



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(BIOLOGÍA MARINA)

**EFFECTO DEL TIPO DE ALIMENTO EN EL CRECIMIENTO Y EL
ACONDICIONAMIENTO REPRODUCTIVO DE LAS HEMBRAS DE *O. maya* DE
SEGUNDA GENERACIÓN**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
JOSÉ CALAZÁNS AGÜERO URQUÍA

TUTOR PRINCIPAL

DR. CARLOS ROSAS VÁZQUEZ
FACULTAD DE CIENCIAS – UNAM

COMITÉ TUTOR

DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

DRA. MAITE MASCARÓ MIQUELAJÁUREGUI
FACULTAD DE CIENCIAS – UNAM

DR. PEDRO PABLO GALLARDO ESPINOSA
FACULTAD DE CIENCIAS – UNAM

DR. SERGIO RODRÍGUEZ MORALES
FACULTAD DE QUÍMICA – UNAM

SISAL, YUCATÁN, JULIO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



EFFECTO DEL TIPO DE ALIMENTO EN EL CRECIMIENTO Y
EL ACONDICIONAMIENTO REPRODUCTIVO DE LAS
HEMBRAS DE *O. maya* DE SEGUNDA GENERACIÓN

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

JOSÉ CALAZÁNS AGÜERO URQUÍA

Director de Tesis: DR. CARLOS ROSAS VÁZQUEZ

Comité Tutorial: DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ
DRA. MAITE MASCARÓ MIQUELAJÁUREGUI
DR. PEDRO PABLO GALLARDO ESPINOSA
DR. SERGIO RODRÍGUEZ MORALES

Sisal, Yucatán, julio de 2014

A mi familia y amigos

A el momento presente, aquí y ahora

A quienes creyeron

Contenido

Agradecimientos	vii
Financiación	ix
Resumen.....	x
Presentación	xi
1 IMPACTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN EL CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE JUVENILES Y PRE-ADULTOS DE <i>Octopus maya</i> : EFECTO DEL TIPO DE CULTIVO	1
1.1 Antecedentes	2
1.1.1 Presentación de la especie	2
1.1.2 Importancia pesquera	4
1.1.3 Crecimiento.....	6
1.1.4 Los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación de los pulpos	8
1.1.5 Los ácidos grasos poliinsaturados en el crecimiento de los pulpos	10
1.1.6 Efecto de la individualización en el crecimiento	12
1.2 Problema de investigación	13
1.2.1 Preguntas de investigación	13
1.2.2 Hipótesis	13
1.2.3 Objetivos	14
1.3 Materiales y métodos.....	15
1.3.1 Diseño experimental	15
1.3.2 Dietas experimentales	18
1.3.3 Alimentación de los organismos	18
1.3.4 Registro del crecimiento de los organismos.....	19
1.3.5 Tratamiento estadístico	19
1.4 Resultados.....	20
1.4.1 Efecto de la individualización en el crecimiento	20
1.4.2 Efectos de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta sobre la sobrevivencia y crecimiento exponencial de juveniles de <i>O. maya</i> mantenidos en un sistema de cultivo individualizado.....	22
1.4.3 Efectos de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta sobre el crecimiento de pre-adultos de <i>O. maya</i> mantenidos en estanques y en colectivo	23

1.5	Discusión	25
1.5.1	Efecto del método de cultivo (individual contra colectivo) sobre el crecimiento 25	
1.5.2	Crecimiento exponencial de organismos individualizados utilizando dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados	27
1.5.3	Efectos en el crecimiento con la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta en pre–adultos de <i>O. maya</i> mantenidos en estanque y en colectivo	29
2	PAPEL DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN EL PROCESO REPRODUCTIVO DE LAS HEMBRAS DE <i>Octopus maya</i> DE SEGUNDA GENERACIÓN 31	
2.1	Antecedentes	32
2.1.1	Reproducción	32
2.1.2	Reproducción de <i>O. maya</i> en cautiverio.....	33
2.1.3	Lípidos: Descripción e importancia.....	35
2.1.4	Obtención y uso de energía para la reproducción en cefalópodos	40
2.2	Problema de investigación	42
2.2.1	Preguntas de investigación	42
2.2.2	Hipótesis	42
2.2.3	Objetivos	43
2.3	Materiales y métodos.....	43
2.3.1	Diseño experimental	43
2.3.2	Evaluaciones bioquímicas.....	44
2.3.3	Tratamiento estadístico	46
2.4	Resultados.....	48
2.4.1	Efecto de la dieta en la concentración de lípidos en los tejidos de hembras pre–adultas de <i>O. maya</i>	48
2.4.2	Concentración de ácidos grasos en los tejidos y desoves de hembras pre– adultas de <i>O. maya</i>	49
2.5	Discusión	53
2.5.1	Transferencia de los ácidos grasos presentes en la dieta al vitelo de los huevos 53	
2.5.2	Destino de los ácidos grasos poliinsaturados para el crecimiento y la reproducción en <i>O. maya</i>	54
3	CONCLUSIONES.....	56

4	LITERATURA CITADA	57
5	ANEXO: PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS.....	74

Listado de Tablas

Tabla 1.1	
Valores derivados del análisis de las curvas de crecimiento de los juveniles de <i>O. maya</i> mantenidos individualizados y en colectivo en estanques exteriores.	21
Tabla 1.2	
Valores derivados del análisis de las curvas de crecimiento de los juveniles de <i>O. maya</i> mantenidos con diferentes dietas en un sistema de cultivo individualizado.	23
Tabla 1.3	
Análisis de varianza efectuado a los valores del peso obtenidos en pre–adultos de <i>O. maya</i> a lo largo de 103 días de cultivo. Valores con asterisco indican diferencia significativa ($p < 0.0005$).	24
Tabla 1.4	
Resultados de la comparación de medias mediante la prueba HSD de Tukey. Los asteriscos indican a los grupos que se formaron a partir de la prueba considerando una $p < 0.05$	25
Tabla 2.1	
Nombres y abreviaturas de algunos ácidos grasos importantes.	38
Tabla 2.2	
Condiciones de análisis por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC–FID).	46
Tabla 2.3	
Análisis de varianza efectuado a los valores de lípidos obtenidos en hembras pre–adultas de <i>O. maya</i> . Valores con asterisco muestran interacción significativa ($p < 0.05$).	48
Tabla 2.4	
Perfil de ácidos grasos en las muestras de hepatopáncreas, músculo y huevos de hembras pre–adultas de <i>O. maya</i>	50
Tabla 2.5	
Valores propios y proporción de la variación de los ácidos grasos en el hepatopáncreas, músculo y huevos de hembras pre–adultas de <i>O. maya</i> explicada por cada uno de los componentes.	51
Tabla 2.6	
Calidad de proyección de los ácidos grasos destacados del hepatopáncreas, músculo y huevos de hembras pre–adultas de <i>O. maya</i> en el 1º y 2º componente y su respectiva contribución a la construcción de los mismos.	52

Listado de Figuras

Figura 1.1	
<i>Octopus maya</i> . Visión dorsal (A), ocelo (B) y lígula (C). Adaptado de Jereb <i>et al.</i> , 2014. ...	2
Figura 1.2	
Distribución geográfica de <i>Octopus maya</i> . Adaptado de Jereb <i>et al.</i> , 2014.	3
Figura 1.3	
Cámara de 6" empleada para la individualización de juveniles tempranos de <i>O. maya</i>	16
Figura 1.4	
Tanques experimentales de 80 L en donde se mantuvieron a los organismos durante la segunda etapa experimental.	17
Figura 1.5	
Estanque externo utilizado para el mantenimiento de juveniles tardíos y pre–adultos de <i>O. maya</i> mantenidos con los diferentes alimentos experimentales.	18
Figura 1.6	
Crecimiento en peso a través del tiempo de juveniles de <i>O. maya</i> por tipo de cultivo.	20
Figura 1.7	
Crecimiento en peso a través del tiempo de juveniles de <i>O. maya</i> mantenidos en un sistema de cultivo individualizado.	22
Figura 1.8	
Crecimiento en peso a través del tiempo de pre–adultos de <i>O. maya</i> mantenidos en estanques y en colectivo.	24
Figura 2.1	
Crías por desoves obtenidos de hembras silvestres acondicionadas en el laboratorio (puntos sin relleno) y las obtenidas de desoves de hembras que se acondicionaron en forma natural en el mar y cuyos desoves fueron recuperados a partir del muestreo de nidos artificiales colocados en las zonas naturales del desove de <i>O. maya</i> (puntos negros).	34
Figura 2.2	
Formas <i>cis</i> y <i>trans</i> del ácido graso C18:1. Adaptado de Botham y Mayes, 2009.	37
Figura 2.3	
Concentración de lípidos en el tejido dependiendo de la dieta en hembras pre–adultas de <i>O. maya</i> . Valores dados como promedio \pm DS.	48
Figura 2.4	
Resultado del análisis de componentes principales de los ácidos grasos del hepatopáncreas (HP), músculo (M) y huevos (H) de las hembras pre–adultas de <i>O. maya</i>	52

Agradecimientos

En primer lugar deseo agradecer al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México el cumplimiento de este trabajo de investigación.

Agradezco al Gobierno de México, a través de la Secretaría de Relaciones Exteriores, el haberme otorgado una beca de excelencia para realizar mis estudios de maestría.

Muy especialmente agradezco al Dr. Carlos Rosas Vázquez, Profesor de Carrera Titular C, por brindarme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo en la realización de este estudio.

A mi Comité Tutor: Dra. Bertha Patricia Ceballos Vázquez, Dra. Maite Mascaró Miquelajáuregui, Dr. Pedro Pablo Gallardo Espinosa y Dr. Sergio Rodríguez Morales por su retroalimentación a lo largo del proceso de enseñanza–aprendizaje.

A la Biól. Claudia Patricia Caamal Monsreal, Técnico Académico Asociado C del Laboratorio de Biología Marina Experimental por su constante instrucción y apoyo logístico durante la fase experimental del trabajo de investigación.

A la Dra. Elsa Noreña Barroso, Coordinadora del Laboratorio de Biogeoquímica y Calidad de Agua por su guía y contribución al desarrollo de las evaluaciones bioquímicas.

A Luis Alberto Alcántar González, estudiante de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por su colaboración en el progreso de la etapa experimental.

A la Biól. Elisa Yajaira Chan Vivas, Técnico Auxiliar del Laboratorio Central 1 de Bioquímica, Inmunología y Biología Molecular por su apoyo logístico durante el desarrollo de las evaluaciones bioquímicas.

A la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Moluscos del Mayab por su total asistencia, en especial a Silvia del Carmen Canul Pardenilla y Antonio Enrique Cob Reyes.

Al Dr. Kurt Paschke, Dra. Paulina Gebauer, personal técnico y cuerpo estudiantil del Laboratorio de Ecofisiología de Crustáceos (LECOFIC) de la Universidad Austral de Chile, Sede Puerto Montt, por hacer de mi estancia académica una grata y enriquecedora experiencia.

Finalmente mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT: Proyecto CB-2010-150810) por su apoyo institucional y financiero para la consecución de este trabajo.

Financiación

Esta tesis corresponde a los estudios realizados con una beca de excelencia otorgada por el Gobierno de México, a través de la Secretaría de Relaciones Exteriores.

Este trabajo fue financiado con los fondos del Proyecto CONACYT CB 2010: 150810 bajo la responsabilidad del Dr. Carlos Rosas Vázquez.

Resumen

En el presente estudio se evaluó el efecto que tiene en el crecimiento y en el acondicionamiento reproductivo la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados a la dieta de *Octopus maya* en condiciones de cultivo en colectivo e individual. Para conocer la forma en que las condiciones de cultivo y la dieta alta en ácidos grasos poliinsaturados modulan el crecimiento de juveniles tempranos y pre-adultos de *O. maya* se realizaron tres experimentos dirigidos a probar la relación entre ambas variables: efecto de la individualización y el tipo de alimento en juveniles tempranos, efecto de la individualización y el tipo de alimento en pre-adultos y efecto del tipo de alimento en condiciones de cultivo en colectivo; realizándose además un ensayo con hembras pre-adultas de *O. maya* para conocer si éstas transfieren directamente los ácidos grasos de mayor importancia contenidos en el alimento al vitelo de los huevos a medida que se aproxima el evento reproductivo. Se observó que el crecimiento de los juveniles de *O. maya* es afectado por la forma de cultivo. Animales mantenidos individualmente tuvieron un crecimiento más lento (0.024 g por día) que el registrado en animales mantenidos en estanques y en forma colectiva (0.054 g por día), reportándose un efecto significativo de la dieta enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados sobre el crecimiento de los pre-adultos de *O. maya*. Estos resultados sugieren que sin limitaciones de espacio los animales pudieran aprovechar los efectos benéficos de la dieta lo que produciría un mayor crecimiento. También se observó que las hembras pre-adultas de *O. maya* transfieren directamente del alimento los ácidos grasos necesarios para la síntesis de vitelo, siendo los más frecuentes C14:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1, C20:1, C20:2, C20:3n-6, C20:4n-6 (AA), C20:5n-3 (EPA) y C22:6n-3 (DHA), constituyendo el 96 por ciento de los ésteres metílicos de ácidos grasos, sugiriendo que su adición a la dieta podría mejorar la calidad de los huevos.

Palabras clave: *Octopus maya*, ácidos grasos poliinsaturados, crecimiento, acondicionamiento reproductivo, tipo de cultivo

Presentación

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad evaluar y mostrar el impacto que tiene la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados a la dieta de *Octopus maya* en condiciones de cultivo a lo largo de su ciclo de vida, especialmente durante los eventos de crecimiento y acondicionamiento reproductivo.

Los objetivos de esta investigación son los siguientes:

- a. Evaluar si la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta brindada a *O. maya* en condiciones de cultivo en cautiverio provoca diferencias en su crecimiento.
- b. Conocer si la adición de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta establece diferencias en la composición de los tejidos y desoves de las hembras pre-adultas de *O. maya*.

Para cumplir con los objetivos propuestos, el presente trabajo se ha estructurado en dos capítulos:

1. IMPACTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN EL CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE JUVENILES Y PRE-ADULTOS DE *Octopus maya*: EFECTO DEL TIPO DE CULTIVO.
2. PAPEL DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN EL PROCESO REPRODUCTIVO DE LAS HEMBRAS DE *Octopus maya* DE SEGUNDA GENERACIÓN.

Al final del segundo capítulo se muestran las conclusiones de este trabajo de investigación.

1 IMPACTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN EL CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE JUVENILES Y PRE-ADULTOS DE *Octopus maya*: EFECTO DEL TIPO DE CULTIVO

1.1 Antecedentes

1.1.1 Presentación de la especie

Octopus maya es una especie de talla grande (longitud del manto en los ejemplares examinados: 48–116 mm en las hembras y 77–119 mm en los machos) y huevos grandes (17 mm de longitud y 4.5 mm de ancho). El carácter más distintivo de esta especie es la presencia en todos los ejemplares de ambos sexos de una mancha oscura u ocelo situado bajo los ojos, y entre estos y la base del segundo y tercer brazo, haciéndose menos aparente en los adultos. El tercer brazo derecho de los machos es hectocotilizado y contiene una lígula pequeña y en forma de cuchara (ver Figura 1.1). Esta especie presenta 9–10 laminillas por hemibranchia (Voss y Solís–Ramírez, 1966; Jereb *et al.*, 2014).

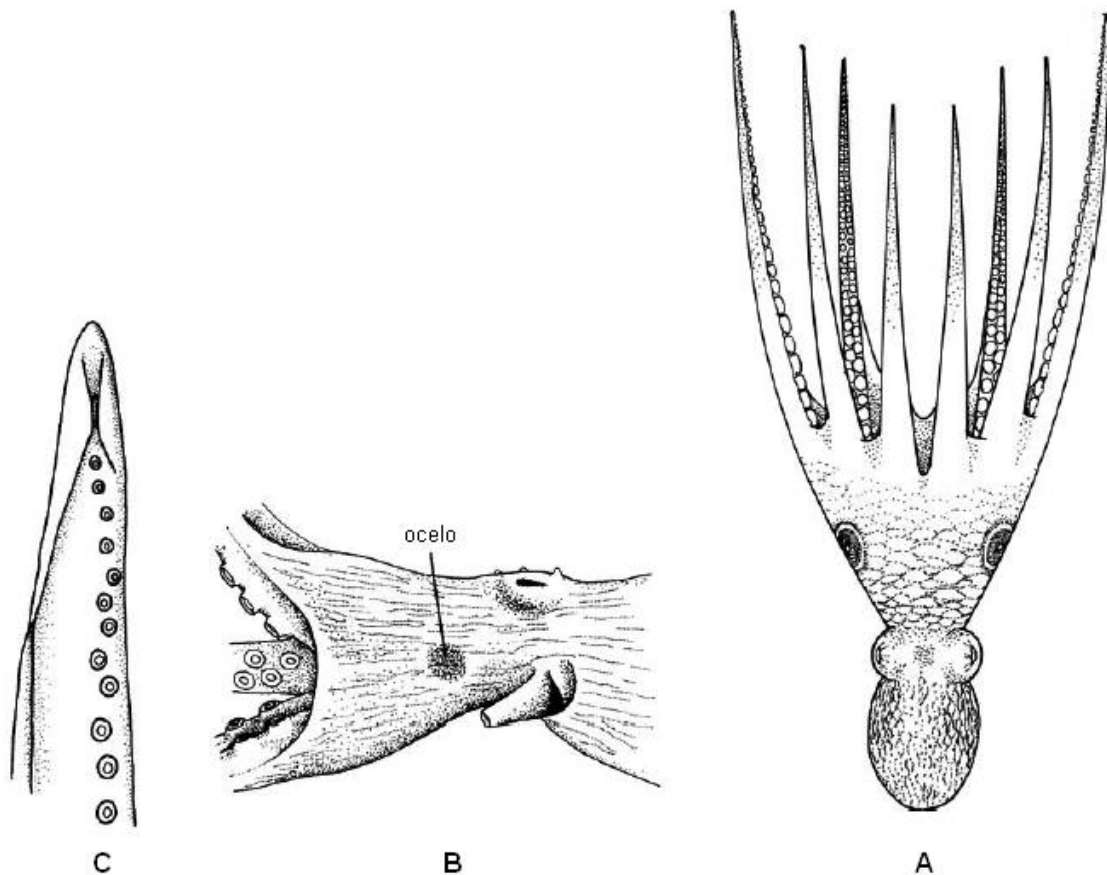


Figura 1.1. *Octopus maya*. Visión dorsal (A), ocelo (B) y lígula (C). Adaptado de Jereb *et al.*, 2014.

O. maya habita aguas someras de la región occidental del Océano Atlántico (ver Figura 1.2) principalmente en las costas de Yucatán y Campeche, situadas en el Golfo de México (Jereb *et al.*, 2014).

Es una especie bentónica que vive en aguas poco profundas hasta los 50 m de profundidad, sobretodo en lugares donde abundan las algas, conchas vacías y fisuras en las rocas. El número total de huevos que pone una hembra varía entre 1,500 y 2,000, los cuales tienen un pedúnculo corto y son fijados por las hembras en cordones a las fisuras de las rocas o a conchas vacías de moluscos. Los desoves ocurren a partir de septiembre y hasta enero. El desarrollo embrionario tiene una duración de entre 50 a 65 días. Se ha estimado que *O. maya* tiene una longevidad de entre 1 a 2 años. En sus zonas de distribución *O. maya* se alimenta principalmente de crustáceos, moluscos y peces (Jereb *et al.*, 2014).



Figura 1.2. Distribución geográfica de *Octopus maya*. Adaptado de Jereb *et al.*, 2014.

