



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**CONDICIÓN NUTRICIONAL DE ESTADIOS DE VIDA TEMPRANOS DE  
LA LANGOSTA DEL CARIBE *Panulirus argus* (LATREILLE, 1804)**

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:  
**M. C. ALÍ FRANCISCO ESPINOSA MAGAÑA**

DIRECTORA DE TESIS  
**DRA. PATRICIA DOLORES BRIONES FOURZÁN**  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
UNIDAD ACADÉMICA DE SISTEMAS ARRECIFALES, PUERTO MORELOS

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL  
**DRA. MAITE MASCARÓ MIQUELAJÁUREGUI**  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
UNIDAD ACADÉMICA SISAL, YUCATÁN

**DRA. JUDITH SÁNCHEZ RODRÍGUEZ**  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
UNIDAD ACADÉMICA DE SISTEMAS ARRECIFALES, PUERTO MORELOS

**DRA. CRISTINA PASCUAL JIMÉNEZ**  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
UNIDAD ACADÉMICA SISAL, YUCATÁN

**DRA. SILVIA GÓMEZ JIMÉNEZ**  
LABORATORIO DE FISIOLOGÍA DE INVERTEBRADOS MARINOS  
CIAD HERMOSILLO, SONORA

PUERTO MORELOS, QUINTANA ROO, ENERO DE 2017.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología



Universidad Nacional Autónoma de México

**Condición nutricional de estadios de vida tempranos de la langosta del Caribe *Panulirus argus* (Latreille, 1804)**

**T E S I S**

que para obtener el grado académico de

Doctor en Ciencias  
(Biología Marina)

p r e s e n t a

M. C. Alí Francisco Espinosa Magaña

Directora de Tesis: Dra. Patricia Dolores Briones Fourzán

Comité tutorial: Dra. Maite Mascaró Miquelajáuregui  
Dra. Judith Sánchez Rodríguez  
Dra. Cristina Pascual Jiménez  
Dra. Silvia Gómez Jiménez

Puerto Morelos, Quintana Roo, Enero de 2017.

**DEDICATORIA**

A mi familia, que siempre están para mí, y siempre estaré para ellos.

A Hazel, mi compañera en estos años de formación académica y personal, y los que faltan.

A Paty, por su paciencia y apoyo mucho más allá de sus obligaciones.

## AGRADECIMIENTOS

A Ata, Mamá, Papá. Por el apoyo, el cariño, los consejos. Por la confianza que me tuvieron cuando decidí dejar todo y estudiar un posgrado. Este trabajo no existiría si no fuera por ustedes.

A Hazel, por compartir conmigo estos últimos años. Por disfrutar conmigo los buenos momentos y apoyarme en los malos. Por llenar la casa de alegría y de mascotas, mi familia puertomorelense.

A Paty. Por exceder con mucho sus obligaciones como asesora. Por las largas pláticas académicas que derivaban en literarias o musicales, o simplemente en comadreo. Por darme mis zapes cuando la estaba regando.

A Fernando Negrete Soto y Cecilia Barradas Ortiz, por su invaluable colaboración en la realización de este trabajo, su admirable constancia y dedicación, y las ganas de siempre enseñar y aprender.

A Enrique Lozano, que aunque por motivos administrativos no pudo ser parte de mi comité tutorial, contribuyó significativamente en la planeación y el desarrollo de los proyectos involucrados en el presente trabajo.

A la Dra. Judith Sánchez y la Dra. Cristina Pascual por permitirme utilizar sus instalaciones para los ensayos de bioquímica. A la Dra. Maite Mascaró, por el valioso aporte a los análisis estadísticos. A la Dra. Silvia Jiménez, y al resto del comité, por sus interesantes contribuciones y correcciones. Gran parte de este trabajo también es suyo.

A Andrew Jeffs, por brindar un espacio para aprender y aplicar técnicas bioquímicas. Todos los resultados reportados de sustancias de reserva fueron generados en su laboratorio o en colaboración con él.

Al Servicio Académico de Meteorología y Oceanografía, M. C. Francisco Gerardo Ruiz Rentería, M. C. José Edgar Escalante Mancera y M. I. Miguel Ángel Gómez Reali, por el apoyo en cuestiones técnicas e informáticas.

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología (PCML) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por todos los años que me han brindado la oportunidad de formarme, además del financiamiento para asistir a cursos, congresos y estancias. Al personal del Posgrado: Gloria Vilaclara, Cecilia Vanegas, Diana Juárez, Lupita Godoy, Chantal Ruiz y Gabriela Almaraz. Gracias por apoyarme y aguantarme desde la maestría.

Al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca doctoral y el apoyo económico para la estancia de investigación (No. de CVU: 335885).

Al personal académico y administrativo de la Unidad Académica de Sistemas Arrecifales (UASA), Puerto Morelos.

A mis compañeros (y amigos) de laboratorio de crustáceos: Rebeca Candia, Juan Pablo Huchín, Rogelio Martínez, Rubén Muñoz de Cote, Leslie Cid y Charlotte Davies. Además de la compañía, todos me ayudaron de alguna manera en mis experimentos.

A las personas que hicieron más feliz mi tiempo en Puerto Morelos: Migue, Pecas, Castor, Araceli, Mac, Vero, Blanquita, Esme, Nadine, Alba, Pepe, Serguei... Si omito a alguien, es culpa de mi limitada memoria.

El muestreo de organismos oceánicos se realizó durante las campañas Metamorfosis 1 y Metamorfosis 2 en los años de 2012 y 2013 a bordo del B/O Justo Sierra. El financiamiento para el tiempo de barco para la realización de esta campaña fue cubierto por la Universidad Nacional Autónoma de México y el proyecto CONACYT 101200.

## RESUMEN

La langosta espinosa del Caribe, *Panulirus argus*, presenta una amplia distribución geográfica en la región del Gran Caribe. Esta especie es uno de los recursos pesqueros más importantes en el Atlántico Centro-Occidental, y representa más del 50% de la captura mundial de langostas espinosas. La fase larvaria planctónica de *P. argus* se desarrolla en aguas oceánicas y dura entre 5 y 9 meses, durante los cuales atraviesa 10 estadios antes de llevar a cabo la metamorfosis a puerulo nectónico. El puerulo nada activamente desde el océano abierto hasta los hábitats costeros de asentamiento, donde comienza a pigmentarse en preparación a la muda al primer estadio juvenil (JI). A diferencia de las filosomas, que son planctotróficas, una característica muy importante de los puerulos es que no se alimentan, es decir, representan una fase lecitotrófica secundaria - que depende de sus propias reservas energéticas - en el ciclo de vida de estas langostas.

La condición nutricional de *P. argus* durante la transición del último estadio de filosoma (FX) al JI está fuertemente determinada por la historia larvaria hasta antes de la metamorfosis a puerulo, y por el intenso desgaste energético que le implica el nado activo a los hábitats costeros de asentamiento y la preparación para la muda a JI. La historia de vida larvaria de cada individuo determinará la posibilidad de los puerulos de llegar a la zona de asentamiento, condicionada a factores como la cantidad de sustancias de reserva que lograron acumular antes de la metamorfosis, los mecanismos de orientación hacia los hábitats costeros, la distancia a la costa donde llevaron a cabo la metamorfosis y las condiciones hidrográficas locales.

En el presente trabajo se estudió la condición nutricional de los estadios de vida tempranos de *P. argus* a través de índices bioquímicos (Lípidos totales, clases de lípidos y proteínas) y un índice morfométrico (Factor de condición (FC): peso total / longitud del

cefalotórax). En el segundo capítulo se estudió la variabilidad espacio-temporal en la condición nutricional de los puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos bénticos pigmentados (PP), y JIs de *P. argus* recolectados en dos diferentes localidades costeras de Quintana Roo a lo largo de tres ciclos anuales. La cantidad de lípidos totales y de fosfolípidos, que fue la clase lipídica predominante en todos los estadios, no presentó diferencias significativas entre PT y PP, aunque disminuyó significativamente de PP a JI. Las proteínas presentaron un patrón similar. La variabilidad en el FC no pareció corresponder con la de los índices bioquímicos, lo que sugiere que el FC no es un indicador confiable de estas sustancias de reserva en los primeros estadios bénticos de *P. argus*. En general, se encontraron grandes variaciones estacionales, interanuales, y espaciales en la condición nutricional de *P. argus*.

En el tercer capítulo se compararon los índices nutricionales bioquímicos de los últimos estadios pelágicos (filosomas tardías (FX) y puerulos nectónicos (PN)) y los primeros estadios bénticos (PT, PP y JI) de *P. argus*, y se realizó un análisis comparativo de índices bioquímicos y morfométricos de PN capturados en un gradiente de distancias a la costa de Quintana Roo. Se encontró una disminución gradual en la cantidad de lípidos totales durante la transición de FX a JI. Además, también se encontró un patrón similar de disminución en los fosfolípidos, la clase lipídica que constituyó la mayor parte de los lípidos totales en estos estadios. Se observó también una disminución significativa en la cantidad de proteínas en la transición entre las fases de puerulo a JI. No se encontró una relación entre la distancia a la costa en que fueron capturados los PN y las diferentes variables analizadas (porcentaje de lípidos totales, peso de lípidos totales, peso seco de los organismos y Factor de Condición), por lo cual no fue posible realizar un cálculo del gasto energético de la natación.

Debido a que los puerulos consumen gran parte de sus reservas energéticas durante el nado activo a la costa y en preparación para la muda post-asentamiento, la supervivencia de los JI probablemente depende de que reanuden la alimentación tan pronto como sea posible. En el cuarto capítulo se evaluó la tolerancia a inanición de los JIs de *P. argus*, mediante la medición de su punto de no-retorno (PNR, tiempo mínimo de inanición inicial que impide la recuperación después de la alimentación posterior) y el punto de saturación de reservas (PSR, tiempo mínimo de alimentación inicial que permite un desarrollo independiente de los alimentos durante el resto del ciclo de muda), ambos en una estación fría y una estación cálida. Se planteó la hipótesis de que si la tolerancia a inanición de los JI de *P. argus* está inversamente relacionada con la temperatura, el punto de no-retorno sería más corto y el punto de saturación de reservas sería más largo en la temporada cálida que en la temporada fría. Se encontró que ningún JI logró mudar en completa ausencia de alimento. La mediana del punto de no-retorno (PNR<sub>50</sub>) fue más larga en la temporada cálida que en la fría. En los experimentos de PSR, los JI que lograron mudar lo hicieron cerca del final del período de alimentación. La mediana del punto de saturación de reservas (PRS<sub>50</sub>) no difirió entre las temporadas fría y cálida. Los JI de *P. argus* muestran una notable tolerancia a inanición, teniendo en cuenta que el estadio lecitotrófico prolongado de puerulo, durante el cual realizan un viaje desde aguas oceánicas hasta aguas costeras, puede durar hasta 3 semanas. Sin embargo, los JI parecen tener un grado relativamente mayor de dependencia a alimentos para completar el desarrollo a JII durante la temporada fría que durante la cálida. Por lo tanto, los JI de *P. argus* parecen ser más tolerantes a inanición durante la temporada cálida.

Debido a la fuerte explotación de las poblaciones de *P. argus*, su cultivo podría ser una solución a la demanda a mediano y largo plazo. La determinación de la condición

nutricional y la tolerancia a inanición de estadios de vida tempranos de *P. argus*, además de brindar información importante para entender los procesos que regulan la abundancia natural de estas fases ontogenéticas, también pueden tener utilidad para el manejo más eficiente de estos organismos en condiciones de cultivo, aportando información que pueda conducir al establecimiento de protocolos para acuicultura.

## ABSTRACT

The Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*, has a broad geographic distribution across the wider Caribbean region. This species is one of the most important fishery resources in the western-central Atlantic and represents more than 50% of the world catch of spiny lobsters. The planktonic larval phase of *P. argus* develops in oceanic waters and lasts for 5-9 months, during which it goes through 10 phyllosoma stages before metamorphosing into the nektonic puerulus. The non-feeding puerulus of spiny lobsters actively swims from the open ocean to the coastal habitats where it settles, pigments and molts to the first-stage juvenile (JI). Unlike phyllosomata, which are planktotrophic, a very important feature of pueruli is that they do not feed, that is, they represent a secondary lecithotrophic phase - depending on their own energy reserves - in the life cycle of these lobsters.

The nutritional condition of *P. argus* during the transition from the last phyllosoma stage (FX) to the JI is strongly determined by the larval history before the metamorphosis to puerulus, and by the intense energetic depletion involved in actively swimming to coastal settlement habitats and preparing to the post-settlement molt. The larval life history of each individual will determine the possibility of the puerulus to arrive at the settlement zone, conditioned to factors such as the amount of reserve substances that they accumulated before the metamorphosis, the mechanisms of orientation towards the coastal habitats, the distance to the coast where the metamorphosis took place and the local hydrographic conditions.

In the present study, nutritional condition of early life stages of *P. argus* was studied through biochemical indices (total lipids, lipid classes and proteins) and a morphometric index (Condition Factor (CF): total weight / length of cephalothorax). In the second chapter

we studied the spatio-temporal variability in the nutritional condition of the transparent benthic pueruli (TP), pigmented benthic pueruli (PP), and JIs of *P. argus* collected in two different coastal locations of Quintana Roo during three annual cycles. The amount of total lipids and phospholipids, which was the predominant lipid class in all stages, did not differ significantly between TP and PP, but decreased significantly from PP to JI. Total proteins showed a similar pattern. The variability in CF did not seem to correspond to that of biochemical indices, suggesting that CF is not a reliable indicator of these reserve substances in the early benthic stages of *P. argus*. In general, large seasonal, interannual and spatial variations were found in the nutritional condition of *P. argus*.

In the third chapter, the biochemical nutritional indices of late pelagic stages (last stage phyllosoma (FX) and nectonic pueruli (NP)), and the early benthic stages (TP, PP and JI) of *P. argus* were compared, and the biochemical and morphometric indices of NPs captured in a distance gradient to the coast of Quintana Roo were analyzed. A gradual decrease in the amount of total lipids was found during the transition from FX to JI. A similar pattern during this transition was also found in phospholipids, the lipid class that constituted most of the total lipids in these stages. A significant decrease in the amount of protein in the transition between pueruli phases to JI was also observed. There was no apparent relationship between the distance to the coast at which the NPs were captured and the different variables analyzed (percentage of total lipids, total lipids weight, dry weight and Condition Factor), thus, it was not possible to calculate the energy consumption of the oceanic-benthic transition.

Because pueruli consume much of their energy reserves swimming and preparing for the post-settlement molt, the survival of JIs presumably depends on resuming feeding as soon as possible. The resistance to starvation of JIs of the *P. argus* was evaluated in the

fourth chapter by measuring their point-of-no-return (PNR, minimum time of initial starvation preventing recovery after later feeding) and point-of-reserve-saturation (PRS, minimum time of initial feeding allowing for food-independent development through the rest of the molting cycle) in a warm and a cold season. The hypothesis was that if tolerance to starvation of JIs of *P. argus* is inversely related to temperature, the point-of-no-return would be shorter and the point-of-reserve-saturation would be longer in warm season than in cold season.

No JIs molted under continuous absence of food. The median point-of-no-return (PNR<sub>50</sub>) was longer in the warm season than in the cold season. In PRS experiments, JIs that molted did so near the end of the feeding period. The median point-of-reserve-saturation (PRS<sub>50</sub>) did not differ between the cold and warm seasons. JIs of *P. argus* exhibit a remarkable resistance to starvation considering that the previous non-feeding, energy-demanding puerulus phase lasts for ~3 weeks. However, JIs appear to have a relatively higher degree of dependence on food to complete development to JII during the cold season than during the warm season. Therefore, JIs of *P. argus* would appear to be more resistant to starvation during the warm season.

Due to the heavy exploitation of *P. argus* populations, their culture could represent a solution to the medium and long-term demand. The determination of nutritional condition and tolerance to starvation of early life stages of *P. argus*, besides providing important information of the processes that regulate the natural abundance of these ontogenetic phases, may also be useful for a more efficient management of these organisms in culture conditions, providing information that may lead to the establishment of aquaculture protocols.

## ÍNDICE

CAPÍTULO 1: Introducción general .....	18
<i>Panulirus argus</i> .....	23
Estructura de la tesis .....	27
OBJETIVOS .....	28
HIPÓTESIS .....	29
CAPÍTULO 2: Variación espacio-temporal en la condición nutricional de puerulos béticos transparentes (PT), puerulos béticos pigmentados (PP), y juveniles I (JI)	
2.1 – Introducción .....	30
2.2 - Materiales y métodos .....	32
Muestreo de puerulos béticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI) .....	32
Determinación de índices nutricionales .....	33
Análisis de datos .....	35
2.3 – Resultados .....	36
Lípidos totales .....	36
Clases de lípidos .....	38
Proteínas .....	41
Factor de Condición .....	43
2.4 – Discusión .....	45

Capítulo 3: Comparación de índices nutricionales bioquímicos entre filosomas de último estadio (FX), puerulos nectónicos (PN), puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos bénticos pigmentados (PP) y primer estadio juvenil (JI)

3.1 – Introducción .....	52
3.2 - Materiales y métodos .....	54
Muestreo de FX y PN .....	54
Determinación de índices nutricionales .....	56
Análisis de datos .....	56
3.3 – Resultados .....	58
Muestreo de FX y PN .....	58
Lípidos totales .....	59
Clases de lípidos .....	60
Proteínas .....	65
Índices bioquímicos y morfométricos de PN en función de la distancia a la costa .....	66
3.4 – Discusión .....	69

CAPÍTULO 4: Variación estacional de la vulnerabilidad nutricional del primer estadio juvenil de *Panulirus argus*

4.1 – Introducción .....	76
4.2 - Materiales y Métodos .....	78
4.3 – Resultados .....	83
Punto de no-retorno (PNR <sub>50</sub> ) .....	83

Punto de saturación de reservas (PSR <sub>50</sub> ) .....	85	
4.4 – Discusión .....	87	
CAPÍTULO 5: Discusión general		
5.1 – Variación ontogenética y espacio-temporal de estadios de vida tempranos de <i>Panulirus argus</i> .....	93	
5.2 – Tolerancia a inanición del primer estadio juvenil de <i>Panulirus argus</i> .....	96	
BIBLIOGRAFÍA .....	101	
ANEXO 1: Estudios referentes a condición nutricional en primeras fases ontogenéticas de langostas espinosas .....		123
ANEXO 2: Extracción de lípidos totales de estadios ontogenéticos tempranos de langostas espinosas .....		125
ANEXO 3: Análisis de proteínas de estadios ontogenéticos tempranos de langostas espinosas .....		127
ANEXO 4: Determinación de clases de lípidos de estadios ontogenéticos tempranos de langostas espinosas .....		130

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig. 1</b> – Estadios de vida tempranos de langostas espinosas .....	20
<b>Fig. 2</b> – Variación espacio-temporal en el porcentaje de lípidos totales en estadios bénticos tempranos de <i>Panulirus argus</i> .....	37
<b>Fig. 3</b> – Variación espacio-temporal en el porcentaje de fosfolípidos en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	41
<b>Fig. 4</b> – Variación espacio-temporal en el porcentaje de proteínas en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	43
<b>Fig. 5</b> – Variación espacio-temporal en el factor de condición en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	45
<b>Fig. 6</b> - Estaciones de muestreo en las campañas oceanográficas Metamorfosis 1 y Metamorfosis 2 .....	58
<b>Fig. 7</b> – Porcentaje de lípidos totales en estadios oceánicos y bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	60
<b>Fig. 8</b> – Porcentajes de las clases de lípidos en relación a los lípidos totales en estadios oceánicos y bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	62
<b>Fig. 9</b> – Porcentajes de las clases de lípidos en relación al peso total en estadios oceánicos y bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	64
<b>Fig. 10</b> – Porcentaje de proteínas en estadios oceánicos y bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	66
<b>Fig. 11</b> – Relación entre el porcentaje de lípidos totales de puerulos nectónicos capturados en las campañas y la distancia a la costa en que fueron colectados .....	67

<b>Fig. 12</b> – Cantidad de lípidos totales y peso seco de los puerulos nectónicos capturados en las campañas en relación a la distancia a la costa en que fueron colectados .....	68
<b>Fig. 13</b> – Factor de Condición de los puerulos nectónicos capturados en las campañas en relación a la distancia a la costa en que fueron colectados .....	69
<b>Fig. 14</b> – Diseño experimental para obtener el punto de no-retorno y el punto de saturación de reservas .....	81
<b>Fig. 15</b> – Periodo intermuda entre estadios JI y JII de <i>P. argus</i> en los experimentos para determinar el punto de no-retorno .....	84
<b>Fig. 16</b> – Curva sigmoideal de dosis-respuesta ajustada a los porcentajes de mortalidad de los JI de <i>P. argus</i> para determinar el punto de no-retorno .....	85
<b>Fig. 17</b> – Periodo intermuda entre estadios JI y JII de <i>P. argus</i> en los experimentos para determinar el punto de saturación de reservas .....	86
<b>Fig. 18</b> – Curva sigmoideal de dosis-respuesta ajustada a los porcentajes de mortalidad de los JI de <i>P. argus</i> para determinar el punto de saturación de reservas .....	87

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> – Resultados del Modelo Lineal General para comparar distintos efectos en el porcentaje de lípidos totales en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	37
<b>Tabla 2</b> – Porcentajes de las clases de lípidos presentes en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	39
<b>Tabla 3</b> – Resultados del Modelo Lineal General para comparar distintos efectos en el porcentaje de fosfolípidos en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	40
<b>Tabla 4</b> – Resultados del Modelo Lineal General para comparar distintos efectos en el porcentaje de proteínas en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	42
<b>Tabla 5</b> – Resultados del Modelo Lineal General para comparar distintos efectos en el Factor de Condición en estadios bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	44
<b>Tabla 6</b> – Resultados del Modelo Lineal General para analizar distintos efectos en el contenido de lípidos totales en estadios oceánicos y bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	60
<b>Tabla 7</b> – Porcentajes de las clases de lípidos presentes en estadios oceánicos y bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	61
<b>Tabla 8</b> – Resultados del Modelo Lineal General para analizar distintos efectos en el contenido de proteínas en estadios oceánicos y bénticos tempranos de <i>P. argus</i> .....	65

## **CAPÍTULO 1: Introducción general**

Muchos organismos están distribuidos en poblaciones locales repartidas en parches de hábitat espacialmente discretos, separados por ambientes desfavorables y conectados funcionalmente por flujos de dispersión. Para una especie dada, el sistema de poblaciones locales constituye una metapoblación (Levins 1970; Wu 1995; Cronin 2003). En muchos animales marinos bénticos, los flujos de dispersión entre poblaciones locales se dan a través de una fase larvaria planctónica que se desarrolla en la columna de agua, lejos del hábitat de los adultos. El conocimiento de los patrones de dispersión larvaria es crítico para entender la conectividad y la persistencia de las metapoblaciones marinas, ya que estas dependen del regreso y asentamiento de las larvas planctónicas para equilibrar las pérdidas por mortalidad de adultos (Sponaugle & Cowen 1996; Cowen & Sponaugle 2009). Puesto que la dispersión de las larvas puede ser muy amplia y su retorno a las poblaciones adultas muy variable, los tamaños poblacionales de las especies marinas suelen fluctuar sustancialmente (Roberts 1997; Robertson & Kaufmann 1998; Hastings & Botsford 2006; Pineda et al. 2007).

La advección y dispersión de las larvas plantónicas depende de una compleja interacción entre diversos factores físicos (sistemas de corrientes y contracorrientes, remolinos y giros oceánicos) y la conducta de las larvas (migraciones verticales que afectan su ubicación en la columna de agua, detección de señales ambientales a escala horizontal que las orienten hacia las áreas de asentamiento) (Jeffs et al. 2005; Paris et al. 2007; Lecchini et al. 2010; Vermeij et al. 2010; Stanley et al. 2015), pero la dispersión tiende a aumentar con la duración larvaria, llegando a ser de cientos o hasta miles de kilómetros en especies con duraciones larvarias largas (Largier 2003; Eble et al. 2011).

Las langostas espinosas (Crustacea: Decapoda: Palinuridae) se distribuyen en todos los mares templados y tropicales del mundo (Holthuis 1991) y constituyen metapoblaciones en sus correspondientes ámbitos geográficos (p.ej. Silberman et al. 1994; Diniz et al. 2005; García-Rodríguez & Pérez-Enríquez 2008; Kennington et al. 2013; Truelove et al. 2015). La duración de su fase larvaria planctónica es una de las más largas entre los crustáceos (4 a 22 meses). Las larvas, de forma aplanada y muy delgada, llamadas *filosomas* (Fig. 1a), pasan por numerosos estadios larvarios (entre 9 y 12, dependiendo de la especie) (Phillips et al. 2006a). Estas características, aunadas a su desarrollo en aguas oceánicas, confieren a las filosomas un enorme potencial de dispersión (Lewis 1951; Baisre et al. 1978; Richards & Pothoff 1981; Baisre & Alfonso 1994; Booth & Phillips 1994; Manzanilla-Domínguez & Gasca 2004; Briones-Fourzán et al. 2008; Iacchei et al. 2016).

El último estadio larvario pasa por una drástica metamorfosis a la fase de postlarva (Fig. 1b), que consta de un solo estadio neotónico altamente transparente llamado *puerulo* (Fig. 1c), cuya forma es más similar a la de una langosta adulta. A diferencia de las filosomas, que son planctotróficas, una característica muy importante de los puerulos es que no se alimentan (Kittaka 1994; Lemmens 1994a, 1994b; Goldstein et al. 2008), es decir, representan una fase lecitotrófica secundaria —que depende de sus propias reservas energéticas— en el ciclo de vida de las langostas espinosas (Lemmens & Knott 1994; McWilliam & Phillips 1997, 2007).

En diversos estudios se ha encontrado que la metamorfosis del último estadio larvario (filosoma X, en el caso de *Panulirus argus*) a la fase postlarvaria (puerulo) ocurre en aguas oceánicas cerca del borde continental, donde dichas aguas suelen ser más ricas en nutrientes y por lo tanto contienen un mayor número de presas potenciales para las filosomas (Phillips et al. 2006b; McWilliam & Phillips 2007; Phillips & McWilliam 2009;

Wilkin & Jeffs 2011). Esto sugiere que el principal estímulo para metamorfosis es la obtención de un nivel crítico de reservas energéticas (Phillips et al. 2006a; McWilliam & Phillips 2007). Independientemente del punto oceánico donde ocurra la metamorfosis, el puerulo debe dirigirse a la zona costera y asentarse en algún hábitat béntico donde pueda llevar a cabo la muda a la fase juvenil y continuar con su ciclo de vida (Fig. 1d).

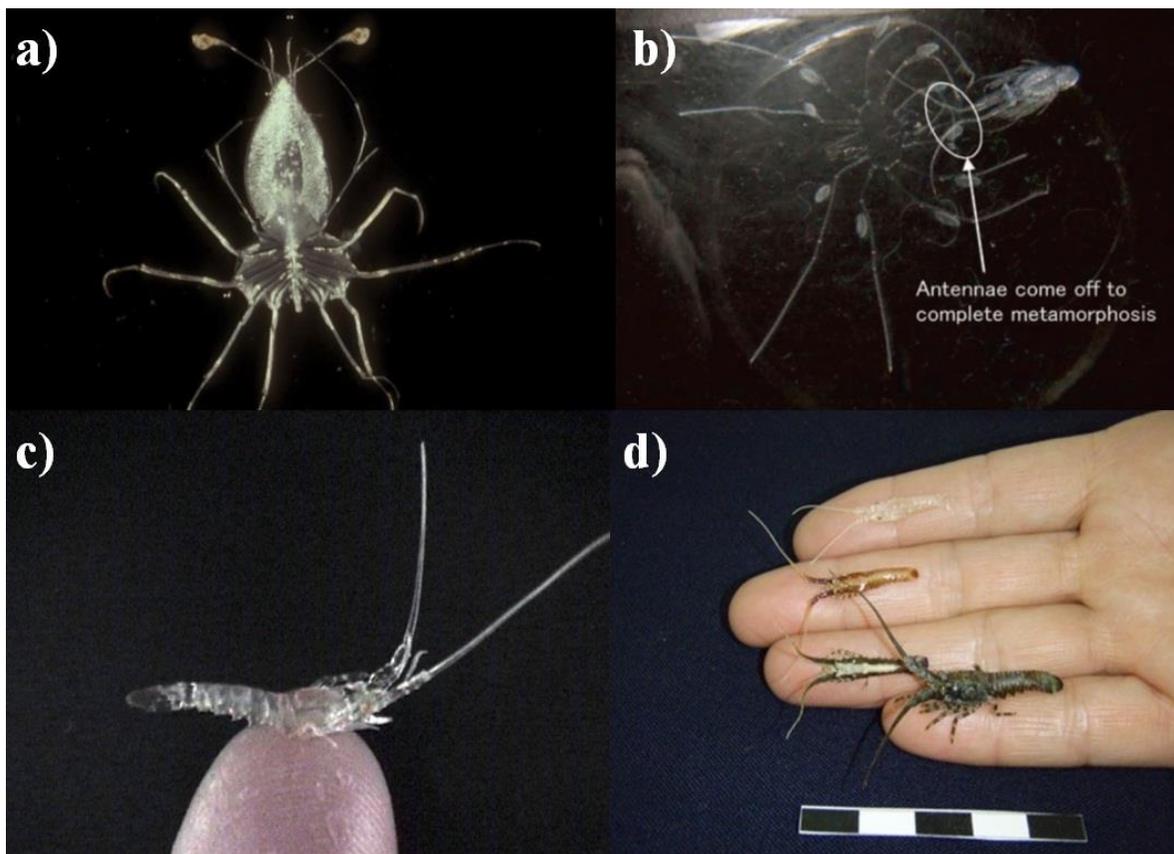


Fig. 1 – (a) Filosoma tardía (IX) de *Panulirus argus*, (b) metamorfosis en *P. japonicus* (tomado de Murakami et al. 2007), (c) puerulo nectónico de *P. argus*, (d) primeros estadios bénticos; de arriba abajo: puerulo transparente (recién asentado), puerulo pigmentado, juvenil I (postpuerulo), juvenil III (la escala en la parte inferior está en centímetros).

Existen evidencias de que los puerulos utilizan diversas señales, en particular acústicas y químicas, para orientarse hacia la costa (Phillips & Macmillan 1987; Macmillan

et al. 1992; Jeffs et al. 2005; Goldstein & Butler 2009; Phillips & McWilliam 2009; Lecchini et al. 2010; Stanley et al. 2015) y que pueden nadar activamente de manera direccional, sostenida y rápida (de 10 a 40 cm s<sup>-1</sup>, dependiendo de la especie) (Calinski & Lyons 1983; Phillips et al. 2006a), tanto de día como de noche, y en respuesta a los cambios de marea (Kough et al. 2014). Sin embargo, es improbable que sigan trayectorias rectas por estar sujetos a corrientes y movimientos de masas de agua (Briones-Fourzán et al. 2008; Chiswell & Booth 2008; Wilkin & Jeffs 2011).

Las langostas espinosas, en particular de los géneros *Panulirus* (24 especies y subespecies) y *Jasus* (6 especies), sostienen valiosas pesquerías comerciales y artesanales a nivel mundial (Jeffs et al. 2013; Phillips et al. 2013). Sin embargo, la mayoría de las especies de importancia pesquera están plenamente explotadas y algunas sobre-explotadas, lo cual ha sido adscrito a factores tanto de tipo antropogénico (falta de observancia de regulaciones pesqueras, degradación o destrucción de hábitats costeros) como climático o biológico (Booth 2006; Phillips & Melville-Smith 2006; Briones-Fourzán & Lozano-Álvarez 2013). Por ejemplo, las perturbaciones globales en el océano y el cambio climático podrían estar comprometiendo la disponibilidad de alimento para las filosomas, afectando la acumulación de sus reservas energéticas previa a la metamorfosis, o alterando las corrientes marinas, influenciando así las migraciones de los puerulos hacia la costa (Jeffs 2010; Caputi et al. 2010; de Lestang et al. 2015).

