



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUÍMICAS DE LA PLATA “PROFESOR DOCTOR
RODOLFO R. BRENNER”
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

Valoración del crecimiento en tarántulas *Brachypelma smithi* y cuantificación de
ácidos grasos en hemolinfa a partir de una dieta a base de cucarachas *Blaptica dubia*
y *Zophobas morio* con alimentación controlada

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA

MVZ ITZEL VELÁZQUEZ RAMÍREZ

TUTORA PRINCIPAL: DRA. MÓNICA LILIANA CUNNINGHAM CARRERA (INIBIOLP, UNLP)

COMITÉ TUTOR: DRA. SILVIA CARRILLO DOMÍNGUEZ (INCMNSZ)

DR. CARLOS GONZÁLEZ-REBELES ISLAS (FMVZ, UNAM)



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.

Agradecimientos

Hace tres años tuve la oportunidad de conocer a la Dra. Cunningham (Moni), que de manera increíble aceptó leer el trabajo que en ese momento estaba realizando y con mucho entusiasmo quiso admitirme para una estancia, que para ese entonces era casi imposible concretar. Sin embargo, tuvo toda la disponibilidad para trabajar conmigo dos años después. Le agradezco infinitamente haber creído en mi trabajo, así como mostrarme mi admiración por la forma en que se desempeña como tutora principal. Ser responsable, puntual, objetivo, generoso del conocimiento, empático y tener las palabras correctas en el momento indicado, no cualquiera lo posee y eso es de reconocer. ¡Muchísimas gracias!

Agradezco muchísimo también a la Dra. Silvia, quien sin conocerme, escuchó mi propuesta de investigación y sin más, aceptó trabajar conmigo. Me abrió las puertas al departamento que dirige y me permitió realizar mi proyecto en el laboratorio. Le agradeceré siempre el apoyo brindado, los consejos, las palabras de aliento, la sonrisa que siempre tuvo para mi y el ejemplo de organización que me dio.

Al Dr. Carlos González-Rebeles, infinitas gracias por ser parte de esa minúscula lista de docentes que han marcado mi carrera. La manera en que imparte la asignatura es excelente. Nos formó un criterio en el tema de la conservación de la vida silvestre, en el cual nos otorgó tanto conocimiento para pensar, reflexionar, planear de manera objetiva, analizar e idear estrategias para poder generar un cambio real y significativo. En verdad, ¡muchísimas gracias!

Al Dr. Jorge Mendoza, que sin habernos conocido desde mi tesis de licenciatura, este proyecto jamás se habría consolidado. Muchísimas gracias por permitirme manejar 80 tarántulas, por tener las mejores explicaciones llenas de pasión por esos bichos increíbles. La generosidad del conocimiento es de las cosas que más valoro y eres sin duda un ejemplo de ello. Admiro mucho el trabajo que día a día has construido y que te ha dado el nombre de experto en tarántulas. ¡Mil gracias!

Agradezco a mi jurado, Dra. Claudia, con quien cursé bioquímica y me permitió ser oyente en nutrigenómica. Ambas asignaturas son alucinantes bajo tu explicación, tienes toda mi admiración y respeto, un día quiero ser como tú (Jaja). Al Dr. Fernando, a quien no tenía el gusto de conocer, muchas gracias por los comentarios realizados, muchos de ellos ayudaron a esclarecer algunos detalles que a veces perdemos de vista. ¡Gracias!

Agradezco al personal del Departamento de Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, por todo el apoyo, la calidez y la bienvenida que me ofrecieron. Paty, gracias por los buenos días y atender mis solicitudes; Paty Mora, gracias por los refrigerios y las charlas; Química Irene, gracias por los días de laboratorio ameno y los consejos. Bióloga Rosy, gracias por la paciencia y los análisis siempre a tiempo. MVZ. Eli, gracias por las pláticas; a Lulú, gracias por el material y la buena disposición.

A los amigos que hice en el mismo departamento, Normita, Areli, Auroris, Isael, Lenin, Ernesto, gracias por las risas.

Al Instituto de Investigaciones Bioquímicas de la Plata y a su equipo de trabajo en fisiología bioquímica de arácnidos que me recibió con tanta calidez, al Dr. Fernando, Dra. Aldana, y Sofi, qué lindo haberlos conocido, admiro mucho el trabajo que hacen, la dedicación y la disciplina que pude observar es increíble. Espero volverlos a ver, les abrazo desde aquí.

A Noé por tomarse el tiempo de revisar mis datos y analizarlos. ¡Muchas gracias!

Al equipo de Hospital Carson de México, Andrea, Armando, Obed, René, Alecita, Lalito, Héctor, Isaac, por todos los momentos agradables que seguimos pasando, las oportunidades de crecimiento intelectual, las salidas y el ambiente laboral. ¡Muchas gracias!

A Claudia y Miguel, los nuevos amigos de vida, de los pocos que hay por la honestidad, generosidad, apoyo de hermanos. Porque parece que nos conocemos de mucho tiempo. ¡Los quiero mucho, mucho!

A Paula y Enrique por acercarse a nosotros para hacer una buena amistad fuera de Paidós, a pesar del poco tiempo, aunque sea un abrazo y las porras que me echaban siempre fueron alentadores. ¡Prometo más convivencia!

Agradezco a mi familia por el apoyo que siempre ha estado ahí.

A Said y Octavio, los amores de mi vida siempre.

A las tarántulas bellas que soportaron los manejos y piquetes a lo largo del proyecto ¡Gracias!

Agradezco el apoyo PAEP para realizar la estancia de investigación en La Plata, Argentina.

Agradezco el apoyo económico para este trabajo proporcionado por la Dra. Cunningham CONICET, PIP nro. 11220130100515, así como el apoyo de Beca Nacional del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Al programa de Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal por permitirme realizar este proyecto de investigación que con mucho amor, esfuerzo y dedicación salió adelante. Por alentar mi formación, elevar mi creatividad para fomentar la conservación de las tarántulas que son mi pasión.

A la máxima casa de estudios por ofrecer programas de Maestría y Doctorado de alta calidad.

¡GOYA!, ¡GOYA!,

¡CACHÚN, CACHÚN, RA, RA!

¡CACHÚN, CACHÚN, RA, RA!

¡GOYA!

¡¡UNIVERSIDAD!!

Dedicatoria

A Said, el gran amor de mi vida, la persona que más voy a amar por siempre hasta ser polvo de estrellas. Te dedico cada letra que está impresa en esta tesis y te dedico cada día que vivo ya que es por y para ti. ¡Te amo hasta la expansión del universo!.

A Octavio, por ser mi familia, compañero de vida, por ser la persona que me hace pensar, por enseñarme todas las cosas interesantísimas que sabes y por aplicarlas en este proyecto; por el esfuerzo que hacemos todos los días para criar a nuestro cachorro de humano. Gracias por coincidir en el 90% de las cosas y por diferir también porque nos hace reflexionar sobre nosotros mismos.

A Citlali, por todo el apoyo que me das, ¡eres la mejor hermana del mundo!. Te quiero mucho, mucho, mucho.

A Jorge, por estar en los momentos difíciles, por intentar mejorar; saber que estás ahí haciendo lo que te apasiona me hace feliz, te quiero mucho i...l.

¡A mi mamá! No sabes lo agradecida que estoy contigo, eres la mejor mamá de todas. Siempre has estado para mi, lista con comida y un buen abrazo para darme nueva energía. ¡Te amo mucho Má!.

A mi papá, gracias por todo lo que has hecho por mi, por tu apoyo, por hacerme saber que cuento contigo. ¡Te amo mucho Pá!.

A mis tías, Silvia, Lety, a Beto, por siempre tener buenos deseos para mi. Por las palabras de aliento, regalos y apoyo. ¡Los quiero mucho!.

A los chamacos de la familia, Sofi y Mateín. Espero darles un buen ejemplo siempre.

CONTENIDO

Índice de Cuadros	v
Índice de Figuras	v
Abreviaturas	vi
Resumen.....	vii
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes	2
2.1 Clasificación taxonómica.....	2
2.2 Hábitat, ciclo de vida y conducta social.....	3
2.3 Características anatómicas.....	5
2.3.1 Aparato circulatorio.....	7
2.3.2 Aparato digestivo.....	8
2.4 Alimentación y Nutrición.....	9
2.4.1 Importancia de los lípidos en los arácnidos.....	11
2.5 Importancia de las tarántulas en el ecosistema.....	14
2.6 Extracción y Comercio.....	14
2.7 Tarántula mexicana de rodillas rojas (<i>Brachypelma smithi</i>).....	16
III. Justificación.....	18
IV. Hipótesis	19
V. Objetivo general	19
VI. Materiales y Métodos	20
VII. Resultados	25
VIII. Discusión	32
IX. Conclusiones	37
X. Recomendaciones	38
XI. Literatura Citada	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Efecto del tiempo, sexo y dieta sobre el peso de las tarántulas <i>Brachypelma smithi</i>	25
Cuadro 2. Efecto del tiempo, sexo y dieta sobre el largo, ancho y área del opistosoma y prosoma de las tarántulas <i>Brachypelma smithi</i>	27
Cuadro 3. Contenido de lípidos totales y concentración de ácidos grasos (%TAG) en la hemolinfa de tarántulas <i>Brachypelma smithi</i>	29
Cuadro 4. Contenido de lípidos totales y concentración de ácidos grasos saturados en la hemolinfa de la tarántula mexicana <i>Brachypelma smithi</i> de aproximadamente dos años de edad.....	30
Cuadro 5. Concentración de ácidos grasos insaturados en la hemolinfa de la tarántula mexicana <i>Brachypelma smithi</i> de aproximadamente dos años de edad.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de los estados de Colima, Guerrero y Michoacán mostrando el registro de <i>Brachypelma hamorii</i> ; triángulos, <i>B. smithi</i> ; cuadrados, <i>B. baumgarteni</i> ; rombos, <i>B. boehmei</i> ; estrellas y <i>B. auratum</i> ; círculos. (Mendoza y Francke 2017).....	3
Figura 2. Exoesqueleto vista ventral (Mendoza, 2009).....	6
Figura 3. Exoesqueleto vista dorsal (Mendoza, 2009).....	6
Figura 4. Endoesqueleto vista ventral (Mendoza 2009).....	7
Figura 5. Endoesqueleto vista dorsal (Mendoza 2009).....	7
Figura 6. Aparato digestivo (Gutiérrez, 2013).....	9
Figura 7. Ciclo de vida del escarabajo <i>Zophobas morio</i> (Arellanes, 2012).....	10
Figura 8. UMA “Aracneé” de Coyuca de Benítez, Guerrero.....	20
Figura 9. Diseño del estudio.....	21
Figura 10. a) Pesaje de tarántula b) Medición del prosoma con vernier digital c) extracción de hemolinfa en pericardio.....	22
Figura 11. Prosoma y opistosoma como elipses.....	22
Figura 12. Peso (g) de las tarántulas alimentadas con larvas de escarabajo (<i>Zophobas morio</i>) (a,c) o con cucarachas (<i>Blattella germanica</i>) (b,d) durante el periodo de un año.....	26
Figura 13. Relación opistosoma:prosoma de tarántulas <i>Brachypelma smithi</i>	28
Figura 14. Hemolinfa almacenada a 4°C.....	47
Figura 15. Hemolinfa con cloroformo: metanol (2:1 v/v).....	47
Figura 16. Filtrado de la muestra de hemolinfa.....	47
Figura 17. Pesaje de 18 g de NaCl.....	47
Figura 18. Fase superior (metanol acuosa) y fase inferior (clorofórmica) que contiene el extracto lipídico.....	48
Figura 19. Evaporación de la fase clorofórmica con corriente de Nitrógeno.....	48
Figura 20. Evaporación con corriente de Nitrógeno.....	50
Figura 21. Bloque de calentamiento a 80°C.....	50

ABREVIATURAS

AGL: Ácidos grasos libres

B. dubia: *Blaptica dubia*

B. smithi: *Brachypelma smithi*

C18:1: ácido graso oleico

C18:2: ácido graso linoleico

C18:0: ácido graso esteárico

C18:1t: ácido graso elaídico

C16:0: ácido graso palmítico

CBD: Cucarachas *Blaptica dubia*

CCA: Comisión para la Cooperación Ambiental

CITES: Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora silvestres

CO₂: Dioxido de carbono

Cu: Cobre

DI: Divertículos intestinales

EMAG: Ésteres metílicos de los ácidos grasos

PROFEPA: Procuraduría Federal de Protección al Ambiente

Gr- HDL: Lipoproteínas hemolinfáticas de alta densidad de *Grammostola rosea*

Gr- VHDL: Lipoproteínas hemolinfáticas de muy alta densidad de *Grammostola rosea*

HCl: Ácido clorhídrico

HDL: Lipoproteínas hemolinfáticas de alta densidad

HL: hemolinfa

HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficacia

INIBIOLP: Instituto de Investigaciones Bioquímicas de la Plata

KCl: Cloruro de potasio

KOH: Hidróxido de potasio

LEZM: Larvas de escarabajo *Zophobas morio*

LT: lípidos totales

N₂: Nitrógeno

NaCl: Cloruro de sodio

O:P: Opistosoma: Prosoma

R: Reactivo

ROP: Relación opistosoma:prosoma

SEMARNAT: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales

TAG: Triacilglicéridos

TBF: Trifloruro de Boro

TBS: Tarántulas de *Brachypelma smithi*

UICN: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza

UMA: Unidades de Manejo para la conservación de la vida silvestre

UNEP-WCMC: Centro Mundial de Monitoreo para la Conservación del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente

VHDL: Lipoproteínas hemolinfáticas de muy alta densidad

Z. morio: *Zophobas morio*

RESUMEN

La conservación de especies de tarántulas amenazadas, resulta importante para mantener el servicio ambiental que otorgan como controladoras de plagas o ser fuente de alimento para otras especies. Sólo con un mayor conocimiento de estos arácnidos, como lo es su alimentación y nutrición, será posible mantener en mejores condiciones dichos ejemplares en cautiverio y que al ser reintroducidos a su hábitat alcancen mayor esperanza de vida. En el caso de la tarántula mexicana de rodillas rojas *Brachypelma smithi*, la información que existe sobre ella es escasa. El objetivo de este estudio fue valorar el crecimiento de las tarántulas *B. smithi* e identificar y cuantificar los ácidos grasos presentes en su hemolinfa a partir de una dieta a base de cucarachas (*Blaptica dubia*) y larvas de escarabajo (*Zophobas morio*) bajo alimentación controlada. 80 tarántulas *B. smithi* (40 machos y 40 hembras) de 4 años de edad fueron elegidas como modelo de estudio y alimentadas con dos dietas diferentes: larvas de escarabajo (*Z. morio*) y cucarachas (*B. dubia*), para evaluar su crecimiento, llevando un registro del peso y de la relación opistosoma : prosoma. Por otro lado, se identificaron y cuantificaron los ácidos grasos presentes en la hemolinfa. Los resultados mostraron que en esta etapa de vida de *B. smithi*, el sexo y la dieta no influyeron en el peso ($p > 0.05$), pero el tiempo sí; ya que, todos los ejemplares aumentaron de peso de manera significativa ($p < 0.05$) en un periodo de 9 meses. En promedio pasaron de 13.5 g a 18.9 g de peso. La relación opistosoma : prosoma fue más cercana a la ideal (2:1) en las tarántulas que consumieron *Z. morio* (1.7:1) que en las que consumieron cucarachas (1.6:1) ($p < 0.05$); y fue al final del periodo de estudio (6 meses) cuando la relación fue más cercana a la ideal (1.97:1) en tarántulas que consumieron *Z. morio*. Además, las que consumieron *Z. morio* presentaron una mayor cantidad de lípidos totales en la hemolinfa (5 mg/mL) que aquellos ejemplares que consumieron cucarachas (3 mg/mL) ($p < 0.05$). En todas las tarántulas, independientemente de la dieta, sexo o periodo de muestreo, los ácidos grasos predominantes en la hemolinfa fueron: ácido palmítico C16:0 (26.09% a 28.51%), ácido esteárico C18:0 (16.42% a 18.20%), ácido oleico C18:1 (17.92% a 29.20%), ácido elaídico C18:1t (8.99% a 10.10%) y el ácido linoleico C18:2 (6.21% a 11.70%). La concentración de estos ácidos grasos no se vio afectada por el sexo ($p > 0.05$), pero sí por el tiempo y la dieta ($p < 0.05$). Los ácidos palmítico y oleico se redujeron con el tiempo, pero el oleico aumentó. Por otra parte, la cantidad de ácido esteárico fue superior en las tarántulas alimentadas con larvas de escarabajo. Se concluye que 1) llevar registro del peso y de la relación opistosoma:prosoma en las tarántulas mexicanas *B. smithi*, es una herramienta útil para valorar de mejor manera el crecimiento de las mismas, 2) al alimentar a las tarántulas con larvas del escarabajo *Z. morio* dispondrán de una mayor cantidad de lípidos y por tanto de energía para soportar los periodos de ayuno entre captura de presas en vida libre y 3) los ácidos grasos predominantes en la HL de 80 tarántulas de *B. smithi* fueron los que tenían 16 y 18 carbonos independientemente de la dieta, sexo y periodo de muestreo.

