. (1953). Respiratory reflexes and the flabellum of *Limulus*. *Journal of Cellular and Comparative Anatomy*, volume 41, 261–289.
- Wheeler, W. M. (1894). *Syncoelidium pellucidum*, a new marine triclad. *Journal of Morphology*, volume 9, 167–194.
- Whetstone, J., Eversole, A. (1978). Predation on hard clams, *Mercenaria mercenaria*, by mud crabs, *Panopeus herbstii*. *Proceedings of the National Shellfish Association*, volume 68, 42-48.
- Wyse, G. A. (1971). Receptor organization and functions in *Limulus cheleae*. *Zeitschrift für Vergleichend Physiologie*, volume 73, 249–273.