



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología  
Universidad Nacional Autónoma de México

**Estatus fisiológico y descripción cuantitativa de la frecuencia de muda como indicador del crecimiento del camarón rosado (*Farfantepenaeus duorarum*) en organismos silvestres y en proceso de domesticación.**

# **T E S I S**

que para obtener el grado académico de

**Maestro en Ciencias**  
(Biología Marina)

p r e s e n t a

**Lic. José Luis Bonilla Gómez**

Directores de Tesis: Dr. Xavier Chiappa Carrara  
Dra. Gabriela Gaxiola Cortés

Comité Tutorial: Dra. María Adela Monreal  
Dr. Sergio Cházaro Olvera  
Dr. Ilie Racotta

México D.F., 2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

Este trabajo fue realizado en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias, U.N.A.M. con sede en Sisal, Yucatán bajo la codirección del Dr. Francisco Xavier Chiappa Carrara y Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés con el apoyo financiero de los siguientes proyectos: PAPIIT-DGAPA-UNAM (IX219404-1); CONACYT-CIENCIA BASICA (44602-Q); CONACYT-CIENCIA BASICA (60824). Se agradece su participación en el proyecto a los técnicos académicos Ing. Miguel Arévalo López, M. en C. Ariadna Berenice Sánchez Arteaga, M. en C. María de Carmen Galindo de Santiago, M. en C. Gemma Leticia Martínez Moreno, Biol. Gabriel Taboada, Ing. Luis Lázaro Jiménez Yan, Ecol. Honorio Cruz López, Dr. Gabriel Lizama y M. en C. Maribel Badillo por su apoyo en las diferentes etapas de este trabajo.

*A mi padre, mi madre (q.e.p.d.) y mi hermano, los quiero mucho.*

## **AGRADECIMIENTOS.**

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al programa de posgrado en Ciencias del Mar y Limnología (PCMyL), por la oportunidad de continuar mi formación académica.

Al Dr. Xavier Chiappa-Carrara y Dra. Gabriela Gaxiola por la dirección de esta tesis, y por su gran apoyo en lo académico y profesional que siempre tuvieron conmigo, y que también los considero como mis amigos.

A los miembros del jurado, la Dra. María Adela Monreal, el Dr. Sergio Cházaro Olvera y al Dr. Ilie Racotta, por sus valiosos comentarios para el mejoramiento de este trabajo.

A los profesores de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias en Sisal, Yucatán (UMDI-Sisal), en especial al Dr. Gilberto Jerónimo y la Dra. Maite Mascaró Miquelajáuregui, por sus comentarios y valiosas aportaciones.

A los técnicos académicos de la UMDI-Sisal, Ing. Miguel Arévalo López, M. en C. Ariadna Berenice Sánchez Arteaga, M. en C. María de Carmen Galindo de Santiago, M. en C. Gemma Leticia Martínez Moreno, Biol. Gabriel Taboada, Ing. Luis Lázaro Jiménez Yan, Ecol. Honorio Cruz López, Dr. Gabriel Lizama y M. en C. Maribel Badillo por su apoyo técnico en las diferentes etapas de este trabajo.

A mis compañeros del programa de maestría y doctorado en la UMDI-Sisal, Ing. Felipe Andrés Briceño Jaques, Biol. Silvia Alejandra Hinojosa Álvarez y M. en C. Carlos Maldonado, por todo el apoyo mutuo durante el transcurso de nuestro programa, y más que compañeros los considero como mis hermanos.

A la Organización de Estados Americanos (OEA) por el apoyo que recibí a través de la beca de posgrado. Especialmente a mi asesora de beca Paulina Savage.

A la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación en Sisal, Yucatán por apoyo en infraestructura para el desarrollo de las partes experimentales, análisis bioquímicos y desarrollo de mis cursos. De igual manera al personal administrativo y educando que formaron parte de mi desarrollo personal y profesional durante mi estancia académica en estas instalaciones.

A la directora del PCMyL, Dra. Gloria Villaclara y al personal administrativo, Diana Juárez, Gabriela Almaraz, Lupita Godoy y Chantal Guerrero, por su apoyo que recibí a pesar de estudiar tan lejos de sus oficinas.

A todos aquellos que de alguna forma sirvieron como apoyo para el desarrollo de este trabajo, y a aquellos que me alentaron a seguir dando el máximo de esfuerzo a pesar de las adversidades y estar distante de mi país, y en especial agradecimiento a Chelsea Elise Combest-Friedman.

## **ÍNDICE.**

RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. ANTECEDENTES.....	16
2.1 Biología del camarón rosado.....	16
2.2 Requerimientos nutricionales y fisiología.....	18
2.3 Factores ambientales.....	19
2.4 El ciclo de muda y factores que lo afectan.....	20
2.5 Taxonomía.....	21
2.6 Características de reconocimiento.....	22
3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
Hipótesis 1.....	23
Hipótesis 2.....	24
4. OBJETIVOS.....	25
4.1 Objetivos específicos Fase I sobre frecuencia de muda.....	25
4.2 Objetivos específicos Fase II sobre composición bioquímica.....	25
5. METODOLOGÍA.....	26
5.1 Captura de los organismos silvestres.....	26
5.1.1 Aclimatación de los organismos silvestres control.....	27
5.1.2 Aclimatación de los organismos silvestres con dieta artificial.....	27
5.2 Obtención de los organismos en cautiverio.....	28
5.3 Diseño Experimental.....	28
5.3.1 Fase I: frecuencia de muda en camarones silvestres y domesticados..	28
5.3.1.1 Temperatura y salinidad constante.....	28

---

5.3.1.2	Registro de mudas y biometría.....	30
5.3.1.3	Determinación de los estadios de muda.....	30
5.3.2	Consumo de alimento antes y después de la muda. ....	31
5.3.3	Fase II: análisis bioquímicos.....	32
5.3.3.1	Material biológico.....	32
5.3.3.2	Procedimiento de extracción .....	33
5.3.3.3	Procesamiento de muestras en sangre .....	34
5.3.3.3.1	Capacidad osmótica.....	34
5.3.3.3.2	Hemocianina .....	35
5.3.3.3.3	Determinación de la composición bioquímica en sangre .....	35
5.3.3.3.4	Procesamiento de muestras en glándula digestiva .....	36
5.3.3.3.4.1	Glucógeno.....	37
5.3.3.3.4.2	Determinación de la composición bioquímica del hepatopáncreas .....	38
5.4	Procesamiento de muestras para el análisis en músculos.....	39
5.4.1	Colágeno .....	39
5.5	Análisis Estadístico .....	40
5.5.1	Frecuencia de muda .....	40
5.5.2	Consumo de alimento antes y después de la muda. ....	41
5.5.3	Análisis bioquímicos en silvestres con dieta artificial y domesticados ..	41
5.5.3.1	Construcción de los funciones empíricas ortogonales.....	42
5.5.4	Análisis de colágeno en músculo.....	44
6.	RESULTADOS.....	45
6.1	Frecuencia de muda en organismos silvestres con dieta artificial y domesticados.....	45
6.2	Crecimiento en peso durante los ciclos de muda.....	48

6.3 Consumo de alimento antes y después de la ecdisis.....	50
6.4 Composición bioquímica en sangre y glándula digestiva en relación a los estadios de muda en silvestres y domesticados .....	51
6.4.1 Capacidad osmótica .....	55
6.4.2 Hemocianina .....	55
6.4.3 Glucosa.....	56
6.4.4 Acilglicéridos.....	57
6.4.5 Colesterol.....	59
6.4.6 Proteínas totales solubles.....	60
6.4.7 Glucógeno .....	61
6.4.8 Relación proteínas totales solubles y hemocianina en sangre .....	61
6.4.9 Relación glucosa en sangre y glucógeno en glándula digestiva.....	62
6.4.10 Razones bioenergéticas y razones nutricionales.....	64
6.4.11 Análisis multivariado .....	65
6.5 Colágeno en músculo .....	72
7. DISCUSIÓN. ....	74
7.1 Frecuencia de muda y crecimiento .....	74
7.2 Consumo de alimento antes y después de la muda.....	78
7.3 Análisis bioquímicos.....	80
7.3.1 Análisis multivariado .....	85
7.4 Colágeno en músculo .....	87
8. CONCLUSIONES.....	90
LITERATURA CITADA.....	91
APÉNDICES. ....	104

## RESUMEN.

Fenómenos cíclicos en la biología de crustáceos, como el ciclo de la muda o ecdisis, tienen importantes implicaciones en sus cambios anatómicos y fisiológicos. En el presente trabajo se comparó el crecimiento en relación con la frecuencia de muda y el estado fisiológico en juveniles silvestres y domesticados (F2) de camarón rosado, *Farfantepenaeus duorarum*. Se capturaron organismos silvestres de la Ciénaga de Sisal, Yucatán y se utilizaron organismos cultivados en la UMDI-Sisal. Los organismos se aclimataron durante 60 días con temperatura constante de 28°C y salinidad 22, se determinó la frecuencia de muda y peso. Los organismos silvestres presentaron una frecuencia promedio de 10.11 días con incremento en peso de 0.024 g/día, mientras que los domesticados de 11.39 días con un incremento de 0.084 g/día. Se determinó que los organismos domesticados disminuyen su actividad alimentaria pero no dejan de comer al momento de mudar. Se realizaron análisis bioquímicos en la sangre y en la glándula digestiva y fueron comparados entre los diferentes estadios de muda. Todas las variables bioquímicas mostraron valores altos en la intermuda y bajos en estadios próximos a la ecdisis. Los resultados de los modelos multivariados mostraron una correlación inversa conjunta por estadio en relación al origen de los organismos ( $r = -0.7819$ ), y por variables bioquímicas en relación al origen fue directa y con alta correlación ( $r = 0.9259$ ), y el efecto significativo de la capacidad osmorreguladora (modo 1 - 85%) asociado a cambios del balance de agua y ciclo iónico en la hemolinfa, y un segundo efecto fueron las proteínas (modo 2 -15%). Los estadios A y D1'' mostraron el mayor efecto entre silvestres y domesticados. El colesterol mostró ser una variable de alto efecto entre todos los individuos analizados en sus tejidos sanguíneos y hepatopáncreas. Se determinó la firmeza del músculo abdominal en los diferentes estadios de muda mediante geles de SDS-poliacrilamida, se observó el despliegue de bandas de colágeno alrededor de los 45.7 y 78 kDa tanto en silvestres como domesticados, y con pocas bandas en estadios cercanos a la muda.

**Palabras clave:** *Farfantepenaeus duorarum*, ciclo de muda, crecimiento, estadios de muda, análisis bioquímicos, colágeno.

## **ABSTRACT**

In crustacean biology, the molting cycle, or ecdysis, produces cyclic changes in the structure of the integument, as well as morphological and physiological changes that are controlled hormonally. The present study analyzes the relationship between the molting cycle frequency and physiological status of wild and cultured juvenile pink shrimp, *Farfantepenaeus duorarum*, within different molting stages. The wild shrimp were captured from a Lagoon in Sisal, on the Gulf of Mexico. Second generation farmed shrimp were obtained from a research center of UNAM (UMDI-Sisal). They were maintained for 60 days at a constant temperature of 28°C and salinity of 22 ppt to monitor weight and molting frequency. A large proportion of shrimp molted at the same time or within the same day. The wild shrimp had an average molting frequency of 10.11 days with a growth rate of 0.024 g/day in biomass, while cultured shrimp had an average frequency of 11.39 days and growth rate of 0,084 g /days. It was determined that cultured shrimp reduce their consumption activity during molting, consuming 30% less food, but do not stop feeding altogether. Biochemical analyses of blood and digestive gland showed low values in stages closer to the molting and high values in the intermolt period. The multivariate modeling produced the following results: an inverse correlation between the stages ( $r = -0.7819$ ), a direct correlation between the different biochemical variables ( $r = 0.9259$ ), and a significant effect of the osmotic capacity (mode 1 - 85%), this effect is associated with changes in the balance of water and cyclic ions, which produces changes in the chemistry of the hemolymph, and other effect were the proteins (mode 2 - 15%). Stage A and stage D1''' showed the highest effect of the biochemical variables in wild and cultured shrimp. A model of sharing variables between blood and gut showed the main effect of cholesterol in the physiological process of the shrimp. The firmness of the abdominal muscle was determined with total collagen in the different molting stages using the SDS-PAGE. The results in wild and cultured organisms showed bands around 45.7–78 kDa, with a few bands in stages closer to the molting.

**Keywords:** *Farfantepenaeus duorarum*; molting cycle; growth; molt stages; biochemical analysis; collagen.

## 1. INTRODUCCIÓN.

El recurso pesquero de mayor importancia económica nacional e internacional es el camarón. De 106 millones de toneladas que se obtienen en las zonas costeras, 18.9 millones de toneladas provienen de los sistemas de cultivo, dentro de esta los crustáceos representan el 19.2% (FAO, 2006).

La situación actual de la industria del cultivo de camarón impone retos que deberán ser superados aprovechando la infraestructura científica de los países productores (Andreatta y Rosas, 2006), y dichos retos han propiciado investigaciones enfocadas a la obtención de alimentos con alto valor nutricional y rentables para mejorar la economía de dicho producto, ya que el éxito en el cultivo de las diferentes especies de camarones depende en gran parte de una adecuada nutrición y buen manejo del alimento (Artiles *et al.*, 1996). Como ejemplo también de esto lo es la alimentación en granjas camaroneras, que está basada en su mayoría en tablas de alimentación para el cálculo de la ración, las cuales no consideran ni los hábitos naturales de alimentación ni el estado fisiológico por el que atraviesa el camarón (Molina *et al.*, 2000), por lo que sería justo la optimización de su manejo a través de un conocimiento más amplio de los procesos fisiológicos.

El camarón rosado, *Farfantepenaeus duorarum*, es una de las especies de peneidos más valiosas desde el punto de vista comercial en el Golfo de México y en el pasado llegó a ser la especie más importante en términos de producción pesquera en aguas mexicanas, e incluso ha sido considerado como un indicador de la salud y productividad del ecosistema en la Bahía de Florida (Browder *et al.*, 2002). Sin embargo, su importancia relativa se ha visto reducida por la disminución constante de sus capturas anuales. Gracia (1995) señala que el incremento de la pesca artesanal sobre las etapas juveniles de *F. duorarum* es el principal factor de la declinación de su producción, afectando a la especie mediante la reducción del potencial de crecimiento y reduciendo los niveles de reclutamiento en altamar y posteriormente a la población reproductora.

También se tienen indicios de que la variación del espectro de la nutrición del camarón rosado no se debe al comportamiento propio del camarón, sino también a la variación de la abundancia o la accesibilidad de sus presas. Como ocurre con muchos otros predadores, las particularidades de la distribución de los camarones, pueden seguir la distribución del conjunto de organismos de los que se alimenta preferentemente (Burukovskii y Ptisyn, 1976).

La biodisponibilidad de los nutrientes en la dieta de los camarones es importante, ya que existe una diferencia entre el análisis químico al que son sometidos los alimentos y la realidad biológica en cuanto a su utilización. Es costumbre utilizar las tablas de composición de alimentos, que resultan imprescindibles para las formulaciones de dietas, pero a menudo se olvida que la información que brindan es parcial (Carrillo y Pedroza, 2006) ya que no toman en cuenta las relaciones entre nutrientes, los daños que se producen durante los tratamientos tecnológicos a que son sometido los alimentos y los factores intrínsecos del animal que va ingerirlos y que pueden influir en la eficiencia de utilización.

Los animales necesitan consumir un alimento con un balance adecuado de proteínas, lípidos y carbohidratos para poder optimizar la eficiencia en la utilización de estos sustratos. Los camarones son capaces de obtener más energía metabolizable a partir del metabolismo de los aminoácidos que de los carbohidratos, razón por la cual estos organismos tienen altos requerimientos dietéticos de proteína. En consecuencia, es de gran interés teórico y práctico optimizar la relación de proteínas y energía dietética para los camarones, ya que de estas cantidades depende el crecimiento (García-Galano, 2006).

Uno de los parámetros más importante en el estudio de la dinámica de las poblaciones de animales sometidos a explotación comercial, es el crecimiento. En el caso particular de los crustáceos el crecimiento se observa como un proceso discontinuo que ocurre por saltos, como consecuencia de una de las restricciones que impone la presencia de un exoesqueleto rígido (Petriella y Boschi, 1997).

Para crecer, es necesario que el organismo elimine el antiguo exoesqueleto y forme un nuevo tegumento, generalmente de mayor tamaño. El conjunto de estos sucesos es conocido como el ciclo de muda.

Como muchos de los fenómenos cíclicos en la biología de crustáceos, el ciclo de la muda o ecdisis (cuyo control es principalmente endocrino) tiene importantes implicaciones en los cambios anatómicos y fisiológicos de los camarones (Passano, 1960; Anger, 2001). La relación entre la muda y el crecimiento de camarones es que en algún momento cercano al momento en que el animal pierde el exoesqueleto, comienza a absorber agua con lo cual la nueva cutícula se genera sobre un volumen mayor. Luego, el volumen ocupado por el agua es remplazado por tejidos y en esa forma el camarón crece (Stevenson, 1985; Fenucci, 1988). Durante el ciclo de vida, estos organismos tendrán una sucesión de mudas que son más frecuentes en las primeras etapas de la vida del animal y disminuyen o están totalmente ausentes en los adultos (Petriella y Boschi, 1997).

Los estudios relacionados a los estadios de muda tienen muchas implicaciones en la acuicultura de peneidos hoy día incluso como proceso rutinario (Drach *et al.*, 1967; Aquacop *et al.*, 1975; Robertson *et al.*, 1987). El proceso de muda produce cambios fisiológicos y bioquímicos, que están controlados hormonalmente, como por ejemplo la composición bioquímica del hepatopáncreas, de la hemolinfa y los músculos, y estos a su vez varían a lo largo de los diferentes estadios en un ciclo de muda. También produce cambios cíclicos en las estructuras del integumento, y está relacionado con los cambios que ocurren en la anatomía, bioquímica y fisiología de otros sistemas de órganos (Molina *et al.*, 2000; Anger, 2001).

Durante el ciclo de muda, los camarones acumulan en la glándula digestiva reservas de glucógeno, lípidos y proteínas que son utilizadas mayormente en la construcción del futuro exoesqueleto y en la síntesis de nuevos tejidos (Vega-Villasante *et al.*, 2000).

El período de muda en los camarones generalmente es crítico y es una etapa donde se registra la mayor mortalidad. Una razón es que el camarón se encuentra desprotegido al momento de mudar, convirtiéndose en fácil presa de muchos predadores, y otra razón es cuando los camarones están mudando tienen problemas de regulación iónica debido a la absorción de agua y a los cambios en la permeabilidad de las membranas de su exoesqueleto (Lockwood, 1967).

Los crustáceos usan básicamente las mismas reacciones que otros seres vivos para producir la energía que necesitan para sostener los procesos vitales, los mismos tipos de compuestos y mecanismos para construir sus macromoléculas y los mismos conjuntos de reacciones para sintetizar los compuestos que intervienen en las diferentes reacciones bioquímicas (Rosas y Carrillo, 2006).

En los crustáceos las hormonas que actúan sobre diversas funciones regulando el crecimiento, metabolismo en general, muda, equilibrio osmótico se producen por células nerviosas (neurosecretoras) que se encuentran en los pedúnculos oculares y cerebro (Lockwood, 1967). Las secreciones son transportadas a lo largo de los axones a la glándula del seno hasta que por un estímulo son descargadas en la hemolinfa.

La sangre de los camarones o hemolinfa es el tejido de transporte y a la vez constituye uno de los principales tejidos de reserva de varios nutrientes. Ahí se encuentran las moléculas que son transportadas a los distintos tejidos internos, y que han sido usadas como indicadores del estado nutricional (Pascual *et al.*, 2007). Dado que el ciclo de muda es unidad básica a partir de la cual se condicionan el crecimiento en los camarones, los diferentes estadios que componen a dicho ciclo determinarán los cambios que sufran dichos nutrientes (Galindo, 2007).

El papel del colesterol en los crustáceos además de constituyente celular, es que actúa como precursor metabólico de hormonas esteroides y la hormona de la

muda. A pesar de esto, las células de los crustáceos no son capaces de sintetizar por sí mismas algunos nutrientes productos del colesterol, tales como los esteroides *de novo*, por lo que sólo puede ser obtenido a través de la dieta (Teshima, 1972).

En años recientes, se han cuantificado los metabolitos sanguíneos y hemocianina como una herramienta para monitorear las condiciones fisiológicas en camarones expuestos a diferentes condiciones ambientales. Rosas *et al.* (2007) usaron oxihemocianina, glucosa, glucógeno de glándulas digestivas, colesterol, lactosa y acilglicéridos como indicadores del estatus fisiológico y nutricional de *F. duorarum*, y Anger (2001) menciona que la relación entre acilglicéridos y colesterol puede ser usada como un potencial índice fisiológico y la relación acilglicéridos y proteínas como un indicador bioenergético.

La hemocianina es una proteína de gran importancia en los crustáceos y la muda es uno de los principales factores intrínsecos que afectan los niveles de hemocianina en los camarones (Burse y Lane, 1971), y también estos niveles circulantes en la hemolinfa son afectados por los niveles de proteína en la dieta (Rosas *et al.*, 2004), por los niveles de amonio y nitrito en el agua (Chen *et al.*, 1993).

Por otro lado, las reservas más importantes para los camarones peneidos se almacenan en el hepatopáncreas (Lehninger, 1975; Loret, 1993), siendo una de estas reservas el glucógeno, que es utilizado para la formación del exoesqueleto y su síntesis es fundamental en el crecimiento, aunque una gran cantidad de glucógeno almacenado no necesariamente significa un mayor crecimiento (Rosas y Carrillo, 2006).

El colágeno es uno de los constituyentes principales del tejido conectivo, y juega papel importante ya que es el encargado de la unión entre varias células, por lo que realmente existe una estrecha relación entre la firmeza del músculo y la cantidad de colágeno en organismos marinos (Eyre, 1987; Mizuta *et al.*, 1994;

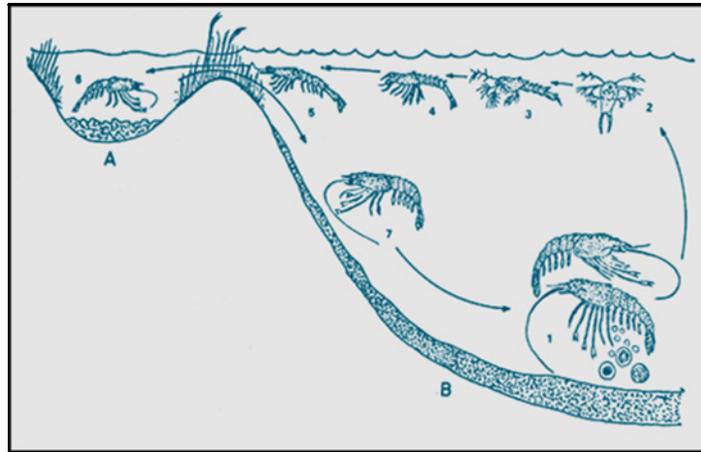
Sikorski y Borderias, 1994). En los crustáceos, la textura de los músculos se ha evaluado midiendo el contenido total de colágeno. Se ha determinado que en las partes flexibles de las musculaturas de crustáceos constan de una alta proporción de colágeno (Yoshinaka *et al.*, 1989) y que presentan colágeno similar al tipo V de los vertebrados (Yoshinaka *et al.*, 1989; Sivakumar *et al.*, 2000).

Este trabajo de investigación está estructurado en dos fases, en la primera fase se estudió el efecto del *origen* de los organismos sobre la frecuencia de muda y su relación en el crecimiento. En este caso, origen se refiere a la proveniencia de los organismos: silvestres, capturados en un humedal costero y en proceso de domesticación. Los parámetros de frecuencia de muda y crecimiento se midieron experimentalmente manteniendo los organismos con una dieta del 40% de proteína animal y manteniendo la temperatura y la salinidad constantes. En segunda fase se determinaron los cambios en la composición bioquímica (proteínas, hemocianina, glucosa, colesterol y acilglicéridos) y capacidad osmótica en la hemolinfa, en cada una de las fases que componen el ciclo de muda. Así mismo, se obtuvieron las concentraciones de la composición bioquímica (proteínas, glucosa, colesterol y acilglicéridos) y glucógeno en hepatopáncreas. Por un lado, fue posible obtener información para definir niveles base de metabolitos y crecimiento en organismos silvestres y domesticados. Mediante análisis bioquímico, fue posible evaluar las condiciones fisiológicas de cada estadio de muda y también describir cuantitativamente el crecimiento del camarón rosado (*Farfantepenaeus duorarum*) de acuerdo con el origen de los organismos experimentales.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Biología del camarón rosado:

Como parte de la familia de los camarones peneidos, los individuos de la especie estudiada tienen preferencia por las aguas marinas en su vida adulta, y por aguas estuarinas durante sus estadios de postlarvas hasta juveniles (Fig. 1). Estos camarones rosados juveniles tienen entre 8 y 22 mm de longitud cefalotórax y se encuentran distribuidos en el Océano Atlántico desde Maryland (EU), pasando por el Golfo de México, Caribe, hasta la Bahía de Ascensión, Quintana Roo, México (Pérez-Farfante, 1970).



**Fig. 1. Ciclo vital de un camarón peneido típico: 1: maduración y reproducción; 2: nauplii; 3: protozoas; 4: mysis; 5: postlarvas; 6: juveniles; 7: adultos. A: Fase estuarina, B: Fase marina** Tomado del Manual de Cría de Camarones Peneidos por J. Fenucci (1988), pero modificado por Boschi (1977).

Su hábitat natural son zonas estuarinas y marina de aguas someras hasta 55 metros con fondos lodosos, constituidos por distintas proporciones de arena limo y arcilla y tienden a enterrarse, este hábito aparece durante los primeros estadios postlarvales y permite a los camarones protegerse de predadores, principalmente durante el período de muda; este comportamiento parece estar regulado por factores como la luz, temperatura, concentración de oxígeno, etc.

A este respecto son interesantes los trabajos realizados en *Penaeus duorarum* por Fuss y Ogren (1966) quienes encontraron que esta especie permanece enterrada

a temperaturas inferiores a 10°C, mientras que los ejemplares que se mantuvieron a 16°C presentan actividad en un 50%.

Aunque el camarón rosado posee diferencias en el estadio naupliar y en la formación setal de cada estadio, también posee un desarrollo larval muy similar al del camarón pardo *Penaeus californiensis* (Hiroshi, 1985). Cabe mencionar que en la Bahía de Florida el influjo y transporte postlarval se ve favorecido por los remolinos ciclónicos que inducen un flujo costero contracorriente, esto afectando de una manera directa el crecimiento de los camarones de esta zona (Criales *et al.*, 2003).

Los juveniles y los adultos de estuarios presentan color gris, rojo pardo o una combinación de gris y azul con manchas oscuras en las pleuras del tercer y cuarto segmento abdominal, mientras que en el océano pueden tener color rosado grisáceo o amarillo limón, generalmente con una mancha que puede variar de púrpura café, rojiza o azul en la articulación del tercer y cuarto segmento del abdomen (Williams, 1984).

Con el fin de caracterizar el estado de explotación del camarón rosado en la Sonda de Campeche, Ramírez-Rodríguez y Arreguin-Sánchez (2000) desarrollaron un modelo de simulación determinístico que permitió establecer una hipótesis sobre el estado de la pesquería del camarón rosado y encontraron una tendencia decreciente de la captura, que se relaciona con una similar y continua del reclutamiento, si la intensidad de pesca actual se mantiene, la abundancia del recurso seguirá decreciendo.

Se ha determinado que la densidad de organismos de camarón rosado en fases estuarinas es el factor principal determinante de las variaciones en las tasas de crecimiento responsable del 52 al 96% de la varianza mientras que la emigración introduce un sesgo promedio de 25% a las estimaciones de mortalidad (Álvarez *et al.*, 1987). Cabe mencionar esta especie no presentó variaciones en el índice del

patrón de crecimiento durante 4 años, probablemente como resultado del ambiente estable de la Sonda de Campeche en el Golfo de México (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2000).

La alimentación durante los estadios de juveniles asociados a pastos marinos, es nocturna basándose principalmente de camarones de pastos marinos *Thor floridanus* el cual representa el 34% de su contenido estomacales, y otros componentes comunes de la dieta lo son bivalvos (principalmente *Tellina* sp.), algas calcáreas, detritos de plantas, copépodos e incluso fragmentos de pasto marinos (Schwamborn y Criales, 2000). En cambio, Burukovskii y Ptisyn (1976) publican que los crustáceos, moluscos y poliquetos conforman el 80% del volumen del bolo alimenticio y que representan la base de la alimentación de *Farfantepenaeus duorarum*.