I. INTRODUCCIÓN

En todo el mundo se ha expandido la pasión por las tarántulas, existiendo una gran comunidad de personas que coleccionan tarántulas como mascotas. El interesante comportamiento, forma de vida, colores y hábitos, hacen de estos animales, fascinantes mascotas. Además, requieren poco mantenimiento y espacio, representando poco gasto para sus propietarios. Esto ha permitido que una sola persona pueda tener gran cantidad de especímenes (García, 2014).

El creciente interés por las tarántulas ha generado una extracción intensa de ejemplares de su medio ambiente, tanto de manera legal como ilegal.

De las 105 especies mexicanas que se conocen, 16 son las más comercializadas y tres de ellas se encuentran catalogadas en México como amenazadas. Estas son: *Aphonopelma pallidum* (tarántula mexicana gris), *Brachypelma emilia* (tarántula mexicana de piernas rojas) y *Brachypelma smithi* (tarántula mexicana de rodillas rojas). Esta última, está entre las diez especies animales más traficadas en México (Capilla, 2018).

Debido a su brillante coloración, comportamiento dócil, longevidad y robustez en cautiverio, *B. smithi* ha sido exportada de México en grandes cantidades. Esto ha afectado notablemente el tamaño de las poblaciones. Por tal motivo, desde 1985, esta especie fue oficialmente mencionada en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora silvestres (CITES) y en México, fue declarada especie amenazada en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994 (Reichling, 2003; Schultz y Schultz, 2009).

Se conoce muy poco sobre el estado de conservación de las especies de *Brachypelma* mexicanas, especialmente de aquellas restringidas a áreas particularmente vulnerables a la sobreexplotación. Durante la temporada de huracanes del 2012 a 2013, se reportaron serios daños y cambios en el flujo de ríos a lo largo de la costa del pacífico. La costa de Guerrero fue una de las áreas más gravemente afectadas, con grandes inundaciones del Río Papagayo causando casi la destrucción completa de dos poblaciones de *B. smithi* (Mendoza y Francke, 2017).

Ante tantos peligros a los que se ven expuestas estas poblaciones, se han creado Unidades de Manejo para la conservación de la Vida Silvestre (UMA) en algunos estados de la República Mexicana con el fin de conservar a estos organismos y evitar su extinción. Estos sitios son espacios de promoción de esquemas alternativos de producción compatibles con la conservación de la vida silvestre y en muchos casos compiten con el mercado negro. Por otro lado, son muy pocos los estudios científicos publicados sobre *B.smithi* y menos aún sobre su composición corporal y necesidades nutrimentales.

Por lo tanto, se espera que este trabajo genere conocimiento sobre algunos aspectos de la alimentación, contenido de lípidos totales y concentración de ácidos grasos en la hemolinfa de la tarántula mexicana *B.smithi*, que permita mejorar las condiciones de crianza y hacerla más eficiente, de igual forma se espera brindar una base con datos científicos acerca de sus necesidades nutrimentales, ya que hasta el momento la alimentación en cautiverio se basa en conocimiento empírico.

II. ANTECEDENTES

2.1 Clasificación taxonómica

Las arañas pertenecen al Reino Animalia, Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Orden Araneae, el cual se subdivide en dos subórdenes (desiguales en su diversidad y distribución): Mesothelae (Liphistiomorphae) y Opisthothelae, dividido a su vez en dos infraórdenes: Araneomorphae y Mygalomorphae (arañas primitivas). Dentro de este último infraorden se incluye a las tarántulas, que pertenecen a la Familia Theraphosidae (Melic *et al.*, 2015). Existen 147 géneros y 1001 especies de terafósidos descritos en el mundo (WSC, 2019). El género *Brachypelma* es uno de los mejor representados en México con 14 especies, mismas que se encuentran protegidas por leyes mexicanas (NOM-059-SEMARNAT-2010, LGVS 2000). En el apéndice II de la CITES, se incluyen especies que no se encuentran necesariamente en peligro de extinción, pero cuyo comercio debe controlarse a fin de evitar una utilización incompatible con su supervivencia, en dicho apéndice figura el género *Brachypelma*. Finalmente *B. smithi* se encuentra mencionada en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) como especie amenazada. (Foelix, 2011; CITES 2013; Red List, 2018).

2.2 Hábitat, ciclo de vida y conducta social

El género *Brachypelma* puede ser encontrado desde México hasta Costa Rica. Las tarántulas de la costa oeste de México son particularmente dóciles y coloridas. En 1856 White describió la primer especie de *Brachypelma*, *B. emilia*, que es endémica de la costa del Pacífico de México. Desde entonces, otras cinco especies han sido descritas que son únicas de esa área (*B. baumgarteni*, *B. boehmei*, *B. hamorii*, *B. klaasi*, *B. verdezi*, *B. smithi*) (West 2005; Mendoza and Francke 2017; CEC 2019). Algunas de estas, se distribuyen en las costas de Colima, Guerrero y Michoacán, en el Pacífico Mexicano (Mendoza y Francke, 2017) (Figura 1). Las madrigueras se producen bajo grandes rocas o raíces de árboles en matorrales densos o vegetación de bosques espinosos y bosques caducifolios. No hay rastros de seda en la entrada de la madriguera y el interior es a menudo multi-tunelizado (West, 2005).

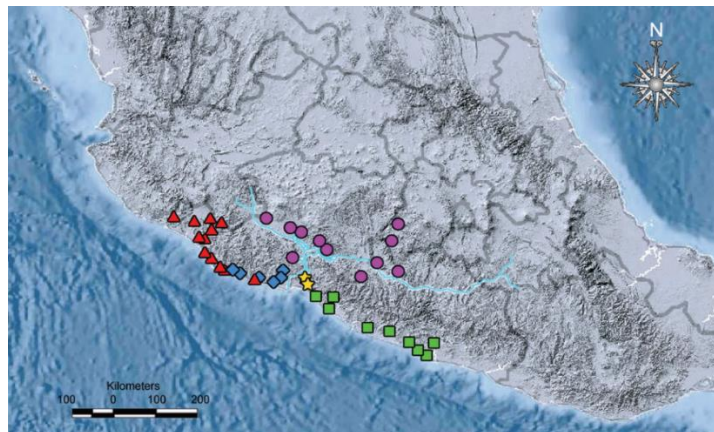


Figura 1. Mapa de los estados de Colima, Guerrero y Michoacán mostrando el registro de *Brachypelma hamorii*; triángulos, *B. smithi*; cuadrados, *B. baumgarteni*; rombos, *B. boehmei*; estrellas y *B. auratum*; círculos. La línea azul representa la cuenca del Río Balsas (Mendoza y Francke, 2017).

En el caso de las tarántulas de cadera roja la época de cría se produce en febrero, emergiendo las crías en mayo a Junio (Hénaut, 2012), mientras que las tarántulas de patas rojas a finales de la estación húmeda y a inicios de la estación seca (septiembre a enero). Los ovisacos se construyen en los meses más secos de invierno con jóvenes emergiendo y dispersándose a finales de la primavera, justo antes del inicio de las lluvias de principios de verano. Mendoza y Francke (2017) reportan que las tarántulas en términos generales pueden llegar a vivir hasta 30 años. Se ha observado primordialmente en hembras del género *Brachypelma*. La limitada

distribución geográfica del género, destrucción de su hábitat, alta tasa de mortalidad en juveniles, tiempo en alcanzar la madurez sexual (7 a 8 años para machos, 9 a 10 años para hembras), y su alto valor en el comercio de mascotas, hacen a todas las *Brachypelma* especies propensas a encontrarse bajo una categoría de riesgo de amenaza o riesgo de extinción (Rojo 2004, West 2005).

Los enemigos de las tarántulas consisten en pequeños depredadores. Las jóvenes tarántulas son vulnerables a otros artrópodos, particularmente de otras grandes arañas terrestres, así como a sapos, ranas, lagartijas y algunos mamíferos como los coatí. Uno de sus principales enemigos es la avispa *Pepsis formosa*, la cual caza tarántulas paralizándolas con su veneno y usando su cuerpo como nido. La avispa vibra su cuerpo simulando una presa. Cuando la tarántula emerge de su madriguera, la avispa la pica, una vez paralizada por el veneno es arrastrada al interior de la madriguera y ahí la avispa pone sus huevos. Una vez que la larva eclosiona, se alimenta de la tarántula (West, 2005).

Las tarántulas en cautiverio, deben ser alojadas en recintos adecuados a su tamaño, con una tapa segura y bien ventilada así como una escotilla para facilitar la alimentación. El sustrato debe ser por lo menos de 8 a 10 cm el cual ofrecerá suficiente profundidad en caso de que la tarántula decidiera construir una madriguera. Son excelentes sustratos la tierra para macetas, sin productos químicos, o la cáscara de coco. Aunque las tarántulas adquieren la mayor parte del agua en el alimento, es recomendable ofrecer agua potable en un contenedor plástico no muy profundo, brindando humedad al ambiente mediante la evaporación natural (Schultz y Schultz, 2009; García, 2014).

Las tarántulas pueden morder e inyectar su veneno. Sin embargo, para la mayoría de las especies, la toxicidad de su veneno es muy similar a la de una abeja o avispa. Es más probable que cause una reacción local desagradable que incluye dolor, enrojecimiento e hinchazón. Aunque, algunas personas pueden presentar una reacción alérgica o anafiláctica a dicho veneno. De manera similar a como algunas personas reaccionan al veneno de las abejas, pudiendo tener consecuencias graves para ellas. Pocas especies tienen un veneno más fuerte que podría ser peligroso o al menos enfermar bastante a la persona (McLeod, 2019).

Algunos zoólogos, consideran que las tarántulas no pueden considerarse mascotas, porque nunca van a reconocer a su dueño y carecen de comportamiento

social. Sin embargo, sugieren que, si alguien ha tomado la decisión de adoptar una, le deben dar todos los cuidados necesarios para que tengan una buena calidad de vida (Capilla, 2018)

2.3 Características anatómicas

Las tarántulas, como la mayor parte de los artrópodos, poseen una especie de cubierta o armadura externa llamada exoesqueleto. Este exoesqueleto es muy importante para las tarántulas pues no sólo les permite soportar su cuerpo y órganos internos, sino que a su vez funciona como aislante del medio, evitando así la pérdida excesiva de agua, vital para estos animales. Además, se extiende más allá prolongándose sobre su superficie en forma de cientos de miles de pequeñas cerdas (espinas, sedas, tricobotrias, entre otros nombres) que confieren a las tarántulas ese aspecto peludo tan peculiar que las caracteriza. Estas sedas cumplen funciones muy variadas dependiendo de su forma, ubicación y composición. Las sedas de las tarántulas son rígidas, y al ser como se mencionó anteriormente, prolongaciones del exoesqueleto, no crecen ni se desarrollan como el pelo (Mendoza, 2009).

El cuerpo de la tarántula se divide en 2 regiones principales: el prosoma (cefalotórax) y el opistosoma (abdomen). Estas dos regiones se hallan unidas por un pequeño segmento llamado pedicelo. Este pedicelo permite a la tarántula mover el opistosoma independientemente del prosoma. Sobre la parte dorsal del prosoma se encuentra el caparazón, subdividido en la región anterior, donde se observa el tubérculo ocular y en la región posterior se encuentra un surco llamado fóvea donde internamente se unen los músculos del estómago succionador. El prosoma alberga varios apéndices externos tales como las patas, pedipalpos, quelíceros y otras partes de la boca. Cada tarántula posee 8 patas, cada una consta de los siguientes segmentos: la coxa (que une las patas al cuerpo de la tarántula), seguida en orden por trocánter, fémur, rótula, tibia, metatarso y tarso (Van Vlierberghe, 2017)

El opistosoma es una parte muy flexible del exoesqueleto y es donde se albergan la mayor parte los órganos vitales de las tarántulas. Dorsalmente está recubierto de gran cantidad de sedas. En la zona ventral se pueden distinguir claramente dos pares de estructuras ovales, éstas son los libros branquiales mediante los cuales las tarántulas respiran. En la parte posterior del abdomen se observa el ano y un par de estructuras productoras de seda: las hileras. Todas las

tarántulas presentan dos pares de hileras. El par de en medio se encuentra muy reducido y es muy poco visible, el segundo par de hileras es más largo y tienen un aspecto digitiforme. Ambos pares de hileras pueden producir seda (Figura 2). También en el opistosoma se encuentran los divertículos intestinales, órgano que en el caso de los arácnidos como la tarántula, es donde se almacena la mayor parte de los lípidos (Laino *et al.*, 2015) (Figura 3).



Figura 2. Exoesqueleto vista ventral (Mendoza, 2009)

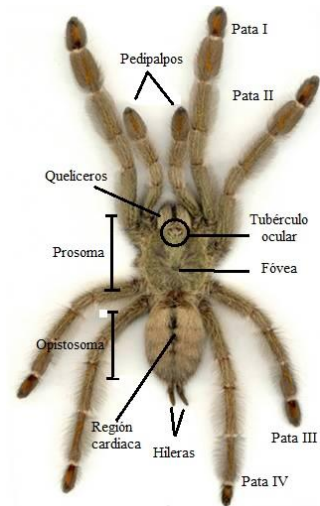


Figura 3. Exoesqueleto vista dorsal (Mendoza, 2009)

Si bien no poseen un endoesqueleto en el sentido estricto como el de los vertebrados, sí poseen una gama de otras estructuras que en conjunto cumplen similares funciones a las de un verdadero endoesqueleto (Figuras 4 y 5).

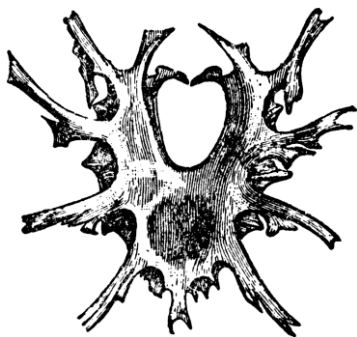


Figura 4. Endoesqueleto vista dorsal (Mendoza 2009)

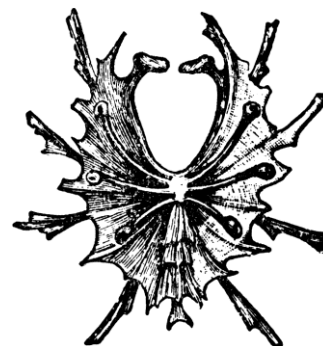


Figura 5. Endoesqueleto vista ventral (Mendoza 2009)

Los principales elementos que forman el esqueleto interno de una tarántula son el apodema, la apófisis y el endosterno. Existe también un apodema tergal o central, que ayuda en el soporte de los músculos del estómago succionador. Este soporte se logra debido a que las células musculares se conectan individualmente con las células de los tendones, éstas a su vez se conectan a los apodemas como si fuera un punto de seguridad. La unión de los tendones con los apodemas no se distingue fácilmente, pues se entrelazan gradualmente en varios puntos (Mendoza, 2009).

2.4 Aparato circulatorio

Foelix (como citó Laino, 2011) refiere que el aparato circulatorio consiste en un sistema abierto, de esta manera los tejidos son bañados directamente por la hemolinfa (HL). Presenta arterias que se originan en el corazón y se ramifican en el cuerpo, extendiéndose hasta los segmentos más distales de las patas. La HL colectada en las lagunas de la parte ventral del cuerpo, pasa por los órganos respiratorios y regresa por las venas al corazón. Poseen un sistema arterial “cerrado”, sin capilares y un sistema venoso abierto donde se produce el intercambio gaseoso.

El transporte de oxígeno en la HL se lleva a cabo mediante un pigmento respiratorio llamado hemocianina que utiliza Cobre (Cu) en su sitio de transporte. La HL presenta una gran variedad de células llamadas hemocitos, con diversas funciones. Algunas de estas células cumplen un rol importante en la coagulación y protección contra infecciones (Silva *et al.*, 2000; Lorenzini *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2007; Baumann *et al.*, 2010) y otras poseen péptidos antimicrobianos con actividad inhibitoria contra serin proteasas, como es el caso del arácnido *Boophilus microplus* (Fogaca *et al.*, 2006), o péptidos con actividad antifúngica (Barbosa *et al.*, 2007). Estructuralmente se diferencian cuatro tipos de hemocitos (Foelix, 1996): los más comunes son los granulares con gránulos densos concentrados en el citoplasma, otros son células de almacenamiento, fagocitos y los llamados laberidocitos que presentan una vacuola secretora. Durante la muda, según los requerimientos fisiológicos del animal, el porcentaje de hemocitos varía, al igual que en otros procesos.

El corazón de las tarántulas es un órgano tubular que se encuentra en la región dorso central del opistosoma. Internamente está incluido en una pequeña cámara llamada pericardio, que cubre al corazón con unos pequeños ligamentos y estimula la circulación de la hemolinfa. La contracción se lleva a cabo por la acción de pequeños filamentos nerviosos que cubren el pericardio. El corazón presenta 4 agujeros (llamados ostia) que funcionan como válvulas, moviendo la hemolinfa en ambas direcciones debido a la presión provocada por su contracción. De esta manera la hemolinfa es irrigada en todo el prosoma y opistosoma (Mendoza, 2009).