Debido a que la persistencia de las poblaciones de langostas depende del abastecimiento de puerulos, se ha dado énfasis al estudio de los procesos y mecanismos biológicos y físicos que pueden influenciar los procesos de dispersión *versus* retención de filosomas cerca de las poblaciones parentales (p.ej. Phillips et al. 1991; Yoshimura et al. 1999; Dennis et al. 2001; Manzanilla-Domínguez & Gasca 2004; Chiswell & Booth 2008;

Goldstein & Butler 2009; Butler et al. 2011; Kough et al. 2013), los mecanismos por medio de los cuales los puerulos pueden orientarse y dirigirse hacia los hábitats costeros (Phillips & Macmillan 1987; Acosta & Butler 1999; Jeffs et al. 2005; Lecchini et al. 2010; Kough et al. 2014), los patrones temporales y espaciales de asentamiento de puerulos en zonas costeras (Phillips & Pearce 1997; Cruz 1999, Briones-Fourzán 1994; Eggleston et al. 1998; Booth 2002; Arteaga-Ríos et al. 2007; Briones-Fourzán et al. 2008; de Lestang et al. 2015), y la relación entre los índices de asentamiento de puerulos y la producción langostera local con miras a generar modelos predictivos para la captura (Phillips 1986; Cruz et al. 1995; Phillips et al. 2000; Arteaga-Ríos et al. 2007; Booth & McKenzie 2009).

Sin embargo, un aspecto que ha sido relativamente poco explorado es la condición nutricional que tienen los puerulos cuando arriban a las zonas costeras. Nadar activamente hacia la costa implica un fuerte desgaste energético y los puerulos, dado que no se alimentan, dependen por completo de las reservas que lograron acumular antes de la metamorfosis; por ello, la distancia a la costa donde se lleva a cabo la metamorfosis, en conjunto con la hidrografía local, podrían determinar en gran medida las posibilidades de los puerulos para llegar a las zonas de asentamiento. Más aún, los puerulos no mudan a la fase juvenil sino hasta 1 a 2 semanas post-asentamiento, período durante el cual continúan sin alimentarse mientras su cuerpo sigue utilizando las reservas que aún contiene para alimentar los considerables cambios estructurales y morfológicos que ocurren entre las fases postlarvaria y juvenil, lo que puede agravar aún más su déficit energético (Lewis et al. 1952; Nishida et al. 1995; Jeffs et al. 2001b, 2002; Ventura et al. 2015).

Una vez que inicia la fase juvenil, el organismo vuelve a alimentarse, pero esta actividad puede verse retrasada en función de la disponibilidad inmediata de alimento y del riesgo local de depredación. En los crustáceos, si los individuos no pueden reponer

suficientes reservas energéticas con la rapidez necesaria, pueden alcanzar el punto fisiológico de no-retorno y morir antes de volver a mudar (Anger & Dawirs 1981; Paschke et al. 2004; Gebauer et al. 2010; Guerao et al. 2012). Para las langostas palinúridas, esto implica que el costo energético de la natación, aunado al tiempo que transcurre entre el asentamiento y la muda a juvenil, la disponibilidad inmediata de alimento, y el riesgo local de depredación, pueden poner en riesgo la supervivencia de los individuos que arriban a la costa con una condición nutricional baja y, por ende, afectar la abundancia de las subsecuentes fases bénticas.

A la fecha, algunos de estos aspectos han sido estudiados en solo tres especies de langostas espinosas: *Jasus edwardsii* y *Sagmariasus verreauxi* (antes *Jasus verreauxi*) en Nueva Zelanda, y *Panulirus cygnus* en Australia occidental (ver Anexo 1). Los géneros *Jasus* y *Sagmariasus* solo ocurren en zonas templadas-frías (Jeffs et al. 2013), mientras que *P. cygnus* es una especie subtropical endémica a Australia occidental (Phillips et al. 2013). En el presente trabajo, se examinan por primera vez estos aspectos en una especie tropical, *Panulirus argus*.

### ***Panulirus argus***

Hasta hace poco, se consideraba que la langosta del Caribe, *Panulirus argus* (Latreille, 1804), se distribuía desde Carolina del Norte, EUA, hasta Río de Janeiro, Brasil, incluyendo las islas Bermuda y todas las islas y bancos coralinos de la región del Gran Caribe (Bahamas, Antillas, y Golfo de México) (Holthuis 1991). Al tratarse de la especie con la más amplia distribución latitudinal en su género, desde hace algunas décadas se sospechaba que podría tratarse en realidad de al menos dos subespecies, pero no se encontró una diferenciación genética en la metapoblación con base en el análisis de

electroforesis de enzimas (Menzies & Kerrigan 1979; Menzies 1981) o del ADN mitocondrial (Silberman et al. 1994).

Sin embargo, Sarver et al. (1998) sí encontraron diferencias en la secuencia de las unidades 16S y COI del DNA mitocondrial entre las poblaciones de Brasil y del gran Caribe, consistentes con la presencia de al menos dos especies o subespecies diferentes. Más adelante, el desarrollo de nuevas técnicas para aislar microsatélites polimórficos del ADN y su análisis en muestras de *P. argus* provenientes de diversas poblaciones brindaron más evidencias de que se trataba de un complejo de especies (Diniz et al. 2004, 2005a, 2005b; Naro-Maciel et al. 2011). También con base en análisis moleculares, Tourinho et al. (2012) encontraron que las langostas *P. argus* del Gran Caribe y las de Brasil forman dos grupos monofiléticos con una divergencia molecular mucho mayor que la observada entre poblaciones de la misma especie pero similar a la observada en especies congénicas. Finalmente, Giraldes & Smyth (2016) presentaron evidencias de una diferenciación morfológica sustancial, que en conjunto con la evidencia molecular, indicaban la presencia de dos especies: una en la región del Gran Caribe, desde Carolina del Norte, EUA (35° N) hasta Venezuela (8° N) incluyendo el mar Caribe, que conserva el nombre de *P. argus*, y otra nativa de Brasil, desde Pará (2° S) hasta el estado de Santa Catarina (27° S), que fue nombrada *P. meripurpuratus*. Sin embargo, dentro de la región del Gran Caribe, las poblaciones de *P. argus* no presentan una diferenciación genética (Truelove et al. 2015).

*Panulirus argus* es uno de los recursos pesqueros más importantes en el Atlántico centro-occidental y constituye, junto con *P. meripurpuratus* (ya que se les ha considerado la misma especie hasta ahora), más del 50% de la captura mundial de langostas espinosas (Lipcius & Eggleston 2000; Phillips & Melville-Smith 2006; Phillips et al. 2013). Sin embargo, en diferentes lugares de la región del Gran Caribe, incluyendo México, las

capturas de *P. argus* han sufrido una disminución sustancial desde finales de la década de 1990 (Cochrane & Chakallal 2001; Aguilar et al. 2003; Ehrhardt et al. 2011).

*Panulirus argus* se reproduce durante casi todo el año, con un pico principal de reproducción durante la primavera y otro secundario durante el otoño (Briones et al. 1997). Su fase larvaria se desarrolla en aguas oceánicas del Caribe, Golfo de México y Atlántico occidental y tiene una duración de 5 a 9 meses. Con base en muestreos con redes de plancton, los primeros estudios sobre el desarrollo larvario de esta especie reconocieron 11 diferentes estadios de filosoma (Lewis 1951; Baisre et al. 1978; Richards & Pothoff 1981). Sin embargo, al completar por primera vez el desarrollo larvario en condiciones de laboratorio, Goldstein et al. (2008) solamente reconocieron 10 estadios de filosoma y confirmaron que el paso de un estadio larvario al siguiente ocurre a través de varias ecdisis o mudas (“instars”).

El puerulo de *P. argus* es pequeño (5 a 6 mm de longitud cefalotorácica, LC) y completamente transparente excepto por los ojos, que son amarillentos (Lewis et al. 1951). Su hábitat de asentamiento es la vegetación marina (praderas mixtas de pastos marinos y macroalgas y manglares costeros) que prolifera en zonas costeras someras, por lo general a <10 m de profundidad (Marx & Herrnkind 1985; Butler & Herrnkind 2000; Briones-Fourzán & Lozano-Álvarez 2001). Después de asentarse, el cuerpo del puerulo empieza a pigmentarse por debajo de la cutícula transparente y se prepara para mudar al primer estadio juvenil (juvenil I o “postpuerulo”), lo que ocurre entre 7 y 12 días post-asentamiento (Lewis et al. 1952; Calinski & Lyons 1983). En condiciones de laboratorio, Goldstein et al. (2008) encontraron que la duración total de la fase de puerulo era de 16 a 26 días post-metamorfosis a 25°C, y de 11 a 18 días post-metamorfosis a 27°C.

Los ‘juveniles tempranos’ de *P. argus* (6 a 15 mm LC) permanecen ampliamente

dispersos en el hábitat de asentamiento, ocultándose entre la vegetación durante el día y emergiendo de esta durante la noche para buscar su alimento (Briones-Fourzán & Lozano-Álvarez 2001), que consiste en pequeños invertebrados asociados a la vegetación marina (Lalana & Ortiz 1991; Briones-Fourzán et al. 2003). Cuando alcanzan una talla de 15 a 25 mm LC, los ‘juveniles tardíos’ dejan de vivir entre la vegetación y buscan refugios estructurados tipo grieta dispersos en zonas someras, volviéndose gregarios (Childress & Herrnkind 1994). Más adelante, los subadultos (45 a 75–80 mm LC) migran hacia el hábitat arrecifal coralino, que es el principal hábitat de los adultos (75–80 a >200 mm LC).

Los depredadores de *P. argus* incluyen una gran variedad de peces arrecifales óseos y cartilaginosos, tortugas marinas, delfines, y algunos invertebrados como pulpos. Se ha estimado que la tasa de mortalidad de *P. argus* es de ~95% a lo largo del primer año de vida béntica (Butler et al. 1997) y que el 70% de la mortandad fuera de los refugios se debe a la depredación, la cual es más intensa durante el día que durante la noche (Weiss et al. 2006). En condiciones naturales, los juveniles abandonan sus refugios para alimentarse durante la noche, pero no lo hacen cuando perciben la presencia de depredadores (Weiss et al. 2008). Por otro lado, los juveniles mantenidos en cautiverio en ausencia de depredadores cambian su patrón de actividad de exclusivamente nocturno a nocturno/diurno, lo que sugiere que perciben la ausencia del riesgo de depredación (Lozano-Álvarez 1996). La percepción del riesgo de depredación parece basarse en señales visuales, vibrátiles y químicas; por tanto, aunque los juveniles pequeños tengan alimento disponible, su actividad alimentaria podrá depender de su percepción del riesgo de depredación (Weiss et al. 2008).

## Estructura de la tesis

El trabajo consta de cinco capítulos: El primero es una introducción general que provee el contexto en el cual se desarrolla la investigación. En el segundo capítulo se describe la variabilidad espacio-temporal en la condición nutricional (índices bioquímicos y morfométricos) de los puerulos bénticos transparentes y pigmentados, y primeros juveniles de *P. argus* recolectados en dos diferentes localidades costeras de Quintana Roo a lo largo de tres ciclos anuales. El tercer capítulo comprende el análisis comparativo de índices nutricionales bioquímicos de los últimos estadios pelágicos (filosomas tardías y puerulos nectónicos) y los primeros estadios bénticos (puerulos bénticos recién asentados (transparentes), puerulos pigmentados y primeros juveniles) de *P. argus*, así como el análisis comparativo de índices bioquímicos y morfométricos de puerulos nectónicos capturados en un gradiente de distancias a la costa de Quintana Roo. El cuarto capítulo comprende la estimación de la tolerancia a la inanición del primer estadio juvenil de *P. argus* en dos distintas temporadas (cálida y fría) mediante la determinación experimental del punto de no-retorno y el punto de saturación de reservas. El quinto capítulo es una discusión general en la que se exponen las conclusiones de los resultados más relevantes y las limitaciones del presente trabajo.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Abordar distintos aspectos de la nutrición y desgaste energético de las fases ontogenéticas tempranas de *Panulirus argus* que pueden influir en la supervivencia y abundancia de las subsecuentes fases bénticas en poblaciones locales de langosta en zonas costeras de Quintana Roo.

### Objetivos particulares

- Determinar la variación espacio-temporal en la condición nutricional de puerulos bénticos transparentes, puerulos pigmentados, y juveniles I de *Panulirus argus* por medio de índices nutricionales bioquímicos y morfométricos.
- Determinar y comparar la condición nutricional entre (a) filosomas tardías (b) puerulos nectónicos, (c) puerulos bénticos transparentes, (d) puerulos bénticos pigmentados y (e) primer estadio juvenil de *Panulirus argus* por medio de índices nutricionales bioquímicos.
- Determinar el desgaste energético que sufren los puerulos nectónicos de *P. argus* en su trayecto desde las aguas oceánicas hasta la costa de Quintana Roo.
- Determinar, por medio de experimentos de laboratorio, el punto de no-retorno (PNR<sub>50</sub>) y el punto de saturación de reservas (PSR<sub>50</sub>) de los juveniles I de *P. argus* en dos diferentes épocas del año (temporada cálida: verano-otoño; temporada fría: invierno-primavera).

## HIPÓTESIS

- Si la condición nutricional de los puerulos que arriban a la costa de Quintana Roo varía entre localidades de muestreo y/o en el tiempo, entonces esto podría indicar una variabilidad en el alimento potencial para filosomas tardías en la zona oceánica.
- Si los puerulos de *P. argus* sufren un desgaste energético sustancial en su trayecto de la zona oceánica a la costera, entonces habrá una disminución gradual en los índices nutricionales bioquímicos entre filosomas tardías, puerulos nectónicos y puerulos bénticos transparentes (es decir, recién asentados).
- Si en los puerulos bénticos de *P. argus* la preparación para la muda a juvenil requiere de un uso sustancial de reservas energéticas, entonces la condición nutricional diferirá entre puerulos bénticos transparentes (recién asentados), puerulos pigmentados (en preparación para la muda) y juveniles I (post-muda).
- Si los puerulos de *P. argus* sufren un desgaste energético sustancial en su trayecto de la zona oceánica a la costera, entonces sus índices nutricionales bioquímicos y morfométricos serán más bajos mientras menor sea la distancia a la costa en que fueron capturados.
- Si la tolerancia a la inanición de los juveniles I está directamente relacionada con la temperatura, entonces su punto de no-retorno se alcanzará en un tiempo menor y su punto de saturación de reservas se alcanzará en un tiempo mayor en temporada cálida que en temporada fría.

## **CAPÍTULO 2: Variación espacio-temporal en la condición nutricional de puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos bénticos pigmentados (PP), y juveniles I (JI)**

### **2.1 – Introducción**

La condición nutricional es el grado de acumulación de reservas que permiten a un animal llevar a cabo sus funciones fisiológicas normales y crecer (Moore et al. 2000). En general, se considera que un animal con una buena condición tiene más reservas energéticas que un animal con una condición pobre. Así, los individuos con mayores reservas energéticas pueden tener una resistencia más alta a la inanición y una mayor supervivencia que los individuos con menos reservas. Por tanto, la determinación de la condición nutricional de los organismos y su variación en función de distintos factores brinda información valiosa sobre diversos procesos biológicos, tales como el reclutamiento y la supervivencia (Schulte-Hostedde et al. 2005; Raubenheimer et al. 2009).

En los crustáceos, los cambios en la condición nutricional no se reflejan en cambios externos visibles porque su tamaño permanece fijo entre mudas subsecuentes, lo que hace necesario recurrir a los llamados ‘índices de nutrición’ (Dall 1974). Algunos índices de nutrición se basan en diversas medidas y proporciones corporales (índices morfométricos) tales como el índice hepatosomático (peso del hepatopáncreas/peso corporal) y el cociente peso corporal/longitud cefalotorácica, conocido también como Factor de Condición. El factor de condición es en sí una medida biométrica, pero puede brindar información indirecta sobre la condición nutricional de organismos que no pueden adquirir suficiente energía a partir de fuentes externas y por consecuencia tienen que utilizar sus reservas energéticas internas para mantener sus actividades metabólicas esenciales; tal es el caso de los puerulos, que al ser incapaces de alimentarse dependen de las reservas que acumularon

durante su fase larvaria (Robertson et al. 2000; Grobler & Ndjaula 2001; Briones-Fourzán et al. 2009, Groeneveld et al. 2010).

La variación intraespecífica de diversos atributos de juveniles o adultos (p. ej. tasas de crecimiento y mortalidad, tiempo para alcanzar la madurez, resultados de encuentros competitivos) puede reflejar diferencias en la experiencia acumulada por las larvas (p. ej. períodos breves de inanición, exposición a niveles subletales de diversos factores, retraso en la metamorfosis) (revisión en Pechenik 2006). Por ejemplo, se ha encontrado una variabilidad temporal y espacial sustancial en la longitud cefalotorácica (LC) y/o el peso de puerulos bénticos y juveniles I de *Jasus lalandii* en zonas costeras de Namibia (Grobler & Ndjaula 2001) y Sudáfrica (Groeneveld et al. 2010), puerulos de *P. argus* en Cuba (Cruz 1999) y Florida (Yeung et al. 2001), y puerulos nectónicos de *J. edwardsii* en aguas de Nueva Zelanda (Jeffs et al. 2001a). Sin embargo, el cociente peso/LC refleja mejor la condición nutricional de estos organismos dado que dos individuos del mismo estadio podrían tener el mismo tamaño pero pesos diferentes, lo que ha sido confirmado en juveniles sometidos a diferentes tipos de alimentación o recolectados en diferentes tiempos (Robertson et al. 2000; Briones-Fourzán et al. 2009). Por su parte, el índice hepatosomático es útil para medir la condición nutricional en langostas juveniles (Dall 1974; Briones-Fourzán et al. 2003, 2009; Castañeda-Fernández de Lara et al. 2005), pero su uso no es recomendable en puerulos nectónicos y bénticos recién asentados cuyo hepatopáncreas, como el resto del individuo, es transparente (Jeffs et al. 2001b).

Otros índices de nutrición se basan en el análisis del contenido de sustratos energéticos o compuestos metabólicos en diversos tejidos corporales (índices bioquímicos). Entre los principales índices bioquímicos utilizados en crustáceos se encuentran el contenido de lípidos y la composición del hepatopáncreas (Musgrove 1999, Moore et al.

2000), las razones ARN:ADN y C:N (Wang & Stickle 1986; Juinio et al. 1991; Lemmens 1994a, 1994b), y el índice de refracción de la hemolinfa como un indicador del contenido de proteínas totales en la hemolinfa (Moore et al. 2000; Oliver & MacDiarmid 2001; Behringer & Butler 2006; Rodríguez-García et al. 2015). La tabla en el Anexo 1 resume las metodologías utilizadas para medir índices nutricionales en las primeras fases ontogenéticas de langostas espinosas.

En diversos estudios se ha encontrado que principalmente el contenido de lípidos totales, y de proteínas en menor término, brindan una estimación confiable de la condición nutricional de los estadios ontogenéticos tempranos de las langostas espinosas. En cambio, el tercer constituyente bioquímico, los carbohidratos, representan un componente muy pequeño de la energía en larvas de crustáceos (menos del 3%), por lo que su cuantificación no suele brindar información sobre la condición nutricional (Jeffs et al. 1999; Moran & McAlister 2009).

## **2.2 - Materiales y métodos**

### **Muestreo de puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI)**

La colecta de los primeros estadios bénticos de *P. argus* se llevó a cabo utilizando dos conjuntos de seis colectores subsuperficiales tipo GuSi elaborados con una fibra artificial (“filástica”) que simula la vegetación sumergida (Gutiérrez-Carbonell et al. 1992; Briones-Fourzán 1994). Estos conjuntos de colectores permanecen anclados de manera permanente en dos localidades de la costa de Quintana Roo: la laguna arrecifal de Puerto Morelos y Punta Allen (Bahía de la Ascensión), y se revisan una vez al mes (el día

posterior a la fase lunar de cuarto creciente) para obtener índices mensuales de asentamiento. La revisión consiste en extraer cada colector del agua, sacudirlo fuertemente dentro de una tina circular hasta que quede libre de organismos, pasar por un tamiz el agua con organismos recolectada en la tina, y separar los PT, PP, y JI de *P. argus*.

Los puerulos que se asientan en los colectores pueden permanecer en ellos por varios días a semanas, por lo que en cada revisión suelen obtenerse los tres estadios (Briones-Fourzán 1994). Para los fines del presente trabajo, se recolectaron todos los individuos asentados en los colectores cada mes durante 3 años (de marzo de 2012 a febrero de 2015). Los individuos fueron transportados vivos en contenedores de agua de mar con aireación al laboratorio en Puerto Morelos, donde se les midió el peso total (PT) en g utilizando una balanza digital ( $\pm 0.001$  g) y la longitud cefalotorácica (LC) en mm con un vernier digital ( $\pm 0.01$  mm). Luego se les colocó de inmediato en un ultracongelador donde se mantuvieron a  $-70$  °C previo a sus análisis bioquímicos. El tiempo de traslado hasta el laboratorio es de aproximadamente 30 min desde la laguna arrecifal de Puerto Morelos y 3 h desde Bahía de la Ascensión.

### **Determinación de índices nutricionales**

Se extrajeron tanto lípidos totales como proteínas a 200 individuos (57 PT, 71 PP y 72 JI) que corresponden (en la mayoría de los casos) a tres individuos de cada estadio por estación del año por localidad (Punta Allen y Puerto Morelos) durante tres años (de marzo del 2012 a febrero del 2015). Los individuos representantes de cada estación del año fueron escogidos aleatoriamente. También se obtuvo el Factor de Condición (FC) de dichos organismos, que es el cociente PT/LC, pero a diferencia de otros trabajos (p. ej. Robertson et al. 2000; Briones-Fourzán et al. 2009), para estimar dicho cociente se utilizó el peso seco

del animal y no su peso húmedo.

Los organismos fueron liofilizados por 48 horas en una liofilizadora Labconco Freeze Dry System / Freezone 4.5, separados individualmente en viales Eppendorf de 2 ml. El contenido total de lípidos de cada individuo fue determinado por gravimetría a partir de los organismos liofilizados, utilizando la técnica de extracción con cloroformo/metanol/agua de Folch et al. (1957), modificada por Bligh & Dyer (1959) para organismos pequeños. La ventaja de usar esta técnica es que a partir de las mismas muestras fue posible determinar los porcentajes de las diferentes clases de lípidos, y aún se podría hacer una caracterización de ácidos grasos, lo que brindaría información adicional para trabajos posteriores (p. ej. Phillips et al. 2006b; Limbourn et al. 2009).

El contenido de proteínas fue determinado por espectrofotometría mediante el uso del kit Micro BCA Protein Assay y el lector de placas Multiskans Spectrum, ambos de Thermo Scientific. Los porcentajes de lípidos totales y proteínas se calcularon en relación al peso seco de cada organismo liofilizado. Los análisis de lípidos totales y proteínas fueron realizados en el Laboratorio Marino de Leigh, de la Universidad de Auckland, Nueva Zelanda. Se adjuntan los protocolos como Anexo 2 y Anexo 3, respectivamente.

Para cuantificar las clases de lípidos de manera individual, una alícuota de los lípidos totales se analizó con un cromatógrafo de capa fina con detector de ionización de llama marca Iatroscan, modelo MK VI TH10, en el Instituto de Ciencia Marina de Sidney, Australia. Los porcentajes de clases de lípidos se obtuvieron como proporción de los lípidos totales y como porcentaje en relación al peso seco de cada organismo liofilizado. Se adjunta el protocolo de separación de clases lipídicas como Anexo 4.

## **Análisis de datos**

Los datos se agruparon por estación del año, ya que el número total de organismos que se obtienen en las revisiones mensuales de los colectores es relativamente limitado, en particular en Bahía de la Ascensión (Punta Allen) (Briones-Fourzán et al. 2008). Al agrupar los datos en períodos trimestrales en los que las condiciones ambientales son lo más similares (estaciones del año), se pudieron hacer análisis temporales con tamaños de muestra más adecuados.

Debido a que en Punta Allen no se obtuvieron PT en dos diferentes estaciones del año (primavera de 2013 y primavera de 2014), dichas estaciones no fueron incluidas en los análisis estadísticos espacio-temporales, pero sí se incluyeron en las gráficas para comparar visualmente los dos estadios que sí se obtuvieron en todas las estaciones muestreadas (PP y JI).

Se utilizaron Modelos Lineales Generales factoriales para analizar de forma separada la variación espacio-temporal en (1) el contenido de lípidos totales, (2) el contenido de fosfolípidos (la clase de lípidos más abundante), (3) el contenido de proteínas y (4) el Factor de Condición (peso seco/LC). Para cada variable de respuesta, los factores principales fueron Estadio de desarrollo (Estadio, factor fijo con 3 niveles: PT, PP y JI), Localidad de colecta (Localidad, factor fijo con 2 niveles: Puerto Morelos y Punta Allen) y Estación del año (Temporada, factor fijo con 10 niveles correspondientes a cada estación del año durante 3 años, excluyendo las primaveras de 2013 y 2014). El modelo final incluyó los términos Estadio, Localidad, Temporada y sus interacciones (Underwood 1981). Se utilizaron ANOVAs de una vía para comparar la variación entre estadios de desarrollo en el contenido de cada clase de lípido, y en el caso de resultados significativos, se realizaron pruebas de Tukey (HSD) para muestras de tamaño diferente con el fin de

determinar cuáles medias diferían entre sí. Los datos de porcentajes de lípidos totales, clases de lípidos y proteínas fueron transformados mediante el arcoseno de la raíz cuadrada para normalizar su distribución, pero los resultados y las gráficas se presentan como porcentajes para facilitar su interpretación biológica. En todos los casos, los resultados de las pruebas se consideraron significativos si  $p < 0.05$ .

## 2.3 – Resultados

### Lípidos totales

El porcentaje de lípidos totales difirió significativamente entre estadios de desarrollo ( $p < 0.001$ ), pero no fue afectado por la localidad ni por la temporada. La única interacción que fue marginalmente significativa ( $p = 0.045$ ) fue Temporada  $\times$  Estadio (Tabla 1): los patrones temporales de porcentajes de lípidos totales fueron distintos entre estadios de desarrollo, es decir, no se observó una correspondencia en los valores altos y bajos de los porcentajes de lípidos entre estadios al comparar las temporadas entre sitios (Fig. 2).

En general, los porcentajes de lípidos totales disminuyeron durante la transición PT-PP-JI (media  $\pm$  IC:  $12.9 \pm 0.6\%$ ,  $11.4 \pm 0.5\%$  y  $6.4 \pm 0.4\%$ , respectivamente). En Puerto Morelos, el porcentaje de lípidos totales fue significativamente mayor en los PT respecto a los PP en los otoños de 2012, 2013 y 2014, y en ambos sitios en la primavera de 2012, pero en general los PT y los PP presentaron mayor porcentaje de lípidos que los JI (Fig. 2).

Tabla 1 – Resultados del Modelo Lineal General para comparar los efectos de Localidad (Puerto Morelos y Punta Allen), Temporada (primavera 2012 a invierno 2015, sin incluir primaveras de 2013 y 2014) y Estadio (puerulo transparente, puerulo pigmentado y juvenil I) en el porcentaje de lípidos totales (datos transformados a arcoseno de raíz cuadrada).

Efecto	SS	df	MS	F	p
Intercepto	17.054	1	17.054	16733.85	<0.001
Localidad	0.001	1	0.001	0.99	0.321
Temporada	0.014	9	0.002	1.58	0.131
Estadio	0.386	2	0.193	189.56	<0.001
Loc × Temp	0.007	9	0.001	0.78	0.633
Loc × Est	0.002	2	0.001	1.38	0.256
Temp × Est	0.032	18	0.002	1.72	0.045
Loc × Temp × Est	0.025	18	0.001	1.37	0.158
Error	0.114	112	0.001		

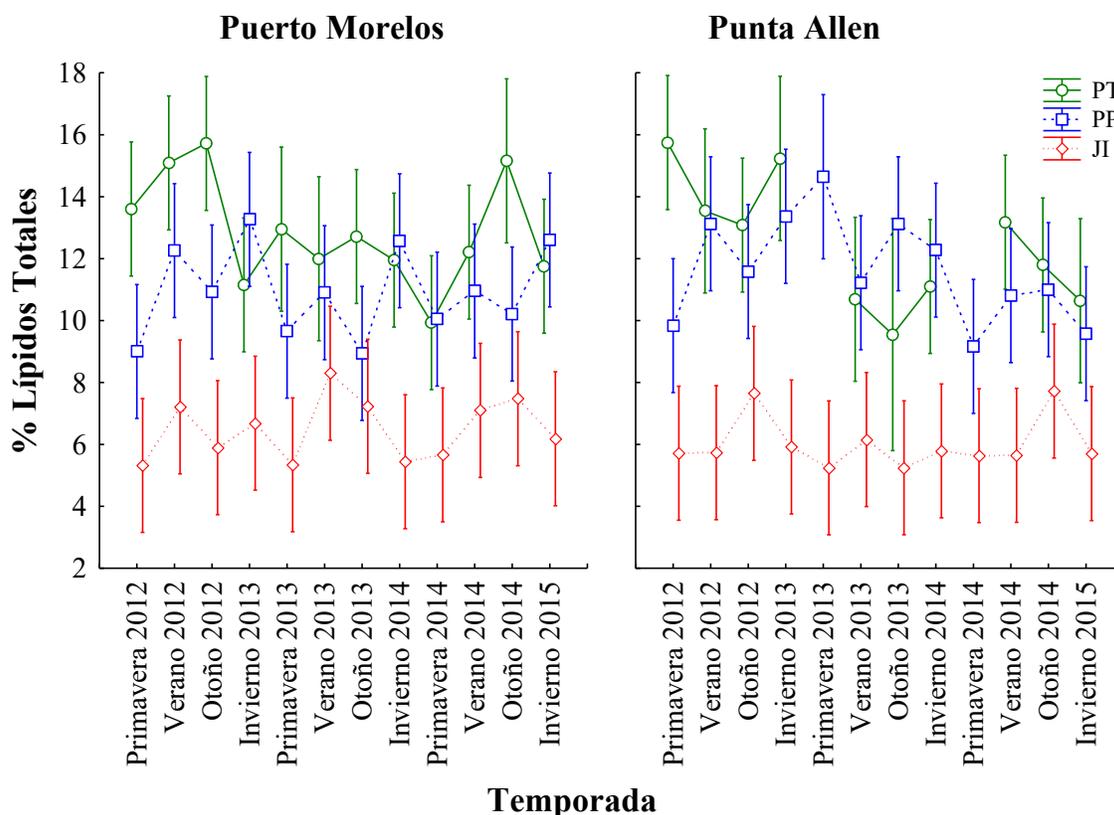


Fig. 2 – Variación temporal en el porcentaje de lípidos totales de puerulos transparentes (PT, en verde), puerulos pigmentados (PP, en azul) y juveniles I (JI, en rojo) recolectados en las localidades de Puerto Morelos (izquierda) y Punta Allen (derecha). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

Al realizar un análisis de varianza del porcentaje de lípidos de los PT entre las dos localidades y a través de las distintas temporadas (primavera 2012 a invierno 2015, sin incluir primaveras de 2013 y 2014), se encontró que varió significativamente de manera marginal entre temporadas ( $F = 2.23$ ,  $gl = 9$ ,  $p = 0.047$ ), pero no fue afectado por la localidad. La interacción de ambos factores tampoco fue significativa.

### **Clases de lípidos**

Con el fin de determinar si existió una variación en los porcentajes de las clases de lípidos (como proporción de la cantidad de lípidos totales) entre estadios, se realizó un análisis de varianza para cada clase de lípidos. Los lípidos polares (fosfolípidos) fueron la clase lipídica dominante en los tres estadios de desarrollo, seguidos de lejos por el diacilglicerol y el colesterol. En mucha menor proporción se encontraron ácidos grasos libres, ésteres, triacilglicerol y monoacilglicerol. A partir de los datos transformados a arcoseno de raíz cuadrada de los porcentajes de cada clase de lípidos, se encontraron diferencias significativas entre estadios en los porcentajes de diacilglicerol ( $F = 10.1$ ,  $gl = 2$ ,  $p < 0.001$ ), colesterol ( $F = 5.1$ ,  $gl = 2$ ,  $p = 0.007$ ), ácidos grasos libres ( $F = 27.7$ ,  $gl = 2$ ,  $p < 0.001$ ), y ésteres ( $F = 10.6$ ,  $gl = 2$ ,  $p < 0.001$ ). Los fosfolípidos, el triacilglicerol y el monoacilglicerol no presentaron diferencias significativas entre estadios (Tabla 2).

