



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

Camuflaje: influencia de luz reflejada y emitida en el cambio de coloración del camarón críptico *Tozeuma carolinense* (Decapoda: Hippolytidae)

Tesis que para obtener el título de
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:
YUNUEN REYES CASTRO

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. NATALIA SOLEDAD CALVO



ENERO 2016

Para todos aquellos que desde sus trincheras se unieron a este sueño,
lo hicieron suyo, sin saber si tendría sentido alguno,
solo lo hicieron por verme feliz.
Esto es por ustedes y por mí, por hacer
este sueño realidad.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT (CONACyTCB-2012-01-177293) por el financiamiento y el apoyo de la beca para realizar esta tesis de licenciatura.

La Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación-Sisal, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México y a la Escuela de Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Dra. Natalia Soledad Calvo, quien fungió como directora de este trabajo. Dra. Maite Mascaró por la contribución en los análisis estadísticos. También agradezco a la M. en C. Gemma Leticia Martínez Moreno y al Dr. Nuno Simões, quienes fungieron como asesores de este trabajo.

M. en C. Lluvia Korynthia López Aguiar por la ayuda y apoyo técnico en el laboratorio de Química.

M. en C. Karla Susana Escalante Herrera Técnico Académico y a la Bióloga Marina Elisa Yajaira Chan Vivas Técnico Auxiliar, ambas del Laboratorio Central 1 "Bioquímica, inmunología y Biología Molecular" por las facilidades de uso de material y apoyo técnico.

A M. En C. Iveth Gabriela Palomino Allvarran Técnico Responsable y al Tec. Agroprecuario Patricia Margarita Balam Uc Técnico Auxiliar del Área de Producción de Alimento Vivo por la proporción del alimento a lo largo de este trabajo.

A Fernando Esteban Mex Esquivel, Oficial de transporte especializado de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación-Sisal, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

DEDICATORIA

"Cuando nuestros sueños se han cumplido es cuando comprendemos la riqueza de nuestra imaginación y la pobreza de la realidad".

Ninon de Lenclos.

Cuando nacemos no tenemos la menor idea de a donde llegaremos, que haremos o en que nos convertiremos, ese camino que al principio es incierto, se forja a base de la educación que desde temprana edad se nos otorga y de la experiencia que a lo largo de la vida vamos adquiriendo de nuestros aciertos y fracasos. Agradezco a mi familia que a pesar de todo siempre me dieron su apoyo incondicional.

A mi papá quien sacrifico vernos los primeros años de vida por darnos un mejor futuro, siempre me regala historias sobre su vida que sirven de inspiración para vivir la mía y de enseñarme el valor de buscar la información (siempre me dijo "agarra ese libro y busca, léelo, entiéndelo y si hay algo que no entiendes, entonces ya me dices"). A mi mamá que a pesar de atender los labores del hogar se dio tiempo de revisar las tareas y de exigir de mi siempre lo máximo, a sacar lo mejor de mi, mi hermana mi compañera eterna y por último pero no menos importante, a mi Fulanita, el integrante que le pone chispa a nuestra familia. Se que me quedo corta con tanto que han hecho por mi, no tengo como agradecerles y regresarles lo mucho que me dan, aun que nuestra familia es chiquita, con ustedes me basta para ser feliz, LOS AMO!

“Nuestra amistad no depende de cosas como el espacio y el tiempo”.

Richard Bach.

A medida que avanzamos en el sendero nos encontramos con personas que aportan pero que desgraciadamente no se quedan, y existen otras que permanecen y hacen el camino más llevadero, a ellos yo los llamo mejores amigos. En la escuela de Biología conocí a personas maravillosas, con personalidades y sueños distintos, Susi, Dana, Nan, Paula, Odalia, Dany, Clau, Lore, la estancia no hubiera sido tan divertida sin ustedes, me llevo un pedacito de cada uno, esperando seguir cultivando esta bonita amistad por muchos años más. No pienses que me olvide de ti Robert, a ti te re-encontre en esta etapa, tú también eres uno de mis mejores amigos, pero además eres mi compañero de aventuras, mi cómplice de conspiración, hiciste de mis sueños tus sueños, me tomaste de la mano y a pesar de lo difícil que de pronto llego a ser te quedaste a mi lado, me alentaste a seguir, se que es difícil entender mi mundo pero agradezco que, a pesar de ser tan diferente al tuyo, te tomas el tiempo de entenderlo y además de complementarlo, eres en muchas cosas opuesto a mi, en otras cuantas similar, pero es en esas diferencias en que radica la fuerza de esta unión, con la mano en el corazón deseo que me acompañes muchos años más y poder regresarte mucho de lo que has hecho por mi, JE T'AIME.