2.5 Aparato digestivo

La digestión se inicia fuera del cuerpo. Mientras sostienen la presa, por los quelíceros se vierten enzimas digestivas secretadas por el intestino medio. Introducen el veneno por una mordedura y succionan los tejidos digeridos. El estómago presenta un gran diámetro, a diferencia del esófago que es más angosto. En sección transversal tiene una pared cuticular flexible y varias bandas de fuertes músculos (Figura 6). Cuando éstos se contraen incrementan el tamaño del lumen, y el estómago funciona como una bomba succionadora, mientras que músculos anulares, con acción antagónica a los anteriores, disminuyen el tamaño del lumen (Foelix, 2011). El intestino se origina directamente por detrás del estómago, presenta una parte proximal que se ubica en el prosoma, mientras que la parte media y posterior se encuentran en el opistosoma. Consta de un tubo central con ramificaciones laterales, llamadas divertículos intestinales (DI) que suelen estar muy desarrollados, de manera que llenan la mayor parte del opistosoma, rodeando la mayoría de los órganos. El epitelio está compuesto por al menos dos tipos celulares, entre los que se encuentran las células secretoras, que producen enzimas destinadas a completar la digestión, y células absortivas que procesan los nutrimentos y los vierten a la HL o el tejido intersticial fundamental. Los productos de excreción son frecuentemente concentrados apicalmente en las células de absorción, o pueden ser depositados como cristales en el tejido intersticial fundamental. El epitelio intestinal contiene además otro tipo de células, las células basales, que reemplazarán a las viejas células secretoras y de absorción, y los guanocitos donde se depositan cristales de guanina. La parte posterior del intestino se ensancha para formar un saco estercoral

o una cámara cloacal (donde desembocan los túbulos de Malpighi), terminando en el ano (Foelix, 2011).

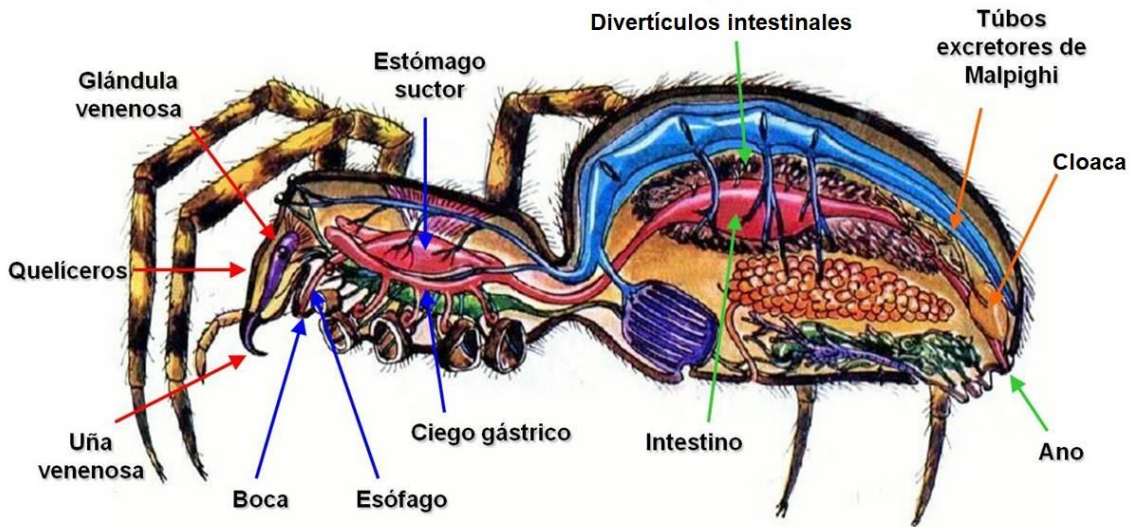


Figura 6. Aparato digestivo (Gutiérrez, 2013)

Las tarántulas poseen glándulas coxiales que se ubican en la base de las coxas I y III que pueden secretar un líquido que promueve la digestión (algo similar a la función de la saliva en mamíferos) y la regulación de sales dentro del organismo de la tarántula (Mendoza, 2009).

2.6 Alimentación y Nutrición

Las tarántulas son depredadores obligados que se alimentan de cualquier cosa que pase cerca y puedan manipular, desde insectos de todos tamaños hasta lagartijas, serpientes, ranas, pequeños mamíferos y rara vez aves. La mayoría presenta la estrategia denominada “sentarse y esperar”. Aguardan cerca de la entrada de su guarida, que puede tener más de un metro y medio de profundidad, y que ellas mismas construyen raspando y acarreando la tierra con sus colmillos (Rojo, 2004).

Tanto zoológicos como aficionados alimentan comúnmente con una variedad de invertebrados a animales insectívoros, pero la información sobre la composición nutricional de la mayoría de las especies criadas para fines de comercialización es limitada (Finke, 2001). Todas las tarántulas son insectívoras y prefieren presas vivas y activas. En cautiverio, su dieta principal se basa en el grillo doméstico

(primordialmente *Acheta domestica*), varias especies de cucarachas, larvas de escarabajo (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*), langostas y saltamontes (*Locusta migratoria* y *Schitocerca gregaria*) (Breene, 1995). Finke (2002) analizó la composición química de invertebrados, entre ellos larvas de escarabajo (*Z. morio*). Sus resultados mostraron que *Z. morio* presentaba un contenido de lípidos de 391.6 g/kg y como ácidos grasos predominantes encontraron los siguientes: palmítico 16:0 con 52.8 g/kg, esteárico 18:0 con 12.6 g/kg, oleico 18:1 con 66 g/kg, linoleico 18:2 con 32.9 g/kg. Vrabc, *et al.* (2015) evaluó el contenido lipídico de *B. dubia*, reportando un 231.7 g/kg.

Es importante mantener la comida más pequeña que la tarántula (es decir, más pequeña que su cuerpo) y asegurarse de que la presa no dañe a la tarántula. Esto incluye no alimentar con insectos silvestres capturados a menos que esté absolutamente seguro de que no hay riesgo de exposición a pesticidas. Se puede proporcionar un plato de agua poco profunda. Es necesario que sea muy poco profundo para evitar que se ahogue y si existe alguna duda, se pueden colocar algunas piedras en el plato para que la tarántula pueda subir si es necesario. En el proceso de muda, las tarántulas dejan de comer previamente y una vez que se elimina el exoesqueleto anterior, tomará varios días para que se endurezca de nuevo y no debe ser alimentada durante este tiempo ya que es vulnerable a las lesiones (McLeod, 2019).



Figura 7. Ciclo de vida del escarabajo *Zophobas morio* (Arellanes, 2012)

Es recomendable retirar los sobrantes, presas vivas o muertas no consumidas lo antes posible (al día siguiente en el caso de presas muertas no consumidas, o uno o dos días después en el caso de presas vivas). No es aconsejable capturar insectos del campo, jardines o parques ya que podrían ser portadores de parásitos o contener productos químicos como insecticidas que podrían matar al animal. En el caso de las tarántulas arborícolas, grillos y gusanos usados como alimento, deberán ser acercados al lugar de descanso de ellas, también pueden ser utilizadas para su

alimentación moscas domésticas o de la fruta (*Musca domestica*, *Drosophila melanogaster* y *D. hidey*) (Breene, 1995; Marshall, 1996).

2.7 Importancia de los lípidos en los arácnidos

Se sabe que, en general, las arañas tienden a almacenar grandes cantidades de lípidos en su cuerpo. Al parecer esto está relacionado con la necesidad de mantener suficientes reservas de energía para satisfacer sus necesidades metabólicas durante los eventos de captura de las presas (Venner y Casas, 2005; Jensen *et al.*, 2010).

Las medidas de la condición corporal (ej. el tamaño relativo de las partes variables del cuerpo, como la masa total o el ancho del abdomen, la longitud de la tibia-rótula o el ancho del caparazón) se utilizan a menudo para evaluar el estado reciente de alimentación o estado nutricional de las arañas (Jakob *et al.*, 1996).

Aún existe debate sobre qué métrica o tipo de análisis es el más apropiado para medir la condición corporal y evaluar el estado nutricional de las arañas (Jakob *et al.*, 1996; Kotiaho, 1999; Green, 2001; Schulte-Hostedde *et al.*, 2005; Stevenson y Woods, 2006; Moya- Laraño *et al.*, 2008).

Algunos autores como Wilder (2011) consideran que el contenido de lípidos en una araña, es el único parámetro que varía con la alimentación conjuntamente con el aspecto del cuerpo y propone se utilice esta variable como indicador del crecimiento. Schultz y Schultz (2009) recomiendan de forma empírica que el opistosoma debe ser dos veces más grande en relación al prosoma, con el fin de proteger a la tarántula de mudas no exitosas, evitando la rotura del exoesqueleto, lo cual podría provocar pérdidas de hemolinfa y exponer la vida del ejemplar.

Por otro lado, en un estudio realizado por Ibler *et al* (2013) sobre los factores que afectan la esperanza de vida de las arañas de la subfamilia Theraphosidae, encontraron una relación positiva entre las reservas energéticas (que se encuentran en los divertículos intestinales, albergados en el opistosoma) con una mayor posibilidad de sobrevivencia, no así al medir únicamente el ancho del prosoma. De hecho, varios autores han encontrado una correlación negativa entre el ancho del prosoma y la longevidad en las subfamilias Avicularinae, Selenocosmiinae, Theraphosiinae (Jakob *et al.*, 1996; Kotiaho, 1999; Green, 2001; Schulte- Hostedde *et al.*, 2005; Stevenson y Woods, 2006; Moya- Laraño *et al.*, 2008).

Trabalon *et al.* (2012) estudiaron en 500 ejemplares de *Brachypelma albopilosum* su desarrollo juvenil y estado fisiológico, alimentados *ad libitum* proporcionándoles *Z. morio* o cucarachas *Blabera fusca* o *Periplaneta americana*. Encontraron que el peso de las tarántulas no fue significativamente diferente entre sexos antes de la etapa sub-adulta o adulta, sino hasta después de alcanzar la madurez sexual, donde los machos se observaron más pequeños en talla y peso que las hembras. En la hemolinfa, los niveles de ecdisteroides, lípidos totales (402.6 ± 46.5 vs 260.6 ± 28.8 mg/L), colesterol y glucosa fueron más altos en machos que en hembras. Estas diferencias fisiológicas y bioquímicas estuvieron relacionadas con las diferencias en el desarrollo sexual entre machos y hembras.

Romero *et al.* (2018) analizó los lípidos totales en hemolinfa de arañas *Polybetes pythagoricus*, en diferentes estados reproductivos (previtelogenesis, vitelogenesis temprana, vitelogenesis y postvitelogenesis), obtenidas de vida libre, encontrando 4.6 mg/mL a 7.3 mg/mL.

2.8 Lipoproteínas y divertículos intestinales en artrópodos

En el Fílum Arthropoda se ha estudiado ampliamente el rol de las lipoproteínas en la dinámica de lípidos en insectos, crustáceos y en menor grado en algunos arácnidos.

En insectos, se transfieren principalmente diacilglicéridos desde el cuerpo graso a partículas de lipoforina preexistentes localizadas en la HL que luego pueden liberar los lípidos a otros tejidos (Blacklockf y Ryan, 1994; Soulages y Wells, 1994b; Arrese *et al.*, 2001). Este cuerpo graso, análogo al tejido adiposo e hígado en vertebrados, es el sitio de síntesis de proteínas hemolinfáticas y el principal órgano de reserva de nutrimentos como el glucógeno y los lípidos (Beenackers *et al.*, 1985), ya que almacena más de 90% de los lípidos como triacilglicéridos (TAG) (Atella *et al.*, 1992; Canavoso *et al.*, 1995) y tiene alta capacidad para incorporar ácidos grasos libres (AGL) hemolinfáticos desde la lipoforina (Atella *et al.*, 2000); de manera que, acorde a la situación metabólica puede incorporar o donar lípidos.

En crustáceos, en quienes los lípidos también son transportados en la HL por HDLs (Lee & Puppione, 1978; Chang & O'Connor, 1983) se demostró la transferencia de diferentes lípidos (fosfolípidos, ácidos grasos libres y triacilglicéridos) desde y hacia el hepatopáncreas, considerado como el principal órgano involucrado en el

metabolismo de lípidos (García *et al.*, 2002b). El hepatopáncreas combina las funciones del hígado, intestino, páncreas y tejido adiposo de los mamíferos. Se cree que este órgano es el sitio de síntesis de los TAG (Al-Mohanna y Nott, 1985, 1986; González Baró y Pollero, 1988; González Baro *et al.*, 1990; González Baró y Pollero, 1993; García *et al.*, 2002b; Lavarías *et al.*, 2006, 2007).

En el caso de los arácnidos, fue apenas hasta hace poco que se demostró por primera vez que los divertículos intestinales de los arácnidos constituyen el principal sitio de almacenamiento de lípidos y el mayor centro metabólico involucrado en la absorción y movilización de lípidos (Laino *et al.*, 2015). Específicamente en el caso de las arañas, se han descrito lipoproteínas hemolinfáticas de alta y de muy alta densidad (HDLs y VHDL), las cuales transportan como lípidos energéticos los TAG en *Polybetes pythagoricus* y *Latrodectus mirabilis*, o diacilgliceridos en *Aphonopelma hentzi* y *Grammostola rosea*; y como lípidos estructurales mayoritarios a la fosfatidiletanolamina y la fosfatidilcolina en todas las arañas estudiadas (Haunerland and Bowers 1987; Stratakis *et al.*, 1993; Cunningham *et al.*, 1994, 2000; Cunningham and Pollero 1996; Laino *et al.*, 2015).

2.9 Ácidos grasos en hemolinfa de tarántulas

Hasta el momento sólo se conoce la composición en ácidos grasos de las lipoproteínas hemolinfáticas de dos tarántulas: *Aphonopelma hentzi* y *Grammostola rosea*. En el caso de esta última tarántula, los ácidos grasos presentes tanto en la Gr-HDL como en el Gr-VHDL fueron los mismos y con porcentajes semejantes representados en orden decreciente por: 18:1, 16:1, 18:2, 18:0, 14:0, 16:1 y 18:3 (Laino *et al.*, 2015). Stratakis y colaboradores (1993), reportaron los principales ácidos grasos de la VHDL de *Eurypelma californicum* (*Aphonopelma hentzi*), los cuales son 18:1/18:2 (52%), 16:0 (24.9%), 18:0 (10.3%), 20:0 (4.3%), 16:1 (2.3%) y 14:0 (1.2%). Similares resultados fueron reportados por otros investigadores cuando indagaron los ácidos grasos de la hemolinfa entera de *Aphonopelma californicum* antes *Eurypelma californicum* (Schartau y Leidescher, 1983).

2.10 Importancia de las tarántulas en los ecosistemas

La extracción y comercio ilegal de las tarántulas, pone en riesgo la existencia de estos animales, así como el equilibrio ecológico de sus hábitats.

Las tarántulas controlan plagas, ya que su alimentación es carnívora, el consumo de estos insectos es benéfico como servicio ambiental. Además, también pueden alimentarse de algunos vertebrados como ranas, reptiles, aves o roedores de tamaño pequeño. Por lo tanto, cuando las tarántulas son extraídas de su ecosistema en forma masiva, las plagas comienzan a hacerse presentes, pues al no tener que lidiar con depredadores, algunas poblaciones de insectos (como las cucarachas) incrementan su número. Cabe mencionar que también son consideradas como indicadores biológicos y son fuente alimenticia de otras especies (Maelfait y Hendrickx, 1997; Rojo, 2004; Capilla, 2018).

2.11 Extracción y Comercio

En todo el mundo se ha expandido la pasión por las tarántulas, existiendo una gran cantidad de personas que las coleccionan como mascotas. Este creciente interés ha generado una extracción intensa de ejemplares de su medio ambiente, tanto de manera legal como ilegal (García, 2014).

Los comerciantes multinacionales de tarántulas señalan que el mercado de *Brachypelma* (y de las tarántulas en general) está creciendo tanto en México como en el resto del mundo. Los mercados internacionales involucran a Canadá, Estados Unidos, la Unión Europea y Asia. Actualmente, la demanda excede la oferta legal, sobre todo de las coloridas especies de tarántulas de “patas rojas”. Los criadores de *Brachypelma* autorizados (con licencia) en México informan que en conjunto producen un promedio de 11,000 a 14,000 tarántulas jóvenes al año. Todas las *Brachypelma* se venden y exportan únicamente a distribuidores de tarántulas canadienses y estadounidenses, y aunque existen pedidos de la Unión Europea, China y Japón, simplemente no logran satisfacerlos. Criadores y cuidadores de tarántulas sugieren que el comercio ilegal de especies de *Brachypelma* excede con mucho al comercio legal. Afirman que grandes cantidades de tarántulas vivas se sacan de México de contrabando, sobre todo para embarcarlas a la Unión Europea y Asia (CCA, 2017).