De acuerdo con el Integrated Taxonomic Information System (2014) la clasificación actual de *O. maya* sitúa a la especie en el siguiente orden taxonómico:

Reino	Animalia
Subreino	Bilateria
Infrareino	Protostomia
Superfilo	Lophozoa
Filo	Mollusca
Clase	Cephalopoda Cuvier, 1797
Subclase	Coleoidea Bather, 1888
Superorden	Octobranchia Fioroni, 1981
Orden	Octopoda Leach, 1818
Suborden	Incirrina Grimpe, 1916
Familia	Octopodidae D'Orbigny, 1839-1842. En: Férussac y D'Orbigny, 1834-1848
Subfamilia	Octopodinae Grimpe, 1921
Género	Octopus Cuvier, 1797
Especie	<i>Octopus maya</i> Voss y Solís–Ramírez, 1966

1.1.2 Importancia pesquera

El pulpo es uno de los recursos pesqueros más importantes en la península de Yucatán (Cabrera y Defeo, 2001). Su captura (que incluye dos especies, *Octopus vulgaris* y *Octopus maya*) ocupa el doceavo lugar a nivel nacional, y es la cuarta pesquería más importante en el Golfo de México y el Caribe. El 95% de la producción nacional proviene de Yucatán, Campeche, Quintana Roo y una mínima proporción de Veracruz (SAGARPA, 2002). Estudios previos han demostrado que existe una mayor concentración de *O. maya* en el estado de Campeche, principalmente entre Champotón y la ciudad de Campeche. Esta zona tiene fondos

mixtos con abundante vegetación y zonas de refugio para las poblaciones (SAGARPA, 2002).

La pesquería del pulpo rojo *O. maya* se desarrolló a partir de 1949 (Solís-Ramírez *et al.*, 1997) y su valor comercial ha motivado al incremento de flotas pesqueras en toda la región donde se distribuye. En el período 1998–2006 se registraron capturas a nivel nacional entre 16,000 y 24,000 t (SAGARPA, 2007). La administración de este recurso pesquero está regulada por dos Normas Oficiales Mexicanas en materia pesquera: NOM–008–PESC–1993 y NOM–009–PESC–1993.

NOM–008–PESC–1993. Establece una talla mínima de 110 mm de longitud del manto para la captura de todas las especies de pulpo, en las aguas de jurisdicción federal del Golfo de México y mar Caribe (Diario Oficial de la Federación, 1993).

NOM–009–PESC–1993. Establece un período de veda para la captura que abarca del 16 de diciembre al 31 de julio de cada año en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos, a efecto de garantizar la conservación, la preservación y el aprovechamiento racional del recurso pesquero que representa *O. maya* (Diario Oficial de la Federación, 1994).

Dentro de este instrumento de regulación se establece la necesidad de que el Gobierno Federal asigne anualmente una cuota de captura de este recurso por región, para cada temporada de pesca. En Yucatán las capturas presentaban una tendencia hacia el incremento hasta el año de 1999, cuando alcanzó un récord de 19,000 t. En contraste, en Campeche la captura sostenida varía alrededor de las 2,000 t. Quintana Roo aumentó sus capturas de 95 t en 1990, a 307 t en 1996 (Hernández *et al.*, 2001). La estimación para el 2007 indicó que la densidad de la población de *O. maya* es de 1,767 individuos por km². El peso promedio individual calculado fue de 0.607 kg, y la biomasa total estimada fue de 25,753 t.

(SAGARPA, 2007). El aumento de la captura del pulpo *O. maya* en los últimos años ha incrementado los riesgos de la sobrepesca en el reclutamiento a corto plazo y la consecuente baja en la producción para los siguientes años. Hernández *et al.* (2001), señalan que la protección del reclutamiento a largo plazo de *O. maya* es prioritario como parte de la estrategia de conservación de la especie.

1.1.3 Crecimiento

Los cefalópodos presentan típicamente un rápido crecimiento no asintótico en su ciclo de vida, que generalmente oscila entre 6 meses y 2 años (Forsythe y Van Heukelem, 1987; Jackson y O'Dor, 2001; Leporati *et al.*, 2008; Moltschaniwskyj, 2004). La forma general de crecimiento en cefalópodos ha sido descrita de mejor forma por curvas de crecimiento exponencial y potencial, sin embargo, también son utilizadas las curvas lineales y logarítmicas (Alford y Jackson, 1993; Semmens *et al.*, 2004; López-Rocha *et al.*, 2012). La forma de la curva de crecimiento es una función de las demandas metabólicas y energéticas de los procesos biológicos que típicamente cambian conforme el tamaño del cuerpo aumenta (Pauly, 1998). Estudios de cultivo en laboratorio han descrito que el crecimiento en cefalópodos ocurre en dos fases durante su ciclo de vida (DeRusha *et al.*, 1987; Forsythe y Hanlon, 1988; Segawa y Nomoto, 2002), que por lo general consiste en una fase temprana de crecimiento exponencial, seguido de una fase más lenta de crecimiento potencial, mejor descrita por una ecuación de energía (Semmens *et al.*, 2004). Sin embargo, existe un considerable debate sobre si las dos fases de crecimiento ocurren en la naturaleza (André *et al.*, 2009a). Estas características únicas de crecimiento tienen implicaciones importantes para la dinámica poblacional de una especie (edad a la que madura, expectativa de vida, tasa de mortalidad natural y desove), su productividad (tasa de recuperación con respecto a su explotación pesquera) y cómo responden a la variabilidad y al cambio ambiental.

El crecimiento es un proceso complejo que ocurre en muchos niveles biológicos, que puede verse jerárquicamente e incluye cambios en el tamaño relativo de los órganos, la generación y crecimiento de fibras musculares y el proceso fisiológico de síntesis de proteína (Ho *et al.*, 2004). El mecanismo que permite el continuo crecimiento en cefalópodos se relaciona con los procesos de crecimiento del músculo, que constituye cerca del 90% de la masa del cuerpo (Moltschaniwskyj, 1994). El crecimiento muscular involucra dos procesos: hiperplasia, que es la generación de nuevas fibras musculares; y la hipertrofia, que consiste en el aumento en el tamaño de las fibras existentes (Rowlerson *et al.*, 1995; Weatherley, 1990). Siendo el proceso de hiperplasia de gran importancia para facilitar la tasa de crecimiento en cefalópodos (Semmens *et al.*, 2011).

Semmens *et al.* (2011) señalan que los procesos de crecimiento en cefalópodos responden a una variedad de factores abióticos, siendo la temperatura el principal factor que influye en la tasa de crecimiento y variabilidad de crecimiento si el alimento no está limitando (Forsythe y Van Heukelem, 1987; Forsythe *et al.*, 2001; Leporati *et al.*, 2007; Villanueva, 2000). La fase de crecimiento de juveniles se considera particularmente sensible a la temperatura (Semmens *et al.*, 2004). La temperatura también afecta marcadamente las tasas de crecimiento en pulpos juveniles en cautiverio (Forsythe y Hanlon, 1988; Leporati *et al.*, 2007; Segawa y Nomoto, 2002), y proyecciones modeladas de crecimiento del pulpo sugieren que aumentos de sólo 1°C pueden afectar la masa corporal hasta 62.6% en 100 días (André *et al.*, 2009b). Promover la comprensión de estas características de crecimiento es vital para la conservación y el desarrollo de la acuicultura de especies de cefalópodos.

La necesidad de diversificar los productos de la pesca vía la acuicultura marina, ha sido motivada porque la mayoría de los recursos marinos han alcanzado su máxima explotación. Aunque las tasas de producción pesquera de los cefalópodos han aumentado en los últimos años, se prevé que en el mediano plazo esas poblaciones también alcancen la producción máxima. Debido a su

rápido crecimiento, el alto precio del mercado y la gran demanda en los países europeos y orientales, *O. vulgaris* y *O. maya* han sido identificadas como especies importantes para la diversificación de la acuicultura (Iglesias *et al.*, 2000; Navarro y Villanueva, 2000; Vaz–Pires *et al.*, 2004; Almansa *et al.*, 2006; Rosas *et al.*, 2014).

1.1.4 Los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación de los pulpos

Para el cultivo de *O. vulgaris* una de las principales limitantes es la falta de sistemas de producción masiva de crías así como de un alimento apropiado para alimentar a los animales en la fase de engorda hasta la talla de subadulto. Para esa especie, las técnicas para la producción de subadultos en cautiverio tienen todavía que ser perfeccionadas ya que no se han podido establecer los procesos tecnológicos que se requieren para el desarrollo de un cultivo estable. (Iglesias *et al.*, 1997, 2000; Navarro y Villanueva, 2000, 2003; Villanueva *et al.*, 2002, 2004; Carrasco *et al.*, 2003; Chapela *et al.*, 2006). Aunque diferentes dietas artificiales se han intentado experimentalmente para alimentar subadultos de *O. vulgaris*, los resultados siempre han sido inferiores a los obtenidos con dietas naturales (Rosas *et al.*, 2014). Esto puede deberse a la falta de palatabilidad de las dietas o a su pobre composición nutricional (Lee *et al.*, 1991; Castro *et al.*, 1993; Domingues, 1999; Domingues *et al.*, 2005; Cerezo–Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008). Por esa razón, el cultivo de *O. vulgaris* se ha limitado a engorde de subadultos individuales capturados en el medio silvestre (Iglesias *et al.*, 2000; Estefanell *et al.*, 2013). A diferencia de *O. vulgaris*, en *O. maya*, gracias a la facilidad con que es posible obtener juveniles se han podido establecer las condiciones para la producción de crías y los sistemas de preengorda y engorda que permiten la producción de animales hasta un peso de entre 65 y 200 g.

En general se ha observado que los cefalópodos pueden ser cultivados alimentándolos con presas naturales vivas o muertas (Boletzky y Hanlon, 1983; Peaje y Tensión, 1988; DeRusha *et al.*, 1989; Castro, 1991; Castro *et al.*, 1993; DiMarco *et al.*, 1993; Castro y Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2002, 2005, 2006). Sin

embargo, durante la primera parte de su ciclo de vida es recomendable alimentarlos con presas vivas ya que son las que promueven un mejor crecimiento (Domingues *et al.*, 1998, 1999, 2001, 2003). Recientemente Baeza–Rojano *et al.* (2013) encontraron que un suministro por 15 días de anfípodos marinos a juveniles tempranos de *O. maya* tiene un efecto altamente positivo en el crecimiento de estos organismos. Según Pinczon du Sel *et al.* (2000), los anfípodos son la principal presa de *Sepia officinalis* durante los tres primeros meses puesto que son fáciles de coleccionar y también son un alimento que puede producirse a menor costo para el cultivo, ya que pueden alimentarse de materia orgánica suspendida (Caine, 1974) y pueden ser cultivados en altas densidades.

Otra de las principales razones que ha frenado el cultivo de los pulpos es que no había alimentos disponibles que fueran aceptables con un balance nutricional equilibrado para todas las etapas de su crecimiento (Vaz–Pires *et al.*, 2004; Cerezo–Valverde *et al.*, 2008). Estudios recientes llevados a cabo en *O. maya* revelaron que es posible alimentar a los pulpos utilizando una pasta aglutinada con gelatina, la cual permite alimentar organismos desde las etapas tempranas hasta la cosecha (Rosas *et al.*, 2014; Martínez *et al.*, 2014).

El cultivo de las primeras etapas de la vida de los cefalópodos (como pulpo, calamar y sepia) ha dependido de una fuente de presas vivas para lograr un crecimiento aceptable y supervivencia (Boletzky y Hanlon 1983; Baeza–Rojano *et al.*, 2010). Sin embargo, el cultivo de algunas especies de pulpo, como *O. vulgaris*, es problemático y muestra altas tasas de mortalidad durante su etapa de vida planctónica con presas vivas (Navarro y Villanueva, 2003; Iglesias *et al.*, 2007) y con dietas formuladas (Villanueva *et al.*, 2002), enfatizando el escaso conocimiento que se tiene de los requerimientos nutricionales de esa fase planctónica.

Las tasas de alimentación, crecimiento y conversión alimenticia son las variables más importantes para las empresas de acuicultura comercial. Una

comprensión de las relaciones entre estos aspectos es fundamental para la optimización de un programa de alimentación, que podría mejorar el crecimiento y el valor nutricional de cefalópodos.

Estudios anteriores han demostrado que *O. maya* tiene un alto potencial para la acuicultura debido a su buena capacidad de adaptación a condiciones de cautiverio (Van Heukelem, 1977; Boletzky y Hanlon, 1983; Hanlon y Forsythe 1985; DeRusha *et al.*, 1989). *O. maya* es capaz de aceptar presas muertas o dietas formuladas incluso durante los primeros estadios de su ciclo de vida (Aguila *et al.*, 2007), lo que resulta en tasas de crecimiento elevadas (hasta 8% de peso húmedo corporal por día) como resultado de altas tasas de alimentación y eficiencia de conversión de alimento (Van Heukelem, 1983; Hanlon y Forsythe, 1985; Domingues *et al.*, 2007; Rosas *et al.*, 2007).

Como todos los cefalópodos, *O. maya* es una especie carnívora y la proteína es uno de los nutrientes más importantes para la acumulación de tejido y fuente de energía (Segawa y Hanlon, 1988; Rosas *et al.*, 2007). Por esa razón los cefalópodos requieren altas cantidades de proteína y aminoácidos para un óptimo crecimiento (Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2005; Solórzano *et al.*, 2009). La calidad de la proteína o el balance de aminoácidos puede ser la mejor medida de valor nutricional para dietas de cefalópodos. En los últimos años, los investigadores han desarrollado fórmulas de alimentos que se han encontrado aceptables para pulpo y han dado como resultado un crecimiento significativo (Cerezo–Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008; Rosas *et al.*, 2008; Estefanell *et al.*, 2012). Sin embargo, en la actualidad los requerimientos de proteína y aminoácidos no han sido determinados para *O. maya*.

1.1.5 Los ácidos grasos poliinsaturados en el crecimiento de los pulpos

Estudios realizados en ejemplares silvestres de *O. vulgaris* alimentados durante treinta días con calamar (*Loligo vulgaris*) mostraron un alto contenido de

ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (33–52.9%) y omega-6 (3.3–13.7%), pero con una alta variación para el C22:6n-3 (llamado también ácido docosahexaenoico o DHA, por sus siglas en inglés), C20:5n-3 (conocido como ácido eicosapentaenoico o EPA, por sus siglas en inglés) y el C20:4n-6 (ácido araquidónico o AA, por sus siglas en inglés), reportándose porcentajes similares de ácidos grasos en pulpos silvestres, lo cual sugiere que el DHA, EPA y AA pueden ser utilizados como indicadores bioquímicos para predecir el crecimiento de *O. vulgaris* (Miliou *et al.*, 2007).

Por su parte, Prato *et al.* (2010) estudiaron la influencia que ejerce el tipo de dieta natural en el crecimiento, cantidad de lípidos y perfil de ácidos grasos en *O. vulgaris* de origen silvestre y de cultivo, encontrando que ésta tiene un efecto significativo en el crecimiento y composición bioquímica de los pulpos. En el estudio se observó que los pulpos procedentes de cultivo exhibían niveles más bajos de lípidos que sus contrapartes silvestres. En general, los perfiles de ácidos grasos de los pulpos reflejaban la composición de los ácidos grasos presentes en las dietas. Los ácidos grasos saturados fueron los más abundantes en todos los ejemplares estudiados, destacando la presencia del C16:0 (llamado también ácido palmítico) el cual es generalmente alto en los pulpos independientemente de la dieta consumida. También se observó que el contenido de ácidos grasos poliinsaturados cambió significativamente entre los pulpos alimentados con las diferentes dietas. En todos los ejemplares los ácidos grasos poliinsaturados predominantes fueron el DHA y el EPA, mostrando que los pulpos tienen un mejor crecimiento cuando el alimento suministrado posee una gran cantidad de estos nutrientes.

Fuentes *et al.* (2011) encontraron que paralarvas de *O. vulgaris* alimentadas durante un mes con *Artemia sp.* cultivada con *Isochrysis galbana* y posteriormente enriquecida con la microalga *Nannochloropsis sp.* exhiben un peso seco más alto (1.62 ± 0.39 mg), supervivencia moderadamente alta y desarrollo hasta el estadio adulto, efectos causados posiblemente por la combinación de

DHA proporcionada por *Isochrysis galbana* y el alto contenido en EPA presente en *Nannochloropsis* sp. Todo lo anterior sugiere que los ácidos grasos poliinsaturados DHA, EPA y AA son nutrientes clave para el crecimiento y desarrollo de *O. vulgaris* (Monroig *et al.*, 2012).

Estudios en otras especies de cefalópodos muestran resultados similares en cuanto a los requerimientos de ácidos grasos poliinsaturados. Koueta *et al.* (2002) reportaron que dietas naturales enriquecidas en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (DHA y EPA) inducen un crecimiento más rápido en juveniles de *Sepia officinalis*, efecto evidente durante la etapa juvenil temprana.

1.1.6 Efecto de la individualización en el crecimiento

Otro factor que afecta el crecimiento es la forma en que los animales son cultivados. Existen evidencias que indican que animales mantenidos en grupos (25 animales/m²) suelen crecer más rápido que los animales mantenidos en forma individual (Briceño *et al.*, 2010b). Aunque la individualización de animales ha sido una estrategia experimental para evitar el canibalismo, los resultados obtenidos hasta ahora muestran que esta estrategia arroja resultados que no son aplicables a las condiciones de cultivo en grupos.

Como ya se mencionó, el crecimiento en cefalópodos se comporta exponencialmente al inicio y luego en forma potencial debido, principalmente a los procesos de hiperplasia e hipertrofia. Cuando los animales son mantenidos en forma individual solamente se alimentan del alimento que les es ofrecido mientras que cuando están en grupos podrían recurrir al canibalismo cuando el alimento ofrecido no satisface los requerimientos nutricionales que ellos demandan. Si a la fecha se ha observado que los animales individualizados crecen menos que los animales mantenidos en grupos es posible que el alimento suministrado no esté cubriendo los requerimientos, motivando mayores crecimientos cuando se mantienen en grupo no porque en el grupo las condiciones favorezcan el

crecimiento, sino porque, al recurrir al canibalismo los animales cubren sus requerimientos nutricionales.

1.2 Problema de investigación

Dado el contexto anterior existen varias preguntas relativas al crecimiento de los pulpos juveniles al cultivarlos individual y colectivamente y su relación con las dietas altas en ácidos grasos poliinsaturados.

1.2.1 Preguntas de investigación

- a. ¿En qué magnitud se afecta el crecimiento cuando los juveniles tempranos son cultivados en forma individual o en colectivo?
- b. ¿Es posible mejorar el crecimiento exponencial de juveniles tempranos individualizados utilizando dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados?
- c. ¿Es posible mejorar el crecimiento potencial de pre-adultos individualizados utilizando dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados?

1.2.2 Hipótesis

- a. Se sabe que cuando los pulpos son mantenidos individualizados suelen presentar crecimientos menores a los registrados en animales que se encuentran libremente en estanques o acuarios. Estudios previos han propuesto que esto se debe a que existe un mínimo de espacio vital para el crecimiento de estos animales. Asimismo, se ha especulado que el crecimiento en colectivos es mayor debido a los efectos benéficos que tiene el canibalismo sobre el crecimiento de estos animales, ya que ellos en sí mismos constituyen una fuente de proteína y de energía. Si esta respuesta es común a todos los cefalópodos es de esperar que en los juveniles de *O. maya* el crecimiento en organismos individualizados sea menor que el que se puede obtener cuando los pulpos son mantenidos en colectivo.

- b. El crecimiento de juveniles de pulpo es altamente acelerado debido a los mecanismos de hiperplasia e hipertrofia que caracteriza a ese proceso durante la fase de crecimiento exponencial. Si los ácidos grasos poliinsaturados son importantes para el crecimiento de las diversas especies de pulpos, debido al papel que juegan en la síntesis de las membranas celulares durante la hiperplasia, entonces es de esperar que el crecimiento de los juveniles tempranos de *O. maya* cultivados en forma individual responda favorablemente a la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados creciendo éstos a mayores tasas que las que normalmente se registran cuando son alimentados con dietas convencionales.
- c. El crecimiento de los pre–adultos y adultos es menos acelerado que el observado en juveniles debido a que los mecanismos de hiperplasia e hipertrofia que caracterizan a ese proceso funcionan de manera diferente a esa edad. Se sabe que durante la maduración sexual, se favorece la hipertrofia sobre la hiperplasia lo que provoca que el crecimiento sea potencial en esa fase del ciclo de vida. Si los ácidos grasos poliinsaturados son importantes para los procesos reproductivos de las diversas especies de pulpos, debido al papel que juegan en la síntesis de vitelo para los huevos y embriones, entonces es de esperar que el crecimiento de los pre–adultos de *O. maya* individualizados responda favorablemente a la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados creciendo a mayores tasas que las que normalmente se registran cuando son alimentados con dietas convencionales.