Tabla 2 – Porcentajes de las clases de lípidos presentes en puerulos transparentes (PT, n = 57), puerulos pigmentados (PP, n = 71) y juveniles I (JI, n = 71) recolectados en las localidades de Puerto Morelos y Punta Allen, de primavera 2012 a invierno 2015 (media  $\pm$  IC al 95%). Cada clase de lípido se comparó entre estadios. Las medias con letras iguales no son significativamente distintas ( $p > 0.05$ ).

Clase de lípido	Estadio		
	PT	PP	JI
Fosfolípidos	84.94 $\pm$ 1.17 <sup>a</sup>	84.08 $\pm$ 1.16 <sup>a</sup>	83.87 $\pm$ 1.53 <sup>a</sup>
Diacilglicerol	8.69 $\pm$ 1.08 <sup>a</sup>	7.74 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	6.02 $\pm$ 1.25 <sup>b</sup>
Colesterol	3.32 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	3.50 $\pm$ 0.21 <sup>ab</sup>	3.68 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
Ácidos grasos libres	0.98 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.68 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	2.96 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup>
Ésteres	0.95 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	1.41 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>	1.55 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>
Triacilglicerol	0.42 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	0.85 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	1.08 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
Monoacilglicerol	0.69 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.73 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.84 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>

La proporción del colesterol, los ácidos grasos libres y los ésteres aumentó significativamente en la transición PT a JI. El diacilglicerol fue la única clase lipídica que presentó una disminución en esa misma transición (Tabla 2).

Para comparar de manera más directa con los lípidos totales, se obtuvo el porcentaje de cada clase de lípidos en relación al peso total de cada organismo (peso seco). El porcentaje de fosfolípidos difirió significativamente entre estadios de desarrollo ( $p < 0.001$ ), pero no fue afectado por la localidad ni por la temporada. Al igual que lo sucedido con los lípidos totales, la única interacción que fue marginalmente significativa ( $p = 0.045$ ) fue Temporada  $\times$  Estadio (Tabla 3).

Tabla 3 – Resultados del Modelo Lineal General para comparar los efectos de Localidad (Puerto Morelos y Punta Allen), Temporada (primavera 2012 a invierno 2015, sin incluir primaveras de 2013 y 2014) y Estadio (puerulo transparente, puerulo pigmentado y juvenil I) en el porcentaje de fosfolípidos (datos transformados a arcoseno de raíz cuadrada).

Efecto	SS	df	MS	F	p
Intercepto	14.3	1	14.3	18127.05	<b>&lt;0.001</b>
Localidad	0.0002	1	0.0002	0.19	0.66
Temporada	0.01	9	0.001	1.56	0.137
Estadio	0.33	2	0.17	212.02	<b>&lt;0.001</b>
Loc × Temp	0.008	9	0.001	1.20	0.304
Loc × Est	0.002	2	0.001	1.28	0.282
Temp × Est	0.024	18	0.001	1.71	<b>0.047</b>
Loc × Temp × Est	0.022	18	0.001	1.52	0.095
Error	0.088	112	0.0008		

Debido a que los fosfolípidos fueron la clase lipídica que se encontró en mayor proporción, su variación en los patrones espacio-temporales fue muy similar a la presentada por los lípidos totales. El coeficiente de correlación entre los valores de porcentajes de lípidos totales y fosfolípidos fue muy cercano a 1 ( $r = 0.98$ ,  $n = 200$ ,  $p < 0.001$ ), es decir, presentaron una correlación positiva casi perfecta. Los porcentajes de fosfolípidos también disminuyeron durante la transición PT-PP-JI (media  $\pm$  IC:  $10.8 \pm 0.5$ ,  $9.4 \pm 0.4$  y  $5.2 \pm 0.3$ , respectivamente). En Puerto Morelos, el porcentaje de fosfolípidos fue significativamente mayor en los PT respecto a los PP en el verano de 2012, primavera de 2013 y en los otoños de 2012, 2013 y 2014, y en ambos sitios en la primavera de 2012, sin embargo, ambos estadios presentaron mayor porcentaje de fosfolípidos que los JI (Fig. 3).

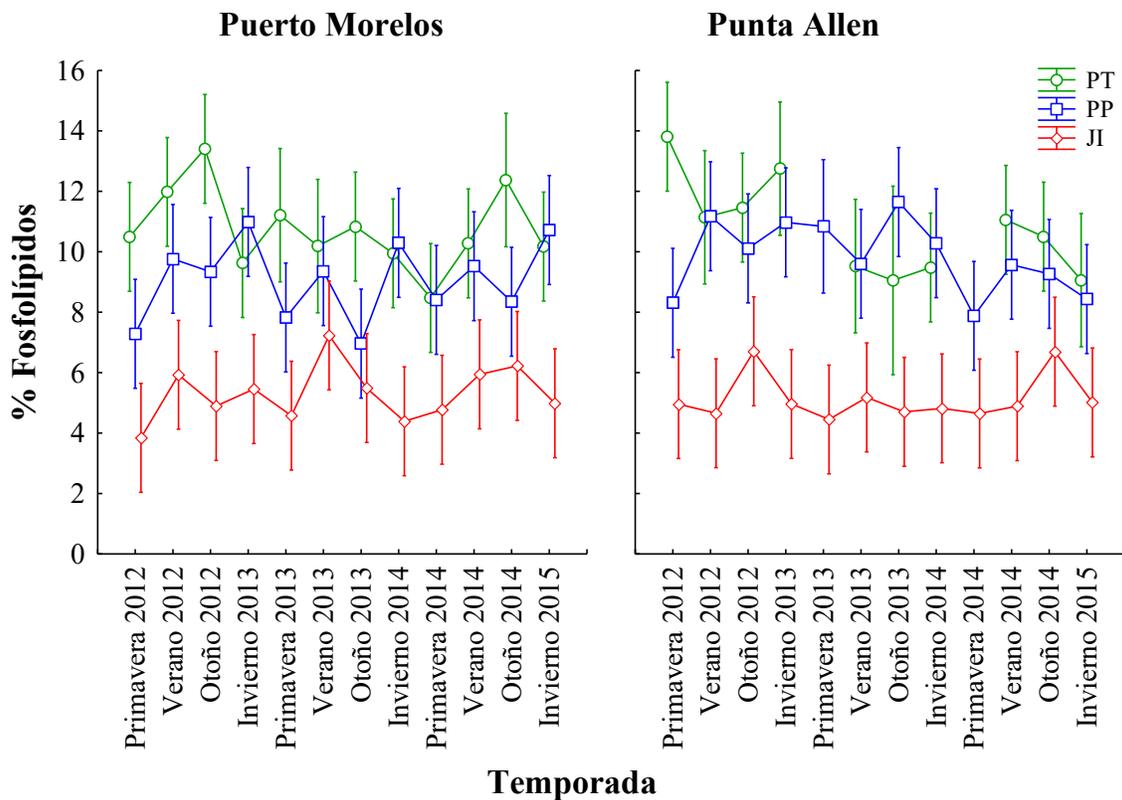


Fig. 3 – Variación temporal en el porcentaje de fosfolípidos a partir del peso total del organismo (peso seco) de puerulos transparentes (PT, en verde), puerulos pigmentados (PP, en azul) y juveniles I (JI, en rojo) recolectados en las localidades de Puerto Morelos (izquierda) y Punta Allen (derecha). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

### Proteínas

El porcentaje de proteínas difirió significativamente entre localidades y estadios de desarrollo, mas no entre estaciones del año. La interacción entre Temporada y Localidad también fue significativa (Tabla 4).

Tabla 4 – Resultados del Modelo Lineal General para analizar los efectos de los factores Localidad (Puerto Morelos y Punta Allen), Temporada (primavera 2012 a invierno 2015, excluyendo primaveras de 2013 y 2014) y Estadio (puerulo transparente, puerulo pigmentado y juvenil I) en el porcentaje de proteínas (datos transformados a arcoseno de raíz cuadrada).

Efecto	SS	df	MS	F	p
Intercepto	71.516	1	71.516	17085.04	<0.001
Localidad	0.104	1	0.104	24.94	<0.001
Temporada	0.056	9	0.006	1.49	0.160
Estadio	1.329	2	0.664	158.74	<0.001
Loc × Temp	0.121	9	0.013	3.20	0.002
Loc × Est	0.003	2	0.001	0.37	0.694
Temp × Est	0.076	18	0.004	1.01	0.453
Loc × Temp × Est	0.038	18	0.002	0.50	0.953
Error	0.469	112	0.004		

En general, el porcentaje de proteínas no difirió significativamente entre los PT y PP, pero estos dos estadios presentaron porcentajes significativamente más altos que los JI (media ± IC:  $44.4 \pm 2.1\%$ ,  $42.4 \pm 1.3\%$  y  $26 \pm 1.9\%$ , respectivamente). Los organismos de Puerto Morelos, en particular los puerulos (PT y PP), presentaron por lo general un mayor contenido de proteínas que los de Punta Allen. Al igual que en los análisis de lípidos totales, no se observó una correspondencia en los valores altos y bajos de los porcentajes de proteínas en cada estadio al comparar las temporadas entre localidades (Fig. 4).

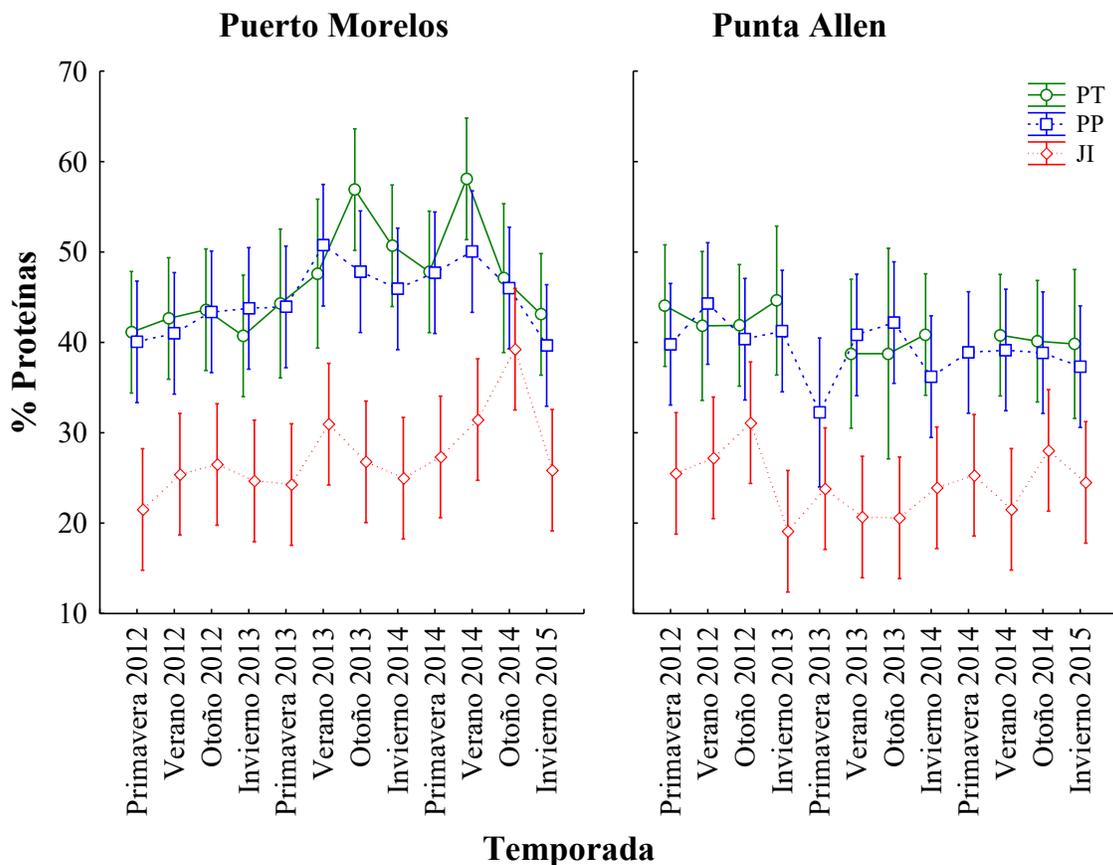


Fig. 4 – Variación temporal en el porcentaje de proteínas de puerulos transparentes (PT, en verde), puerulos pigmentados (PP, en azul) y juveniles I (JI, en rojo) recolectados en las localidades de Puerto Morelos (izquierda) y Punta Allen (derecha). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

### Factor de Condición

El FC (peso seco/LC) difirió significativamente entre estadios de desarrollo y entre estaciones del año, pero no entre localidades. La única interacción significativa fue la de Temporada × Estadio (Tabla 5).

Tabla 5 – Resultados del Modelo Lineal General para comparar los efectos de los factores Localidad (Puerto Morelos y Punta Allen), Temporada (primavera 2012 a invierno 2015, excluyendo primavera de 2013 y 2014) y Estadio (puerulo transparente, puerulo pigmentado y juvenil I) en el Factor de Condición (peso seco/longitud cefalotorácica).

Efecto	SS	df	MS	F	p
Intercepto	2958.63	1	2958.63	5961.25	<b>&lt;0.001</b>
Localidad	0.24	1	0.24	0.49	0.487
Temporada	13.02	9	1.45	2.91	<b>0.004</b>
Estadio	110.86	2	55.43	111.69	<b>&lt;0.001</b>
Loc × Temp	2.5	9	0.28	0.56	0.828
Loc × Est	0.32	2	0.16	0.32	0.728
Temp × Est	19.51	18	1.08	2.18	<b>0.007</b>
Loc × Temp × Est	9.26	18	0.51	1.04	0.426
Error	55.59	112	0.49		

Hubo una gran variabilidad temporal en el FC de los JI en comparación con los puerulos (PT y PP) (Fig. 5). En particular, el FC de los JI fue más bajo en otoño de 2012 y en verano de 2013 en Punta Allen, y en verano y otoño de 2014 en ambas localidades. El FC de los PT y PP no presentó variaciones significativas en el tiempo, y en general el valor de estos dos estadios fue significativamente menor que el de los JI, los cuales presentaron una amplia variación temporal, en particular en Punta Allen. El valor más alto en el FC de los JI de Puerto Morelos se presentó en invierno de 2015, después de los dos valores más bajos consecutivos (verano y otoño de 2014) (Fig. 5).

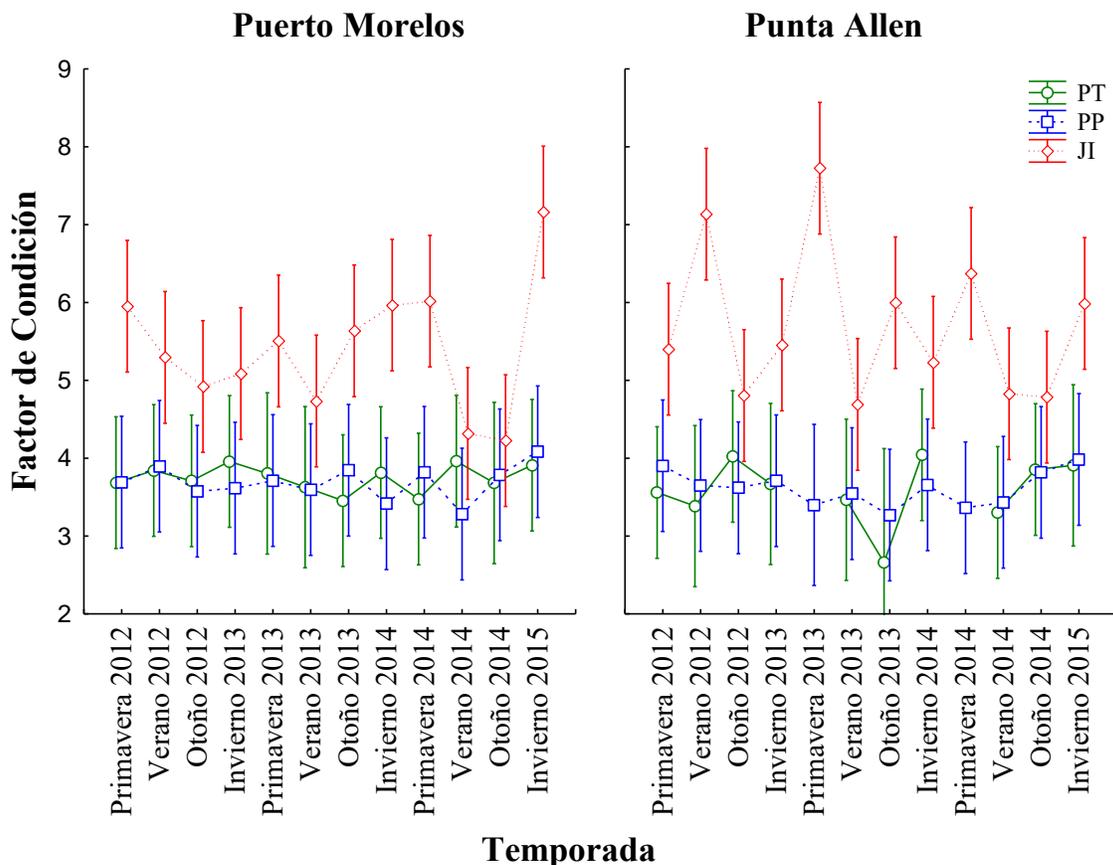


Fig. 5 – Variación temporal del factor de condición (peso seco/longitud cefalotorácica) de puerulos transparentes (PT, en verde), puerulos pigmentados (PP, en azul) y juveniles I (JI, en rojo) recolectados en las localidades de Puerto Morelos (izquierda) y Punta Allen (derecha). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

## 2.4 – Discusión

A pesar de no haber encontrado patrones espaciales o temporales en la cantidad de lípidos totales de los puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI) de *Panulirus argus*, en general se observó una disminución en los porcentajes a través de los tres estadios. En cuanto a los PT, el porcentaje de lípidos varió de manera interanual en las dos localidades, aunque no de la misma manera en ambas, lo que podría reflejar la variabilidad en la disponibilidad de alimento y en la temperatura en las distintas épocas del año. Se sabe que estos factores pueden afectar las tasas metabólicas

y la demanda energética de los puerulos nectónicos (PN), y por ende la condición nutricional de las subsecuentes fases bénticas (Lemmens 1994a, 1994b). Por otro lado, existen diferencias hidrográficas entre Puerto Morelos y Punta Allen que podrían influir en la variabilidad observada en la condición nutricional de los PT. La corriente de Caimán, que fluye desde el Caribe en dirección E-W, llega de manera perpendicular a la zona costera de Quintana Roo, con una gran variabilidad entre las zonas sur y central (Carrillo et al. 2015), mientras que la corriente de Yucatán, que se deriva de la de Caimán, fluye hacia el NE de manera paralela a la costa y alcanza sus máximas velocidades (hasta  $3 \text{ m s}^{-1}$ ) en las cercanías de Puerto Morelos (Candela et al. 2003; Richardson 2005; Cetina et al. 2006). Estas diferencias podrían influir principalmente en el desgaste que representa el nado a la costa por parte de los puerulos nectónicos, lo cual se vería reflejado en los subsecuentes estadios bénticos.

Los fosfolípidos constituyeron la clase de lípido más abundante en todos los estadios, por lo que presentaron un patrón de variación espacio-temporal muy similar al de los lípidos totales. Aunque se documentó un descenso en los lípidos totales y fosfolípidos en relación al peso seco en la transición PT-PP-JI, los porcentajes de fosfolípidos como proporción de los lípidos totales no presentaron diferencias significativas entre estadios (PT:  $84.94 \pm 1.17\%$ , PP:  $84.08 \pm 1.16\%$ , JI:  $83.87 \pm 1.53\%$ ). En diversos estudios se ha encontrado una clara dominancia de fosfolípidos en las fases bénticas tempranas de las langostas espinosas (p. ej., *Sagmariasus verreauxi*: Jeffs et al. 2002; *P. cygnus*: Limbourn & Nichols 2009), ya que son más fáciles de digerir y son una mejor fuente de ácidos grasos esenciales que los lípidos neutrales (Limbourn & Nichols 2009). Sin embargo, se encontró un descenso en los porcentajes de fosfolípidos durante la transición de PT a JI en *S. verreauxi* (de 94% en PT a 82% en JI, Jeffs et al. 2002) y en *P. cygnus* (de 91% en PT a

86% en JI, Limbourn & Nichols 2009). Cabe señalar que la proporción de esta clase lipídica fue mayor en los PT de dichas especies que en la encontrada en el presente estudio para los PT de *P. argus* (~85%). La segunda clase de lípidos más abundante en puerulos de *S. verreauxi* y *P. cygnus* fueron los esteroides, que en el presente estudio se encontraron en tercer lugar de importancia después del diacilglicerol, el cual no fue reportado para puerulos de *S. verreauxi* y *P. cygnus* por presentar muy bajo porcentaje (Jeffs et al. 2002; Limbourn & Nichols 2009). En las dos especies antes mencionadas, la única clase lipídica que aumentó durante la transición PT-JI fue el triacilglicerol, el cual se sintetiza a partir de los fosfolípidos y es una fuente de energía más fácilmente metabolizada por el hepatopáncreas, en preparación para la muda a JI (Jeffs et al. 2002; Limbourn & Nichols 2009). En el presente estudio se encontró un aumento en el colesterol, los ácidos grasos libres y los ésteres en la transición PT-JI, y a diferencia de lo reportado para *S. verreauxi* y *P. cygnus*, el triacilglicerol no presentó diferencias significativas entre estadios en *P. argus*. Ya que los fosfolípidos tampoco presentaron un descenso en la transición PT-JI, es posible que la disminución en el porcentaje de diacilglicerol esté relacionada con el aumento en las clases lipídicas antes mencionadas, en particular de los ácidos grasos libres.

Aunque el porcentaje de proteínas no varió significativamente entre PT y PP, sí fue significativamente menor en los JI. Este resultado podría deberse principalmente a la utilización de proteínas en la síntesis del nuevo exoesqueleto (Terwilliger 1999) y al incremento en peso del organismo debido al aumento de carbohidratos y minerales en la cutícula del JI (Stevenson 1985; Lemmens 1995). Limbourn & Nichols (2009) encontraron también un marcado descenso en el porcentaje de proteínas en la transición PP-JI de *P. cygnus*, pero también encontraron un aumento en la proporción de proteínas entre PT y PP,

aunque esto fue adjudicado a una disminución en el porcentaje de lípidos totales y no necesariamente a un incremento en la cantidad de proteínas.

A diferencia de los lípidos, el porcentaje de proteínas se mantuvo relativamente estable en los PT a través de las temporadas de estudio. Este resultado sugiere que los puerulos de *P. argus* no utilizan las proteínas como sustancia de reserva durante el nado a la costa, lo cual es consistente con lo encontrado en otras especies de langostas espinosas (p. ej., Phillips et al. 2006b; Limbourn & Nichols 2009).

Cuando el puerulo muda a JI, sufre cambios morfológicos sustanciales (Lewis et al. 1956, Lemmens 1995, Nishida et al. 1995), al grado de que dicha muda se ha equiparado con cierto tipo de metamorfosis (Ventura et al. 2015). En particular, sobreviene un aumento significativo en la altura del cefalotórax y en el volumen corporal del organismo (Martínez-Calderón 2015). Esto podría explicar que en ambas localidades de estudio, el FC siempre fue superior en los JI que en los puerulos. Además, en la muda a JI también aumenta la densidad de la cutícula (o exoesqueleto). El componente principal del exoesqueleto es la quitina (un polisacárido similar a la celulosa), pero también contiene proteínas, lípidos, pigmentos y diferentes tipos de carbohidratos en menor proporción (Stevenson 1985). Lemmens (1995) encontró que en la muda a JI hay una acumulación de calcio, el cual es usado en el endurecimiento del exoesqueleto, lo que también pudo haber contribuido de manera importante al aumento de peso de los JI. Además, es posible que en el presente estudio los JI ya hubieran reiniciado la alimentación posterior a la muda.

El Factor de Condición de los JI presentó valores altos en invierno de 2015 en Puerto Morelos y en verano de 2012 y primavera de 2013 en Punta Allen. En estas mismas temporadas y sitios, los JI presentaron valores intermedios en los porcentajes de lípidos totales y proteínas. En cambio, en verano de 2013 en Puerto Morelos, otoño de 2012 en

Punta Allen, y otoño de 2014 en ambas localidades, los JI presentaron valores bajos en el FC pero porcentajes altos tanto de lípidos totales como de proteínas. Para analizar si el FC, que es un índice morfométrico, refleja una buena condición nutricional bioquímica (contenido de lípidos totales o contenido de proteínas totales) en los JI, se hicieron análisis de correlación entre dichas variables. Al contrario de lo esperado, se encontró una correlación negativa entre los valores de FC y porcentajes de lípidos totales tanto en Puerto Morelos ( $r = -0.58, n = 36, p < 0.001$ ) como en Punta Allen ( $r = -0.47, n = 36, p = 0.003$ ). También el FC y los porcentajes de proteínas de los JI presentaron una correlación negativa en Puerto Morelos ( $r = -0.49, n = 36, p = 0.002$ ), y no se encontró una correlación entre ambas variables en los JI de Punta Allen ( $r = -0.11, n = 36, p = 0.52$ ). Esto sugiere que el FC (por lo menos como se estimó en el presente trabajo, utilizando el peso seco del animal) no es un indicador confiable de estas sustancias de reserva para los JI de *P. argus*. Sin embargo, es posible que este índice morfométrico esté más relacionado con la cantidad de carbohidratos en los JI, debido al incremento en la densidad del exoesqueleto.

Se encontró también una correlación negativa marginalmente significativa entre el porcentaje de lípidos totales y el factor de condición de los PP de Punta Allen ( $r = -0.35, n = 35, p = 0.04$ ), mientras que no hubo una correlación significativa entre estas variables en el caso de los PP de Puerto Morelos ( $r = -0.007, n = 36, p = 0.97$ ), los PT de Puerto Morelos ( $r = 0.16, n = 33, p = 0.37$ ), y los PT de Punta Allen ( $r = 0.04, n = 24, p = 0.86$ ). Esto se hace evidente al considerar la alta variabilidad estacional en el porcentaje de lípidos totales que presentaron los puerulos, en particular los transparentes, mientras que el factor de condición no tuvo variaciones significativas.

Los resultados del presente capítulo muestran una disminución gradual del contenido de lípidos totales en la transición PT-PP-JI de *P. argus* en las costas de Quintana Roo, y

una alta variabilidad en la condición nutricional de los PT. En las costas de Australia occidental se encontró que el contenido total de lípidos en puerulos recién asentados de la langosta subtropical *P. cygnus* era menor y la condición nutricional de sus puerulos bénticos presentaba importantes variaciones estacionales, interanuales, y espaciales (Limbourn & Nichols 2009; Limbourn et al. 2009) en comparación con los puerulos de las langostas de aguas frías *J. edwardsii* y *S. verreauxi* (Jeffs et al. 1999, 2002). La fase larvaria de *P. argus* se desarrolla en aguas más cálidas y oligotróficas que las especies de aguas templadas y subtropicales (Melo-González et al. 2000). Además, a diferencia de dichas especies, que presentan estacionalidad en la reproducción (Booth 1994, Jeffs et al. 2013, Wang et al. 2015), *P. argus* se reproduce durante casi todo el año (Briones et al. 1997). Es decir, los PT recién asentados en la costa de Quintana Roo podrían pertenecer a cohortes con orígenes geográficos y temporales muy distintos entre sí, y durante su fase larvaria, que dura entre 5 y 9 meses, pudieron haber experimentado de manera diferencial cambios oceanográficos locales o globales, como El Niño Oscilación del Sur (o ENSO por sus siglas en inglés), que afecta de manera general a los mares tropicales y subtropicales.

Por ejemplo, Limbourn et al. (2009) encontraron que en puerulos bénticos de *P. cygnus* muestreados en diferentes localidades costeras de Australia occidental, el contenido total de proteínas y lípidos fue menor en años ENSO que en años normales. A pesar de esto, se ha encontrado una relación entre los niveles de asentamiento de *P. cygnus* (monitoreados con colectores para puerulos) y la producción pesquera subsecuente, lo que ha permitido generar modelos predictivos para la captura (Phillips 1986; Caputi et al. 2010). Esta relación también se ha encontrado en *P. interruptus* (Arteaga-Ríos et al. 2007) y *J. edwardsii* (Booth & McKenzie 2009), especies que, como *P. cygnus*, presentan estacionalidad tanto en la reproducción como en el asentamiento, pero no en *P. argus*, lo

cual se ha adjudicado a la baja estacionalidad en su reproducción y en el asentamiento (Herrnkind & Butler 1994; Butler et al. 1997).

En Quintana Roo, donde se ha monitoreado el asentamiento de puerulos de *P. argus* por más de 20 años, se ha logrado encontrar un patrón estacional interanual en el asentamiento (con un máximo durante el otoño), una relación entre la variabilidad en el asentamiento y en el nivel del mar, y una asociación entre los picos extremos de asentamiento y el paso de tormentas tropicales por la región (Briones-Fourzán 1994; Briones-Fourzán et al. 2008), pero aún no se ha encontrado una relación aparente entre los índices de asentamiento y la producción de langosta (P. Briones-Fourzán, com. pers.). A partir de los resultados encontrados en el presente capítulo se puede suponer que la alta variabilidad estacional, interanual y espacial en la condición nutricional de los puerulos bénticos de *P. argus* puede ser un factor que esté influyendo en el desacoplamiento entre los niveles de asentamiento y la subsecuente abundancia poblacional, ya que aunque los puerulos hayan logrado sobrevivir y asentarse, los efectos latentes de experiencias adversas durante la fase larvaria (p. ej., retraso en la metamorfosis, periodos prolongados de inanición, exposición a dosis subletales de contaminantes, etc.), además de manifestarse en los puerulos como una condición nutricional deficiente, podrían manifestarse más adelante durante la fase juvenil o incluso hasta la fase adulta (Pechenik 2006).

### **Capítulo 3: Comparación de índices nutricionales bioquímicos entre filosomas de último estadio (FX), puerulos nectónicos (PN), puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos bénticos pigmentados (PP) y primer estadio juvenil (JI)**

#### **3.1 – Introducción**

Las larvas de las langostas espinosas (filosomas) se desarrollan en aguas oceánicas, y pasan por entre 9 y 12 estadios larvarios, dependiendo de la especie (Phillips et al. 2006a). El último estadio larvario pasa por una drástica metamorfosis a la fase de postlarva (puerulo), que a diferencia de las filosomas (que son planctotróficas), no se alimenta (Kittaka 1994; Lemmens 1994a, 1994b; Goldstein et al. 2008). Independientemente del punto oceánico donde ocurra la metamorfosis, el puerulo debe dirigirse a la zona costera y asentarse en algún hábitat béntico donde pueda llevar a cabo la muda a la fase juvenil y continuar con su ciclo de vida (Phillips et al. 2006a).

En larvas de crustáceos en general, y de langostas en particular, el principal sustrato energético lo constituyen los lípidos y luego las proteínas, mientras que los carbohidratos son utilizados como sustrato energético en mucho menor proporción (Moran & McAlister 2009). Al disminuir las reservas lipídicas, el metabolismo depende del uso de proteínas, al igual que el crecimiento somático. Sin embargo, a diferencia de las filosomas tardías, la cantidad de lípidos de reserva en las filosomas tempranas es relativamente baja (Phleger et al. 2001; Smith et al. 2003). Ikeda et al. (2011) midieron distintas tasas metabólicas en filosomas I a IX de *Panulirus ornatus* y encontraron que a lo largo de la fase larvaria, la tasa de excreción de amonio es muy baja. Una tasa de excreción de amonio reducida sugiere una baja actividad natatoria y un uso preferencial de proteínas para el crecimiento somático más que para el metabolismo. Lo anterior quedó demostrado por la ausencia de

variación significativa en el contenido de agua y nitrógeno, así como en la razón C:N, durante el desarrollo larvario.