Los traficantes tienen métodos únicos para facilitar el tráfico ilícito, a menudo se esconden especímenes de tarántula en película fotográfica. Recipientes, pequeños tubos o bolsas de plástico (BWPM, 2014). Los animales están abarrotados unos contra otros y muchos mueren debido a la deshidratación, espacio insuficiente durante la muda o asfixia en sus propias exuvias (Rojo, 2004). Incluso, a veces el color anaranjado de las piernas las marcan con tinta negra en intentos de pasarlos como especies no protegidas (West, com. per.)

Como comunicación personal de West, (como se cita en el Plan de acción de América del Norte para un comercio sustentable de especies de tarántula 2017), el intercambio comercial de ejemplares de tarántula mexicana de rodillas rojas en general se restringe casi exclusivamente a especímenes criados en cautiverio para el mercado de mascotas. Existe la probabilidad que haya un comercio limitado de especímenes muertos para exposición. Los ejemplares de *B. smithi* a veces se presentan erróneamente como *B. annitha* o *B. hamorii* en el comercio internacional de tarántulas mascotas.

Los jóvenes criados en cautiverio se venden por alrededor de \$EU30-35 en Canadá y Estados Unidos, \$EU10 en México y \$EU5 en la Unión Europea. Los machos adultos se ofrecen en aproximadamente \$EU95 en Canadá y \$EU60 en Estados Unidos, mientras que el precio promedio de una hembra adulta asciende a \$EU250 en Canadá y Estados Unidos, y \$EU60 en la Unión Europea.

Información adquirida de la “Base de datos sobre el comercio CITES” del PNUMA-CMCM muestra que durante 2009-2014 México exportó 5,451 ejemplares vivos criados en cautiverio de *B. smithi* a Estados Unidos y Canadá: 1,905 a Canadá y 3,546 a Estados Unidos; Canadá exportó 1,075 a Estados Unidos, 75 a Japón y cuatro a Chile, y Estados Unidos envió especímenes vivos a seis países: doce a Argentina, seis a Guatemala, 125 a Canadá, 80 a Japón, 60 a Corea del Sur y 50 a Taiwán (PNUMA-CMCM, 2016).

De las 105 especies de tarántulas mexicanas que se conocen, 16 son las más comercializadas y tres de ellas se encuentran catalogadas en México como amenazadas. Estas son: *Aphonopelma pallidum* (tarántula mexicana gris), *Brachypelma emilia* (tarántula mexicana de piernas rojas) y *Brachypelma smithi* (tarántula mexicana de rodillas rojas). Esta última, está entre las diez especies animales más traficadas en México (PROFEPA, 2009).

2.12 Tarántula mexicana de rodillas rojas *Brachypelma smithi*

B. smithi (F. O. Pickard-Cambridge 1897), mejor conocida como “tarántula mexicana de rodillas rojas”, debido a su brillante coloración, comportamiento dócil, longevidad y robustez en cautiverio, ha sido exportada de México en grandes cantidades (Reichling, 2003).

Smith (como cita Mendoza y Francke, 2017) reporta que entre 1984 y 1991, un traficante exportó 3000 ejemplares al Reino Unido y Europa. Similarmente, una compañía establecida en la Ciudad de México envió 200 000 tarántulas a Estados Unidos en un periodo de 10 años. La misma compañía también admitió que cuatro de cinco colonias explotadas comercialmente en la región de Colima - Guerrero, conteniendo 30 000 a 40 000 individuos cada una (antes de la explotación) fueron despojadas de sus poblaciones.

Debido a estas actividades, el tamaño de las poblaciones ha sido afectado. En Septiembre de 1985, *B. smithi* fue oficialmente mencionada en el Apéndice II de la Convención Internacional sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora silvestres (CITES) (Schultz y Schultz 2009). En México, también se tomaron medidas al respecto y esta especie fue declarada amenazada en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994.

Se conoce muy poco sobre el estado de conservación de las especies *Brachypelma* mexicanas, especialmente de aquellas restringidas a áreas particularmente vulnerables a la sobreexplotación. Además, los huracanes, daños y cambios de flujo de los ríos a lo largo de la costa del Pacífico vuelven a las poblaciones vulnerables. La costa de Guerrero es una de las zonas más afectadas, con grandes inundaciones del Río Papagayo causando casi la destrucción completa de dos poblaciones de *B. smithi*. (Mendoza y Francke, 2017).

Ante tantos peligros a los que se ven expuestos estos ejemplares, se han generado Programas y Planes de Acción, nacionales e internacionales en los que se incluyen medidas para fomentar el comercio trazable y sustentable de las 16 especies de tarántulas consideradas amenazadas (entre ellas *B. smithi*), crear políticas de aprovechamiento sustentable y cría en cautiverio, generar conocimiento científico sobre la biología de las tarántulas y desarrollar capacidades para la aplicación de la ley y sus reglamentos (CCA, 2017).

Entre estas acciones, se han creado Unidades de Manejo (UMA) en algunos estados de la República Mexicana con el fin de conservar a estos organismos y evitar su extinción. Se busca promover esquemas alternativos de producción compatibles con el cuidado del ambiente, a través del uso racional, ordenado y planificado de los recursos naturales y garantice la viabilidad de los ejemplares. Estos beneficios contribuyen a solventar los gastos de conservación, monitoreo e investigación, con lo que se asegura la permanencia del capital natural (SEMARNAT, 2009).

Para poder mejorar las condiciones de crianza y hacerla más eficiente en cautiverio, es necesario conocer más sobre su alimentación a fin de cubrir sus necesidades nutrimentales. Sin embargo, son muy pocos los estudios científicos publicados sobre la composición corporal y las necesidades nutrimentales de las tarántulas en general, y menos aún sobre *B. smithi*.

La mayor parte de los estudios realizados están relacionados con su distribución geográfica en México y características morfológicas que la distinguen de otras especies similares (Tesmoingt *et al.* 1997a, 1997b; Loch *et al.* 1999; West, 2005). Mendoza y Francke (2017) realizaron estudios a nivel molecular del DNA de *B.smithi* con el fin de diferenciarla de otras especies muy parecidas y presentan también algunos datos morfométricos, como la longitud del caparazón, del esternón, dientes quelíceros, entre los más relevantes.

Por lo tanto, se espera que este trabajo genere conocimiento sobre la biología de la tarántula mexicana *B.smithi*.

III. JUSTIFICACIÓN

La creciente adquisición de mascotas no convencionales como es el caso de las tarántulas del género *Brachypelma*, ha promovido la extracción masiva y el inevitable comercio ilegal de estos organismos, particularmente de *B.smithi*, una de las tres especies de tarántulas mexicanas consideradas amenazadas, por organismos internacionales como la Convención CITES (Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora silvestres) y por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), en México. Esto, aunado al deterioro del hábitat debido al crecimiento urbano, fenómenos naturales y actividad agrícola, constituyen una grave amenaza a la supervivencia de esta tarántula.

Para lograr un manejo adecuado de estos organismos en cautiverio, es esencial conocer su biología, características anatómicas, procesos metabólicos, composición química y bioquímica, fisiología y alimentación, entre otros aspectos. Sin embargo, los pocos trabajos publicados sobre *B. smithi* están dirigidos a su ecosistema, comportamiento, toxinas y más recientemente a la diferenciación a nivel ADN con respecto a *Brachypelma hamorii*. En lo referente a aspectos de nutrición y alimentación son pocos los artículos publicados sobre este tema en las tarántulas en general y nulos en el caso de las tarántulas mexicanas.

Por lo tanto, el presente estudio pretende contribuir al conocimiento científico de las tarántulas mexicanas, específicamente de *B. smithi* aportando datos sobre características anatómicas de la misma, composición en ácidos grasos de la hemolinfa, así como la influencia de la alimentación sobre la condición corporal de esta especie.

La obtención de dichos datos proporcionará herramientas para lograr un mejor manejo y cuidado de las tarántulas *B. smithi* mantenidas en cautiverio las UMA, con el propósito de que estén saludables y tengan la capacidad de sobrevivir y concluir su ciclo de vida después de ser reintroducidas a su hábitat natural.

IV. HIPÓTESIS

- El peso promedio de las tarántulas *Brachypelma smithi* será menor al ofrecer la dieta de cucarachas (*Blaptica dubia*) que aquellas alimentadas con larvas de escarabajo (*Zophobas morio*), debido a que las *Z. morio* contienen más cantidad de lípidos.
- El tamaño promedio del opistosoma en las tarántulas *Brachypelma smithi* será menor al ofrecer la dieta de cucarachas (*Blaptica dubia*) que aquellas alimentadas con larvas de escarabajo (*Z. morio*).
- La composición en ácidos grasos de la hemolinfa de *B. smithi* será diferente cuando su dieta incluye cucarachas (*B. dubia*) o larvas de escarabajo (*Z. morio*), debido a las diferencias del contenido graso de ambas presas, siendo menor en *B. dubia*
- El peso de las tarántulas *B. smithi*, el tamaño de su opistosoma y la composición en ácidos grasos de la hemolinfa será diferente entre machos y hembras, ya que probablemente existan diferencias morfológicas y hemolinfáticas debido a aspectos reproductivos.

V. OBJETIVO GENERAL

Valorar el crecimiento de las tarántulas *B. smithi* y cuantificar e identificar ácidos grasos en su hemolinfa a partir de una dieta controlada a base de cucarachas (*B. dubia*) y larvas de escarabajo *Z. morio* realizando dos mediciones a lo largo de un año.

Objetivos particulares

- Valorar el crecimiento de las tarántulas *B. smithi* alimentadas con cucarachas (*B. dubia*) o con larvas de escarabajo (*Z. morio*) al registrar su peso en diferentes épocas del año.
- Valorar el crecimiento de las tarántulas *B. smithi* alimentadas con cucarachas (*B. dubia*) o con larvas de escarabajo (*Z. morio*) al registrar la longitud, ancho y área del opistosoma y prosoma en diferentes épocas del año.
- Determinar si el crecimiento de las tarántulas *B. smithi* es diferente entre machos y hembras.
- Determinar si el contenido de lípidos y composición en ácidos grasos de la hemolinfa de *B. smithi* es diferente entre machos y hembras.

- Determinar si el contenido de lípidos y composición en ácidos grasos de la hemolinfa de *B. smithi* varía con alimentación de larvas de escarabajo (*Z. morio*) o con cucarachas (*B. dubia*).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y alojamiento

Se utilizaron 80 tarántulas *Brachypelma smithi* (TBS) provenientes del mismo ovisaco de 4 años de edad (40 hembras y 40 machos) alojadas en la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) “Aracneé”, ubicada en Coyuca de Benítez, Guerrero, México.

Las tarántulas se mantuvieron dentro de una habitación, a temperatura ambiente propia de la localidad (22 a 33°C) y humedad del 70% (Figura 8).



Figura 8. UMA “Aracneé” de Coyuca de Benítez, Guerrero.

Cada ejemplar estuvo alojado en un contenedor plástico de 30 cm de largo x 30 cm de ancho y 20 cm de altura, con una capa de 5 cm de sustrato de musgo conocido como peat moss. En un extremo del mismo, se colocó una tapa ancha de plástico como bebedero. El agua se cambió diariamente y se proporcionó *ad libitum*. El estudio tuvo como duración un año (enero 2017 a enero 2018).

Diseño experimental del estudio

Cada grupo de machos (40) y hembras (40) fue subdividido en 2 grupos de 20 ejemplares cada uno, a los cuales se les proporcionaron diferentes dietas (presas). A un grupo se le proporcionaron larvas de escarabajo (*Z. morio*) (LEZM) y al otro cucarachas (*B. dubia*) (CBD). A cada tarántula, se le ofrecieron dos presas a la semana durante el periodo de estudio, según correspondiera (Figura 9).

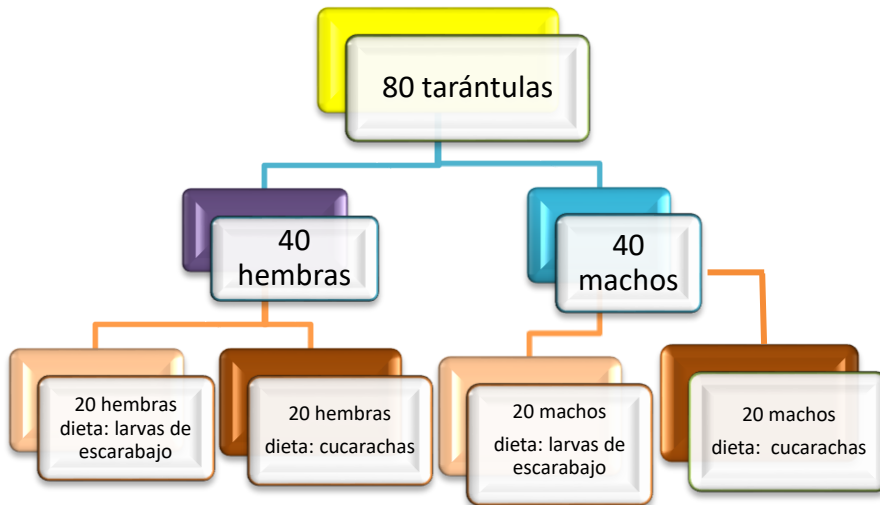


Figura 9. Diseño del estudio.

Antes de iniciar el estudio y durante el mismo, las presas que iban a ser proporcionadas a las tarántulas, fueron alimentadas de la siguiente manera:

- A las cucarachas (*B. dubia*) (CBD) se les proporcionó como alimento una mezcla de avena con harina de trigo, además de croquetas para perro.
- A las larvas de escarabajo (*Z. morio*) (LEZM) se les alimentó solamente con una mezcla de avena con harina de trigo.

VARIABLES A MEDIR

Peso de las tarántulas

La medición de las tarántulas se realizó directamente en la UMA Aracné, en el municipio de Coyuca de Benítez, Estado de Guerrero, México.

Cada ejemplar se pesó al inicio del estudio (enero 2017) y posteriormente cada tres meses (abril, julio, octubre de 2017) y al final del estudio (enero de 2018). Se utilizó una balanza digital con capacidad de 10 kg, registrando el peso en gramos. Cada individuo

previamente sedado con CO₂, fue colocado manualmente sobre el contenedor de la balanza.

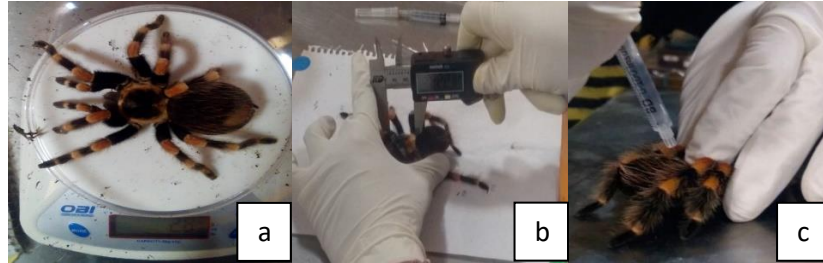
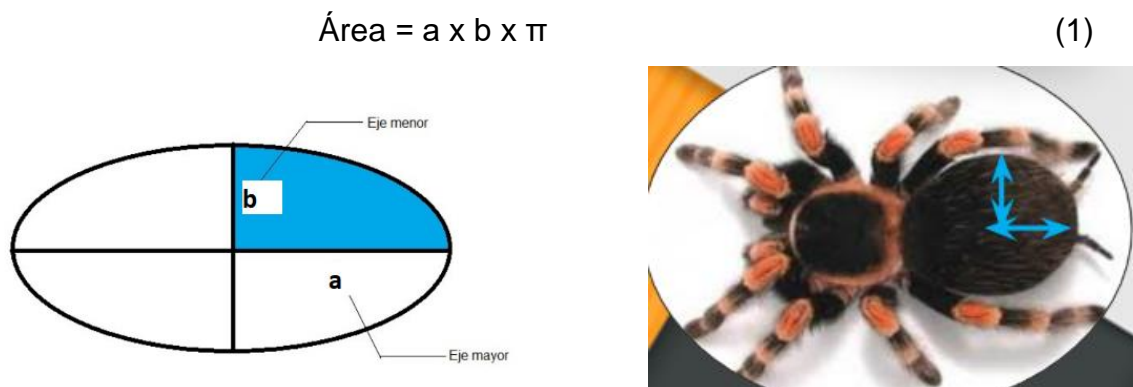


Figura 10. a) Pesaje de tarántula b) Medición del prosoma con vernier digital c) Extracción de hemolinfa en pericardio.

Medición del prosoma y opistosoma

A los 6, 9 y 12 meses de haber iniciado el estudio (julio y octubre de 2017 y enero de 2018) se midió en cada ejemplar el largo y el ancho del opistosoma y prosoma, utilizando un vernier digital. Los valores se expresaron en cm. La medición de estas variables se realizó también en la UMA.

Estos datos se utilizaron para evaluar la condición corporal, bajo el supuesto que tanto prosoma y opistosoma fueron consideradas geométricamente como dos elipses (Fig 11). De esta manera para calcular el área de cada uno se utilizó la fórmula señalada en la misma figura 11, generalmente empleada para obtener el área de una elipse.