1.2.3 Objetivos

1.2.3.1 Objetivo general

Conocer la forma en que las condiciones de cultivo y el tipo de alimento modulan el crecimiento de juveniles tempranos y pre–adultos de *O. maya*.

1.2.3.2 Objetivos específicos

- a. Conocer los efectos que puede ejercer la individualización en el crecimiento de juveniles de *O. maya*.
- b. Conocer los efectos que tiene la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en el alimento brindado a juveniles de *O. maya* durante su fase de crecimiento exponencial.
- c. Conocer los efectos de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados al alimento de pre-adultos de *O. maya* durante su crecimiento.

1.3 Materiales y métodos

1.3.1 Diseño experimental

El presente estudio fue dividido en tres experimentos, cada uno de los cuales fue dirigido a probar cada uno de los objetivos planteados.

1.3.1.1 Experimento No. 1: Efecto de la individualización y el tipo de alimento en juveniles tempranos de *O. maya*

Se utilizaron juveniles tempranos de *O. maya* del área de incubación de cefalópodos del Laboratorio de Biología Marina Experimental de la Unidad Académica Sisal, Yucatán. Se tomaron 40 individuos (peso promedio de 0.23 ± 0.11 g) y se mantuvieron individualizados durante todo el periodo experimental, en salinidad de 38–40 UPS, temperatura de 26–27°C y oxígeno disuelto de 5.70–6.30 mg/L.

Los pulpos se mantuvieron en cámaras de 6" especialmente diseñadas y elaboradas como prototipo para este experimento (ver Figura 1.3). Las cámaras tenían una altura de 20 cm y un diámetro de 15 cm, asignando una cámara por pulpo. Veinte organismos fueron destinados a cada una de las dietas experimentales (pasta control, pasta enriquecida). Los animales permanecieron en

esta etapa aproximadamente 8 meses, en donde alcanzaron un peso promedio de 9.66 ± 4.79 g. Las cámaras fueron alimentadas con agua de mar en recirculación a través de un filtro compuesto por arena para ayudar a eliminar todos los compuestos nitrogenados presentes en el agua.



Figura 1.3. Cámara de 6" empleada para la individualización de juveniles tempranos de *O. maya*.

1.3.1.2 Experimento No. 2: Efecto de la individualización y el tipo de alimento en pre-adultos de *O. maya*

Semanas después de haber concluido el ensayo anterior, se tomaron 15 hembras, las cuales correspondieron a los individuos que mostraron el mayor crecimiento de cada tratamiento (peso promedio de 26.97 ± 12.05 g), seleccionando además otras 15 hembras (peso promedio de 67.38 ± 28.27 g) provenientes del área de engorda de cefalópodos del Laboratorio de Biología Marina Experimental, todas ellas alimentadas con la pasta control. Las hembras juveniles de *O. maya* fueron mantenidas individualmente en tanques de 80 L (ver Figura 1.4). Los tanques tenían una altura de 55 cm y un diámetro de 56.2 cm. Quince organismos fueron destinados a cada una de las dietas experimentales (pasta control, pasta enriquecida). Los animales permanecieron en los tanques 4 meses aproximadamente, alcanzando un peso promedio de 151.22 ± 84.77 g. Al igual que en el ensayo anterior, los tanques fueron alimentados con agua de mar en recirculación pasando ésta por un filtro compuesto por arena.



Figura 1.4. Tanques experimentales de 80 L en donde se mantuvieron a los organismos durante la segunda etapa experimental.

1.3.1.3 Experimento No. 3: Efecto del tipo de alimento en condiciones de cultivo en colectivo

Para el último experimento de crecimiento, se emplearon estanques externos de 6 m de diámetro y 0.8 m de altura (ver Figura 1.5). Un total de 490 pulpos colocados a una densidad de 25 animales/m² fueron repartidos en dos estanques (uno para la pasta control y otro para la pasta enriquecida) por dos meses. Los estanques fueron alimentados con agua de mar en sistema de recirculación parcial, la cual fue filtrada utilizando espumadores. Los estanques fueron cubiertos con malla sombra (70%) con el fin de evitar el crecimiento de las algas. A los pulpos se les ofrecieron tubos de PVC de 4" de diámetro como refugios. En tales condiciones los pulpos fueron alimentados a saciedad dos veces al día con las dietas experimentales.



Figura 1.5. Estanque externo utilizado para el mantenimiento de juveniles tardíos y pre–adultos de *O. maya* mantenidos con los diferentes alimentos experimentales.

1.3.2 Dietas experimentales

En los 3 ensayos realizados se utilizaron dos tipos de dietas (el tratamiento con la pasta control y el tratamiento con la pasta enriquecida) con el propósito de evaluar su impacto en el crecimiento de los juveniles tempranos, juveniles y pre–adultos de *O. maya*. Para la preparación de las dietas se utilizaron ingredientes frescos procedentes de la misma fuente. La elaboración de la pasta control se basó en calamar (72%), camarón (24%), grenetina (2.5%), vitamina C (0.2%) y vitaminas adicionales a la dieta (0.1%). Mientras que la pasta enriquecida estuvo compuesta por calamar (71%), camarón (23%), grenetina (2.5%), emulsión enriquecida de ácidos grasos poliinsaturados (DC DHA Selco, 2%), vitamina C (0.2%) y vitaminas adicionales (0.1%).

1.3.3 Alimentación de los organismos

En las tres etapas que duró el experimento de crecimiento, la alimentación de los organismos se realizó dos veces al día (09:00 h y 18:00 h). El tamaño de las raciones ofrecidas a los individuos en cada experimento fue del 50, 20 y 5% de su peso corporal.

1.3.4 Registro del crecimiento de los organismos

El crecimiento fue evaluado mediante el peso de los animales cada mes a lo largo de cada uno de los periodos experimentales antes mencionados. El peso de los individuos fue registrado al colocarlos en una balanza granataria digital con capacidad de 400 g, con sensibilidad de 0.005 g. Antes de ser colocados en la balanza, los pulpos fueron colocados sobre una superficie absorbente con el fin de eliminar el agua superficial. Los datos del peso fueron registrados y los pulpos colocados nuevamente en la condición experimental correspondiente.

1.3.5 Tratamiento estadístico

Los efectos del tipo de cultivo en el crecimiento de juveniles de *O. maya* y de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados a la dieta en el crecimiento exponencial de juveniles de *O. maya* fueron analizados utilizando análisis de regresión lineal entre el tiempo de cultivo y el peso alcanzado por los organismos alimentados con las diferentes dietas experimentales en las condiciones de cultivo antes expuestas. Por medio de este análisis, se pudo establecer si las pendientes de las rectas obtenidas en cada experimento eran estadísticamente diferentes a un nivel de significancia de $p < 0.05$ (Zar, 2010). Para realizar el análisis, las curvas de crecimiento fueron linealizadas ($\text{Ln Peso, } g = \text{Ln } a + bT$), de tal forma que fuera posible la aplicación del análisis de regresión lineal que permite la comparación de las pendientes y por ende la tasa de crecimiento. Las curvas de crecimiento de los pulpos siguen la forma exponencial:

$$\text{Peso, } g = ae^{bT}$$

donde a y b son constantes y T es el tiempo en días.

Para conocer los efectos de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en el crecimiento de pre-adultos de *O. maya* mantenidos en estanque y en colectivo los resultados obtenidos se analizaron utilizando un análisis de varianza, en donde el tipo de alimento, el tiempo experimental y su interacción fueron las tres fuentes de variación a analizar en el modelo. La hipótesis nula fue rechazada

cuando la probabilidad asociada al valor de F en cada caso fue $p < 0.05$. Las diferencias entre los promedios obtenidos fueron analizadas utilizando la prueba de Diferencia Honestamente Significativa (HSD, por sus siglas en inglés) de Tukey (Zar, 2010).

1.4 Resultados

1.4.1 Efecto de la individualización en el crecimiento

De los 40 organismos individualizados, el 95% de los pulpos sobrevivieron durante los 267 días que duró el experimento. En el caso de los animales mantenidos en estanques, la sobrevivencia resultó ser de 39%. La tasa de crecimiento fue fuertemente afectada por el tipo de cultivo. Los animales mantenidos individualmente crecieron significativamente menos que los animales mantenidos en un estanque y en colectivo (ver Figura 1.6; $F = 298.7$; grados de libertad = 82; $p < 0.0001$). Los valores resultantes del análisis estadístico y la caracterización de cada curva de crecimiento se muestran en la Tabla 1.1.

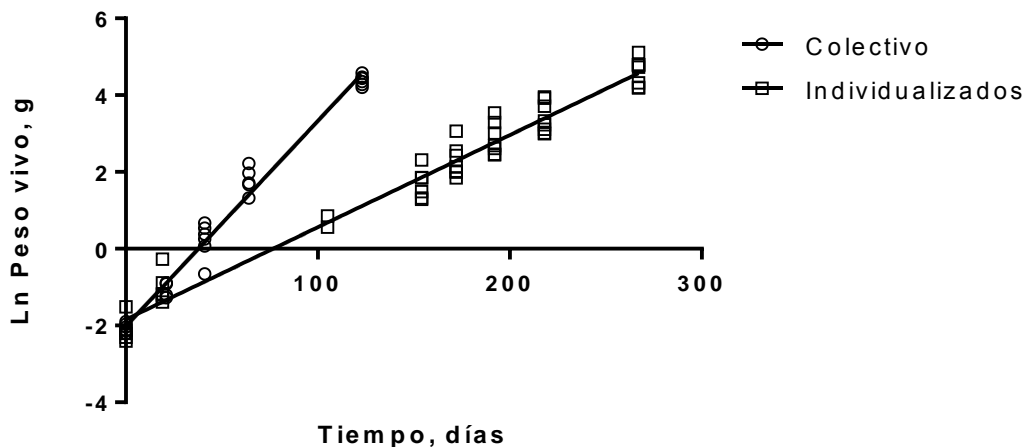


Figura 1.6. Crecimiento en peso a través del tiempo de juveniles de *O. maya* por tipo de cultivo.

Tabla 1.1. Valores derivados del análisis de las curvas de crecimiento de los juveniles de *O. maya* mantenidos individualizados y en colectivo en estanques exteriores.

	Colectivo	Individualizados
Valores ajustados		
Pendiente	0.05341 ± 0.001471	0.02400 ± 0.0005607
Intercepto en Y cuando X=0.0	-2.016 ± 0.09610	-1.840 ± 0.09622
Intervalos de confianza al 95%		
Pendiente	0.05040 a 0.05642	0.02288 a 0.02513
Intercepto en Y cuando X=0.0	-2.213 a -1.820	-2.033 a -1.647
Bondad del ajuste		
r ²	0.9792	0.9714
Desviación estándar de los residuales	0.3408	0.3901
¿Es la pendiente distinta de cero?		
F	1319	1833
Grados de libertad en el numerador,	1.000, 28.00	1.000, 54.00
Grados de libertad en el denominador		
p	< 0.0001	< 0.0001
¿Desviación de cero?	Significativa	Significativa
Datos		
Número de valores de X	30	56
Número máximo de réplicas de Y	1	1
Número total de valores	30	56
Número de valores perdidos	52	26

Como se puede apreciar, la tasa de crecimiento (pendiente de la relación) de los animales mantenidos en el estanque en colectivo (0.054 g día⁻¹) resultó ser de casi el doble de la de los animales mantenidos individualmente (0.024 g día⁻¹; p < 0.05; Tabla 1.1). Así, las ecuaciones propuestas para animales individualizados y para animales en colectivo son:

$$\text{Animales en colectivo, Peso, g} = 0.13e^{0.053T}$$

$$\text{Animales individualizados, Peso, g} = 0.16e^{0.024T}$$

donde T es el tiempo en días.

1.4.2 Efectos de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta sobre la sobrevivencia y crecimiento exponencial de juveniles de *O. maya* mantenidos en un sistema de cultivo individualizado

La sobrevivencia no fue afectada por el tipo de alimento. Del total de animales mantenidos con la pasta control (N = 20) sobrevivieron 62.5%, mientras que de los mantenidos con la pasta enriquecida (N =20) sobrevivieron 57%.

La tasa de crecimiento no fue afectada por el tipo de alimento. El análisis de regresión lineal mostró que las pendientes de la relación entre el peso y el tiempo de cultivo fueron iguales (ver Figura 1.7; F = 0.798; grados de libertad = 106; p = 0.37). Los valores resultantes del análisis estadístico y la caracterización de cada curva de crecimiento se muestran en la Tabla 1.2.

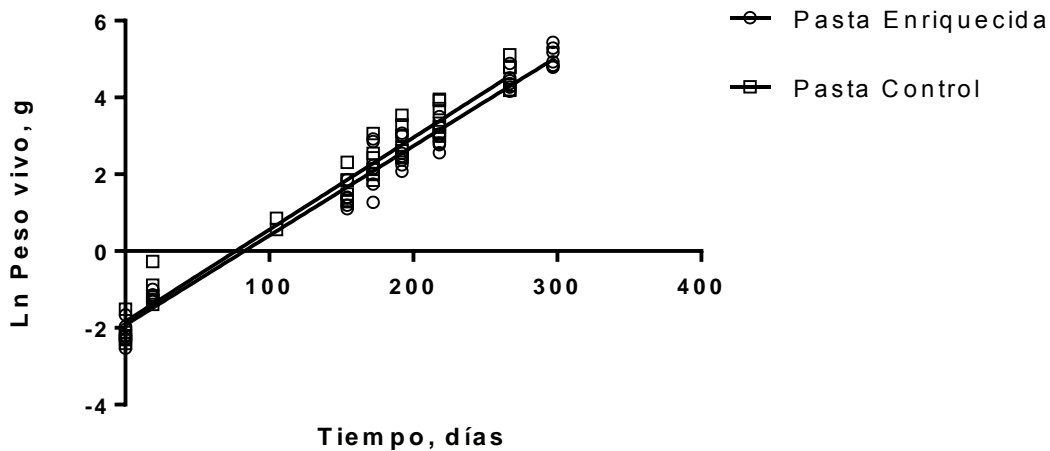


Figura 1.7. Crecimiento en peso a través del tiempo de juveniles de *O. maya* mantenidos en un sistema de cultivo individualizado.

De acuerdo con los resultados obtenidos, un rango de pendientes se logró calcular para ambos grupos experimentales (ver Tabla 1.2). Este rango incluyó valores de crecimiento de entre 0.022 a 0.025 g día⁻¹.

Tabla 1.2. Valores derivados del análisis de las curvas de crecimiento de los juveniles de *O. maya* mantenidos con diferentes dietas en un sistema de cultivo individualizado.

	Pasta Enriquecida	Pasta Control
Valores ajustados		
Pendiente	0.02329 ± 0.0004891	0.02396 ± 0.0005742
Intercepto en Y cuando X=0.0	-1.923 ± 0.09354	-1.837 ± 0.09726
Intervalos de confianza al 95%		
Pendiente	0.02231 a 0.02427	0.02281 a 0.02511
Intercepto en Y cuando X=0.0	-2.111 a -1.736	-2.032 a -1.642
Bondad del ajuste		
r ²	0.9772	0.9705
Desviación estándar de los residuales	0.3627	0.3931
¿Es la pendiente distinta de cero?		
F	2267	1741
Grados de libertad en el numerador, Grados de libertad en el denominador	1.000, 53.00	1.000, 53.00
p	< 0.0001	< 0.0001
¿Desviación de cero?	Significativa	Significativa
Datos		
Número de valores de X	55	55
Número máximo de réplicas de Y	1	1
Número total de valores	55	55
Número de valores perdidos	8	8

Tomando en cuenta lo anterior, es posible proponer una sola ecuación que describa el crecimiento de los juveniles de *O. maya* alimentados con las diferentes dietas:

$$\text{Peso, g} = 0.15e^{0.023T}$$

1.4.3 Efectos de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta sobre el crecimiento de pre-adultos de *O. maya* mantenidos en estanques y en colectivo

El tipo de alimento afectó significativamente el crecimiento de los pre-adultos de *O. maya*, mostrando una mayor ganancia en peso en los pulpos

alimentados con la pasta enriquecida en comparación con los que fueron alimentados con la pasta control (ver Figura 1.8).

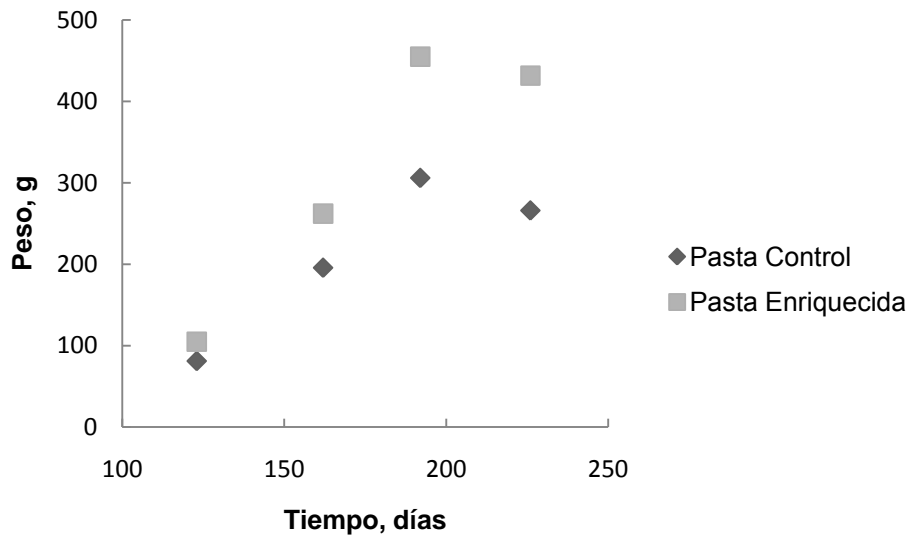


Figura 1.8. Crecimiento en peso a través del tiempo de pre–adultos de *O. maya* mantenidos en estanques y en colectivo.

El análisis de varianza efectuado indicó que a lo largo del ensayo el peso fue afectado tanto por el tipo de alimento como por el tiempo, sin interacción entre éstos (ver Tabla 1.3).

Tabla 1.3. Análisis de varianza efectuado a los valores del peso obtenidos en pre–adultos de *O. maya* a lo largo de 103 días de cultivo. Valores con asterisco indican diferencia significativa ($p < 0.0005$).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
Dietas	6.73E+04	1	6.73E+04	16.64	.000*
Días	1.30E+05	3	3.90E+05	32.13	.000*
Dietas*Días	7749	3	2.32E+04	1.92	0.153

El análisis HSD de Tukey aplicado para establecer las diferencias entre los promedios obtenidos mostró que los valores de peso de los animales mantenidos

con la pasta enriquecida a los 192 y 226 días de cultivo fueron significativamente mayores a los obtenidos en el resto de los animales (ver Tabla 1.4).

Tabla 1.4. Resultados de la comparación de medias mediante la prueba HSD de Tukey. Los asteriscos indican a los grupos que se formaron a partir de la prueba considerando una $p < 0.05$.

Dieta	Días	Peso, g	1	2	3
Pasta control	123	81.10		****	
Pasta enriquecida	123	104.82		****	
Pasta control	162	195.70	****	****	
Pasta enriquecida	162	262.12	****		
Pasta control	226	266.05	****		
Pasta control	192	306.04	****		
Pasta enriquecida	226	431.65			****
Pasta enriquecida	192	454.95			****

1.5 Discusión

1.5.1 Efecto del método de cultivo (individual contra colectivo) sobre el crecimiento

En el presente estudio se observó que efectivamente los juveniles de *O. maya* individualizados crecen a la mitad de la velocidad que lo que se registró en animales mantenidos en estanques externos y en colectivo. Con estos resultados es posible afirmar que existen factores en la forma de cultivar a los organismos que determinan la tasa de crecimiento. Aunque en el presente estudio no se determinaron los factores de influencia, resultados obtenidos en otros estudios han señalado que el canibalismo podría jugar un papel importante para potenciar el crecimiento de los animales en cultivo debido al aporte de materia y energía que los congéneres aportan a la población cultivada. En este sentido Ibáñez y Keyl (2010) han señalado que el canibalismo es una forma en que las poblaciones regulan la densidad y por ende el uso de los recursos disponibles en el ecosistema. Es interesante hacer notar que, aunque en condiciones de cultivo este factor esta supuestamente resuelto a través de la tasa de alimentación y del

manejo de una densidad apropiada, los resultados obtenidos ahora indican que posiblemente alguno de estos factores podría no estar operando apropiadamente, dando lugar a la necesidad poblacional de ajustar a los individuos que conforman la comunidad de un estanque de cultivo.