Cuando llega ese momento en el que debemos salir del confort del hogar para luchar por nuestros sueños, se tiene la incertidumbre de saber con que nos encontraremos y a que nos enfrentaremos. Cuando comenzó el 2015 nunca imagine que los siguientes 6 meses estarían llenos de un crecimiento personal tan grande. Encontré una familia en ese pequeño puerto llamado Sisal; José Moo, Fany, Ramón, Eva y Arturo, y vecinos que compartieron agradables y graciosas platicas en esas tardes tomando el fresco o cenando fuera de casa, Doña Rita y Doña Lucy, gracias por hacerme parte de su vida, ustedes ya forman parte de la mía, jamás se olviden de mi, que yo tampoco lo haré.

“No hay secretos para el éxito. Éste se alcanza preparándose, trabajando arduamente y aprendiendo del fracaso”.

Colin Powell.

Me topé con lugareños que me inspiraron a ser más dedicada y entregada a cualquier cosa que hiciera, Fatima, Chuc, Paty y Mex, son excelentes en lo que hacen, no cambien por que son modelos para estudiantes que los conocen o de aquellos que están a punto de conocerlos.

Cuando uno acepta el reto de ser un chico PIECEMO no sabe el gran compromiso que hace, no solo con los integrantes del grupo, también con los organismos habitantes del iglú. Coordinados por Gemma, Maite y Nuno las cosas en este equipo funcionan como un reloj suizo. En el momento en que esta tesis comenzó a tomar forma, las dudas y problemas se hicieron presentes y cada vez eran más difíciles, Kary... Gemma... Naty... Giulia... sin su experiencia, su temple, paciencia y amistad es muy probable que hubiera cedido a la presión, tampoco quiero dejar de mencionar a Yas, Artur, Tonali, Robert, Sarai y Antar, compartir las salidas de campo y la experiencia PIECEMO con ustedes fue un privilegio.

Casi al término, el tiempo transcurría más rápido, estaba más cerca la fecha de regreso a casa y parecía imposible terminar el trabajo, Paulo, en esas fechas llegaste y sin importar la gran cantidad de labores que tenía que hacer, te ofreciste a ayudarme, sin ti no hubiera sido posible terminar en tiempo y forma, muchas gracias.

“El maestro mediocre cuenta. El maestro corriente explica. El maestro bueno demuestra. El maestro excelente inspira”.

William A. Ward.

No quiero terminar esta dedicatoria sin agradecer a todas esas fuentes de inspiración que encontré en la escuela, mi reconocimiento a los maestros que sembraron en mi una pequeña semilla de el gran y vasto mundo de la biología. A mi tutor académico, M. C. Ubaldo Quiroz López que siempre estuvo al pendiente de mi desde el primer minuto que estuve en esta escuela, y aun me pregunta por mis metas a futuro, su dinámica de clase es excelente. A la M. C. Montserrat Vázquez Balbuena, Dra. Berenice Silva Gómez, Biol. María Rosete Enríquez, M. C. Dalia Molina Romero, M. C. María Guadalupe Gutiérrez Mayen, Dra. María Eugenia Pérez Bonilla, Dra. Rosalina Reyes Luna, M.C. María del Carmen Navarro Carbajal, Dra. Hortensia Carrillo Ruiz; a todas ustedes les reconozco que en su vocabulario no existe la palabra no se puede, quiero que sepan que al principio fue difícil seguir el ritmo de trabajo de cada una, sin embargo fue un reto que con disciplina y esfuerzo logre superar. Por favor no se rindan por la apatía o desinterés, seguro entre todos esos estudiantes despierten (como en algún momento lo hicieron conmigo), ese entusiasmo por ser mejor cada día. Ahora entiendo su *modus operandi*, gracias a cada uno de ustedes sé que soy capaz de dar el 100% y más. A Erika coordinadora del servicio social, Ariadne, Kary y Ale secretarias de la escuela, personas encantadoras que a pesar de atender mil cosas, me brindaron un poco de su tiempo para realizar diversos tramites. De todo corazón, MUCHAS GRACIAS!.