## **2.2 Requerimientos nutricionales y fisiología:**

Durante una investigación para conocer algunos aspectos de la nutrición en postlarvas de camarón rosado de 40 días de edad, mostraron un requerimiento nutricional de 40% de proteínas y de 6-17% de lípidos (Gaxiola *et al.*, 2004), aunque también se ha demostrado que los requerimientos nutricionales en los camarones peneidos, y decápodos en general, están muy bien adaptados para el uso de las proteínas como fuente de energía metabólica y como base de la conformación de nuevos tejidos (Lemos *et al.*, 2000; Rosas *et al.*, 2000).

Mientras que en un estudio de la alimentación de larvas de camarón rosado con dos tipos de microencapsulados en estanques rústicos se encontró que utilizando los dos alimentos de acuerdo con las indicaciones del fabricante, el desarrollo y el crecimiento no fueron significativamente diferentes, pero el alimento tipo "Zeigler" utilizado para dicha especie se obtuvo un alto porcentaje de sobrevivencia del 78% (Araos-Dzul *et al.*, 2000).

Rosas *et al.* (2007) realizaron una investigación sobre las condiciones fisiológicas e inmunológicas en poblaciones silvestres de camarones rosados encontrando que no hay diferencias significativas entre sexos y peso vivo. Mientras que la proteína total en sangre, oxihemocianina y glucógeno de la glándula digestiva se mostraron normalmente distribuidos

Estudios en textura de músculos en crustáceos, como el de Kimura y Tanaka (1986), muestran que el contenido de colágeno en músculos de tres especies de crustáceos fue del 2.4 al 2.6% de la proteína total. En cambio, Yoshinaka *et al.* (1989) para siete especies de crustáceos encontraron que el contenido de colágeno en el músculo abdominal fue de 1.1 a 6.2% de la proteína total del tejido.

### **2.3 Factores ambientales:**

La temperatura parece ser el factor ambiental más importante, en cuanto al crecimiento y reproducción de camarón rosado, a este respecto se ha establecido una correlación entre la cantidad de hembras ovígeras de *Farfantepenaeus duorarum* obtenidas en áreas cercanas a la Isla Tortuga y la temperatura del agua de mar cuando ésta es superior a los 21.1°C (Cummings, 1961).

Un experimento desarrollado en juveniles de camarones rosados por Browder *et al.* (2002) determinó las respuestas del crecimiento y sobrevivencia a temperatura entre 15 a 33°C y salinidades entre 2 y 55, encontrando que esta especie tolera un intervalo amplio de salinidad en su óptimo de temperatura. También encuentran que el intervalo de tolerancia de salinidad para esta especie es limitado cuando los valores de temperatura se alejan del intervalo óptimo entre 20 y 30°C.

Durante un ciclo anual en dos localidades de la Laguna de Términos, las tasas de crecimiento de *F. duorarum* fluctuaron desde 0.58 mm/día en octubre hasta 1.12 mm/día en agosto en un lugar de muestreo y en otro fueron desde 0.82 mm/día en febrero hasta 1.13 mm/día en agosto. Los registros más altos se presentaron durante el periodo de lluvias, sin embargo las tasas de crecimiento no fueron

significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ) durante el periodo de estudio (Alvares *et al.*, 1986).

Sin embargo López-Téllez *et al.* (2000) encontraron que los camarones rosados en estanques rústicos alcanzaron un crecimiento en 57 días de cultivo, con una densidad de 10 postlarvas/m<sup>2</sup>, de 4.3 g peso total, siendo suficiente para ser comercializados en la región ya que existe un importante mercado para estas tallas llamadas “camaroncillos”. Pero debido a condiciones ambientales que siguieron en el área impidieron el seguimiento del desarrollo de este estudio, siendo una razón para desconocer el aumento posterior en peso.

#### **2.4 El ciclo de muda y factores que lo afectan:**

En estudios recientes, analizados con el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* se determinó que la duración del ciclo de muda depende de forma inversamente proporcional a la temperatura. En general, una variación de 3°C modifica la duración del ciclo de muda en un día y esta respuesta puede asociarse con la reducción o aceleración de los procesos metabólicos (Galindo, 2007, Galindo *et al.*, 2009).

La capacidad osmorreguladora es considerada un importante mecanismo de adaptación ambiental en especies acuáticas, en particular de los crustáceos (Péqueux, 1995). Estudios relacionados con el estatus nutricional y el estadio de muda en *L. vannamei* (Charmantier *et al.*, 1994) muestran que la capacidad osmótica varía con el estadio de muda de los camarones. Galindo *et al.* (2009) mencionan que los valores de esta variable pueden alcanzar valores mínimos en la intermuda (C) y en la premuda temprana (D0), mientras que muestra un máximo en los estadios próximos a la muda (D3 y A). Los camarones peneidos tienden a hiporregular cuando están en agua marina (36) ya que el valor de salinidad de la hemolinfa se encuentra alrededor de 22 (Lemaire *et al.*, 1993). Este es el punto isosmótico de los peneidos.

La actividad de las enzimas digestivas está fuertemente afectada por las fases del ciclo de muda como una posible respuesta a los requerimientos metabólicos de energía y nutrientes (Casillas-Hernández *et al.*, 2002) y es debido a que el ciclo de la muda está asociado con los mayores cambios en el balance de agua e iones, y consecuentemente, hay cambios cíclicos en la química de la hemolinfa (Anger, 2001).

El proceso de domesticación podría alterar los requerimientos de proteína y la capacidad para utilizar ciertos nutrientes provenientes del alimento artificial también puede variar (Cuzón *et al.*, 2004). En ejemplares de *L. vannamei* silvestres se reporta que poseen una alta fecundidad con niveles de acilglicéridos, colesterol, proteína y glucosa relativamente más altos en hepatopáncreas y hemolinfa, que los observados en camarones cultivados (Palacios *et al.*, 2000). Incluso en otro trabajo con esta misma especie cultivada hasta una generación 25, se encontró una disminución en la frecuencia alélica de los genes de la amilasa, lo cual afecta la capacidad adaptativa del camarón para usar los carbohidratos dietéticos como fuente energética y motivando que las poblaciones cultivadas sean más dependientes de las proteínas (Arena *et al.*, 2003).

## 2.5 Taxonomía:

La posición taxonómica del camarón rosado, es presentada en la siguiente tabla:

<b>Phylum</b>	<b>Artrópoda</b>
<b>Subphylum</b>	Crustacea
<b>Clase</b>	Malacostraca
<b>Subclase</b>	Eumalacostraca
<b>Superorden</b>	Eucarida
<b>Orden</b>	Decapoda
<b>Suborden</b>	Dendrobranchiata
<b>Superfamilia</b>	Penaeoidea
<b>Familia</b>	Penaeidae
<b>Genero</b>	<i>Farfantapenaeus</i>
<b>Especie</b>	<i>F. duorarum</i> (Burkenroad, 1939)

## **2.6 Características de reconocimiento:**

El tegumento es delgado, liso y translucido. El rostro presenta de 7 a 9 dientes dorsales, más el diente epigástrico y 2-3 ventrales con una media de 8/2. El cefalotórax en juveniles esta entre 8 y 22 mm (Pérez-Farfante, 1970). La cresta adrostral prominente, aguda y de la misma longitud que el surco adrostral.

La espina antenal es muy prominente y aguda. La espina hepática es pronunciada. El flagelo lateral de las anténulas es aproximadamente la mitad de la longitud del pedúnculo antenular y un poco más largo que el flagelo medio. El abdomen con cresta dorsal desde la mitad posterior de la cuarta somita hasta la sexta, en esta última, el extremo posterior de la cresta termina en una espina aguda.

El petasma de macho, presenta la costilla ventral ensanchada y doblada hacia la porción proximal, la parte distal esta armada en el borde libre con espinas pequeñas. En las hembras, el télico con el proceso anterior relativamente largo, el proceso posterior con una cresta media longitudinalmente corta, pero bien desarrollada, las placas laterales son amplias, con los labios unidos en la línea media y anteriormente divergente, dejando expuesta la punta de la erecta media del proceso posterior (Williams, 1984).

### **3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.**

Los artrópodos, para crecer, deben mudar. Para que ocurra la ecdisis es necesario que el exoesqueleto se descalcifique y durante este proceso también se descalcifican las estructuras relacionadas con la alimentación (desde los apéndices bucales hasta los oscículos del molino gástrico, que son responsables de la molienda de las entidades alimenticias que poseen estructuras duras). En el medio natural los camarones silvestres que se encuentran mudando dejan de realizar funciones normales de prensión, tránsito y molienda del alimento. Por lo tanto, para mantener el metabolismo, deben utilizar las grasas y azúcares almacenados para completar con éxito la ecdisis (Ceccaldi, 1997; Anger, 2001). En cambio, los camarones que se encuentran en proceso de domesticación, adaptados al alimento artificial, son capaces de mantener la función alimentaria pues se enfrentan con partículas blandas, fáciles de masticar y moler. Mantener en funcionamiento las estructuras relacionadas con el proceso alimentario implica que éste no cesa y que sólo se observará una disminución en la ingestión del alimento (Galindo, 2007).

#### **Hipótesis 1:**

- En los camarones silvestres se verán afectados los patrones de movimientos de las reservas y metabolitos durante la muda, al ingerir por primera vez una dieta artificial proporcionada experimentalmente, lo que le permitirá definir cambios en la frecuencia de la muda, y a la vez en el crecimiento, con respecto a los camarones cultivados adaptados a esta dieta.

Sabiendo que el colágeno es el encargado de la unión entre las células y es la proteína responsable de la formación de los tejidos conectivos y que está formado por una repetición de tres aminoácidos: prolina, hidroxiprolina y glicina (Eyre, 1987). Esta proteína ha sido señalada como la responsable de la textura del músculo en crustáceos (Misuta *et al.*, 1994). Como producto del uso de alimento balanceado la textura del músculo puede verse modificada debido a los cambios en la calidad proteica del alimento (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2003). La textura puede verse afectada también por la muda debido a la absorción de agua previa y posterior a la ecdisis. Es de esperarse entonces que los camarones silvestres presenten mayores concentraciones de colágeno, como indicador de una textura del músculo óptima, debido a que ingieren el conjunto idóneo de aminoácidos provenientes de las presas presentes en el medio.

#### **Hipótesis 2:**

- Entonces, el músculo del abdomen de los camarones silvestres cambiarán las concentraciones del colágeno, como indicador de los cambios de textura cuando los organismos sean alimentados durante dos meses con una dieta artificial 40% proteína animal. Los organismos cultivados durante dos generaciones (F2), presentarán concentraciones aún menores de colágeno, disminuyendo así la textura del músculo abdominal.

## **4. OBJETIVOS.**

### **4.1 Objetivos específicos fase I sobre frecuencia de muda:**

- Determinar y comparar la frecuencia de la muda en los camarones con origen silvestre y en proceso de domesticación (F2) alimentados con una dieta de 40% proteína animal, temperatura constante y mantenidos en el punto isosmótico de la especie (salinidad 22).
- Determinar el tiempo en el que los camarones rosados domesticados reducen la ingestión de alimento antes y después de la muda.

### **4.2 Objetivos específicos fase II sobre composición bioquímica:**

- Cuantificar las concentraciones de proteína, hemocianina, glucosa, acilglicéridos, colesterol en la hemolinfa así como la capacidad osmótica en relación a los estadios de muda para los camarones rosados silvestres y en proceso de domesticación.
- Analizar la composición bioquímica de la glándula digestiva del camarón rosado en relación a los diferentes estadios de muda para los camarones silvestres y en proceso de domesticación.
- Determinar y comparar los niveles de colágeno en músculo mediante la cuantificación del colágeno soluble en sal de los camarones silvestres y domesticados, en relación a los diferentes estadios de muda.

## 5. METODOLOGÍA:

### 5.1 Captura de los organismos silvestres:

Se realizaron 4 muestreos en el mes de febrero (2008) durante la temporada de nortes en la ciénaga de Sisal, Yucatán ( $21^{\circ}09'48''$  N,  $90^{\circ}01'65''$  W) y se recolectaron camarones rosados juveniles mediante el uso de atarrayas (fig. 2) durante las primeras horas de la noche, ya que las densidades de los mismos son mayores durante el periodo de oscuridad (Mier y Reyes *et al.*, 1997), se registró la salinidad y temperatura *in situ*. Los camarones fueron obtenidos vivos fueron traídos en agua de la misma ciénaga a la unidad de ecología de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI-Sisal) en tanques equipados con una bomba de aire para oxigenar el agua durante el traslado.



Fig. 2. Ubicación del sitio de muestreo Sisal, Yucatán (arriba). En la izquierda inferior se muestra el lanzamiento de la atarraya para las capturas, en la derecha inferior un camarón rosado silvestre capturado en el muestreo.

### **5.1.1 Aclimatación de los organismos silvestres control:**

Una vez en la Unidad de ecología, los camarones permanecieron durante toda la noche sin ser alimentados en tanques de 500 L con agua traída de la ciénaga con una temperatura promedio de 23.3°C y una salinidad de 11. A primeras horas de la mañana del día siguiente fueron tomados al laboratorio de la UMDI-Sisal para proceder a sus análisis bioquímicos y determinación del estadio de muda.

### **5.1.2 Aclimatación de los organismos silvestres con dieta artificial:**

Se realizó un muestreo a inicios de marzo 2008 y se recolectaron 150 individuos que fueron traídos en su propia agua en tanques hasta la unidad. El proceso de aclimatación se llevó a cabo en tinas de 500 L a lo largo de 15 días durante los cuales se elevó paulatinamente la temperatura hasta 28.0°C y una salinidad de 22, manteniendo el fotoperiodo en 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Los camarones fueron alimentados dos veces al día con una dieta de 40% proteína animal estandarizada como alimento de crecimiento óptimo, bajo la formulación realizada por la Dra. Gabriela Gaxiola (Tabla 1).

**Tabla 1. Formulación de la dieta de juveniles de *Farfantepenaeus duorarum* para domesticación con 40% proteína animal.**

<b>Ingrediente</b>	<b>% total</b>	<b>% Proteína</b>	<b>% Lípidos</b>	<b>% CBH</b>
<b>Harina de Pescado</b>	46.00	29.44	3.68	-
<b>Harina de calamar</b>	10.00	7.155	0.52	1.135
<b>CPSP</b>	5.00	3.5	1.00	-
<b>Aceite Hígado de Bacalao</b>	3.00	-	2.00	-
<b>Almidón</b>	20.00	-	-	20.00
<b>Lecitina de soya</b>	1.00	-	1.00	-
<b>Colesterol</b>	0.50	-	0.50	-
<b>Vitaminas Roche</b>	1.50	-	-	-
<b>CMC</b>	1.00	-	-	-
<b>Relleno</b>	12.00	-	-	-
<b>Total</b>	100.00	<b>40.095</b>	8.70	21.135

## **5.2 Obtención de los Organismos en Cautiverio:**

Se obtuvieron descendientes F2 en cautiverio a partir del banco de reproductores de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI-Sisal). Los organismos fueron llevados hasta tener un peso promedio de 4 gramos alimentados con una dieta de 40% proteína animal. Dicha F2 se utilizó para los análisis de frecuencia de muda y análisis bioquímicos para organismos domesticados. Estos fueron mantenidos a salinidad de 22 y temperatura de 28°C.

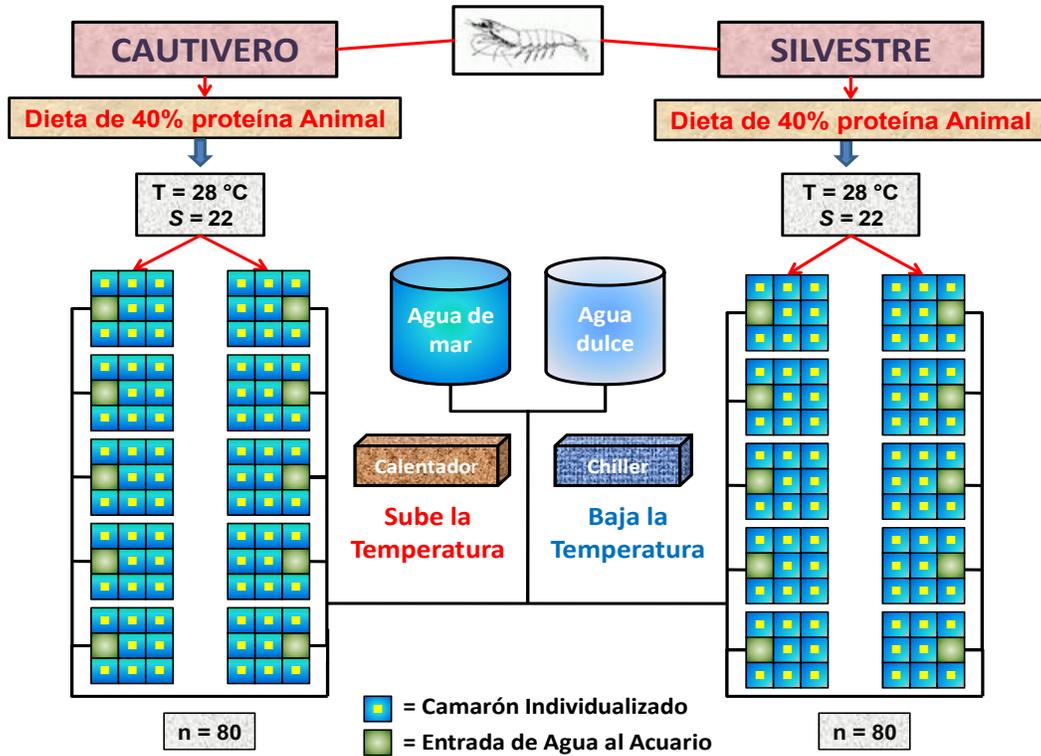
## **5.3 Diseño Experimental:**

### **5.3.1 Fase 1: frecuencia de muda en camarones silvestres y domesticados**

El diseño experimental para determinar la frecuencia de muda de los camarones rosados de orígenes silvestres y domesticados se puede observar en la figura 3. El dispositivo consistió en un sistema cerrado de recirculación del agua, para mantener una salinidad y temperatura constante. Los camarones permanecieron en forma individual en 10 acuarios con 9 divisiones (10 x 15 x 20 cm), donde una división era utilizada para la entrada del agua y otra división con aireación para oxigenar el agua del sistema. Se registró el peso total (g) y la longitud total (cm) al inicio del experimento. Los animales se alimentaron tres veces al día con una dieta de 40% proteína animal (Tabla 1) al 20% del peso corporal. Se sifoneaba diariamente cada cuadrante de los acuarios para eliminar restos de comidas y heces de los camarones y además contaban con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

#### **5.3.1.1 Temperatura y salinidad constante:**

La temperatura permaneció constante en 28°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ), mediante el uso de calentadores durante el término de la época de nortes y luego se utilizó un refrigerante eléctrico conocido como “Chiller” para disminuir la temperatura a inicios de la época de la seca, donde la temperatura externa a la unidad experimental registra un aumento considerable (máxima de 40°C).



**Fig. 3.** Diseño experimental (arriba) y dispositivo experimental (abajo) realizado para determinar frecuencia de muda de los camarones silvestres con la dieta artificial y domesticados (F2). (Nótese en el diseño experimental el cuadrante de la entrada del agua que contaba además de aireación, individualizados y el sistema de recirculación).

Por otro lado la salinidad se mantuvo constante en 22, punto isosmótico para los camarones peneidos (Lemaire *et al.*, 2002), diariamente se hacía un recambio de agua parcial de 10 % para reponer agua que se perdía por evaporación, sifoneo así como para controlar los niveles de amonio producto de la residuos de los organismos y de la comida que no era consumida. Este recambio se hizo mediante la combinación de agua dulce y agua de mar para lograr la mezcla a dicha salinidad. Se llevó un registro diario de la salinidad y la temperatura de los acuarios tres veces al día, durante la mañana, mediodía y la tarde mediante el uso de un salinómetro (modelo YSI 30).

#### **5.3.1.2 Registro de mudas y biometría:**

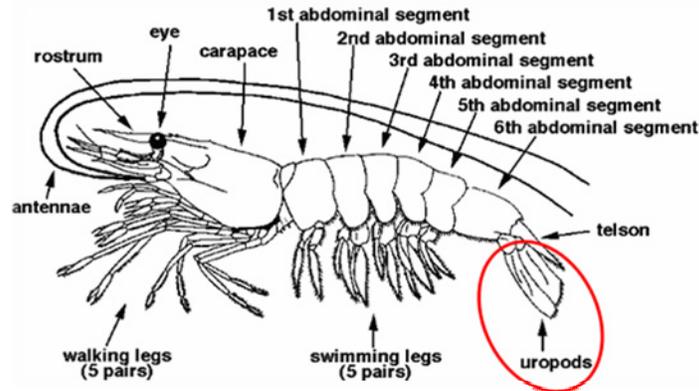
Se realizó una inspección diaria para los 80 cuadrantes de los acuarios para registrar el día que mudó cada camarón, posteriormente se retiró las exuvias que se encontraron. El registro de la primera exuvia se tomó como muda cero, según Galindo (2007), y a partir de ésta se contó el tiempo en que transcurren las demás mudas sucesivamente, para estimar la duración de los ciclos de mudas en días. Se tomaron parámetros biométricos semanalmente del peso total (g), longitud total (cm) y longitud del cefalotórax (mm), para relacionarlos con la frecuencia de muda.

#### **5.3.1.3 Determinación de los estadios de muda:**

Según la clasificación de los estadios de muda que propusieron Drach & Tchernigovtzeff (1967) se definen 5 estadios principales de muda en el camarón *Palaemon serrtus*, los cuales están presentes en otros crustáceos. Los estadios se definen secuencialmente como A, B, C, D, y E con varias subdivisiones. Donde A y B son estadios de postmuda, C es fase de intermuda, D es la fase de premuda y E es la muda o ecdisis.

Mediante la observación del desarrollo setal del los urópodos (Fig. 4) y un patrón marcado de los mismos Aquacop *et al.* (1975) en *Litopenaeus merguensis*, propone una modificación en las subdivisiones de la premuda (D) con la siguiente descripción: A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>; las cuales son estadios de post-muda temprana y tardía, C que es intermuda; D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub>, (D<sub>1</sub>' , D<sub>1</sub>'' , D<sub>1</sub>''') y D<sub>2</sub> para estadios de pre muda y E

donde ocurre la ecdisis. Para este estudio se tomó esta modificación de Aquacop *et al.* (1975) que ha sido usado en trabajos anteriores relacionados con muda en *Litopenaeus vannamei* (Galindo, 2007).



**Fig. 4. Partes de un camarón peneido, en rojo se muestra los urópodos, parte que se utiliza para determinación del estadio de muda.** (Tomado de: *Shrimp of South Carolina* por J. David Whitaker, Office of Fisheries Management, South Carolina Department of Natural Resources).

### 5.3.2 Consumo de alimento antes y después de la muda.

Basado en la metodología modificada de Galindo (2007) se procedió a evaluar la tasa de ingestión diaria en organismos juveniles domesticados (F2) con peso promedio de 4 g, siguiendo el protocolo de aclimatación previo al experimento y mismas condiciones experimentales (ver el punto 5.1.2). Se alimentó tres veces al día (8, 14 y 20 horas) por 10 días con el 20% de su peso corporal. Después de 2 horas de suministrado el alimento se retiró el alimento no consumido con un sifón plástico y se colocó en frascos de 500 ml, tomando cuidado de no tocar y estresar a los individuos, y se extrajeron las heces con una micropipeta Pasteur.

Las muestras de agua con alimento se filtraron con filtros Whatman GF/C de 1.2  $\mu\text{m}$  de apertura de poro y 55 mm de diámetro previamente pesados en una balanza analítica y se pusieron a secar en un horno a 60°C por un lapso de 48 horas. Posteriormente estos filtros se volvieron a pesar en la balanza analítica para obtener el peso seco. La cantidad de alimento total ingerido por individuo se determinó a partir de la expresión:

$$A_i = (A_0 - A_1)$$

Donde,  $A_i$  es el alimento ingerido,  $A_0$  es el peso seco (g) del alimento ofrecido,  $A_1$  es el peso seco (g) del alimento recuperado del acuario.

Una prueba de lixiviación del alimento con las mismas condiciones experimentales fue realizada para determinar la pérdida del alimento al estar en contacto con el agua por dos horas y que no es ingerido por los organismos, con los valores obtenidos se ajustó el peso del alimento recuperado. El registro de las exuvias fue comparado con el consumo del alimento horas antes y horas después de que el camarón haya mudado, y determinar si en realidad estos dejan de comer cuando mudan o lo continúan haciendo.

### **5.3.3 Fase II: análisis bioquímicos**

Diversos autores han utilizado la composición bioquímica como parámetro de evaluación de calidad que permite monitorear las condiciones fisiológicas en camarones expuestos a diferentes condiciones ambientales. Los análisis se llevan a cabo tanto en la sangre como en el hepatopáncreas (Palacios *et al.*, 1999; Palacios *et al.*, 2000; Sánchez *et al.*, 2001; Pascual *et al.*, 2003; Arcos *et al.*, 2003; Pascual *et al.*, 2004; Rosas *et al.*, 2004; Pascual *et al.*, 2006; Rosas *et al.*, 2007).

#### **5.3.3.1 Material biológico:**

Se procesaron en primera instancia 120 camarones juveniles silvestres de la Ciénaga de Sisal que fueron llamados “control” para determinar sus condiciones fisiológicas en su hábitat natural, además se procesaron 60 camarones juveniles de origen silvestre y 75 domesticados, que se mantuvieron durante 55 días alimentados con una dieta de 40% de proteína animal y con una temperatura de 28°C más un periodo de aclimatación de 15 días después de su captura en su hábitat natural. Los camarones fueron extraídos del área experimental en hieleras que contenía agua de la misma salinidad, pero con una temperatura de 5°C por debajo de la que tenían los acuarios, con la finalidad de reducir la actividad de los

individuos y el estrés producto de la captura y el transporte hasta el laboratorio. Este transporte se realizó con mucho cuidado evitando de producir movimientos bruscos, una vez en el laboratorio se dejaron pasar unos 10 minutos para que los camarones se acondicionaran a la intensidad de luz y las condiciones del lugar.

### **5.3.3.2 Procedimiento de extracción:**

Sin tratar de causar estrés a los organismos, se extrajo la hemolinfa pinchando con una jeringa el seno ventro-lateral del abdomen del camarón localizado en el primer segmento abdominal según el método de Pascual *et al.* (2007). La jeringa que se utilizó contenía aproximadamente 100  $\mu$ L de una solución anticoagulante fría (solución isotónica para camarón SIC: NaCl 450 mM, 10 CaCl mM, KCl 10 mM, Hepes 10 mM, 10 mM EDTA-Na<sub>2</sub>, 1033 mOsm/kg, pH 7.3; 2-8°C) preparada de acuerdo a Vargas-Albores *et al.* (1993) y justo antes de la extracción de la sangre, la solución anticoagulante se descartó completamente.

Se trató de mantener la muestra de hemolinfa lo más frío posible, esto para evitar un desencadenamiento del proceso de coagulación del tejido sanguíneo desde el momento de extraer la hemolinfa por el contacto con el aire y con el cambio de temperatura. De esta muestra se tomaron submuestras para evaluar los metabolitos sanguíneos (glucosa, colesterol, acilglicéridos y proteínas totales solubles) y otra submuestras fue utilizada para las reservas proteicas mediante la medición de hemocianina y la presión osmótica. Un diagrama del procedimiento de análisis bioquímico puede ser observado en la figura 5.

El hepatopáncreas se extrajo de los organismos mediante una incisión en el cefalotórax y se procedió a pesarlo ( $\pm$  0.2 g.). Una parte del hepatopáncreas se separó para determinar triglicéridos y proteínas, la otra muestra de entre 0.02 a 0.06 g de dicha glándula digestiva se destinó para determinar glucógeno. Ambas muestras fueron colocadas en tubos Ependorf de 1.5 ml marcados y fueron colocadas en nitrógeno líquido para su congelación y después se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de -40°C para su posterior procesamiento. Se

registró en todos los organismos el peso total (g) a través de una balanza digital y la longitud del cefalotórax (mm) con un vernier convencional (como referencia de aumento de tamaño).



Fig. 5. Diagrama de procedimiento en laboratorio de la extracción y lectura en sangre y glándula digestiva, para determinar la composición bioquímica y su relación con los estadios de muda. (Nótese algunos de los instrumentos y equipos utilizados para las lecturas)

### 5.3.3.3 Procesamiento de muestras en sangre:

#### 5.3.3.3.1 Capacidad osmótica:

Se extrajo 20  $\mu\text{L}$  de la hemolinfa, la cual se colocó en un micro-osmómetro modelo *3Mo Plus*. También se midió la presión osmótica del agua donde se transportaron los organismos antes de su procesamiento. La capacidad osmótica se calculó en todos los estadios como la diferencia entre la presión osmótica de la hemolinfa y la presión osmótica del medio externo.