Lemmens (1994a, 1994b), quien analizó diferentes índices nutricionales bioquímicos en la transición filosoma-pherululo-juvenil de *P. cygnus*, encontró que las razones C:N y ARN:ADN no diferían entre filosomas tardías y pherulos nectónicos pero disminuían significativamente en pherulos béticos y luego tendían a aumentar en los juveniles, concluyendo que la natación hacia la costa representa una demanda energética considerable para los pherulos. Jeffs et al. (1999) compararon el contenido total de lípidos, carbohidratos y proteínas entre pherulos nectónicos y béticos de *Jasus edwardsii* y solo encontraron diferencias significativas en el contenido de lípidos totales, lo que indica que los lípidos son el principal sustrato energético de los pherulos. Esto fue confirmado por Wells et al. (2001) por medio del análisis de la actividad de diferentes enzimas en pherulos y juveniles de *J. edwardsii*.

Al calcular la tasa de consumo energético de pherulos durante la natación activa a través de la plataforma continental, Jeffs et al. (1999) concluyeron que muchos pherulos de *J. edwardsii* contenían suficientes reservas para llegar a las zonas de asentamiento. Sin embargo, más adelante, Jeffs et al. (2001a) recolectaron 33 pherulos nectónicos “nuevos” (es decir, que acababan de pasar por la metamorfosis a juzgar por su exoesqueleto suave) a distancias de 24 a 216 km de la costa y estimaron que 16% de dichos pherulos no contaban con suficientes reservas para llegar a la zona costera de asentamiento y que algunos de los que sí lo lograrían morirían por desgaste energético antes de mudar en juveniles.

Más adelante, Wilkin y Jeffs (2011) determinaron que la natación sostenida a 15 cm s<sup>-1</sup> de los últimos 20 km a la costa por parte de pherulos nectónicos de *J. edwardsii* probablemente agotaría sus reservas energéticas antes de pudieran llegar a la costa,

mientras que nadar a menos de  $5\text{-}7\text{ cm s}^{-1}$  resultaría ineficiente, debido a la sobrecarga del metabolismo inactivo. Al respecto, Fitzgibbon et al. (2014) encontraron que los puerulos nectónicos de *Sagmariasus verreauxi* contaban con una capacidad limitada para realizar un nado activo a través la plataforma continental. Estimaron que dichos puerulos requieren al menos 13.8 mg de lípidos almacenados (es decir, 18.4% de su peso seco) para completar la etapa de puerulo y lograr un reclutamiento exitoso a hábitats costeros. Ambos estudios infirieron que el éxito del reclutamiento está condicionado por las reservas energéticas acumuladas durante la etapa larvaria previa y por las condiciones oceanográficas favorables para la transición oceánica-béntica.

### **3.2 - Materiales y métodos**

#### **Muestreo de FX y PN**

La recolecta en aguas oceánicas de FX y PN se llevó a cabo durante dos campañas oceanográficas en el B/O “Justo Sierra” de la UNAM. La primera campaña, Metamorfosis 1, se desarrolló en otoño (12 a 24 de noviembre, 2012), cuando el índice de asentamiento de puerulos en la zona costera presenta su pico interanual más alto; la segunda, Metamorfosis 2, se desarrolló en primavera (4 a 14 de abril, 2013), cuando se presenta un pico interanual secundario en el índice de asentamiento (Briones-Fourzán 1994; Briones-Fourzán et al. 2008). Ambas campañas fueron originalmente planeadas para ser realizadas en la fase oscura del ciclo lunar (entre el cuarto menguante y el cuarto creciente), cuando las filosomas y PN ascienden a las aguas más superficiales durante la noche (Baisre et al. 1978; Rimmer & Phillips 1979; Yoshimura et al. 1999; Phillips et al. 2006b). Esto se logró en la campaña Metamorfosis 2, pero por cuestiones logísticas no fue posible hacerlo en

Metamorfosis 1, la cual se llevó a cabo entre la luna nueva y la luna llena.

En cada campaña se estableció una red de estaciones de muestreo distribuidas en una amplia zona oceánica frente a la costa de Quintana Roo, entre el canal de Yucatán al norte y Punta Pájaros, al sur de la bahía del Espíritu Santo, al sur. Las estaciones oceánicas se hicieron a lo largo de transectos cuya longitud se procuró que estuviera determinada por la distancia comprendida entre la isóbata de 50 m (el extremo más cercano a la costa) y la isóbata de 2000 m (Fig. 6). A lo largo de cada transecto se realizaron entre cuatro y siete estaciones de muestreo en un gradiente de distancias a la costa.

Para aumentar las probabilidades de capturar FX y PN, organismos que se encuentran muy diluidos en las masas de agua (Booth 1994; Jeffs et al. 1999), se utilizaron dos muestreadores de manera simultánea: una red de media agua tipo Tucker Trawl (con boca de 9 m<sup>2</sup> de área, longitud de 12 m, luz de malla de 10 mm en el cuerpo de la red y de 1 mm en el copo) que se arrastró por popa, y una red de neuston (de 1.5 m<sup>2</sup> de área de boca, longitud de 3 m, luz de malla de 3 mm en el cuerpo de la red y de 1 mm en el copo) que se arrastró por estribor. En promedio, las redes se arrastraron en contra de la corriente a 2.5 m s<sup>-1</sup> durante 30–35 min, exclusivamente durante la noche (a partir de 1 h después del ocaso y hasta 1 h antes del amanecer) (Yoshimura et al. 1999; Jeffs et al. 1999, 2001a; Dennis et al. 2001; Phillips et al. 2006b). La red de media agua operó en un estrato de profundidad comprendido entre 5 y 15 m, mientras que la red de neuston operó en el metro superior de la columna de agua.

Inmediatamente después de terminar cada arrastre, las FX y los PN de *P. argus* se separaron de la muestra y se les preservó en nitrógeno líquido. Antes de ser congelados, los PN fueron fotografiados con fondo de papel milimétrico (para posterior ajuste de escala). Ya en tierra, todos los organismos colectados fueron transferidos a un ultracongelador

donde permanecieron a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta hacerles los análisis correspondientes.

A partir de las fotografías tomadas durante las campañas, se obtuvo la medida de longitud cefalotorácica (LC) de cada PN por medio del programa ImageJ, que es la misma medida que se registra para los organismos obtenidos en los colectores (así como en la mayoría de estudios de langostas) por ser la menos sujeta a error.

### **Determinación de índices nutricionales**

Se extrajeron lípidos totales y proteínas, y se determinaron las clases de lípidos de 104 individuos de Metamorfosis 1 (52 FX y 52 PN) y 44 individuos de Metamorfosis 2 (19 FX y 25 PN). Los individuos representantes de cada estación de muestreo fueron escogidos aleatoriamente. También se obtuvo el Factor de Condición (FC) de los PN, que es el cociente peso corporal (peso seco)/longitud cefalotorácica.

Los contenidos de lípidos totales y de proteínas fueron determinados en el Laboratorio Marino de Leigh, Universidad de Auckland, Nueva Zelanda, y las clases de lípidos se obtuvieron en el Instituto de Ciencia Marina de Sidney, Australia. La determinación de estas sustancias de reserva se realizó mediante las mismas metodologías que se usaron para procesar los estadios bentónicos del capítulo 2. Los porcentajes de lípidos totales y proteínas se obtuvieron en relación al peso seco de cada individuo liofilizado. Los porcentajes de clases de lípidos se obtuvieron tanto en relación con la proporción de los lípidos totales como en relación al peso seco de cada individuo liofilizado.

### **Análisis de datos**

Los datos expresados en porcentajes no se distribuyen normalmente, por lo que los

resultados de porcentajes de las distintas sustancias de reserva analizadas en este capítulo fueron transformados mediante el arcoseno de la raíz cuadrada para normalizar su distribución, pero las gráficas se presentan como porcentajes para facilitar su interpretación biológica.

Se utilizaron Modelos Lineales Generales factoriales para analizar la variación temporal en los siguientes índices nutricionales (variables de respuesta): (1) el contenido de lípidos totales y (2) el contenido de proteínas entre los cinco estadios de desarrollo, con los datos de los estadios pelágicos (FX y PN) colectados en ambas campañas oceanográficas y de los estadios bénticos (PT, PP y JI) obtenidos en colectores tanto en Puerto Morelos como en Punta Allen en las temporadas correspondientes a cada campaña. Así, para cada variable de respuesta, los factores principales fueron Estadio de desarrollo (Estadio, factor fijo con 5 niveles: FX, PN, PT, PP y JI) y Estación del año (Temporada, factor fijo con 2 niveles correspondientes a otoño de 2012 y primavera de 2013). El modelo final incluyó los términos Estadio, Temporada y su interacción. En el caso de resultados significativos, se realizaron pruebas de Tukey (HSD) para muestras de tamaño diferente con el fin de determinar cuáles medias diferían entre sí.

Para determinar si los indicadores de condición nutricional de los puerulos disminuían en su tránsito hacia la zona costera, se realizaron una serie de análisis de regresión en los que se consideró como variable independiente la distancia a la costa de las estaciones donde se obtuvieron los puerulos analizados, y como variables dependientes el porcentaje de lípidos totales, el peso de los lípidos totales, el peso seco de los organismos (p.ej. Phillips et al. 2006b) y el Factor de Condición. En todos estos análisis se incluyeron los PT (es decir, puerulos recién asentados) obtenidos en los colectores de Punta Allen y Puerto Morelos en las estaciones del año correspondientes a cada campaña. La distancia a

la costa se definió como la línea recta desde la estación de muestreo en que cada PN fue capturado al punto más cercano de costa continental, y se le asignó un valor de 0 km a los PT provenientes de los colectores. En todos los casos, los resultados se consideraron significativos si  $p < 0.05$ .

### 3.3 – Resultados

#### Muestreo de FX y PN

En Metamorfosis 1 (noviembre de 2012) se llevaron a cabo 63 estaciones de muestreo distribuidas en 9 transectos perpendiculares al borde continental (Fig. 6a). En la campaña Metamorfosis 2 (abril de 2013), las noches más cortas y el mal tiempo limitaron el número de estaciones de muestreo realizadas a 34, que estuvieron distribuidas en 7 transectos (Fig. 6b).

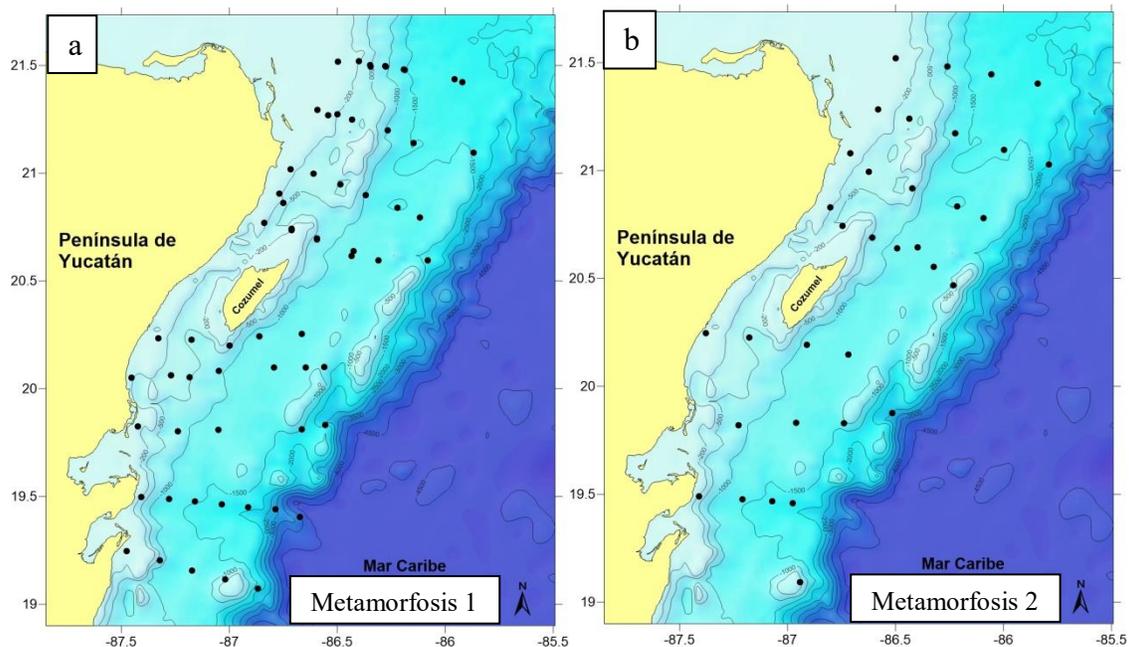


Fig. 6 - Estaciones de muestreo distribuidas en transectos perpendiculares al borde continental en las campañas oceanográficas (a) Metamorfosis 1 (noviembre de 2012) y (b) Metamorfosis 2 (abril de 2013).

## Lípidos totales

El porcentaje de lípidos totales difirió significativamente entre estadios de desarrollo, pero no entre temporadas. Sin embargo, la interacción entre de estos dos factores fue significativa (Tabla 6).

Tabla 6 – Resultados del Modelo Lineal General para analizar los efectos de los factores Temporada (otoño de 2012 y primavera de 2013) y Estadio (Filosoma X, puerulo nectónico, puerulo béntico transparente, puerulo pigmentado y juvenil I) en el contenido de lípidos totales de los organismos (datos transformados a arcoseno de raíz cuadrada).

Efecto	SS	df	MS	F	p
Intercepto	13.645	1	13.645	9540.230	<0.001
Temporada	0.0003	1	0.0003	0.232	0.630
Estadio	1.129	4	0.282	197.437	<0.001
Temp × Est	0.067	4	0.017	11.696	<0.001
Error	0.253	177	0.001		

En la figura 7 se aprecia una disminución en el porcentaje de lípidos totales, principalmente en la transición FX-puerulos (los tres estadios)-JI. Los PN presentaron mayores porcentajes de lípidos totales que los PP en ambas temporadas (Fig. 7). Sin embargo, en otoño hubo una disminución drástica en el porcentaje de lípidos totales entre las FX y los PN y luego una disminución gradual entre los PN, PT y PP, mientras que en primavera, la disminución más drástica no fue entre FX y PN, sino entre PN y PT. Estas diferencias se reflejan en la significancia de la interacción Temporada × Estadio.

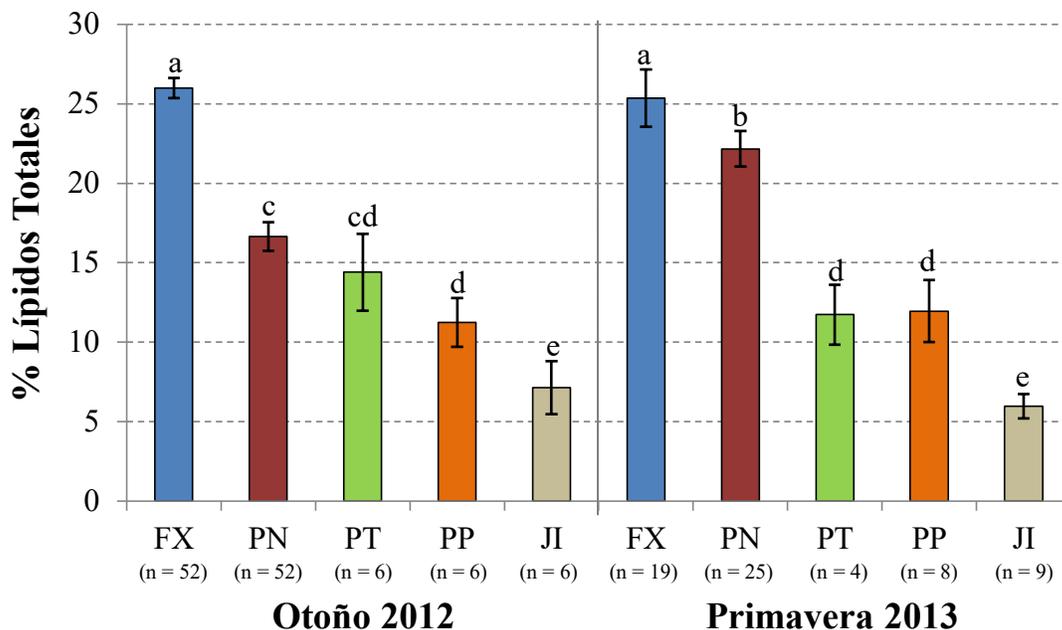


Fig. 7 – Porcentaje de lípidos totales en filosomas de último estadio (FX) y puerulos nectónicos (PN) recolectados durante las campañas oceanográficas Metamorfosis 1 (Otoño de 2012) y Metamorfosis 2 (Primavera de 2013), y en puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI) recolectados en las localidades de Puerto Morelos y Punta Allen en otoño de 2012 y primavera de 2013. Las medias con letras iguales no son significativamente distintas ( $p > 0.05$ ). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

### Clases de lípidos

Las clases de lípidos más abundantes en todos los estadios fueron los fosfolípidos (~80–87%), seguidos por el diacilglicerol (~3–10%) y el colesterol (~2–4%). En mucha menor proporción se encontraron ácidos grasos libres (~0.6–3.5%), ésteres (~0.6–2.4%), monoacilglicerol (~0.3–1.1%) y triacilglicerol (~0.2–1.8%) (Tabla 7).

Tabla 7 – Porcentajes de las clases de lípidos presentes en filosomas de último estadio (FX) y puerulos nectónicos (PN) recolectados durante las campañas oceanográficas Metamorfosis 1 (Otoño de 2012) y Metamorfosis 2 (Primavera de 2013), así como en puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI) recolectados en las localidades de Puerto Morelos y Punta Allen en otoño de 2012 y primavera de 2013 (media  $\pm$  IC al 95%).

Clase de lípido	Otoño 2012					Primavera 2013				
	FX	PN	PT	PP	JI	FX	PN	PT	PP	JI
Fosfolípidos (PL)	86.35 $\pm$ 0.91	86.50 $\pm$ 1.12	86.69 $\pm$ 1.69	86.42 $\pm$ 1.85	86.33 $\pm$ 5.34	85.80 $\pm$ 1.95	84.25 $\pm$ 0.62	86.66 $\pm$ 1.28	79.75 $\pm$ 5.03	84.56 $\pm$ 3.94
Diacilglicerol (DAG)	8.21 $\pm$ 0.84	7.10 $\pm$ 1.03	6.81 $\pm$ 1.20	5.50 $\pm$ 1.15	3.30 $\pm$ 1.92	9.16 $\pm$ 1.84	10.46 $\pm$ 0.61	7.27 $\pm$ 1.04	9.33 $\pm$ 2.43	6.83 $\pm$ 3.67
Colesterol (Chol)	2.22 $\pm$ 0.12	2.60 $\pm$ 0.11	3.32 $\pm$ 0.10	3.17 $\pm$ 0.27	3.24 $\pm$ 0.35	2.20 $\pm$ 0.17	2.90 $\pm$ 0.12	3.25 $\pm$ 0.50	3.96 $\pm$ 1.38	3.60 $\pm$ 0.26
Ácidos grasos libres (FFA)	0.94 $\pm$ 0.14	1.27 $\pm$ 0.12	1.04 $\pm$ 0.34	1.27 $\pm$ 0.46	2.68 $\pm$ 1.48	0.92 $\pm$ 0.19	0.80 $\pm$ 0.08	0.61 $\pm$ 0.40	3.47 $\pm$ 4.01	1.95 $\pm$ 0.96
Ésteres (SE)	0.91 $\pm$ 0.10	1.04 $\pm$ 0.35	1.13 $\pm$ 0.33	1.86 $\pm$ 0.75	2.31 $\pm$ 1.06	0.85 $\pm$ 0.14	0.55 $\pm$ 0.13	1.30 $\pm$ 0.68	2.42 $\pm$ 1.78	1.56 $\pm$ 0.35
Monoacilglicerol (MAG)	1.06 $\pm$ 0.14	1.11 $\pm$ 0.17	0.51 $\pm$ 0.19	0.49 $\pm$ 0.18	0.32 $\pm$ 0.34	0.75 $\pm$ 0.23	0.68 $\pm$ 0.09	0.25 $\pm$ 0.21	0.35 $\pm$ 0.17	0.85 $\pm$ 0.39
Triacilglicerol (TAG)	0.30 $\pm$ 0.07	0.36 $\pm$ 0.11	0.49 $\pm$ 0.32	1.30 $\pm$ 0.98	1.81 $\pm$ 2.41	0.25 $\pm$ 0.10	0.33 $\pm$ 0.06	0.66 $\pm$ 0.46	0.73 $\pm$ 0.66	0.65 $\pm$ 0.49

En ambas temporadas, el colesterol y los ésteres presentaron mayores porcentajes en organismos bénticos que en oceánicos, pero los fosfolípidos no mostraron una tendencia a disminuir a través de los diferentes estadios. En otoño de 2012, el diacilglicerol disminuyó en los PP y JI, y el monoacilglicerol fue menor en los estadios bénticos que en los oceánicos, pero ninguna de estas dos clases lipídicas presentó el mismo patrón en primavera de 2013. En cuanto a los organismos bénticos, el porcentaje de ácidos grasos libres fue mayor en JI que en PT en ambas temporadas, y el porcentaje de diacilglicerol disminuyó de PT a JI en otoño de 2012, pero no en primavera de 2013 (Fig. 8).

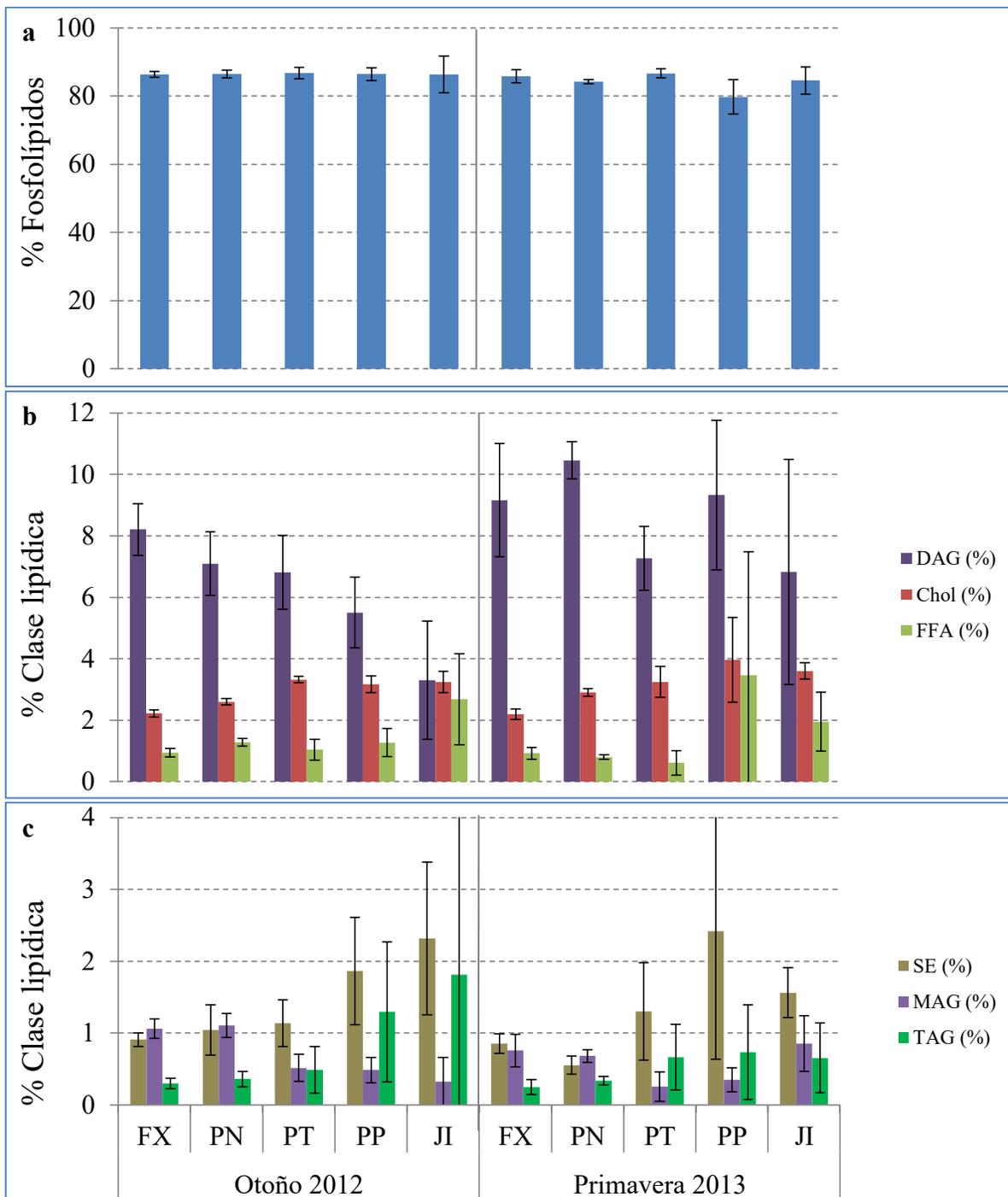


Fig. 8 – Porcentaje de las clases de lípidos en relación a los lípidos totales en filosomas de último estadio (FX) y puerulos neotónicos (PN) recolectados durante las campañas oceanográficas Metamorfosis 1 (Otoño de 2012) y Metamorfosis 2 (Primavera de 2013), así como en puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI) recolectados en las localidades de Puerto Morelos y Punta Allen en otoño de 2012 y primavera de 2013. (a) Fosfolípidos (PL), (b) diacilglicerol (DAG), colesterol (Chol), ácidos grasos libres (FFA), (c) ésteres (SE), monoacilglicerol (MAG) y triacilglicerol (TAG). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

Con el fin de comparar de manera más directa con los lípidos totales, se obtuvo el porcentaje de las clases de lípidos en relación al peso total de cada organismo (peso seco). En general hubo un descenso en los porcentajes de las clases de lípidos más abundantes (fosfolípidos, diacilglicerol y colesterol) y del monoacilglicerol, principalmente de los estadios oceánicos a los bénticos, con porcentajes particularmente bajos después de la muda a JI. No se observó una variación significativa en los porcentajes de triacilglicerol entre las dos temporadas. Los ácidos grasos libres y esteroides no mostraron variación significativa en otoño de 2012, aunque en primavera de 2013 los PP presentaron valores elevados de ambas clases lipídicas en comparación con el resto de los estadios (Fig. 9).

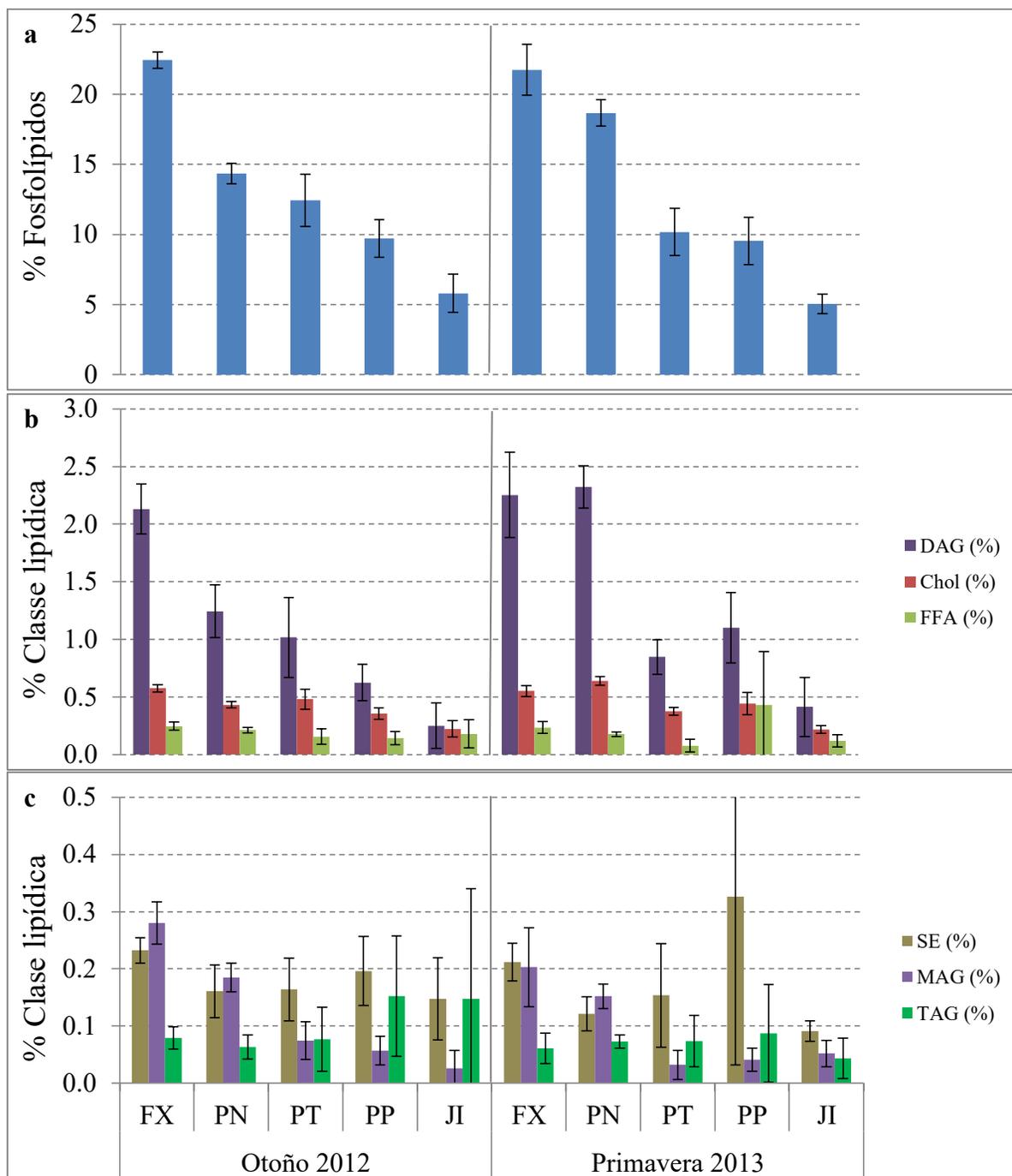


Fig. 9 – Porcentaje de las clases de lípidos en relación al peso total (peso seco) en filosomas de último estadio (FX) y puerulos neotónicos (PN) recolectados durante las campañas oceanográficas Metamorfosis 1 (Otoño de 2012) y Metamorfosis 2 (Primavera de 2013), así como en puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI) recolectados en las localidades de Puerto Morelos y Punta Allen en otoño de 2012 y primavera de 2013. (a) Fosfolípidos (PL), (b) diacilglicerol (DAG), colesterol (Chol), ácidos grasos libres (FFA), (c) ésteres (SE), monoacilglicerol (MAG) y triacilglicerol (TAG). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

## Proteínas

Al igual que el porcentaje de lípidos totales, el porcentaje de proteínas también difirió significativamente entre estadios de desarrollo, mas no entre temporadas, pero la interacción entre ambos factores también fue significativa (Tabla 8).

Tabla 8 – Resultados del Modelo Lineal General para analizar los efectos de los factores Temporada (otoño de 2012 y primavera de 2013) y Estadio (Filosoma X, puerulo nectónico, puerulo transparente, puerulo pigmentado y juvenil I) en el porcentaje de proteínas de los organismos (datos transformados a arco seno de raíz cuadrada).

Efecto	SS	df	MS	F	p
Intercepto	37.864	1	37.864	21982.71	<b>&lt;0.001</b>
Temporada	0.004	1	0.004	2.37	0.126
Estadio	0.469	4	0.117	68.04	<b>&lt;0.001</b>
Temp × Est	0.029	4	0.007	4.18	<b>0.003</b>
Error	0.305	177	0.002		

En general, el porcentaje de proteínas no difirió significativamente entre los PN, PT y PP, y fue significativamente más alto en estos tres estadios que en FX y JI (Fig. 10).