A todos los ya mencionados en esta larga dedicatoria, con el corazón en la mano y la emoción a flor de piel, quiero hacerles llegar el más grande reconocimiento, se que soportar a alguien como yo es desgastante pero ahí estuvieron, cada uno de ustedes es parte de este rompecabezas que estoy armando, han dejado una huella indeleble que marca de manera significativa el resto de mi vida. Gracias infinitas. Atentamente Yun.

INDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVO GENERAL	9
Objetivos particulares	9
HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	10
MATERIALES Y METODOS	11
Sitios de colecta	12
Método de captura	13
Mantenimiento de los organismos experimentales	14
Diseño experimental	15
Efecto de la luz reflejada (color del sustrato)	16
Efecto de la luz emitida (efecto color de la malla)	19
Extracción y cuantificación de astaxantina	20
Análisis estadístico	21
RESULTADOS	23
Efecto de la luz reflejada (color del sustrato)	23
Efecto de la luz emitida (color de la malla)	26
Extracción y cuantificación de astaxantina	29
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFIA	35
ANEXO	41
Técnica de extracción de astaxantina	41
Chi-cuadrada de tres dimensiones	42
Chi cuadrada tridimensional del Efecto de la luz reflejada	43
Chi cuadrada tridimensional del Efecto de la luz emitida	44

RESUMEN

El camuflaje es el mecanismo que permite a los organismos hacerse menos visibles para sus depredadores. A pesar de la abundancia del camarón flecha *Tozeuma carolinense* en las praderas de pastos marinos, esta especie está sub-representada en las dietas de sus depredadores. Se han descrito cuatro morfotipos de *T. carolinense*, negro, marrón, rojo y verde, que coinciden con los colores del sustrato en su ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la luz reflejada (color de sustrato verde y marrón) y luz emitida (color de luz verde y marrón) sobre el morfotipo del camarón. Se colectaron individuos en las praderas de pastos marinos de la laguna arrecifal de Mahahual, Quintana Roo y en la desembocadura de la Ría de Celetún, Yucatán. Se realizaron dos experimentos con una duración de 10 días. En el experimento 1 se expusieron a 24 individuos de *T. carolinense* (largo total (LT: 31.7 ± 3.9 mm) a tratamientos con diferente color de luz reflejada (imitación de pasto verde y marrón; n=12) utilizando luz emitida blanca. En el experimento 2 se expusieron a otros 24 individuos (LT: 38.9 ± 2.8 mm) a tratamientos con diferente color de luz emitida (lámpara con filtro verde y marrón; n=12) y color de sustrato blanco. Los resultados del experimento 1 mostraron que los camarones expuestos a una luz reflejada de color distinto a su coloración cambiaron al morfotipo similar a la luz reflejada ($\chi^2= 5.7$; $p < 0.01$). El experimento 2 mostró no solo que la luz emitida no afecta al morfotipo de los camarones ($\chi^2=0.13$; $p>0.76$) si no que además los camarones viraron su coloración similar a la del sustrato: morfotipo blanco. La evidencia nos permite concluir que *T. carolinense* cambia de morfotipo con la luz reflejada que el organismo percibe de su entorno.

Palabras clave: *Tozeuma carolinense*, luz reflejada, luz emitida, cambio de coloración.

INTRODUCCIÓN

El camuflaje es una adaptación reportada tanto para especies terrestres como marinas (Maciá y Robinson, 2009) y se define como el mecanismo por el cual un organismo se confunde con la forma o color de su entorno disminuyendo la posibilidad de ser “visto” por su presa o predador. El termino camuflaje incluye todas las formas de ocultamiento, tanto aquellas estrategias que evitan detección de un organismo (cripsis) como el reconocimiento (mimetismo). Así mismo, cripsis abarca el contra-sombreado, coloración disruptiva y similitud con el fondo según Stevens y Merilaita (2009).