La densidad de siembra en el cultivo de cefalópodos y en particular de pulpos es un tópico de estudios recientes. Barord *et al.* (2010) reportaron que una densidad de 200 juveniles m^{-2} de *Sepia pharaonis* expuestos a alta temperatura ($28^{\circ}C$) provocaron una sobrevivencia de 0.5%, en comparación con la obtenida en animales mantenidos en altas y bajas densidades pero en temperaturas menores ($23^{\circ}C$). Estos autores concluyeron que la baja sobrevivencia observada estuvo relacionada con el exacerbado canibalismo provocado por el aumento en la voracidad que provocó la alta temperatura. Por su parte, Domingues *et al.* (2010) encontraron en *O. vulgaris* que la densidad de siembra no afectó el crecimiento de los subadultos aunque si la sobrevivencia, obteniendo menos organismos al final del periodo experimental en el tratamiento con la mayor densidad.

En el presente estudio los juveniles de *O. maya* se sembraron a una densidad de 25 pulpos m^{-2} . En esa densidad la sobrevivencia esperada es cercana al 60% lo que implica que siempre existe una mortalidad asociada a las condiciones de cultivo (Rosas *et al.*, 2014). Uno de los factores que posiblemente este asociado con esa mortalidad es el tipo de alimento utilizado. Existen evidencias de que la pasta utilizada para alimentar a *O. maya* es una mezcla que cubre los requerimientos nutricionales de la especie (Rosas *et al.*, 2014). Sin embargo, aun cuando la pasta ha sido utilizada con éxito en cultivos piloto (Rosas *et al.*, 2008), como se desconocen los requerimientos de la especie, es posible que aún hoy existan nutrientes faltantes en la mezcla que únicamente puedan ser obtenidos por los pulpos a través del canibalismo. En contraste, los organismos individualizados, además de no contar con un espacio vital amplio, están sujetos a la alimentación restringida de la pasta, hecho que sin duda afecta el crecimiento. Estudios realizados en ésta y otras especies de pulpos han demostrado que

animales individualizados también tienen tasas de crecimiento menores que aquellos que se encuentran en colectivo. Briceño *et al.* (2010 a y b) encontraron que los juveniles de *O. maya* mantenidos individualmente tienen tasas de crecimiento con exponentes de 0.03, el cual contrasta con los valores de entre 0.05 y 0.06 que se han registrado en organismos cultivados en estanques. Van Heukelem (1976), Leporati *et al.* (2007) reportaron tasas exponentes de la relación peso versus tiempo entre 0.014 y 0.018 en animales individualizados. Aunque estos autores no encontraron una explicación a tan bajas tasas de crecimiento, sugirieron que éstas se debieron a la falta de espacio vital que los organismos tuvieron durante el experimento.

1.5.2 Crecimiento exponencial de organismos individualizados utilizando dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados

En el presente estudio se observó que el crecimiento de juveniles de *O. maya* no fue promovido por una dieta enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados en los animales individualizados a pesar de que es bien sabido que la participación de estos ácidos grasos tiene un papel importante en los procesos de hiperplasia (Rowlerson *et al.*, 1995; Weatherley, 1990). Estos resultados podrían ser interpretados tanto en el sentido de los requerimientos nutricionales de la especie como en los efectos que el espacio vital ejerce sobre el crecimiento de organismos individualizados. Estudios realizados en otras especies como *O. vulgaris* mostraron que los ácidos grasos poliinsaturados son movilizados de manera importante cuando los organismos han sido expuestos a períodos de ayuno prolongado indicando que estos ácidos grasos son una importante fuente de energía para el mantenimiento de las funciones básicas en los pulpos (García-Garrido *et al.*, 2010). En otro estudio en donde se alimentó a pre-adultos de *O. vulgaris* con diferentes especies de peces frescos y congelados con diferentes niveles de lípidos se observó que, independientemente de los niveles de lípidos fue el origen de los peces utilizados lo que determinó el crecimiento de los animales sugiriendo que existen otros factores, además de los ácidos grasos, que determinan el requerimiento nutricional de estos organismos (Estefanell *et al.*,

2012). Estos resultados evidenciaron que si bien los ácidos grasos poliinsaturados son importantes en muchos procesos metabólicos y para el crecimiento, pudieran no ser del todo determinantes de este proceso. Esto explica, al menos en parte, las razones por las cuales en el presente estudio no se observaron diferencias estadísticas en animales individualizados y alimentados con dietas ricas o no en ácidos grasos poliinsaturados.

Entonces, si en los organismos individualizados el tipo de dieta no ayuda a que éstos crezcan mejor, ¿por qué el crecimiento en estas condiciones es más bajo que el observado en animales mantenidos en estanques? Una posible respuesta está relacionada con el papel que juega el espacio vital. Aunque los pulpos son en general animales solitarios que habitan en cuevas y pequeños orificios en el piso del océano, por su carácter de depredadores requieren de espacios en donde realizar sus actividades de cacería (Ibáñez y Chong, 2008). Aunque los juveniles utilizados en el presente estudio provenían de condiciones de cultivo es posible que aún en estos organismos se mantenga la información genética que determina que un espacio limitado no es suficiente para que los animales crezcan apropiadamente. Aunque a la fecha no se sabe cuáles son las consecuencias del espacio vital en el crecimiento de los pulpos, existen evidencias en peces de que el ejercicio del nado aumenta el crecimiento de animales mantenidos en estanques con un flujo de agua que los obliga a nadar a contracorriente en comparación con los que se mantienen en aguas estáticas (Jobling *et al.*, 1993). Este tipo de estudios aún no se han hecho en pulpos y abren una vertiente de investigación que plantea la hipótesis en la que se podría establecer que, animales individualizados podrían crecer en forma similar a la de los animales mantenidos en estanques si tuvieran la oportunidad de desplazarse más en el dispositivo de individualización.

1.5.3 Efectos en el crecimiento con la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta en pre-adultos de *O. maya* mantenidos en estanque y en colectivo

A diferencia del experimento anterior, en esta parte del estudio se observó que las dietas con diferentes niveles de ácidos grasos poliinsaturados si afectaron el crecimiento de los animales mantenidos en estanques y en colectivo. Aunque a la fecha no se tiene suficiente información de los mecanismos involucrados en esta respuesta, es posible proponer que los espacios abiertos ofrecen a los animales condiciones propicias para el mejor aprovechamiento de dietas que contienen componentes que, como los ácidos grasos poliinsaturados ayudan al crecimiento. Así, con estas evidencias es posible suponer también que el espacio vital participa de manera importante para el desarrollo óptimo de los juveniles y pre-adultos de *O. maya* ya que, cuando los organismos están en espacios abiertos como en los estanques de cultivo, el efecto benéfico de la dieta se hace presente.

Estudios previos realizados en *O. vulgaris* y con diferentes ingredientes potenciales para formular dietas, han demostrado que si bien los lípidos y en particular los ácidos grasos poliinsaturados son moléculas importantes para la nutrición de los animales ninguno de ellos cubre por sí mismo los posibles requerimientos de esta especie. Así, el uso de dietas enriquecidas como la utilizada en esta parte del estudio podría ser una estrategia favorable para mejorar el crecimiento de pulpos cultivados. Entre los ácidos grasos poliinsaturados que se han propuesto como los más importantes para el crecimiento de los pulpos se encuentran el C20:4n-3; C20:3n-6 y el C20:4n-6 ya que éstos son esenciales para los pulpos (Monroig *et al.*, 2012). Esto explica, al menos en parte por qué el crecimiento de los pulpos se ve favorecido cuando las presas utilizadas contienen estos ácidos grasos (Domingues *et al.*, 2010; García-Garrido *et al.*, 2010; Uriarte *et al.*, 2011).

Un aspecto interesante en los resultados obtenidos ahora es el hecho de que los animales experimentales alimentados con las diferentes dietas fueron preadultos de *O. maya*. Es muy probable que por estar cerca del periodo reproductivo la demanda de ácidos grasos para la síntesis de vitelo (en el caso de las hembras) o la síntesis gonádica (en general en machos) haya también influido en la respuesta de los organismos a las dietas enriquecidas. Estudios realizados en reproductores de diversas especies de pulpo han demostrado que dietas ricas en ácidos grasos como las proporcionadas por la carne de mejillones (*Mytilus edulis*; *M. galloprovincialis*; *M. chilensis*) favorecen el crecimiento del ovario, de los ovocitos y la calidad de los desoves (Farías *et al.*, 2011). Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA, por sus siglas en inglés) los mejillones contienen 3% de ácidos grasos poliinsaturados en base seca, lo que indica que si se utilizan niveles cercanos a éstos, el crecimiento de los organismos se verá favorecido, posiblemente por vía del aprovechamiento de los ácidos grasos poliinsaturados hacia el aparato digestivo y por ende al crecimiento. Un estudio reciente efectuado en juveniles tempranos de pulpo mostró que niveles de entre 3 y 5% de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta promueven el crecimiento de *O. maya*, demostrando que estos ingredientes aunque se requieran en poca cantidad pueden ser muy importantes para los animales en cultivo (Villegas–Bárceñas, 2013).

2 PAPEL DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN EL PROCESO REPRODUCTIVO DE LAS HEMBRAS DE *Octopus maya* DE SEGUNDA GENERACIÓN

2.1 Antecedentes

2.1.1 Reproducción

La reproducción constituye un periodo estacional clave en el incremento de la demanda de energía para los individuos adultos de la mayoría de las especies, pero no para los animales inmaduros de los cuales no se espera que exhiban las tendencias estacionales de condición corporal asociadas con la reproducción (Ryg *et al.*, 1990; Beck *et al.*, 2003). En general, los costos reproductivos muestran patrones sexo-específicos debido a las altas diferencias en las inversiones energéticas entre machos y hembras. Mientras que los costos para los machos están generalmente asociados casi exclusivamente con los límites de apareamiento, las hembras también tienen que hacer frente a los costos adicionales de gestación y cría de la descendencia (Ryg *et al.*, 1990; Beck *et al.*, 2003).

Los cefalópodos representan un ejemplo típico de los organismos que hacen grandes inversiones de energía en el desarrollo de las gónadas, especialmente las hembras. Con la excepción de los nautilus, se cree que la gran mayoría de los cefalópodos modernos conocidos son criadores de una sola temporada, o semélparos en el sentido estricto, que mueren poco después de que la reproducción se lleva a cabo (Boyle y Rodhouse, 2005). El crecimiento y la maduración son muy rápidos y, mientras que el crecimiento somático excede el crecimiento de las gónadas durante la vida temprana, el desarrollo de gametos domina la producción de tejidos en las etapas posteriores (Semmens *et al.*, 2004). Aunque el peso de las gónadas en los machos rara vez excede el 5% de su peso corporal, el sistema reproductivo de las hembras, el cual representa menos del 1% del peso corporal cuando está inmaduro, aumenta de manera dramática de 20 a 30% (e incluso hasta el 50%) en un corto periodo de tiempo justo antes del desove (Forsythe y Van Heukelem, 1987).

Por otra parte, en la mayoría de especies de pulpos las hembras maduras migran a sustratos rocosos para establecer y cuidar de los huevos y, una vez en el abrigo rocoso, ellas reducen considerablemente o incluso cesan su consumo de alimentos hasta el punto de que mueren poco después de que los huevos eclosionan (Boyle y Rodhouse, 2005). Como consecuencia de este gran gasto de energía en la reproducción, los tejidos del manto sufren importantes cambios en su composición y estructura que implica una pérdida concomitante de la condición somática, como una tendencia general del aumento de la concentración de agua y una disminución en el contenido de proteínas (Jackson *et al.*, 2004). Por lo tanto, los cefalópodos son, en principio, los estudios de caso especialmente adecuados para el análisis de las compensaciones entre la condición individual y los procesos reproductivos (Quetglas *et al.*, 2011).

2.1.2 Reproducción de *O. maya* en cautiverio

En la actualidad, el sistema de producción de *O. maya* en el Laboratorio de Biología Marina Experimental de la Unidad Académica Sisal se basa en dos tipos de reproductores: los reproductores de generación F1 y los reproductores silvestres.

Después de varios años de operación utilizando hembras silvestres se ha podido establecer que por arriba de los 500 g de peso no existe una relación entre el número de crías producidas y el peso de las hembras. Un valor promedio de 587 ± 244 crías por desove fue obtenido de 191 desoves analizados cuyas hembras presentaron pesos de 815 ± 225 g (ver Figura 2.1).

Existen algunos datos que sugieren que las hembras que desovan en el mar pudieran producir más crías que las que se han obtenido en condiciones de cultivo. Un promedio de 1209 ± 273 crías por desove fue obtenido de 12 desoves recuperados en el mar. Estas hembras reportaron un peso de 778 ± 87 g lo que sugiere que la diferencia en el desove no se debe a diferencias en el tamaño de

las hembras sino a las condiciones que éstas experimentan durante el acondicionamiento reproductivo, ya sea en el laboratorio o en el ambiente marino. Se ha observado que los reproductores de generación F1 desovan antes de alcanzar los 500 g de peso. Aunque aún hay pocos datos los resultados obtenidos hasta ahora sugieren que las hembras menores de 500 g producen una menor cantidad de crías (alrededor de 400 crías por desove) que las que se han obtenido de hembras de mayor peso.

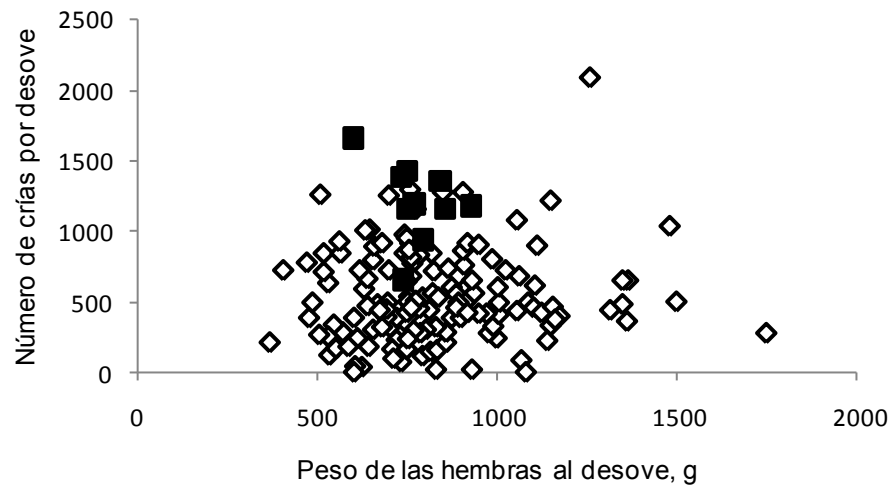


Figura 2.1. Crías por desoves obtenidos de hembras silvestres acondicionadas en el laboratorio (puntos sin relleno) y las obtenidas de desoves de hembras que se acondicionaron en forma natural en el mar y cuyos desoves fueron recuperados a partir del muestreo de nidos artificiales colocados en las zonas naturales del desove de *O. maya* (puntos negros).

Durante toda su vida los pulpos son alimentados con una pasta elaborada en el Laboratorio de Biología Marina Experimental de la Unidad Académica Sisal y que está sujeta a solicitud de patente.

Aunque esta pasta ha demostrado que produce mejores crecimientos que los obtenidos cuando los pulpos son alimentados con crustáceos congelados (Martínez *et al.*, 2014) no existen evidencias que indiquen que la pasta tiene las

propiedades adecuadas para ser utilizada también como dieta durante el acondicionamiento reproductivo.

2.1.3 Lípidos: Descripción e importancia

Los lípidos son un grupo de compuestos heterogéneo, que incluye grasas, aceites, esteroides, ceras y compuestos relacionados más por sus propiedades físicas que por sus propiedades químicas. Tienen la propiedad común de ser relativamente insolubles en agua (hidrofóbicos) y solubles en solventes no polares, como éter y cloroformo. Son importantes constituyentes de la dieta no sólo debido a su alto valor energético, sino también debido a las vitaminas liposolubles y los ácidos grasos esenciales contenidos en la grasa de alimentos naturales (Botham y Mayes, 2009).

Los lípidos de los tejidos biológicos se clasifican como lípidos simples, lípidos complejos y lípidos precursores y derivados.

1. Lípidos simples: ésteres de ácidos grasos con diversos alcoholes.
 - a. Grasas: ésteres de ácidos grasos con glicerol. Los aceites son grasas en el estado líquido.
 - b. Ceras: ésteres de ácidos grasos con alcoholes monohídricos de masa molecular relativa (peso molecular) más alta.
2. Lípidos complejos: ésteres de ácidos grasos que contienen grupos además de un alcohol y un ácido graso.
 - a. Fosfolípidos: lípidos que contienen, además de ácidos grasos y un alcohol, un residuo ácido fosfórico. A menudo poseen bases que contienen nitrógeno y otros sustituyentes; por ejemplo, en los glicerofosfolípidos el alcohol es glicerol, y en los esfingofosfolípidos el alcohol es la esfingosina.
 - b. Glucolípidos (glucoesfingolípidos): lípidos que contienen un ácido graso, esfingosina y carbohidrato.

- c. Otros lípidos complejos: lípidos como sulfolípidos y aminolípidos. Las lipoproteínas también pueden colocarse en esta categoría.
3. Lípidos precursores y derivados: comprenden ácidos grasos, glicerol, esteroides, otros alcoholes, aldehídos grasos, cuerpos cetónicos, hidrocarburos, vitaminas liposolubles y hormonas.

Dado que no tienen carga, los acilgliceroles (glicéridos), el colesterol y los ésteres de colesterol se llaman lípidos neutrales (Botham y Mayes, 2009).

Los lípidos de gran importancia fisiológica son los ácidos grasos y sus ésteres, junto con el colesterol y otros esteroides (Fahy *et al.*, 2005). Los ácidos grasos son lípidos anfipáticos, es decir, parte de la molécula es hidrofóbica, o insoluble en agua, y parte hidrofílica, o soluble en agua (Scrimgeour y Harwood, 2007). Los ácidos grasos han sido subdivididos en dos grupos según el grado de insaturación: los ácidos grasos saturados (no poseen dobles enlaces) y los ácidos grasos insaturados (poseen uno o más dobles enlaces). Estos ácidos grasos poseen por regla general un número par de átomos de carbono y estructuras no ramificadas. Los dobles enlaces se etiquetan con Z o E según corresponda, si bien suelen sustituirse estas etiquetas por los términos *cis* y *trans*, respectivamente. Por ejemplo, el nombre sistemático del ácido linoleico (LA, por sus siglas en inglés) es Z-9, Z-12-ácido octadecadienoico o *cis*-9, *cis*-12-ácido octadecadienoico (Fahy *et al.*, 2005). Una configuración *cis* significa que los átomos de hidrógeno unidos a los dobles enlaces se encuentran en el mismo plano. Si los átomos de hidrógeno se encuentran en los planos opuestos, la configuración se denomina *trans* (ver Figura 2.2). Los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados que existen en la naturaleza son muy a menudo de orientación *cis*. (Fahy *et al.*, 2005; Gunstone *et al.*, 2007). Sin embargo, una reciente propuesta de nombramiento sistemático para su uso en bases de datos lipídicas y bioinformáticas requiere el uso de Z o E (Fahy *et al.*, 2005).