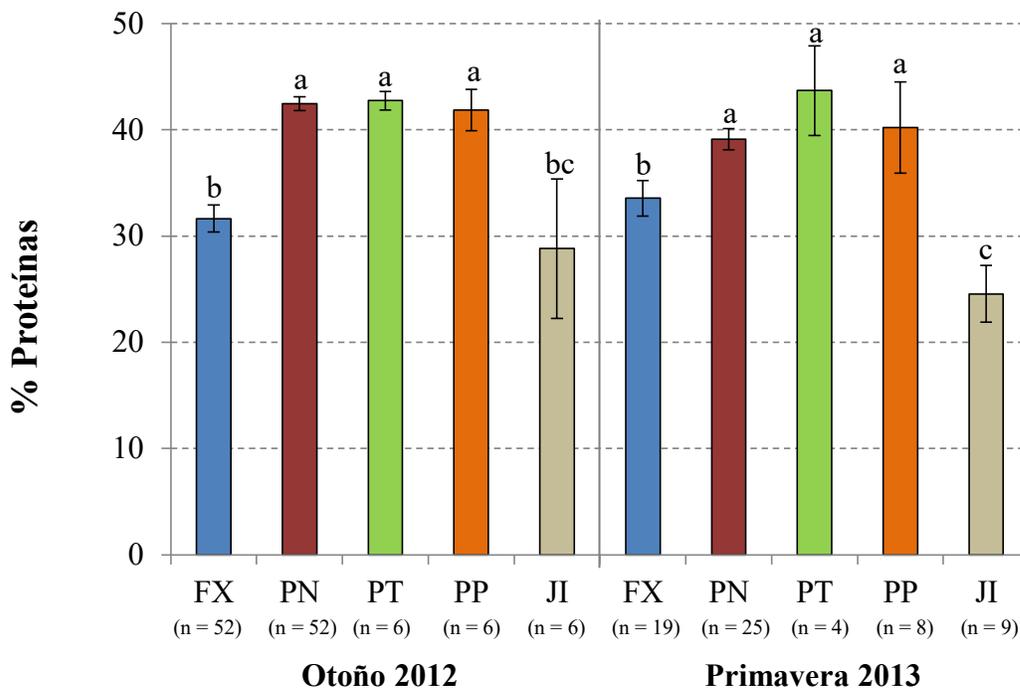


Fig. 10 –Porcentaje de proteínas en filaromas de último estadio (FX) y puerulos nectónicos (PN) recolectados durante las campañas oceanográficas Metamorfosis 1 (Otoño de 2012) y Metamorfosis 2 (Primavera de 2013), así como de puerulos bénticos transparentes (PT), puerulos pigmentados (PP) y juveniles I (JI) recolectados en las localidades de Puerto Morelos y Punta Allen en otoño de 2012 y primavera de 2013. Las medias con letras iguales no son significativamente distintas ( $p > 0.05$ ). Las barras de error indican el intervalo de confianza al 95%.

### Índices bioquímicos y morfométricos de PN en función de la distancia a la costa

A pesar de que los PN se capturaron a distancias de entre 1 y 100 km de la costa más cercana, no se encontró una relación aparente entre el porcentaje de lípidos totales y la distancia a la costa en que fueron capturados en ninguna de las dos temporadas (Otoño 2012:  $r^2 = 0.004$ ,  $n = 58$ ,  $p = 0.62$ ; Primavera 2013:  $r^2 = 0.076$ ,  $n = 29$ ,  $p = 0.15$ ). Los datos del otoño 2012 (Fig. 11a) no muestran ninguna tendencia. En el caso de la primavera 2013 (Fig. 11b), se pueden observar bajos porcentajes de lípidos totales en algunos de los PN capturados a mayor distancia de la costa (en comparación con los colectados a menor

distancia), aunque los menores porcentajes de lípidos totales los presentaron los PT capturados en los colectores.

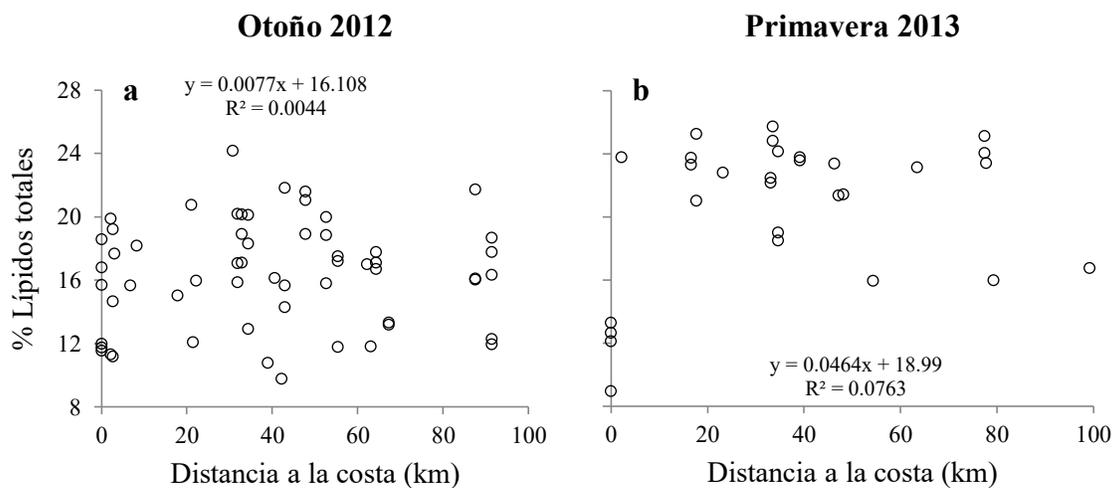


Fig. 11 – Relación entre el porcentaje de lípidos totales de los puerulos nectónicos capturados en las campañas y los puerulos bénticos transparentes capturados en los colectores en las temporadas correspondientes a cada campaña, y la distancia a la costa en que fueron colectados: (a) Otoño 2012 y (b) Primavera 2013.

Tampoco se encontró una relación aparente entre el peso de los lípidos totales y la distancia a la costa en que fueron capturados los PN y PT en ninguna de las dos temporadas (Otoño 2012:  $r^2 = 0.001$ ,  $n = 58$ ,  $p = 0.79$ ; Primavera 2013:  $r^2 = 0.088$ ,  $n = 29$ ,  $p = 0.12$ ), ni entre el peso seco de los organismos y la distancia a la costa en que fueron capturados (Otoño 2012:  $r^2 = 0.006$ ,  $n = 58$ ,  $p = 0.57$ ; Primavera 2013:  $r^2 = 0.078$ ,  $n = 29$ ,  $p = 0.14$ ) (Fig. 12).

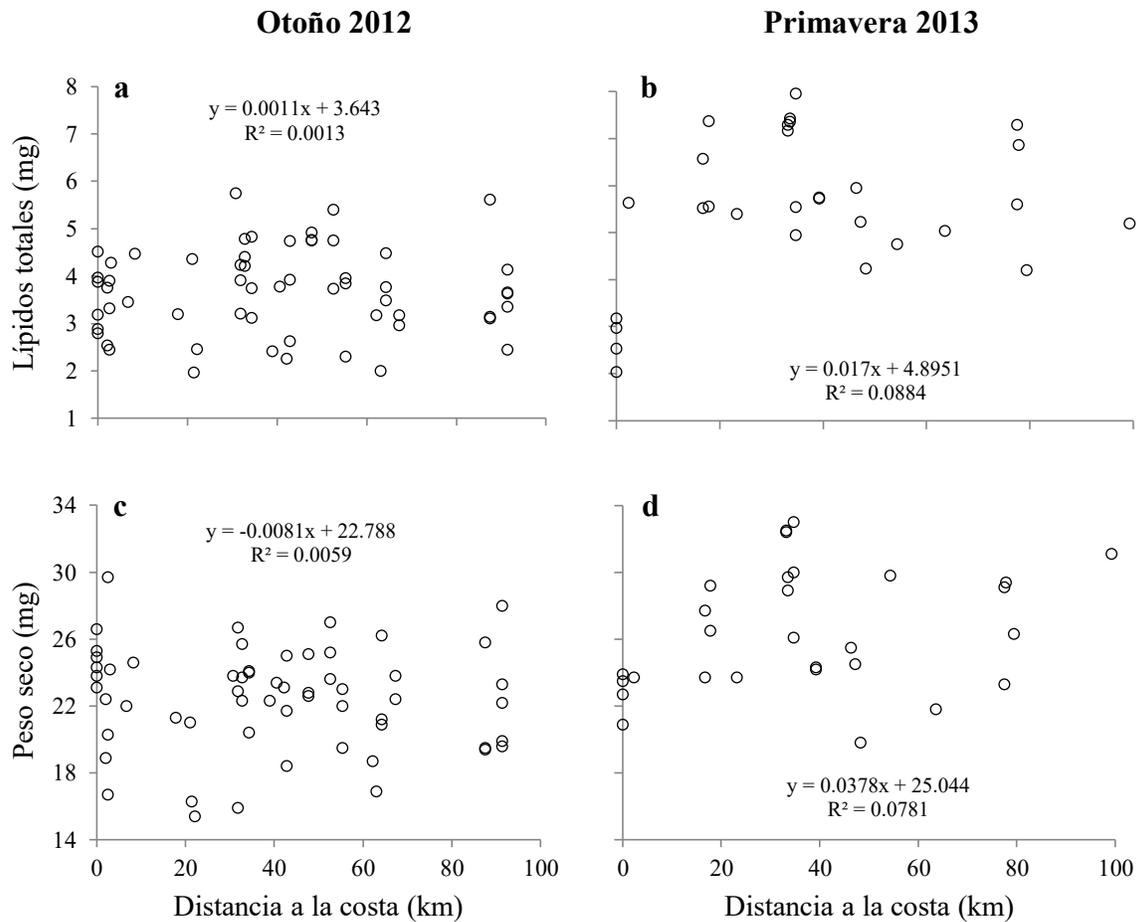


Fig. 12 – Cantidad de lípidos totales de los puerulos neotónicos capturados en las campañas y los puerulos bénticos transparentes capturados en los colectores en las temporadas correspondientes a cada campaña, en relación a la distancia a la costa en que fueron colectados: (a) Otoño 2012 y (b) Primavera 2013. Peso seco de los mismos organismos en relación a la distancia a la costa en que fueron colectados: (c) Otoño 2012 y (d) Primavera 2013.

El FC tampoco mostró una relación con la distancia a la costa en la que fueron capturados los PN y PT en ninguna de las dos temporadas (Otoño 2012:  $r^2 = 0.002$ ,  $n = 50$ ,  $p = 0.75$ ; Primavera 2013:  $r^2 = 0.123$ ,  $n = 29$ ,  $p = 0.06$ ) (Fig. 13).

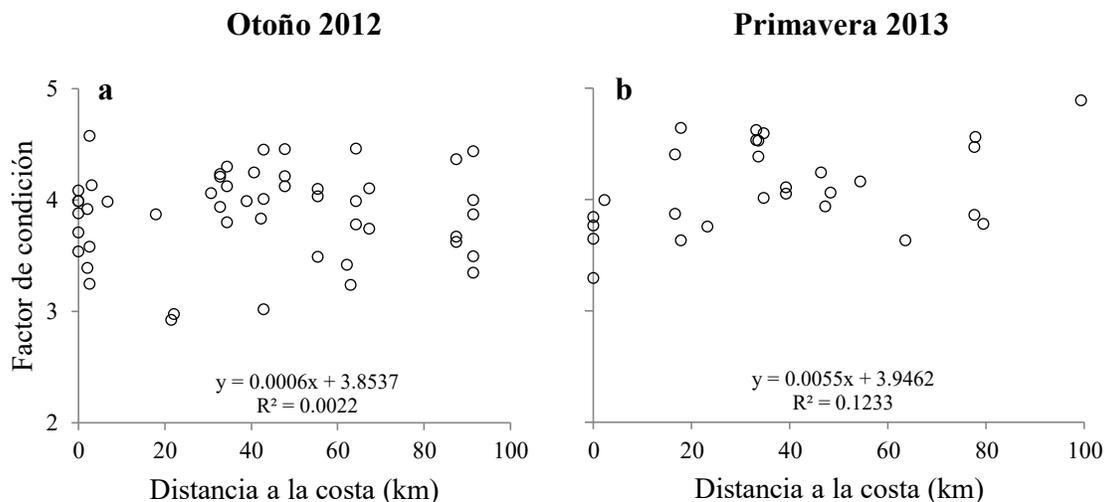


Fig. 13 – Factor de Condición (peso seco/longitud cefalotorácica) de los puerulos nectónicos capturados en las campañas y los puerulos bénticos transparentes capturados en los colectores en las temporadas correspondientes, en relación a la distancia a la costa en que fueron colectados: (a) Otoño 2012 y (b) Primavera 2013.

### 3.4 – Discusión

En promedio, durante la transición de FX a JI el porcentaje de lípidos totales en relación al peso seco de los organismos disminuyó de 26% a 7% en otoño de 2012 (es decir, 73%), y de 25% a 6% en primavera de 2013 (es decir, 76%). Un patrón similar se documentó para la especie *Panulirus cygnus* en Australia Occidental, la cual presentó una disminución de 78% en el porcentaje de lípidos totales durante esta misma transición (Limbourn & Nichols 2009). Al igual que en filosomas tardías y postlarvas de otras especies de langosta espinosa, los fosfolípidos fueron la clase de lípido dominante en estos estadios de *P. argus*, lo que explica su patrón de disminución entre estadios similar al de los lípidos totales. Una disminución en la cantidad de lípidos totales y fosfolípidos en la transición filosoma-puerulo-juvenil I se ha documentado, además de en *P. cygnus*, en *J. edwardsii* y *S. verreauxi* (Jeffs et al. 2001b, 2002; Limbourn & Nichols 2009).

Aunque en general se dio una disminución gradual en el porcentaje de lípidos totales entre estadios de desarrollo, la mayor reducción ocurrió entre los estadios FX y PT en ambas temporadas (~45% en otoño de 2012 y ~53% en primavera de 2013). Entre esos mismos estadios, la cantidad de lípidos totales de *P. cygnus* disminuyó 49% (Limbourne & Nichols 2009). Lo anterior refleja un alto grado de desgaste energético debido a la metamorfosis de filosoma a postlarva, seguida del nado de los PN hasta la costa. Durante estos eventos, los puerulos podrían estar utilizando cerca de la mitad de las reservas de lípidos que acumularon durante su estadio larvario final (Limbourne & Nichols 2009).

En otoño de 2012, el porcentaje de lípidos totales fue de 17% en PN y de 14% en PT (recién asentados). Jeffs et al. (1999) encontraron una proporción similar en PN de *Jasus edwardsii* colectados entre 18 y 22 km de distancia a la costa (17.9%), y PN y PT recién asentados colectados en la zona costera (14.6%). Sin embargo, esta proporción varió significativamente en la primavera de 2013 del presente estudio: 22% para PN y 12% para PT. Esta diferencia entre temporadas podría reflejar una variabilidad en el alimento potencial para filosomas tardías en la zona oceánica, además de diferencias estacionales en las condiciones hidrográficas.

En diversas especies de langostas espinosas se ha encontrado que la metamorfosis del último estadio larvario al PN ocurre en aguas oceánicas, fuera del borde continental (p. ej., *P. cygnus*: McWilliam & Phillips 1997; Phillips et al. 2006b, Phillips & McWilliam 2009; *P. japonicus*: Yoshimura et al. 1999; *J. edwardsii*: Wilkin & Jeffs 2011), y se ha sugerido que el principal estímulo para la metamorfosis es la obtención de un nivel crítico y específico de reservas energéticas (Phillips et al. 2006a; McWilliam & Phillips 2007), ya que el nado a la costa implica un fuerte desgaste energético. Por ejemplo, Phillips et al. (2006a) encontraron que los lípidos totales y los fosfolípidos disminuyeron

progresivamente en puerulos nectónicos de *P. cygnus* recolectados en un gradiente de mayor a menor distancia a la costa en una localidad donde la plataforma continental mide aproximadamente 40 km de ancho. Al respecto, Limbourn et al. (2009) relacionaron el desgaste energético con el ancho de la plataforma continental, al encontrar que en puerulos bénticos y juveniles I de *P. cygnus* muestreados en diferentes localidades costeras de Australia occidental a lo largo de varios años, el contenido total de proteínas y lípidos fue mayor en localidades donde la plataforma continental era más estrecha y viceversa.

Sin embargo, en el presente estudio no se intentó relacionar el contenido total de proteínas y lípidos de PN con el ancho de la plataforma continental como en los trabajos de Nueva Zelanda y Australia, debido a que la plataforma continental en el Caribe mexicano es sumamente estrecha (~3 km en promedio, Briones-Fourzán et al. 2008). Además, no se encontró una relación entre la distancia a la costa en que fueron capturados los puerulos y las diferentes variables analizadas (porcentaje de lípidos totales, peso de lípidos totales, peso seco de los organismos y Factor de Condición), por lo cual no fue posible realizar un cálculo del gasto energético de la natación, como se ha realizado para otras especies en las cuales sí hay una relación entre el contenido de lípidos y la distancia a la costa (p.ej. Jeffs et al. 1999).

En el caso de *P. cygnus* (en Australia occidental), *J. edwardsii* (en Nueva Zelanda) y *J. lalandii* (en Sudáfrica), no se han encontrado filosomas de último estadio dentro de la plataforma continental, y solo se encontraron unos cuantos puerulos nectónicos fuera del borde continental (en comparación con los encontrados dentro de la plataforma continental) (revisión en McWilliam & Phillips 1997). En ese mismo trabajo de revisión se propuso que la metamorfosis de las langostas espinosas se lleva a cabo más allá del borde continental (la isóbata de 200 m), que por lo general constituye una región de alta biomasa de plancton,

alimento apropiado para el desarrollo de las larvas y la metamorfosis exitosa. En cambio, en el presente estudio, la angosta plataforma continental de Quintana Roo no parece desempeñar un papel importante en la metamorfosis de *P. argus*. Se encontraron filosomas de último estadio desde la estación más cercana a la costa (~3km) hasta distancias de 100 km, y puerulos nectónicos en la mayoría de las estaciones de muestreo, y ni el porcentaje ni en el peso de los lípidos de estos puerulos mostró relación con la distancia de la costa en que fueron capturados. Estos resultados sugieren que algunos de los puerulos recolectados en las estaciones más alejadas de la costa podrían ya haber estado nadando por algún tiempo, y que algunos puerulos recolectados en las estaciones más cercanas a la costa podrían haber realizado la metamorfosis en esa misma zona.

Cabe mencionar que antes del presente estudio, los estudios de este tipo realizados en langostas espinosas se llevaron a cabo en especies cuya fase larvaria se desarrolla en aguas templadas a frías donde la abundancia del plancton es, en promedio, más alta (McWilliam & Phillips 1997; Jeffs et al. 2001a; Chiswell & Booth 2008) que en las aguas cálidas y oligotróficas del Caribe, donde se desarrolla la fase larvaria de *P. argus* (Melo-González et al. 2000). Además, dichas especies de aguas templadas y subtropicales presentan estacionalidad tanto en la reproducción como en el asentamiento (Booth 1994, Jeffs et al. 2013, Wang et al. 2015), y *P. argus*, aunque presente un pico principal de reproducción durante la primavera y otro secundario durante el otoño, se reproduce durante casi todo el año (Briones et al. 1997).

En el presente estudio se observó un marcado descenso en la concentración de lípidos totales de los PN en comparación con las FX. Sin embargo, las proporciones de las clases de lípidos presentaron pocos cambios, en particular las tres clases más abundantes (fosfolípidos, diacilglicerol y colesterol). De igual manera, Phleger et al. (2001)

encontraron que durante la transición de FX a PN de *J. edwardsii* ocurre un drástico descenso en la cantidad de lípidos totales, pero las proporciones de estas tres clases de lípidos permanecen constantes. Las clases de lípidos más abundantes en puerulos nectónicos y bénticos del presente estudio fueron los fosfolípidos (~80–87%), seguidos por el diacilglicerol (~6–11%) y el colesterol (~3–4%). En menores proporciones fueron encontrados ácidos grasos libres (~0.6–3.5%), ésteres (~0.6–2.4%), monoacilglicerol (~0.3–1.1%) y triacilglicerol (~0.2–1.8%). Al cuantificar los diferentes tipos de lípidos en puerulos nectónicos y bénticos de *J. edwardsii*, Jeffs et al. (2001b) encontraron una clara dominancia de fosfolípidos (86–96% del total de lípidos), una proporción baja de esteroides y diacilgliceroides, y solo trazas de triacilgliceroides y ésteres (<1% del total de lípidos). Un patrón similar se encontró en *Sagmariasus verreauxi* (93.8% del total de lípidos correspondiente a fosfolípidos, Jeffs et al. 2002) y *Panulirus cygnus* (86–94%, Limbourn & Nichols 2009). En estas tres especies, solo los lípidos polares difirieron significativamente entre puerulos nectónicos y bénticos, con valores menores en los bénticos, indicando que la principal reserva energética de los puerulos la constituyen los lípidos polares y no los lípidos neutros como el triacilglicerol y los ésteres, que constituyen la principal reserva energética de las postlarvas de otros crustáceos (p.ej. Anger et al. 1985; Harding & Fraser 1999). Esta diferencia podría deberse a que el índice de refracción del triacilglicerol hace a las postlarvas opacas, mientras que el de los lípidos polares las hace transparentes, y los puerulos dependen de su transparencia para reducir el riesgo de ser consumidos por depredadores pelágicos en su tránsito a la costa (Acosta & Butler 1999; Phillips et al. 2006a).

En los estadios bénticos de *P. argus* se encontró un aumento en el porcentaje de triacilglicerol en comparación con los estadios oceánicos. En distintas especies de langostas

(p. ej., *J. edwardsii*: Jeffs et al. 2001b; *P. cygnus*: Limbourn et al. 2008) se ha encontrado que durante el desarrollo de los puerulos bénticos, los fosfolípidos siguen siendo utilizados en el metabolismo, pero una porción de ellos es convertida a triacilglicerol, que se utiliza como combustible para realizar la muda a JI.

A diferencia de los lípidos, las proteínas no mostraron una disminución progresiva a través de los distintos estadios. El porcentaje de proteínas en relación al peso seco no presentó variación significativa entre los PN, PT y PP. El incremento en dicho porcentaje al pasar de FX a PN puede deberse al drástico descenso en el porcentaje de lípidos totales en esta misma transición, sin implicar necesariamente un aumento en la cantidad de proteínas. En la transición de PP a JI, el porcentaje de proteínas en relación al peso seco disminuyó de 42% a 29% en otoño de 2012 (es decir, ~31%), y de 40% a 25% en primavera de 2013 (~37%). Una disminución similar se documentó para *P. cygnus*, cuyo porcentaje de proteínas presentó una disminución de 33% en esta misma transición (Limbourn & Nichols 2009). El descenso en el porcentaje de proteínas puede deberse al incremento de carbohidratos y minerales (principalmente calcio) en los tejidos, como se discute en el capítulo anterior. Además, las proteínas disponibles podrían estar siendo utilizadas para la síntesis del nuevo exoesqueleto (Terwilliger 1999).

La disminución en el porcentaje de lípidos totales a través de los estadios de desarrollo, y el hecho de que las proteínas no presentaron dicho patrón, indica que los lípidos son el principal sustrato energético utilizado en la transición filosoma-puerulo-juvenil, como se ha encontrado en otras especies de langostas espinosas (p. ej., *J. edwardsii*: Jeffs et al. 1999, Wells et al. 2001; *Sagmariasus verreauxi*: Jeffs et al. 2002; *P. cygnus*: Limbourn & Nichols 2009). De esta manera, el presente capítulo muestra

similitudes en la fisiología energética de especies de langostas espinosas tropicales, subtropicales y templadas.

## **CAPÍTULO 4: Variación estacional de la vulnerabilidad nutricional del primer estadio juvenil de *Panulirus argus***

### **4.1 - Introducción**

La langosta espinosa del Caribe, *Panulirus argus* (Latreille 1804) se encuentra ampliamente distribuida en la región del gran Caribe, en donde constituye uno de los recursos pesqueros más importantes en el Atlántico centro-occidental (Holthuis 1991; Phillips et al. 2013). En las aguas cálidas del Caribe, *P. argus* se reproduce durante la mayor parte del año, con un pico principal durante la primavera y un pico secundario en el otoño (Briones et al. 1997). La fase larvaria consta de 10 estadios planctónicos de forma aplanada llamados *filosomas* (Goldstein et al. 2008). El desarrollo larvario se lleva a cabo en aguas oceánicas y tiene una duración de 5 a 9 meses, lo que confiere un enorme potencial de dispersión a las larvas. El último estadio larvario pasa por una drástica metamorfosis a la fase de postlarva, que consta de un solo estadio nectónico, el *puerulo*, cuya forma es más similar a la de una langosta adulta, pero es completamente transparente (Phillips et al. 2006a). A diferencia de las filosomas, que son planctotróficas, una característica muy importante de los puerulos es que no se alimentan, es decir, representan una fase lecitotrófica secundaria que depende de sus propias reservas energéticas (Kittaka 1994; Lemmens 1994b; McWilliam & Phillips 1997; Cox et al. 2008). Los puerulos nadan activamente hacia la costa y se asientan en hábitats costeros someros de vegetación sumergida, como pastos marinos y praderas de macroalgas (Butler & Herrnkind 2000; Briones-Fourzán & Lozano-Álvarez 2001). Pocos días después del asentamiento los puerulos mudan al primer estadio juvenil (JI), también conocido como postpuerulo (p. ej. Limbourn et al. 2008), el cual reanuda la alimentación.

En condiciones de laboratorio, la duración total de la fase de puerulo de *P. argus* fue de 16 a 26 d a 25°C y de 11 a 18 d a 27°C (Goldstein et al. 2008). Durante este período, la mayor parte de la energía del puerulo es utilizada en la natación y la preparación para la muda a JI, que implica cambios morfológicos adicionales (Lewis et al. 1952; Goldstein et al. 2008; Ventura et al. 2015). Nadar distancias de hasta decenas de kilómetros hasta el lugar de asentamiento puede afectar gravemente las reservas energéticas de los puerulos, lo que podría comprometer su capacidad para mudar a JI (Jeffs et al. 1999, 2001a). Por otra parte, la reanudación de la alimentación por parte del JI puede depender de la disponibilidad local de alimento y el riesgo de depredación (Lozano-Álvarez 1996; Weiss et al. 2008). Si el JI no puede reponer suficientes reservas energéticas con la rapidez necesaria, podría morir de inanición (Fitzgibbon et al. 2014). Por lo tanto, es importante determinar la tolerancia a la inanición y la vulnerabilidad nutricional (sensu Sulkin 1978) de los JI de *P. argus*. Esta información, además de aumentar el conocimiento sobre la biología de las primeras etapas bentónicas de esta especie, es importante por su potencial en acuicultura y para la generación de modelos predictivos de producción local de langosta basados en los niveles de asentamiento de puerulos (Phillips et al. 2000).

En el presente estudio, la tolerancia a la inanición de los JI de *P. argus* se determinó experimentalmente a través de dos índices, el punto de no-retorno (PNR) y el punto de saturación de reservas (PSR). El PNR es la duración (en días) de la privación inicial de alimentos que causa daños irreversibles, es decir, que no permite la recuperación incluso después de la alimentación posterior (Blaxter & Hempel 1963; Anger & Dawirs 1981); el PSR es el tiempo mínimo de alimentación inicial después del cual es posible un desarrollo a la siguiente etapa sin depender de provisión de alimentos (Anger 1987, 1995). Hasta donde se tiene conocimiento, el PSR no ha sido determinado para los JI de ninguna especie de

langosta espinosa, y el PNR de los JI solamente ha sido determinado en *P. cygnus* (Limbourn et al. 2008). En el presente estudio, el PNR se determinó sometiendo a los JI de *P. argus* a distintos periodos de inanición inicial después de la muda, seguidos de alimentación continua. El PSR se determinó mediante la alimentación inicial de los JI por distintos períodos, antes de retirar el alimento de forma permanente. Cada índice se estimó durante una temporada cálida (verano-otoño) y una temporada fría (invierno-primavera), debido a que las tasas metabólicas y de crecimiento de los crustáceos en general (p. ej. Anger 2001) y de *P. argus* en particular (Perera et al. 2007) aumentan con la temperatura, lo que podría afectar tanto el PNR como el PSR (Anger et al. 1981; Paschke et al. 2004; Bas et al. 2008; Gebauer et al. 2010).

#### **4.2 - Materiales y Métodos**

Debido a la larga duración larvaria y las altas tasas de mortalidad de las filosomas en condiciones de laboratorio (Goldstein et al. 2008), el presente estudio se llevó a cabo con postlarvas capturadas en la naturaleza, como en el trabajo de Limbourn et al. (2008). Los puerulos fueron obtenidos a partir de un conjunto de 12 colectores subsuperficiales tipo GuSi elaborados con una fibra artificial que simula vegetación sumergida (Gutiérrez-Carbonell et al. 1992), que permanecen anclados de forma permanente en las aguas costeras de Puerto Morelos (20°52'07" N, 86°52'04" W) y Bahía de la Ascensión (19°49'50" N, 87°27'09" W), México. Estos colectores se utilizan para el monitoreo a largo plazo del asentamiento mensual de puerulos. Aunque el asentamiento mensual en los colectores puede variar en hasta un orden de magnitud dentro de un año, el promedio de captura es de 16 individuos por mes en Puerto Morelos, y 4 individuos por mes en Bahía de la Ascensión (Briones-Fourzán et al. 2008). Por lo tanto, para aumentar el número de puerulos, se ancló

un tapete de la misma fibra artificial (1 m × 8 m) en el muelle de la Unidad Académica de Sistemas Arrecifales en Puerto Morelos y se revisó la presencia de puerulos cada mañana durante la fase oscura de la luna, cuando los niveles de asentamiento son típicamente más altos (Briones-Fourzán 1994). En el transcurso de una hora a partir de su colecta, los puerulos fueron transportados en agua de mar aireada al laboratorio donde se llevaron a cabo los experimentos.

Los puerulos se colocaron individualmente en pequeñas canastas cilíndricas de plástico (0.5 l) que permitían el libre flujo de agua. Cada canasta estaba recubierta en su interior con malla de nylon negro para prevenir el escape de los puerulos y reducir el nivel de luz. Las canastas, sumergidas parcialmente y sostenidas por flotadores de etil-vinil-acetato (para proporcionar flotabilidad), se distribuyeron en tres estanques (2 m de diámetro) con un nivel de agua de 0.9 m (aproximadamente 2800 l cada uno), con 6-7 canastas asignadas a cada tratamiento en cada estanque. Los estanques recibieron agua de mar de un sistema de flujo abierto. El agua era bombeada desde la laguna arrecifal de Puerto Morelos y pasada a través de un filtro mecánico y una cámara de ozono (ozono inyectado a una tasa de 0.98 mg/l) hacia un tanque elevado (5,000 l; tiempo de residencia, 0.3 h) y luego hacia un reservorio abierto (6300 l; tiempo de residencia, 3.5 h). Después, el agua era pasada a través de un filtro de arena (Hayward high rate sand filter S-244T) para eliminar las partículas en suspensión antes de su distribución a los estanques experimentales. El agua de desecho se hizo pasar de nuevo a través de una cámara de ozono. La temperatura del agua de los estanques se registró dos veces al día con un sistema multi-sonda YSI Environmental 556.