#### **5.3.3.3.2 Hemocianina:**

Se diluyó 10  $\mu\text{L}$  de muestra en 990  $\mu\text{L}$  de agua destilada en una celda para espectrofotómetro y se leyó en un espectrofotómetro con lámpara de UV modelo *Genesys 10 UV*, previamente calibrado, a una longitud de onda de 335 nm, donde la concentración de hemocianina en  $\text{mmol/L}$ , se determinó dividiendo la absorbancia entre el coeficiente de extinción el cual es 17.26 y multiplicado por el factor de dilución que corresponde a 100 (Chen *et al.*, 1993).

#### **5.3.3.3.3 Determinación de la composición bioquímica en sangre:**

Se extrajo el plasma de la hemolinfa, previamente diluido en el SIC-EDTA frío, por cada parte de hemolinfa se utilizaron dos partes del anticoagulante frío. Luego se centrifugó a 2500 rpm durante 5 min a 4°C y después se tomó el plasma o sobrenadante. Las determinaciones se realizaron con 10  $\mu\text{L}$  de plasma mezclado con 200  $\mu\text{L}$  de la solución reactiva de cada metabolito en un pozo de una microplaca. Se consideró un blanco para eliminar la absorbancia presente en las sustancias ajenas a la reacción colorimétrica del metabolito con el reactivo, para todos los metabolitos el blanco fue el SIC-EDTA. La concentración final de cada metabolito es dada en  $\text{mg/ml}$ , y se calculó por medio de regresión lineal de una curva patrón, datos que se sustituyeron en la ecuación de la recta.

- **Glucosa:**

La glucosa fue medida utilizando 10  $\mu\text{L}$  de plasma y 200  $\mu\text{L}$  del reactivo del kit comercial de glucosa (ELITech GPSL-5505). De las muestras de cada organismo se realizaron tres repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a través de un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 500 nm después de 3 minutos de haber sido incubadas las muestras a 37°C.

- **Acilglicéridos:**

Los acilglicéridos fueron medidos utilizando 10  $\mu\text{L}$  de plasma y 200  $\mu\text{L}$  del reactivo del kit comercial de acilglicéridos (ELITech TGML-0427). De las muestras de cada organismo se realizaron tres repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a

través en un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 500 nm después de 7 minutos de haber sido incubadas las muestras a 37°C.

- ***Colesterol:***

El colesterol fue medido utilizando 10 µL de plasma y 200 µL del reactivo del kit comercial de colesterol (ELITech CHSL-0507). De las muestras de cada organismo se realizaron tres repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a través en un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 500 nm después de 6 minutos de haber sido incubadas las muestras a 37°C.

- ***Proteínas totales solubles:***

Las proteínas totales solubles fueron medidas según el método de Bradford (1976) utilizando 10 µL de plasma y 200 µL del reactivo de proteínas del kit de BioRad (cat. 500-0006). De las muestras de cada organismo se realizaron tres repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a través en un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 595 nm después de 5 minutos de haber colocado el reactivo. Se realizaron en algunos casos algunas diluciones, si las muestras estaban muy concentradas para alcanzar los valores necesarios.

#### **5.3.3.3.4 Procesamiento de muestras en glándula digestiva:**

Durante el ciclo de la muda, los camarones acumulan en la glándula digestiva o hepatopáncreas reservas de glucógeno, lípidos y proteínas, que son utilizadas para la creación de su exoesqueleto y en la síntesis de nuevos tejidos (Galindo, 2007). Renaud (1949) menciona que estas reservas son movilizadas de diferentes maneras a través de los diversos estadios de muda.

#### **5.3.3.3.4.1 Glucógeno:**

Es el polisacárido de reserva energética en los animales, en camarones se almacena en el hepatopáncreas, se utilizó el método de extracción de Carroll *et al.* (1955) y puede encontrarse en cantidades menores en músculo. El glucógeno hepático sirve en gran parte para exportar unidades de hexosa para la conservación de la glucosa sanguínea, en particular en condiciones de ayuno, mientras que el glucógeno muscular actúa como una fuente fácil de disponibilidad de unidades de hexosa para la glucólisis dentro del propio músculo.

En la determinación del glucógeno se usó la muestra del hepatopáncreas de entre 0.02 a 0.06 g, el cual se homogenizó con 200 µL de ácido tricloroacético (TCA) al 5% por unos minutos. Posteriormente se centrifugaron a 7000 rpm durante 6 minutos y se tomaron 100 µL del sobrenadante y se le colocarán 500 µL de etanol al 95% y se homogenizó con la ayuda de una pipeta.

Los tubos Eppendorf (1.5 ml) con la muestra se incubaron en una estufa a 37 °C por tres horas y posteriormente se centrifugaron a 7000 rpm durante 15 minutos, el sobrenadante se desechó y el pellet restante se disolvió agregando 200 µL de fenol al 5%, 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, posteriormente se preparó blanco, estándar y las densidades ópticas fueron leídas 200 µL de muestra, también el blanco y estándar, en una microplaca por triplicado a través de un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 490 nm.

La concentración final del glucógeno es expresado en  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tejido, y es determinado a través de la ecuación de Carroll *et al.* (1955) que se presenta a continuación:

$$\text{Glucógeno} = \frac{\text{DO promedio de muestra} - \text{DO promedio blanco}}{\text{DO promedio estándar}} * \text{Estándar} * \frac{\text{vol. Extracto}}{\text{peso del tejido}} * 0.9 * \text{FD}$$

Donde DO son las densidades ópticas, el estándar es el de glucosa (1mg/1ml), el volumen de extracto es 0.1 ml, 0.9 es el factor de conversión de glucosa a valores de glucógeno, FD es el factor de dilución (si es necesario hacerla para disminuir su concentración).

#### **5.3.3.3.4.2 Determinación de la composición bioquímica en hepatopáncreas:**

La muestra se homogenizó en 500 ml de agua libre de pirógeno por unos minutos, de este crudo se tomó una alícuota para determinar el colesterol y los acilglicéridos. Luego se centrifugó el resto de las muestras a 2500 rpm durante 20 min a 4°C y se tomó el sobrenadante de estas para determinar las proteínas solubles y la glucosa. De cada metabolito se usó 10 µL del sobrenadante mezclado con 200 µL de la solución reactiva de cada metabolito en un pozo de una microplaca. Se consideró un blanco para eliminar la absorbancia presente en las sustancias ajenas a la reacción colorimétrica del metabolito con el reactivo, para todos los metabólitos el blanco fue el agua libre de pirógenos. La concentración final de cada metabolito es dada en  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tejido, y se calculó por medio de regresión lineal de una curva patrón, datos que se sustituyeron en la ecuación de la recta.

- **Glucosa:**

La glucosa fue medida utilizando 10 µL del crudo homogenizado en agua libre de pirógenos centrifugado y 200 µL del reactivo del kit comercial de glucosa (ELITech GPSL-5505). De las muestras de cada organismo se realizaron tres repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a través de un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 500 nm después de 3 minutos de haber sido incubadas las muestras a 37°C.

- **Acilglicéridos:**

Los acilglicéridos fueron medidos utilizando 10 µL del crudo homogenizado en agua libre de pirógenos y 200 µL del reactivo del kit comercial de acilglicéridos (ELITech TGML-0427). De las muestras de cada organismo se realizaron tres

repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a través en un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 500 nm después de 7 minutos de haber sido incubadas las muestras a 37°C.

- **Colesterol:**

El colesterol fue medido utilizando 10 µL del crudo homogenizado en agua libre de pirógenos y 200 µL del reactivo del kit comercial de colesterol (ELITech CHSL-0507). De las muestras de cada organismo se realizaron tres repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a través en un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 500 nm después de 6 minutos de haber sido incubadas las muestras a 37°C.

- **Proteínas totales solubles:**

Las proteínas totales solubles fueron medidas según el método de Bradford (1976) utilizando 10 µL del homogenizado en agua libre de pirógenos centrifugado y 200 µL del reactivo de proteínas del kit de BioRad (cat. 500-0006). De las muestras de cada organismo se realizaron tres repeticiones y las densidades ópticas fueron leídas a través en un lector de microplaca (modelo BioRad Benchmarck Plus) a una longitud de onda de 595 nm después de 5 minutos de haber colocado el reactivo. Se realizaron en algunos casos algunas diluciones, si las muestras estaban muy concentradas para alcanzar los valores necesarios.

#### **5.4 Procesamiento de muestras para el análisis en músculos:**

##### **5.4.1 Colágeno:**

Según Misuta *et al* (1994), la importancia del contenido total de colágeno es un factor que determina la textura y firmeza del tejido muscular, por lo que en camarones silvestres y en proceso de domesticación (F2) se tomaron muestras de tejido muscular de la parte central del abdomen, para evitar tomar la parte muy cercana al hepatopáncreas y muy cerca a los urópodos, para evitar efecto de las enzimas en una sección y de movimiento en otra. Al ser cortado el abdomen, se enrollaron en papel de aluminio etiquetados y se colocaron en nitrógeno líquido

por unos minutos, luego fueron extraídos del nitrógeno y mantenidos en un congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$ , hasta su posterior análisis.

Las muestras de músculos se analizó a través del análisis de la actividad del colágeno basados en las técnicas de Sivakumar y Chandrakasan (1998) y Torres-Arreola *et al.* (2008) con ciertas modificaciones. Se pulearon 3 individuos al azar correspondiente al mismo estadio, luego los abdómenes fueron cortados en trozos pequeños, se lavaron con agua destilada y se homogenizó con 3 volúmenes de Urea 6 M en acetato de sodio ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) con pH 6.8 con ayuda de un homogenizador de tejidos durante 2 minutos, luego dejándose en agitación magnética constante por 24 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ . Lo anterior tiene como finalidad primaria remover proteoglucanos y proteínas no colagenolíticas presentes en el músculo inicial. Una vez concluida la extracción, se centrifugó a  $10,000 \times g$  por 40 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  en una centrifuga refrigerada y el precipitado obtenido fue extraído o purificado secuencialmente 24 horas con buffer neutro (Tris 0.05 M + NaCl 1M, pH 7.2), 24 horas con ácido acético 0.5 M y 24 horas con pepsina (10 mg/g tejido) para obtener la fracción soluble en sal, soluble en ácido, soluble en pepsina y fracción insoluble, respectivamente.

La pureza de las soluciones de colágeno fue analizada por electroforesis en gel de duodesil sulfato de sodio-poliacrilamida basándose en el método de Laemmli (1970). Se utilizaron geles de poliacrilamida al 7.5%, se inyectaron  $5 \mu\text{g}$  de muestra y se usó  $10 \mu\text{l}$  de un marcador molecular de alto rango (*Kaleidoscope Standar BIO RAD*). Los geles fueron teñidos con azul de Coomasie R-250 y desteñidos en una solución de metanol: agua: ácido acético (5:4:1, v/v/v).

## **5.5 Análisis Estadístico:**

### **5.5.1 Frecuencia de muda:**

Para el desarrollo de la parte de frecuencia de muda en animales silvestres con dieta artificial y domesticados (F2) se trabajaron los datos obtenidos promediados por cada ciclo de muda, para observar la periodicidad de cada ciclo de muda

sucesiva. Se realizó un análisis de covarianza con respecto al peso, mediante el programa estadístico STATISTICA versión 6, para ver efectos de origen con el peso, y se determinó la normalidad y homogeneidad de los datos. Las frecuencias de los ciclos determinado en cada una de las ecdisis sucesivas se graficaron utilizando histogramas de frecuencias.

### **5.5.2 Consumo de alimento antes y después de la muda.**

Se graficaron los valores de consumo de alimento en los estadios de premuda y postmuda con una curva promedio de todos los organismos que permite inferir el momento en que los camarones reducen su alimento antes de la muda y el momento en el que se reanuda la actividad alimentaria. Se calculó el error estándar para determinar la variación en las horas de consumo de los organismos.

### **5.5.3 Análisis bioquímicos en silvestres con dieta artificial y domesticados:**

Los datos obtenidos en los análisis bioquímicos, tanto en sangre como en hepatopáncreas en ejemplares silvestres (grupo 1; control), con dieta artificial (grupo 2) y domesticados (F2; grupo 3) se promediaron considerando cada uno de los estadios de muda y se procedió a graficarlos con su respectivo error estándar. Los valores obtenidos de capacidad osmótica, glucosa, acilglicéridos, colesterol, hemocianina, glucógeno y proteínas totales para los diferentes estadios de muda, fueron analizados de forma univariada a través de análisis de varianza de una vía a través del programa STATISTICA versión 6. Para verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se aplicaron pruebas de Hartley, Cochran y Bartlett a cada lote de datos.

Las Funciones Empíricas Ortogonales (FEOs, en lo sucesivo), una técnica usada para identificar patrones estadísticos de variación simultánea de los campos observados (Von Storch & Zwiers, 2001). Las series de datos se presentan como pares ordenados  $\overset{i}{x}_i = (x_i, y_i)$  para  $i = 1, K, N$ . Dado que el propósito del análisis es el de encontrar la magnitud de variabilidad contenida en la serie, se trabaja con las

anomalías de cada serie y se generan los vectores que mejor se aproximen a estas series para optimizar cada función. Calculamos primero las anomalías  $\overset{!}{x}_i$  de cada serie asociada a cada punto  $(x_i, y_i)$  mediante:

$$\overset{!}{x}_i = x_i - \overset{!}{\mu}_i, \quad (1)$$

en donde  $\overset{!}{\mu}_i$  es el promedio de la  $i$ -ésima serie. Escribimos las anomalías  $\overset{!}{x}_i$  como combinación lineal de  $k$  vectores linealmente independientes  $\overset{!}{x}_i = \sum_{j=1}^k \alpha_j \overset{!}{e}_j$ .

Los vectores  $\overset{!}{e}_j$  los elegimos ortogonales, tales que minimicen el error cuadrático medio al hacer la aproximación, es decir se debe minimizar la expresión:

$$r^2 = \sum_i \left( \overset{!}{x}_i - \sum_{j=1}^k \alpha_j \overset{!}{e}_j \right)^2 \quad (2)$$

Los vectores  $\overset{!}{e}_j$  son las llamadas FEOs y los coeficientes  $\alpha_j$  son los llamados coeficientes de los FEOs.

### 5.5.3.1 Construcción de los funciones empíricas ortogonales.

El primer paso es encontrar la primera FEO, sin pérdida de generalidad introduciremos la restricción  $\|\overset{!}{e}_1\| = 1$ , tal que

$$r_1 = \varepsilon \left( \left\| \overset{!}{x}_i - \langle \overset{!}{x}_i, \overset{!}{e}_1 \rangle \overset{!}{e}_1 \right\|^2 \right) \quad (3)$$

sea mínima, en donde  $\langle \overset{!}{x}_i, \overset{!}{e}_1 \rangle$  indica el producto interno entre los vectores  $\overset{!}{x}_i$  y  $\overset{!}{e}_1$ .

De este modo  $r_1$  describe la proyección del vector aleatorio  $\overset{!}{x}_i$  sobre un subespacio unidimensional generado por  $\overset{!}{e}_1$ . Notemos que minimizar  $r_1$  es equivalente a maximizar la varianza de  $\overset{!}{x}_i$ , la cual está contenida en éste subespacio pues  $r_1$  lo podemos describir como

$$r_1 = \varepsilon \left( \|x_i^r\|^2 - 2 \langle x_i^r, e_1^r \rangle^* x_i^r + e_1^r + \langle x_i^r, e_1^r \rangle^* \langle x_i^r, e_1^r \rangle \right), \quad (4)$$

en donde los operadores  $*$  indican conjugación compleja y  $+$  indica transpuesta conjugada de la matriz,  $r_1$  se puede reescribir

$$r_1 = \varepsilon \left( \|x_i^r\|^2 - \langle x_i^r, e_1^r \rangle^* \langle x_i^r, e_1^r \rangle \right) = \text{Var}(x_i^r) - \text{Var}(\langle x_i^r, e_1^r \rangle), \quad (5)$$

en donde la varianza del vector aleatorio  $x_i^r$  esta definida como la suma de las varianzas de cada uno de sus elementos, notemos que  $\text{Var}(\langle x_i^r, e_1^r \rangle) = e_1^r + \Sigma e_1^r$ , en donde  $\Sigma$  es la matriz de covarianza de  $x_i^r$ . Minimizando ahora  $r_1$  sujeto a la restricción  $\|e_1^r\| = 1$  obtenemos

$$\frac{d}{de_1^r} \left[ e_1^r + \Sigma e_1^r + \lambda (e_1^r + e_1^r - 1) \right] = 2\Sigma e_1^r + 2\lambda e_1^r = 0, \quad (6)$$

en donde  $\lambda$  es el multiplicador de Lagrange asociado a la restricción  $\|e_1^r\| = 1$ . Esta ecuación nos proporciona la siguiente información:  $e_1^r$  es un eigenvector con correspondiente eigenvalor  $\lambda$  de la matriz de covarianza  $\Sigma$ . Sin embargo,  $\Sigma$  es una matriz hermitiana por construcción, por lo tanto tendrá N eigenvectores. Entonces para minimizar  $r_1$  elegiremos el eigenvector que maximice

$$\text{Var}(\langle x_i^r, e_1^r \rangle) = e_1^r + \Sigma e_1^r = e_1^r + \lambda e_1^r = \lambda. \quad (7)$$

Esto significa que  $r_1$  es minimizado cuando  $e_1^r$  es el eigenvector de  $\Sigma$  asociado al eigenvalor más grande  $\lambda$ . Este vector es el primer FEO. El segundo FEO se construye trivialmente usando la descomposición de Gram-Schmidt (Wunsch, 1996) por ejemplo: la cantidad a minimizar para el segundo FEO será

$$r_2 = \varepsilon \left( \left\| x_i^r - \langle x_i^r, e_1^r \rangle e_1^r - \langle x_i^r, e_2^r \rangle e_2^r \right\|^2 \right), \quad (8)$$

sujeto a la restricción  $\|e_2^r\|=1$ . Después se sigue el mismo procedimiento. También es trivial notar que el resultado para  $e_2^r$  será el eigenvector de  $\Sigma$  que corresponde al eigenvalor más grande  $\lambda_2$ . Notemos que el proceso de Gram-Schmidt tiene un significado físico importante, para construir el segundo modo, al vector de anomalías se le extrae la componente que este vector tiene sobre  $e_1^r$ , además los efectos de  $e_1^r$  y  $e_2^r$  serán independientes, y por ser  $\Sigma$  hermitiana todos sus eigenvectores  $e_i^r$  serán ortogonales.

Los modelos expresaron gráficos con el patrón de variabilidad conjunta en dos modos, donde el modo 1 correspondió al 85% de todos datos y el modo 2 al 15% de los datos conjuntos.

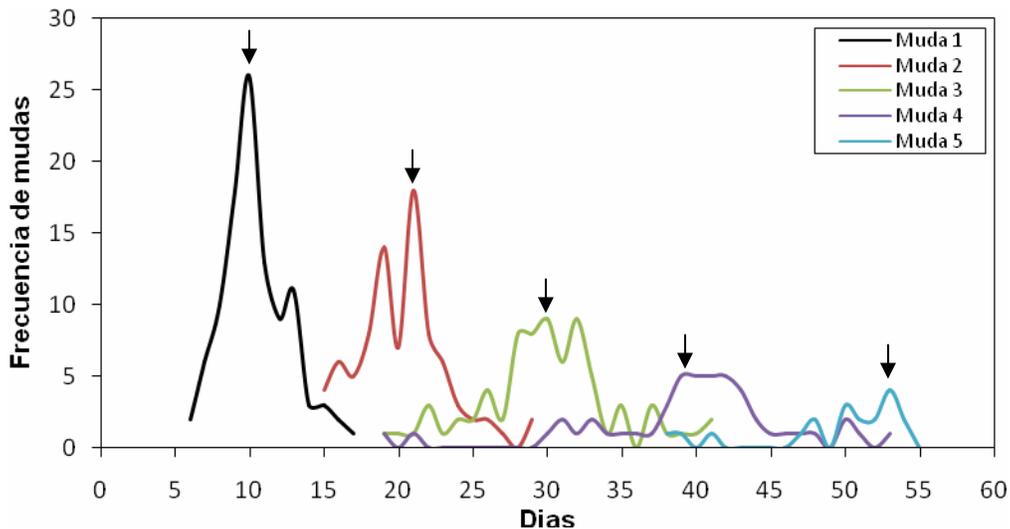
#### **5.5.4 Análisis de colágeno en músculo:**

Los datos obtenidos del patrón electroforético (gel de poliacrilamida) de las fracciones del colágeno del abdomen se analizaron mediante la comparación visual del gel del colágeno soluble en sal y colágeno soluble en pepsina para apreciar las diferencias en cuanto al peso molecular de las bandas obtenidas entre los camarones silvestres y los domesticados (F2).

## 6. RESULTADOS.

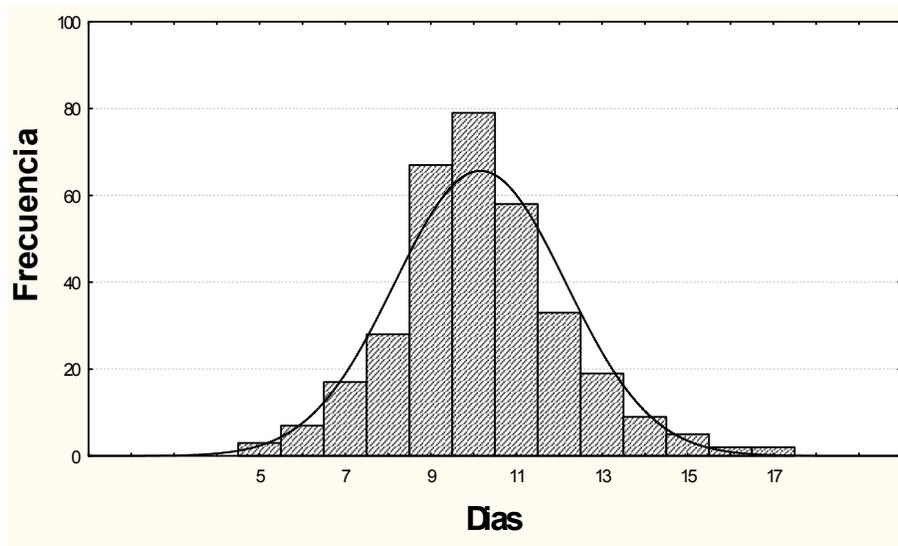
### 6.1 Frecuencia de muda en organismos silvestres con dieta artificial y domesticados:

La ocurrencia de mudas para organismos silvestres de camarones rosados juveniles a partir de un peso inicial promedio de 4 g y alimentados con una dieta de 40% proteína animal (Tabla 1), mantenidos a salinidad de 22 y temperatura de 28°C durante todo el periodo experimental se muestra en la figura 6. La duración del ciclo de muda mostró un intervalo entre 5 y 17 días. Se observó que una gran proporción de los individuos mudan al mismo tiempo o por lo menos en el mismo día si lo vemos desde la perspectiva de días continuos.



**Fig. 6. Ocurrencia de ecdisis en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres mantenidos en condiciones experimentales (ver texto). Las flechas indican las frecuencias máximas de ocurrencia (modas) de sucesivos ciclos de muda.**

La frecuencia de todos los ciclos de las mudas en el experimento con camarones silvestres con la dieta artificial, presentó un comportamiento normal teniendo una mayor ocurrencia alrededor de 10.11 días (Fig. 7). El total de mudas registradas y recolectadas diariamente a lo largo del experimento se muestra en la tabla 2. Los datos presentados son independientes del día de registro, del individuo y del ciclo de muda.



**Fig. 7.** Histograma que presenta el total de las frecuencias de los eventos de mudas de *Farfantepenaeus duorarum* silvestres mantenidos en condiciones experimentales (ver texto).

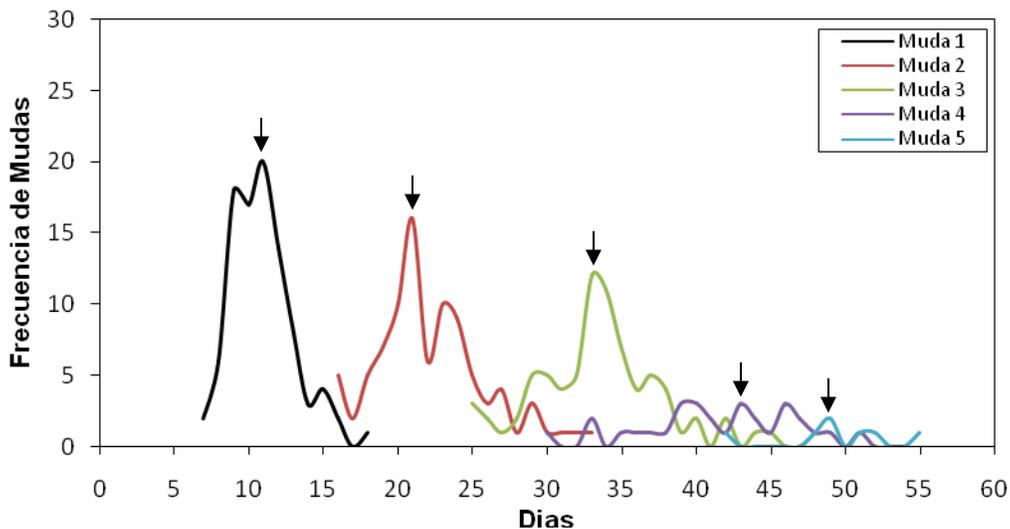
Los datos registrados en los organismos silvestres mostraron que no hay diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la duración del ciclo de muda entre ciclos de mudas consecutivos, y el 50% de los eventos se concentraron a menos de una desviación estándar de distancia del promedio.

**Tabla 2.** Resumen de las mudas en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres y domesticados (F2) alimentados con una dieta de 40% proteína animal y mantenidos a una temperatura de 28°C y salinidad de 22.

Registros y Datos	Silvestres	Domesticados
Número de mudas totales	316	274
Días de experimento	55	55
Promedio de días del ciclo de muda	10.11	11.39
Desviación estándar (días del ciclo de muda)	2.03	2.15
Duración del ciclo de muda más corto (días)	5	7
Frecuencia del ciclo de muda más largo	7	5
Moda: duración del ciclo más frecuente (días)	10	11
Frecuencia del ciclo de muda que más veces ocurrió durante el experimento	72	59

Se observó que existe un aumento en la ganancia de peso diario de 0.028 g/día (como tasa de crecimiento absoluta) para los camarones silvestres que se alimentaron con la dieta artificial.

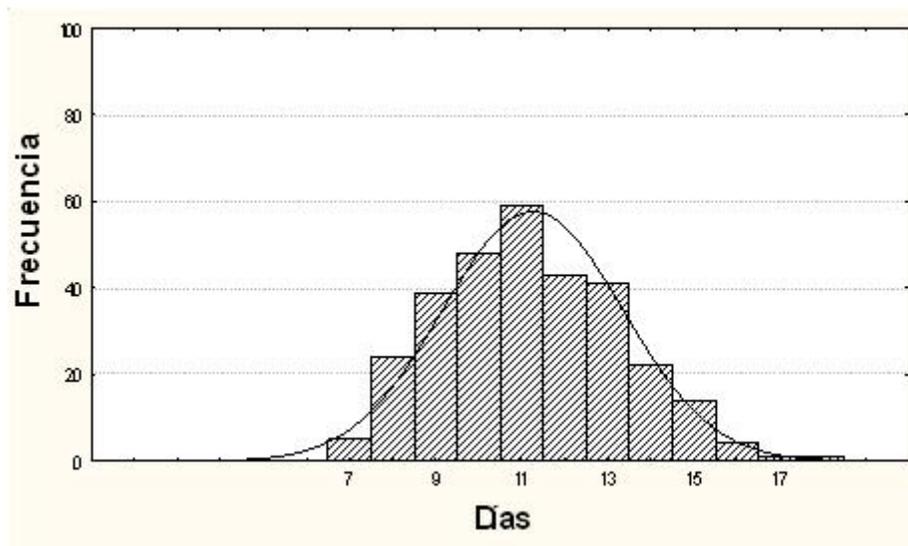
La ocurrencia de mudas para organismos domesticados (F2) de camarones rosados juveniles a partir de un peso inicial promedio de 4 g y alimentados con una dieta de 40% proteína animal, mantenidos en una salinidad 22 y temperatura de 28°C durante todo el periodo experimental se muestra en la figura 8. La duración del ciclo de muda se presentó en el intervalo de 7 a 18 días. De igual manera, existe una proporción de camarones que mudan al mismo tiempo o por lo menos en el mismo día tal como ocurre con los silvestres, y de igual manera también hay quienes mudan más rápido con respecto a otros logrando alcanzar hasta una muda más con respecto a otro camarón que ha mudado una sola vez.