Entre los invertebrados marinos de aguas poco profundas existen ejemplos de mimetismo (enmascaramiento). Tal es el caso del camarón carídeo *Gnathophylloides mineri*, que además de presentar una coloración parecida a las espinas de su huésped equinoideo *Tripneustes ventricosus*, permanece perpendicular a las espinas aferrado con sus apéndices (Maciá y Robinson, 2009). En las praderas de pasto, dos especies de camarones *Latreutes fucorum* e *Hippolyte coeruleascens* morfológicamente imitan diferentes componentes estructurales del alga *Sargasum natans* aferrándose a las estructuras imitadas (Hacker y Madin, 1991).

La tecnica del contra-sombreado a sido descrita en crustaceos bioluminicentes como *Euphasia superba*, *Oplophorus spinosus* y *Systellaspis debilis*, estos organismos cuentan con estructuras llamadas foforos que les permiten mejorar su camuflaje, este complejo celular emiten toda su luz hacia abajo y hace que su silueta sea borrosa (Nowel, Shelton y Herring, 1998; Grinnell et al., 1988).

Merilaita (1998) mostro que el morfotipo de manchas blancas, conocido como *albafusca* del isopodo *Idotea baltica*, es un ejemplo de coloracion disrruptiva ya que estas manchas tocan los bordes del cuerpo del animal haciendo confuso identificar donde empieza y termina su verdadera forma. Numerosas especies poseen marcas o manchas que le permiten camuflarse reduciendo el riesgo de ser detectados por los depredadores que cazan visualmente, sin embargo, la mayoría de los animales experimentan una amplia variedad de fondos y no todos pueden

cambiar su apariencia externa para que coincida con cada uno de manera selectiva (Houston, Stevens y Cuthill, 2007). Un ejemplo de crípsis por similitud con el fondo podría ser el comportamiento de decorar el caparazón en los cangrejos que consiste en combinar el uso de especies de algas que poseen defensas químicas, así como los recursos alimenticios de algas para ser consumido posteriormente (Cournoyer y Cohen, 2011). También el cangrejo *Microphrys bicornutus* logra la crípsis cubriendo su caparazón con flora y fauna locales (Wicksten, 1993; Getty y Hazlett, 1978). A lo largo de la costa central de Chile varias especies de cangrejos muestran colores crípticos, un atributo particularmente visible en los juveniles de la especie *Paraxanthus barbiger*, los morfotipos son muy similares a los patrones de la arena de su entorno, Manríquez (et al., 2008) demostro que los organismos colocado en fondos con dibujos en forma de cangrejo tenían una mayor sobrevivencia en comparación con los cangrejos colocados en fondos desnudos ya que no muestran cambio de coloración.

En todos los aspectos de su biología, los crustáceos exhiben gran variación. Esta gran diversidad es reflejo de las demandas ecológicas, diferentes hábitos y hábitats. Algunos camarones carídeos poseen la cualidad de cambiar de color que les permite mantenerse ocultos (Bauer, 2014). Stevens, Rong y Todd (2013) han demostrado que *Hippolyte varians* es un crustáceo críptico que puede cambiar de color con respecto a diferentes tipos de sustrato durante un período de días a semanas.

Los cambios de color juegan un papel significativo en el camuflaje, la señalización intra e inter-específica, la protección contra la radiación ultravioleta y la regulación térmica (Auerswald et al., 2008, Ribeiro y McNamara, 2007).

El cambio del color en carídeos como en otros crustáceos se clasifica según su velocidad en dos categorías: fisiológico (rápido, en minutos u horas) y morfológicos (gradual, en días o semanas). El cambio fisiológico o rápido se debe a la relajación y contracción de los pigmentos dentro de los cromatóforos que pueden encontrarse en la hipodermis o cubriendo los órganos, se asocian en grupos de dos o más formando cromatosomas (Bauer, 2004). Este cambio puede tener lugar a lo largo del día, la pérdida de color de noche es común en varias especies, ocurre rápidamente y se revierte igual de rápido, como la especie *Macrobrachium tenellum* que tiene la capacidad de cambiar de coloración en función de la intensidad de luz ambiental, (Vega Villasante et al., 2015). Por otro lado, el cambio morfológico o gradual es una alteración en el tipo, número y arreglo de los cromatosomas en el cuerpo como en el tipo de pigmento (Bauer, 2004; Fingerman, 1963). Las consecuencias adaptativas de la coloración en los animales se han convertido en un área de investigación muy activa en la última década (Ruxton y Stevens, 2015). Sin embargo, a pesar de los estudios dedicados a responder por qué o cómo es que sucede el cambio de color, sigue habiendo muchas preguntas por contestar.