Debido a que se requerían 160 puerulos para cada experimento (ver abajo), pero el número de puerulos que pueden ser colectados durante cualquier temporada (fría o cálida)

es muy limitado, no fue posible llevar a cabo más de un experimento por temporada. Por lo tanto, los experimentos para determinar el PNR se llevaron a cabo entre junio y octubre de 2012 (temporada cálida) y entre enero y abril de 2013 (temporada fría), mientras que los experimentos para determinar el PSR se llevaron a cabo entre enero y abril de 2014 (temporada fría) y entre julio y noviembre de 2014 (temporada cálida). En cada experimento se utilizaron 160 puerulos que se dividieron en ocho grupos de 20 individuos cada uno. Todos los individuos fueron revisados dos veces al día, por la mañana y por la noche. Cuando un puerulo mudaba a JI, se removía la exuvia. Un grupo de JI recién mudados fue alimentado continuamente (control de alimentación, CA) hasta que todos los individuos mudaron al segundo estadio juvenil (JII). Otro grupo permaneció sin alimentarse hasta que todos los individuos sucumbieron (control de inanición, CI). En los experimentos de PNR, los seis grupos restantes de JI recién mudados fueron sometidos a diferentes tratamientos (períodos de inanición en múltiplos de 3 d) y luego alimentados continuamente. Por lo tanto, un grupo fue sometido a inanición por 3 d y luego se alimentó (tratamiento I3), otro grupo fue sometido a inanición por 6 d y luego se alimentó (tratamiento I6), etc. (hasta 18 d de inanición inicial) (Fig. 14). En el experimento de PSR, los seis grupos restantes de JI recién mudados también fueron sometidos a diferentes tratamientos, que consistieron en períodos iniciales de alimentación (también en múltiplos de 3 d) y después se sometieron a inanición. Así, un grupo fue alimentado por 3 d y luego sometido a inanición (tratamiento A3), otro grupo fue alimentado por 6 d y luego sometido a inanición (tratamiento A6), etc. (hasta 18 d de alimentación inicial) (Fig. 14).

El alimento, cuando se proporcionaba, consistía en un trozo de carne de mejillón (*Perna canaliculus*) cambiado diariamente. Los mejillones son una buena fuente de alimento para los juveniles tempranos de *Panulirus* en condiciones de laboratorio, al menos

durante las primeras cuatro semanas después de la muda a JI (p. ej., *P. cygnus*: Glencross et al. 2001; *P. ornatus*: Smith et al. 2005; *P. interruptus*: Díaz-Iglesias et al. 2011). Se utilizaron períodos de tres días para optimizar el uso de los individuos experimentales (que son difíciles de obtener en grandes cantidades), dado que, en laboratorio, el período promedio de intermuda de los JI de *P. argus* bien alimentados varió entre 17 y 31 d dependiendo de la temperatura del agua (Lellis & Russell 1990), mientras que el tiempo máximo de inanición de los JI de *P. cygnus* del que se observó recuperación fue 22 d (Limbourn et al. 2008). Por lo tanto, se esperaba que los JI de *P. argus* pudieran soportar períodos de inanición relativamente largos.

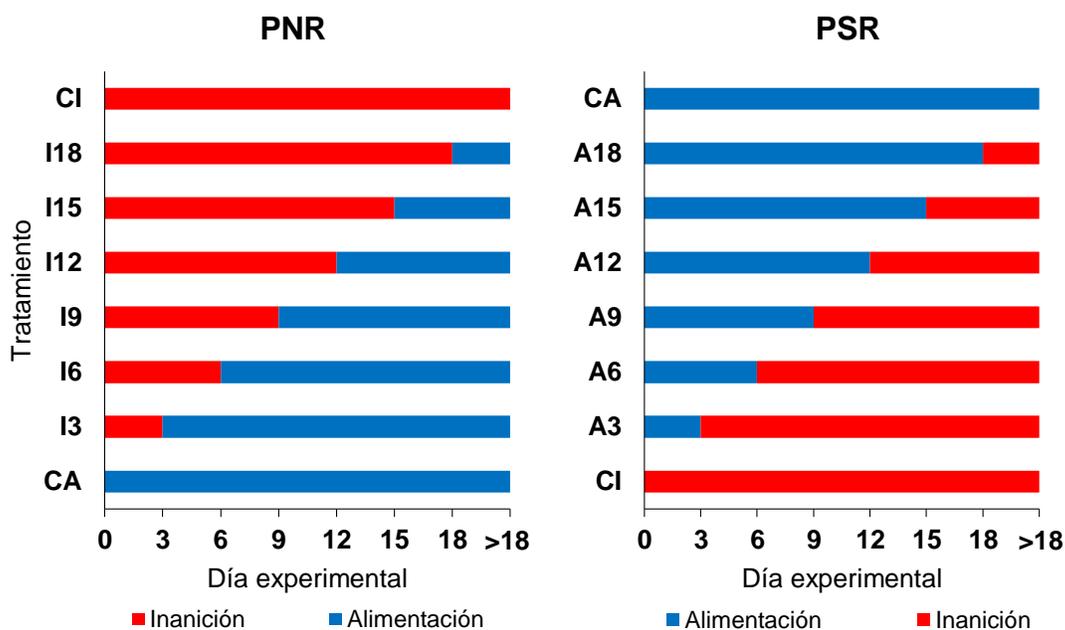


Fig. 14 – Diseño experimental para obtener el punto de no-retorno (PNR; inanición inicial, seguida de alimentación) y el punto de saturación de reservas (PSR; alimentación inicial, seguida de inanición). CA: control de alimentación; CI: control de inanición; I3–I18: número de días de inanición inicial, seguidos de alimentación continua; A3–A18: número de días de alimentación inicial, seguidos de inanición continua. No. inicial de puerulos de *Panulirus argus* por tratamiento, CA y CI,  $n = 20$ .

Para cada individuo, el primer día experimental fue un día después de la muda a JI (Limbourn et al. 2008). La influencia de los periodos de inanición inicial (en los experimentos de PNR) o los periodos de alimentación inicial (en los experimentos de PSR) se midió como el porcentaje de mortalidad y la duración media del estadio JI de los individuos que lograron mudar a JII (periodo intermuda). El periodo intermuda (en días) fue transformado logarítmicamente para aumentar la homogeneidad de varianza, pero los resultados y las gráficas se presentan en días, para facilitar su interpretación. Para los experimentos de PNR y PSR, el periodo intermuda se sometió, por separado para cada tipo de experimento, a un ANOVA factorial con la temporada y el tratamiento como factores fijos. La tolerancia a la inanición se cuantificó como la mediana del punto de no-retorno (PNR<sub>50</sub>) y del punto de saturación de reservas (PRS<sub>50</sub>). El PNR<sub>50</sub> es el tiempo en que el 50% de los JI inicialmente sometidos a inanición pierden la capacidad de recuperarse, incluso después de ser alimentados posteriormente, y mueren sin mudar a JII; el PSR<sub>50</sub> es el tiempo en que el 50% de los JI sometidos a alimentación inicial y luego a inanición obtienen la capacidad de desarrollarse el resto del ciclo de muda usando las reservas energéticas almacenadas, es decir, no requieren alimentación posterior para mudar a JII (Anger & Dawirs 1981). Tanto el PNR<sub>50</sub> como el PSR<sub>50</sub> se estimaron ajustando curvas sigmoidales de dosis-respuesta a la mortalidad acumulada durante el tiempo de inanición o alimentación inicial, respectivamente (Gutow et al. 2007; Paschke et al. 2004). Cada índice se comparó entre temporadas (cálida vs fría).

### 4.3 - Resultados

A lo largo del texto, los resultados se reportan como media  $\pm$  IC 95% a menos que se indique lo contrario. En todos los casos, los resultados estadísticos se consideraron significativos si  $p < 0.05$ .

#### **Punto de no-retorno (PNR<sub>50</sub>)**

En los experimentos de PNR, la temperatura del agua difirió significativamente entre la temporada cálida ( $29.79 \pm 0.07$  °C) y la temporada fría ( $25.63 \pm 0.12$  °C) ( $t_{176} = 28.65, p < 0.001$ ). El periodo intermuda de los individuos alimentados de forma continua (CA) fue mayor en la temporada fría ( $24.5 \pm 3.6$  d,  $n = 17$ ) que en la temporada cálida ( $18.2 \pm 1.3$  d,  $n = 20$ ) ( $t_{35} = 3.44, p < 0.001$ ). En general, el periodo intermuda se vio afectado significativamente por la temporada ( $F_{1,148} = 68.04, p < 0.001$ ) y por el tratamiento ( $F_{5,148} = 22.32, p < 0.001$ ), pero no por la interacción de estos factores ( $F_{5,148} = 0.37, p = 0.87$ ); es decir, la duración del estadio JI aumentó conforme se incrementó la duración del período inicial de inanición en ambas temporadas, pero fue más largo en cada tratamiento de la temporada fría en comparación con los mismos tratamientos de la temporada cálida (Fig. 15).

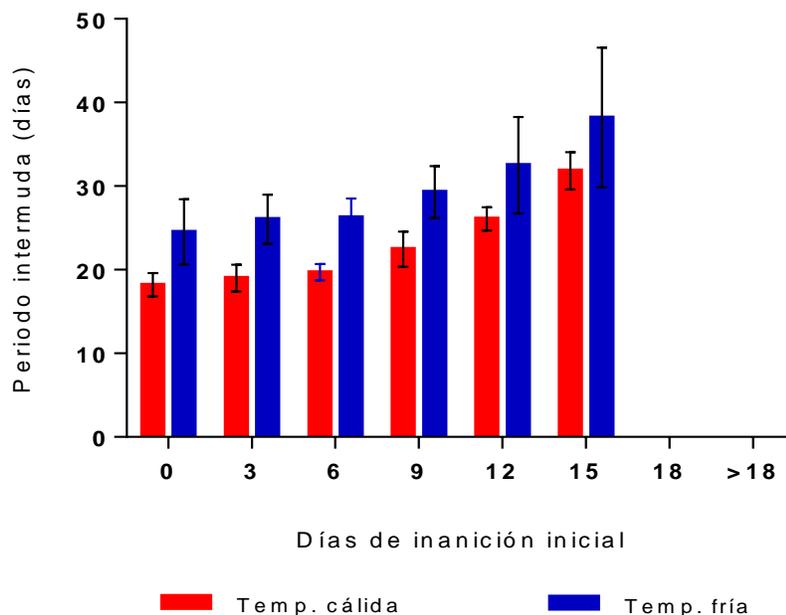


Fig. 15 – Periodo intermuda (en días) entre estadios JI y JII de *Panulirus argus* sometidos a diferentes periodos de inanición seguida de alimentación continua, en los experimentos para determinar el punto de no-retorno. Temporada cálida, junio a octubre de 2012; temporada fría, enero a abril de 2013. Los resultados de los tratamientos con dos o menos sobrevivientes se omitieron. Las barras de error denotan el IC 95%.

En general, la mortalidad de los JI aumentó conforme aumentó el número de días de inanición inicial, pero tendió a ser más alta en algunos tratamientos del experimento de la temporada fría (I3, I6, I12 y CA) en comparación con los mismos tratamientos de la temporada cálida. El PNR<sub>50</sub> difirió significativamente entre temporadas ( $F_{1,12} = 7.924$ ,  $p = 0.015$ ), siendo de  $12.1 \pm 1.2$  d en la temporada cálida y  $9.5 \pm 2.1$  d en la temporada fría (Fig. 16).

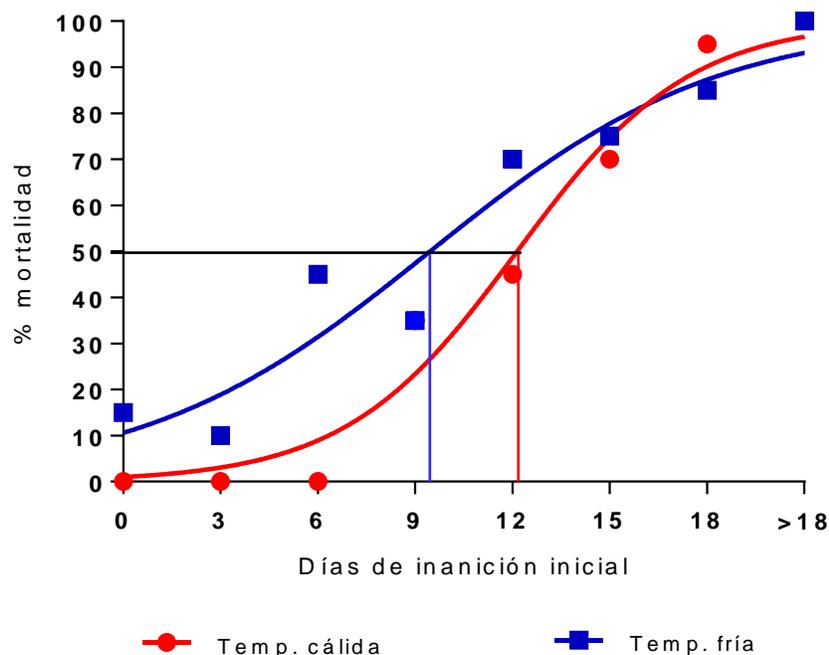


Fig. 16 – Curva sigmoide de dosis-respuesta ajustada a los porcentajes de mortalidad de los JI de *Panulirus argus* sometidos a distintos periodos de inanición antes de ser alimentados. Temporada cálida, junio a octubre de 2012; temporada fría, enero a abril de 2013. Las líneas rectas indican la ubicación del PNR<sub>50</sub>: 12.1 ± 1.2 d en la temporada cálida y 9.5 ± 2.1 d en la temporada fría.

### Punto de saturación de reservas (PSR<sub>50</sub>)

En los experimentos de PSR, la temperatura del agua difirió significativamente entre la temporada fría ( $26.20 \pm 0.12$  °C) y la temporada cálida ( $29.54 \pm 0.07$  °C) ( $t_{285} = 24.23$ ,  $p < 0.001$ ). El periodo intermuda de los individuos del CA fue significativamente más largo en la temporada fría ( $25.7 \pm 2.3$  d,  $n = 20$ ) que en la temporada cálida ( $16.3 \pm 1.3$  d,  $n = 20$ ) ( $t_{38} = 7.05$ ,  $p < 0.001$ ). En general, el periodo intermuda fue afectado significativamente por la temporada ( $F_{1,119} = 37.9$ ,  $p < 0.001$ ) y por el tratamiento ( $F_{4,119} = 8.71$ ,  $p < 0.001$ ), pero la interacción de ambos factores también fue significativa ( $F_{4,119} = 3.76$ ,  $p < 0.001$ ), lo que indica que el periodo intermuda en los diferentes tratamientos no siguió el mismo patrón en

ambas temporadas (Fig. 17). En particular, el periodo intermuda fue significativamente mayor en el tratamiento A15 y en el CA (>A18) de la temporada fría que en los mismos tratamientos de la temporada cálida (Fig. 17).

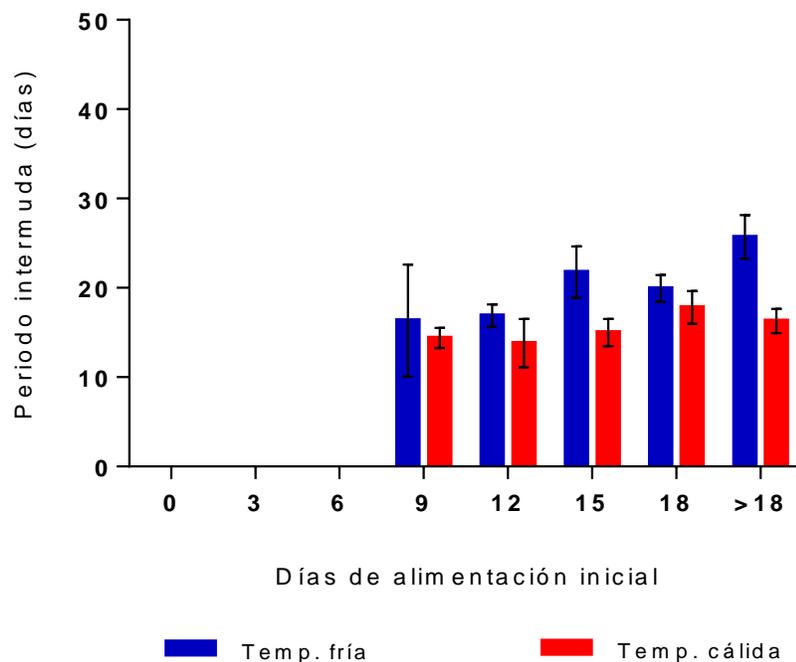


Fig. 17 – Periodo intermuda (en días) entre estadios II y III de *Panulirus argus* sometidos a diferentes periodos de alimentación seguida de inanición continua, en los experimentos para determinar el punto de saturación de reservas. Temporada fría, enero a abril de 2014; temporada cálida, julio a noviembre de 2014. Los resultados de los tratamientos con dos o menos sobrevivientes se omitieron. Las barras de error indican el IC 95%.

La mortalidad de los JI disminuyó conforme aumentó el período inicial de alimentación, pero fue mayor en casi todos los tratamientos de la temporada fría que en los de la temporada cálida. En ambas estaciones, todos los individuos del CI y los tratamientos A3 y A6 sucumbieron. En ambos experimentos, con la excepción del CA, la mayoría de los JI mudó cerca del final del período de alimentación inicial, con un máximo de 13 d entre el

final del período de alimentación inicial y la muda a JII. El  $PSR_{50}$  fue de  $13.1 \pm 0.7$  días en la temporada fría y  $12.1 \pm 1.1$  días en la temporada cálida (Fig. 18). Estos valores no difirieron significativamente ( $F_{1, 12} = 3.603, p = 0.082$ ).

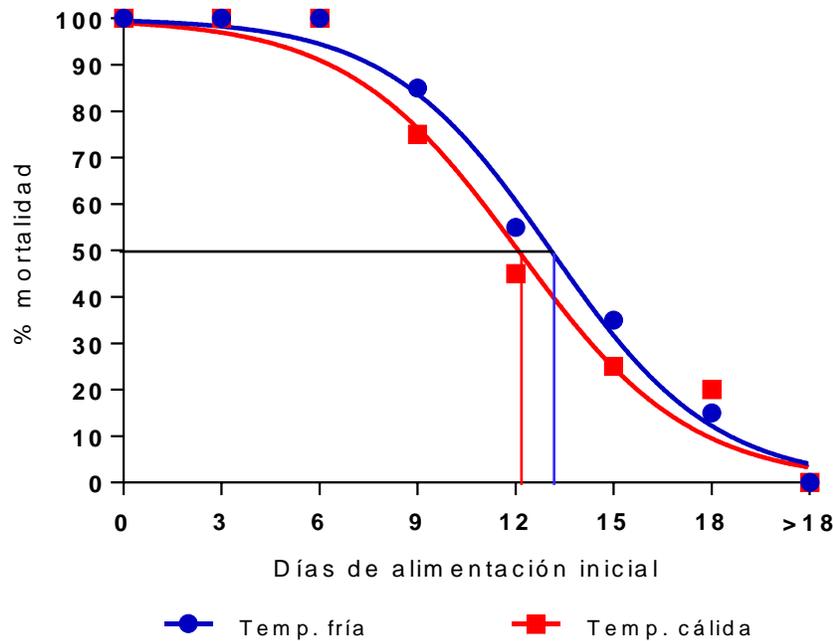


Fig. 18 – Curva sigmoideal de dosis-respuesta ajustada a los porcentajes de mortalidad de los JI de *Panulirus argus* sometidos a distintos periodos de alimentación antes de ser sometidos a inanición. Temporada fría, enero a abril de 2014; temporada cálida, julio a noviembre de 2014. Las líneas rectas indican la ubicación del  $PSR_{50}$ :  $13.1 \pm 0.7$  d en la temporada fría y  $12.1 \pm 1.1$  d en la temporada cálida.

#### 4.4 - Discusión

La temperatura juega un papel importante en la fisiología y en la ecología de los ectotermos, como es el caso de las langostas espinosas. Por ejemplo, en Florida, EUA, Witham (1973) reportó que los juveniles pequeños de *P. argus* eran intolerantes a temperaturas sostenidas debajo de  $15.6^{\circ}\text{C}$  o arriba de  $30.0^{\circ}\text{C}$ , y que los individuos mantenidos a menos de  $20^{\circ}\text{C}$  mostraban relativamente bajo crecimiento. En experimentos

de laboratorio llevados a cabo en Cuba, se encontró que el consumo de oxígeno y el metabolismo de juveniles de *P. argus* se incrementaron con la temperatura, dentro del rango de 19 a 30°C (Brito et al. 1991; Perera et al. 2007). En experimentos de laboratorio, Lellis & Russell (1990) examinaron el crecimiento y la supervivencia de postpuerulos (JI) y juveniles tempranos de *P. argus* a diferentes temperaturas y encontraron que estos estadios crecieron más rápidamente a 30°C, es decir, presentaron períodos intermuda más cortos y mayores incrementos de tamaño que a 24°C. Durante los experimentos de PNR y PSR del presente estudio, la temperatura media del agua fue de 25.9 y 26.2°C en la estación fría, respectivamente, y 29.8 y 29.5°C en la estación cálida, respectivamente. En consecuencia, en los dos tipos de experimento, el periodo intermuda de los individuos del CA fue significativamente más largo en la temporada fría que en la temporada cálida.

Limbourn et al. (2008) estimaron el PNR<sub>50</sub> del JI de *P. cygnus* (una especie subtropical) en 22 d, que es aproximadamente el doble del PNR<sub>50</sub> estimado para *P. argus* (especie tropical) en el presente estudio. En cualquier caso, la tolerancia a la inanición de los JI de *P. argus* es notable, teniendo en cuenta la demanda energética impuesta a los puerulos (que no se alimentan) durante su tránsito desde las aguas oceánicas a la costa (p. ej. Fitzgibbon et al. 2014). Al igual que lo encontrado previamente por Limbourn et al. (2008) para los JI de *P. cygnus*, los JI de *P. argus* fueron incapaces de mudar en completa ausencia de alimentos (CI). La dependencia de los JI a alimentos exógenos para completar el desarrollo también se ha encontrado en otros decápodos, incluso en algunas especies con postlarvas lecitotróficas facultativas (Calado et al. 2010). Una excepción es el camarón carideo *Neocaridina davidi*, cuyos JI fueron capaces de mudar en completa ausencia de alimento, probablemente porque esta especie tiene un desarrollo post-eclosión muy abreviado (Pantaleão et al. 2015). En ambos experimentos de PNR del presente estudio, el

periodo intermuda aumentó con el incremento en el período de inanición inicial. Un retraso en la muda causado por falta de alimento se ha documentado en etapas de vida tempranas de otras especies de crustáceos marinos y de agua dulce (p. ej., Anger & Dawirs 1981; Mikami et al. 1995; Abrunhosa & Kittaka 1997; Stumpf et al. 2010; Calvo et al. 2012), excepto en *N. davidi*, especie en la cual la duración de los periodos de inanición inicial no afectó la duración de los estadios JI y JIII (Pantaleão et al. 2015).

En los experimentos de PSR, los pocos individuos que mudaron a JII en los tratamientos A9 y A12 lo hicieron cerca del final del período de alimentación, y ningún individuo de ningún tratamiento mudó después de 13 d de inanición a pesar de haber sido previamente alimentado, dando lugar a un aparente aumento del periodo intermuda conforme aumentó el período de alimentación inicial. Esto contrasta con los resultados de los experimentos de PNR, en los que siete individuos de los tratamientos I15 e I18 del experimento de la temporada cálida y ocho individuos de los mismos tratamientos del experimento de la temporada fría fueron capaces de mudar a JII. La mayor tolerancia a inanición de los individuos en los experimentos de PNR puede deberse a una suspensión en el ciclo de muda, es decir, una interrupción del desarrollo en la fase de intermuda (fase C del ciclo de la muda en el sistema de clasificación de Drach) de los individuos sometidos a inanición inicial, con un cambio subsecuente a la fase de premuda (fase D) al ser alimentados (Anger 1987). Sin embargo, si en los experimentos de PSR los individuos llegan a la fase de premuda durante el período de alimentación inicial y luego son sometidos a inanición continua, un intento fallido de muda causa la muerte porque no es posible detener el desarrollo en la fase de premuda (Anger 2001).

El PSR se produce durante la transición entre la fase de intermuda tardía ( $C_4$ ) y la fase de premuda temprana ( $D_0$ ), también conocida como "umbral  $D_0$ ", la cual representa un

período crítico para los crustáceos en términos de requerimientos nutricionales (Anger 1987, 2001). El umbral  $D_0$  se ha encontrado en etapas tempranas de vida de varias especies de crustáceos de diferentes familias, p. ej., Crangonidae (Paschke et al. 2004), Diogenidae (Harms 1992), Majidae (Figueiredo et al. 2008; Guerao et al. 2012), y Portunidae (Harms et al. 1990). En el presente estudio, los resultados de ambos experimentos de PSR, con altas tasas de mortalidad de los individuos sometidos a los tratamientos A3, A6 y A9, períodos intermuda más cortos y tasas de mortalidad más altas que en los experimentos de PNR, así como la similitud de los valores del  $PSR_{50}$  entre temporadas (a diferencia de los valores del  $PNR_{50}$ ), sugieren que la alimentación de los JI de *P. argus* es más importante cerca del PSR (o umbral  $D_0$ ) que inmediatamente después de la muda a JI.

Aunque los valores del  $PSR_{50}$  no difirieron entre temporadas, su porcentaje de duración en comparación a la duración total del estadio JI (periodo intermuda) de los individuos del CA fue mayor durante la temporada cálida (74%) que durante la temporada fría (51%). Por lo tanto, a pesar de que los JI tuvieron un periodo intermuda significativamente más largo en la estación fría, alcanzaron su PSR antes que en la estación cálida. Un patrón similar se observó en la zoea I del camarón *Crangon crangon*, en la que la relación del PSR respecto a la duración total del estadio fue de 32% en el verano y 23% en el invierno (Paschke et al. 2004). Sin embargo, el PSR representa alrededor de un tercio del tiempo total de intermuda en estadios de vida tempranos de muchos crustáceos, incluyendo la zoea I de *C. crangon*, la zoeas I y II del cangrejo araña *Hyas araneus* (Anger & Dawirs 1981), la zoea I del cangrejo intermareal *Neohelice granulata* (Bas et al. 2008), la filosoma I de *Panulirus cygnus* (Liddy et al. 2003), y el estadio JIII de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Stumpf et al. 2010).

El porcentaje de duración del PNR en relación a la duración del periodo intermuda de los individuos alimentados de manera continua (CA) fue de 66% en la temporada cálida y de 39% en la temporada fría. Por lo tanto, los JI de *P. argus* parecen ser más tolerantes a la inanición durante la temporada cálida. Este resultado, aunque es congruente con la temperatura óptima para el desarrollo de este estadio ( $\sim 30^{\circ}\text{C}$ ) (Lellis & Russell 1990), contradice la hipótesis del presente capítulo, basada en que las tasas metabólicas y de crecimiento se incrementan con la temperatura (Anger 2001). Sin embargo, un  $\text{PNR}_{50}$  más largo durante la temporada cálida podría estar reflejando una reducción en las respuestas metabólicas de los JI a manera de un mecanismo de compensación fisiológica, como ha sido documentado en otros crustáceos (p. ej. *Litopenaeus setiferus*: Sánchez et al. 2002). Alternativamente, podría estar reflejando una habilidad de los JI para secuestrar y almacenar reservas en altas temperaturas, como fue sugerido por Smith et al. (2010) para filosomas de langostas de aguas tropicales (*P. ornatus* y *P. homarus*), las cuales mostraron una alta tolerancia a inanición ( $\text{PNR}_{50}$  más largo) que filosomas de langostas de aguas templadas.

A pesar de la importancia comercial de *P. argus*, el presente estudio es el primero en abordar la tolerancia a la inanición de los juveniles tempranos de esta especie, que durante un estadio lecitotrófico prolongado realizan un viaje desde aguas oceánicas hasta aguas costeras, es decir, de hasta decenas de kilómetros. Sin embargo, debido a que los juveniles de *P. argus* toleran a lo largo de su distribución geográfica un rango de temperatura más amplio que el encontrado en el presente estudio, se recomienda que en futuros estudios los JI sean sujetos a diferentes temperaturas experimentales. También se recomienda medir el uso de las sustancias de reserva de los JI, tanto alimentados como en inanición (p. ej. Simon et al. 2015).



## **CAPÍTULO 5: Discusión general**

### **5.1 – Variación ontogenética y espacio-temporal de estadios de vida tempranos de *Panulirus argus***

La condición nutricional de *Panulirus argus* durante la transición del último estadio de filosoma (FX) al primer estadio juvenil (JI) está fuertemente determinada por la historia larvaria hasta antes de la metamorfosis a puerulo (Pechenik 2006), principalmente debido al fuerte desgaste energético que le implica el nado activo a los hábitats costeros de asentamiento (p. ej. Fitzgibbon et al. 2014). Debido a que los puerulos no se alimentan, dependen por completo de las reservas energéticas que lograron acumular hasta el último estadio larvario (Lewis et al. 1952; Nishida et al. 1995; Jeffs et al. 2001b, 2002; Ventura et al. 2015). Por ello, la historia de vida larvaria de cada individuo determinará, en primera instancia, la posibilidad de los puerulos de llegar a la zona de asentamiento, condicionada a factores internos como la cantidad de sustancias de reserva que lograron acumular antes de la metamorfosis (Jeffs et al. 1999, 2001b, 2002; Limbourn & Nichols 2009; Limbourn et al. 2009) y mecanismos de orientación hacia los hábitats costeros (Phillips & Macmillan 1987; Acosta & Butler 1999; Jeffs et al. 2005; Lecchini et al. 2010; Kough et al. 2014), y a factores externos como la distancia a la costa donde llevaron a cabo la metamorfosis y las condiciones hidrográficas locales (Jeffs et al. 1999, 2001a; Wilkin y Jeffs 2011; Fitzgibbon et al. 2014). Incluso en caso de lograr un asentamiento exitoso, las experiencias acumuladas durante la fase larvaria podrían manifestarse en periodos de tiempo cortos, como en la muda a JI, o a largo plazo, en la etapa adulta (Pechenik 2006).

En el presente estudio se abordaron por primera vez y de una manera integral las variaciones espacio-temporales de la condición nutricional de las primeras fases ontogenéticas de una langosta tropical, *P. argus*. A pesar de no haber contado con análisis de condiciones hidrográficas y bióticas oceánicas que pudieran correlacionar la condición nutricional de las fases estudiadas con eventos oceanográficos ocurridos durante el estadio larvario final, y la transición oceánica a béntica, los resultados obtenidos en los capítulos 2 y 3 contribuyen al conocimiento de la ecología de metapoblaciones y a la ecofisiología y bioenergética de organismos.

Además, las variaciones ontogenéticas y espacio-temporales en la condición nutricional de estadios de vida tempranos de *P. argus* encontradas en el presente estudio permitieron realizar diversas comparaciones con langostas de aguas subtropicales, como *P. cygnus* (Phillips et al. 2006b; Limbourn & Nichols 2009; Limbourn et al. 2009; Phillips et al. 2013) y de aguas templadas, como *Sagmariasus verreauxi* (Jeffs et al. 2002) y *Jasus edwardsii* (Jeffs et al. 1999, 2001a, 2001b; Phleger et al. 2001; Jeffs et al. 2013). Al igual que en los estadios de vida tempranos de las especies de langosta espinosa en que se han realizado estudios similares, se encontró una disminución gradual en la cantidad de lípidos totales durante la transición de FX a JI. Además, también se encontró ese mismo patrón de disminución en los fosfolípidos, la clase lipídica que constituyó la mayor parte de los lípidos totales en estos estadios. Se observó también una disminución significativa en la cantidad de proteínas en la transición entre las fases de puerulo a JI, consistente con lo encontrado para *P. cygnus* por Limbourn & Nichols (2009).

Sin embargo, el porcentaje de lípidos totales y la cantidad de fosfolípidos como proporción de los lípidos totales encontrados en los PN y PT de *P. argus* fueron en general más bajos que los encontradas en puerulos de las langostas de aguas frías *J. edwardsii* y *S.*

*verreauxi* (Jeffs et al. 1999, 2002), e incluso que los encontrados en la langosta subtropical *P. cygnus*. También en el presente estudio se encontraron mayores variaciones estacionales, interanuales, y espaciales en la condición nutricional de *P. argus* que las encontradas para *P. cygnus* (Limbourn & Nichols 2009; Limbourn et al. 2009). Estos resultados podrían ser causados por diversos factores, pero es muy probable que los más influyentes sean, como factor relacionado con la biología de la especie, que *P. argus* no presenta una estacionalidad en la reproducción (Briones et al. 1997), a diferencia de las especies antes mencionadas (Booth 1994, Jeffs et al. 2013, Wang et al. 2015), y como factor relacionado con el ambiente, que la fase larvaria de *P. argus* se desarrolla en aguas más cálidas y oligotróficas que las especies de aguas templadas y subtropicales (Melo-González et al. 2000).