**Fig. 8. Ocurrencia de ecdisis en *Farfantepenaeus duorarum* domesticados (F2) mantenidos en condiciones experimentales (ver texto). Las flechas indican las frecuencias máximas de ocurrencia (modas) de sucesivos ciclos de muda.**

El valor promedio de la duración del ciclo de las mudas en los organismos domesticados fue de 11.39 días, los datos presentaron valores con curva normal (Fig. 9). El total de mudas registradas y colectadas diariamente para los

organismos juveniles domesticados (F2) de los camarones rosados a lo largo del experimento se muestran también en la tabla 2, donde los datos presentados son independientes del día de registro, del individuo y del ciclo de muda. Los datos mostraron que no hay diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) para la duración del ciclo de muda entre ciclos de mudas consecutivos, representando que el 50% de los datos también se concentraron muy cercanos al promedio ( $< 1$  desviación estándar).



**Fig. 9.** Histograma que presenta el total de las frecuencias de los eventos de mudas de *Farfantepenaeus duorarum* domesticados (F2) mantenidos en condiciones experimentales (ver texto).

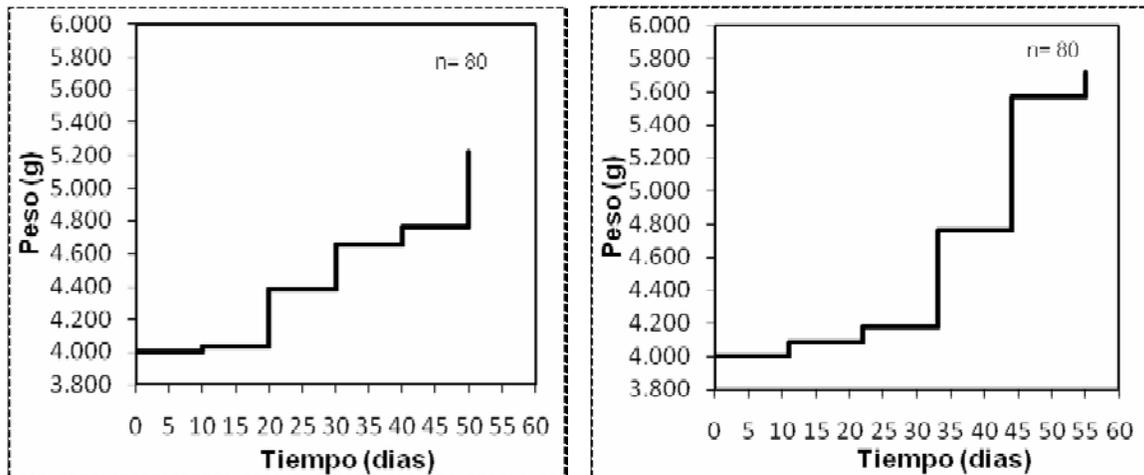
La ganancia de peso diario registrado en los camarones domesticados (F2) fue de 0.084 g/día (como tasa de crecimiento absoluta). Este valor es mayor al obtenido para los individuos silvestres que igualmente se alimentaron con la dieta artificial, a pesar que tuvieron una duración más larga en su ciclo de muda.

## 6.2 Crecimiento en peso durante los ciclos de muda:

Los ciclos de muda en los camarones rosados silvestres juveniles fueron más cortos en comparación con los domesticados. La tendencia de este grupo es mudar con mayor frecuencia, observándose una tasa diaria de aumento en peso

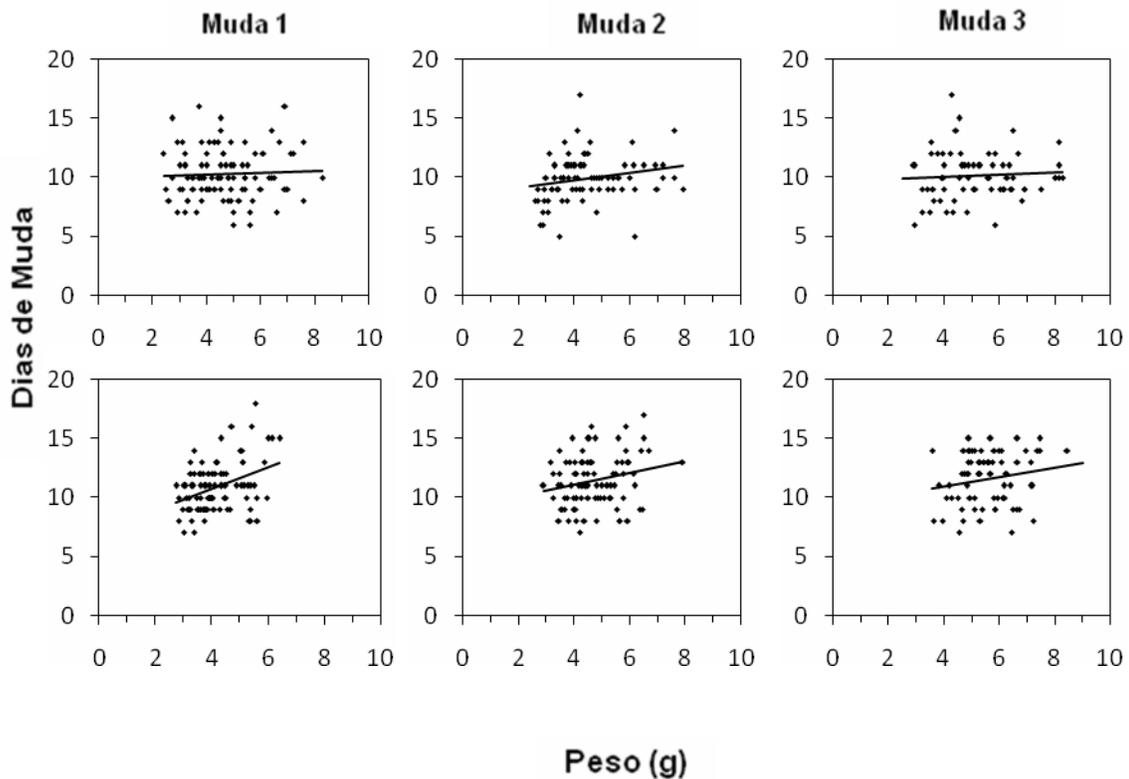
de 0.028 g/día. En la figura 10 se puede observar que, los domesticados requerían en promedio, un día más para mudar.

La prueba estadística permite concluir que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en la ganancia en peso en juveniles alimentados con la misma dieta para los de origen silvestre y domesticados.



**Fig. 10. Crecimiento en peso promediado durante 5 ciclos de muda en juveniles de *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (izquierda) y domesticados (derecha), ambos alimentados con una dieta de 40% proteína animal. (Día 0 es equivalente a la muda cero, y cada escalón equivale a una muda).**

La relación de la duración del ciclo de mudas (días) con el peso (gramos) se comportó muy uniforme, como se puede ver en las primeras tres mudas tomadas con los datos dispersos para los silvestres y los domesticados (Fig.11), y que prácticamente en todos los ciclos de mudas no hay relación alguna entre estos dos parámetros, aunque en los domesticados nuevamente se observa una pequeña tendencia más marcada en comparación a los silvestres. En el análisis de covarianza entre las pendientes para ver efecto de origen (entre silvestres y domesticados) fueron no significativas ( $p > 0.05$ ), por lo que el peso no está siendo afectado por el origen de los camarones.



**Fig. 11. Relación entre la duración el ciclo de muda (días) y el peso corporal (g) en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (superiores) y domesticados (inferiores) después de ser alimentados con una dieta de 40% proteína animal durante las primeras tres mudas.**

### 6.3 Consumo de alimento antes y después de la ecdisis:

El consumo de alimento momentos antes y momentos después de la muda con su error estándar con respecto al promedio de ingestión del alimento de 40 % proteína animal suministrado durante un ciclo de muda completo se muestra en la figura 12. Los valores se calcularon para 20 camarones rosados con un peso promedio de 4 g. El consumo mínimo de alimento se puede observar alrededor de 4 horas antes de la ecdisis, pero el consumo empieza a decaer bruscamente alrededor de 20 horas antes. Inmediatamente después de la muda se aprecia una recuperación de la ingestión, que evidencia de un rápido restablecimiento de las estructuras digestivas al momento de mudar. Puede observarse que 8 horas después de la muda los organismos comienzan a consumir y cerca de 40 horas después, el consumo alcanza los valores promedio. Los resultados muestran que

los camarones rosados a pesar de mudar no dejan de comer, disminuyendo su consumo pero a pesar de esto sigue ingiriendo alimento.

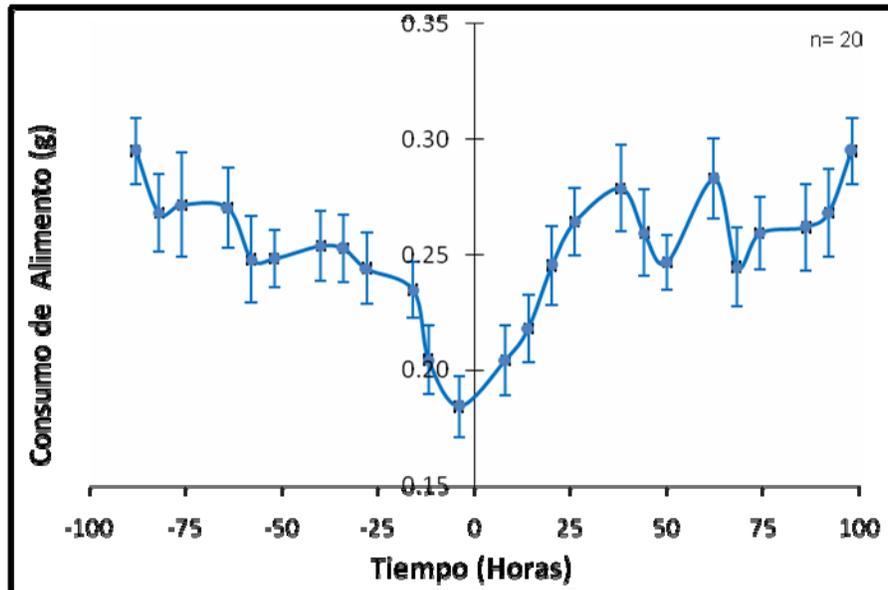


Fig. 12. Consumo de alimento promedio ( $\pm$  error estándar) en función del tiempo previo y posterior a la muda en juveniles de *Farfantepenaeus duorarum* domesticados de 4 g. La gráfica muestra consumo por ración y el tiempo = 0 representa el suceso de la ecdisis.

#### 6.4 Composición bioquímica en sangre y glándula digestiva en relación a los estadios de muda en silvestres y domesticados:

Se procesaron 120 animales silvestres (grupo 1: control), en los cuales sólo se pudieron encontrar 6 estadios de muda (postmuda B2, intermuda C y premuda D0, D1', D1''' y D2) aún tratando durante 4 oportunidades (siguiendo como referencia los cambios en el ciclo lunar). Durante los estadios de postmuda A y premuda tardía (D1''' y D2) los camarones se encuentran enterrados, dado que al momento de mudar son muy vulnerables a depredación, y el gasto energético es máximo y necesita esperar a calcificar su exoesqueleto. La captura por unidad de esfuerzo se tornó azarosa dificultando la obtención de individuos que presentaran estadios próximos al momento de mudar, añadido a esto, el hecho de que es hábitat de otras especies de camarones con patrones y caracteres similares, también se

tenían que hacer observaciones en laboratorios y no *in situ*, para evitar la muerte de los camarones por estrés o por falta de oxígeno. Estos análisis con camarones control fueron tomados como referencia para conocer el comportamiento de las variables bioquímicas. Sin embargo, estos resultados no fueron utilizados para realizar los análisis estadísticos y la modelación, dado que es necesario que exista el mismo número de observaciones en cada estadio para cumplir con los supuestos.

Se capturaron 80 individuos silvestres que fueron mantenidos en proceso de aclimatación al alimento para ser utilizados en el desarrollo del experimento (grupo 2). La mortalidad observada a lo largo del proceso de aclimatación y experimentación fue del 25%, puede ser atribuida al estrés que produce el cambio desde su hábitat natural a condiciones experimentales. De estos solamente se procesaron finalmente 60 individuos para los análisis bioquímicos, donde se encontraron todos los estadios, a excepción del estadio D2, dado que este estadio es de muy corta duración y por ende la probabilidad de encontrarlo es muy baja.

En relación al grupo de organismos domesticados, la mortalidad fue más baja (6%). De los 80 organismos iniciales en el experimento se procesaron al final 75 para análisis bioquímicos, aquí se logró encontrar todos los estadios ya que teniendo la experiencia de los análisis y experimentos anteriores se logró corregir errores y tiempos para lograr mejores resultados.

Los valores promedio de las variables bioquímicas en juveniles de camarones rosados silvestres control, silvestres tratados con la dieta artificial y los domesticados durante los diferentes estadios de muda (determinada a través de la observación del desarrollo setal en los urópodos) se muestran en la tabla 4. Más adelante por separado se definen claramente los patrones de comportamiento de todas las variables bioquímicas analizadas en relación a los diferentes estadios del ciclo de muda y origen, con su error estándar por estadio.

**Tabla 4. Promedios de la composición bioquímica determinados en sangre y glándula digestiva en organismos silvestres control (n=120), silvestres grupo 2 (n=60) y domesticados (n=75) con relación a los estadios de muda. En sangre las unidades son mg/ml y en la glándula digestiva (µg/mg tejido), excepto hemocianina y la capacidad osmótica. (N.E=No Encontrado. Insufic. = No suficiente. Valores en rojo= Valor máximo).**

	Tejido	Metabolitos	Estadios de Muda								
			A	B1	B2	C	D0	D1'	D1''	D1'''	D2
Silvestres Control	Sangre	Acilglicéridos (mg/ml)	N. E	N. E	0.14	0.36	0.43	<b>0.45</b>	N. E	0.36	N. E
		Glucosa (mg/ml)	N. E	N. E	0.19	<b>0.24</b>	0.22	0.23	N. E	0.20	N. E
		Proteínas (mg/ml)	N. E	N. E	148.29	<b>168.01</b>	155.61	160.01	N. E	157.70	N. E
		Colesterol (mg/ml)	N. E	N. E	0.27	<b>0.35</b>	0.35	0.26	N. E	0.16	N. E
		Hemocianina (mmol/L)	N. E	N. E	1.17	<b>2.52</b>	1.43	1.40	N. E	Insufic. Hemolinf	N. E
		Cap. Osmot. (mOsm/Kg)	N. E	N. E	490	<b>528.08</b>	521.49	525.54	N. E	Insufic. Hemolinf	N. E
	Glándula Digestiva	Acilglicéridos (µg/mg tej.)	N. E	N. E	19.13	<b>23.34</b>	21.03	22.26	N. E	20.04	N. E
		Glucosa (µg/mg tej.)	N. E	N. E	1.81	1.75	1.75	1.51	N. E	<b>2.07</b>	N. E
		Proteínas(µg/mg tej.)	N. E	N. E	26.46	25.38	30.67	29.58	N. E	<b>34.70</b>	N. E
		Colesterol (µg/mg tej.)	N. E	N. E	8.18	13.30	10.52	10.54	N. E	<b>13.35</b>	N. E
		Glucógeno (µg/mg tej.)	N. E	N. E	4.66	4.94	5.01	<b>5.08</b>	N. E	4.19	N. E
Silvestres Con Dieta	Sangre	Acilglicéridos (mg/ml)	0.35	<b>0.52</b>	0.35	0.33	0.26	0.26	0.28	0.25	N. E
		Glucosa (mg/ml)	0.34	0.25	0.25	0.26	0.33	<b>0.37</b>	0.27	0.27	N. E
		Proteínas (mg/ml)	150.82	161.09	163.84	166.14	160.95	171.74	<b>190.82</b>	180.7	N. E
		Colesterol (mg/ml)	0.35	<b>0.35</b>	0.35	0.33	0.30	0.30	0.31	0.31	N. E
		Hemocianina (mmol/L)	1.66	1.37	1.82	1.48	1.33	1.67	1.60	<b>1.82</b>	N. E
		Cap. Osmot. (mOsm/Kg)	<b>173.93</b>	17.6	99.56	122	119.17	151.83	111	156.83	N. E
	Glándula Digestiva	Acilglicéridos (µg/mg tej.)	8.14	5.86	7.55	<b>10.89</b>	8.79	10.79	12.4	19.11	N. E
		Glucosa (µg/mg tej.)	2.20	1.83	1.42	1.27	1.53	<b>2.89</b>	2.27	2.21	N. E
		Proteínas(µg/mg tej.)	33.21	30.78	25.95	25.06	25.36	<b>38.93</b>	27.77	34.19	N. E
		Colesterol (µg/mg tej.)	5.01	4.22	4.29	5.16	3.39	<b>5.30</b>	4.07	5.03	N. E
		Glucógeno (µg/mg tej.)	6.27	3.81	6.33	7.34	6.18	6.15	7.08	<b>7.85</b>	N. E
Domesticados (F2)	Sangre	Acilglicéridos (mg/ml)	0.28	0.33	0.31	0.40	0.32	<b>0.40</b>	0.32	0.34	0.29
		Glucosa (mg/ml)	0.60	0.60	0.83	0.76	0.78	0.8	<b>1.01</b>	0.83	0.54
		Proteínas (mg/ml)	83.82	105.17	120.58	116.54	<b>127.27</b>	105.44	79.22	113.68	119.57
		Colesterol (mg/ml)	0.13	0.12	0.15	0.11	0.12	<b>0.16</b>	0.10	0.07	0.08
		Hemocianina (mmol/L)	1.07	1.07	1.05	0.97	0.86	0.89	1.08	1.21	<b>1.49</b>
		Cap. Osmot. (mOsm/Kg)	110.6	148.8	162.2	149.3	137.8	222.2	N.E.	199.9	<b>288.7</b>
	Glándula Digestiva	Acilglicéridos (µg/mg tej.)	16.78	17.91	18.51	27.18	23.85	43.47	22.51	37.03	<b>43.48</b>
		Glucosa (µg/mg tej.)	3.10	2.88	0.89	2.77	1.87	3.05	0.40	<b>7.22</b>	5.02
		Proteínas(µg/mg tej.)	26.38	24.65	24.56	27.51	23.39	27.68	29.83	36.74	<b>32.75</b>
		Colesterol (µg/mg tej.)	3.28	2.16	1.47	1.89	1.81	2.47	0.94	3.84	<b>4.03</b>
		Glucógeno (µg/mg tej.)	2.64	2.43	2.12	2.14	2.12	2.52	2.01	2.20	<b>3.17</b>

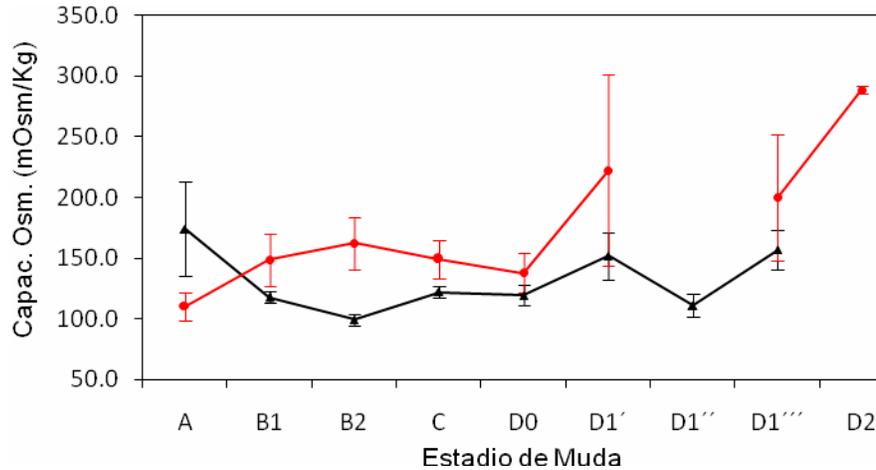
Los análisis de varianza de una sola vía por estadio del ciclo de muda (Tabla 5) mostraron que en la mayoría de las variables químicas analizadas tanto en camarones silvestres como domesticados no hay diferencias significativas, inclusive si se comparan los promedios entre sangre y la glándula digestiva. Mas cabe señalar que en “capacidad osmótica” se marcan diferencias significativas en silvestres y en cultivados con respecto a los estadios de muda (Tabla 5). Otras diferencias por estadios están presentes en los silvestres también como lo son la hemocianina en sangre, los acilglicéridos, proteínas y glucógeno en hepatopáncreas.

**Tabla 5. ANOVAS de una sola vía para determinar diferencias significativas entre los estadios del ciclo de muda, en las diferentes variables bioquímicas analizadas. (Valores en negrita son significativo, si  $p < 0,05$ ;)**

Tejido	VARIABLES	Silvestres	Domesticados
Sangre	Acilglicéridos	F(7;51) = 2,022; $p = 0,0701$	F(8;64) = 0,889; $p = 0,5304$
	Glucosa	F(7;51) = 0,904; $p = 0,5110$	F(8;64) = 0,896; $p = 0,5255$
	Colesterol	F(7;51) = 1,854; $p = 0,0969$	F(8;64) = 0,529; $p = 0,8297$
	Proteínas	F(7;51) = 0,886; $p = 0,5239$	F(8;64) = 0,874; $p = 0,5425$
	Hemocianina	F(7;51) = 3,156; <b><math>p = 0,0075</math></b>	F(8;65) = 1,315; $p = 0,2517$
	Cap. Osmótica	F(7;49) = 2,637; <b><math>p = 0,0214</math></b>	F(7;62) = 3,162; <b><math>p = 0,0063</math></b>
Glándula Digestiva	Acilglicéridos	F(7;51) = 3,951; <b><math>p = 0,0016</math></b>	F(8;66) = 2,068; $p = 0,0515$
	Glucosa	F(7;51) = 0,521; $p = 0,8143$	F(8;66) = 1,867; $p = 0,0802$
	Colesterol	F(7;51) = 1,076; $p = 0,3918$	F(8;66) = 1,263; $p = 0,2775$
	Proteínas	F(7;51) = 2,654; <b><math>p = 0,0202</math></b>	F(8;66) = 0,623; $p = 0,7552$
	Glucógeno	F(7;51) = 4,077; <b><math>p = 0,0013</math></b>	F(8;66) = 0,943; $p = 0,4872$

#### 6.4.1. Capacidad osmótica:

La capacidad osmótica tanto en camarones silvestres y domesticados mostró clara evidencia de cómo ésta varía en los estadios del ciclo de muda haciéndose máxima justo antes de la ecdisis y momentos después de la misma. En la figura 13 se muestra el patrón que presenta esta variable tanto para organismos silvestres como domesticados, siendo estos últimos quienes con el mismo tratamiento en condiciones óptimas de temperatura y salinidad presentaron los valores más altos de la capacidad osmótica, en comparación con los silvestres. Se observó el mismo comportamiento de la variable a lo largo de todo el ciclo de muda, excepto en el estadio (A) donde los domesticados presentaron un valor bajo de la variable.

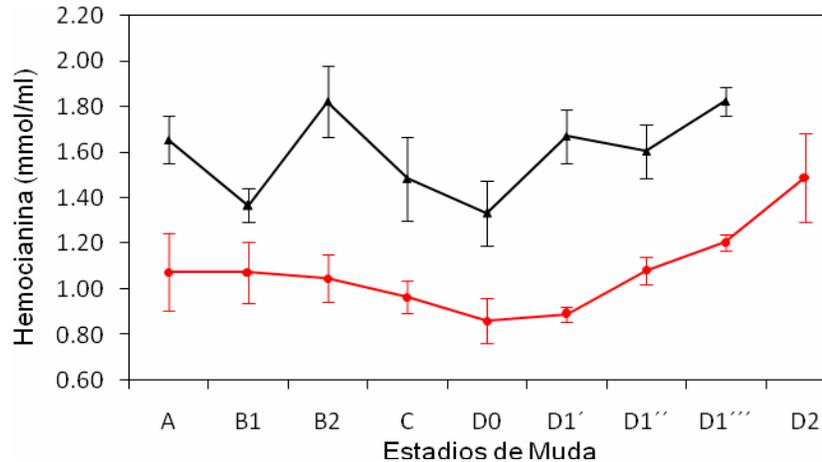


**Fig.13. Capacidad osmótica en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (negro ▲) y domesticados (rojo ●) en relación con los estadios de muda, la gráfica presenta los valores medios. (Ambos tratamientos alimentados con una dieta de 40% proteína)**

#### 6.4.2 Hemocianina:

La hemocianina (mmol/L) presentó una variación significativa a lo largo del ciclo de muda solo en los organismos silvestres en los cuales se aprecian valores más bajos en los estadios de postmuda tardía (B1), intermuda (C) y premuda temprana (D0). Aunque para organismos domesticados, no se observó un efecto significativo, el patrón fue menos errático con una clara tendencia a un incremento en los niveles de hemocianina al acercarse la muda (Fig.14). También cabe

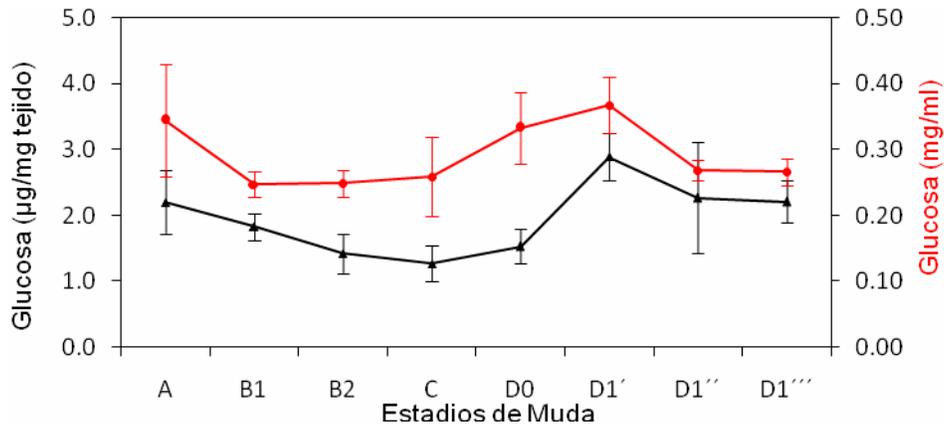
señalar que los valores de hemocianina en la sangre presentaron valores mayores en los silvestres que en domesticados.



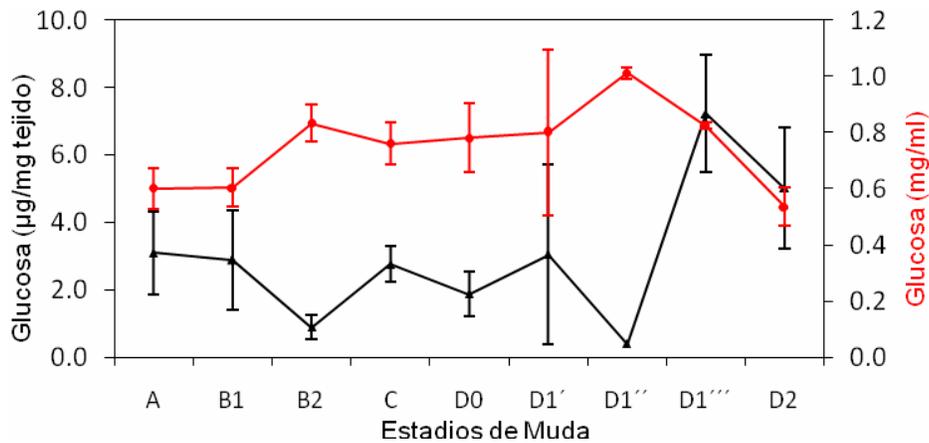
**Fig.14. Hemocianina en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (negro▲) y domesticados (rojo●) en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios (ambos tratamientos alimentados con una dieta de 40% proteína).**

#### 6.4.3 Glucosa:

Aunque no se presentaron diferencias significativas, la glucosa tanto en hepatopáncreas y en sangre en organismos silvestres (Fig. 15) mostró una tendencia a presentar los valores mayores en el estadio de premuda temprana (D1') y disminuir en los estadios próximos a la ecdisis y con valores mínimos en los estadios de la postmuda tardía (B1 y B2) e intermuda (C). Con respecto a los domesticados (Fig. 16) la distribución de los datos con valores máximos de la glucosa en sangre ocurrió en el estadio (D1'') y en hepatopáncreas la premuda tardía (D1''').



**Fig. 15.** Concentración de la Glucosa en hepatopáncreas (negro▲) y sangre (rojo●) para individuos silvestres en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.