La luz es uno de los factores principales que estimulan el cambio de coloración en crustáceos, además de influenciar el crecimiento y la conducta debido a que afecta su metabolismo, hábitos diarios, ciclos reproductivos, muda y actividad digestiva (Zhang et al., 2006; Hoang et al., 2002). Los crustáceos pueden encontrarse en todos los ecosistemas marinos, desde las orillas hasta lo más profundo del océano, en agua dulce y en la tierra. (Marshall, Kent y Cronin, 1999) y la luz se comporta de manera diferente según en medio en el que se transmite. A diferencia de los sistemas terrestres, la luz en los sistemas acuáticos es fuertemente afectada por el medio circundante, por lo tanto, el éxito o el fracaso de cualquier camuflaje o señal visible no sólo depende de las capacidades visuales del espectador, sino también en la profundidad a la que se encuentren los organismos, el ángulo desde el que sea visto, y las propiedades ópticas del agua (Johnsen, 2002).

En el océano, las longitudes de onda de la luz son absorbidas selectivamente. En aguas claras, la luz roja desaparece primero, a unos 15 m empieza a percibirse como color marrón. A medida que aumenta la profundidad, las longitudes de onda desaparecen poco a poco hasta que sólo queda la azul. En las aguas someras de los arrecifes en donde el espectro de luz visible penetra en su totalidad, las longitudes de onda son absorbidas más lentamente que en aguas turbias (Bandaranayake, 2006). Esta turbidez puede afectar la coloración del agua; mientras los sedimentos orgánicos disueltos viran el agua a colores marrones, altas concentraciones de fitoplancton lo hacen a verdes (Herrera-Silveira y Morales-Ojeda, 2009). Este fenómeno actúa como filtro para la luz incidente no dejando pasar todas las longitudes de onda, como ocurre en aguas claras. En aguas turbias marrones el azul, violeta, verde son los primeros colores que se desaparecen mientras que, en aguas turbias verdes son los rojos y violetas (Levine y MacNichol, 1979) Pocos son los estudios realizados para conocer el efecto de la coloración de la luz (luz emitida) sobre la pigmentación en crustáceos.

La coloración en los crustáceos proviene de sustancias orgánicas coloreadas llamadas pigmentos que pueden estar depositados en la exocutícula o en cromatóforos (Brusca y Brusca, 2003). Los pigmentos más frecuentes en carídeos son los carotenoides, especialmente las xantofilas, siendo la astaxantina la más común, que produce un color rojo brillante (Auerswald et al., 2008). Los carotenoides y carotenoproteínas se consideraron la principal pigmentación de los filos Coelenterata (Cnidaria), Annelida, Echiura, Phoronidea, Sipunculoidea, Porifera y Crustácea. A los carotenoides se pueden atribuir colores que varían del amarillo al naranja y rojo. También existen asociaciones no covalentes de carotenoides con proteínas que en invertebrados marinos permite multitud de colores (azul, verde, púrpura, etc; Bandaranayake, 2006). Esta parece ser la situación más común en los carídeos brindándoles una alta plasticidad en cuanto a coloración, incluyendo los tonos del espectro de luz visible, junto con una considerable variación en la intensidad y la sombra (Bauer, 2004).

Los hábitats complejos en ambientes marinos poco profundos, como las praderas de pastos, proporcionan alimento y refugio contra depredadores a numerosas especies de invertebrados y crías de peces (Heck Hay, Hays y Orth, 2003). Estudios recientes han probado que la capacidad del depredador está estrechamente relacionada con la complejidad del ambiente, en consecuencia, las especies presa en las praderas de pastos presentan una variedad de estrategias de evasión incluyendo crípsis morfológicas y de comportamiento (Cournoyer y Cohen, 2011; Horinouchi et al., 2009). Los organismos presentan diferentes estrategias que involucran cambios de comportamiento, de morfología, color, composición química, entre otros (Manríquez et al., 2008). En decápodos, una táctica comúnmente utilizada es el uso de refugios estructurales, y una menos reportada es la crípsis visual, común en hábitats heterogéneos (Palma, Orrego y Arriagada, 2003).