Excluyendo a los fosfolípidos, cuya dominancia en las filosomas y puerulos de las langostas espinosas se ha atribuido a que su índice de refracción hace transparentes a estas fases oceánicas y por lo tanto reduce su riesgo de depredación (Acosta & Butler 1999; Phillips et al. 2006a), se encontraron diferencias importantes en relación a las clases lipídicas entre los estadios tempranos de *P. argus* y los de *S. verreauxi* y *P. cygnus*. Después de los fosfolípidos, la segunda clase de lípido más importante encontrada en el presente estudio para *P. argus* fue el diacilglicerol, que en general presentó valores cercanos a 9% en PN y cercanos a 6% en JI (como proporción de lípidos totales). Se podría suponer que esta disminución en la proporción de diacilglicerol está relacionada con el aumento en proporción del colesterol, los ácidos grasos libres y los ésteres en la transición de PN a JI. El diacilglicerol no fue reportado para puerulos de *S. verreauxi* y *P. cygnus* por presentar muy bajos porcentajes, y la segunda clase lipídica en importancia para puerulos de estas dos especies fueron los esteroides (Jeffs et al. 2002; Limbourn & Nichols 2009). Se

ha establecido que las diferencias intra e interespecíficas encontradas en las firmas lipídicas reflejan la composición de la fuente lipídica de la dieta (Francis et al. 2014).

A diferencia de lo reportado para *P. cygnus* (Phillips 1986; Caputi et al. 2010), *P. interruptus* (Arteaga-Ríos et al. 2007) y *J. edwardsii* (Booth & McKenzie 2009), aún no se ha encontrado una relación aparente entre los índices de asentamiento de puerulos de *P. argus* y la subsecuente producción pesquera (P. Briones-Fourzán, com. pers.). Los resultados de los capítulos 2 y 3 pueden servir como precedente para determinar si la alta variabilidad ontogenética y espacio-temporal encontrada en la condición nutricional de los estadios de vida tempranos de *P. argus*, en particular de la fase de puerulo, puede ser un factor que explique el aparente desacoplamiento entre los niveles de asentamiento y la subsecuente abundancia poblacional. En caso de encontrar una relación entre la condición nutricional de estadios de vida tempranos de *P. argus* y la subsecuente producción pesquera, se podrían generar modelos predictivos para la captura con base en los índices de asentamiento y la condición nutricional de las postlarvas. Los resultado de los capítulos 2 y 3 también pueden tener aplicaciones en la acuicultura, sirviendo como guía para el establecimiento de protocolos de cultivo relacionados con los requerimientos nutricionales específicos de etapas de vida tempranas de *P. argus*, con el fin de hacer un uso más eficiente del alimento en condiciones de cultivo o semicultivo (cultivo a partir de puerulos silvestres).

## **5.2 – Tolerancia a inanición del primer estadio juvenil de *Panulirus argus***

En el presente estudio se determinó por primera vez la tolerancia a inanición, a través de los índices PNR y PSR, de una langosta espinosa tropical. Hasta este estudio, el

PSR no había sido determinado para los JI de ninguna especie de langosta espinosa, y el PNR de los JI solamente había sido determinado en la langosta subtropical *P. cygnus* (Limbourn et al. 2008). Al igual que lo encontrado en *P. cygnus*, los JI de *P. argus* tampoco tuvieron la capacidad de realizar la muda a JII en completa ausencia de alimentos. Sin embargo el PNR<sub>50</sub> del JI de *P. cygnus* se estimó en 22 d, que es aproximadamente el doble del PNR<sub>50</sub> estimado para *P. argus* en el presente estudio (Limbourn et al. 2008).

Se ha encontrado en diversos estudios que ante el aumento global de temperatura, las especies marinas ectotermas (como es el caso de las langostas espinosas) que se distribuyen en áreas tropicales serían las más perjudicadas, debido a que ya se encuentran cerca de su límite superior de temperatura (p. ej. Nguyen et al. 2011). Aunque, a nuestro saber, no se haya determinado aún la tolerancia térmica de fases de vida tempranas de *P. argus*, Lellis & Russell (1990) encontraron que, tras 10 semanas en el laboratorio, los JI de *P. argus* mantenidos a 33°C tuvieron menor sobrevivencia, incrementos más pequeños entre mudas y tasas de conversión de alimentos menores que los JI mantenidos a 30°C. Esto sugiere que 33°C se encuentra cerca del límite superior del pejus de estadios de vida bénticos tempranos de *P. argus*. Con base en este resultado y ante el escenario de calentamiento global, y considerando que el rango de temperatura a lo largo de la distribución geográfica de *P. argus* es más amplio que el encontrado en el presente estudio, se sugiere para estudios futuros determinar la tolerancia a la inanición de juveniles de *P. argus* en un rango de temperaturas que incluya las más altas de su distribución geográfica y mayores.

Para JI mantenidos en un régimen de alimentación continua, se comparó la duración del PNR y del PSR en relación a la duración total del estadio JI (periodo intermuda), y se

encontró que el porcentaje de duración de ambos índices fue mayor durante la temporada cálida que durante la temporada fría. Es decir, en las temporadas frías los JI perdieron más rápidamente la capacidad de recuperarse de un período de inanición inicial, y tardaron más en obtener la capacidad de desarrollarse al siguiente estadio independientemente del alimento exógeno. Además, no se encontraron diferencias significativas en el  $PSR_{50}$  entre temporadas, mientras que el  $PNR_{50}$  fue significativamente mayor en temporada cálida que en la temporada fría. Todo lo anterior parece indicar que los JI de *P. argus* son más tolerantes a la inanición durante la temporada cálida.

En el capítulo 4 se planteó que este resultado, contrario a la hipótesis planteada debido a que las tasas metabólicas y de crecimiento aumentan con la temperatura (Anger 2001), podría estar reflejando una reducción en las respuestas metabólicas de los JI a manera de un mecanismo de compensación fisiológica, o bien una habilidad de los JI para secuestrar y almacenar reservas cuando la temperatura es elevada. Sin embargo, el hecho de haber encontrado que los organismos alimentados de manera continua (es decir, el control de alimentación) presentaron periodos intermuda más largos y porcentajes de mortalidad más elevados en las temporadas frías de los experimentos de PNR y PSR (25.9 y 26.2°C en promedio, respectivamente) que en las temporadas cálidas de los experimentos de PNR y PSR (29.8 y 29.5°C en promedio, respectivamente), puede dar paso a otra suposición: que los JI presenten deficiencias fisiológicas y/o metabólicas a bajas temperaturas. Al respecto, en experimentos de laboratorio se encontró que juveniles tempranos de *P. argus* mantenidos a 30°C presentaron periodos intermuda más cortos y mayores incrementos de tamaño, en comparación con juveniles mantenidos a 24°C (Lellis & Russell 1990). No obstante, no hay

información suficiente acerca de la tolerancia térmica y de la eficiencia energética de *P. argus* para respaldar esta suposición.

La principal limitación que se encontró al determinar la tolerancia a inanición fue el bajo número de puerulos que se pudieron recolectar, tanto en los colectores como en el tapete de filástica. Esto impidió que los experimentos de cada temporada de ambos índices fueran realizados en el mismo año, lo que a su vez impidió determinar el índice de vulnerabilidad nutricional ( $IVN = PSR_{50}/PNR_{50}$ ) (Gebauer et al. 2010) de los JI. Los valores del IVN representan la dependencia de alimento exógeno sin importar el tiempo de desarrollo de un estadio en particular (Gebauer et al. 2010; Calvo et al. 2013). Por lo tanto, el IVN permitiría comparar la dependencia al alimento entre estadios larvarios o juveniles con tiempos de desarrollo diferenciales. A pesar de no haber podido obtener los valores del IVN, los valores del  $PNR_{50}$  de ambas temporadas ( $12.1 \pm 1.2$  d en la temporada cálida y  $9.5 \pm 2.1$  d en la temporada fría) indican que la tolerancia a inanición de los JI de *P. argus* es notable, principalmente debido al fuerte desgaste energético que representa para los PN el nado activo en la transición de las aguas oceánicas a los hábitats costeros de asentamiento (p. ej., Jeffs et al. 1999, 2001b, 2002; Fitzgibbon et al. 2014).

Dada la sobreexplotación de las poblaciones de langostas espinosas en general, su cultivo se percibe como una solución a la demanda a mediano y largo plazo. El cultivo desde huevo aún no se considera viable a escala comercial debido a las altas tasas de mortalidad y la prolongada duración de su fase larvaria. Sin embargo, en años recientes se han estado cultivando (desde el huevo) juveniles de *Sagmariasus verreauxii* con fines experimentales (Battaglione et al. 2013; Simon et al. 2015), y ha habido grandes avances en el cultivo de *P. ornatus* (p. ej. Wu et al. 2012). Actualmente existen semicultivos de algunas

otras especies de langostas espinosas a partir de la cosecha de puerulos silvestres (ver Jeffs 2010). Debido a sus altas tasas de crecimiento, *P. argus* es considerada una especie factible de ser semicultivada (Jeffs & Davis 2003). Por ello, la determinación de la tolerancia a inanición (punto de no-retorno y punto de saturación de reservas) del JI, además de brindar información importante para entender los procesos que regulan la abundancia natural de esta fase ontogenética, también puede tener utilidad para el manejo más eficiente de estos organismos en condiciones de cultivo, aportando información que pueda conducir al establecimiento de protocolos para acuicultura.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Abrunhosa FA, Kittaka J (1997) Effect of starvation on the first larvae of *Homarus americanus* (Decapoda, Nephropidae) and phyllosomas of *Jasus verreauxi* and *J. edwardsii* (Decapoda, Palinuridae). *Bull Mar Sci* 61: 73–80.
- Ackman RG (1981) Application of flame ionization detector to thin layer chromatography on coated quartz rods. *Method Enzymol* 72: 205–252.
- Acosta CA, Butler MJ (1999) Adaptive strategies that reduce predation on Caribbean spiny lobster postlarvae during onshore transport. *Limnol Oceanogr* 44: 494–501.
- Aguilar W, Arceo-Briseño P, González-Cano J, Medina AI, Ríos-Lara V, Sosa-Cordero E, Wakida-Kusonoki A (2003) La pesquería de langosta en Yucatán y Quintana Roo, México. *FAO Fish Rep* 715: 119–130.
- Anger K (1987) The D<sub>0</sub> threshold: a critical point in the larval development of decapod crustaceans. *J Exp Mar Biol Ecol* 108: 15–30.
- Anger K (1995) Starvation resistance in larvae of a semiterrestrial crab, *Sesarma curaçaoense* (Decapoda: Grapsidae). *J Exp Mar Biol Ecol* 187: 161–174.
- Anger K (2001) The biology of decapod crustacean larvae. In: *Crustacean iss.* 14, AA Balkema, Lisse.
- Anger K, Dawirs RR (1981) Influence of starvation on the larval development of *Hyas areneus* (Decapoda, Majidae). *Helgol Meeresunt* 34: 287–311.
- Anger K, Dawirs RR, Anger V, Costlow JD (1981) Effects of early starvation periods on zoeal development of brachyuran crabs. *Biol Bull* 161: 199–212.
- Anger K, Storch V, Anger V, Capuzzo JM (1985) Effects of starvation on moult cycle and hepatopancreas of stage I lobster (*Homarus americanus*) larvae. *Helgol Meeresunt* 39:

107–116.

- Anger K, Dawirs RR, Anger V, Goy JW, Costlow JD (1981) Starvation resistance in first stage zoeae of brachyuran crabs in relation to temperature. *J Crust Biol* 1: 518–525.
- Arteaga-Ríos LD, Carrillo-Laguna J, Belmar-Pérez J, Guzmán del Proo SA (2007) Post-larval settlement of California spiny lobster *Panulirus interruptus* in Bahía Tortugas, Baja California and its relationship to the commercial catch. *Fish Res* 88: 51–55.
- Baisre JA, Alfonso I (1994) Later stage larvae of *Panulirus guttatus* (Latreille, 1804) (Decapoda, Palinuridae) with notes on the identification of phyllosomata of *Panulirus* in the Caribbean sea. *Crustaceana* 66: 32–44.
- Baisre JA, Blanco W, Álvarez I, Ruiz de Quevedo ME (1978) Distribución y abundancia relativa de las larvas de langosta (*Panulirus argus*) en el mar Caribe y Bahamas. *Rev Cubana Inv Pesq* 3: 1–20.
- Bas CC, Spivak ED, Anger K (2008) Variation in early developmental stages in two populations of an intertidal crab, *Neohelice (Chasmagnathus) granulata*. *Helgol Mar Res* 62: 393–401.
- Battaglione SC, Simon CJ, Fitzgibbon QP, Smith GG, Carter CG (2013) Could the eastern rock lobster, *Sagmariasus verreauxi*, be the best spiny lobster for aquaculture? In: Larvi'13 – Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Ghent, Belgium, pp 27–28.
- Behringer DC, Butler MJ (2006) Density-dependent population dynamics in juvenile *Panulirus argus* (Latreille): the impact of artificial density enhancement. *J Exp Mar Biol Ecol* 334: 84–95.
- Blaxter JHS, Hempel G (1963) The influence of egg size on herring larvae (*Clupeaharengus* L.). *J Cons Int Explor Mer* 28: 211–240.
- Bligh EG, Dyer WJ (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J*

- Biochem Physiol 37: 911–917.
- Booth JD (1994) *Jasus edwardsii* larval recruitment off the east coast of New Zealand. Crustaceana 66: 295–317.
- Booth JD (2002) Early life histories, recruitment processes and settlement of spiny lobsters. Fish Sci 68 (Suppl 1): 384–389.
- Booth JD (2006) *Jasus* species. In: Phillips BF (ed.) *Lobsters: biology, management, aquaculture, and fisheries*. Blackwell, Oxford, pp 340–358.
- Booth JD, McKenzie A (2009) Strong relationships between levels of puerulus settlement and recruited stock abundance in the red rock lobster (*Jasus edwardsii*) in New Zealand. Fish Res 95: 161–168.
- Booth JD, Phillips BF (1994) Early life history of spiny lobster. Crustaceana 66: 271–294.
- Briones P, Lozano E, Cabrera MA, Arceo P (1997) Biología y ecología de las langostas (Crustacea: Decapoda: Palinuridae). In: Flores-Hernández D, Sánchez-Gil P, Seijo JC, Arreguín-Sánchez F (eds) *Análisis y diagnóstico de los recursos pesqueros críticos del Golfo de México*. Univ Autón Campeche, EPOMEX-Serie Científica 7, pp 81–99.
- Briones-Fourzán P (1994) Variability in postlarval recruitment of the spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804) to the Mexican Caribbean coast. Crustaceana 66: 326–340.
- Briones-Fourzán P, Lozano-Álvarez E (2001) The importance of *Lobophora variegata* (Phaeophyta: Dictyotales) as a habitat for small juveniles of *Panulirus argus* (Decapoda: Palinuridae) in a tropical reef lagoon. Bull Mar Sci 68: 207–219.
- Briones-Fourzán P, Lozano-Álvarez E (2013) Essential habitats for *Panulirus* spiny lobsters. In: Phillips BF (ed.) *Lobsters: biology, management, aquaculture, and fisheries (2nd ed)*. Wiley-Blackwell, Oxford, pp 289–325.

- Briones-Fourzán P, Baeza-Martínez K, Lozano-Álvarez E (2009) Nutritional indices of juvenile Caribbean spiny lobsters in a Mexican reef lagoon: are changes over a 10-year span related to the emergence of *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1)? *J Exp Mar Biol Ecol* 370: 82–88.
- Briones-Fourzán P, Candela J, Lozano-Álvarez E (2008) Postlarval settlement of the spiny lobster *Panulirus argus* along the Caribbean coast of Mexico: patterns, influence of physical factors, and possible sources of origin. *Limnol Oceanogr* 53: 970–985.
- Briones-Fourzán P, Castañeda-Fernández de Lara V, Lozano-Álvarez E, Estrada-Olivo J (2003) Feeding ecology of the three juvenile phases of the spiny lobster *Panulirus argus* in a tropical reef lagoon. *Mar Biol* 142: 855–865.
- Brito R, Díaz-Iglesias E, Rodríguez E, Conceição RM (1991) Metabolismo energético de postlarvas de langosta *Panulirus argus* sometidas a diferentes condiciones experimentales. *Rev Investig Mar* 12: 312–322.
- Butler MJ, Herrnkind WF (2000) Puerulus and juvenile ecology. In: Phillips BF, Kittaka J (eds). *Spiny lobsters: fisheries and culture (2nd ed)*. Fishing News Books, Oxford, pp 276–301.
- Butler MJ, Herrnkind WF, Hunt JH (1997) Factors affecting the recruitment of juvenile Caribbean spiny lobsters dwelling in macroalgae. *Bull Mar Sci* 66: 3–19.
- Butler MJ, Paris CB, Goldstein JS, Matsuda H, Cowen RK (2011) Behavior constrains the dispersal of long-lived spiny lobster larvae. *Mar Ecol Prog Ser* 422: 223–237.
- Calado R, Pimentel T, Pochelon P, Olaguer-Feliú AO, Querioga H (2010) Effect of food deprivation in late larval development and early benthic life of temperate marine coastal and estuarine caridean shrimp. *J Exp Mar Biol Ecol* 384: 107–112.
- Calinski MD, Lyons WG (1983) Swimming behavior of the puerulus of the spiny lobster

- Panulirus argus* (Latreille, 1804) (Crustacea: Palinuridae). *J Crustac Biol* 3: 329–335.
- Calvo NS, Stumpf L, Sacristán HJ, López-Greco LS (2013) Energetic reserves and digestive enzyme activities in juveniles of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* nearby the point-of-no-return. *Aquaculture* 416: 85–91.
- Calvo NS, Tropea C, Anger K, López-Greco LS (2012) Starvation resistance in juvenile freshwater crayfish. *Aquat Biol* 16: 287–297.
- Candela J, Tanahara S, Crepon M, Barnier B, Sheinbaum J (2003) Yucatan Channel flow: Observations versus CLIPPER ATL6 and MERCATOR PAM models. *J Geophys Res* 108: C123385.
- Caputi N, Melville-Smith R, de Lestang S, Pearce A, Feng M (2010) The effect of climate change on the western rock lobster (*Panulirus cygnus*) fishery of Western Australia. *Can J Fish Aquat Sci* 67: 85–96.
- Carrillo L, Johns EM, Smith RH, Lamkin JT, Largier JL (2015) Pathways and hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef system part 1: Circulation. *Cont Shelf Res* 109: 164–176.
- Castañeda-Fernández de Lara V, Serviere-Zaragoza E, Hernández-Vázquez S, Butler IV MJ (2005) Feeding ecology of juvenile spiny lobster, *Panulirus interruptus*, on the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. *New Zeal J Mar Fresh* 39: 425–435.
- Cetina P, Candela J, Sheinbaum J, Ochoa J, Badan A (2006) Circulation along the Mexican Caribbean coast. *J Geophys Res* 111: C08021.
- Childress MJ, Herrnkind WF (1994) The behavior of juvenile Caribbean spiny lobster in Florida Bay: seasonality, ontogeny, and sociality. *Bull Mar Sci* 54: 819–827.
- Chiswell SM, Booth JD (2008) Sources and sinks of larval settlement in *Jasus edwardsii* around New Zealand: where do larvae come from and where do they go? *Mar Ecol*

- Prog Ser 354: 201–217.
- Cochrane KL, Chakallal B (2001) The spiny lobster fishery in the WECAFC region: an approach to responsible fishery management. *Mar Freshw Res* 52: 1623–1631.
- Cowen RK, Sponaugle S (2009) Larval dispersal and marine population connectivity. *Ann Rev Mar Sci* 1: 443–466.
- Cox SL, Jeffs A, Davies M (2008) Developmental changes in the mouthparts of juvenile Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*: Implications for aquaculture. *Aquaculture* 283: 168–174.
- Cronin JT (2003) Movement and spatial population structure of a prairie planthopper. *Ecology* 84: 1179–1188.
- Cruz R (1999) Variabilidad del reclutamiento y pronóstico de la pesquería de langosta (*Panulirus argus* Latreille, 1804) en Cuba. Ph.D. thesis, Univ. de La Habana, Cuba.
- Cruz R, de León ME, Puga R (1995) Prediction of commercial catches of the spiny lobster *Panulirus argus* in the Gulf of Batabanó, Cuba. *Crustaceana* 68: 238–244.
- Dall W (1974) Indices of nutritional state in the western rock lobster, *Panulirus longipes* (Milne-Edwards). I: Blood and tissue constituents and water content. *J Exp Mar Biol Ecol* 16: 167–180.
- de Lestang S, Caputi N, Feng M, Denham A, Penn J, Slawinski D, How J (2015) What caused seven consecutive years of low puerulus settlement in the western rock lobster fishery of Western Australia? *ICES J Mar Sci* 72: i49–i58.
- Dennis DM, Pitcher CR, Skewes TD (2001) Distribution and transport pathways of *Panulirus ornatus* (Fabricius, 1776) and *Panulirus* spp. larvae in the Coral Sea, Australia. *Mar Freshw Res* 52: 1175–1185.
- Díaz-Iglesias E, Robles-Murillo AK, Buesa RJ, Báez-Hidalgo M, López-Zenteno M (2011)

- Bioenergetics of red spiny lobster *Panulirus interruptus* (Randall, 1840) juveniles fed with mollusc. *Aquaculture* 318: 207–218.
- Diniz FM, Maclean N, Paterson IG, Bentzen P (2004) Polymorphic tetranucleotide microsatellite markers in the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. *Mol Ecol Notes*, 4: 327–329.
- Diniz FM, Mclean N, Ogawa M, Cintra IH, Bentzen P (2005a) The hypervariable domain of the mitochondrial control region in Atlantic spiny lobsters and its potential as a marker for investigating phylogeographic structuring. *Mar Biotechnol* 7: 462–473.
- Diniz FM, Mclean N, Ogawa M, Paterson IG, Bentzen P (2005b) Microsatellites in the overexploited spiny lobster, *Panulirus argus*: isolation, characterization of loci and potential for intraspecific variability studies. *Conserv Genet* 6: 637–641.
- Eble JA, Toonen RJ, Sorenson L, Basch LV, Papastamatiou YP, Bowen BW (2011) Escaping paradise: larval export from Hawaii in an Indo-Pacific reef fish, the yellow tang (*Zebrasoma flavescens*). *Mar Ecol Prog Ser* 428: 245.
- Eggleston DB, Lipcius RN, Marshall LS Jr, Ratchford SG (1998) Spatiotemporal variation in postlarval recruitment of the Caribbean spiny lobster in the central Bahamas: lunar and seasonal periodicity, spatial coherence, and wind forcing. *Mar Ecol Prog Ser* 174: 33–49.
- Ehrhardt N, Puga R, Butler M (2011) Implications of the ecosystem approach to fisheries management in large ecosystems: the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*, fisheries as a case. In: Fanning L, Mahon R, McConney P (eds). *Towards marine ecosystem-based management in the wider Caribbean*. Amsterdam Univ Press, Amsterdam, pp 157–175.
- Figueiredo J, Penha-Lopes G, Narciso L, Lin J (2008) Effect of starvation during late

- megalopa stage of *Mithraculus forceps* (Brachyura: Majidae) on larval duration, synchronism of metamorphosis, survival to juvenile, and newly metamorphosed juvenile size. *Aquaculture* 274: 175–180.
- Fitzgibbon QP, Jeffs AG, Battaglione SC (2014) The Achilles heel for spiny lobsters: the energetics of the non-feeding post-larval stage. *Fish Fish* 15: 312–326.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497 – 509.
- Francis DS, Salmon ML, Kenway MJ, Hall MR (2014) Palinurid lobster aquaculture: nutritional progress and considerations for successful larval rearing. *Rev Aquacult* 6: 180–203.
- García-Rodríguez FJ, Pérez-Enríquez R (2008) Lack of genetic differentiation of blue spiny lobster *Panulirus inflatus* along the Pacific coast of Mexico inferred from mtDNA sequences. *Mar Ecol Prog Ser* 361: 203–212.
- Gebauer P, Paschke K, Anger K (2010) Seasonal variation in the nutritional vulnerability of first-stage larval porcelain crab, *Petrolisthes laevigatus* (Anomura: Porcellanidae) in southern Chile. *J Exp Mar Biol Ecol* 386: 103–112.
- Giraldes BW, Smyth DM (2016) Recognizing *Panulirus meripurpuratus* sp. nov. (Decapoda: Palinuridae) in Brazil – Systematic and biogeographic overview of *Panulirus* species in the Atlantic Ocean. *Zootaxa* 4107: 353–366.
- Glencross B, Smith M, Curnow J, Smith D, Williams K (2001) The dietary protein and lipid requirements of post-puerulus western rock lobsters, *Panulirus cygnus*. *Aquaculture* 199: 119–129.
- Goldstein JS, Butler MJ (2009) Behavioral enhancement of onshore transport by postlarval Caribbean spiny lobster (*Panulirus argus*). *Limnol Oceanogr* 54: 1669–1678.

- Goldstein JS, Matsuda H, Takenouchi T, Butler MJ (2008) The complete development of larval Caribbean spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804) in culture. *J Crustac Biol* 28: 306–327.
- Grobler CAF, Ndjaula HON (2001) Namibian *Jasus lalandii* recruitment: size, weight and growth of pueruli and early juveniles. *Mar Freshw Res* 52: 1277–1281.
- Groeneveld JC, Greengrass CL, van Zyl DL, Branch GM (2010) Settlement patterns, size and growth of puerulus and juvenile rock lobster *Jasus lalandii* at an oyster farm in Saldanha Bay, South Africa. *Afr J Mar Sci* 32: 501–510.
- Guerao G, Simeo CG, Anger K, Urzua A, Rotllant G (2012) Nutritional vulnerability of early zoea larvae of the crab *Maja brachydactyla* (Brachyura, Majidae). *Aquat Biol* 16: 253–264.
- Gutiérrez-Carbonell D, Simonín-Díaz J, Briones-Fourzán P (1992) A simple collector for postlarvae of the spiny lobster *Panulirus argus*. *Proc Gulf Caribb Fish Inst* 41: 516–527.
- Gutow L, Leidenberger S, Boos K, Franke HD (2007) Differential life history responses of two *Idotea* species (Crustacea: Isopoda) to food limitation. *Mar Ecol Prog Ser* 344: 159–172.
- Harding GC, Fraser AJ (1999) Application of the triacylglycerol/sterol condition index to the interpretation of larval lobster *Homarus americanus* distribution in close proximity to Georges Bank, Gulf of Maine. *Mar Ecol Prog Ser* 186: 239–254.
- Harms J (1992) Larval development and delayed metamorphosis in the hermit crab *Clibanarius erythropus* (Latreille) (Crustacea, Diogenidae). *J Exp Mar Biol Ecol* 156: 151–160.
- Harms J, Moal J, Le Coz J R, Daniel J Y, Samain J F (1990) Nucleotide composition and

- energy charge in growing and starving zoea I of *Carcinus maenas* (Decapoda: Portunidae). *Comp Biochem Phys B* 96: 405–414.
- Hastings A, Botsford LW (2006) Persistence of spatial populations depends on returning home. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 6067–6072.
- Herrnkind WF, Butler MJ (1994) Settlement of spiny lobster, *Panulirus argus* (Latreille, 1804), in Florida: pattern without Predictability? *Crustaceana* 67: 46–64.
- Holthuis LB (1991) Marine lobsters of the world. FAO Species Catalogue 13. UNESCO, Rome. 292 pp.
- Iacchei M, Gaither MR, Bowen BW, Toonen RJ (2016) Testing dispersal limits in the sea: range-wide phylogeography of the pronghorn spiny lobster *Panulirus penicillatus*. *J Biogeogr* 43: 1032–144.
- Ikeda T, Smith G, McKinnon AD, Hall M (2011) Metabolism and chemical composition of phyllosoma larvae, with special reference to the tropical rock lobster *Panulirus ornatus* (Decapoda; Palinuridae). *J Exp Mar Biol Ecol* 405: 80–86.
- Jeffs AG (2010) Status and challenges of advancing lobster aquaculture globally. *J Mar Biol Assoc India* 52: 320–326.
- Jeffs A, Davis M (2003) An assessment of the aquaculture potential of the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. *Proc Gulf Caribb Fish Inst* 54: 413–426.
- Jeffs AG, Wilmott ME, Wells RMG (1999) The use of energy stores in the puerulus of the spiny lobster *Jasus edwardsii* across the continental shelf of New Zealand. *Comp Biochem Physiol A* 123: 351–357.
- Jeffs AG, Chiswell SM, Booth JD (2001a) Distribution and condition of pueruli of the spiny lobster *Jasus edwardsii* offshore from north-east New Zealand. *Mar Freshw Res* 52: 1211–1216.