Donde: a= semieje menor
b= semieje mayor
 $\pi = 3.1416$

Figura 11. Prosoma y opistosoma como elipses

Las recomendaciones para evitar problemas en la muda o rotura del exoesqueleto sugieren que el opistosoma sea dos veces más grande que el prosoma, en una vista dorsal (Schultz y Schultz, Mendoza, 2009).

Debido a que se midió el largo y ancho del prosoma y del opistosoma, fue necesario dividir entre dos cada uno de estos valores para calcular el área conforme lo indica la ecuación (1) con los valores correspondientes de a y b.

La relación opistosoma : prosoma (ROP) se obtuvo de la siguiente manera:

$$\text{ROP} = \frac{\text{Área del opistosoma}}{\text{Área del prosoma}}$$

Lípidos totales y ácidos grasos en la hemolinfa (HL) de las tarántulas

Antes de realizar la toma de HL en las tarántulas de estudio, se estandarizó el método de obtención de la HL, así como el de extracción de lípidos (Folch *et al.* 1957) en arañas *Polybetes pythagoricus*, conocidas como arañas cangrejo, durante una estancia en el Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, Argentina, (INIBIOLP). Esto con el propósito de reproducir el método con las muestras de HL del presente estudio en el Laboratorio del Departamento de Nutrición Animal en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Toma de muestras de HL en las tarántulas

La toma de muestra de HL se realizó de igual manera en la UMA Aracnée en el municipio de Coyuca de Benítez, Estado de Guerrero, México.

Al inicio del estudio (enero 2017) y 10 meses más tarde (octubre 2017) se tomó una muestra de hemolinfa a cada tarántula.

Los ejemplares fueron sedados con CO₂ para facilitar el manejo y evitarles estrés innecesario. La toma de muestra fue en el pericardio (Figura 10). Se realizó una punción en el área dorso craneal del opistosoma, con una jeringa de 1 mL. Lentamente se extrajo la hemolinfa y se depositó en tubos eppendorf, manteniéndose en congelación a -70° C hasta su análisis.

La cantidad de HL que se tomó de cada ejemplar fue variable (0.2 a 1 mL), dependiendo del tamaño e hidratación del ejemplar.

Los análisis de lípidos totales y ácidos grasos en HL de *B. smithi* se realizaron en el Laboratorio del Depto. de Nutrición Animal del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. En todos los casos se utilizaron reactivos grado reactivo (R) y HPLC.

Para la extracción de lípidos totales en la HL se utilizó se utilizó una mezcla de cloroformo: metanol (2:1 v/v), siguiendo el método de Folch et al. (1957). La mezcla de solventes se adicionó a las muestras de HL, a razón de 5:1 v/v. Es decir, a 0.2 mL de HL se le agregó 1 mL de la mezcla cloroformo:metanol. El procedimiento completo se presenta en el Anexo 1.

Los extractos lipídicos fueron saponificados con una solución de KOH (Hidróxido de Potasio) al 10% y metilados con trifluoruro de boro (TFB) al 20% (Morrison et al 1992). Las muestras se inyectaron en un cromatógrafo de gases Varian, modelo 3800 CX equipado con un automuestreador CP8400, detector de ionización de flama y columna DB23 de 30 m con un d.i. de 0.25 mm. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador a un flujo de 30 mL/min. Las temperaturas utilizadas fueron: columna 230°C, inyector 150°C, detector 300°C. Para calcular la concentración de ácidos grasos se utilizó como patrón de referencia una mezcla de estándares de ácidos grasos con concentraciones conocidas (Supelco™37 FAME Mix SIGMA). El ácido miristoleico fue utilizado como estándar interno. La integración de los resultados se hizo mediante el programa Star Chromatography Workstation vs 6.3 Varian Associates, Inc. Los resultados se presentan en porcentaje del total de ácidos grasos de muestra

Análisis estadístico

A los datos obtenidos a partir de las variables medidas, se les aplicaron las pruebas de homocedasticidad utilizando la prueba de Levene y la prueba Shapiro – Wilk para normalidad con el fin de verificar que cumplían los supuestos para realizar un Análisis de Varianza ($p < 0.05$).

Se utilizó un análisis de varianza para un arreglo factorial, en el cual las variables tiempo, sexo y dieta fueron los factores a considerar. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Se empleo el procedimiento GLM (General Lineal Model).

VII. RESULTADOS

7.1 Peso de las tarántulas *Brachypelma smithi*

Los resultados mostraron que el sexo y la dieta no influyeron en el peso de las tarántulas ($p > 0.05$) (Cuadro 1). Sin embargo, el tiempo sí fue un factor determinante en el aumento de peso. Este se incrementó conforme aumentaba la edad de los ejemplares, ($p < 0.05$) (Figura 12), tanto en machos como en hembras e independientemente de la dieta proporcionada.

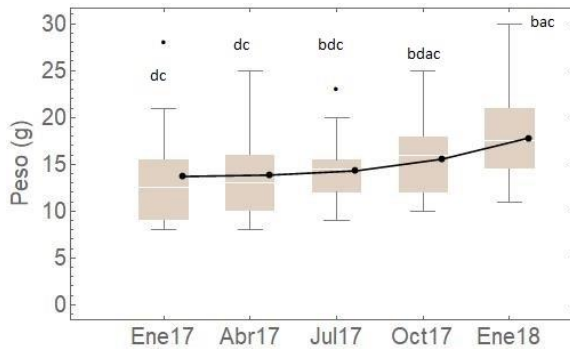
Cuadro 1. Efecto del tiempo, sexo y dieta sobre el peso de las tarántulas *Brachypelma smithi*

Tiempo	Peso (g)
Enero 2017	13.90 ± 4.18 c
Abril 2017	13.86 ± 3.32 c
Julio 2017	14.07 ± 2.94 cb
Octubre 2017	15.61 ± 3.26 b
Enero 2018	18.51 ± 4.72 a
EEM	0.425
Sexo	
Hembras	15.16 ± 4.49 a
Machos	15.22 ± 3.75 a
EEM	0.268
Dieta	
Larvas de escarabajo	15.24 ± 4.02 a
Cucarachas	15.14 ± 4.25 a
EEM	0.268
Interacciones	
Tiempo*Sexo	0.6648
Tiempo*Dieta	0.9452
Sexo*Dieta	0.3783
Tiempo*Sexo*Dieta	0.9973

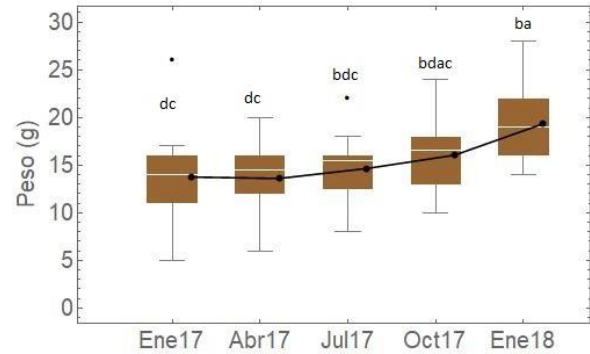
a,b,c Literales distintas, indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

En los primeros 6 meses de estudio el incremento en el peso se mantuvo sin cambio alguno, pero después de este periodo el incremento fue significativamente mayor, de tal manera que pasaron de 14-15 g (cuando tenían aproximadamente cuatro años de edad) a 18 g (al cumplir aproximadamente cinco años de edad), siendo significativo este aumento ($p < 0.05$). De hecho, hubo ejemplares que llegaron a pesar hasta 20 g, como se observa en la figura 12.

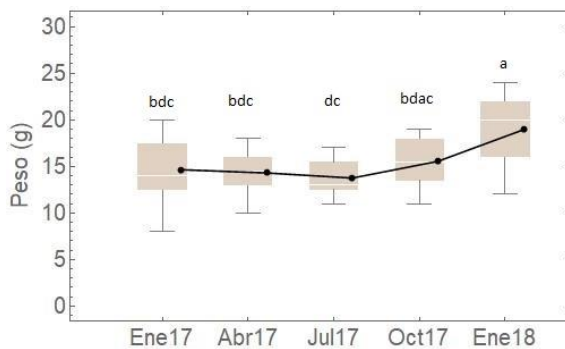
En forma general, seis meses después de haber iniciado el estudio el incremento en el peso fue de 1.2%, a los nueve meses de 12% y un año después el incremento fue 33% mayor. No se presentaron interacciones ($p > 0.05$).



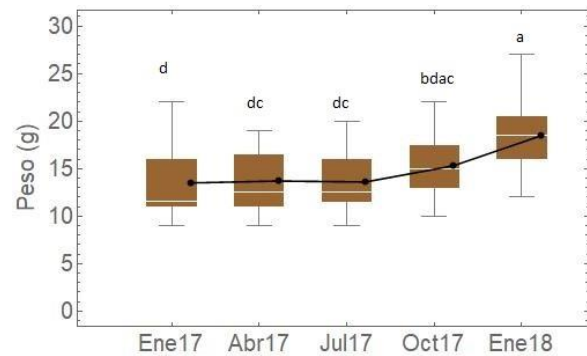
a) Peso de hembras alimentadas con larvas de escarabajo *Zophobas morio*



b) Peso de hembras alimentadas con cucarachas *Blaptica dubia*



c) peso de machos alimentados con larvas de escarabajo *Zophobas morio*



d) Peso de machos alimentados con cucarachas *Blaptica dubia*

a,b,c Literales distintas indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

Figura 12. Peso (g) de las tarántulas alimentadas con larvas de escarabajo (*Zophobas morio*) (a,c) o con cucarachas (*Blaptica dubia*) (b,d) durante el periodo de un año.

7.2 Opistosoma y Prosoma

En este caso, el sexo y la dieta tampoco influyeron sobre el largo, ancho y área del opistosoma y el prosoma ($p > 0.05$). Pero al igual como ocurrió con el peso, la edad sí ejerció un efecto importante, sobre el opistosoma y prosoma ($p < 0.05$). No se presentaron interacciones (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto del tiempo, sexo y dieta sobre el largo, ancho y área del opistosoma y prosoma de las tarántulas *Brachypelma smithi*

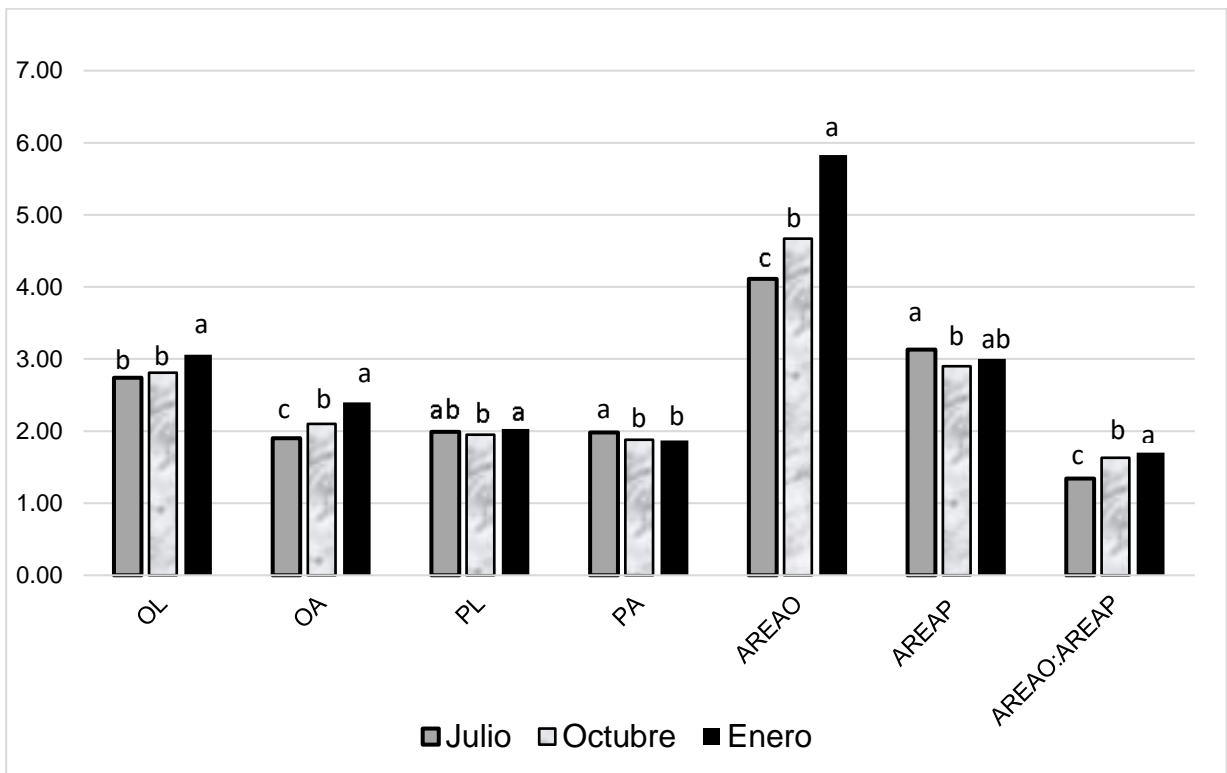
FACTOR	OL Cm	OA Cm	PL Cm	PA cm	AREAO cm ²	AREAP cm ²	RELACION AREAO:AREAP
Tiempo							
Julio-17	2.74 b	1.90 c	1.99 ba	1.98 a	4.11 c	3.13 a	1.34 c
Octubre-17	2.81 b	2.10 b	1.95 b	1.88 b	4.67 b	2.90 b	1.63 b
Enero-18	3.06 a	2.40 a	2.03 a	1.87 b	5.83 a	3.00 ba	1.7 a
EEM	0.0012	0.0009	0.0004	0.0005	0.0134	0.0036	0.0016
Sexo							
Hembras	2.87 a	2.15 a	1.98 a	1.89 a	4.92 a	2.98 a	1.69 a
Machos	2.86 a	2.11 a	2.00 a	1.93 a	4.82 a	3.05 a	1.61 a
EEM	0.0008	0.0006	0.0003	0.0003	0.0089	0.0024	0.0010
Dieta							
Larvas escarabajo	2.88 a	2.14 a	1.97 a	1.89 a	4.92 a	2.95 a	1.71 a
Cucarachas	2.85 a	2.12 a	2.01 a	1.93 a	4.82 a	3.08 a	1.59 b
EEM	0.0008	0.0006	0.0003	0.0003	0.0089	0.0024	0.0010
Interacciones							
Tiempo x Sexo	0.0506	0.2043	0.3183	0.4252	0.1082	0.3563	0.1124
Tiempo x Dieta	0.1298	0.9187	0.5179	0.8184	0.6609	0.6538	0.9164
Sexo x Dieta	0.8129	0.7156	0.0799	0.2645	0.7919	0.128	0.259
Tiempo x Sexo x Dieta	0.4908	0.9075	0.9395	0.8219	0.7072	0.9538	0.7399

a,b,c En cada columna y factor, literales distintas indican diferencia ($p < 0.05$)

En el caso del opistosoma, el largo, el ancho y área del mismo se incrementaron conforme aumento la edad ($p < 0.05$). En el mes de julio de 2017, el largo del opistosoma era de 2.74 cm, 3 meses después (octubre de 2017) aumentó a 2.81 cm (2.5% de aumento) y otros 3 meses mas tarde (enero de 2018), aumento a 3.06 cm (11.7% de aumento). En el ancho del opistosoma fueron más notables los incrementos, pues en promedio se partió de 1.90 cm de ancho (julio de 2017), tres meses después (octubre 2017) aumentó a 2.10 cm (10.5% de aumento) y otros tres meses más tarde (enero de 2018) aumentó a 2.40 cm (26% de aumento). El área reflejó estos incrementos, ya que aproximadamente a los dos años y medio de edad de los ejemplares, la superficie del

opistosoma resulto ser en promedio, de 4.11 cm²; tres meses mas tarde aumentó a 4.67 cm² (13.6% de aumento), pero al cumplir los tres años de edad aumentó a 5.83 cm² (42% de aumento) (Figura 12).

Por otro lado, fue interesante notar que el largo y área del prosoma no mostraron cambios significativos durante los 6 meses de medición ($p>0.05$), y contrario a lo que ocurrió con el opistosoma, el ancho del prosoma se redujo aproximadamente 5%, conforme aumentó la edad de las tarántulas ($p<0.05$) (Figura 13).



a,b,c En cada variable, literales distintas indican diferencia estadística ($p<0.05$)
 OL-Largo del opistosoma, OA-Ancho del opistosoma, PL-Largo del prosoma, PA-Ancho del prosoma, AREAO- Área del opistosoma, AREAP-Área del prosoma

Figura 13. Efecto del tiempo sobre el largo (cm), ancho (cm) y área (cm²) del opistosoma y prosoma de las tarántulas *Brachypelma smithi*

Otro aspecto importante que se observó, fue el hecho de que la relación del área opistosoma:prosoma fue afectada por el tiempo pero también por la dieta ($p<0.05$). La relación mostró un incremento del 27% en un periodo de seis meses (Cuadro 13), pasando de una relación O:P de 1.3:1 a 1.7:1 en un periodo de 6 meses.