El camarón flecha (*Tozeuma carolinense*), es un carídeo pequeño epibentónico perteneciente a la familia Hippolytidae que se asocia estrechamente a tres especies de pastos marinos: *Syringodium filiforme*, *Thalassia testudinum* y *Halodule wrightii* (Ewald, 1969). Su distribución comprende desde Carolina del Norte, ambas costas de la Florida, las Bermudas, las Bahamas, Texas, Yucatán, y Puerto Rico (Ewald, 1969).

Tozeuma carolinense se alimenta de las algas epifitas que cubren las hojas u otras estructuras en los pastos marinos (Cournoyer y Cohen, 2011; Ewald, 1969) Esta especie controla el crecimiento de epifitas en las hojas de pasto marino, permitiendo que crezcan sin obstáculos, en consecuencia, las poblaciones de *T. carolinense* son parte integral de la salud de las praderas de pastos marinos (Hays, 2005; Ewald, 1969). Ha sido reportado como la especie más abundante del género en las praderas marinas a lo largo de EE.UU. y el sureste de la costa del Golfo. A pesar de la abundancia de *T. carolinense*, se encuentra sub representado en las dietas de los peces depredadores (Main, 1987), presumiblemente debido a su morfología y comportamiento críptico (Cournoyer y Cohen, 2011; Ewald, 1969).

Se han descrito nueve comportamientos que hacen que *T. carolinense* se mimetice con las especies de pasto antes descritas, pero Main (1987) menciona que tres son las más determinantes en su tasa de supervivencia; el comportamiento llamado movimiento alrededor de la hoja (consiste en mantener siempre entre el observador y el camarón la hoja de pasto), la posición perpendicular al pasto (aferrándose a las hojas con el rostro hacia abajo) y la respuesta escape carideo (efectúa una repentina flexión del abdomen para retroceder y escapar). Se aferra a las ramas y hojas de estos pastos y nada en posición vertical permitiendo que la única banda de color a lo largo del cuerpo, controlado en parte por una serie de cromatóforos que corren por su eje antero-posterior flanqueando al intestino se combine a la perfección con el pasto marino circundante (Video: <https://www.youtube.com/watch?v=XGeARGVD-Co>).

El cuerpo casi transparente, estrecho y alargado de *T. carolinense* también ayudan a este mimetismo (Ewald, 1969). Se han reportado hasta el momento cinco diferentes morfotipos: el verde y el marrón son los dominantes, pero se han registrado también tonos rojo, violeta y negro (Calvo et al, 2014; Ewald, 1969). Cournoyer y Cohen (2011) demostraron que *Tozeuma carolinense* es menos detectado por predadores con visión dicromática y tricromática cuando el color del morfotipo coincide con la del pasto marino.

Si bien se han registrado cambios de coloración (de un morfotipo a otro) no se conoce cuál es el estímulo que los provoca (Calvo et al, 2014; Ewald, 1969).

OBJETIVO GENERAL

Estudiar los efectos de la luz sobre la coloración del camarón críptico *Tozeuma carolinense*.

Objetivos particulares

- Estudiar los efectos de la luz reflejada sobre las frecuencias de los morfotipos del camarón críptico *Tozeuma carolinense*.
- Estudiar los efectos de la luz emitida sobre las frecuencias de los morfotipos del camarón críptico *Tozeuma carolinense*.
- Estudiar los efectos de la luz reflejada sobre la concentración de astaxantina en el camarón críptico *Tozeuma carolinense*.
- Estudiar los efectos de la luz emitida sobre la concentración de astaxantina en el camarón críptico *Tozeuma carolinense*.

HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

La coloración del camarón *Tozeuma carolinense* es afectada por la luz.

- La coloración del camarón *Tozeuma carolinense* es afectada por la luz reflejada.
 - La frecuencia del morfotipo marrón aumentará cuando la luz reflejada sea marrón.
 - La frecuencia del morfotipo verde aumentará cuando la luz reflejada sea verde.
- La coloración del camarón *Tozeuma carolinense* es afectada por el color de la luz emitida.
 - La frecuencia del morfotipo marrón aumentará cuando la luz emitida sea marrón.
 - La frecuencia del morfotipo verde aumentará cuando la luz emitida sea verde.

Las concentraciones de pigmentos en el camarón *Tozeuma carolinense* son afectadas por la luz.