- Jeffs AG, Nichols PD, Bruce MP (2001b) Lipid reserves used by pueruli of the spiny lobster *Jasus edwardsii* in crossing the continental shelf of New Zealand. *Comp Biochem Physiol A* 129: 305–311.
- Jeffs AG, Montgomery JC, Tindle CT (2005) How do spiny lobster post-larvae find the coast? *N Z J Mar Freshw Res* 39: 605–617.
- Jeffs AG, Gardner C, Cockcroft A (2013) *Jasus* and *Sagmariasus* species. In: Phillips BF (ed.) *Lobsters: biology, management, aquaculture, and fisheries (2nd ed)*. Wiley-Blackwell, Oxford, pp 289–325.
- Jeffs AG, Phleger CF, Nelson MM, Mooney BD, Nichols PD (2002) Marked depletion of polar lipid and non-essential fatty acids following settlement by post-larvae of the spiny lobster *Jasus verreauxi*. *Comp Biochem Physiol A* 131: 305–311.
- Juinio MA, Cheer S, Bengtson DA, Cobb JS (1991) Effect of diet quality on growth and RNA:DNA ratio of postlarval lobsters (*Homarus americanus*). *Larvi '91*, European Aquaculture Society Special Publication 15: 71–73.
- Kennington WJ, Cadee SA, Berry O, Groth DM, Johnson MS, Melville-Smith R (2013) Maintenance of genetic variation and panmixia in the commercially exploited western rock lobster (*Panulirus cygnus*). *Conserv Genet* 14: 115–124.
- Kittaka J (1994) Culture of phyllosomas of spiny lobster and its application to studies of larval recruitment and aquaculture. *Crustaceana* 66: 258–270.
- Kough AS, Paris CB, Staaterman E (2014) In situ swimming and orientation behavior of spiny lobster (*Panulirus argus*) postlarvae. *Mar Ecol Prog Ser* 504: 207–219.
- Kough AS, Paris CB, Butler MJ (2013) Larval connectivity and the international management of fisheries. *PloS one*, 8: e64970.
- Lalana R, Ortiz M (1991) Contenido estomacal de puerulos y postpuerulos de la langosta

- Panulirus argus* en el Archipiélago de los Canarreos, Cuba. *Rev Inv Mar* 12: 107–116.
- Largier JL (2003) Considerations in estimating larval dispersal distances from oceanographic data. *Ecol Appl* 13: 71–89.
- Lecchini D, Mills SC, Brié C, Maurin R, Banaigs B (2010) Ecological determinants and sensory mechanisms in habitat selection of crustacean postlarvae. *Behav Ecol* 21: 599–607.
- Lellis WA, Russell JA (1990) Effect of temperature on survival, growth and feed intake of postlarval spiny lobsters, *Panulirus argus*. *Aquaculture* 90: 1–9.
- Lemmens JWTJ (1994a) The western rock lobster *Panulirus cygnus* (George, 1962) (Decapoda: Palinuridae): the effect of temperature and developmental stage on energy requirements of pueruli. *J Exp Mar Biol Ecol* 180: 221–234.
- Lemmens JWTJ (1994b) Biochemical evidence for absence of feeding in pueruli larvae of the western rock lobster *Panulirus cygnus* (Decapoda: Palinuridae). *Mar Biol* 118: 383–391.
- Lemmens JWTJ (1995) Calcium accumulation during the transition from puerulus to juvenile in the western rock lobster, *Panulirus cygnus* (Decapoda: Palinuridae). *Mar Freshwater Res* 46: 905–907.
- Lemmens JWTJ, Knott B (1994) Morphological changes in external and internal feeding structures during the transition phyllosoma-puerulus-juvenile in the Western rock lobster (*Panulirus cygnus*, Decapoda: Palinuridae). *J Morphol* 220: 271–280.
- Levins R (1970) Extinctions. In: *in Some Mathematical Questions in Biology: Lectures on Mathematics in the Life Sciences*. American Mathematical Society, Providence, Rhode Island, pp. 77–107.
- Lewis JB (1951) The phyllosoma larvae of the spiny lobster *Panulirus argus*. *Bull Mar Sci*

- Gulf Caribb 1: 89–103.
- Lewis JB, Moore HB, Babis W (1952) The post-larval stages of the spiny lobster *Panulirus argus*. Bull Mar Sci Gulf Caribb 2: 324–337.
- Liddy GC, Phillips BF, Maguire GB (2003) Survival and growth of instar 1 phyllosoma of the western rock lobster, *Panulirus cygnus*, starved before or after periods of feeding. Aquac Intern 11: 53–67.
- Limbourn AJ, Nichols PD (2009) Lipid, fatty acid and protein content of late larval to early juvenile stages of the western rock lobster, *Panulirus cygnus*. Comp Biochem Physiol B 152: 292–298.
- Limbourn AJ, Babcock RC, Johnston DJ, Nichols PD, Knott EB (2008) Post-settlement energy reserves in *Panulirus cygnus*: experimental effects of starvation on survival and nutritional condition. Mar Biol 153: 445–456.
- Limbourn AJ, Babcock RC, Johnston DJ, Nichols PD, Knott EB (2009) Spatial and temporal variation in lipid and fatty acid profiles of western rock lobster pueruli at first settlement: biochemical indicators of diet and nutritional status. Mar Freshw Res 60: 810–823.
- Lipcius RN, Eggleston DB (2000) Ecology and fishery biology of spiny lobsters. In Phillips BF, Kittaka J (eds). *Spiny lobsters: fisheries and culture (2nd ed)*. Fishing News Books, Oxford, pp 1–41.
- Lozano-Álvarez E (1996) Ongrowing of juvenile spiny lobsters, *Panulirus argus* (Latreille, 1804) (Decapoda, Palinuridae), in portable sea enclosures. Crustaceana 69: 958–973.
- Macmillan DL, Phillips BF, Coyne JA (1992) Further observations on the antennal receptors of rock lobsters and their possible involvement in puerulus stage navigation. Mar Behav Physiol 19: 211–225.

- Manzanilla-Domínguez H, Gasca R (2004) Distribution and abundance of phyllosoma larvae (Decapoda: Palinuridae) in the southern Gulf of Mexico and the western Caribbean sea. *Crustaceana* 77: 75–93.
- Martínez-Calderón R (2015) Reclutamiento de *Panulirus argus* en Quintana Roo: zonas de metamorfosis y variación estacional en dimensiones corporales e índices morfométricos de postlarvas y juveniles tempranos. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Marx JM, Herrnkind WF (1985) Macroalgae (Rhodophyta: *Laurencia spp.*) as habitat for young juvenile spiny lobsters, *Panulirus argus*. *Bul Mar Sci* 36: 423–431.
- McWilliam PS, Phillips BF (1997) Metamorphosis of the final phyllosoma and secondary lecithotrophy in the puerulus of *Panulirus cygnus* George: a review. *Mar Freshw Res* 48: 783–790.
- McWilliam PS, Phillips BF (2007) Spiny lobster development: mechanisms inducing metamorphosis to the puerulus: a review. *Rev Fish Biol Fisher* 17: 615–632.
- Melo-González N, Müller-Karger F, Cerdeira S, Pérez R, Victoria del Río I, Cárdenas P, Mitrani I (2000) Near-surface phytoplankton distribution in the western Intra-Americas Sea: the influence of El Niño and weather events. *J Geophys Res* 105 (C6): 14029–14043.
- Menzies RA (1981) Biochemical population genetics and the spiny lobster larval recruitment problem: an update. *Proc Gulf Carib Fish Inst* 33: 230–243.
- Menzies RA, Kerrigan JM (1979) Implications of spiny lobster recruitment patterns of the Caribbean - a biochemical genetic approach. *Proc Gulf Carib Fish Inst* 31: 164–178.
- Mikami S, Greenwood JG, Gillespie NC (1995) The effect of starvation and feeding regimes on survival, intermoult period and growth of cultured *Panulirus Japonicus*

- and *Thenus sp.* phyllosomas (Decapoda, Palinuridae and Scyllaridae). *Crustaceana* 68: 160–169.
- Moore LE, Smith DM, Loneragan NR (2000) Blood refractive index and whole body lipid content as indicators of nutritional condition for penaeid prawns (Decapoda: Penaeidae). *J Exp Mar Biol Ecol* 244: 131–143.
- Moran AL, McAlister JS (2009) Egg size as a life history character of marine invertebrates: is it all it's cracked up to be? *Biol Bull* 216: 226–242.
- Murakami K, Jinbo T, Hamasaki K (2007) Aspects of the technology of phyllosoma rearing and metamorphosis from phyllosoma to puerulus in the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* reared in the laboratory. *Bull Fish Res Agen* 20: 59–67.
- Musgrove RJB (1999) Condition and its assessment in the southern rock lobster *Jasus edwardsii*. I. Assessment of condition indices and moult staging techniques. SARDI Internal Report Project 95/017, 53 pp.
- Naro-Maciel E, Reid B, Holmes KE, Brumbaugh DR, Martin M, DeSalle R (2011) Mitochondrial DNA sequence variation in spiny lobsters: population expansion, panmixia, and divergence. *Mar Biol* 158: 2027–2041.
- Nguyen KDT, Morley SA, Lai C-H, Clark MS, Tan KS, Bates AE, Peck LS (2011) Upper temperature limits of tropical marine ectotherms: global warming implications. *PLoS ONE* 6: e29340.
- Nishida S, Takahashi Y, Kittaka J (1995) Structural changes in the hepatopancreas of the rock lobster, *Jasus edwardsii* (Crustacea: Palinuridae), during development from the puerulus to post-puerulus. *Mar Biol* 123: 837–844.
- Oliver MD, MacDiarmid AB (2001) Blood refractive index and ratio of weight to carapace length as indices of nutritional condition in juvenile rock lobsters (*Jasus edwardsii*).

- Mar Freshw Res 52: 1395–1400.
- Pantaleão JAF, Barros-Alves SP, Tropea C, Alves DFR, Negreiros-Fransozo ML, López-Greco LS (2015) Nutritional vulnerability in early stages of the freshwater ornamental “red cherry shrimp” *Neocaridina davidi* (Bouvier, 1904) (Caridea: Atyidae). J Crust Biol 35: 676–681.
- Paris CB, Cherubin LM, Cowen RK (2007) Surfing, diving or spinning: effects on population connectivity. Mar Ecol Prog Ser 347:285–300.
- Paschke KA, Gebauer P, Buchholz F, Anger K (2004) Seasonal variation in starvation resistance of early larval North Sea shrimp *Crangon crangon* (Decapoda: Crangonidae). Mar Ecol Prog Ser 279: 183–191.
- Pechenik JA (2006) Larval experience and latent effects—metamorphosis is not a new beginning. Integr Comp Biol 46: 323–333.
- Perera E, Díaz-Iglesias E, Fraga I, Carrillo O, Galich GS (2007) Effect of body weight, temperature and feeding on the metabolic rate in the spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804). Aquaculture 265: 261–270.
- Phillips BF (1986) Prediction of commercial catches of the western rock lobster *Panulirus cygnus*. Can J Fish Aquat Sci 43: 2126–2130.
- Phillips BF, Macmillan DL (1987) Antennal receptors in puerulus and postpuerulus stages of the rock lobster *Panulirus cygnus* (Decapoda: Palinuridae) and their potential role in puerulus navigation. J Crustac Biol 7: 122–135.
- Phillips BF, Pearce AF (1997) Spiny lobster recruitment off Western Australia. Bul Mar Sci 61: 21–41.
- Phillips BF, Melville-Smith R (2006) *Panulirus* species. In: Phillips BF (ed.) *Lobsters: biology, management, aquaculture, and fisheries*. Blackwell, Oxford, pp 359–384.

- Phillips BF, McWilliam PS (2009) Spiny lobster development: where does successful metamorphosis to the puerulus occur?: A review. *Rev Fish Biol Fisheries* 19: 193–215.
- Phillips BF, Pearce AF, Litchfield RT (1991) The Leeuwin current and larval recruitment of the rock (spiny) lobster off Western Australia. *J Roy Soc W Aust* 74: 93–100.
- Phillips BF, Cruz R, Caputi N, Brown RS (2000) Predicting the catch of spiny lobster fisheries. In: Phillips BF, Kittaka J (eds). *Spiny lobsters: fisheries and culture (2nd ed)*. Fishing News Books, Oxford, pp 357–375.
- Phillips BF, Melville-Smith R, Kay MC, Vega-Velázquez A (2013) *Panulirus* species. In: Phillips BF (ed.) *Lobsters: biology, management, aquaculture, and fisheries (2nd ed)*. Wiley-Blackwell, Oxford, pp 289–325.
- Phillips BF, Booth JD, Cobb JS, Jeffs AG, McWilliam P (2006a) Larval and postlarval ecology. In: Phillips BF (ed.) *Lobsters: biology, management, aquaculture, and fisheries*. Blackwell, Oxford, pp 231–262.
- Phillips BF, Jeffs AG, Melville-Smith R, Chubb CF, Nelson MM, Nichols PD (2006b) Changes in lipid and fatty acid composition of late larval and puerulus stages of the spiny lobster (*Panulirus cygnus*) across the continental shelf of Western Australia. *Comp Biochem Physiol B* 143: 219–228.
- Phleger CF, Nelson MM, Mooney BD, Nichols PD, Ritar AJ, Smith GG, Hart PR, Jeffs AG (2001) Lipids and nutrition of the southern rock lobster, *Jasus edwardsii*, from hatch to puerulus. *Mar Freshw Res* 52:1475–1486
- Pineda J, Hare JA, Sponaugle S (2007) Larval dispersal and transport in the coastal ocean and consequences for population connectivity. *Oceanography* 20: 22–39.
- Raubenheimer D, Simpson SJ, Mayntz D (2009) Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. *Func Ecol* 23: 4–16.

- Richards WJ, Pothoff T (1981) Distribution and seasonal occurrence of larval pelagic stages of spiny lobsters (Palinuridae, *Panulirus*) in the Western Tropical Atlantic. Proc Gulf Carib Fish Inst 21: 152–157.
- Richardson PF (2005) Caribbean currents and eddies as observed by surface drifters. Deep Sea Res II 52: 429–463.
- Rimmer DW, Phillips BF (1979) Diurnal migration and vertical distribution of phyllosoma larvae of the western rock lobster *Panulirus cygnus*. Mar Biol 54: 109–124.
- Ritar AJ, Dunstan GA, Crear BJ, Brown MR (2003) Biochemical composition during growth and starvation of early larval stages of cultured spiny lobster (*Jasus edwardsii*) phyllosoma. Comp Biochem Physiol A 136: 353–370.
- Roberts CM (1997) Connectivity and management of Caribbean coral reefs. Science 278: 1454–1457.
- Robertson DN, Butler MJ, Dobbs FC (2000) An evaluation of lipid- and morphometric-based indices of nutritional condition for early benthic stage spiny lobsters, *Panulirus argus*. Mar Freshw Behav Physiol 33: 161–171.
- Robertson DR, Kaufmann KW (1998) Assessing early recruitment dynamics and its demographic consequences among tropical reef fishes: accommodating variation in recruitment seasonality and longevity. Aust J Ecol 23: 226–233.
- Rodríguez-García OU, Castañeda-Fernández de Lara V, Rodríguez-Jaramillo C, Serviere-Zaragoza E (2015) Nutritional condition and gonad development of juvenile and subadult California spiny lobster *Panulirus interruptus* in two habitats. Rev Biol Mar Oceanogr 50: 251–260.
- Sánchez A, Pascual C, Sánchez A, Vargas-Albores F, LeMoullac G, Rosas C (2002) Acclimation of adult males of *Litopenaeus setiferus* exposed at 27 °C and 31 °C:

- bioenergetic balance. In: Escobar-Briones EE, Álvarez F (eds.) *Modern approaches to the study of Crustacea*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Sarver SK, Silberman JD, Walsh PJ (1998) Mitochondrial DNA sequence evidence supporting the recognition of two subspecies or species of the Florida spiny lobster *Panulirus argus*. *J Crustac Biol* 18: 177–186.
- Schulte-Hostedder AI, Zinner B, Millar JS, Hickling GJ (2005) Restitution of mass-size residuals: validating body condition indices. *Ecology* 86: 155–163.
- Silberman JD, Sarver SK, Walsh PJ. 1994. Mitochondrial DNA variation and population structure in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Mar Biol* 120: 601–608.
- Simon CJ, Fitzgibbon QP, Battison A, Carter CG, Battaglione SC (2015) Bioenergetics of nutrient reserves and metabolism in spiny lobster juveniles *Sagmariasus verreauxi*: Predicting nutritional condition from hemolymph biochemistry. *Physiol Biochem Zool* 88: 266–283.
- Sinanoglou VJ, Strati IF, Bratakos SM, Proestos C, Zoumpoulakis P, Miniadis-Meimaroglou S (2012) On the combined application of Iatroscan TLC-FID and GC-FID to identify total, neutral, and polar lipids and their fatty acids extracted from foods. *ISRN Chromatography* 2013: 859024.
- Smith DM, Williams KC, Irvin SJ (2005) Response of the tropical spiny lobster *Panulirus ornatus* to protein content of pelleted feed and to a diet of mussel flesh. *Aquac Nutr* 11: 209–217.
- Smith G, Kenway M, Hall M (2010) Starvation and recovery ability of phyllosoma of the tropical spiny lobsters *Panulirus ornatus* and *P. homarus* in captivity. *J Mar Biol Assoc India* 52: 249–256.
- Smith GG, Thompson PA, Ritar AJ, Dunstan GA (2003) Effects of starvation and feeding

- on the fatty acid profiles of stage I phyllosoma of the spiny lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquac Res* 34: 419–426.
- Sponaugle S, Cowen RK (1996) Nearshore patterns of coral reef fish larval supply to Barbados, West Indies. *Mar Ecol Prog Ser* 133: 13–28.
- Stevenson JR (1985) Dynamics of the integument. In: Bliss DE, Mantel LH (eds.) *The biology of Crustacea. Volume 9: Integument, pigments and hormonal processes*. Academic Press Inc., London, pp 1–42.
- Stanley JA, Hesse J, Hinojosa IA, Jeffs AG (2015) Inducers of settlement and moulting in post-larval spiny lobster. *Oecologia*, 178: 685–697.
- Stumpf L, Calvo NS, Pietrokovsky S, López-Greco LS (2010) Nutritional vulnerability and compensatory growth in early juveniles of the “red claw” crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture* 304: 34–41.
- Sulkin SD (1978) Nutritional requirements during larval development of the portunid crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. *J Exp Mar Biol Ecol* 34: 29–41.
- Terwilliger NB (1999) Hemolymph proteins and molting in crustaceans and insects. *Am Zool* 39: 589–599.
- Tourinho JL, Solé-Cava AM, Lazoski C (2012) Cryptic species within the commercially most important lobster in the tropical Atlantic, the spiny lobster *Panulirus argus*. *Mar Biol* 159: 1897–1906.
- Truelove NK, Griffiths S, Ley-Cooper K, Azueta J, Majil I, Box SJ, Preziosi RF (2015) Genetic evidence from the spiny lobster fishery supports international cooperation among Central American marine protected areas. *Conserv Genet* 16: 347–358.
- Underwood AJ (1981) Techniques of analysis of variance in experimental marine biology and ecology. *Oceanol Mar Biol Annu Rev* 19: 513–605.

- Ventura T, Fitzgibbon QP, Battaglene SC, Elizur A (2015) Redefining metamorphosis in spiny lobsters: molecular analysis of the phyllosoma to puerulus transition in *Sagmariasus verreauxi*. *Sci Rep* 5: 13537.
- Vermeij MJ, Marhaver KL, Huijbers CM, Nagelkerken I, Simpson SD (2010) Coral larvae move toward reef sounds. *PLoS ONE* 5: e10660.
- Volkman JK, Nichols PD (1991) Application of thin layer chromatography-flame ionization detection to the analysis of lipids and pollutants in marine environmental samples. *J Planar Chromatogr - Mod TLC* 4: 19–26.
- Wang M, O'Rourke R, Waite AM, Beckley LE, Thompson P, Jeffs AG (2015) Condition of larvae of western rock lobster (*Panulirus cygnus*) in cyclonic and anticyclonic eddies of the Leeuwin Current off Western Australia. *Mar Freshwater Res* 66: 1158–1167.
- Wang SY, Stickle WB (1986) Changes in nucleic acid concentration with starvation in the blue crab *Callinectes sapidus* Rathbun. *J Crust Biol* 6: 49–56.
- Weiss HM, Lozano-Álvarez E, Briones-Fourzán P (2008) Circadian shelter occupancy patterns and predator-prey interactions of juvenile Caribbean spiny lobsters in a reef lagoon. *Mar Biol* 153: 953–963.
- Weiss HM, Lozano-Álvarez E, Briones-Fourzán P, Negrete-Soto F (2006) Using red light with fixed-site video cameras to study the behavior of the spiny lobster, *Panulirus argus*, and associated animals at night and inside their shelters. *Mar Tech Soc J* 40: 86–95.
- Wells RMG, Lu J, Hickey AJR, Jeffs AG (2001) Ontogenetic changes in enzyme activities associated with energy production in the spiny lobster, *Jasus edwardsii*. *Comp Biochem Physiol B* 130: 339–347.
- Wilkin JL, Jeffs AG (2011) Energetics of swimming to shore in the puerulus stage of a

- spiny lobster: can a postlarval lobster afford the cost of crossing the continental shelf?  
*Limnol Oceanogr Fluids Environm* 1: 163–175.
- Witham R (1973) Preliminary thermal studies on young *Panulirus argus*. *Fla Sci* 36: 154–158.
- Wu J (1995) Modeling dynamics of patchy landscapes: linking metapopulation theory, landscape ecology and conservation biology. In: *Yearbook in Systems Ecology (English edition)*. Chinese Academy of Sciences, Beijing, pp 97–116.
- Wu X, Smith G, Hall M (2012) Patterns of larval growth, lipid composition and fatty acid deposition during early to mid stages of development in *Panulirus ornatus* phyllosoma. *Aquaculture* 330: 63–73.
- Yeung C, Jones DL, Criales MM, Jackson TL, Richards WJ (2001) Influence of coastal eddies and counter-currents on the influx of spiny lobster, *Panulirus argus*, postlarvae into Florida Bay. *Mar Freshwater Res* 52: 1217–1232.
- Yoshimura T, Yamakawa H, Kozasa E (1999) Distribution of final stage phyllosoma larvae and free-swimming pueruli of *Panulirus japonicus* around the Kuroshio Current off southern Kyusyu, Japan. *Mar Biol* 133: 293–306.

## ANEXO 1

Estudios referentes a condición nutricional en primeras fases ontogenéticas de langostas espinosas (PNR<sub>50</sub>: punto de no-retorno; PSR<sub>50</sub>: punto de saturación de reservas; LC: longitud cefalotorácica; TAG: triacilglicerol; IHS: índice hepatosomático; IRH; índice de refracción de la hemolinfa).

Especie	Fase ontogenética (estadios)	Localidad	Característica	Referencia
<i>Jasus edwardsii</i>	Filosomas (I)	Nueva Zelanda	PNR <sub>50</sub> , PSR <sub>50</sub>	Abrunhosa & Kittaka (1997)
	Filosomas (I)	Nueva Zelanda	Perfil lipídico con/sin inanición	Smith et al. (2003)
	Filosomas (I a IV)	Nueva Zelanda	Composición bioquímica	Ritar et al. (2003)
	Filosomas (IV a XI), Puerulos nectónicos	Tasmania y Nueva Zelanda	Contenido de lípidos (totales y por clases)	Phleger et al. (2001)
	Puerulos nectónicos y recién asentados (bénticos)	Nueva Zelanda	Contenido de lípidos, carbohidratos y proteínas totales	Jeffs et al. (1999)
	Puerulos nectónicos	Nueva Zelanda	LC, peso, contenido total de lípidos	Jeffs et al. (2001a)
	Puerulos nectónicos y bénticos	Nueva Zelanda	Consumo de clases de lípidos en el trayecto a la costa	Jeffs et al. (2001b)
Juveniles	Nueva Zelanda	Cociente peso/LC; IRH	Oliver & MacDiarmid (2001)	
<i>Jasus lalandii</i>	Puerulos bénticos y juveniles (I–III)	Namibia	LC, peso	Grobler & Ndjaula (2001)
<i>Sagmariasus verreauxi</i>	Filosomas (I)	Nueva Zelanda	PNR <sub>50</sub> , PSR <sub>50</sub>	Abrunhosa & Kittaka (1997)
	Puerulos bénticos y juveniles (I)	Nueva Zelanda	Contenido de lípidos totales y polares; ácidos grasos	Jeffs et al. (2002)
<i>Panulirus cygnus</i>	Filosomas (I)	Australia occidental	PNR <sub>50</sub> , PSR <sub>50</sub>	Liddy et al. (2003)
	Filosomas, puerulos bénticos, pigmentados, juveniles (I, II)	Australia occidental	Razón C:N, razón ARN:ADN	Lemmens (1994a, b)

	Filosomas (IX), puerulos béticos, juveniles (I)	Australia occidental	Contenido de lípidos, ácidos grasos y proteínas	Limbourn & Nichols (2009)
	Filosomas (VIII y IX), puerulos nectónicos y béticos	Australia occidental	Composición lipídica	Phillips et al. (2006b)
	Puerulos béticos, pigmentados, Juveniles (I)	Australia occidental	Contenido de lípidos, ácidos grasos y proteínas (variaciones espacio-temporales)	Limbourn et al. (2009)
	Juveniles (I)	Australia occidental	PNR <sub>50</sub> y efectos de inanición en composición bioquímica	Limbourn et al. (2008)
<b><i>Panulirus argus</i></b>	Juveniles tempranos	Florida	Cociente peso/LC; Cociente TAG/peso	Robertson et al. (2000)
	Juveniles tempranos y tardíos	México	Cociente peso/LC, IHS	Briones-Fourzán et al. (2009)
	Juveniles tardíos	Florida	IRH	Behringer & Butler (2006)

## **ANEXO 2: Extracción de lípidos totales de estadios ontogenéticos tempranos de langostas espinosas.**

### **Día 1**

- 1.- Preparar los embudos de separación, enjuagándolos primero con diclorometano, después con metanol y finalmente con cloroformo.
- 2.- Dejar evaporar el cloroformo.
- 3.- En la tarde, preparar las muestras que van a ser colocadas en los embudos. Colocar las muestras teniendo cuidado de anotar qué muestra queda en cada embudo.
- 4.- Agregar al embudo las cantidades correspondientes de agua desionizada, metanol y cloroformo. Las proporciones deben ser 0.8 agua : 2 metanol : 1 cloroformo. Para puerulos se usan los siguientes volúmenes: 1.6 ml agua desionizada : 4 ml metanol: 2 ml cloroformo.
- 5.- Después de agregar los reactivos, mezclar vigorosamente y liberar la presión
- 6.- Dejar reposar durante la noche.

### **Día 2**

- 7.- Completar los niveles de cloroformo y agua para separar la solución acuosa (agua y metanol) del cloroformo. En este paso se agrega una solución salina (NaCl 0.7%) en lugar del agua desionizada para poder distinguir las fases. La proporción final debe ser 1.8 agua : 2 metanol : 2 cloroformo. Para puerulos se agregan 2 ml de solución salina y 2 ml de cloroformo.
- 8.- Mezclar vigorosamente los embudos, asegurándose de que todos los sólidos permanezcan en la capa acuosa (superior). Dejar reposar hasta que las fases estén completamente separadas (puede tomar hasta dos horas).

- 9.- Mientras se espera, preparar los contenedores (frascos de plástico de 70 ml) para almacenar la fase acuosa (superior) para su posterior análisis de proteínas.
- 10.- Pesar en una balanza de precisión los viales de vidrio ámbar de 4 ml que se usarán para la extracción de lípidos. Asegurarse de manejar los viales con pinzas y limpiarlos con paños para tareas delicadas antes de ser pesados. Asegurarse de colocar en orden los viales con su respectivo embudo. Para evitar confusiones, se pueden colocar en las placas de metal donde se realizará la evaporación del cloroformo.
- 11.- Cuando las fases en el embudo estén claramente separadas, transferir con cuidado la capa inferior (cloroformo con lípidos) a un vial de cristal de 4 ml.
- 12.- Colocar los viales con cloroformo en el calentador de placas a 37°C y bajo un flujo leve de nitrógeno gaseoso, para facilitar la evaporación del cloroformo.
- 13.- Después de que se evapore el cloroformo, sacar los viales de las placas de metal y dejarlos enfriar antes de pesarlos.
- 14.- Transferir el contenido restante de los embudos a los frascos de plástico de 70 ml (asegurarse de que el número del frasco coincida con el del embudo). Guardar los frascos a -20°C antes de remover el alcohol con la bomba de vacío y liofilizar, para su posterior análisis de proteínas.
- 15.- Colocar los embudos vacíos en agua con detergente dri-decon por al menos 24 horas antes de volver a usarlos.
- 16.- Pesar los viales de vidrio con los lípidos totales, asegurándose de la correspondencia entre el vial y la muestra. Etiquetar el vial y almacenarlo a -70°C.

### **ANEXO 3: Análisis de proteínas de estadios ontogenéticos tempranos de langostas espinosas.**

#### **Día 1**

- 1.- Pulverizar las muestras liofilizadas (sin lípidos) utilizando un pistilo en el mismo contenedor (frasco de 70 ml). Se pueden hacer lotes de hasta 27 muestras.
- 2.- Preparar 1 L de NaOH (0.1 M) (100 ml de NaOH 1 M + 900 ml de agua desionizada).
- 3.- Añadir a cada frasco con muestra pulverizada 30 ml de NaOH 0.1 M (2 x 15 ml usando la pipeta de 25 ml). Dejar un frasco solamente con 30 ml de NaOH para preparar la curva estándar.
- 4.- Incubar los 28 frascos (27 muestras + 1 frasco con sólo NaOH 0.1 M) en un baño térmico a 50°C por 16 h. Asegurarse de que los frascos no queden flotando o en posición horizontal.

#### **Día 2**

- 5.- La mañana siguiente sacar las muestras de incubación y colocarlas en una placa fría hasta que se enfríen (puede tomar hasta 30 minutos).
- 6.- Diluir las muestras. Tomar 100 µl de muestra y colocarlos en un tubo de centrifugación (10 ml). Completar el volumen con 4,900 µl de agua desionizada y agitar por 3 segundos. Dejar los tubos en refrigeración a -20°C.
- 7.- Centrifugar 14 tubos (13 tubos con muestra + 1 tubo con 5 ml de agua desionizada) a 4,000 rpm por 10 minutos a 4°C. Hacer lo mismo con el resto de los tubos. Refrigerar las muestras después de centrifugarlas.

**8.-** Preparar una curva BSA (Albúmina Sérica Bobina) estándar con cinco puntos (0-10-20-30-40  $\mu\text{g/ml}$ ). Primero se diluye la solución stock de BSA (2 mg/mL): se colocan 100  $\mu\text{l}$  de solución stock en un tubo Eppendorf y se añaden 900  $\mu\text{l}$  de agua desionizada, obteniendo una solución de 200  $\mu\text{g/ml}$ . Usar esta solución para preparar la concentración deseada mezclándola con NaOH diluido (200  $\mu\text{l}$  de NaOH 0.1 M incubado + 9,800  $\mu\text{l}$  de agua desionizada). Recordar que las muestras fueron diluidas para caer dentro de la curva de calibración.

BSA (200 $\mu\text{g/ml}$ )	NaOH diluido	Concentración final BSA ( $\mu\text{g/ml}$ )
A 0 $\mu\text{L}$	1,000 $\mu\text{L}$	0
B 50 $\mu\text{L}$	950 $\mu\text{L}$	10
C 100 $\mu\text{L}$	900 $\mu\text{L}$	20
D 150 $\mu\text{L}$	850 $\mu\text{L}$	30
E 200 $\mu\text{L}$	800 $\mu\text{L}$	40

**9.-** Preparar la solución de trabajo del kit de proteínas. Para 96 muestras (desconocidos + estándares) se requieren 15 ml (7.5 ml de reactivo A; 7.2 ml de reactivo B; y 0.3 ml de reactivo C).

**10.-** Llenar las placas de 96 pozos. Con la ayuda de la micropipeta añadir 150  $\mu\text{l}$  de cada estándar o desconocido en cada pozo por triplicado, llevando el registro de la posición de cada muestra en la placa (ver tabla abajo).

**11.-** Añadir 150  $\mu\text{l}$  de la solución de trabajo en cada pozo.

**12.-** Cubrir la placa e incubar a 37°C por 2.5 horas en el espectrofotómetro.

**13.-** Enfriar la placa a temperatura ambiente (puede llevar un par de horas, revisar la condensación en la tapa para asegurarse). Medir la absorbancia a 562 nm en el lector de placas.

**14.-** Guardar en un folder específico el reporte de las absorbancias.

Tabla guía para añadir a la placa de 96 pozos los estándares (para curva estándar) y muestras. Recordar llevar registro de cuál muestra se coloca en cada pozo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	A	A	M4	M4	M4	M12	M12	M12			
B	B	B	B	M5	M5	M5						
C	C	C	C									
D	D	D	D									
E	E	E	E									
F	M1	M1	M1									
G	M2	M2	M2									
H	M3	M3	M3							M27	M27	M27

#### **ANEXO 4: Determinación de clases de lípidos de estadios ontogenéticos tempranos de langostas espinosas.**

Se analizó una alícuota de los lípidos totales con la ayuda del cromatógrafo de capa fina – detector de ionización de llama Iatroscan modelo MK VI TH10 (Tokio, Japón) para cuantificar las clases de lípidos individuales (Ackman 1981; Volkman & Nichols 1991).

Las muestras se aplicaron por duplicado a chromarods SIII de sílica gel (tamaño de partícula: 5µm), utilizando micropipetas de 1 µl. Los chromarods se revelaron en un tanque de vidrio cubierto con papel filtro. El sistema de solventes primario usado en la separación de los lípidos fue hexano/éter dietílico/ácido fórmico (60:15:1.5), una fase móvil que separa a los compuestos no polares como ésteres esterilicos (SE), triacilglicerol (TAG), ácidos grasos libres (FFA), monoacilglicerol (MAG) y diacilglicerol (DAG). palmitato de colesterilo (SE),

Después de ser revelados, los chromarods se secaron al horno y se analizaron inmediatamente para minimizar la absorción de contaminantes atmosféricos. El detector de ionización de llama se calibró para cada clase de compuestos con fosfatidilcolina (lípidos polares, PL), colesterol (Chol), ácido palmítico (FFA), monopalmitina (MAG), dipalmitina (DAG) y tripalmitina (TAG).

Los picos se cuantificaron en una computadora compatible con IBM, utilizando el software científico DAPA (Kalamunda, Australia occidental, Australia). Los resultados del Iatroscan MK VI TH10 son generalmente reproducibles con un coeficiente de varianza de hasta 3.46% de abundancia de cada clase individual (Sinanoglou et al. 2012).