Por otro lado, es importante mencionar que las tarántulas *B. smithi* alimentadas con larvas *Z. morio*, mostraron una mayor relación O:P (1.71:1), en comparación con las tarántulas alimentadas con cucarachas *B. dubia* (1.59:1) ($p < 0.05$).

7.3 Lípidos totales en la hemolinfa de *Brachypelma smithi*

Respecto a los lípidos totales presentes en la hemolinfa de las tarántulas se observó una reducción significativa entre el inicio del estudio (0.5 mg/mL de HL) y 9 meses después (0.3 mg/mL de HL) ($p < 0.05$) (Cuadro 3). Por otro lado, esta variable también fue afectada notablemente por la dieta, ya que las tarántulas alimentadas con larvas de escarabajo *Z. morio* presentaron mayor cantidad de lípidos totales que las que fueron alimentadas con cucarachas ($p < 0.05$). El sexo no influyó en esta variable ($p > 0.05$) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Contenido de lípidos totales y concentración de ácidos grasos (%TAG) en la hemolinfa de tarántulas *Brachypelma smithi*

FACTOR	LT g/0.2 mL	LT mg/mL	Palmítico C16:0	Esteárico C18:0	Elaídico C18:1t	Oleico C18:1	Linoléico C18:2
Tiempo							
Enero – 17	0.00051944 a	2.5	28.27 a	17.4924 a	9.974 a	17.921 a	6.2168 b
Octubre – 17	0.0003916 b	1.5	26.09 b	17.1432 a	9.123 a	28.203 b	11.7038 a
Sexo							
Hembras	0.00043889 a	2.0	27.51 a	17.1824 a	9.697 a	20.473 b	8.6040 a
Machos	0.00047222 a	2.0	26.85 a	17.4532 a	9.400 a	25.651 a	9.3165 a
Dieta							
Larvas escarabajo	0.00051667 a	2.5	27.2324 a	18.2069 a	8.990 a	22.233 a	8.4504 a
Cucarachas	0.00039444 b	1.5	27.1421 a	16.4286 b	10.107 a	23.891 a	9.4701 a

^{a,b} En cada columna, literales distintas indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

LT= lípidos totales, TAG= total de ácidos grasos

7.4 Ácidos grasos en la hemolinfa de *B.smithi*

Los ácidos grasos predominantes en la hemolinfa de las tarántulas fueron los siguientes: palmítico, esteárico, elaídico, oleico y linoleico (Cuadro 3). Sin embargo, hubo otros ácidos grasos presentes en menor cantidad y que en algunos ejemplares no se detectaron (Cuadros 4 y 5).

En el caso del ácido palmítico (16:0), hubo un decremento entre los periodos evaluados de 28.27% en enero de 2017 se redujo a 26.27% en octubre de 2017 ($p < 0.05$).

Por lo contrario, la concentración de los ácidos grasos oleico (C18:1) y linoléico (C18:2) en la HL, aumentaron significativamente con el paso del tiempo ($p < 0.05$). En el primer caso, el incremento fue de aproximadamente 57% y en el segundo de 88% en un lapso de 9 meses.

Los ácidos grasos esteárico (C18:0) y elaídico (C18:1t) no se vieron afectados por el tiempo ($p > 0.05$).

Por otro lado, el sexo solo influyó sobre el ácido oleico (C18:1), siendo mayor la concentración en los machos ($p < 0.05$) (Cuadro 3). Los otros cuatro ácidos grasos no fueron afectados por este factor ($p > 0.05$).

En el caso del factor dieta, sólo afectó la concentración del ácido esteárico, siendo mayor en las tarántulas que consumieron larvas de escarabajo (*Z. morio*) ($p < 0.05$) (Cuadro 3). Los otros cuatro ácidos grasos no fueron afectados por la dieta ($p > 0.05$).

Cuadro 4. Contenido de lípidos totales y concentración de ácidos grasos saturados en la hemolinfa de la tarántula mexicana *Brachypelma smithi* de aproximadamente dos años de edad

Componente químico	Notación química	ENERO DE 2017				OCTUBRE DE 2017			
		HEMBRAS		MACHOS		HEMBRAS		MACHOS	
		LZM	CBD	LZM	CBD	LZM	CBD	LZM	CBD
Lípidos totales mg/mL		0.0001-0.0014	0.0001-0.0012	0.0001-0.0013	0.0002-0.0008	0.0001-0.0009	0.0001-0.0007	0.0001-0.0018	0.0001-0.0008
Ácidos grasos (%TAG)									
Caprílico	C8:0	ND	ND	0.00 - 0.19	ND	0.00 - 0.05	ND	0.00 - 1.78	0.00 - 0.27
Capríco	C10:0	ND	ND	ND	ND	0.00 - 0.20	0.00 - 0.76	0.00 - 1-14	0.00 - 0.53
Undecanoico	C11:0	ND	ND	ND	ND	ND	0.00 - 0.04	0.00 - 8.22	0.00 - 0.34
Laurico	C12:0	0.00 - 0.17	0.00 - 2.85	0.00 - 3.35	0.00 - 0.66	0.00 - 0.54	0.00 - 0.72	0.00 - 0.52	0.00 - 0.97
Tridecanoico	C13:0	0.00 - 0.18	nd	Nd	Nd	0.00 - 0.10	0.00 - 0.18	0.00 - 1.42	0.00 - 1.91
Mirístico	C14:0	0.00 - 4.42	0.00 - 2.65	0.00 - 7.64	0.00 - 5.83	0.00 - 1.81	0.00 - 2.06	0.00 - 2.06	0.00 - 4.94
Pentadecanoico	C15:0	0.00 - 0.29	nd	0.00 - 0.29	Nd	0.00 - 0.22	0.00 - 0.11	0.00 - 0.47	0.00 - 1.29
Palmitico	C16:0	20.40 - 36.49	17.01 - 34.24	21.79 - 37.52	18.20 - 34.89	18.24 - 32.48	19.77 - 32.26	19.63 - 30.70	19.92 - 36.13
Heptadecanoico	C17:0	0.00 - 1.11	ND	0.00 - 1.22	ND	0.00 - 2.00	ND	0.00 - 0.37	0.00 - 4.31
Estearico	C18:0	12.01 - 25.77	10.76 - 21.31	13.29 - 24.35	11.29 - 23.30	11.47 - 21.64	12.18 - 20.87	13.63 - 30.32	8.02 - 23.62
Araquídico	C20:0	0.00 - 8.51	0.00 - 8.51	0.00 - 4.76	0.00 - 10.65	0.00 - 1.46	0.00 - 2.44	0.00 - 4.57	0.00 - 7.06
Heneicosanoico	C21:0	0.00 - 0.17	0.00 - 1.19	0.00 - 0.52	ND	0.00 - 0.27	0.00 - 0.30	0.00 - 0.84	0.00 - 0.57
Behénico	C22:0	0.00 - 0.43	ND	0.00 - 0.32	ND	0.00 - 0.17	0.00 - 0.32	0.00 - 0.31	0.00 - 0.78
Tricosanoico	C23:0	0.00 - 0.09	0.00 - 1.63	0.00 - 0.07	ND	0.00 - 0.54	0.00 - 0.38	0.00 - 1.34	0.00 - 0.45
Lignocerico	C24:0	ND	ND	0.00 - 0.09	ND	0.00 - 0.05	0.00 - 0.54	0.00 - 1.74	0.00 - 1.29

Cuadro 5. Concentración de ácidos grasos insaturados en la hemolinfa de la tarántula mexicana *Brachypelma smithi* de aproximadamente dos años de edad

Ácido graso (%TAG)	Notación química	ENERO DE 2017				OCTUBRE DE 2017			
		HEMBRAS		MACHOS		HEMBRAS		MACHOS	
		LZM	CBD	LZM	CBD	LZM	CBD	LZM	CBD
cis10-pentadecanoico	C15:1	ND	ND	0.00 - 0.07	ND	0.00 - 0.45	0.00 - 0.40	0.00 - 0.35	0.00 - 1.84
Palmitoleico	C16:1	0.17	1.09	0.00 - 2.38	0.00 - 2.49	0.00 - 1.96	0.00 - 0.34	0.00 - 0.63	0.00 - 1.17
cis10-hepta	C17:1	0.53	0.63	0.00 - 1.28	0.00 - 1.67	0.00 - 3.56	0.00 - 0.36	0.00 - 0.23	0.00 - 4.87
Oleico	C18:1 n9c	8.05 - 25.38	7.96 - 29.14	13.66 - 27.64	10.40 - 29.34	13.99 - 38.21	12.26 - 39.82	15.47 - 35.28	28.77 - 52.76
Elaidico	C18:1 n9t	2.78 - 23.30	2.33 - 14.93	5.66 - 18.62	3.83 - 16.37	0.00 - 18.33	0.71 - 19.75	0.00 - 13.10	0.00 - 27.07
Linoleico	C18:2 n6c	2.74 - 10.52	2.31 - 9.74	2.08 - 9.14	4.04 - 15.53	2.69 - 22.83	1.93 - 21.01	1.81 - 16.72	3.18 - 28.19
Linolelaídico	C18:2 n6t	0.00 - 0.73	0.00 - 1.00	0.00 - 0.19	Nd	0.00 - 0.60	0.00 - 0.12	0.00 - 0.99	0.00 - 1.52
Alfa-linolenico	C18:3 n3	2.99	4.01	0.00 - 2.19	0.00 - 2.53	0.00 - 0.95	0.00 - 1.31	0.00 - 3.80	0.00 - 3.71
Gama-linolenico	C18:3 n6	0.60	ND	0.00 - 1.55	0.00 - 2.69	0.00 - 0.20	0.00 - 0.24	0.00 - 1.84	0.00 - 3.05
cis11 eicosenoico	C20:1	7.14	8.37	0.00 - 2.77	0.00 - 5.99	0.00 - 1.71	0.00 - 2.97	0.00 - 1.95	0.00 - 9.65
cis11,14 eicosenoico	C20:2	5.76	7.73	0.00 - 3.72	0.00 - 4.17	0.00 - 1.38	0.00 - 2.36	0.00 - 4.21	0.00 - 6.78
cis11,14,17	C20:3 n3	ND	ND	ND	ND	0.00 - 0.06	0.00 - 0.10	0.00 - 0.23	0.00 - 0.65
cis8,11,14	C20:3 n6	ND	ND	0.00 - 0.14	ND	0.00 - 0.13	0.00 - 0.11	0.00 - 1.38	0.00 - 0.16
Araquidónico	C20:4 n6	2.95	2.44	0.00 - 1.28	0.00 - 3.22	0.00 - 2.28	0.00 - 2.60	0.00 - 4.28	0.00 - 4.96
Eicosapentaenoico	C20:5 n3	5.11	5.41	0.00 - 1.76	0.00 - 2.13	0.00 - 1.26	0.00 - 1.59	0.00 - 2.82	0.00 - 5.58
Erucico	C22:1 n9	5.54	4.87	0.00 - 3.98	0.00 - 4.81	0.00 - 2.36	0.00 - 2.54	0.00 - 1.89	0.00 - 2.56
Docosapentaenoico	C22:5 n6	2.11	ND	0.00 - 0.03	ND	0.00 - 0.22	0.030	0.00 - 1.60	0.00 - 1.43
Docosahexaenoico	C22:6 n3	ND	ND	0.00 - 0.03	ND	0.00 - 0.13	0.012	0.00 - 0.93	0.00 - 0.98
Nervónico	C24:1	0.02	ND	0.00 - 0.02	ND	0.00 - 0.21	0.00 - 0.14	0.00 - 4.58	0.00 - 0.81

VIII. DISCUSIÓN

8.1 Peso de las tarántulas *Brachypelma smithi*

El hecho de que el peso no haya sido afectado por el sexo o la dieta, parece indicar que en esta etapa del ciclo de vida de las tarántulas, no hay una diferenciación por sexo, y que el crecimiento es similar entre machos y hembras como suele ocurrir en ejemplares pertenecientes a la subfamilia de los Theraphosidos. Los resultados obtenidos concuerdan con un trabajo de investigación realizado por Tralalon y Blais (2012), en 500 ejemplares de *Brachypelma albopilosum*, sobre desarrollo juvenil, en condiciones ambientales y nutricionales similares a las del presente estudio. Ellos encontraron que en hembras y en machos, antes de la etapa sub- adulta o adultez, el peso en gramos no era significativamente diferente entre sexos, sino hasta después de alcanzar la madurez sexual, donde los machos se observaban más pequeños en talla y peso que las hembras.

Es posible que el aumento de peso observado haya sido dado principalmente por el aumento del opistosoma, como se verá en el siguiente punto.

8.2 Opistosoma y Prosoma de las tarántulas *B.smithi*

Las arañas tienen la capacidad de almacenar grandes cantidades de lípidos en su cuerpo específicamente en los divertículos intestinales, los cuales están distribuidos a lo largo del opistosoma (Jensen *et al.*, 2010). Al parecer, el almacén de lípidos en el cuerpo de las arañas está relacionado con la necesidad de mantener suficientes reservas energéticas para satisfacer las necesidades metabólicas entre eventos de captura de presas (Venner y Casas, 2005; Jensen *et al.*, 2010). Esto posiblemente explique el hecho de por qué el opistosoma (principalmente el ancho) fue aumentando conforme la edad, independientemente del sexo o dieta, y no el prosoma.

El resultado obtenido en la relación opistosoma:prosoma mostró que esta aumenta conforme aumenta la edad de los ejemplares, teniendo una proporción cercana al ideal recomendado de 2:1 (Schultz y Schultz, 2009). Como se ha mencionado, se recomienda (de forma empírica, ya que no hay estudios publicados) que el opistosoma sea dos veces más grande que el prosoma para evitar dificultades en el proceso de muda del exoesqueleto ya que una relación mayor podría provocar

la ruptura de este y pérdida de HL, lo que prodría poner en riesgo la vida de los organismos (Schultz y Schultz, 2009).

Es importante destacar que utilizar la relación O:P como método para evaluar el crecimiento de las tarántulas, no ha sido aplicado en otros estudios científicos, ya que generalmente se ha utilizado como único criterio, el ancho del prosoma o el peso o la longitud de la punta de una de las patas del primer par digonalmente hacia la punta de la pata contraria del cuarto par, llamado leg span (Schultz y Schultz, 2009).

Sin embargo, es importante conocer el tamaño del prosoma y opistosoma en conjunto porque el tamaño general del cuerpo y del opistosoma (por lo tanto, la cantidad de reservas de almacenamiento) se relacionan positivamente con la esperanza de vida y una mayor posibilidad de sobrevivencia, no así al medir únicamente el ancho del prosoma.

De hecho, varios autores han encontrado una correlación negativa entre el ancho del prosoma y la longevidad en las subfamilias Aviculariinae, Selenocosmiinae, Theraphosiinae (Jakob *et al.*, 1996; Kotiaho, 1999; Green, 2001; Schulte- Hostedde *et al.*, 2005; Stevenson y Woods, 2006; Moya- Laraño *et al.*, 2008; Ibler *et al.*, 2013).

Por otro lado, para lograr un crecimiento significativo durante todos los estadios previos a la adultez, es posible que la frecuencia con que se alimenta a las tarántulas sea un factor importante que deba considerarse para favorecer el crecimiento de las mismas, como lo demuestra un estudio realizado en *B. albopilosum*. En dicho estudio, los autores consideraban la longitud del prosoma para evaluar el crecimiento de los ejemplares y observaron un aumento del mismo, en el grupo de tarántulas que fueron alimentadas dos veces por semana, en lugar de una vez por semana (Padilla *et al.*, 2018).

Lo mismo puede decirse de la temperatura en un ambiente controlado, ya que en un estudio realizado en la UMA tarántulas de México (Orozco, R. datos no publicados), referente al tipo de alimentación y a la temperatura, en tarántulas de 3 meses de edad, se observó un marcado crecimiento en tarántulas que se desarrollaron en ambientes de temperatura controlada y constante (30°C), alimentadas una vez por semana. Lo que podría llevar a suponer que las tarántulas pueden incrementar la tasa de crecimiento con una temperatura máxima constante y alta frecuencia de alimentación por semana.

En este estudio, por cuestiones de tiempo, no se logró realizar el análisis de lípidos y ácidos grasos en el alimento vivo, sin embargo, Finke (2002) analizó diferentes tipo de invertebrados, entre ellos larvas de escarabajo (*Z. morio*), y encontró un contenido de lípidos de 391.6 g/kg y como ácidos grasos predominantes los siguientes: Palmítico 16:0 (52.8 g/kg), Esteárico 18:0 (12.6 g/kg), Oleico 18:1 (66 g/kg), Linoleico 18:2 (32.9 g/kg). En cuanto al contenido lipídico en cucaracha *B. dubia*, otros autores han reportado 231.7 g/kg (Vrabec, et al., 2015). Se puede observar que las larvas de escarabajo poseen mayor contenido lipídico, ello explica el hecho de que las tarántulas alimentadas únicamente *Z. morio* obtuvieron una relación opistosoma: prosoma mayor que las que consumieron cucarachas, debido a que almacenaron los lípidos en los divertículos intestinales, los cuales ocupan un gran espacio en el opistosoma y como se mencionó anteriormente es el órgano principal de reservas lipídicas.