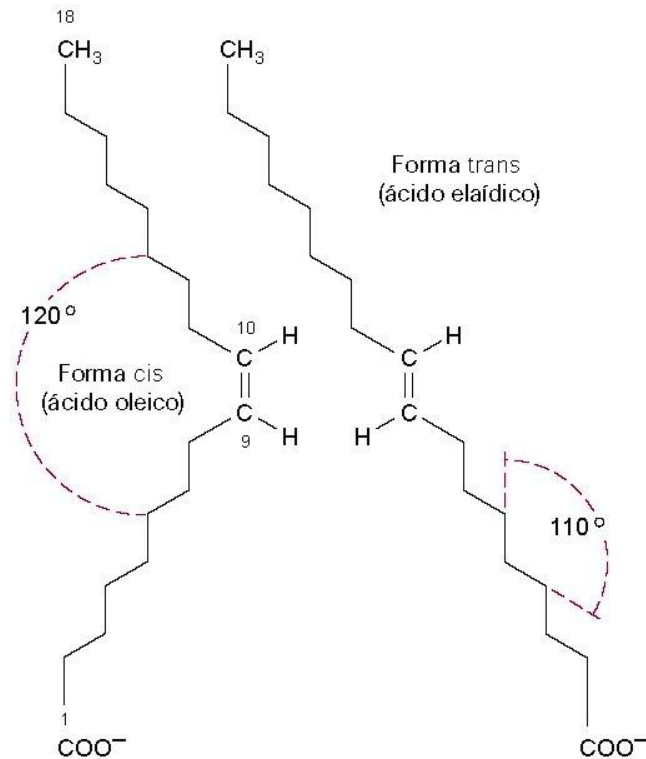


Figura 2.2. Formas *cis* y *trans* del ácido graso C18:1. Adaptado de Botham y Mayes, 2009.

Existen varias notaciones abreviadas para referirse a los ácidos grasos, pero todas ellas adoptan la forma C:D, en la que la C representa el número de átomos de carbono y la D el número de dobles enlaces en la cadena de carbono. Los bioquímicos usan muy a menudo el llamado sistema de notación n-x para los ácidos grasos insaturados *cis* naturales. El término n-x hace referencia a la posición del doble enlace del ácido graso que se encuentra más cercano al extremo metilo de la molécula. Este sistema define con facilidad las diferentes series metabólicas, tales como n-9, n-6 y n-3. Este sistema sólo se puede aplicar a los ácidos grasos insaturados *cis* y a los ácidos grasos poliinsaturados *cis* cuyos dobles enlaces estén separados por un metileno. El ácido linoleico (LA, por sus siglas en inglés) que tiene su segundo doble enlace en el sexto carbono si partimos del extremo metilo, suele abreviarse como C18:2n-6. Al sistema n-x se le conoce también como sistema omega, por lo que es frecuente el uso de los

términos omega-3 y omega-6 (IUPAC-IUB Comisión de Nomenclatura Bioquímica, 1978). En la Tabla 2.1 se presentan algunos de los ácidos grasos saturados e insaturados de importancia fisiológica y nutricional.

Tabla 2.1. Nombres y abreviaturas de algunos ácidos grasos importantes.

Nombre sistemático	Nombre común	Abreviatura
Butanoico	Butírico	C4:0
Hexanoico	Caproico	C6:0
Octanoico	Caprílico	C8:0
Decanoico	Cáprico	C10:0
Dodecanoico	Láurico	C12:0
Tetradecanoico	Mirístico	C14:0
Hexadecanoico	Palmítico	C16:0
Octadecanoico	Esteárico	C18:0
Eicosanoico	Araquídico	C20:0
<i>cis</i> -9-hexadecénoico	Palmitoleico	C16:1n-7
<i>cis</i> -9-octadecenoico	Oleico (OA)	C18:1n-9
<i>trans</i> -9-octadecenoico	Elaídico	
<i>cis</i> -11-octadecenoico	<i>cis</i> -Vaccénico	C18:1n-7
Ácido <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12-octadecadienoico	Ácido linoleico (LA)	C18:2n-6
Ácido <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15-octadecatrienoico	Ácido α -linolénico (ALA)	C18:3n-3
Ácido <i>cis</i> -6, <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12-octadecatrienoico	Ácido γ -linolénico (GLA)	C18:3n-6
Ácido <i>cis</i> -8, <i>cis</i> -11, <i>cis</i> -14-eicosatrienoico	Ácido dihomo- γ -linolénico (DHGLA)	C20:3n-6
Ácido <i>cis</i> -5, <i>cis</i> -8, <i>cis</i> -11, <i>cis</i> -14-eicosatetraenoico	Ácido araquidónico (AA)	C20:4n-6
Ácido <i>cis</i> -5, <i>cis</i> -8, <i>cis</i> -11, <i>cis</i> -14, <i>cis</i> -17-eicosapentaenoico	Ácido eicosapentaenoico (EPA)	C20:5n-3
Ácido <i>cis</i> -7, <i>cis</i> -10, <i>cis</i> -13, <i>cis</i> -16, <i>cis</i> -19-docosapentaenoico	Ácido docosapentaenoico (n-3 DPA)	C22:5n-3
Ácido <i>cis</i> -4, <i>cis</i> -7, <i>cis</i> -10, <i>cis</i> -13, <i>cis</i> -16, <i>cis</i> -19-docosahexaenoico	Ácido docosahexaenoico (DHA)	C22:6n-3

Adaptado de Christie y Han, 2012.

Los ácidos grasos saturados pueden imaginarse como basados en ácido acético ($\text{CH}_3\text{—COOH}$) como el primer miembro de la serie en la cual se agrega de manera progresiva $\text{—CH}_2\text{—}$ entre los grupos $\text{CH}_3\text{—}$ y —COOH terminales. Los ácidos grasos insaturados se subdividen en ácidos grasos monoinsaturados (que contienen un doble enlace), ácidos grasos poliinsaturados (que contienen dos o más dobles enlaces) y eicosanoides. Estos compuestos se forman a partir de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos (eicosanoicos), y constituyen un importante grupo de compuestos que tienen actividad fisiológica, conocidos como prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX), leucotrienos (LT) y lipoxinas (LX) (Botham y Mayes, 2009).

Los ácidos grasos poliinsaturados naturales, con dobles enlaces separados por un metileno y de configuración *cis* pueden dividirse en 12 familias diferentes: pueden comprender entre dobles enlaces situados en la posición $n-1$ hasta la $n-12$ (Gunstone *et al.*, 2007). Las familias más importantes son la $n-6$ y la $n-3$. El ácido linoleico (LA, por sus siglas en inglés) es el ácido graso esencial primario o generador de la familia $n-6$. Posee 18 átomos de carbono y dos dobles enlaces. Además, el primer doble enlace se encuentra a 6 átomos de carbono del extremo metilo de la cadena de ácidos grasos, y este es el motivo de que se denomine $n-6$. El ácido α -linolénico (ALA, por sus siglas en inglés) es el ácido graso esencial primario o generador de la familia $n-3$. Cuenta igualmente con 18 átomos de carbono, pero posee tres dobles enlaces. A diferencia del LA, el primer doble enlace del ALA se encuentra en el tercer átomo de carbono partiendo del extremo metilo de la cadena de ácidos grasos, y de ahí el nombre de $n-3$ (Fahy *et al.*, 2005).

El ácido araquidónico (AA, por sus siglas en inglés) es el ácido graso $n-6$ más importante de todos los ácidos grasos $n-6$ porque es el precursor principal de los eicosanoides derivados de la familia $n-6$. El ácido eicosapentaenoico (EPA, por sus siglas en inglés) y el ácido docosahexaenoico (DHA, por sus siglas en inglés), ambos ácidos grasos $n-3$, son componentes de los lípidos marinos. La

caballa, el salmón, la sardina, el arenque y el eperlano son fuentes muy ricas en EPA y DHA (Ackman, 2008).

2.1.4 Obtención y uso de energía para la reproducción en cefalópodos

De acuerdo con Calow (1973), las especies con desove tipo terminal (estrategia de reproducción semélpara) invierten mucho más energía en su único evento de desove que aquellas especies que tienen múltiples desoves (estrategia reproductiva iterópara). La estrategia reproductiva exhibida por una especie está vinculada a su fuente de energía reproductiva, ya sea que ésta provenga del alimento o de las reservas almacenadas en el organismo (Jackson *et al.*, 2004).

Los cefalópodos tienen un metabolismo a base de proteínas (Lee, 1994), y el uso directo de éstas como reserva de energía podría explicar la carencia de las principales reservas de glucógeno y lípidos en los tejidos de los cefalópodos (O'Dor *et al.*, 1984; Storey y Storey, 1983). Los lípidos en el hepatopáncreas también han sido planteados como posibles sustratos y un sitio para el almacenamiento de energía en los cefalópodos (O'Dor y Webber, 1986; O'Dor y Wells, 1978; Moltschaniwskyj y Semmens, 2000).

Sin embargo, de acuerdo con Moltschaniwskyj y Semmens (2000), algunas especies de cefalópodos pueden utilizar el tejido del manto como fuente de energía inmediatamente antes del desove. Estudios en el calamar *Moroteuthis ingens* realizados por Jackson *et al.* (2004) mostraron que el contenido de agua tendió a incrementar en el manto, mientras que las proteínas, los lípidos y los carbohidratos disminuyeron con la madurez, sugiriendo una transferencia de energía desde el músculo durante la maduración reproductiva. En algunos calamares del género *gonatus*, las proporciones del cuerpo y la integridad del manto no cambian en los machos durante la maduración, pero sí en las hembras. Durante la incubación de los huevos algunos de los tejidos musculares de las hembras se degeneran (gelatinizan) (Arkhipkin y Bjorke, 1999). Según Seibel *et al.*

(2000), el alto contenido de lípidos en el hepatopáncreas de las hembras de *gonatus* les provee la energía necesaria para tolerar el periodo extendido de incubación.

Estudios realizados por Rosa *et al.* (2005) sobre los cambios en la composición bioquímica de los tejidos (gónada, hepatopáncreas y músculo) y las reservas de energía asociados con la madurez sexual en *Illex coindetii* y *Todaropsis eblanae* mostraron un claro aumento en el índice gonadosomático, pero no hubo una disminución concomitante en el índice del hepatopáncreas, indicando que los recursos de éste no se agotan, pero en caso de ser movilizados de este órgano luego son compensados a través de la ingesta de alimento. También se observó una tendencia al aumento significativo en el contenido de lípidos y ácidos grasos en la gónada y el hepatopáncreas, sobre todo durante la ovogénesis, demostrando que las hembras requieren altas fuentes energéticas para el desarrollo de la gónada. Tanto *Illex coindetii* como *Todaropsis eblanae* parecen utilizar directamente la energía del alimento para la producción de huevos en lugar de la que se encuentra almacenada en los tejidos. Esta adquisición directa también ha sido propuesta para calamares de clima templado (Guerra y Castro, 1994; Collins *et al.*, 1995) y calamares tropicales (Moltschaniwskyj y Semmens, 2000). Los ácidos grasos dominantes en la gónada, hepatopáncreas y músculo fueron los ácidos grasos poliinsaturados AA, EPA y DHA.

Otros estudios han demostrado que los cefalópodos pertenecientes a la familia Ommastrephidae mantienen su condición, continúan creciendo, y para la reproducción emplean la energía proveniente del alimento en lugar de la almacenada (Harman *et al.*, 1989; Rodhouse y Hatfield, 1990; Clarke *et al.*, 1994; Gabr *et al.*, 1999; McGrath y Jackson, 2002).

En *O. vulgaris* y *O. defilippi* también se ha reportado la utilización directa de la energía en el alimento para la producción de huevos (Rosa *et al.*, 2004). De todos los ácidos grasos se ha identificado que el EPA y el DHA están presentes en

la gónada y en el hepatopáncreas (EPA, DHA) mientras que el AA está más bien asociado al crecimiento muscular.

2.2 Problema de investigación

Conocer si las hembras de *O. maya* al igual que las especies de cefalópodos anteriormente mencionadas, transfieren directamente los ácidos grasos de mayor importancia contenidos en el alimento al vitelo de los huevos a medida que se aproxima el evento reproductivo.

2.2.1 Preguntas de investigación

- a. De los ácidos grasos presentes en la dieta, ¿cuáles y en qué proporción son transferidos directamente al vitelo de los huevos de las hembras pre-adultas de *O. maya*?
- b. ¿Cuál es la posible ruta que los pulpos utilizan para la transferencia de los ácidos grasos importantes tanto para el crecimiento como para la reproducción?

2.2.2 Hipótesis

- a. Si los ácidos grasos poliinsaturados son importantes para los procesos reproductivos de las diversas especies de pulpos debido al papel que juegan en la síntesis de vitelo que estará disponible para los embriones, entonces es de esperar que éstos sean transferidos desde la dieta hasta el vitelo en los huevos producidos por las hembras de *O. maya*.
- b. Si los ácidos grasos poliinsaturados son importantes para el crecimiento y la reproducción, entonces es de esperar que las hembras de *O. maya* a partir del alimento ingerido generen una ruta para la síntesis de las membranas celulares y otra posible vía para la producción de vitelo.

2.2.3 Objetivos

2.2.3.1 Objetivo general

Establecer el tipo de dieta más apropiada para el crecimiento y acondicionamiento reproductivo de hembras pre–adultas de *O. maya* mantenidas en condiciones de cultivo.

2.2.3.2 Objetivos específicos

- a. Conocer cuáles de los ácidos grasos presentes en la dieta son transferidos directamente al vitelo de los huevos de las hembras de *O. maya*.
- b. Sugerir una posible ruta empleada por los pulpos para la distribución de los ácidos grasos presentes en la dieta de acuerdo al papel que éstos jueguen en los eventos de crecimiento y reproducción.

2.3 Materiales y métodos

2.3.1 Diseño experimental

Para la realización de este ensayo se utilizaron 30 organismos procedentes de cultivo del Laboratorio de Biología Marina Experimental de la Unidad Académica Sisal. En el laboratorio, las hembras pre–adultas de *O. maya* se mantuvieron individualizadas en acuarios de fibra de vidrio con capacidad de 80 L, con agua de mar en recirculación, a condiciones ideales y constantes de salinidad, temperatura y oxígeno disuelto. Se alimentaron dos veces al día y el tamaño de las raciones correspondió al 5% de su peso corporal (ver Capítulo 1, Diseño experimental, Experimento No. 2: Efecto de la individualización y el tipo de alimento en pre–adultos de *O. maya*).

2.3.2 Evaluaciones bioquímicas

Se tomaron muestras de hepatopáncreas (peso promedio de 0.61 ± 0.21 g), músculo (procedente del segundo brazo derecho, peso promedio de 0.46 ± 0.20 g) y huevos (peso promedio de 0.53 ± 0.37 g) de las hembras pre-adultas de *O. maya* que sobrevivieron y a su vez alcanzaron el evento de desove a lo largo del periodo experimental (2 correspondientes al tratamiento con la pasta enriquecida y 5 pertenecientes al tratamiento de la pasta control) para obtener las cantidades de lípidos totales y su respectivo perfil de ácidos grasos con el fin de evaluar el impacto de los dos tipos de alimento brindado a los organismos en la composición de sus tejidos y desoves. Las muestras tomadas se almacenaron en tubos Eppendorf esterilizados de 2 mL y se conservaron en un congelador a -80°C . Posteriormente, éstas fueron liofilizadas a -50°C a una presión de 0.110 mbar durante 24 horas en una liofilizadora Labconco. Las muestras liofilizadas fueron maceradas y almacenadas en tubos Eppendorf esterilizados de 2 mL conservándose en refrigeración a -20°C .

2.3.2.1 Lípidos totales

Se tomó una submuestra (peso promedio de 0.066 ± 0.025 g) de cada muestra liofilizada. Los lípidos totales de cada submuestra fueron extraídos homogeneizando la submuestra en una mezcla de diclorometano/metanol (2:1) conteniendo 0.01% de Butilhidroxitolueno (BHT) como antioxidante, de acuerdo con Christie y Han (2012). El solvente orgánico se evaporó utilizando una corriente de gas nitrógeno. Una vez eliminado el solvente, el lípido total se determinó gravimétricamente. Los lípidos extraídos se guardaron diluidos en diclorometano/metanol (2:1) conteniendo 0.01% de BHT, en una atmósfera de nitrógeno, en viales sellados a -20°C para la posterior determinación del perfil de ácidos grasos presente en las muestras.

2.3.2.2 Análisis cromatográfico para la determinación del perfil de ácidos grasos en tejidos biológicos

En general, el análisis de ácidos grasos procedentes de muestras biológicas implica la consecución de tres pasos: extracción de lípidos (correspondiente al análisis de lípidos totales), conversión de los lípidos extraídos a ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés) y análisis de éstos mediante un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (GC–FID, por sus siglas en inglés) para la determinación del perfil de los ácidos grasos (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010). Para llevar a cabo la recuperación cuantitativa de la compleja mezcla lipídica contenida en las muestras se empleó el procedimiento cloroformo–metanol de Folch *et al.* (1957). En el anexo de este documento se presenta el esquema seguido para realizar este procedimiento.

Cabe destacar que en el procedimiento original se emplea cloroformo para realizar la extracción de los lípidos, mientras que en la Unidad de Química de la Unidad Académica Sisal su uso ha sido reemplazado por el diclorometano, debido a que el cloroformo es considerado un agente cancerígeno (United States Environmental Protection Agency, 2001). De acuerdo con Noreña, Coordinadora del Laboratorio de Biogeoquímica y Calidad de Agua de la Unidad de Química en la Unidad Académica Sisal, el cambio no genera repercusiones en el contenido de las extracciones.

Una vez concluido el tratamiento previo de las muestras para obtener los FAME presentes en las mismas, los ácidos grasos individuales se identificaron por cromatografía de gases capilar. Las muestras reconstituidas con hexano se inyectaron en un GC–FID Perkin Elmer modelo Clarus 500 equipado con un inyector automático. Las muestras se inyectaron en las condiciones cromatográficas descritas en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Condiciones de análisis por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC–FID).

Parámetro	Valor
Columna	Zebron ZB–WAX de Phenomenex, 20 m de longitud, 0.18 mm de diámetro interno y 0.18 µm de grosor de película (Num. Cat. 7FD–G007–08).
Temperatura inicial del horno	100°C, 0 min
Rampa 1	10°C/min hasta 250°C durante 5 min
Acarreador	Hidrógeno, flujo de 0.68 mL/min
Temperatura de inyector	250°C
Modo de inyección	Split, Razón 30:1 Inyección automática
Volumen de inyección	2 µL
Detector	FID
Temperatura del detector	250°C
Llama del detector	Con una mezcla de H ₂ (45 mL/min) y aire (450 mL/min)

Los compuestos individuales se identificaron de acuerdo con su tiempo de retención, tomando como referencia un estándar (ácido nonadecanoico, C19:0) con una mezcla de los compuestos de interés (Supelco® 37 Component FAME Mix, Num. Cat. 47885–U). El perfil de ácidos grasos de cada muestra se generó calculando el porcentaje de área de cada compuesto en relación al área total de ácidos identificados.

2.3.3 Tratamiento estadístico

Los efectos de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en el crecimiento y acondicionamiento reproductivo de hembras pre–adultas de *O. maya* fueron analizados utilizando un análisis de varianza en conjunto con el método de

componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés), el cual permite la estructuración de un conjunto de datos multivariados obtenidos de una población, cuya distribución de probabilidades no necesita ser conocida (Pla, 1986). Los objetivos más importantes de todo análisis por componentes principales son:

1. Generar nuevas variables que puedan expresar la información contenida en el conjunto original de datos.
2. Reducir la dimensionalidad del problema que se está estudiando, como paso previo para futuros análisis.
3. Eliminar, cuando sea posible, algunas de las variables originales si ellas aportan poca información.

Dicho análisis se realizó con el paquete estadístico FactoMineR (Husson *et al.*, 2013) en el lenguaje y entorno de programación para análisis estadístico y gráfico R version 2.15.3.

Todos los ácidos grasos encontrados en las muestras de hepatopáncreas, músculo y huevos se analizaron por el método de componentes principales. En el PCA se calcularon e interpretaron tanto los valores propios generados como los cosenos cuadrados de las variables.

Para reducir la dimensión original de las variables, se siguió el criterio de Kaiser, el cual consiste en incluir sólo aquellos componentes cuyos valores propios sean mayores que 1 (Greenacre, 2010). Sin embargo, para los resultados de este estudio sólo se consideraron el 1º y 2º componente, ya que ambos sintetizan la mayor variación total del conjunto de datos (ver Tabla 2.5).