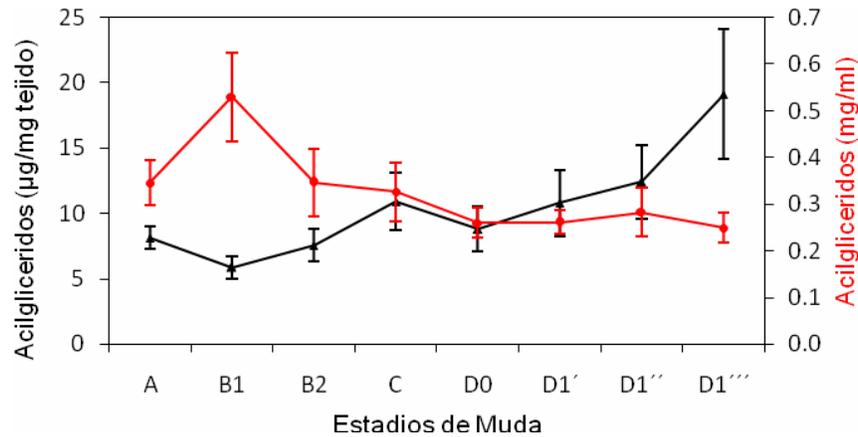


**Fig. 16.** Concentración de la Glucosa en hepatopáncreas (negro▲) y sangre (rojo●) para individuos domesticados (F2) en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.

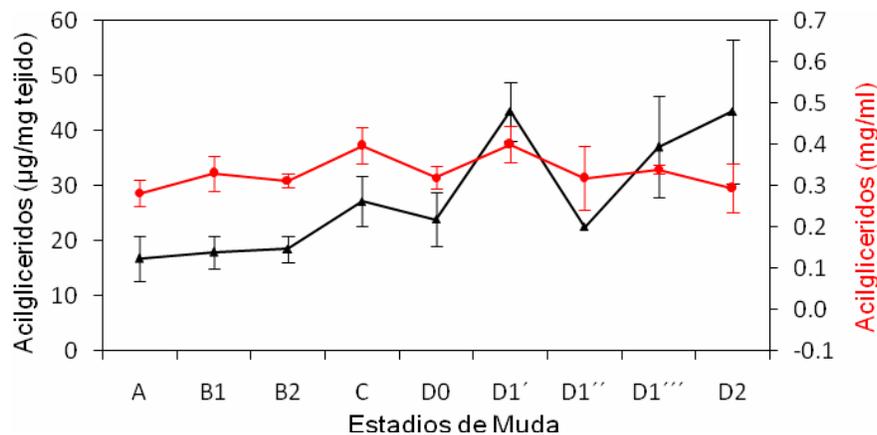
#### 6.4.4 Acilglicéridos:

Los acilglicéridos en organismos silvestres mostraron una relación inversa en concentración de glucosa en hepatopáncreas y en sangre (Fig.17) con una variación significativa únicamente para hepatopáncreas. Cuando se acercaba los estadios previos a la muda incremento la concentración en el hepatopáncreas y disminuyó en la hemolinfa, en donde el valor más alto se observó en hemolinfa

durante la postmuda temprana (B1) y fue el más bajo promedio en el hepatopáncreas. Con respecto a organismos domesticados, la distribución de los datos encontrados se muestra en la figura 18, observándose una tendencia muy similar en los estadios intermedios a aumentar en la hemolinfa y en la glándula digestiva a excepción del estadio D1''' para hepatopáncreas donde se observó una caída.



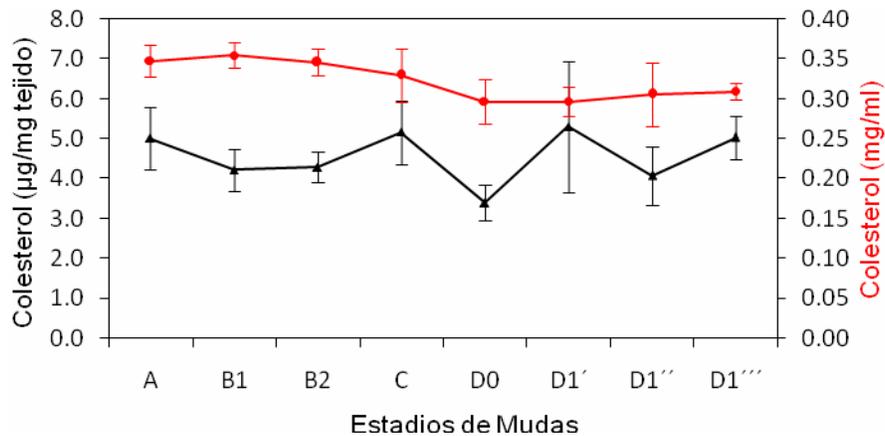
**Fig. 17. Concentración de acilglicéridos en hepatopáncreas (negro▲) y sangre (rojo●) para individuos silvestres en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**



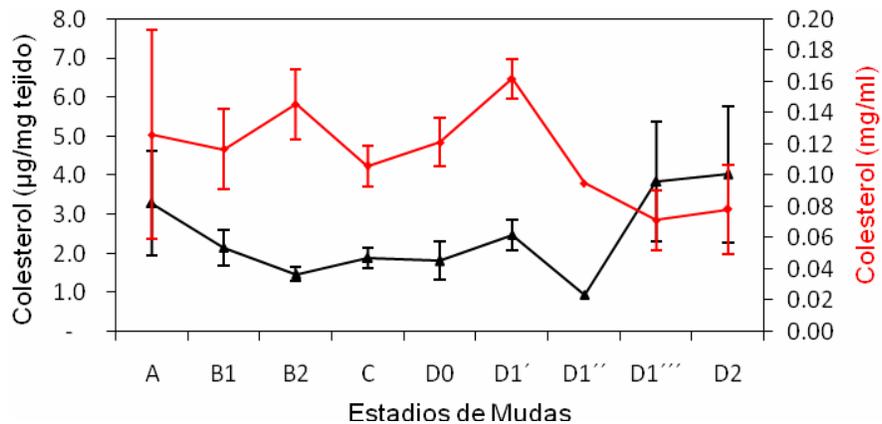
**Fig. 18. Concentración de acilglicéridos en hepatopáncreas (negro▲) y sangre (rojo●) para individuos domesticados (F2) en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**

### 6.4.5 Colesterol:

El colesterol en organismos silvestres alimentados con la dieta artificial mostró tanto en la sangre como en hepatopáncreas no varió significativamente a lo largo de los estadios de muda (Fig. 19). En los organismos domesticados, la variación tampoco fue significativa aunque se observó una disminución en hemolinfa y un incremento en hepatopáncreas al acercarse la muda (Fig. 20). Por otro lado, los niveles de colesterol fueron más altos tanto en hemolinfa como en hepatopáncreas en organismos silvestres en comparación a los domesticados.



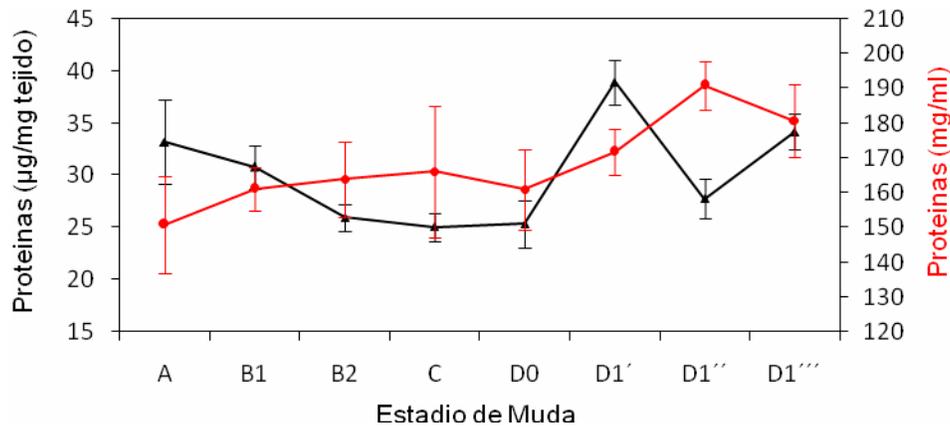
**Fig. 19.** Concentración de colesterol en hepatopáncreas (negro ▲) y sangre (rojo ●) para individuos silvestres en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.



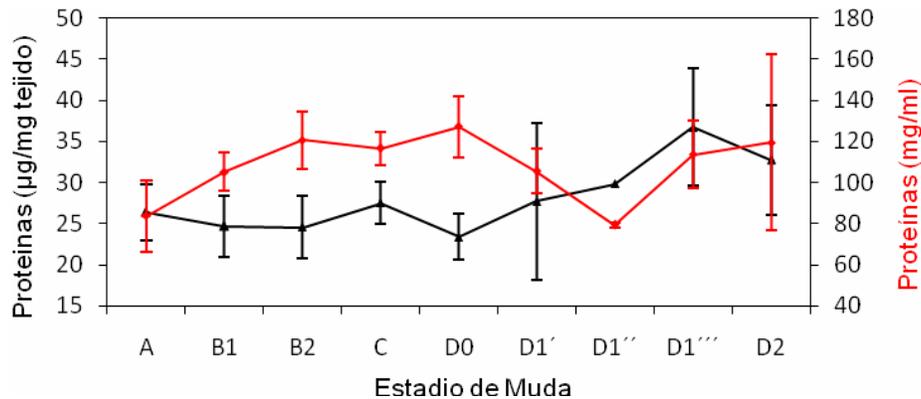
**Fig. 20.** Concentración de colesterol en hepatopáncreas (negro ▲) y sangre (rojo ●) para individuos domesticados (F2) alimentados con una dieta de 40% en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.

#### 6.4.6 Proteínas totales solubles:

Las proteínas en organismos silvestres alimentados mostraron diferencias significativas por estadios de muda (ver tabla 5). En el hepatopáncreas los valores promedios más bajos se observaron en la intermuda (C) y premuda temprana (D1'), mientras tanto las proteínas en la hemolinfa fue aumentando desde la postmuda temprana (A) hasta la premuda D1'' y disminuye justo en la premuda tardía (D1''') (Fig. 21). Con respecto a los organismos domesticados no variaron, se observó un aumento desde la postmuda hacia la premuda (Fig. 22), disminuyendo en D1'' en la hemolinfa y D0 en la glándula digestiva.



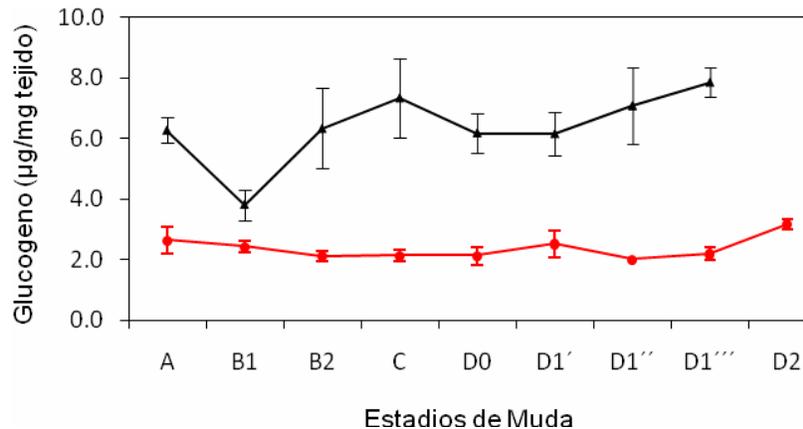
**Fig. 21. Concentración de las proteínas totales solubles en hepatopáncreas (negro ▲) y sangre (rojo ●) para individuos silvestres en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**



**Fig. 22. Concentración de las proteínas totales solubles en hepatopáncreas (negro ▲) y sangre (rojo ●) para individuos domesticados (F2) en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**

#### 6.4.7 Glucógeno:

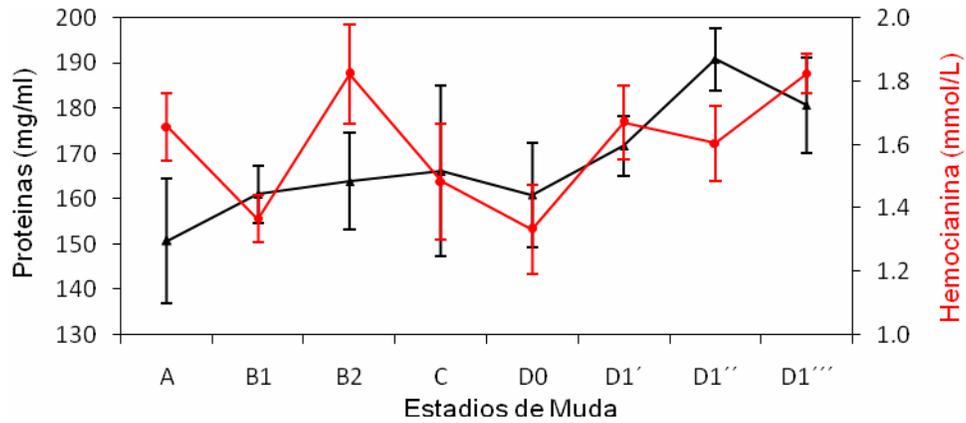
El glucógeno presente en la glándula digestiva no presentó diferencias significativas tanto en lo organismo silvestres como domesticados. Los silvestres mostraron únicamente en el estadio de postmuda B1 una disminución de en la concentración (Fig. 23). La tendencia del glucógeno se observó a incrementarse hacia los momentos antes de mudar. Cabe señalar también que los niveles de glucógeno en domesticados fueron inferiores en comparación a los silvestres.



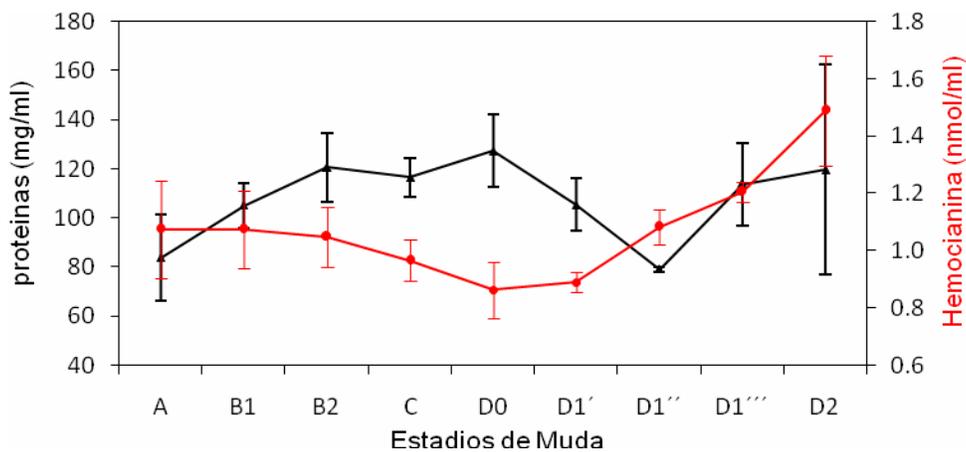
**Fig. 23. Concentración del glucógeno del hepatopáncreas en individuos silvestres con dieta del 40% proteína animal (negro ▲) y domesticados (rojo ●) en relación con los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**

#### 6.4.8 Relación proteínas totales solubles y hemocianina en sangre:

La relación de las proteínas solubles totales en contraste con la hemocianina en sangre para organismos silvestres y domesticados (Fig. 24 y 25 respectivamente) mostraron iguales comportamiento, donde efectivamente en los estadios de premuda tardía (D1''''y D2) la hemocianina se incrementa al igual que las proteínas solubles, y durante todos los estadios del ciclo de la muda ambas variables tuvieron un patrón de comportamientos muy similar, aun con algunos picos diferentes por parte de los silvestres donde la hemocianina que debido a la función de transporte está en constante actividad en algunos estadios de postmuda tardía (B2).



**Fig. 24. Contraste de las proteínas solubles en sangre (negro▲) y la hemocianina (rojo●) en para individuos silvestres en relación a los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**

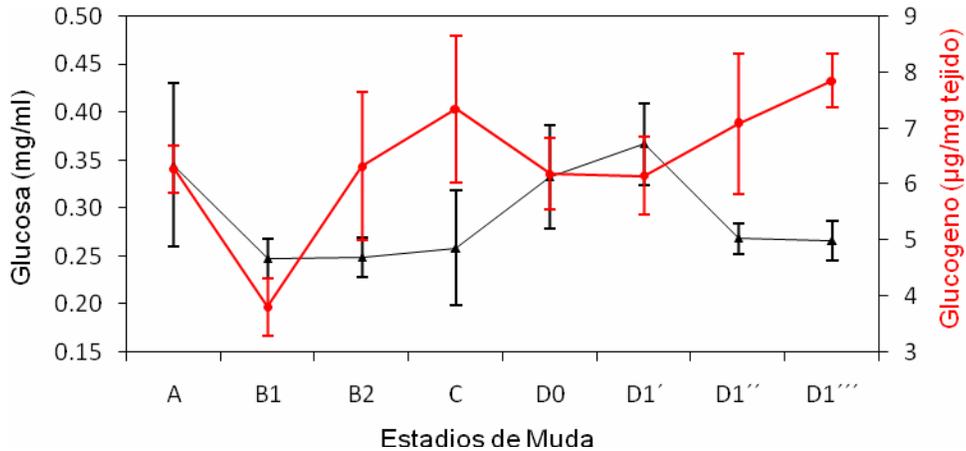


**Fig. 25. Contraste de las proteínas solubles en sangre (negro▲) y la hemocianina (rojo●) en para individuos domesticados (F2) en relación a los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**

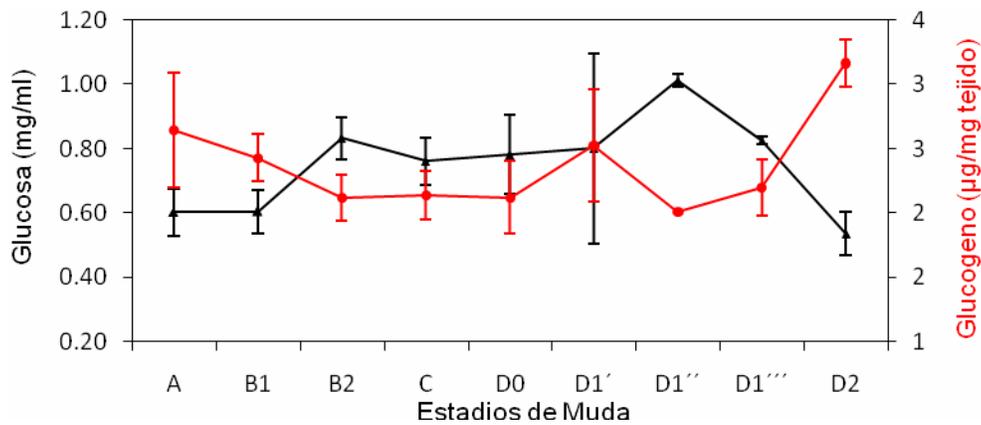
#### 6.4.9 Relación glucosa en sangre y glucógeno en glándula digestiva:

La relación de la glucosa en sangre con respecto al glucógeno en hepatopáncreas mantuvo relación directamente proporcional en los diferentes estadios de muda en silvestres y domesticados (Fig. 26 y 27 respectivamente), con la única diferencia en los estadios de premuda tardía (D1''' y D2) cuando la glucosa disminuye y el

glucógeno aumenta, lo que indica que en este momento las reservas circulantes bajan momento antes de la muda por el gasto energético, y es cuando el glucógeno catabolizado es usado para reemplazar la necesidad de glucosa.



**Fig. 26. Contraste de la glucosa en sangre (negro▲) y el glucógeno en el hepatopáncreas (rojo●) para individuos silvestres en relación a los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**



**Fig. 27. Contraste de la glucosa en sangre (negro▲) y el glucógeno en el hepatopáncreas (rojo●) para individuos domesticados en relación a los estadios de muda, el gráfico presenta los valores promedios.**

#### 6.4.10 Razones bioenergéticas y razones nutricionales:

La relación acilglicéridos/proteínas indica una razón bioenergética y la relación acilglicéridos/colesterol indica una razón nutricional en los camarones (Anger, 2001), se muestra en organismos silvestres en la figura 28 y en domesticados figura 29. Se observó que las razones bioenergéticas y nutricionales van de la mano, marcando una misma tendencia durante todo el ciclo de muda en camarones silvestres y domesticados, marcando valores más altos de las razones bioquímicas momentos antes de mudar

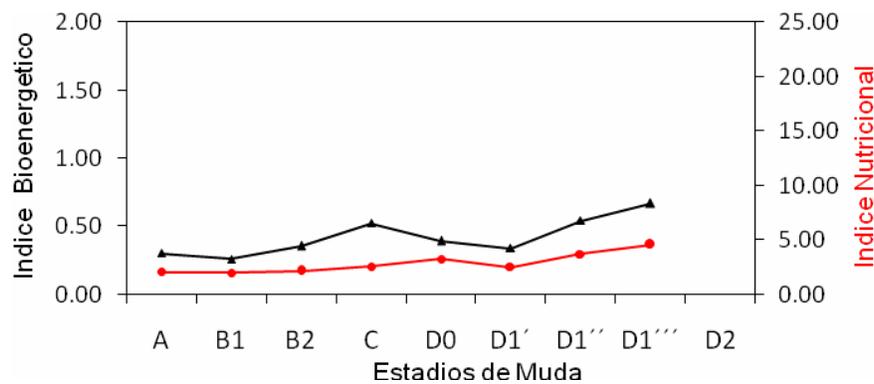


Fig. 28. Gráfica que representa el nivel Bioenergético (negro▲) y Nutricional (rojo●) de *Farfantepenaeus duorarum* silvestres, en relación con los estadios de muda.

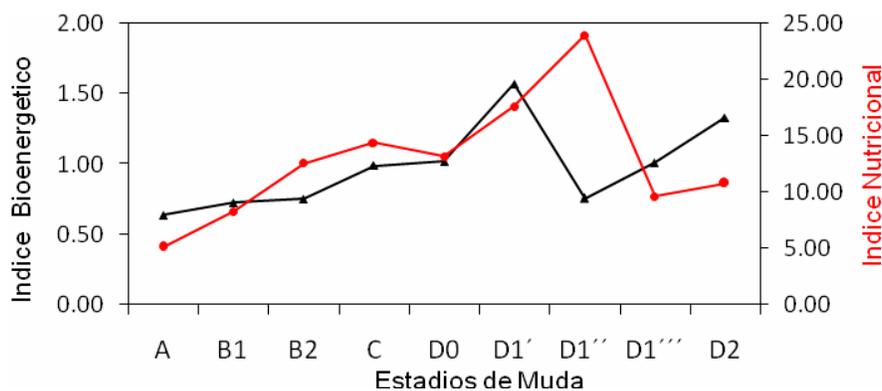


Fig. 29. Gráfica que representa el nivel Bioenergético (negro▲) y Nutricional (rojo●) de *Farfantepenaeus duorarum* domesticados (F2), en relación con los estadios de muda.

#### **6.4.11 Análisis multivariado:**

Mediante el uso de la programación realizada en el paquete MATLAB versión 2007a (mostrada en los apéndices 1 y 2) se obtuvieron los coeficientes de correlación de todas las variables analizadas considerando el origen de los organismos (silvestres o domesticados) y también los efectos del estadio del ciclo muda en dichas variables.

Se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) conjunto producto de la matriz de todos los datos que indican que los estadios tienen una correlación inversa ( $r = -0.7819$ ) con las variables bioquímicas. También se calculó el coeficiente de correlación entre las variables bioquímicas y el origen obteniendo un alto valor ( $r = 0.9259$ ). Estas matrices se tomaron en el modo 1 (85%) de la matriz que representa la más alta confianza de los datos que produzcan un efecto o “ruido” en los resultados. Cabe señalar que el modelo arrojó resultados individuales (independientes entre sí y por origen) que presentaron correlaciones menores a 0,95. En total se obtuvo también 9 individuos silvestres y 3 domesticados que presentaron correlaciones con valores mayores a 0,95 que se observan en tabla 6, independiente de ser inversa o directa.

**Tabla 6. Correlaciones en modo 1 (85%) de individuos silvestres y domesticados con valores mayores a 0,95.**

<b>Origen</b>	<b>Individuo</b>	<b>r</b>
Domesticados	5	0.9749
	31	0.9584
	36	0.9715
	50	- 0.9731
	51	- 0.9938
	60	0.9846
	67	- 0.9796
	71	- 0.9936
	74	- 0.9603
Silvestres	15	0.9786
	36	- 0.9981
	45	- 0.9528

A partir de la programación del modelo en MATLAB se obtuvo la variabilidad conjunta en modo 1 y modo 2 entre silvestres y domesticados para todas las variables bioquímicas incluyendo en la matriz todos los estadios. Es de notarse que el efecto de la capacidad osmótica produce un gran efecto y segundo están las proteínas entre estadios y origen en el modo 1 (Fig. 30). En el modo 2 se puede notar nuevamente el efecto de las proteínas totales de la sangre es quien aporta un efecto en los estadios en los silvestres y domesticados (Fig. 31).

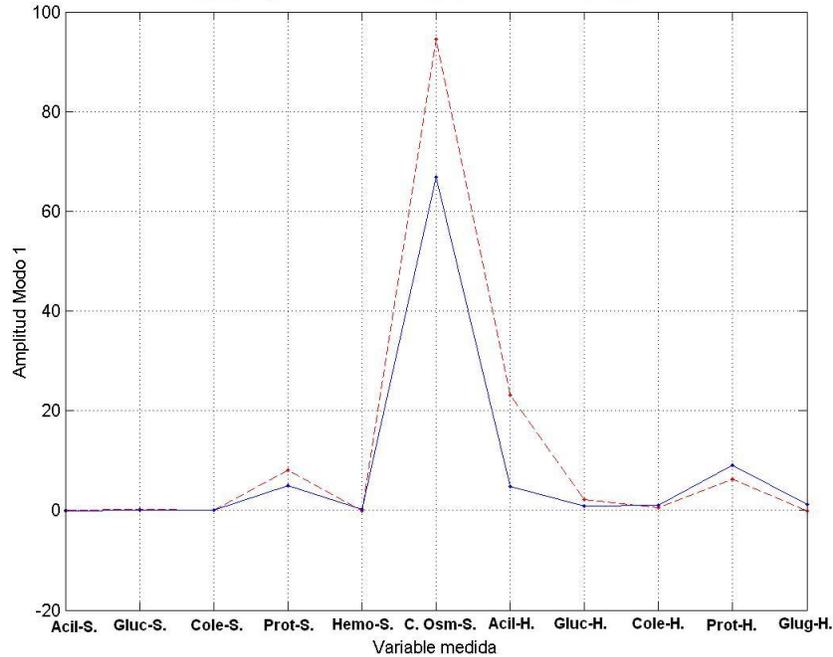
El efecto de los estadios entre las variables bioquímicas en modo 1 y 2 tanto en silvestres se muestra en la figura 32 y en domesticados en la figura 33, donde ambos presentan que los estadios A y B2 producen efectos en las variables.

Otro posterior análisis para comparar nuevamente el efecto de las variables bioquímicas fue tomar el modo 1 (mayor efecto) con la variabilidad con los individuos con mayores valores de correlación y se observa un mismo patrón tanto en domesticados (Fig. 34) y silvestres (Fig. 35), independiente de ser inversa o directa la correlación.

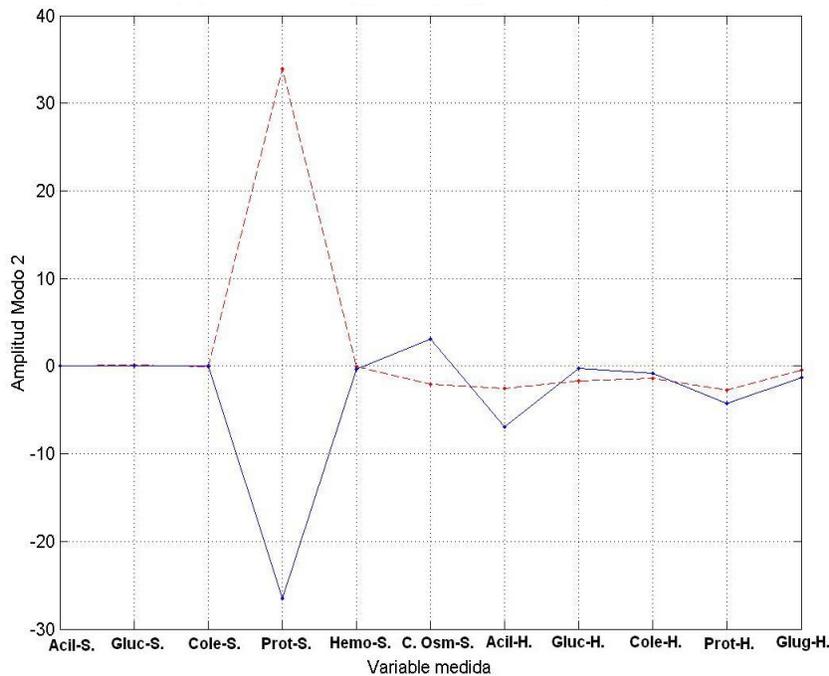
Un segundo modelo procesado en MATLAB, tomando solamente el modo 1 de mayor efecto, fue dedicado a determinar el patrón de variabilidad entre tejidos sanguíneos y hepatopáncreas *versus* las variables bioquímicas que podían ser analizadas en común, las cuales fueron acilglicéridos, glucosa, colesterol y proteínas totales. Se muestra para silvestres y domesticados (apéndice 2).