8.3 Lípidos totales y ácidos grasos en la HL de *Brachypelma smithi*

Con fines de comparación, los lípidos totales se convirtieron de gramos a miligramos por mililitro de hemolinfa.

Los lípidos totales disminuyeron entre los dos periodos registrados, observándose en el mes de enero de 2017 una cantidad de 2.5 mg/mL de hemolinfa y en el mes de octubre de 2017, 1.5 mg/mL de hemolinfa. Estos valores pudiesen haberse visto alterados por diferentes factores, por ejemplo, que los ejemplares hayan tenido un consumo voluntario bajo al final del periodo; que la toma de muestra basal haya mostrado el efecto de la alimentación previa al estudio ya que estos individuos eran alimentados regularmente por el equipo de trabajo de la UMA; o porque las tarántulas utilizaron en esta etapa los lípidos, ya que también se pudo observar que al final del periodo, las tarántulas presentaron un crecimiento significativo ($p > 0.05$) entre enero de 2017 a octubre de 2017.

Por otra parte, los lípidos totales en hemolinfa de tarántulas que consumieron larvas de escarabajo *Z. morio* fue de 2.5 mg/mL, mientras que los lípidos totales de las que consumieron cucarachas fue de 1.5 mg/mL, en este caso queda demostrado que el alimento con mayor contenido de grasa (como se mencionó anteriormente) tuvo efecto en la concentración de lípidos totales de dichas tarántulas.

La araña *Polybetes pythagoricus* presentó de 4.6 mg/mL a 7.3 mg/mL de lípidos totales. Este hecho puede deberse a que la cantidad de lípidos presentes en la araña fueron obtenidos cuando los ejemplares estaban en etapa de reproducción (previtelogenesis, vitelogenesis temprana, vitelogenesis y postvitelogenesis) por lo tanto, al ser importantes en estos estadios se incrementa la cantidad de lípidos circulantes (Romero *et al.*, 2018).

Debido a la naturaleza hidrofóbica de los lípidos, estos son transportados en la hemolinfa mediante diferentes proteínas constituyendo las lipoproteínas. En un estudio sobre caracterización del sistema de transporte lipídico en la tarántula *Grammostola rosea*, se aislaron dos lipoproteínas, una de alta (HDL) y otra de muy alta densidad (VHDL). Esta última transporta el 98.6% de las proteínas hemolinfáticas y el 89.3% de lípidos presentes en la hemolinfa. Ambas lipoproteínas poseen fosfolípidos como lípidos predominantes y a los ácidos grasos oleico (18:1), palmítico (16:0), linoleico (18:2) y esteárico (18:0) como ácidos grasos predominantes.

Dichas lipoproteínas transportan como lípidos energéticos a los diacilglicéridos, los cuales seguramente son convertidos en los divertículos intestinales en triacilglicéridos para funcionar como depósito energético, así mismo los fosfolípidos son utilizados como constituyentes de membranas celulares (Laino *et al.*, 2014). En otro estudio (Laino *et al.*, 2015), sobre composición de ácidos grasos de diferentes tejidos en tres especies de escorpiones *Timogenes elegans*, *Timogenes dorbignyi* y *Brachistosternus ferrugineus* se encontró que en la hemolinfa de machos del escorpión *T. dorbignyi* el ácido graso predominante fue el 18:1 con 42% (oleico), y en machos de *B. ferrugineus* el 16:0 y 18:1 con aproximadamente el 30% de cada uno, en machos de *T. elegans* también el 16:0 y el 18:1 fueron los más abundantes en hemolinfa representados por un 25.9 y 28.4% respectivamente. Finalmente en la hemolinfa de hembras de *B. ferrugineus* el 16:0 era el ácido graso predominante con un 42% (palmítico).

En otro estudio sobre la dinámica lipídica durante el ciclo reproductivo en hembras de *Polybetes pythagoricus* (Aranae: Sparassidae) Romero *et al.* (2018), encontraron que los ácidos grasos predominantes en hemolinfa fueron oleico (18:1) con 32% en estado previtelogénico, seguido de dos ácidos grasos saturados como

el palmítico (16:0) y esteárico (18:0) con 25.6% y 20.5% respectivamente y linoleico (18:2) con 12.7%.

En el presente estudio independientemente del sexo, dieta y periodo se obtuvo un rango de 26.09 a 28.51% de ácido palmítico, 16.42 a 18.20% de ácido esteárico, 8.99 a 10.10% de ácido elaídico, 17.92 a 29.20% de ácido oleico y 6.21 a 11.70% de ácido linoleico como ácidos grasos predominantes. Estos resultados concuerdan con los estudios anteriormente citados, a excepción del ácido elaídico que probablemente esté relacionado con el alimento procesado que consumían las presas (mezcla de avena con trigo en el caso de las larvas de escarabajo *Z. morio* y croquetas para perro en el caso de las cucarachas *B. dubia*) ya que este ácido graso se encuentra principalmente en los alimentos procesados.

A pesar de que no se analizaron las dietas de las presas, para observar la transición de los ácidos grasos de alimento para presas → presa → hemolinfa de tarántulas, se puede suponer que este ácido graso sí llegue a circulación hemolinfática, ya que que los arácnidos de los trabajos mencionados anteriormente capturados de vida libre no lo presentaron, debido a que consumen presas del ambiente natural.

Se sabe por la literatura, que las diferentes dietas afectan la composición de los ácidos grasos en músculo y en hepatopáncreas de diferentes artrópodos (Kucharski y Da Silva 1991; Vinagre y Da Silva 1992; Carvalho *et al.*, 2012), por lo que sería probable que también la composición de ácidos grasos en hemolinfa varíe por el tipo de dieta.

Las UMA son una herramienta importante para la preservación de especies amenazadas o en peligro de extinción. Por lo tanto, es esencial que dichas Unidades posean estrategias que les permitan lograr este objetivo y el conocimiento sobre la nutrición y alimentación de los individuos son elementos importantes para establecer nuevas estrategias para su crianza en cautiverio. Al saber cuál es la mejor manera de alimentarlas y cubrir sus necesidades nutrimentales, se puede aumentar la esperanza de vida de los ejemplares al momento de ser reintroducidos a la vida libre. Bajo esta premisa se pretende que los resultados obtenidos en el presente estudio aporten información científica que contribuya al adecuado mantenimiento de tarántulas en cautiverio, en este caso de la tarántula mexicana *B. smithi*.

IX. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se llevó a cabo este estudio se concluye que, **en la etapa de vida de las tarántulas *B.smithi* considerada en este estudio (4 años de edad):**

- El aumento en el peso, no fue afectado por el sexo o la dieta, pero sí por la edad.
- El opistosoma se desarrolló más que el prosoma y este desarrollo no es afectado por el sexo o dieta.
- La relación opistosoma:prosoma fue mayor y cercana a lo ideal cuando los ejemplares son alimentados con Larvas del escarabajo *Z. morio*, que con cucarachas *B. dubia*.
- La cantidad de lípidos totales en la hemolinfa de las tarántulas que consumieron *Z. morio* fue mayor que en las que consumieron cucarachas *B.dubia*.
- El sexo no influye en el contenido de lípidos de la HL de las tarántulas, pero sí en la concentración de ácidos grasos, siendo mayor la concentración de ácido oleico (C18:1) en las hembras.
- La dieta influyó en el contenido de lípidos en la HL de las tarántulas *B. smithi*, siendo mayores en los ejemplares que consumieron larvas de escarabajo *Z. morio*.
- La dieta no influyó en el contenido de ácidos grasos predominantes, a excepción del ácido esteárico (18:0) que fue mayor en tarántulas que consumieron *Z. morio*.
- El rango de los ácidos grasos predominantes en la hemolinfa de las 80 tarántulas independientemente del sexo, dieta y periodo fue de: 26.09 a 28.51% de ácido palmítico, 16.42 a 18.20% de ácido esteárico, 8.99 a 10.10% de ácido elaídico, 17.92 a 29.20% de ácido oleico y 6.21 a 11.70% de ácido linoleico.

X. RECOMENDACIONES

Aunque aún está en debate, cuál es el tipo de métrica o análisis más adecuado para determinar la condición corporal y el estado nutricional de las arañas, se sugiere utilizar como parámetros el peso corporal de los ejemplares y la relación opistosoma:prosoma de las tarántulas *B. smithi* y no sólo la longitud del prosoma, legs span o peso como únicas métricas, por las razones antes expuestas, con el fin de una evaluación integral.

Por motivos de tiempo, en este estudio no se logró analizarla composición de ácidos grasos y lípidos totales del alimento consumido por las presas, ni de las presas mismas, sin embargo, para estudios futuros se recomienda realizarlo para tener un mejor panorama de la transición de estos en la cadena alimenticia (alimento de la presa → presa → hemolinfa de tarántula).

Se deben realizar estudios en más especies de arácnidos para confirmar la presencia de los ácidos grasos más predominantes que se han observado en diferentes estudios y probablemente se logre realizar una determinación de rangos de referencia.

Por otro lado, las hembras podrían beneficiarse durante la etapa subadulto y adulta de una dieta rica en lípidos, pues éstos son necesarios para la elaboración de los huevos dentro de los ovarios. Una dieta más rica en lípidos que en proteínas podría en cierta medida ayudar en la producción de huevos y quizá en su productividad, con esta hipótesis se podría dar pie a realizar estudios interesantes en el tema reproductivo. Cabe mencionar que como en todos los organismos, se sabe que los nutrientes, vitaminas y minerales son requeridos ya sea en menor o mayor concentración, por lo tanto es importante continuar con este tipo de estudios para ahondar en los requerimientos nutricionales adecuados ya que al evaluar el efecto de una sola dieta podría caer en la deficiencia o exceso nutricional; sin embargo, para fines de este trabajo de investigación utilizar específicamente dos tipos de presa proporcionó información valiosa para los objetivos propuestos.

XI. LITERATURA CITADA

- Al-Mohana, S.Y., Nott, J.A. (1986). B-Cells and digestion in the hepatopáncreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). Journal of the Marine Biology Association U.K. 66:403-414.
- Al-Mohana, S.Y., Nott, J.A., Lane, D.J.W. (1985). Mitotic E- and secretory F-cells in the hepatopáncreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). Journal of the Marine Biology Association U.K. 65:901-910.
- Arellanes, F. L. (2012). Live Foods/ Alimentos vivos (Part. VI). Recuperado de <http://herpeticself.blogspot.com/2012/10/live-foods-alimentos-vivos-part-vi.html>
- Arrese, E.L., Gazard, J.L., Flowers, M.T., Soulages, J.L., Wells, M.A. (2001). Diacylglycerol transport in the insect fat body: evidence of involvement of lipids droplets and the cytosolic fraction. Journal of Lipid Research 42: 225-234.
- Atella, G. C., Gondim, C. y Masuda, H. (1995). Loading of lipophorin particles with phospholipids at the midgut of *Rhodnius prolixus*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 30, 337-350.
- Barbosa, V., Kimm, N., Lehmann, R. (2007). A maternal screen for genes regulating *Drosophila* oocyte polarity uncovers new steps in meiotic progression. Genetics 176(4): 1967-1977.
- Baumann, T., Kuhn-Nentwig, L., Largiader, C.R., Nentwig, W. (2010). Expression of defensins in non-infected Araneomorph spiders. Cellular and Molecular Life Sciences 67:2643-2651.
- Beenackers, A. M., Van der Horst D. J. and Van Marrewijk W. J. A. (1985) Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. Progress Lipid Research 24: 1947.
- Blacklock, B.J., Ryan, R.O. (1994). Hemolymph lipid transport. Insect Biochemistry and Molecular Biology 24: 855-873.
- Breene, R. G. (1995). Common Names of Arachnids. South Padre Island, Texas: American Tarantula Society, Publisher.
- BWPM (2014). Códigos de Barras de la Vida Silvestre México. Recuperado de <http://bwp-mex.blogspot.mx/>.

- Capilla, R. (2018). Adopta y salva una tarantula Mexicana. Agencia Informativa Conacyt. Recuperado de <http://www.conacytprensa.mx/index.php/ciencia/mundo-vivo/21048-adopta-salva-tarantula-mexicana>.
- Carvalho, M., Sampaio, J.L., Palm, W., Brankatschk, M., Eaton, S. and Shevchenko, A. Effects of diet and development on the *Drosophila lipidome*. *Molecular Systems Biology*. 600 (8), 1-17.
- CITES. Base de datos de especies de la CITES, Apéndice II, Junio 2013, último acceso 2014. Recuperado de <http://www.cites.org/esp/app/appendices.php>
- Cunningham, M., González, A., Pollero, R.J. (2000). Characterization of lipoproteins isolated from hemolymph of the spider *Latrodectus mirabilis*. *Journal of Arachnology* 28-49-55.
- Cunningham, M., Pollero, R.J. (1996). Characterization of lipoprotein fractions with high content of hemocyanin in the hemolymphatic plasma of *Polybetes pythagoricus*. *Journal of Experimental Zoology* 274: 275-280.
- Cunningham, M., Pollero, R.J., González, A. (1994). Lipid circulation in spiders. Transport of phospholipids, free acids and tryacylglycerols as the major lipid classes by a high-density lipoprotein fraction isolated from plasma of *Polybetes pythagoricus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 109:333-338.
- Chang, E.S., ÓConnor, J.M. (1983). Metabolism and transport of carbohydrates and lipid. In: Mantel, L.H. (Ed.). *The Biology of Crustacea*. Academic Press, New York, pp. 263-278.
- Dickinson, B. (2002). International conservation treaties, poverty and development: the case of CITES. *Natural Resource Perspectives* 74, 1 – 4.
- Finke, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biol* 21: 286-293.
- Foelix, R.F. (1996). Metabolism. In: Foelix, R.F. (Ed.). *Biology of Spiders*. Harvard University Press, London, pp. 38-67.
- Foelix, F. R. (2011). *Biology of spiders*. USA, New York: Oxford University Press.
- Folch, J., Lees, M., and Sloane Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation 635 and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226(1): 497-509.

- García, G. (2014). Status de poblaciones en vida libre en el mundo, Mercado ilegal y acciones de conservación. Recuperado de <http://www.tarantulasdemexico.com/statuspoblacion.htm>.
- García, F., González Baró, M.R., Pollero, R.J. (2002). Transfers of lipids between hemolymph and hepatopancreas in the shrimp *Macrobrachium borelli*. *Lipids* 37:581-585.
- González Baro, M.R., Irazú, C.E., Pollero, R.J. (1990). Palmytoil-CoA ligase activity in hepatopancreas and gill microsomes of the freshwater shrimp *Macrobrachium borelli*. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 97:129-133.
- González Baro, M.R., Pollero, R.J. ((1988). Lipid characterization and distribution among tissues of the freshwater crustacean *Macrobrachium borelli* during an annual cycle. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 91: 711-715.
- González Baro, M.R., Pollero, R.J. (1993). Palmitic acid metabolism in hepatopancreas of the freshwater crustacean *Macrobrachium borelli* during an annual cycle. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 106: 71-75.
- Green, A. J. (2001). Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology* 82 (5), 1473–1483.
- Gutiérrez, C (2013) Figura 5. Recuperado de <http://mundoaranas.blogspot.mx/2013/02/las-aranas.html>
- Hauerland, N.H., Boers, W.S. (1987). Lipoproteins in the hemolymph of the tarantula *Eurypelma californicum*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*: 86:571-574.
- Hénaut, Yann., Dor, Ariane. (2012). Silk use and spiderling behavior in the tarantula *Brachypelma vagans* (Araneae: Theraphosidae). *Acta Zoológica Mexicana*, 28 (1) : 1 – 12.
- Ibler, B., Michalik P., Fischer K. (2013). “Factors affecting lifespan in bird-eating spiders (Arachnida: Mygalomorphae, Theraphosidae) – A multi-species approach. *Zoologischer Anzeiger* 253 (2), 126- 136. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/258352730>
- Jakob, E. M., Marshall, S. D. and Uetz, G. W. (1996). Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos* 77 (1), 61–67.

- Jensen, K., Mayntz, D., Wang, T., Simpson, S. J. and Overgaard, J. (2010). Metabolic consequences of feeding and fasting on nutritionally different diets in the wolf spider *Pardosa prativaga*. *J. Insect Physiol.* 56 (9), 1095–1100
- Kotiaho, J. (1999). Estimating fitness: comparison of body condition indices revisited. *Oikos* 87 (2), 399–400.
- Kucharski, L. C. R., and Da Silva R. S. M. (1991). Effect of diet composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). *Comparative Biochemistry and Physiology.* 1 (2), pp 215 – 218.
- Laino, A., Cunningham, M.L., García, F., Heras, H. (2009). First insight into the lipid uptake, storage and mobilization in arachnids: Role of midgut diverticula and lipoproteins. *Journal of Insect Physiology* 55:1118-1124.
- Laino, A., Cunningham, M., Heras, H. and García, F. (2011) *In Vitro* lipid transfer between lipoproteins and midgut diverticula in the spider *Polybetes pythagoricus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 160, 181-186.
- Laino, A. (2011). Bioquímica y fisiología de lipoproteínas en arácnidos (Tesis doctoral). Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.
- Laino, A., Cunningham, M., Suárez, G., García, C.F. (2015a). Identification and Characterization of the Lipid Transport System in the Tarantula *Grammontola rosea*. *Open Journal of Animal Sciences*, 5, pp 9 – 20.
- Laino, A., Mattoni, C., Ojanguren-Affilastro, A., Cunningham, M., García, C. F. (2015). Analysis of lipid and fatty acid composition of three species of scorpions with relation to different organs. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B.* 109, pp 27 – 36.
- Lee, R.F., Puppione, D.L. (1978). Serum lipoproteins in the spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 59:239-243.
- Locht, A., Yañez, M., Vazquez, I. (1999). Distribution and natural history of Mexican species of *Brachypelma* and *Brachypelmides* (Theraphosidae, Thjeraphosinae) with morphological evidence for their synonymy. *The Journal of Arachnology* 27:196-200.