La calidad de proyección de las variables para el 1º y 2º componente se asoció al valor de los cosenos cuadrados que éstas presentaron en dichos ejes. Un valor igual o superior a 0.7 indica lo bien representada que está una variable en determinado componente (Jiménez *et al.*, 2010).

2.4 Resultados

2.4.1 Efecto de la dieta en la concentración de lípidos en los tejidos de hembras pre–adultas de *O. maya*

El tipo de alimento afectó significativamente la concentración de lípidos en el hepatopáncreas y en el músculo de las hembras pre–adultas de *O. maya* (ver Tabla 2.3). Los animales alimentados con la pasta enriquecida presentaron una mayor cantidad de lípidos en el hepatopáncreas, mientras que en los animales alimentados con la pasta control se obtuvieron concentraciones similares de lípidos en ambos tejidos analizados (ver Figura 2.3).

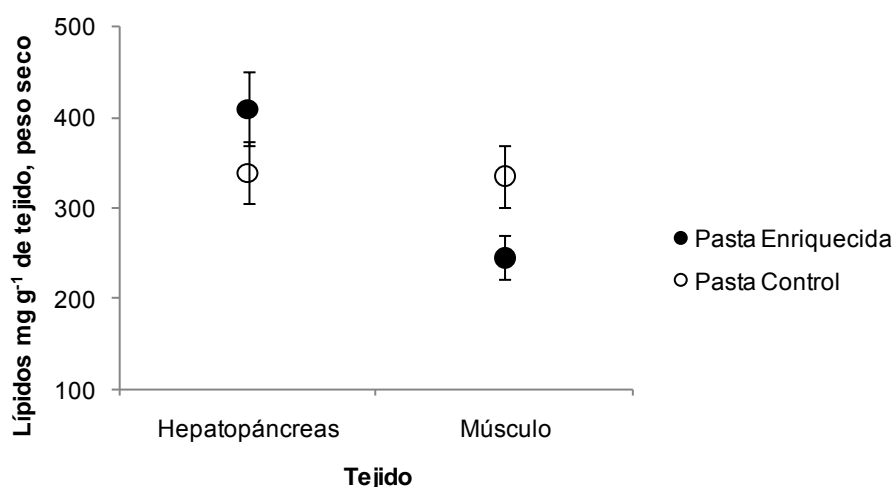


Figura 2.3. Concentración de lípidos en el tejido dependiendo de la dieta en hembras pre–adultas de *O. maya*. Valores dados como promedio \pm DS.

Tabla 2.3. Análisis de varianza efectuado a los valores de lípidos obtenidos en hembras pre–adultas de *O. maya*. Valores con asterisco muestran interacción significativa ($p < 0.05$).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
Tejidos por dieta	341	1	341	0.19	0.672
Tipo de tejido	2.54E+04	1	2.54E+04	14.13	.003*
Tejidos por dieta*Tipo de tejido	2.29E+04	1	2.29E+04	12.73	.004*

2.4.2 Concentración de ácidos grasos en los tejidos y desoves de hembras pre-adultas de *O. maya*

Se encontraron un total de 32 ácidos grasos (14 saturados, 7 monoinsaturados y 11 poliinsaturados, ver Tabla 2.4) en las muestras de hepatopáncreas, músculo y huevos de hembras pre-adultas de *O. maya*.

Tabla 2.4. Perfil de ácidos grasos en las muestras de hepatopáncreas, músculo y huevos de hembras pre-adultas de *O. maya*.

Ácido graso	Hepatopáncreas	Músculo	Huevos
C8:0	0.001±0.002	0.004±0.009	nd
C10:0	0.004±0.004	0.005±0.011	nd
C11:0	0.003±0.004	0.008±0.018	0.007±0.012
C12:0	0.040±0.027	0.125±0.137	0.116±0.022
C13:0	0.017±0.016	0.009±0.013	0.007±0.008
C14:0	2.206±0.951	1.691±0.917	4.626±0.398
C14:1	0.014±0.008	nd	0.054±0.035
C15:0	0.480±0.167	0.367±0.081	0.570±0.136
C15:1	0.008±0.017	0.002±0.005	nd
C16:0	22.928±5.460	25.163±2.854	42.389±2.569
C16:1	0.687±0.258	0.202±0.035	0.218±0.078
C17:0	1.734±0.352	2.026±0.136	1.711±0.213
C17:1	0.551±0.283	0.598±0.665	0.282±0.149
C18:0	22.239±3.490	23.300±1.096	11.355±1.290
C18:1n-9 <i>cis/trans</i>	2.750±1.200	2.366±0.542	3.842±0.980
C18:2n-6 <i>cis</i>	1.278±0.668	0.762±0.157	0.706±0.263
C18:2n-6 <i>trans</i>	nd	0.052±0.116	nd
C18:3n-6	0.052±0.113	nd	nd
C18:3n-3	0.197±0.283	0.024±0.017	0.071±0.046
C20:0	1.369±0.563	0.355±0.076	0.105±0.059
C20:1n-9	5.873±2.099	4.092±0.242	4.229±0.462
C20:2	2.144±0.768	1.535±0.278	1.842±0.383
C20:3n-6	4.761±2.550	2.545±0.495	1.663±0.199
C20:3n-3	0.148±0.059	0.056±0.009	0.020±0.024
C20:4n-6	0.120±0.070	0.358±0.213	0.181±0.034
C20:5n-3	11.032±3.033	11.797±1.213	8.630±0.776
C22:0	0.972±0.242	0.350±0.065	0.045±0.029
C22:1n-9	3.482±1.011	1.735±0.154	0.649±0.063
C22:2	0.812±0.120	0.456±0.039	0.223±0.068
C22:6n-3	13.348±3.133	19.115±1.576	15.826±1.541
C23:0	0.462±0.277	0.369±0.112	0.116±0.094
C24:0	0.287±0.171	0.532±0.421	0.517±0.093
SFA	52.742±6.849	54.305±3.794	61.564±3.464
MUFA	13.365±3.573	8.995±0.761	9.274±1.120
PUFA	33.893±7.536	36.700±3.105	29.161±2.713
PUFA n-3	24.725±5.956	30.992±2.577	24.547±2.165
PUFA n-6	6.212±2.209	3.717±0.585	2.549±0.313
HUFA n-3	24.528±5.804	30.967±2.587	24.476±2.168
HUFA n-6	4.881±2.518	2.903±0.611	1.844±0.228
DHA/EPA	1.234±0.189	1.626±0.112	1.836±0.123

SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados; PUFA n-3: ácidos grasos poliinsaturados omega-3; PUFA n-6: ácidos grasos poliinsaturados omega-6; HUFA n-3: ácidos grasos altamente insaturados omega-3; HUFA n-6: ácidos grasos altamente insaturados omega-6; DHA/EPA: razón DHA EPA; nd: no detectado. Valores dados como promedio ± DS de 5 muestras expresados en unidades porcentuales.

El PCA mostró que el primer componente resume el 37.06% de la varianza absoluta, mientras que el segundo componente explica el 22.20% (ver Tabla 2.5). Al considerar ambos componentes se sintetiza el 59.26% de la variación total del conjunto de datos, lo cual significa que pueden reemplazarse las treinta y dos variables originales sólo por el 1° y 2° componente.

Tabla 2.5. Valores propios y proporción de la variación de los ácidos grasos en el hepatopáncreas, músculo y huevos de hembras pre-adultas de *O. maya* explicada por cada uno de los componentes.

Componentes	Valor Propio	Proporción de la Varianza	
		Total Explicada	
		Absoluta (%)	Acumulada (%)
1°	10.01	37.06	37.06
2°	5.99	22.20	59.26
3°	3.09	11.43	70.69
4°	2.35	8.70	79.39
5°	1.80	6.65	86.04
6°	1.45	5.37	91.40
7 °	0.93	3.43	94.83
8 °	0.54	1.99	96.83
9 °	0.40	1.50	98.32
10 °	0.21	0.77	99.10
11 °	0.12	0.46	99.56
12 °	0.06	0.21	99.77
13 °	0.04	0.16	99.93
14 °	0.02	0.07	100.00

De acuerdo con el PCA los ácidos grasos identificados como C22:2, C20:3n-3, C20:3n-6 resultaron bien representados en el 1° componente, mientras que el C22:6n-3 (DHA) resultó bien representado en el 2° componente (ver Tabla 2.6). Estos resultados permiten explicar las razones por las cuales se separaron

los grupos (ver Figura 2.4). Como se puede apreciar en el componente 1 se separaron los grupos de ácidos grasos presentes en el vitelo de los huevos y del hepatopáncreas, mientras que en el componente 2 se separaron los ácidos grasos relativos al músculo.

Tabla 2.6. Calidad de proyección de los ácidos grasos destacados del hepatopáncreas, músculo y huevos de hembras pre-adultas de *O. maya* en el 1º y 2º componente y su respectiva contribución a la construcción de los mismos.

Ácido graso	Proyección Componente 1	Proyección Componente 2
C22:2	0.73	0.06
C20:3n-3	0.75	0.10
C20:3n-6	0.78	0.08
C22:6n-3	0.02	0.95

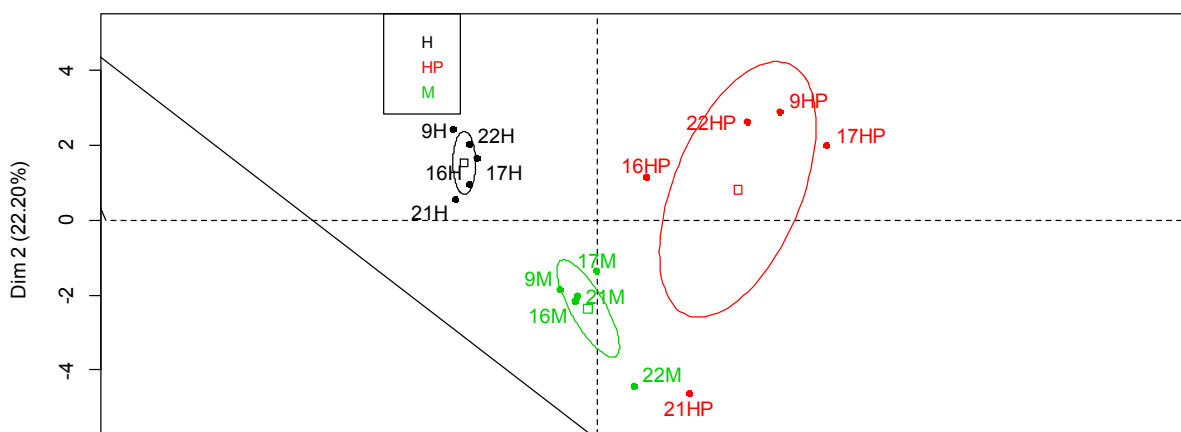


Figura 2.4. Resultado del análisis de componentes principales de los ácidos grasos del hepatopáncreas (HP), músculo (M) y huevos (H) de las hembras pre-adultas de *O. maya*.

2.5 Discusión

2.5.1 Transferencia de los ácidos grasos presentes en la dieta al vitelo de los huevos

En el presente estudio se observó que los ácidos grasos más frecuentes en el vitelo de los huevos fueron C14:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1, C20:1, C20:2, C20:3n-6, AA, EPA y DHA, constituyendo el 96% de los FAME. El ácido graso saturado C16:0 representó alrededor del 43% de los FAME, mientras que los ácidos grasos altamente insaturados omega-3 (EPA y DHA) se hicieron presentes en un 24%; siendo estos resultados similares a los encontrados en otras especies de cefalópodos (ver Tabla 2.4). Estudios realizados por Rosa *et al.* (2004) en ejemplares de *O. vulgaris* y *O. defilippi* reportan que el contenido de lípidos en la gónada tendió a aumentar significativamente durante la maduración sexual en ambas especies. Los ácidos grasos presentes en las gónadas maduras de todos los animales estudiados fueron C16:0, C18:0, C18:1, C20:1, AA, EPA y DHA. En otro estudio Rosa *et al.* (2005) mostraron que tanto *Illex coindetii* como *Todaropsis eblanae* también tienden a incrementar su contenido de lípidos en la gónada al madurar sexualmente, en donde los ácidos grasos C16:0, C18:0, C18:1, C20:1, AA, EPA y DHA se encontraron en mayor cantidad. Recientemente, en estudios realizados sobre la composición bioquímica de los huevos del pulpo rojo patagónico (*Enteroctopus megalocyathus*) por Farías *et al.* (2011) se observó que los ácidos grasos más frecuentes en los vitelos de los huevos fueron C16:0, C17:0, C17:1, C18:0, C20:1, AA, C23:0, EPA, C22:5n-3 y DHA, constituyendo de 74 a 95% de los FAME. Los ácidos grasos saturados C16:0 y C18:0 representaron entre el 20 y 37% de los FAME, mientras que los ácidos grasos altamente insaturados de la serie omega-3 variaron de 19 a 43% del total de los FAME.

El valor de la razón DHA/EPA de los huevos de *O. maya* (1.8, ver Tabla 2.4) fue similar a los reportados para paralarvas recién eclosionadas de *O. vulgaris* (1.7 y 1.5 por Navarro y Villanueva, 2000 y Seixas *et al.*, 2010, respectivamente) encontrándose en el mismo intervalo de variación reportado en gónadas maduras

de *O. vulgaris* y *O. defilippi* (2.1 y 2.0, respectivamente, Rosa *et al.* 2004) y dentro de lo observado en *E. megalocyathus* (1.6 a 2.7 por Farías *et al.*, 2011). De acuerdo con Sykes (2007), se puede encontrar una correlación entre los valores de DHA/EPA y la calidad de los huevos. En *Sepia officinalis* los valores de DHA/EPA superiores a 1.5, en huevos recién puestos, llevan a un desarrollo normal y los valores cercanos a 1.0 están asociados a malformaciones o ausencia de desarrollo; sin embargo, los resultados de Sykes (2007) no fueron concluyentes (Farías *et al.*, 2011).

Es interesante hacer notar que en todas las especies de cefalópodos anteriormente mencionadas (incluida *O. maya*) los ácidos grasos C16:0, C18:0, C20:1, AA, EPA y DHA (poliinsaturados en su mayoría) son comunes tanto en la composición de sus gónadas como en el vitelo de sus huevos, lo cual sugiere que la presencia de estos nutrientes tiene un papel importante como fuente de energía durante y después del evento reproductivo.

2.5.2 Destino de los ácidos grasos poliinsaturados para el crecimiento y la reproducción en *O. maya*

En el presente estudio se observó la manera en que los pulpos destinan los ácidos grasos presentes en la dieta hacia el hepatopáncreas, músculo y vitelo de los huevos, brindando un panorama de las posibles rutas que éstos siguen para los eventos de crecimiento y reproducción. Se encontró que los ácidos grasos poliinsaturados, (principalmente el C20:3n-6), permiten una separación entre tejidos con respecto al componente 1 del PCA, sugiriendo la acumulación de precursores para la síntesis de ácido araquidónico, el cual es un ácido graso fundamental para el crecimiento de los cefalópodos (Navarro y Villanueva, 2000). En contraste, la separación en el componente 2, en la que principalmente se destaca el DHA, permite proponer la hipótesis de que el uso de este ácido graso en el músculo es diferente a la forma en que éste es utilizado para la síntesis de vitelo. En este sentido, es posible sugerir que del alimento ingerido, los ácidos grasos son aprovechados en parte para la formación de los tejidos reproductivos y

el vitelo, mientras que algunos de ellos de importancia para la generación de nuevos tejidos son canalizados hacia la síntesis de músculo. A este respecto Rosa *et al.* (2004) mostraron que en *O. vulgaris* el crecimiento y la reproducción son dos eventos simultáneos los cuales dependen directamente de la dieta. Así, las propiedades nutricionales de ésta son un factor determinante de la capacidad reproductiva de los pulpos. Los resultados obtenidos en el presente estudio han puesto de manifiesto que efectivamente, la dieta es un factor preponderante del desarrollo de los organismos y de ésta destacan los ácidos grasos. Sieiro *et al.* (2006) reportaron altos valores de ácidos grasos saturados y poliinsaturados en muestras de ovario y músculo de *O. vulgaris*, reforzando esta hipótesis.

Los resultados de este estudio y otros realizados en distintas especies de cefalópodos hasta la fecha, ponen en evidencia que los lípidos obtenidos del alimento son inmediatamente digeridos y utilizados para el crecimiento y la reproducción, en lugar de ser almacenados en el hepatopáncreas para su posterior utilización (Harman *et al.*, 1989; Rodhouse y Hatfield, 1990; Clarke *et al.*, 1994; Guerra y Castro, 1994; Collins *et al.*, 1995; Gabr *et al.*, 1999; Moltschaniwskyj y Semmens, 2000; McGrath y Jackson, 2002; Rosa *et al.*, 2004, 2005; Moltschaniwskyj y Johnston, 2006). Éstos apoyan el modelo de adquisición directa de energía para *O. vulgaris* propuesto por O'Dor y Wells (1978).

Aunque, la ruta específica que explique las vías metabólicas que los pulpos utilizan para la movilización de los ácidos grasos obtenidos del alimento y canalizados a los diferentes tejidos aún no han sido reveladas, es evidente que este es un tema que se abre con posibilidades para el desarrollo de otros estudios que profundicen en estos mecanismos.

3 CONCLUSIONES

- a. El crecimiento de los juveniles de *O. maya* es afectado por la forma de cultivo. Animales mantenidos individualmente tuvieron un crecimiento más lento que el registrado en animales mantenidos en estanques y en forma colectiva.
- b. Dado que el crecimiento de los juveniles y pre–adultos de *O. maya* no fue afectado por la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta en animales mantenidos individualmente es posible concluir que fue la falta de espacio vital lo que limitó el crecimiento de estos animales cuando fueron individualizados.
- c. Existe un efecto significativo de la dieta enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados sobre el crecimiento de los pre–adultos de *O. maya* mantenidos en estanques y en colectivo. Estos resultados sugieren que sin limitaciones de espacio los animales pudieron aprovechar los efectos benéficos de la dieta lo que quedó de manifiesto en un mayor crecimiento.
- d. Las hembras pre–adultas de *O. maya* transfieren directamente del alimento los ácidos grasos poliinsaturados para la síntesis de vitelo, sugiriendo que su adición a la dieta podría mejorar la calidad de los huevos.
- e. De manera directa, los ácidos grasos poliinsaturados junto con los saturados presentes en el alimento, pasan del hepatopáncreas al músculo y al ovario, contribuyendo al desarrollo del primero y a la acumulación de fuentes de energía para los futuros desoves en el segundo.

4 LITERATURA CITADA

Ackman, R. G. 2008. Fatty acids in fish and shellfish. Pp. 155–185 in *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, Chow, C. K. CRC Press, London, UK.

Aguila, J., Cuzon, G., Pascual, C., Domingues, P., Gaxiola, G., Sánchez, A., Maldonado, T., Rosas, C. 2007. The effects of fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solis) diet: digestive enzyme activity, blood metabolites, and energy balance. *Aquaculture* 273: 641–655.

Alford, R. A., Jackson, G. D. 1993. Do cephalopods and larvae of other taxa grow asymptotically? *American Naturalist* 141: 717–728.

Almansa, E., Domingues, P., Sykes, A., Tejera, N., Lorenzo, A., Andrade, J. P. 2006. The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture* 256: 403–413.

André, J., Pecl, G. T., Grist, E. P. M., Semmens, J. M., Haddon, M., Leporati, S. C. 2009a. Modelling size-at-age in wild immature female octopus: a bioenergetics approach. *Marine Ecology Progress Series* 384: 159–174.

André, J., Grist, E. P. M., Semmens, J. M., Pecl, G. T., Segawa, S. 2009b. Effects of temperature on energetics and the growth pattern of benthic octopuses. *Marine Ecology Progress Series* 374: 167–179.

Arkhipkin, A. I., Bjorke, H. 1999. Ontogenetic changes in Morphometric and reproductive indices of the squid *Gonatus fabricii* (Oegopsida, Gonatidae) in the Norwegian Sea. *Polar Biology* 22: 357–365.