Los resultados de dicho modelo mostraron que en los organismos domesticados el colesterol de sangre y hepatopáncreas, es quien produce un alto efecto y tiene relación inversa (Fig. 36), es decir que si aumenta en sangre disminuye en hepatopáncreas. En silvestres también es el colesterol, sin embargo la relación es directa (Fig. 37).

Otro resultado arrojado por el segundo modelo es el efecto de los estadios de muda en la sangre y en el hepatopáncreas para ambos orígenes (Fig. 38 y 39), donde resultó que el estadio A es quien produce el efecto y el estadio D1''' en el hepatopáncreas.



**Fig. 30. Patrón de variabilidad conjunta (modo 1 = 85%) para todas las variables bioquímicas analizadas en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (azul) y domesticados (rojo). (Las variables son terminadas en S = sangre y en H = hepatopáncreas).**



**Fig. 31. Patrón de variabilidad conjunta (modo 2 = 15%) para todas las variables bioquímicas analizadas en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (azul) y domesticados (rojo). (Las variables son terminadas en S = sangre y en H = hepatopáncreas).**

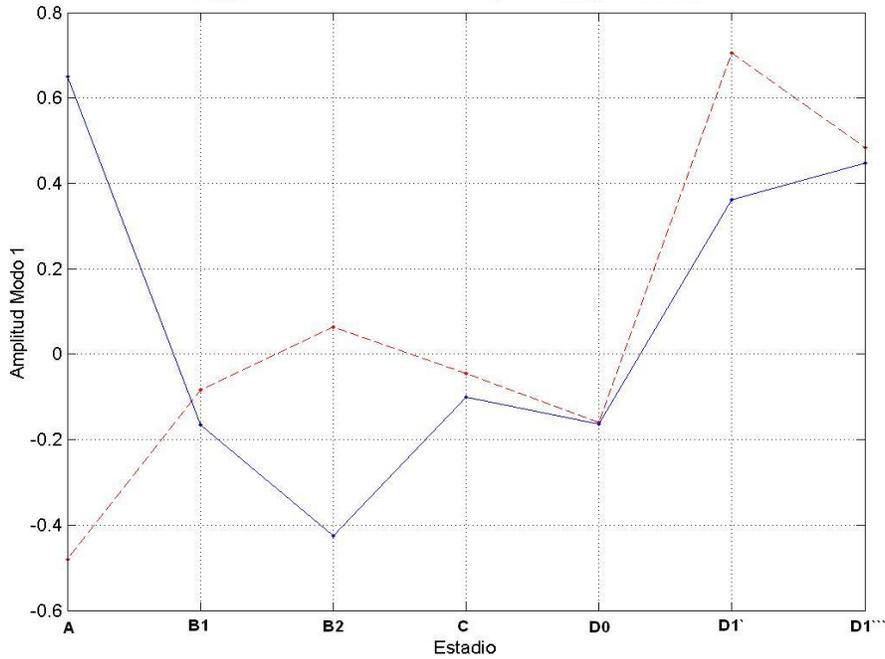


Fig. 32. Patrón de variabilidad conjunta (modo 1 = 85%) por estadios en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (azul) y domesticados (rojo). La gráfica representa la matriz de datos de todas las variables bioquímicas analizadas.

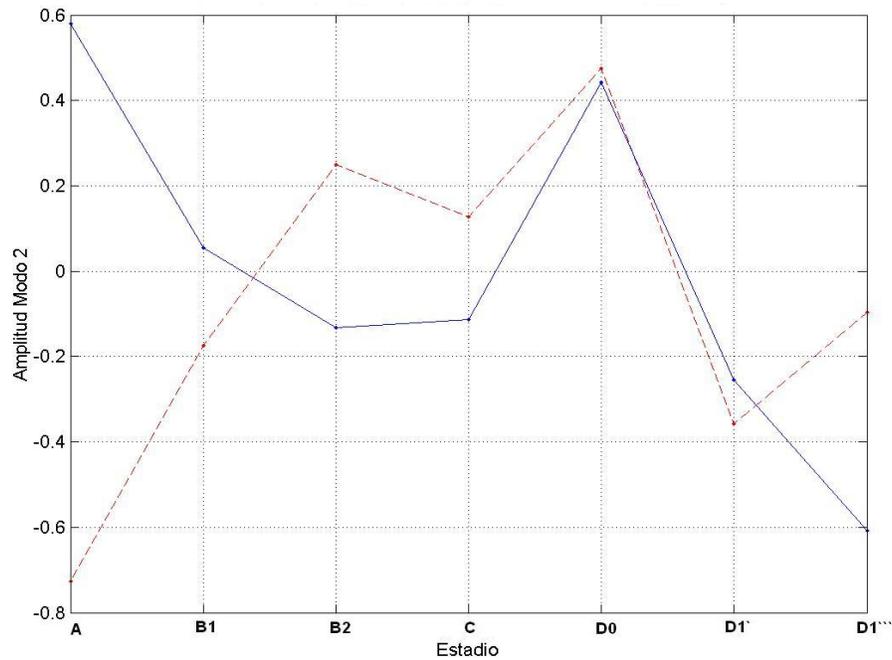
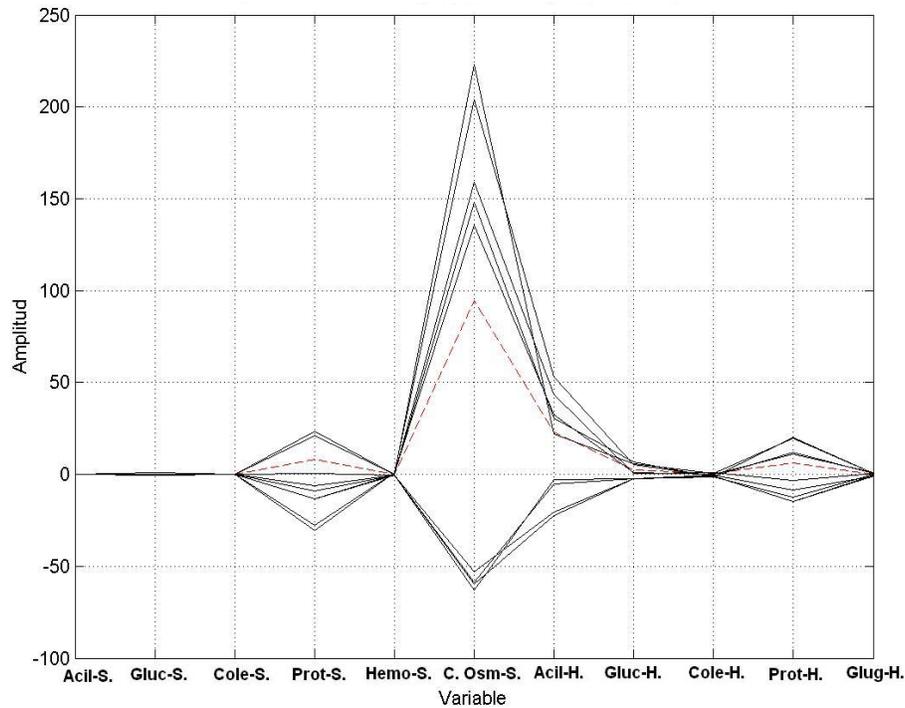
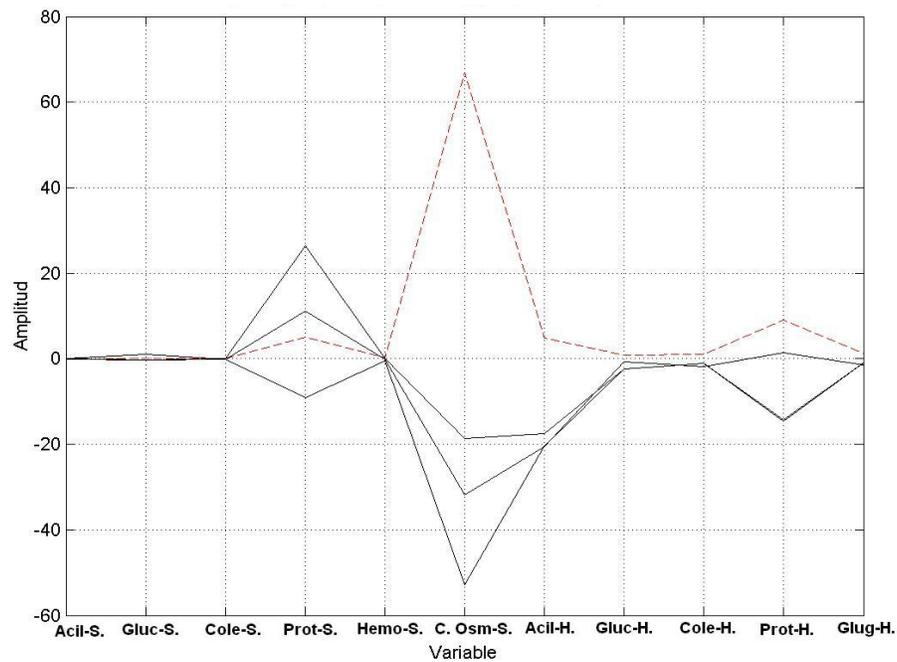


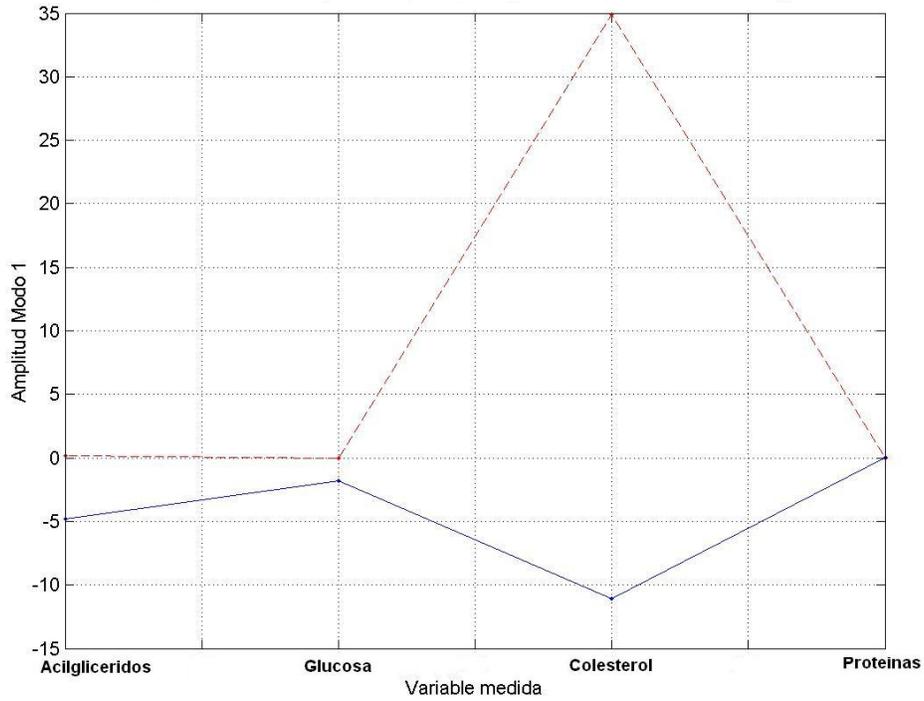
Fig. 33. Patrón de variabilidad conjunta (modo 2 = 15%) por estadios en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (azul) y domesticados (rojo). La gráfica representa la matriz de datos de todas las variables bioquímicas analizadas.



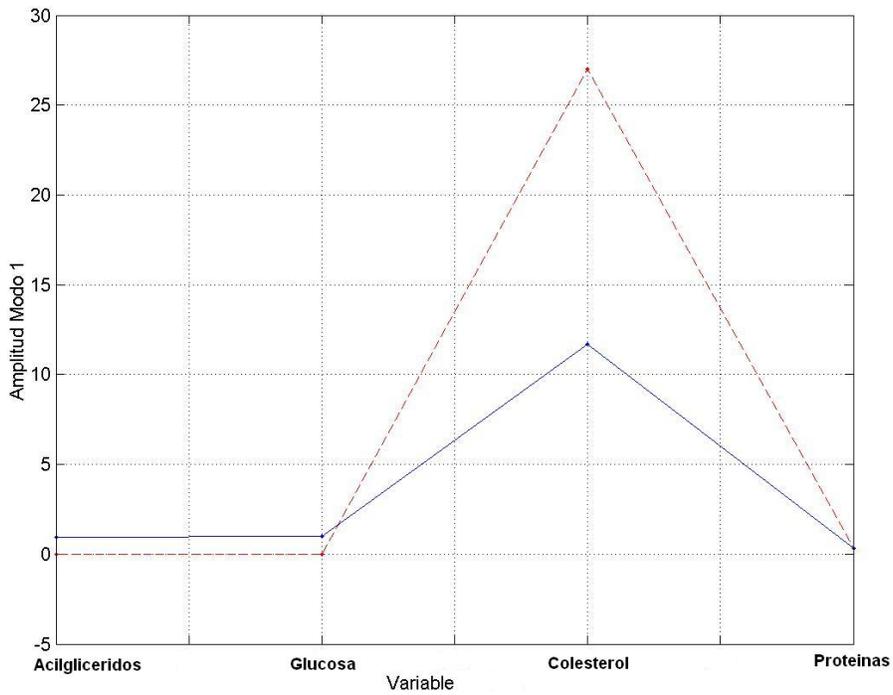
**Fig. 34. Patrón de variabilidad (modo 1 = 85%) en *Farfantepenaeus duorarum* domesticados (rojo) para todas las variables bioquímicas analizadas y de los individuos mejor correlacionados (azules). (Las variables son terminadas en S = sangre y en H = hepatopáncreas).**



**Fig. 35. Patrón de variabilidad (modo 1 = 85%) en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres (rojo) para todas las variables bioquímicas analizadas y de los individuos mejor correlacionados (azules). (Las variables son terminadas en S = sangre y en H = hepatopáncreas).**



**Fig. 36. Patrón de variabilidad conjunta (modo 1 = 85%) para 4 variables bioquímicas similares en sangre (rojo) y en hepatopáncreas (azul) por estadios en *Farfantepenaeus duorarum* domesticados.**



**Fig. 37. Patrón de variabilidad conjunta (modo 1 = 85%) para 4 variables bioquímicas similares en sangre (rojo) y en hepatopáncreas (azul) por estadios en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres.**

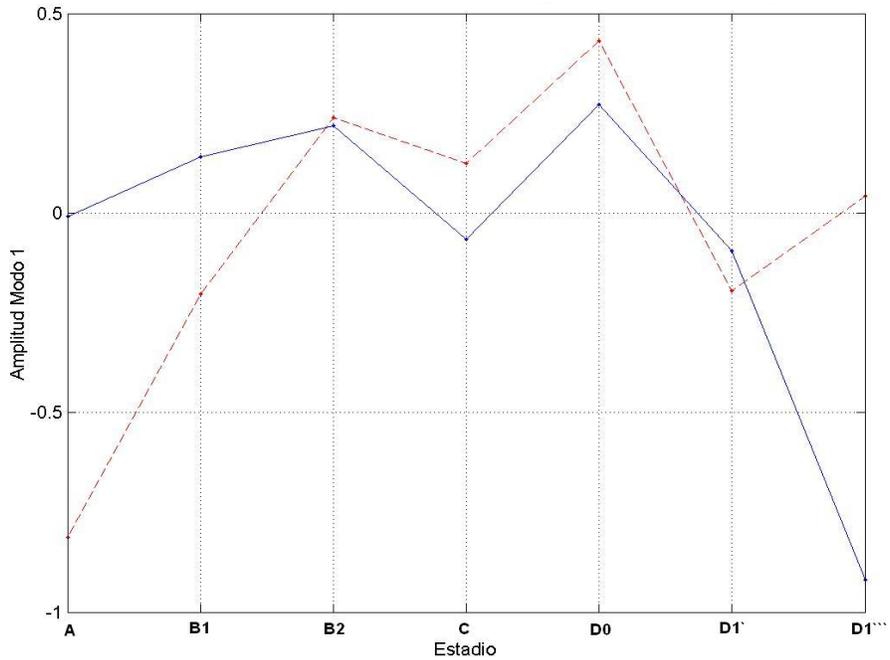


Fig. 38. Patrón de variabilidad conjunta (modo 1 = 85%) de todas las variables bioquímicas analizadas en sangre (rojo) y en hepatopáncreas (azul) por estadios en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres.

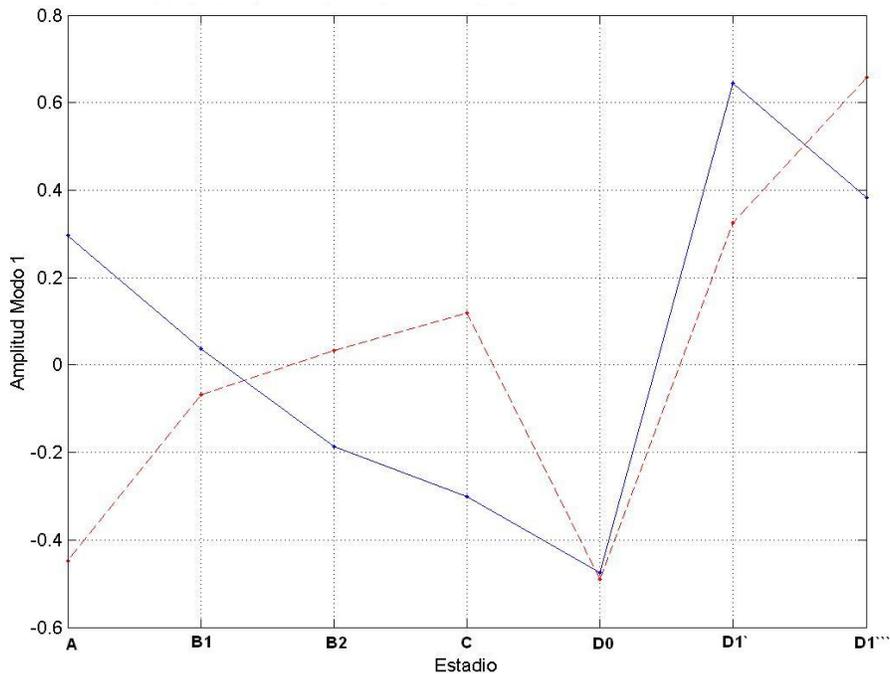
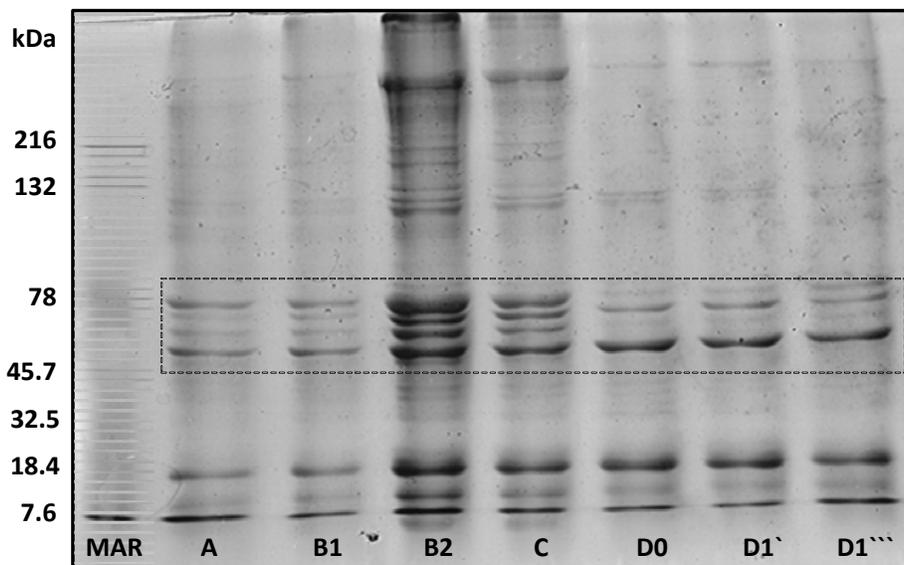


Fig. 39. Patrón de variabilidad conjunta (modo 1 = 85%) de todas las variables bioquímicas analizadas en sangre (rojo) y en hepatopáncreas (azul) por estadios en *Farfantepenaeus duorarum* domesticados.

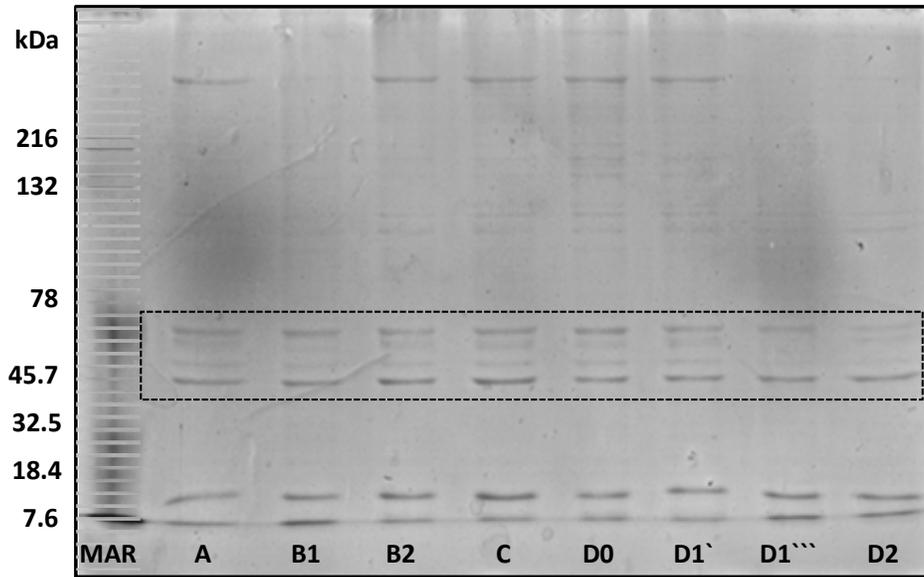
### 6.5 Colágeno en músculo:

En las electroforesis realizadas se muestran las bandas del colágeno total (por unidad de proteínas totales). Previamente se realizaron pruebas por volumen (determinadas con 10  $\mu$ L de muestra de los diferentes estadios) y por unidades (a través de la cantidad de proteínas leídas a 595 nanómetros basados en Bradford (1976). Con ello se ubico la presencia de colágeno soluble en sal (CSS) y soluble en pepsina (CSP) en los geles, ya que representan el colágeno total y el colágeno en su forma más pura respectivamente.

En la figura 40 se observa el patrón electroforético en los diferentes estadios de las fracciones de colágeno soluble en sales (CSS) obtenidas en el abdomen de camarones silvestres, mientras que en la figura 41 se observa para camarones domesticados. Se encontraron bandas de CSS alrededor de los 45.7 y 78 kDa tanto en camarones silvestres como en domesticados (F2).



**Fig. 40. Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes del colágeno soluble en sal extraído en *Farfantepenaeus duorarum* silvestres por estadios de muda. (El cuadrante punteado señala las fracciones proteicas del colágeno soluble en sal. MAR = marcador de peso molecular de alto rango).**



**Fig. 41. Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes del colágeno soluble en sal extraído en *Farfantepenaeus duorarum* domesticados por estadios de muda. (El cuadrante punteado señala las fracciones proteicas del colágeno soluble en sal. MAR = marcador de peso molecular de alto rango).**

Tanto en los camarones silvestres, como en los domesticados, se observó una mayor concentración de colágeno en estadios B2 y C, que disminuyó en los estadios próximos a la muda (Fig. 40 y 41). Se aprecia en los geles realizados para silvestres (grupo 2) y domesticados (F2), que es casi nulo el bandeo del colágeno en estadios próximos a la ecdisis (D1''' y D2).

También se realizó otros geles de prueba para determinar el bandeo del colágeno puro (soluble en pepsina), pero que lastimosamente no se apreciaban algunos estadios muy bien debido a la baja cantidad de proteína. Aunque estos geles se presentaron bandas con más peso molecular.

## 7. DISCUSIÓN.

### 7.1 Frecuencia de muda y crecimiento:

Uno de los parámetros más importantes en el estudio de la dinámica de las poblaciones de animales sometidos a explotación, es el crecimiento, que suele expresarse como el aumento en longitud, volumen o peso (Petriella y Boschi, 1997). En el caso particular de los crustáceos el crecimiento se observa como un proceso discontinuo que ocurre por saltos, debido a que el exoesqueleto o caparazón rígido que los recubre no permite que el incremento en longitud en biomasa se manifieste en forma continua. La sucesión de mudas separadas por periodos de intermuda (Drach, 1939), permite que el viejo exoesqueleto sea eliminado y ocurra un súbito incremento de tamaño como resultado de la absorción de agua, que ocurre antes de que el nuevo tegumento se endurezca, por la incorporación de las sales de calcio que se concentran en la hemolinfa o en la glándula digestiva. De esta forma, los crustáceos crecen con una tendencia exponencial de los valores de peso o talla con respecto al desarrollo (Stevenson, 1985). Por ejemplo, entre un estadio larval y el siguiente, o puede ser entre mudas sucesivas del juvenil o adulto. Es de notar que este patrón de crecimiento depende fundamentalmente de las edades de los individuos y de las condiciones ambientales, entre las que destaca la temperatura que influye en el crecimiento de los organismos regulando la tasa metabólica (Wyban *et al.*, 1995). Esta influencia es más evidente en especies cuyo ciclo de vida es corto, como los camarones.

Son pocos los trabajos en camarones peneidos que estudian la interacción entre la frecuencia de muda y la temperatura; Choe (1971) en *Litopenaeus japonicus* muestra que un cambio en 4°C altera el ciclo de muda por un día y recientemente Galindo (2007) trabajando con *Litopenaeus vanamei* reporta que una variación en 3°C modifica la duración del ciclo de muda en un día. En este trabajo se mantuvo la temperatura constante en 28°C para evitar estos efectos marcados en la duración de los ciclos de muda, y poder probar la hipótesis relacionada con el efecto que tiene el *origen* de los organismos sobre este parámetro.

Con respecto al efecto de la salinidad sobre la frecuencia de muda hay opiniones encontradas. Haran *et al.* (1992) y Petriella y Boschi (1997) muestran que existe un efecto significativo, mientras que otros autores reportan que la frecuencia de muda es independiente de la salinidad (Hysmith y Colura, 1976; Rouse y Kartamulia, 1992; Browder *et al.*, 2002). Sin embargo, este factor tiene efectos sobre una gran variedad de respuestas de las especies estuarinas como los decápodos. Así, la intensidad a la que se presentan los mecanismos de osmorregulación entre la hemolinfa y el medio depende de la concentración de sales en el ambiente (Lemaire *et al.*, 2002).

Una de las formas más comunes que existe para analizar el crecimiento y la frecuencia de muda en crustáceos, en particular camarones, es determinar la diferencia entre la variable analizada, ya sea peso o talla, antes y después de la muda, en condiciones controladas. Estas mediciones son difíciles de obtener en el medio natural considerando que el carácter móvil y críptico de los camarones. Por esta razón, se obtuvieron organismos del medio natural y se sometieron a un sistema experimental que permitió mantenerlos individualizados. Así, fue posible obtener mediciones de varios ciclos de muda sucesivos.

El camarón rosado es una especie que se estresa fácilmente y muy sensible a las condiciones de manejo, ya que cualquier efecto externo asociado a cambios físicos-químicos puede producir la muerte de los organismos (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2003). Encuentro que este hecho puede explicar por qué la mortalidad fue alta en la aclimatación y desarrollo del experimento, a pesar que los organismos se mantuvieron en las condiciones requeridas para su óptimo crecimiento.