- Maelfait, J. P., Hendrickx F. (1997). Spiders as bio-indicators of anthropogenic stress in natural and semi-natural habitats in Flanders (Belgium): some recent developments. Proceedings of the 17th European Colloquium of Arachnology, Edingburgh.
- McLeod, L. (2019). Tarantulas as Pets. Recuperado de <http://www.thesprucepets.com/pet-tarantulas-1237346>.
- Marshall, S. D. (1996). Old dog learns new trick. Forum of the American Tarantula Society. 5: pp. 114 – 116.
- Mendoza, J. y Francke O. (2017) Systematic revisión of *Brachypelma* red-kneed tarantulas (Araneae : Theraphosidae), and the use of DNA barcodes to assist in the identification and conservation of CITES-listed species. Csiro Publishing, 31, 157-179.
- Mendoza, J. (2009). La ciencia de las tarántulas: Anatomía y Fisiología. En: Memorias del 2° Curso de manejo de tarántulas y escorpiones en cautiverio (Teórico – Práctico). pp. 16 - 21.
- Morrison, W.R., and Smith, L.M. (1992). “Preparation of fatty acid methyl esters and 693 dimethylacetals from lipid with boron fluoride-methanol. J. Lipid Res. 5: 600-608.
- Moya-Laraño, J., Macías-Ordóñez, R., Blackenhorn, W. U. and Fernández Montraveta, C. (2008). Analysing body condition: mass, volume or density? J. Anim. The journal of animal ecology. 77 (6), 1099–1108.
- Padilla, M, Colley M. A. y Reading R. P. (2018). “Growth rates of laboratory reared Honduran Curly Hair tarantulas (*Brachypelma albopilosum*) in response to power feeding. Arachnology 17 (7), 328-330.
- Pereira, L. S., Silva, P. I. Jr, Miranda, M. T., Almeida I. C., Naoki, H., Konno, K., Daffre, S. (2007). Structural and biological characterization of one antibacterial acylpolyamine isolated from the hemocytes of the spider *Acanthocurria gomesiana*. Biochem Biophys Res Commun 352: 953-959.
- Platnick N.I. (2014). The World Spider Catalog, Version. 14.5 American Museum of Natural History. Último acceso 2014. Recuperado de https://research.amnh.org/iz/spiders/catalog_15.0/COUNTS.html
- PNUMA-CMCM (2016), “Base de datos sobre el comercio CITES” [banco de información sobre el comercio de especies incluidas en la CITES integrado y

- administrado en nombre de la Secretaría de la CITES por el PNUMA-CMCM], Centro de Monitoreo de la Conservación Mundial del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, Recuperado de: http://trade.cites.org/es/cites_trade.
- PROFEPA (2009). “La Vida Silvestre y su Protección Legal” (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales: México).
- Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- Lista de especies en riesgo NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Diario Oficial de la Federación Jueves 30 de diciembre de 2010, Segunda sección, pp. 1 – 78. Recuperado de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5173091&fecha=30/12/2010.
- Reichling, S. B. (2003) Tarantulas of Belize. Malabar, Florida: Krieger Publishing Company pp 127.
- Rojo, R. (2004). Las tarántulas de México: pequeños gigantes incomprendidos Biodiversitas. CONABIO 56: pp. 7 – 11
- Romero, S., Laino, A., Arrighetti, F., Cunningham, M., and García, C. F. First study on lipid dynamics during the female reproductive cycle of *Polybetes pythagoticus* (Araneae: Sparassidae).
- SEMARNAT, (2009). Manejo de vida Silvestre. Manual técnico para beneficiarios. Recuperado de <https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/manejo-de-vida-silvestre.pdf>.
- Schulte-Hostedde, A. I., Zinner, B., Millar, J. S. and Hickling, G. J. (2005). Restitution of mass-size residuals: validating body condition indices. Ecology 86 (1), 155–163.
- Schartau, W., Leidescher, T. (1983). Composition of the hemolymph of the tarantula *Eurypelma californicum*. Journal Comparative Physiology 152:73-77.
- Schulte-Hostedde, A. I., Zinner, B., Millar, J. S. and Hickling, G. J. (2005). Restitution of mass-size residuals: validating body condition indices. Ecology 86 (1), 155–163.
- Schultz, S. A., and Schultz, M. J. (2009). “The Tarantula Keepers Guide”. New York: Barron’s Educational Series

- Silva, P. I. Jr., Daffre, S., Bulet, P. (2000). Isolation and characterization of gomesin, an 18-residue cysteine-rich defense peptide from the spider *Acanthoscurria gomesiana* hemocytes with sequence similarities to horseshoe crab antimicrobial peptides of the tachyplesin family, *J Biol Chem* 275: 33464-33470.
- Smith, A.M. (1994). Theraphosid spiders of the new world. Vol. 2. Tarantulas of the USA and Mexico. Fitzgerald Publ., London. 196 p.
- Soulages, J.L., Wells, M.A. (1994). Lipophorin: the structure of an insect lipoprotein and its role in lipid transport in insects. *Advances in Protein Chemistry* 45: 371-415.
- Stevenson, R. D. and Woods, W. A. Jr. (2006). Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. *Integrative and Comparative Biology* 46 (6), 1169–1190.
- Stratakis, E., Fragkiadakis, G., Tentes, I. (1993). Purification and properties of the fatty acid-binding VHDL from the hemolymph of the spider *Eurypelma californicum*. *Journal of Experimental Zoology* 267: 483-492.
- Tesmoingt, M., Cleton, F., Verdez, J.M. (1997a). Description de *Brachypelma annitha* n. sp. et de *Brachypelma hamorii* n. sp. males et femelles, nouvelles especes proches de *Brachypelma smithi* (Cambridge 1897) du Mexique. *Arachnides* 32:8-20.
- Tesmoingt, M., Cleton, F., Verdez, J.M. (1997b). Description de *Brachypelma annitha* n. sp. et de *Brachypelma hamorii* n. sp. males et femelles, nouvelles especes proches de *Brachypelma smithi* (Cambridge 1897) du Mexique. 2eme partie. *Arachnides* 33:2-10.
- Trabalon, M. and Blais C. (2012). “Juvenile Development, Ecdysteroids and Hemolymph Level of Metabolites in the Spider *Brachypelma albopilosum* (Theraphosidae). *Journal of Experimental Zoology* 00, 1-12.
- Vrabec, V., Kulma, M., Cocan, D. (2015). Insects as an Alternative Protein Source for Animal Feeding: A Short Review about Chemical Composition. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies* 72 (2), 117 – 125. Recuperado de <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/zootehnie/article/viewFile/11656/9456>

- West, R. C. (2005). The *Brachypelma* of Mexico. *Journal of the British Tarantula Society*. 20 (4): pp. 108-119.
- Wilder, S. M., (2011). Spider Nutrition: An Integrative Perspective. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/232028040_Spider_Nutrition_An_Integrative_Perspective.

ANEXO 1: Método de obtención de lípidos totales (Método de Folch et al.1957)

Para la obtención de lípidos totales en la HL se realizó la extracción de los lípidos con una mezcla de cloroformo: metanol (2:1 v/v), la cual se adicionó a las muestras de HL, a razón de 5:1 v/v. Es decir, a 0.2 mL de HL se le agregó 1 mL de la mezcla cloroformo:metanol. El procedimiento completo se presenta en el Anexo 1.

Se agitó la muestra con la mezcla de solventes en un agitador de vórtice durante 1 minuto y se almacenó a 4° C, durante una hora. Posteriormente se filtró con papel filtro número 41, se realizaron dos lavados con 3 mL de la mezcla de solventes.

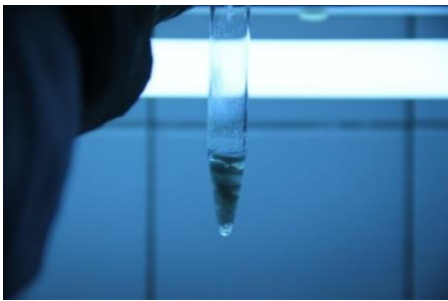


Figura 14. Hemolinfa con cloroformo: metanol (2:1 v/v)



Figura 15. Hemolinfa almacenada a 4°C

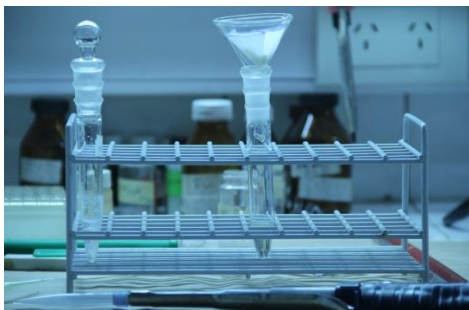


Figura 16. Filtrado de la muestra de hemolinfa

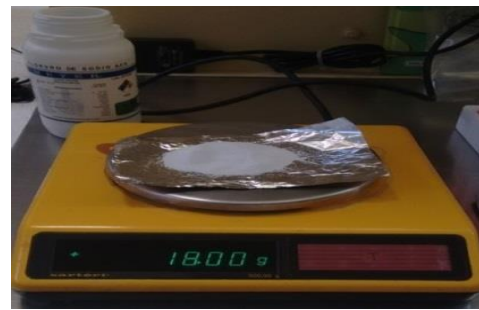


Figura 17. Pesaje de 18 g de NaCl

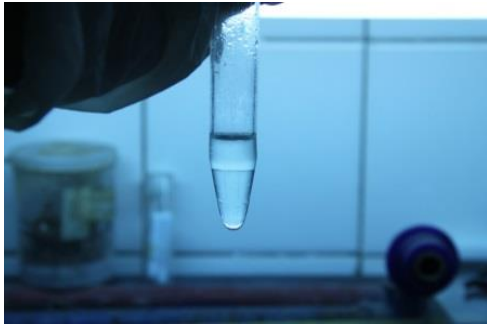


Figura 18. Fase superior (metanol acuosa) y fase inferior (clorofórmica) que contiene el extracto lipídico



Figura 19. Evaporación de la fase clorofórmica con corriente de Nitrógeno

Al volumen obtenido se le agregó 20% de su volumen de una solución de NaCl (18 g/L en agua destilada), es decir, a un volumen filtrado de 0.5 mL se le agregó 0.1 mL de la solución de NaCl (18 g/L). Se mezcló en un agitador de vórtice durante 1 minuto y se dejó sedimentar a 4° C toda la noche, para permitir la separación de las fases: una superior (metanol-acuosa) y una inferior (clorofórmica), que contiene el extracto lipídico.

La fase superior se desechó y la fase inferior fue sometida a dos lavados con la solución de NaCl (18 g/L). Se mezcló en un agitador de vórtice durante 1 minuto y se centrifugó a 1800 rpm por 10 minutos, repitiendo el mismo procedimiento una vez más.

La fase clorofórmica de cada muestra se evaporó a sequedad con corriente de N₂, colocando los tubos en un bloque de calentamiento a 35 – 40 °C, para posteriormente reconstituir con 0.4 mL de cloroformo: metanol (2:1 v/v). De estos se tomó una alícuota de 0.2 mL, la cual se vertió en tubos de vidrio y se evaporó a sequedad con corriente de N₂. Se dejaron enfriar los tubos 30 minutos y enseguida fueron pesados en la balanza para obtener el peso con los lípidos totales. Para obtener la cantidad de lípidos totales (LT) y expresarla en gramos (g) se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%LT = \text{peso del tubo vacío (g)} - \text{peso del tubo con lípidos totales (g)}$$

ANEXO 2: Método de obtención de ácidos grasos (Morrison et al 1992)

Saponificación de los lípidos

A los extractos lípidicos se les agregó 0.1 mL de ácido miristoleico como estándar interno. Se agregaron 2 mL de una solución de KOH (Hidróxido de Potasio) al 10% p/v en metanol (para eliminar el colesterol y otros lípidos insaponificables cuya presencia interfiere con el método de análisis de los ácidos grasos). Se gasearon los tubos con N₂ para evitar oxidaciones y se colocaron en un bloque de calentamiento eléctrico a 80°C durante 1 hora. Se dejaron enfriar los tubos durante 15 minutos para evitar la formación de emulsiones.

Se agregó 1 mL de H₂O destilada y 2 mL de hexano. Se gasearon los tubos con N₂, se mezclaron en un agitador de vórtice durante 1 minuto y se dejaron separar fases, las cuales fueron perceptibles después de 3 a 5 segundos. En la fase superior quedó el hexano con los lípidos insaponificables y en la fase inferior quedaron los jabones potásicos de los ácidos grasos.

Se eliminó la fase superior orgánica (insaponificable) y sobre ésta se realizaron 2 lavados más con 2 mL de hexano, mezclando en un agitador de vórtice durante 1 minuto y finalmente desechando la fase superior en las dos ocasiones.

Los jabones potásicos de los ácidos grasos son acidificados con 0.5 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado, proceso que libera los ácidos grasos. Los ácidos grasos se extrajeron con 2 mL de hexano, se gasearon los tubos con N₂, se mezclaron en un agitador de vórtice y se separaron fases.

La fase superior orgánica tiene los ácidos grasos y la fase inferior tiene las sales de Cloruro de Potasio (KCl). Se trasvasó la fase superior orgánica que contiene los ácidos grasos, a un segundo tubo limpio y con tapa que permitiera el cierre adecuado. Se repitió el lavado con hexano una vez más.

Finalmente se obtuvo la fase orgánica superior de cada una de las muestras, la cual se evaporó a sequedad con corriente de N₂, colocando los tubos dentro de un bloque de calentamiento a 35 - 40 °C, bajo campana.

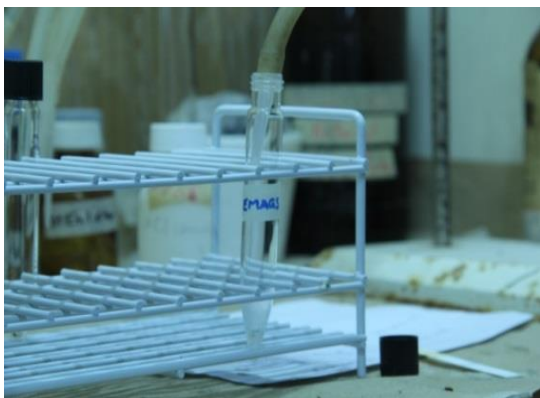


Figura 20. Evaporación con corriente de Nitrógeno



Figura 21. Bloque de calentamiento a 80°C

Esterificación de los ácidos grasos

Una vez que se evaporaron todas las muestras se añadieron 1.5 mL de Trifluoruro de Boro (TFB). Fue importante verificar que la tapa cerrara correctamente, que no se hundiera demasiado ni que quedara hacia afuera, esto para que al calentar en el bloque de calentamiento no se evaporara el metanol).

Se gasearon los tubos con N_2 y se mezcló en un agitador de vórtice durante 1 minuto. Se colocaron las muestras en un bloque de calentamiento durante 45 minutos a 80° C (se mezcló ocasionalmente y se vigilo que no se perdiera muestra). Este procedimiento transforma los ácidos grasos en sus derivados más volátiles, los ésteres metílicos de ácidos grasos, condición necesaria para su posterior análisis por cromatografía gaseosa. Se enfriaron los tubos durante 15 minutos.

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (EMAG) finalmente se extrajeron utilizando 1 mL de hexano y 2 mL de agua destilada. Se gasearon los tubos con N_2 y se mezclaron en un agitador de vórtice durante 1 minuto. Se permitió la separación de fases las cuales fueron perceptibles después de 3 a 5 segundos. En la fase superior estaban los EMAG.

En los casos en los que una interfase (una línea entre las dos fases) estaba presente, se tenía cuidado de no tocarla al extraer la fase superior, para evitar contaminaciones.

La fase orgánica (superior) se trasvaso a otro tubo con tapa de teflón. Se lavó dos veces, la fase acuosa (inferior) con 1 mL de hexano, y se incorporó la fase orgánica (superior) al tubo antes mencionado.

Se evaporó la fase orgánica con corriente de N₂ a sequedad, colocando los tubos en un bloque de calentamiento a 35 - 40°C. Se reconstituyeron los EMAG, con 0.3 mL de hexano para verterlos en viales de inyección para leerlos en un cromatógrafo de gases Varian 3888.