Baeza–Rojano, E., García, S., Garrido, D., Guerra–García, J. M., Domingues P. 2010. Use of Amphipods as alternative prey to culture cuttlefish (*Sepia officinalis*) hatchlings. *Aquaculture* 300(1–4): 243–246.

Baeza–Rojano, E., Domingues, P., Guerra–García, J. M., Capella, S., Noreña–Barroso, E., Caamal–Monsreal, C., Rosas, C. 2013. Marine gammarids (Crustacea: Amphipoda): a new live prey to culture *Octopus maya* hatchlings. *Aquaculture Research* 44(10): 1602–1612.

Barord, G. J., Keister, K. N., Lee, P. G. 2010. Determining the effects of stocking density and temperature on growth and food consumption in the pharaoh cuttlefish, *Sepia pharaonis*, Ehrenberg 1890. *Aquaculture International* 18(3): 271–283.

Beck, C. A., Bowen, W. D., Iverson, S. J. 2003. Sex differences in the seasonal patterns of energy storage and expenditure in a phocid seal. *Journal of Animal Ecology* 72: 280–291.

Boletzky, S., Hanlon, R. T. 1983. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod mollusks. *Memoirs of the National Museum Victoria* 44: 147–187.

Botham, K. M., Mayes, P. A. 2009. Lipids of Physiologic Significance. Pp. 111–121 in *Harper's Illustrated Biochemistry*, Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., Weil, P. A. McGraw–Hill Medical Publishing Division.

Boyle, P. R., Rodhouse, P. G. 2005. *Cephalopods: Ecology and Fisheries*. Blackwell Science Ltd, Oxford.

Briceño, F., Mascaró, M., Rosas, C. 2010a. Energy demand during exponential growth of *Octopus maya*: exploring the effect of age and weight. ICES Journal of Marine Science 67(7): 1501–1508.

Briceño, F., Mascaró, M., Rosas, C. 2010b. GLMM–based modelling of growth in juvenile *Octopus maya* siblings: does growth depend on initial size? ICES Journal of Marine Science 67(7): 1509–1516.

Cabrera, J. L., Defeo, O. 2001. Daily bioeconomic analysis in a multispecific artisanal fishery in Yucatan, Mexico. Aquatic Living Resources 14: 19–28.

Calow, P. 1973. The relationship between fecundity, phenology, and longevity: a systems approach. American Naturalist 107: 559–574.

Carrasco, J. F., Rodríguez, C., Rodríguez, M. 2003. Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797) utilizando como base de la alimentación zoeas vivas de crustáceos. Pp. 255–256 en Libro de Resúmenes del IX Congreso Nacional de Acuicultura. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, Cádiz, España.

Castro, B. G. 1991. Can *Sepia officinalis* L. be reared on artificial food? Marine Behavior and Physiology 19: 35–38.

Castro, B. G., DiMarco, F. P., DeRusha, R. H., Lee, P. G. 1993. The effect of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth, and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 170: 241–252.

Castro, B. G., Lee, P. G. 1994. The effects of semi–purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 109(4): 1007–1016.

Cerezo–Valverde, J., Hernández, M. D., Aguado–Giménez, F., García–García, B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273.

Chapela, A., González, A. F., Dawe, E. G., Rocha, F., Guerra, A. 2006. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Scientia Marina* 70(1): 121–129.

Christie, W. W., Han, X. 2012. *Lipid Analysis. Isolation, Separation, Identification and Lipidomic Analysis*. 4th Edition. Woodhead Publishing Limited, UK.

Clarke, A., Rodhouse, P. G., Gore, D. J. 1994. Biochemical composition in relation to the energetics of growth and sexual maturation in the ommastrephid squid *Illex argentinus*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 344: 201–212.

Collins, M. A., Burnell, G., Rodhouse, P. G. 1995. Recruitment, maturation, and spawning of *Loligo forbesi* Steenstrup (Cephalopoda: Loliginidae) in Irish waters. *ICES Journal of Marine Science* 52: 127–137.

DeRusha, R. H., Forsythe, J. W., Hanlon, R. T. 1987. Laboratory growth, reproduction and life-span of the Pacific Pygmy Octopus, *Octopus digueti*. *Pacific Science* 41: 104–121.

DeRusha, R. H., Forsythe, J. W., DiMarco, F. P., Hanlon, R. T. 1989. Alternative diets for maintaining and rearing cephalopods in captivity. *Laboratory Animal Science* 39(4): 306–312.

Diario Oficial de la Federación. 1993. Diario Oficial de la Federación del 1 de septiembre de 1993. Gobierno de la República, México.

Diario Oficial de la Federación. 1994. Diario Oficial de la Federación del 3 de diciembre de 1994. Gobierno de la República, México.

DiMarco, F. P., Turk, P. E., Scimeca, J. M., Browning, W. J., Lee, P. G. 1993. Laboratory survival, growth and digestive gland histology of squids reared on living and non-living fish diets. *Laboratory Animal Science* 43(3): 226–231.

Domingues, P. 1999. Development of alternative diets for the mass culture of the European cuttlefish *Sepia officinalis*. PhD Thesis, Universidade do Algarve, Portugal.

Domingues, P., Sykes, A., Andrade, J. P. 2001. The use of *Artemia sp.* or mysids as food source for hatchlings of the cuttlefish (*Sepia officinalis* L.); effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquaculture International* 9(4): 319–331.

Domingues, P. M., Sykes, A., Andrade, J. P. 2002. The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), cultured in the Algarve (South Portugal). *Aquaculture International* 10(3): 207–220.

Domingues, P., Sykes, A., Sommerfield, A., Andrade, J. P. 2003. Effects of feeding live or frozen prey on growth, survival and the life cycle of the cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International* 11(5): 397–410.

Domingues, P., DiMarco, F., Andrade, J., Lee, P. 2005. The effects of diets with amino acid supplementation on the survival, growth and body composition of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 13(5): 423–440.

Domingues, P. M., Bettencourt, V., Guerra, A. 2006. Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. *Vie et Milieu* 56(2): 109–120.

Domingues, P., López, N., Muñoz, J. A., Maldonado, T., Gaxiola, G., Rosas, C. 2007. Effects of an artificial diet on growth and survival of the Yucatan octopus, *Octopus maya*. *Aquaculture Nutrition* 13: 1–9.

Domingues, P., Garcia, S., Garrido, D. 2010. Effects of three culture densities on growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Aquaculture International* 18(2): 165–174.

Dragulescu, A. A. 2013. xlsx: Read, write, format Excel 2007 and Excel 97/2000/XP/2003 files. R package version 0.5.1. URL <http://CRAN.R-project.org/package=xlsx/>.

Estefanell, J., Roo, J., Guirao, R., Afonso, J. M., Fernández–Palacios, H., Izquierdo, M., Socorro, J. 2012. Efficient utilization of dietary lipids in *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) fed fresh and agglutinated moist diets based on aquaculture by–products and low price trash species. *Aquaculture Research* 44(1): 93–105.

Estefanell, J., Socorro, J., Izquierdo, M., Roo, J. 2013. Growth, food intake, protein retention and fatty acid profile in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) fed agglutinated moist diets containing fresh and dry raw materials based on aquaculture by–products. *Aquaculture Research* 45(1): 54–67.

Fahy, E., Subramaniam, S., Brown, H. A., Glass, C. K., Merrill, A. H., Murphy, R. C., Rietz, C. R. H., Russell, D. W., Seyama, Y., Shaw, W., Shimizu, T., Spener, F., Van Meer, G., Van Nieuwenhze, M. S., White, S. H., Witztum, J. L., Dennis, E. A. 2005. A comprehensive classification system for lipids. *Journal of Lipid Research* 46: 839–862.

Farías, A., Navarro, J. C., Cerna, V., Pino, S., Uriarte, I. 2011. Effect of broodstock diet on the fecundity and biochemical composition of eggs of the Patagonian red

octopus (*Enteroctopus megalocyathus* Gould 1852). *Ciencias Marinas* 37(1): 11–21.

Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226(1): 497–509.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition – Report of an expert consultation. Rome, Italy.

Forsythe, J. W., Hanlon, R. T. 1988. Effect of temperature on laboratory growth, reproduction and life span of *Octopus bimaculoides*. *Marine Biology* 98: 369–379.

Forsythe, J. W., Van Heukelem, W. F. 1987. Growth. Pp. 135–156 in *Cephalopod Life Cycles*, Boyle, P.R. Academic Press, London.

Forsythe, J. W., Walsh, L. S., Turk, P. E., Lee, P. G. 2001. Impact of temperature on juvenile growth and age at first egg-laying of the Pacific reef squid *Sepioteuthis lessoniana* reared in captivity. *Marine Biology* 138: 103–112.

Fuentes, L., Sánchez, F. J., Lago, M. J., Iglesias, J., Pazos, G., Linares, F. 2011. Growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae fed on three Artemia-based diets complemented with frozen fish flakes, crushed zooplankton and marine microalgae. *Scientia Marina* 75(4): 771–777.

Gabr, H. R., Hanlon, R. T., El-Etreby, S. G., Hanafy, M. H. 1999. Reproductive versus somatic tissue growth during the life cycle of the cuttlefish *Sepia pharaonis* Ehrenberg, 1831. *Fishery Bulletin* 97: 802–811.

García-Garrido, S., Hachero-Cruzado, I., Garrido, D., Rosas, C., Domingues, P. 2010. Lipid composition of the mantle and digestive gland of *Octopus vulgaris*

juveniles (Cuvier, 1797) exposed to prolonged starvation. *Aquaculture International* 18(6): 1223–1241.

Greenacre, M. 2010. *Biplots in Practice*. BBVA Foundation.

Guerra, A., Castro, B. G. 1994. Reproductive-somatic relationships in *Loligo gahi* (Cephalopoda: Loliginidae) from the Falkland Islands. *Antarctic Science* 6: 175–178.

Gunstone, F. D., Harwood, J. L. and Dijkstra, A. J. 2007. *The Lipid Handbook*. 3rd Edition. CRC Press, Boca Raton.

Hanlon, R. T., Forsythe, J. W. 1985. Advances in the laboratory culture of octopuses for biomedical research. *Laboratory Animal Science* 35: 33–40.

Harman, R. F., Young, R. E., Reid, S. B., Mangold, K. M., Suzuki, T., Nixon, R. F. 1989. Evidence for multiple spawning in the tropical oceanic squid *Stenoteuthis oualaniensis* (Teuthoidea: Ommastrephidae). *Marine Biology* 101: 513–519.

Hernández, A., Solís–Ramírez, M. J., Espinoza–Méndez, J. C., Mena, R., Ramírez–Gil, F. 2001. Pulpo. Pp. 615–630 en *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México: Evaluación y Manejo, 1999–2000*, Instituto Nacional de Pesca.

Ho, J., Moltschanivskyj, N. A., Carter, C. G. 2004. The effect of variability in growth on somatic condition and reproductive status in the southern calamary *Sepioteuthis australis*. *Marine and Freshwater Research* 55: 423–428.

Husson, F., Josse, J., Lê, S., Mazet, J. 2013. *FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining with R*. R package version 1.25. URL <http://CRAN.R-project.org/package=FactoMineR/>.

Ibáñez, C. M., Chong, J. 2008. Feeding ecology of *Enteroctopus megalocyathus* (Gould 1852) (Cephalopoda: Octopodidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 88: 793–798.

Ibáñez, C. M., Keyl, F. 2010. Cannibalism in cephalopods. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20: 123–136.

Iglesias, J., Sánchez, F. J., Otero, J. J. 1997. Primeras experiencias sobre el cultivo integral del pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier) en el Instituto Español de Oceanografía. Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura. Cartagena, España. 9–11 Julio.

Iglesias, J., Sánchez, F. J., Otero, J. J., Moxica, C. 2000. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier): present knowledge, problems and perspectives. Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification. *Cahiers Options Méditerranéennes* 47: 313–322.

Iglesias, J., Sánchez, F. J., Bersano, J. G. F., Carrasco, J. F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, L., Muñoz, J. L., Okumura, S., Roo, J., Van der Meeren, T., Vidal, E. A. G., Villanueva, R. 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266(1–4): 1–15.

Integrated Taxonomic Information System. 2014. ITIS Standard Report Page: *Octopus maya* Voss and Solis Ramirez, 1966. Taxonomic Serial No.: 82632. URL http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=82632

IUPAC–IUB Commission on Biochemical Nomenclature. 1978. The nomenclature of lipids (Recommendations 1976). *Biochemical Journal* 171: 21–35.

Jackson, G. D., O'Dor, R. K. 2001. Time, space and the ecophysiology of squid growth, life in the fast lane. *Vie Milieu* 51: 205–215.

Jackson, G. D., Semmens, J. M., Phillips, K. L., Jackson, C. H. 2004. Reproduction in the deepwater squid *Moroteuthis ingens*: What does it cost? *Marine Biology* 145: 905–616.

Jereb, P., Roper, C. F. E., Norman, M. D., Finn, J. K. 2014. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 3. Octopods and Vampire Squids. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.

Jiménez, A., Murillo, A., Piza, E., Villalobos, M., Trejos, J. 2010. Reducción de la Dimensionalidad en Análisis de Datos. Análisis de Componentes Principales. Centro de Investigación en Matemáticas (CIMAT).

Jobling, M., Jørgensen, E. H., Arnesen, A. M., Ringø, E. 1993. Feeding, growth and environmental requirements of Arctic charr: a review of aquaculture potential. *Aquaculture International* 1: 20–46.

Koueta, N., Boucaud–Camou, E., Noel, B. 2002. Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture* 203: 293–310.

Lee, P. G. 1994. Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 25: 35–51.

Lee, P. G., Forsythe, J. W., DiMarco, F. P., DeRusha, R. H., Hanlon, R. T. 1991. Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bulletin of Marine Science* 49(1–2): 362–372.

Leporati, S. C., Pecl, G. T., Semmens, J. M. 2007. Cephalopod hatchling growth: the effects of initial size and seasonal temperatures. *Marine Biology* 151: 1375–1383.

Leporati, S. C., Semmens, J. M., Pecl, G. T. 2008. Determining the age and growth of wild octopus using stylet increment analysis. *Marine Ecology Progress Series* 367: 213–222.

Martínez, R., Gallardo, P., Pascual, C., Navarro, J., Sánchez, A., Caamal-Monsreal, C., Rosas, C. 2014. Growth, survival and physiological condition of *Octopus maya* when fed a successful formulated diet. *Aquaculture* 426–427: 310–317.

McGrath, B. L., Jackson, G. D. 2002. Egg production in the arrow squid *Nototodarus gouldii* (Cephalopoda: Ommastrephidae), fast and furious or slow and steady? *Marine Biology* 141: 699–706.

Miliou, H., Fintikaki, M., Kountouris, T., Tzitzinakis, M., Verriopoulos, G. 2007. Nucleic acids and fatty acids of the common octopus, *Octopus vulgaris*, in relation to the growth rate. *Aquaculture Research* 38(16): 1693–1701.

Moltschaniwskyj, N. A. 1994. Muscle tissue growth and muscle fibre dynamics in the tropical loliginid squid *Photololigo sp.* (Cephalopoda: Loliginidae). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51: 830–835.

Moltschaniwskyj, N. A. 2004. Understanding the process of growth in cephalopods. *Marine and Freshwater Research* 55: 379–386.

Moltschaniwskyj, N. A., Semmens, J. M. 2000. Limited use of stored energy reserves for reproduction by the tropical loliginid squid *Photololigo sp.* *Journal of Zoology* 251: 307–313.

Moltschaniwskyj, N. A., Johnston, D. 2006. Evidence that lipid can be digested by the dumpling squid *Euprymna tasmanica*, but is not stored in the digestive gland. *Marine Biology* 149(3): 565–572.

Monroig, Ó., Guinot, D., Hontoria, F., Tocher, D. R., Navarro, J. C. 2012. Biosynthesis of essential fatty acids in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797): Molecular cloning, functional characterisation and tissue distribution of a fatty acyl elongase. *Aquaculture* 360–361: 45–53.

Navarro, J. C., Villanueva, R. 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: An approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183: 161–177.

Navarro, J. C., Villanueva, R. 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219: 613–631.

O'Dor, R. K., Wells, M. J. 1978. Reproduction versus somatic growth: hormonal control in *Octopus vulgaris*. *Journal of Experimental Biology* 77: 15–31.

O'Dor, R. K., Mangold, K., Wells, M., Wells, J., Boucher–Rodoni, R. 1984. Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology* 11: 239–258.

O'Dor, R. K., Webber, D. M. 1986. The constraints on cephalopods: Why squid aren't fish. *Canadian Journal of Zoology* 64: 1591–1605.

Pauly, D. 1998. Why squid, though not fish, may be better understood by pretending they are. *South African Journal of Marine Science* 20: 47–58.

Pinczon du Sel, G., Blanc, A., Daguzan, J. 2000. The diet of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda) during its life cycle in the Northern Bay of Biscay (France). *Aquatic Sciences* 62(2): 167–178.

Pla, L. E. 1986. *Análisis Multivariado: Método de Componentes Principales*. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos (OEA). Washington, D. C.

Prato, E., Portacci, G., Biandolino, F. 2010. Effect of diet on growth performance, feed efficiency and nutritional composition of *Octopus vulgaris*. *Aquaculture* 309: 203–211.

Quetglas, A., Ordines, F., Valls, M. 2011. What drives seasonal fluctuations of body condition in a semelparous income breeder octopus? *Acta Oecologica* 37: 476–483.

Quintana, D., Domingues, P., García, S. 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280: 161–164.

R Core Team. 2012. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

Rodhouse, P. G., Hatfield, E. M. C. 1990. Dynamics of growth and maturation in the cephalopod *Illex argentinus* de Castelanos, 1960 (Teuthoidea: Ommastrephidae). *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 329: 229–241.

Rosa, R., Costa, P. R., Nunes, M. L. 2004. Effect of sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca: Cephalopoda). *Marine Biology* 145: 563–574.

Rosa, R., Costa, P. R., Bandarra, N., Nunes, M. L. 2005. Changes in Tissue Biochemical Composition and Energy Reserves Associated With Sexual Maturation in the Ommastrephid Squids *Illex coindetii* and *Todaropsis eblanae*. *Biological Bulletin* 208: 100–113.

Rosas, C., Cuzon, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Chay, D., López, N., Maldonado, T., Domingues, P. 2007. Energy balance of *Octopus maya* fed crab or an artificial diet. *Marine Biology* 152(2): 371–378.

Rosas, C., Tut, J., Baeza, J., Sánchez, A., Sosa, V., Pascual, C., Arena, L., Domingues, P., Cuzon, G. 2008. Effect of type of binder on growth, digestibility, and energetic balance of *Octopus maya*. *Aquaculture* 275(1–4): 291–297.

Rosas, C., Gallardo, P., Mascaró, M., Caamal–Monsreal, C., Pascual, C. 2014. *Octopus maya*. Pp. 383–396 in *Cephalopod Culture*, Iglesias, J., Fuentes, L., Villanueva, R. Springer.

Rowlerson, A., Mascarello, F., Radaelli, G., Veggetti, A. 1995. Differentiation and growth of muscle in the fish *Sparus aurata* (L): II. Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle from hatchling to adult. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 16: 223–236.

Ryg, M., Smith, T. G., Oritsland, N. A. 1990. Seasonal changes in body mass and body composition of ringed seals (*Phoca hispida*) on Svalbard. *Canadian Journal of Zoology* 68: 470–475.

SAGARPA. 2002. Anuario Estadístico de Pesca. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Gobierno Federal, México.

Segawa, S., Hanlon, R. T. 1988. Oxygen consumption and ammonia excretion rates in *Octopus maya*, *Loligo forbesi* and *Lolliguncula brevis* (Mollusca: Cephalopoda). *Marine Behavior and Physiology* 13: 389–400.

Segawa, S., Nomoto, A. 2002. Laboratory growth, feeding, oxygen consumption and ammonia excretion of *Octopus ocellatus*. *Bulletin of Marine Science* 71: 801–813.

Seibel, B. A., Hochberg, F. G., Carlini, D. B. 2000. Life history of *Gonatus onyx* (Cephalopoda: Teuthoidea): deep-sea spawning and post-spawning egg care. *Marine Biology* 137: 519–526.

Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, L. M. P., Otero, A. 2010. High DHA content in *Artemia* is ineffective to improve *Octopus vulgaris* paralarvae rearing. *Aquaculture* 300: 156–162.

Semmens, J. M., Pecl, G. T., Villanueva, R., Jouffre, D., Sobrino, I., Wood, J.B., Rigbi, P. R. 2004. Understanding octopus growth: Patterns, variability and physiology. *Marine and Freshwater Research* 55: 367–377.

Semmens, J., Doubleday, Z., Hoyle, K., Pecl, G. 2011. A multilevel approach to examining cephalopod growth using *Octopus pallidus* as a model. *Journal of Experimental Biology* 214: 2799–2807.

Sieiro, M. P., Aubourg, S. P., Rocha, F. 2006. Seasonal study of the lipid composition in different tissues of the common octopus (*Octopus vulgaris*). *European Journal of Lipid Science and Technology* 108(6): 479–487.

Solís–Ramírez, M. J., Arreguín–Sánchez, F., Seijo, J. C. 1997. Pesquería de pulpo de la plataforma continental de Yucatán. Pp. 61–80 en Análisis y Diagnóstico de los Recursos Pesqueros Críticos del Golfo de México, Flores–Hernández, D., Sánchez–Gil, P., Seijo, J. C., Arreguín–Sánchez, F. Universidad Autónoma de Campeche, EPOMEX Serie Científica 7. México.

Solorzano, Y., Viana, M. T., López, L. M., Correa, J. G., True, C. C., Rosas, C. 2009. Response of newly hatched *Octopus bimaculoides* fed enriched *Artemia salina*: Growth performance, ontogeny of the digestive enzyme and tissue amino acid content. *Aquaculture* 289(1–2): 84–90.

Sykes, A. V. A. F. 2007. Hatchery technologies and nutritional contents of cuttlefish (*Sepia officinalis*) spawners, eggs, hatchlings and live prey associated. PhD Thesis, Universidade do Algarve, Portugal.

Storey, K. B., Storey, J. M. 1983. Carbohydrate metabolism in cephalopod molluscs. Pp. 91–136 in *The Mollusca*. Vol. I. Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics, Hochachka, P. W. Academic Press.

United States Environmental Protection Agency. 2001. Toxicological Review of Chloroform. Washington, DC.

Van Heukelem, W. F. 1976. Growth, bioenergetics and life-span of *Octopus cyanea* and *Octopus maya*. PhD Thesis, University of Hawaii, Honolulu.

Van Heukelem, W. F. 1977. Laboratory maintenance, breeding, rearing and biomedical research potential of the Yucatan octopus (*Octopus maya*). *Laboratory Animal Science* 27: 852–859.

Van Heukelem, W. F. 1983. *Octopus maya*. Pp. 311–323 in *Cephalopod life cycles*. Academic Press, London.

Vaz–Pires, P., Seixas, P., Barbosa, A. 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238: 221–238.

Villanueva, R. 2000. Effect of temperature on statolith growth of the European squid *Loligo vulgaris* during early life. *Marine Biology* 136: 449–460.

Villanueva, R., Koueta, N., Riba, J., Boucaud–Camou, E. 2002. Growth and proteolytic activity of *Octopus vulgaris* paralarvae with different food rations during first feeding, using *Artemia* nauplii and compound diets. *Aquaculture* 205: 269–286.

Villanueva, R., Riba, J., Ruíz–Capillas, C., González, A. V., Baeta, M. 2004. Amino acid composition of early stages of cephalopods and effects of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture* 242: 455–478.

Villegas–Bárcenas, G. 2013. CULTIVO EXPERIMENTAL DE JUVENILES TEMPRANOS DE *Octopus maya* MEDIANTE EL USO DE DIETAS PRÁCTICAS: UNA APROXIMACIÓN A LOS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LA ESPECIE. Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

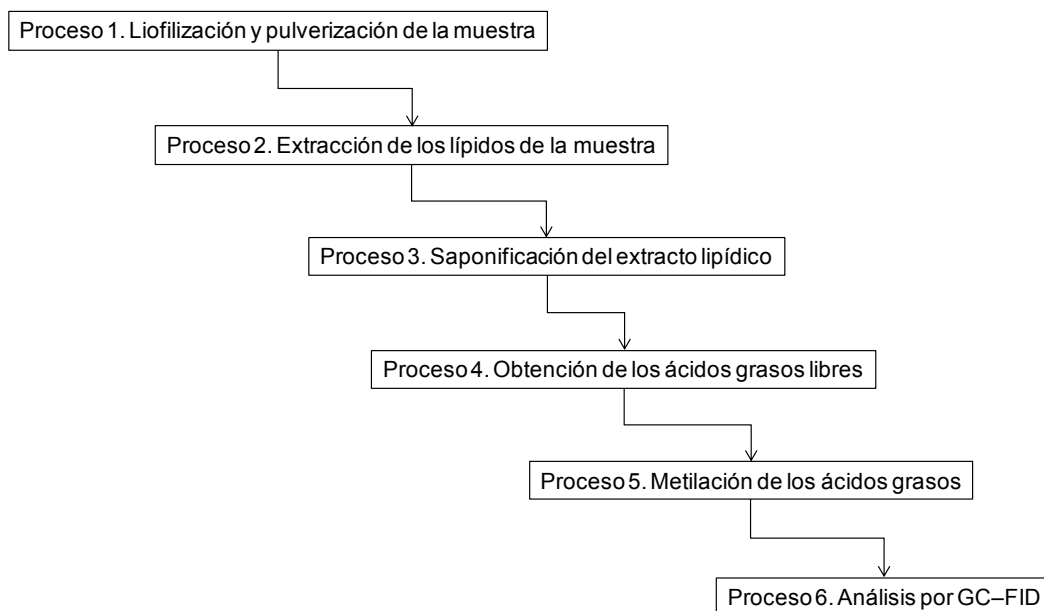
Voss, G. L., Solís–Ramírez, M. 1966. Octopus Maya, a New Species from the Bay of Campeche, Mexico. *Bulletin of Marine Science* 16(3): 615–625.

Weatherley, A. H. 1990. Approaches to understanding fish growth. *Transactions of the American Fisheries Society* 119: 662–672.

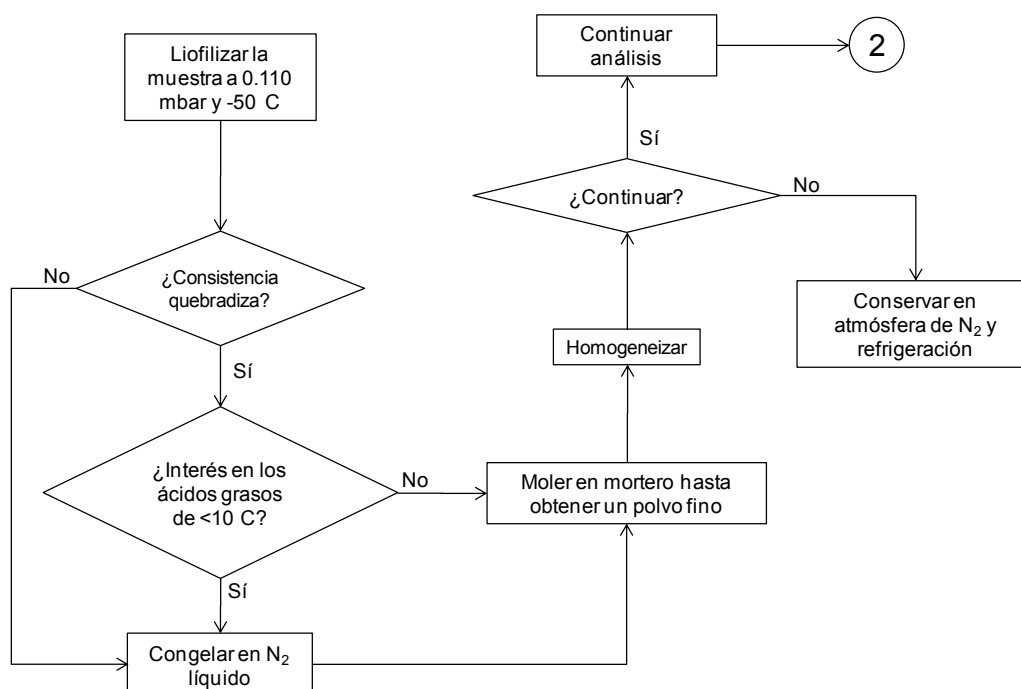
Zar, J. H. 2010. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J., USA.

5 ANEXO: PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

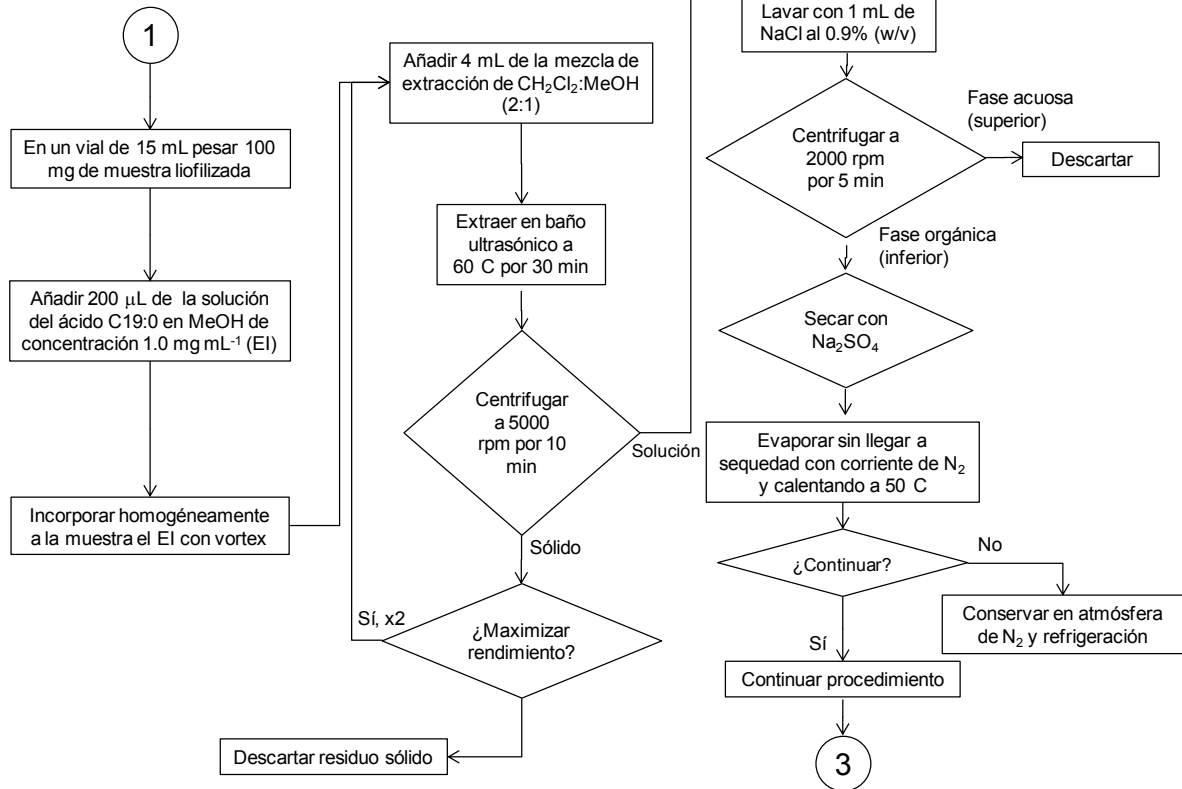
Análisis de ácidos grasos: Procedimiento cloroformo–metanol de Folch *et al.* (1957) y cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC–FID)



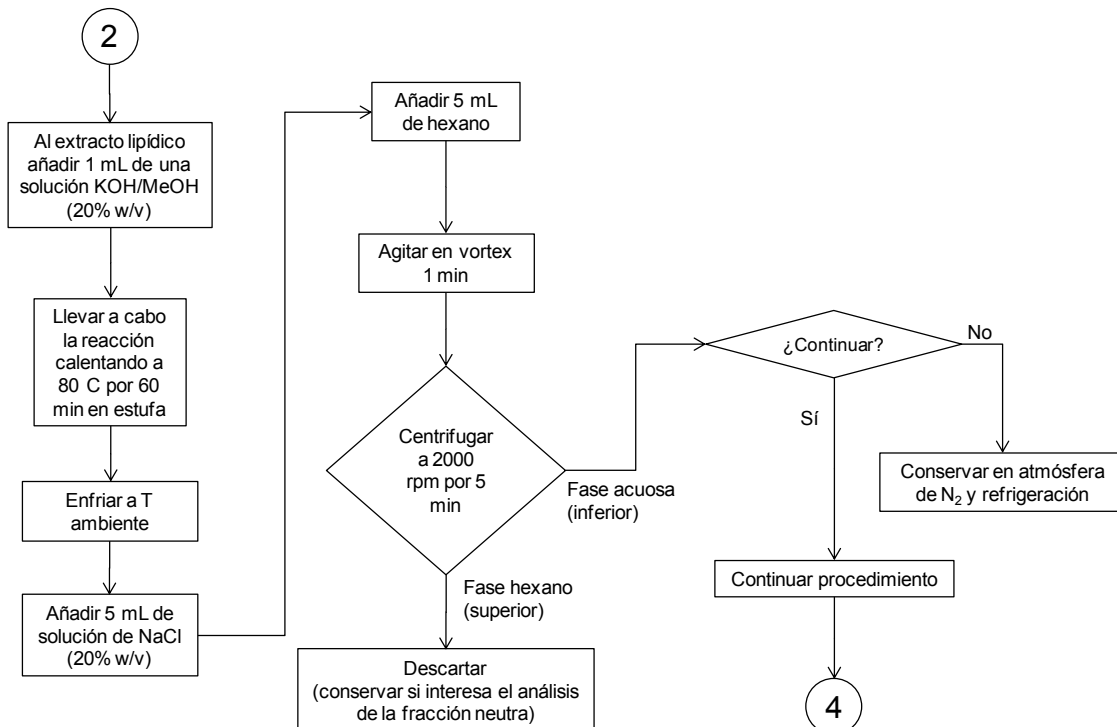
Proceso 1. Liofilización y pulverización de la muestra



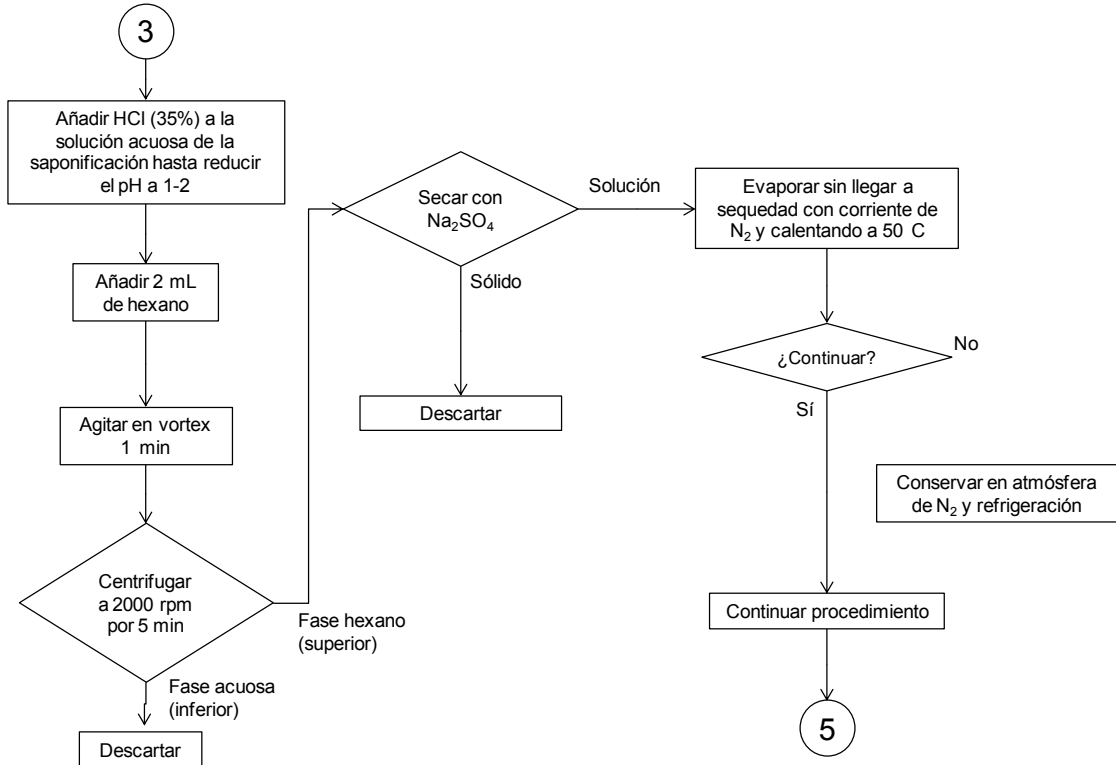
Proceso 2. Extracción de los lípidos de la muestra



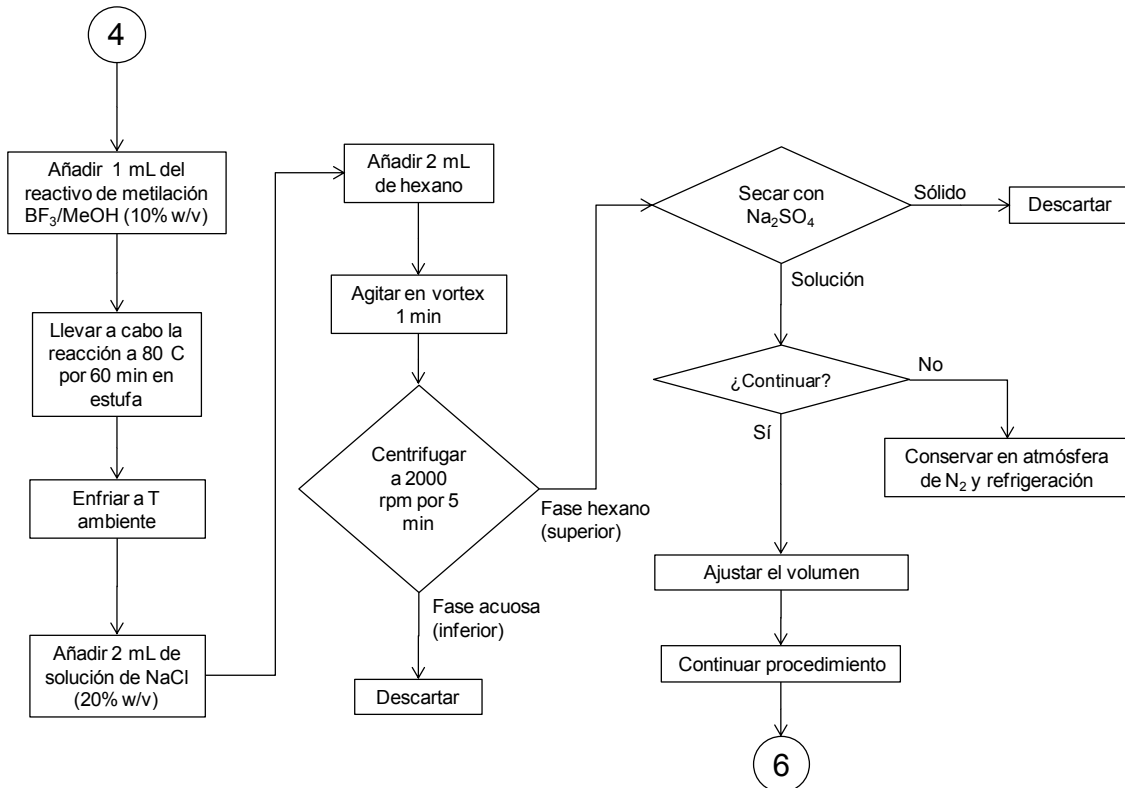
Proceso 3. Saponificación del extracto lipídico



Proceso 4. Obtención de los ácidos grasos libres



Proceso 5. Metilación de los ácidos grasos



Proceso 6. Análisis por GC-FID