Como se conoce, el crecimiento es la expresión de una buena dieta y de una serie de factores extrínsecos, como la temperatura y salinidad. Los resultados de este trabajo muestran que las diferencias en el incremento en peso diario obtenido en el conjunto de camarones silvestres y domesticados son mínimas. Por lo tanto, el origen de los individuos, considerando las condiciones experimentales a las que

fueron sometidos, no tiene un efecto en esta variable. De acuerdo a Gaxiola *et al.* (2004) una dieta conteniente el 40% proteína animal, como la que les fue suministrada brinda los nutrientes necesarios para que ocurra la síntesis de tejido y exoesqueleto.

En los crustáceos la determinación de la edad es muy compleja y realmente surgen dificultades, en especial cuando se trata de animales silvestres debido a que el crecimiento se vincula al proceso de muda. Una forma de analizar ese crecimiento es registrar el cambio sucesivo del caparazón que recubre todo el cuerpo, a pesar de que existen mudas sin incremento en talla o peso, particularmente en animales más longevos. Aunque este mecanismo tiene ciertas desventajas debido a que la misma naturaleza del crecimiento en los crustáceos, dispone dos componentes fundamentales, uno donde el incremento que realmente puede ocurrir en cada muda, y el otro es el lapso de intermuda o intervalo de muda que ocurre entre dos mudas sucesivas.

Según Hartnoll (1982), estos componentes del proceso de crecimiento actúan contrariamente y producen respuestas muy diferentes ante cambios externos que deben llevar a análisis independientes. Este trabajo aporta información biológicamente importante pues se describe la duración del ciclo muda considerando el origen de los organismos y se determina la frecuencia de muda en cada caso (figuras 6 y 8). Así mismo, se estimó la ganancia en peso de una muda a otra (figura 10).

Dado que es la primera vez que se reporta la frecuencia de muda como componente del proceso de crecimiento de *Farfantepenaeus duorarum*, y mucho más en comparando camarones domesticados y silvestres, es posible marcar las diferencias entre los orígenes que pueden servir de base para resolver problemas de índole fisiológicos o morfológicos, conducta o reproducción. En el medio natural, se han determinado en otras investigaciones con esta especie, la duración del periodo de juveniles en 10-19 días (Eldred, *et al.*, 1965), así como también el

índice de mortalidad anual en la etapa de larva-juvenil de 3.4- 44.5 (Álvarez *et al.*, 1987), y en juvenil de 4.8-9.6 (Gracia, 1995). El ciclo de muda en juveniles de *Farfantepenaeus duorarum* silvestres es de 10 días y domesticados de 11 días, ya que forma parte de la familia de peneidos mantiene una relación cercana con la duración la frecuencia en el ciclo de muda y la temperatura, salinidad o por talla, como ocurre en *Litopenaeus vannamei* que a 28°C tiene una frecuencia de muda de 14 días (Charmantier *et al.*, 1994), 11.7 días (Betancourt *et al.*, 1993), 9.26 días (Galindo, 2007); en *Litopenaeus setiferus* es de 13.6 días y en *Litopenaeus stylirostris* con 11.5 días ambos a 27-29°C (Robertson *et al.*, 1987).

Es importante considerar que la información de crecimiento y edad relacionada con la muda proviene de observaciones y estudios de animales domesticados o en cautiverio, y por lo tanto los resultados pueden tener limitaciones para explicar lo que ocurre en las poblaciones naturales. Pero la ventaja que ofrece es que se puede conocer la edad desde el momento preciso de nacimiento desde el desove.

Con respecto a la determinación de la frecuencia de mudas entre silvestres y domesticados, se observó que estos individuos mudaron y crecieron de una manera diferente. Lo anterior explica como para unos individuos fue más fácil mudar en pocos días después de la anterior muda y otros tomaron un largo lapso de días para que ocurriese el evento de muda, y es apreciable al observar los resultados correspondientes a los organismos silvestres (Fig. 6) y domesticados en (Fig. 8). A pesar de tener un día de diferencia promedio entre orígenes, se observa cómo algunos individuos mudaron más rápido que otros, y esto hace que puedan lograr alcanzar hasta una muda más con respecto a otro que ha mudado una sola vez.

Por otro lado marcando una diferencia con respecto al peso ganado, los domesticados ganaron un poco más de peso, a pesar de tomar un día más en promedio al mudar con respecto a los silvestres (Fig. 10). Esto se puede atribuir a la adaptación al alimento o dieta artificial que se suministró, que a pesar de contar

con un balance de nutrientes, los silvestres no la aprovecharon al 100%, dejando el proceso de ecdisis al puro control hormonal. Pero surge la duda, que sí es control hormonal el que produce este efecto que también afecta a los domesticados, el cual sería difícil explicarlo ahora dejándolo a un siguiente trabajo. La diferencia se marcaría cuando en el caso de los camarones los domesticados que, momentos antes y después de mudar, ingieren el alimento con mayor facilidad que los silvestres y por lo tanto pueden reservar nutrientes para el proceso de gasto energético de la ecdisis en sí y de la calcificación del exoesqueleto. A pesar de esto, no hubo diferencias significativas en el peso, por lo que desde el punto de vista estadístico los organismos obtienen la misma proporción de biomasa (ocurrido en la intermuda) en ambos tratamientos, a pesar que la duración del ciclo de muda sea diferente.

Sin duda otra condición ambiental que influye en la fisiología del ciclo de muda es la fase lunar (Fuss y Ogren, 1966; De Corsey, 1983; Dall *et al.*, 1990; Molina *et al.*, 2000). Se ha reportado que hay una sincronización natural del evento de muda con el ciclo lunar de 7 días, lo cual es interesante ya que muchos eventos sucedieron a momentos de que la luna nueva estuviera ocurriendo igual, marcándose más en organismos silvestres. A pesar de estar en condiciones experimentales esta información es quizás marcada por factores genéticos o provenientes del ciclo lunar. Dado que los organismos en proceso de domesticación que se utilizaron en este trabajo son una F2, podría ser muy pronto para decir que este control lunar no pueda producir mayores efectos sobre la muda entre los camarones, como reportó Fuss y Ogren (1966) con silvestres de esta especie, que en luna llena un alto porcentaje de la población de camarones muda en comparación con la luna nuevas.

## **7.2 Consumo de alimento antes y después de la muda.**

El consumo de alimento también está vinculado al ciclo de muda, y es claro que la nutrición en los decápodos es un tema amplio a estudiar, ya que en el medio natural por ejemplo los organismos tienen dietas con requerimientos bastantes

específicos (Petriella y Boschi, 1997), en cambio para que los cultivos masivos tengan mayor productividad, un gran numero de investigadores se dedican a diario a encontrar una dieta apta que permita un crecimiento normal o superior al del ambiente, a pesar de que se ha demostrado en esta especie el requerimiento de 40% proteína animal como efectiva en su crecimiento (Gaxiola *et al.*, 2004).

Después de determinar la ingestión durante un ciclo de muda completo en organismos domesticados (figura 12), se puede observar que los camarones juveniles de 4 gramos reducen su alimento en un 20% desde 30 horas antes de mudar y cuando la ingestión es mínima, la reducción alcanza el 40% 4 horas antes de la muda. Inmediatamente después de este evento se reanuda el consumo de alimento hasta recuperar los niveles normales 24 horas después de haber mudado. Los resultados muestran que esta especie disminuye la ingestión del alimento, pero no deja de comer. Galindo (2007) en *L. vannamei* domesticados, también reporta una disminución en la ingestión de los juveniles (3 a 5 g) de esta especie antes de la muda cercana al 32 %. Esta reducción ocurre desde 72 hasta 108 horas antes de la muda en juveniles y adultos (30 a 50 g) Molina *et al.* (2000) reportan una disminución en la ingestión del 18 % antes de muda con la misma especie.

Este conjunto de resultados puede constituir la evidencia necesaria para demostrar que los camarones no cesan de comer antes de mudar como lo han reportado Dall (1986), Chan *et al.* (1988), Ceccaldi (1997) y Anger (2001) entre otros. En estos trabajos se parte del hecho que los camarones silvestres dejan de comer debido que desde sus partes bucales hasta los oscículos del molino gástrico poseen estructuras quitinosas, que también son cambiadas una vez ocurre la muda, y por ende es difícil ingerir y procesar alimento.

De igual manera se ha relacionado este hecho con la presencia de receptores de ecdiesteroides en el esófago anterior los cuales lo dilatan cuando mudan afectando la ingestión del alimento (Guckler *et al.*, 1999). En otras palabras que si los niveles de la concentración total ecdiesteroides alcanzan su máximo nivel en

premuda temprana (D1''') estarán comiendo y al regresar a los valores basales en postmuda temprana (A), se dará la disminución del alimento (Blais *et al.*, 1994).

El hecho de que *F. duorarum* pueda calcificar muy rápidamente su exoesqueleto y por ende sus partes bucales puede hacer que esta especie que puede ser considerada como *oportunist*a del alimento suministrado, ya que puede aprovechar los recursos alimentarios más rápidamente que otras especies. Dado que en el medio natural la competencia por el recurso alimento puede ser una limitante, la reducción en el tiempo necesario para poder alimentarse de un conjunto de presas que posean estructuras duras, como pueden ser otros crustáceos, bivalvos, algas, detritos e incluso fragmentos de pastos marinos (Schwamborn y Criales, 2000), es una ventaja adaptativa. También en granjas las dietas generalmente son pellets o microencapsulados que le permite al ser contacto con el agua estar un poco más blanda y sean más fáciles de comer y digerir, a pesar de que las partes del sistema digestivo están siendo cambiadas al momento de mudar. En este trabajo se suministraron pellets, pero aún se demostró la falta de alimento después de haber mudado, también evitando el efecto que pudo provocar la lixiviación del alimento al entrar en contacto con el agua.

### 7.3 Análisis bioquímicos:

El proceso de muda produce cambios cíclicos en las estructuras del integumento, además cambios fisiológicos y bioquímicos (Anger, 2001), que son controlados hormonalmente (Molina *et al.*, 2000). En *Farfantepenaeus duorarum* sólo se tiene un reporte vinculado al monitoreo fisiológico y bioquímico en poblaciones silvestres (Rosas *et al.*, 2007), en cambio se conocen trabajos similares en otras especies de peneidos tales como *L. vannamei* (Charmantier *et al.*, 1983; Palacios *et al.*, 2000; Pascual *et al.*, 2003; Gaxiola *et al.*, 2005; Pascual *et al.*, 2006; Galindo, 2007), *Penaeus monodon* (Ferraris *et al.*, 1986; Chen *et al.*, 1993), *Penaeus japonicus* (Chen *et al.*, 1993), *Penaeus stylirostris* (Le Moullac *et al.*, 1997; Lemaire *et al.*, 2002), *Litopenaeus setiferus* (Alpuche *et al.*, 2005).

Se ha reportado que los metabolitos sanguíneos reflejan adaptaciones morfológicas y fisiológicas en crustáceos, como las relacionadas a las demandas energéticas específicas de camarones, además de un medio adecuado para el estudio de los marcadores de situación nutricional (Carrillo *et al.*, 2006), también se ha utilizado el hepatopáncreas para registrar el estatus en crustáceos, debido a que éste sirve como órgano de reserva inorgánicas durante la intermuda y como reservorio para sustancias inorgánicas absorbidas a partir de la descalcificación del viejo exoesqueleto (Passano, 1960). Rosas *et al.* (2007) mencionan que estudios amplios de especies de crustáceos tropicales son necesarios para definir si hay o no diferencias observadas de las especies con relación a características ambientales o las adaptaciones morfológicas y fisiológicas independientes de las condiciones ambientales.

En este trabajo por primera vez se evalúa el estado del camarón rosado, considerando un conjunto relativamente amplio de variables. Además se comparan organismos silvestres y domesticados, obviamente a nivel experimental. Los resultados de las variables bioquímicas en sangre y glándula digestiva, muestran que los valores obtenidos son más bajos comparados con los de otras especies de peneidos. Puede esperarse que *F. duorarum* sea una especie de baja actividad metabólica, indicando que el metabolismo en las especies realmente un factor indicador de los cambios en los estadios., tal como se ven en otros trabajos vinculados a estudios metabólicos en peneidos (Pascual *et al.*, 2003, Rosas *et al.*, 2007, Galindo, 2007). Con respecto a razones bioenergéticas y nutricionales, se puede decir que esta especie mantiene niveles relativamente parecidos por estadios, siendo mayores próximo a mudar, explicado fácilmente por ser momento de alto gasto energético. En cambio los organismos que están en un proceso de domesticación, los niveles son mayores con respecto a los silvestres productos básicamente de la adaptación a la dieta y el aprovechamiento óptimo del mismo.

Los resultados observados de acuerdo con el origen de *F. duorarum* (silvestre o domesticados) durante los diferentes estadios de muda, mostraron que la capacidad osmorregulatoria en la hemolinfa, estuvo alrededor de los 100 y 250 mOsm/Kg, estos resultados se asocian a los cambios del balance de agua e iones, produciendo cambios cíclicos en la química de la hemolinfa (Anger, 2001). En estudios previos con silvestres reportan en promedio 971.15 mOsm/kg (Rosas *et al.*, 2007), otras especies juveniles como *Penaeus stylirostris* la capacidad esta en 735 mOsm/kg en promedio (Lignot *et al.*, 1999).

Sobre capacidad osmorregulatoria existen reportes en relación a los estadios de muda en especies de peneidos tales como *Litopenaeus vannamei* (Mantel y Farmer, 1983; Charmantier *et al.*, 1994; Mugnier y Justou, 2004; Galindo, 2007), *Penaeus stylirostris* (Lignot *et al.*, 1999), donde reportan que esta variable tiende a incrementarse en premuda y comienza a decrecer en la postmuda, igual que se reporta en este trabajo tanto en silvestres y domesticados (Fig. 13). La misma tendencia que marca los resultados con valores cercanos en silvestres y domesticados fue el resultado de mantener una salinidad en el sistema de 22, punto en el cual la hemolinfa tiene la misma salinidad (Lemaire *et al.*, 2002) y así ver la tendencia en los estadios por efecto de la situación energética que realizan los organismos al mudar, mientras que Anger (2001) reporta que la osmolaridad en la hemolinfa es generalmente mínima en la postmuda temprana (A).

La hemocianina siendo una proteína de gran importancia en los crustáceos y la muda es uno de los principales factores intrínsecos que afectan los niveles de hemocianina en los camarones (Burse y Lane, 1971), además que sirve de transporte de materiales entre el integumento y el hepatopáncreas (Passano, 1960), como es el caso de transporte de proteínas, donde la actividad de la hemocianina coincide con los valores de proteínas durante los diferentes estadios de muda (ver figura 21 y 22) posee la tendencia siempre de aumentar momentos antes de mudar y mínima en la intermuda (Burse y Lane, 1971; Chen y Cheng, 1993), lo que se traduce que se eleva los valores debido a que inicia el proceso

de transporte de nutrientes y metabolitos para el proceso de renovar el nuevo exoesqueleto. Reportes en *F. duorarum* silvestres adultos muestran en promedio 0.77 mmol/l de hemocianina (Carrillo *et al.*, 2006; Rosas *et al.*, 2007), quizás estos valores por debajo al trabajo actual (ver tabla 4) se deba a que en los adultos los cambios de muda son menores y que por lo generalmente la energía es utilizada en reproducción.

Los camarones peneidos no presentan un requerimiento dietético de la glucosa debido a que ésta puede provenir de la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos (Wiglesworth y Griffith, 1994), por lo que algunos reportes de que el ciclo de muda no tuvieron efecto en la glucosa ni en la hemocianina (Ferraris *et al.*, 1986; Cheng *et al.*, 2002). Este metabolito es utilizado principalmente como fuente de energía metabólica directa, y donde la razón del uso y aprovechamiento de este carbohidrato de la dieta está fuertemente influenciado por el estadio de muda (Gaxiola *et al.*, 2005). Valores en silvestres se reportan en promedio 0.18 mg/ml en el tejido circulante, que por efecto del gasto energético este disminuye drásticamente (Rosas *et al.*, 2007). En nuestro trabajo vemos como los valores disminuyeron momentos antes de mudar, pero los valores son mayores en los domesticados que los silvestres, puede traducirse como efecto del aprovechamiento que tienen sobre la dieta artificial. La falta de glucosa en los estadios de premuda, es nivelada a través de las reservas de glucógeno que existen en el hepatopáncreas (Passano, 1960).

Los acilglicéridos forman parte importante en los camarones peneidos ya que son una fuente importante de energía altamente digerible (Fenucci y Haran, 2006), el hecho de que aumente en el hepatopáncreas a diferencia de la sangre, se deba a que la mayor porción de reservas orgánicas de lípidos en el hepatopáncreas de los crustáceos son acumuladas en durante la intermuda (C), casi enteramente para la formación de ácidos grasos y glicerol (Passano, 1960). Muchas de estas reservas son convertidas a glucógeno y entonces a glucosa para la formación de quitina (Renaud, 1949). También Rosas *et al.* (2007), reportan que los

acilglicéridos en sangre están alrededor de los 0.28 mg/ml, valores cercanos al promedio registrado en los silvestres y domesticados. Cabe señalar que Xu *et al.* (1994) y Lim *et al.* (1997) sugieren que la composición de ácidos grasos de la dieta para distintas especies de peneidos, principalmente considerados los esenciales se refleja en composición de diversos tejidos como músculo y en especial en el hepatopáncreas.

El colesterol por su parte es muy importante en los crustáceos todo esto porque es un componente de membrana y precursor de la hormona de la muda (ecdisona), y representa un nutriente esencial en crustáceos dado que no lo pueden sintetizar algunos productos del colesterol (Teshima, 1972), razón por la cual el colesterol debe ser suministrado en la dieta, tanto natural como en dietas artificiales. En nuestra dieta utilizamos una proporción de 8.70 % de lípidos para evaluar el crecimiento y fisiología por estados y de acuerdo con Bray *et al.* (1989) las dietas que se utilizan para maduración contienen 3% más lípidos totales que las que se usan en crecimiento, y es normal usar entre 6 y 17% de lípidos para maduración. De igual manera los niveles de colesterol disminuyeron al momento de mudar, debido al gasto en la utilización de construcción de membrana y crecimiento celular. Nuestros resultados por estadios coincide con los reportes de Renaud (1949) quien reporta para el cangrejo *Cancer pagurus* que los valores más elevados son justo antes de la muda y valores bajos en la intermuda.

Las proteínas son el componente más importante del cuerpo de los animales representando el 45-75% del tejido seco, siendo indispensable en el mantenimiento del organismo y el crecimiento, a la vez es uno de los ingredientes más costosos en las dietas de camarones peneidos, comúnmente utilizado como componente la harina de pescado (García-Galano, 2006). Se ha reportado que uno de los factores que podría variar los requerimientos proteicos sería el proceso de domesticación y las variaciones que este puede traer consigo en la capacidad de utilizar los nutrientes del alimento (Cuzon *et al.*, 2004), explicando en este trabajo como la dieta utilizada de 40% proteína animal, fue suficientemente

eficiente y por lo general fue aprovechada por domesticados explicada anteriormente sobre el crecimiento. Pero aun así los valores promedios (ver tabla 4) explican que en los diferentes estadios el comportamiento son iguales tanto en hepatopáncreas y sangre en ambos orígenes.

El glucógeno, una reserva utilizada para la formación del exoesqueleto y su síntesis es fundamental en el crecimiento (Loret, 1993), este glucógeno es convertido a glucosa, el cual en el curso de la formación de quitina, es convertido a glucosamina y acetilglucosamina, que más tarde es polimerizada para formar la quitina (Passano, 1960). Tal como nuestros resultados, se observa como los valores de glucosa baja en sangre y aumenta en el glucógeno del hepatopáncreas (ver figura 23 y 24), respondiendo que efectivamente el glucógeno será utilizado para obtener glucosa. Los valores mayores fueron en estadios D1''' y D2, es decir están cercanos al momento de la ecdisis, y de igual manera Passano (1960), Anger (2001), Cuzon *et al.* (2003) y Galindo (2007) reportan que el glucógeno en hepatopáncreas continua declinando establemente alcanzado su máximo en valores al final de la ecdisis. En camarones rosados silvestres se reportan valores promedios de glucógeno alrededor de 0.09 mg/g (Rosas *et al.*, 2007), valores muy bajos en comparación con lo del presente trabajo, podríamos atribuir esto a que las reservas se mantienen más estables debido a la individualización de los organismos en un espacio determinado, donde el gasto es muy bajo con respecto a la libertad de desplazamiento en su medio, independientemente que en momentos de mudar se quede inmóvil y refugiado (Fuss y Ogren, 1996).

### **7.3.1 Análisis multivariado:**

El análisis más efectivo para evaluar las 11 variables conjuntas de sangre y glándula digestiva fue utilizando las funciones empíricas ortogonales. Se analizó toda la matriz de datos bioquímicos, agrupados por estadio de muda y origen de los organismos. De esta forma, fue posible extraer la información cuantitativa sobre la fuente de variación y comparar los efectos.

Se obtuvieron valores altos de correlación entre las variables bioquímicas y los estadios de muda. Estos resultados confirman que las variaciones observadas dependen del estadio de muda. Así, se producen cambios ligados y conectados, ya sea inversa o directamente. Se observa que son los estadios de premuda tardía (D1''') y postmuda temprana (A), tanto en silvestres como en domesticados, los momentos del ciclo de muda en los que las variables se comportan de manera extrema dado que se producen cambios fisiológicos en los individuos en el periodo cercano a la ecdisis. Estas variaciones son características y otros autores han demostrado anteriormente esta relación (Burse y Lane, 1971, Chen y Cheng, 1993; Rosas *et al.*, 2007).

El modelo que se generó indica que existe un efecto de la capacidad osmótica y de la concentración de las proteínas sobre el estado fisiológico de los organismos silvestres y domesticados. Estas variables pueden ser consideradas como las mejores indicadoras de adaptación, como proponen Galindo (2007) y Charmantier *et al.* (1994). En los resultados de este trabajo, el factor 1 comprende a la capacidad osmótica lo que permite inferir que la activación del proceso de absorción de agua en premuda, controlado hormonalmente por la hormona hiperglicemiante que promueve la actividad de la bomba  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$  en el momento de la muda, que ocurre en el estadio D2. El efecto de las proteínas, puede ser producto de una buena dieta administrada en los experimentos y que los organismos pudieron aprovecharla, y porque sin duda las proteínas son un componente de las reservas que más son acumuladas en hepatopáncreas durante la intermuda para ser utilizadas en todo el proceso cíclico de crecimiento y que ocurre tanto en silvestres como en domesticados. Esto coincide con lo que reporta Rosas *et al.* (2002) que camarones cultivados están bien adaptados al uso de proteínas como fuente de energía y como molécula para el crecimiento, también para mantener la presión osmótica y para producir glucógeno y glucosa a través de las rutas gluconeogénicas.

#### **7.4 Colágeno en músculo:**

El colágeno es un esencial constituyente del almacén extracelular de los animales, y ha sido siempre una selección ideal para los estudios de tendencias evolucionistas y de relaciones función-estructura (Sivakumar *et al.*, 2000), además otra importancia se sugiere como factor que determina la textura o firmeza del músculo (Mizuta *et al.*, 1994). Estudios previos sobre el colágeno, fueron primeramente realizados para determinar el contenido y caracterización bioquímica por Kimura *et al.* (1969). A través del tiempo han sido elaboradas estrategias efectivas para purificar el complejo colágeno, hasta llegar a aislar en forma pura 9 simples especies moleculares o tipos de colágeno.

Diversos son los trabajos realizados en músculos de crustáceos para analizar contenido y caracterización parcial del colágeno y colagenasa (Yoshinaka *et al.*, 1989; Kimura y Tanaka, 1986; Mizuta, 1994), además de caracterizar las diferentes especies moleculares que se presenta el colágeno (Sivakumar, *et al.*, 2000), e incluso para analizarlo como actividad enzimática en hepatopáncreas (Burgos-Hernández *et al.*, 2005). También existen estudios en otros grupos taxonómicos que generalmente vincula un mismo trabajo en la extracción y análisis del colágeno, donde se reporta niveles y expresiones de las bandas, como se reporta para algunos cefalópodos (Morales *et al.*, 2000), en el calamar gigante *Dosidicus gigas* (Torres-Arreola *et al.*, 2008), en la sepia *Sepia officinalis* (Sivakumar y Chandrakasan, 1998).

Pero hasta el momento no se encuentran trabajos sobre *F. duorarum*, es la primera vez que se reporta, a través del patrón electroforético, las fracciones de colágeno total, tipo soluble en sales (CSS), y siendo comparado entre silvestres y domesticados. Pues es de notarse que el peso molecular de las bandas que el CSS se mantuvieron entre 45.7 y los 78 kDa, tomando como referencia un marcador de alto rango. Este resultado se reporta por primera vez para esta especie. Otros autores, obtuvieron un peso molecular del colágeno alrededor de los rangos 25 a 45 kDa en el hepatopáncreas de *L. vannamei* (Burgos-Hernández *et al.*, 2005).

El colágeno se origina por una proteína precursora llamada tropocolágeno que mide alrededor de 300 nanómetros de largo y 1,4 nm de diámetro. El tropocolágeno está formado por tres cadenas polipeptídicas, llamadas cadenas alfa ( $\alpha$ ), constituidas por un polipéptido, formado por una repetición de tres aminoácidos siendo muy ricas en prolina, hidroxiprolina y glicina (Eyre, 1987), las cuales son fundamentales en la formación de la superhélice. La hidroxiprolina constituye alrededor de un 10 a 12 % de todos los residuos aminoacídicos del colágeno, que suele utilizarse como criterio analítico para evaluar la cantidad de colágeno (tejido conectivo) presente en productos cárnicos.

Se ha reportado que el colágeno está constituido por tres cadenas polipéptidas ( $\alpha$ ) con pesos moleculares cercanos a los 100 kDa, debido a que el colágeno en su mayoría está constituido por hidroxiprolina, y una de ellas está unida entre sí por un entrecruzamiento intramolecular que se conoce como cadena  $\beta$  (Mizuta *et al.*, 2002). Cabe mencionar que la aparición de bandas extras alrededor de los 132 kDa en los geles de CSS, apreciados en ambos orígenes (figuras 40 y 41) se debe a que aparecen cadenas  $\alpha$  y cadenas  $\beta$  del colágeno, y que esto es debido a que la sal (NaCl) presenta la menor capacidad de solubilizar al colágeno puro debido a la alta fuerza iónica del medio, y permite solubilizar parte del colágeno, es decir las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  sin entrecruzamiento intra e intermolecular (Torres-Arreola *et al.*, 2008).

Otra observación interesante, es la manera en la que se distribuye el CSS en los distintos estadios de muda. Es muy uniforme en las bandas, pero son mayores en los estadios B2 y C, justo cuando están en intermuda, siendo el momento cuando los organismos están en intermuda. En este momento, los nutrientes están siendo aprovechados, las reservas energéticas son acumuladas en el hepatopáncreas (Passano, 1960), además el exoesqueleto es recalcificado y el nuevo tejido es formado. Es interesante como en el gel, las bandas van desapareciendo en los estadios cercanos a la ecdisis, debido al desgaste energético sometido al mudar, y es muy alentador comprobar la hipótesis sobre la proporción de diferencias del

colágeno que se esperaba encontrar por unidad de proteína en los silvestres en comparación con domesticados.

Se observó en la comparación de orígenes, los silvestres se marca las bandas por unidad (cantidad de proteína presente) y también por volumen mucho más que los domesticados, esto quizás se deba que en el medio natural los organismos obtienen todos los aminoácidos requeridos de su dieta, que se transmite en una mejor calidad proteica que permite la formación de tejidos mucho más rápido y más consistentes. En cautiverio, las dietas están preparadas para una obtener mejor calidad en crecimiento y textura de los organismos, ésta a su vez dependiendo del origen de la proteína, ya que los camarones domesticados están adaptados al uso de proteínas como fuente de energía (Rosas *et al.*, 2007). En nuestro trabajo utilizamos proteína a base de harina de pescado y calamar, donde el análisis bromatológico de nuestra dieta, marca una escasa falta de hidroxiprolina y glicina, que básicamente son los principales constituyentes del colágeno, por lo que se esto se traduce en un porcentaje bajo de proteínas por unidades, observado en las bandas del gel de poliacrilamida.

## **8. CONCLUSIONES.**

- La duración promedio del ciclo de muda fue muy parecida para camarones silvestres (10 días) y domesticados (11 días).
- El crecimiento de organismos silvestres fue ligeramente menor a los domesticados, bajo condiciones controladas de salinidad y temperatura, con un incremento en peso diario en silvestres fue de 0.024 g/día mientras que los domesticados de 0.084 g/día.
- Los camarones domesticados reducen su consumo de alimento en un 20% 30 horas antes del evento, pero no dejan de comer.
- El estatus fisiológico que presenta el camarón rosado fue marcado como saludable. Las diversas variables químicas se comportaron normales a los estándares de los peneidos, con mayor efecto en el estadio de postmuda (A) y premuda tardía (D1''').
- Los resultados del análisis multivariado permiten decir que la capacidad osmótica tiene un efecto en animales silvestres y domesticados, como efecto de la absorción de agua esta siendo controlada hormonalmente a través de la hormona hiperglicemiante, que promueve la actividad de la bomba  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$  en el momento de la muda.
- El colágeno es un indicador de la firmeza en músculo, los camarones rosados silvestres y domesticados marcan bandas entre 47.5 y 75 kDa que corresponde a colágeno soluble en sal, con ausencia de bandas momentos antes de mudar como parte del desgaste energético que este proceso implica.

## LITERATURA CITADA

Alpuche J., A. Pereyra, C. Agundis, C. Rosas, C. Pascual, M.C. Slomiannyc, L. Vazques & E. Zenteno. 2005. Purification and Characterization of a Lectin from the White shrimp *Litopenaeus setiferus* (Crustacea: Decapoda) hemolymph. *Biochim. Biophys. Acta*, 1724: 86-93.

Alvares, F., Gracia, A., Soto, L. 1987. Crecimiento y mortalidad de las fases estuarinas del camarón rosado *Penaeus (Farfantepenaeus) duorarum* Burkenroad, 1939 en la Laguna de Términos, Campeche, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, México, 14: 207-220.

Andreatta, E. & C. Rosas. 2006. Perspectivas de la Investigación en nutrición en camarones cultivados. In: Rosas, C., R. Wilson, E Andreatta. (Eds). Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. CYTED. México. 322 pp.

Anger, K. 2001. The biology of decapods crustacean larvae. 1 ed. A. A. Balkema publishers, Rotterdam, Netherlands. 420 pp.

Araos-Dzul, J., N. López-Téllez, D. Sarabia-Gómez & H. Ramírez-Ligonio. 2000. Alimentación de larvas de camarón rosado del Golfo de México *Farfantepenaeus duorarum* con dos tipos de microencapsulados. *INP. SAGARPA. México, Ciencia Pesquera No. 14: 33- 37.*

Arcos, F.G., A.M. Ibarra, C. Vázquez-Boucard, E. Palacios & I.S. Racotta. 2003. Feasible predictive criteria for reproductive performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*: egg quality and female physiological condition. *Aquaculture*, 228: 335–349.

Arena L., G. Cuzón, C. Pascual, G. Gaxiola, C. Soyez, A. VanWormhoudt & C. Rosas. 2003. Physiological and genetic variations in domesticated and wild populations of *Litopenaeus vannamei* fed with different carbohydrate levels. J. Shellfish Research, 22(1):269-279.

Artiles, M.A., B. Jaime. & J. Galindo. 1996. Manejo del alimento en el engorde semi-intensivo del camarón blanco (*Peneaus schmitti*) utilizando comederos. Rev. Cub. Inv. Pesq. 20 (1): 10-14.

Aquacop, B. Bourgeois & G. Cuzon. 1975. Determination des stades d'intermude chez *Macrobrachium rosenbergii* (Caridae) and *Penaeus merguensis* (Penaeidae). Anexo/COP, Internal Report, 40 pp.

Betancourt, I, J. Calderon, A. Sagi. 1993. Estadios de muda en hembras adultas de *Penaeus vannamei*. Aquaculture Tropical, 1: 13-15.

Burgos-Hernández, A., S. I. Farias, W. Torres-Arreola & J. M. Ezquerra-Brauer. 2005. In vitro studies of the effects of aflatoxin B<sub>1</sub> y fumonisin B<sub>1</sub> on trypsin-like and collagenase-like activity from the hepatopancreas of the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture, doi:10.1016/j.aquaculture.2005.05.024.

Boschi, E.E., 1977 Biología de los crustáceos cultivables en América Latina. FAO Inf.Pesca (159), Vol. 2: 73–95.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Ann. Biochem., 72: 248.

Browder, J. A., Z. Zein-Eldin, M. Criales, M. Robblee, S. Wong, T. Jackson & D. Johnson. 2002. Dynamic of pink shrimp (*Farfantepenaeus duorarum*) recruitment

potencial in relation to salinity and temperature in Florida Bay. *Estuaries*, Vol. 25, No. 6B: 1355-1371.

Burse, C. R. & C. E. Lane. 1971. Ionic and protein concentration changes during the molt cycle of *Penaeus duorarum*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 40:155-162.

Burukovskii, R. N. & S. T. Ptisyn. 1976. Algunos aspectos de la variabilidad de la alimentación del camarón rosado del Atlántico Este-Central. *Trudy Atlant NIRO*, No. 60: 143-151.

Carroll, N. V., R. W. Longley & J. H. Roe. 1955. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *J. Biol. Chem.*, 220(2): 583-593.

Carrillo, O., Z. Claudina & C. Rosas. 2006. Marcadores de situación nutricional y de salud. In: Rosas, C., R. Wilson, E. Andreatta. (Eds). *Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica*. CYTED. México. 322 pp.

Ceccaldi, H. J. 1997. Anatomy and physiology of digestive system. In: D'Ábramo, L.R, Conklin, D. E. & Akiyama, D. M. (Eds). *Crustacean Nutrition*, VI: 261-291.

Casillas-Hernández, R., F. Magallón, G. Portillo, O. Carrillo, H. Nolasco & F. Vega-Villasante. 2002. La actividad de proteasa, amilasa y lipasa durante los estadios de muda del camarón azul *Litopenaeus stylirostris*. *Rev. Invest. Mar.* 23(1): 35-40.

Chan, S. M., S. Rankin & L. Keeley. 1988. Characterization of the moult stages in *P. vannamei*: Setogenesis and haemolymph levels of total protein, ecdysteroids, and glucose. *Biol. Bull.* 175:185-192.

Charmantier, G., C. Soyez & Aquacop. 1994. Effect of molt stage and hipoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 173:223-246.

Chen, J. C. & S. Y. Cheng. 1993. Studies in haemocyanin and haemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. Comp. Biochem. Physiol., 106B: 293-296.

Criales, M., C. Yeung, D. L. Jones, T. L. Jackson & W. Richards. 2003. Variation of oceanographic processes affecting the size of pink shrimp (*Farfanpeneaus duorarum*) postlarvae and their supply to Florida Bay. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 57: 257-468.

Cummings, W.C. 1961. Maturation and spawning of the pink shrimp *Penaeus duorarum* Bukenroad. Trans. Am. Fish. Soc., 90(4): 462-68.

Cuzón, G., A. Lawrence, G. Gaxiola, C. Rosas & J. Guillaume. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. Aquaculture, 235:513-551.

De Coursey, P. J. 1983. Biological timing. In: Vernberg, F.J., Vernberg, W. B. (eds.), The Biology of Crustacea. Vol. 7 Academic press, N.Y., pp. 107-162.

Dall, W. 1986. Estimation of routine metabolic rate in a penaeid prawn, *Penaeus esculentus*, Haswell. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 96:57-74.

Dall, W., P. C. Rothlliesberg & D. J. Staples. 1990. The biology of the penaidae: In: Blaxter, J. H. S., A. J. Southward (Eds.). Advances in Marine Biology, Vol. 27. Academic press, N.Y., Chapter 6. 489 pp.

Drach, P. & C. Tchernigovtzeff. 1967. Sur le method du determination des stades d'intermude et son application générale aux crustacés. Biol Mar., 8: 595-610.

Eldred, B., J. Williams, G. T. Martin & E. A. Joyce Jr. 1965. Seasonal distribution of penaeid larvae and postlarvae of the Tampa Bay area, Florida. Tech. Ser. No. 44. State of Florida Board Conservation, pp. 1-47.

Eyre, D. 1987. Collagen crosslinking amino acids. *Methods in Enzymology*, 144:115-139.

Ezquerro-Brauer, J.M., B. Jesffls, L. Salazar, L. Bringas & O. Rouzard. 2003. Effect of dietary protein on muscle collagenase and shear forcé of farmed white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Eur. Food Res. Technol.*, 217: 277-280.

FAO, 2006. El Estado mundial de la Pesca y la Acuicultura (SOFIA 2006). Parte I, Examen Mundial de la Pesca y la Acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.

Fenucci, J. 1988. Manual para la cría de camarones peneidos. Documento preparado por el proyecto GCP/RLA/075/ITA, Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para América Latina y el Caribe. Programa Cooperativo Gubernamental FAO-Italia. Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y la Alimentación. Brasilia, Brasil.

Fenucci, J. & N. S. Harán. 2006. Acción de los lípidos en crustáceos penaeoideos. In: Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamerica. Rosas, C., O. Carrillo, R. Wilson & E. Andreatta (Eds.). CYTED. México. 322 p.

Ferraris, R. P., F. D. Parado-Esteba & J. M. Ladja. 1986. Effect of salinity on the osmotic chloride, total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). *Comp. Biochem. Physiol.*, 83A: 701-708.

Fuss, C.M. & L.H. Ogren. 1966. Factors affecting activity and borrowing habits of the pink shrimp *Penaeus duorarum* Burkenroad. Biol. Bull. Mar. Biol. Woods Hole, Mass., 130: 70-91.

Galindo, C. 2007. Parametrización y desarrollo del sub-modelo del proceso fisiológico de muda de *Litopenaeus vannamei* como parte de un modelo de crecimiento individual de camarones peneidos. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. 129 págs.

Galindo, C., G. Gaxiola, G. Cuzon & X. Chiappa-Carrara. 2009. Physiological and biochemical variations during the molt cycle in juvenile *Litopenaeus vannamei* under laboratory conditions. Journal of Crustacean Biology, 29(4): in press.

García.-Galano, T. 2006. Proteínas. In: Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. Rosas, C., O. Carrillo, R. Wilson & E. Andreatta (Eds.). CYTED. México. 322 p.

Gaxiola, M.G., R. Pedroza, L. Gómez, N. López & T. García. 2004. Algunos aspectos de la nutrición del camarón blanco (*Penaeus setiferus*) y el camarón rosado (*P. duorarum*) del Gofo de México. Avances en Nutrición Acuícola, III: 181-204.

Gaxiola, G., G. Cuzón, T. García, E. Taboada, R. Brito, R. Chimal, M. E. Paredes, L. A. Soto & C. Rosas. 2005. Factorial effects of salinity, dietary, carbohydrates and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Comp. Biochem. Physiol., 140 A: 29-39.

Gracia, A. 1995. Impacto de la pesca artesanal sobre la producción del camarón rosado *Peneaus duorarum* Burkenroad, 1939. Ciencias Marinas, 21 (3): 343-359.

Hartnoll, R.G. 1982. Growth. In: D. Bliss (Ed.). The Biology of Crustacea, Vol. 2. Academic Press, N.Y., pp. 111-185.

Hiroshi, K. 1985. Larval development of the pink shrimp *Penaeus duorarum* Burkenroad reared in the laboratory and the comparison with earlier descriptions. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 51(8): 1239-1248.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.

Lehninger, A. 1975. Bioenergética. Fondo educativo interamericano, S. A. USA. 242 p.

Lemaire, P., E. Bernard, J.A. Martínez-Paz & L. Chim. 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. Aquaculture, 209: 307-317.

Lemos, D., J. M. Ezquerro & F. L. García-Carreño. 2000. Protein digestion in penaeid shrimp: Digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. Aquaculture, 186: 89-105.

Lim, C., H. Ako, C. I. Brown & K. Hahn. 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipids. Aquaculture, 151: 143-153.

Lignot, J., J. C. Cochard, C. Soyeux, P. Lemaire & G., Charmantier. 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. Aquaculture, 170: 79-92.

Lockwood, A. P. M., 1967. Aspects on the physiology of crustacean. W.H. Free and Co., San Francisco. 328 pp.

López-Téllez, N.H., J. Hernández-Rodríguez, H. Ramírez-Ligonio & J. Seca-Escalante. 2000. Crecimiento del camarón rosado *Farfantepenaeus duorarum* en estanques rústicos. INP. SAGARPA. México. Ciencia Pesquera, No.14: 29- 32.

Loret, S. M. 1993. Hemocyte differentiation in the shore crab (*Carcinus maenas*) could be accompanied by a lost of glycogenosynthesis capability. The journal of experimental zoology, 267: 548-555.

Mantel, L. H & L. L. Farmer. 1983. Osmotic and ionic regulation. In: The Biology of Crustacea, edited by Bliss, D. E. & Mantel, L. H. Academic Press, New York and London, 5: 53-161.

Mier y Reyes R.C., A.J. Sánchez, R. Florido, A. Granados-Berber, C. Alvarado, L.A. Soto & J.L Ramos. 1997. Variación Temporal de *Penaeus (Farfantepenaeus) duorarum* Burkenroad (Crustacea: Decapoda) en vegetación acuática estuarina. Revista Universidad y Ciencia, Vol. 13 No. 25:15-29.

Mizuta, S., R. Yoshinaka, M. Sato & M. Sakaguchi. 1994. Characterization of collagen in the muscle of several crustacean species in association with raw meat texture. Fisheries Science, 60(3): 323-328.

Mizuta, S. R., T. Miyagi, T. Nishimiya & R. Yoshinaka. 2002. Patial characterization of colagen in mantle abd adductor of pearl oyster (*Pinctada fucata*). Food Chemistry, 79: 319-325.

Molina, C., E. Cadena & F. Orellana. 2000. Alimentación de camarones en relación a la actividad enzimática como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda, In: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 de Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, México.

Morales, J., P., Montero & A. Morales. 2000. Isolation and Characterization of two types of muscle collagen in some cephalopods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 2142-2148.

Kimura, S. & H. Tanaka. 1986. Partial characterization of muscle collagens from prawns and lobster. *J. Food Sci.*, 51: 330-332.

Palacios, E., C. I. Pérez-Rostro, J. L. Ramírez, A. M. Ibarra & I. S. Racotta. 1999. Reproductive exhaustion in shrimp (*Penaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival and growth. *Aquaculture*, 171: 309–321.

Palacios, E. 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185, No. 34: 353-371.

Pascual, C., A. Sánchez & C. Rosas. 2007. Manual de métodos para la evaluación de componentes sanguíneos de camarones peneidos. Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Facultad de Ciencias, UNAM. Sisal, Yucatán, México.

Passano, L. M. 1960. Molting and its control. In: Waterman, T. H. (Ed.). *The physiology of Crustacea*. Academic press, N.Y., 670 pp.

Péqueux, A. 1995. Osmotic regulation in Crustaceans. *J. Crust. Biol.*, 15: 1-60.

Pérez-Farfante, I. 1970. Diagnostic characters of juveniles of the shrimp *Penaeus aztecus aztecus*, *P. duorarum duorarum* and *P. brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *U.S. Fish. Wild. Serv. Spec. Sci. Rep. Fish.*, 599: 26 pp.

Petriella, A. & E. Boschi. 1997. Crecimiento en crustáceos decápodos: resultados de investigaciones realizadas en Argentina. *Invest. Mar. Valparaíso*, 25: 135-157.

Ramírez-Rodríguez, M. & F. Arreguín-Sánchez. 2000. Growth of pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) in Campeche Sound, Mexico. *Crustaceana*, 73(10): 1263-1272.

Ramírez-Rodríguez, M., E., Chávez & F. Arreguín-Sánchez. 2000. Perspective of the Pink shrimp (*Farfantepenaeus duorarum* Burkenroad) Fishery of Campeche Bank, Mexico. *Ciencias Marinas*, 26 (1): 97-112.

Ramírez-Rodríguez, M., F. Arreguín-Sánchez. 2003. Life history stage duration and natural mortality for the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) in the southern Gulf of Mexico, using the gnomonic model for time division. *Fisheries Research*, 60: 45-51.

Renaud, L. 1949. Le cycle des reserves organiques chez les crustacés decapodés. *Ann. Inst Oceanogr. Paris*, 24: 259-267.

Robertson, L., W. Bray, J. Leung-Trujillo & A. Lawrence. 1987. Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*. *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 18, No. 3: 180-185.

Rosas, C., G. Cuzon, G. Gaxiola, L. Arena, P. Lemaire, C. Soyez & A. Van Wormhoudt. 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol. 24 (2): 181-198.

Rosas, C. & O. Carrillo. 2006. Principales rutas metabólicas. Utilización de la energía. In: Rosas, C., R. Wilson & E. Andreatta. (Eds). *Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica*. CYTED. México. 322 pp.

Rosas, C., E. L. Cooper, C. Pascual, R. Brito, R. Gelabert, T. Moreno & A. Sánchez. 2007. Physiological and immunological conditions of the wild

populations of *Farfantepenaeus duorarum* from the Campeche Sound (Crustacea, Penaeidae). *Mar. Biol.*, 152: 929-938.

Sánchez, A., C. Pascual, A. Sánchez, F. Vargas-Albores, G. Lemoullac & C. Rosas. 2001. Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. *Aquaculture*, 198: 13–28.

Schwamborn, R. & M. Criales. 2000. Feeding strategy and daily ration of juvenile pink shrimp (*Farfantepenaeus duorarum*) in a South Florida seagrass bed. *Marine Biology*, 137: 139-147.

Sikorski, Z. & J. Borderias. 1994. Collagen in the muscles and skins of marine animals, pp 58-70. En: *Sea Food Protein*, Sikorski, Z.E., B.S. Pan, F. Shahidi (Eds). Chapman and Hall, New York.

Sivakumar, P. & G. Chandrakasan. 1998. Occurrence of a novel collagen with three distinct chains in the cranial cartilage of the squid *Sepia officinalis* comparison with shark cartilage collagen. *Biochimica et Biophysica Acta* 1381 (2):161-169.

Sivakumar, P., L. Suguma & G. Chandrakasan. 2000. Molecular species of collagen in the intramuscular connective tissues of the marine crab, *Scylla serrata*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 125: 555-562.

Stevenson, J. R. 1985. Dynamics of the integument. *In*: D. Bliss (ed.). *The Biology of Crustacea*, Vol.9. Academic Press, N.Y., pp. 2-42.

Teshima, bS. 1972. Sterol Metabolism. *Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University*, 21: 69-147.

Torres-Arreola, W., R. Pacheco-Aguilar, R. R. Soletto-Mundo, O. Rouzaud-Sández & J. M. Ezquera-Brauer. 2008. Caracterización Parcial del colágeno extraído a partir del manto, aleta y tentáculos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Cienc. Tecnol. Aliment. 6(2) px-pxx. ISSN 1135-8122.

Yoshinaka, R., K. Sato, Y. Itoh, S. Nakajima & M. Sato. 1989. Content and partial characterization of collage in crustacean muscle. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 94B No.1: 219-223.

Vargas-Albores, F., M. A. Guzmán & J. L. Ochoa. 1993. An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). Comp. Biochem. Physiol., 160A: 299-303.

Vega-Villasante, F., H. Nolaso-Soria, R. Civera-Cerecedo, R. González-Valdés & M. Oliva-Suárez. 2000. Alternativa para la aliemntación del camaron en cultivo: El manejo de la muda. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M. A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre de 2000. Mérida, Yucatán.

Von Storch H. & F. M. Zwiers. 2001. Statistical Analysis in Climatic Research. Cambridge University Press. Cambridge. 484 pp.

Wiglesworth, J. M. & D. R. W. Griffith. 1994. Carbohydrate digestion in *Penaeus monodon*. Marine Biology, 120: 571-578.

Williams, A. B. 1984. Shrimps Lobsters, and Crabs of the Atlantic Coast of the Eastern United States, Maine to Florida. Smithsonian Institution Press: Washington, D.C.

Wunsch, C. 1996. The Ocean Circulation inverse Problem. Cambridge University Press. Cambridge. 442 pp.

Wyban, J., W. A. Walsh & D. M. Godin. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture, 138:267-279.

Xu, X., J. Wenjuan, J. D. Castell & r. O`Dor. 1994. Essential fatty acid requirement of the Chinese prawn *Penaeus chinensis*. Aquaculture, 127: 29-40.

## APÉNDICES.

**Apéndice 1: Programación realizada en MATLAB versión R2007a, del análisis multivariado para determinar el patrón de variabilidad conjunta y correlación entre los orígenes silvestres y domesticados por estadio y variables medidas, usando como base las Funciones Empíricas Ortogonales (FEOs).**

```
% Programa para leer los datos de camarones

clear all, close all
domest=load('Domesticados.txt');
silves=load('Silvestres.txt');
% Cada una de las matrices anteriores tiene los datos ordenados por
columnas:
% C1-Individuo, C2-Estadio
% Sangre:
% C3-Aciligliceridos C4- Glucosa C5-Colesterol C6-Proteinas C7-
Hemocianina
% C8 -Capac. Osmotica
% Hepatopancreas
% C9-Aciligliceridos C-10GlucosaC11-Colesterol C12-Proteinas C13-
Glucogeno

% Para tomar solo la variabilidad o, los cambios, se extrae la media
for jj=1:2
    if jj==1
        for ii=3:13
            %domest(:,ii)=domest(:,ii)/max(abs(domest(:,ii)));
            domest(:,ii)=domest(:,ii)-meannan(domest(:,ii));
        end
    else
        for ii=3:13
            %silves(:,ii)=silves(:,ii)/max(abs(silves(:,ii)));
            silves(:,ii)=silves(:,ii)-meannan(silves(:,ii));
        end
    end
end

estadios=[1:9];

% Hay que almacenar en una matriz los modos lider para los individuos
% domesticados y silvestres
modoslider=zeros(2,11);

% Todo el procedimiento siguiente se tiene que hacer para cada
conjunto:
% Sivestes y Domesticados

% Es necesario para cada estadio tener un dato "representativo", de
cada
```



```

% se elije la siguiente opcion en lugar de la anterior
v=v*s';
if mean(v(:,1))<0
    v=-1*v;
    u=-1*u;
end

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% se guarda la los primeros tres modos para estimar las
proyecciones
sespacial=v(:,1:3);
sespacial=sespacial';
if jj==1
    espdomest=sespacial;
    tempdomest=u(:,1:3);
    modoslider(jj,:)=espdomest(1,:);
else
    espsilves=sespacial;
    tempsilves=u(:,1:3);
    modoslider(jj,:)=espsilves(1,:);
end
end

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Graficas del modo mas energetico
figure
plot(espdomest(1,:), '--r')
hold on
plot(espdomest(1,:), '.r')
plot(espsilves(1,:), 'b')
plot(espsilves(1,:), '.b')
grid on
xlabel('Variable medida')
title('Patron de variabilidad conjunta: rojo-domesticados azul-
silvestres')
ylabel('Amplitud Modo 1')
'Coeficiente de correlacion variables (Pearson):'
correl=(-1*corrcoef(espsilves(2,:), espdomest(2,:)));
correl(1,2)

figure
plot(tempdomest(:,1), '--r')
hold on
plot(tempdomest(:,1), '.r')
plot(tempsilves(:,1), 'b')
plot(tempsilves(:,1), '.b')
grid on
xlabel('Estadio')
title('Patron de variabilidad conjunta: rojo-domesticados azul-
silvestres')
ylabel('Amplitud Modo 1')
'Coeficiente de correlacion estadios (Pearson):'
correl=(-1*corrcoef(tempsilves(2,:), tempdomest(2,:)));
correl(1,2)

```



```

        matcorrelt=[matcorrelt;ii datos(jj,1) correl(1,2)];
    end
end
end
%'Matriz de correlacion modo vs individuo'
% matcorrel
kk=find(abs(matcorrelt(:,3))>0.95);
'Correlaciones modo (1-domest, 2-silves) vs individuo > 0.95'
matcorrel=matcorrelt(kk,:);

% Graficas para el caso de los individuos domesticados
figure
kk=find(matcorrel(:,1)==1);
plot(modoslider(1,:), '--r')
hold on
for ii=1:length(domest(matcorrel(kk,2),1))
    plot(domest(matcorrel(kk(ii),2),3:13), 'k')
end
grid on
xlabel('Variable')
title('Patron de variabilidad domesticados: rojo-Modo 1 negro-
Individuos')
ylabel('Amplitud')

% Graficas para el caso de los individuos silvestres
figure
kk=find(matcorrel(:,1)==2);
plot(modoslider(2,:), '--r')
hold on
for ii=1:length(silves(matcorrel(kk,2),1))
    plot(domest(matcorrel(kk(ii),2),3:13), 'k')
end
grid on
xlabel('Variable')
title('Patron de variabilidad silvestres: rojo-Modo 1 negro-
Individuos')
ylabel('Amplitud')

```

**Apéndice 2: Programación realizada en MATLAB versión R2007a, del análisis multivariado para determinar patrón de la variabilidad de las variables en Sangre y las variables en Hepatopáncreas, en cada conjunto de individuos: domesticados y silvestres, usando como base las Funciones Empíricas Ortogonales (FEOs).**

```
% Programa para leer los datos de camarones

clear all, close all
domest=load('Domesticados.txt');
silves=load('Silvestres.txt');
% Cada una de las matrices anteriores tiene los datos ordenados por
columnas:
% C1-Individuo, C2-Estadio
% Sangre:
% C3-Aciligliceridos C4- Glucosa C5-Colesterol C6-Proteinas C7-
Hemocianina
% C8 -Capac. Osmotica
% Hepatopancreas
% C9-Aciligliceridos C-10GlucosaC11-Colesterol C12-Proteinas C13-
Glucogeno

% Para tomar solo la variabilidad o, los cambios, se extrae la media
for jj=1:2
    if jj==1
        for ii=3:13
            %domest(:,ii)=domest(:,ii)/max(abs(domest(:,ii)));
            domest(:,ii)=domest(:,ii)-meannan(domest(:,ii));
        end
    else
        for ii=3:13
            %silves(:,ii)=silves(:,ii)/max(abs(silves(:,ii)));
            silves(:,ii)=silves(:,ii)-meannan(silves(:,ii));
        end
    end
end

estadios=[1:9];

% Todo el procedimiento siguiente se tiene que hacer para cada
conjunto:
% Sivestes y Domesticados

% Es necesario para cada estadio tener un dato "representativo", de
cada
% conjunto de individuos, en la siguiente parte del programa calculo
el
% prom por estadio

matdat=zeros(9,12);
matdat(:,1)=estadios';
for jj=1:2
    if jj==1
```

```

        datos=domest;
    else
        datos=silves;
    end
    for ii=1:length(estadios)
        rr=find(datos(:,2)==estadios(ii));
        % se calcula el promedio de cada variable por estadio
        for kk=3:13
            matdat(ii,kk-1)=meannan(datos(rr,kk));
        end
    end
    if jj==1
        matdomest=matdat;
    else
        matsilves=matdat;
    end
end

% La matriz matdat es la matrices con los datos que se deben de
trabajar son
% matdomest y matsilvest
% Notar que la matriz de domesticados para el estadio D'' no tiene
valor
% asi que hay que eliminar ese estadio del analisis

for jj=1:2
    if jj==1
        datos=matdomest(1:6,2:12);
        datos=[datos;matdomest(8,2:12)];
    else
        datos=matsilves(1:6,2:12);
        datos=[datos;matsilves(8,2:12)];
    end
    for ii=1:2
        if ii==1
            %dat=datos(:,1:6);
            dat=datos(:,2:5);
        else
            %dat=datos(:,7:11);
            dat=datos(:,8:11);
        end
        % Descomposicion en valores singulares de la mtz de datos
        [u,s,v]=svd(dat);
        'prueba de svd'
        max(max(dat-(u*s*v')))
        % los vectores columna de v son los modos
        'Porcentaje de varianza contenida en cada modo'
        ss=(diag(s).^2)/sum(diag(s).^2)*100
        %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
        % Si queremos ponerle las unidades a los modos espaciales,
        v=v*s';

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

```

```
% se guarda la los primeros tres modos para estimar las
proyecciones
sespacial=v(:,1:3);
sespacial=sespacial';
if ii==1
    espdomest=sespacial;
    tempdomest=u(:,1:3);
else
    espsilves=sespacial;
    tempsilves=u(:,1:3);
end
end

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Graficas del modo mas energetico
figure
plot(espdomest(1,:), '--r')
hold on
plot(espdomest(1,:), '.r')
plot(espsilves(1,:), 'b')
plot(espsilves(1,:), '.b')
grid on
xlabel('Variable medida')
ylabel('Amplitud Modo 1')
if ii==1
    title('Patron de variabilidad conjunta domesticados: rojo-
sangre azul-hematopancreas')
else
    title('Patron de variabilidad conjunta silvestres: rojo-sangre
azul-hematopancreas')
end

figure
plot(tempdomest(:,1), '--r')
hold on
plot(tempdomest(:,1), '.r')
plot(tempsilves(:,1), 'b')
plot(tempsilves(:,1), '.b')
grid on
xlabel('Estadio')
ylabel('Amplitud Modo 1')
if ii==1
    title('Patron de variabilidad conjunta domesticados: rojo-
sangre azul-hematopancreas')
else
    title('Patron de variabilidad conjunta silvestres: rojo-sangre
azul-hematopancreas')
end

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
end
```