- La concentración de astaxantina del camarón *Tozeuma carolinense* es afectada por la luz reflejada.
 - La concentración de astaxantina de los camarones *Tozeuma carolinense* expuestos a luz reflejada marrón será diferente de aquellos expuestos a luz reflejada verde.
- La concentración de astaxantina del camarón *Tozeuma carolinense* es afectada por el color de la luz emitida.
 - La concentración de astaxantina de los camarones *Tozeuma carolinense* expuestos a luz emitida marrón será diferente de aquellos expuestos a luz reflejada verde.

MATERIALES Y METODOS

Para el desarrollo del objetivo propuesto en este trabajo se realizaron dos experimentos donde se expusieron a individuos de *Tozeuma carolinense* a tratamientos con diferente luz reflejada o emitida respectivamente.

Se define luz reflejada como la luz resultante (no absorbida) luego de una reflexión sobre un objeto. En esta tesis se considerará como luz reflejada a la reflexión de luz proveniente del sustrato. Se define luz emitida como la luz proveniente de una fuente lumínica que incide sobre un objeto. En esta tesis será el color de la malla que actúa como filtro lumínico, permitiendo que solo una longitud de onda (verde o marrón) incida sobre los organismos (Fig. 1).

Los animales utilizados en el primer experimento (Luz reflejada) fueron colectados en las camas de pasto marino de la laguna arrecifal de Mahahual, Quintana Roo en marzo de 2015. Los organismos del segundo experimento (Luz emitida) fueron colectados en las camas de pasto marino de la desembocadura de la Ría de Celetún, Yucatán en mayo del mismo año (Fig. 2).

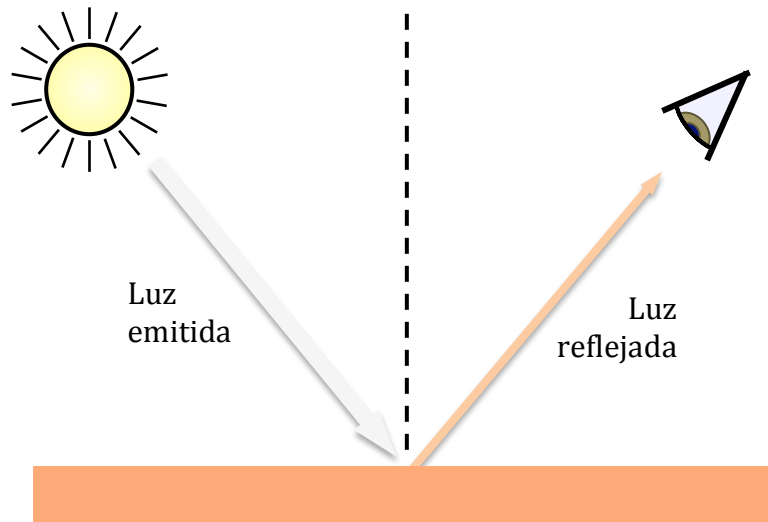


Figura 1. Representación esquemática de la luz emitida y reflejada.

Sitios de colecta

Mahahual, Quintana Roo:

La costa presenta una playa angosta y humedal compuesto de manglares, con dominancia local de *Rhizophora mangle*, el cual se extiende a lo largo de la costa caribeña de México. La laguna arrecifal somera (1-2 m de profundidad) se encuentra delimitada por el arrecife coralino muy cercano a la costa (ca. 300m), con lechos de pastos marinos (*Thalassia testudinum* y *Syringodium filiforme*) y amplias zonas arenosas donde se ubican varios arrecifes parche (Bastida-Zavala et al., 2000).

Ría de Celestún, Yucatán:

Por su posición geográfica, la extensión de su litoral, la presencia de su laguna costera y la extensa ciénaga que en ella existe, la reserva presenta un mosaico muy diverso de comunidades vegetales costeras, vegetación de duna, manglar, petenes, selva baja inundable, pastizal, selva baja caducifolia y vegetación subacuática. Este último es un componente importante de la ría, *Thalassia testudinum* y las macroalgas *Acantophora specifera*, *Acetabularia crenulata*, *Hypnea musciformes*, *Dyctiota sp*, *Cladophoropsis membranacea*, *Caulerpa cupresoides*, y *Halimeda sp*, se localizan en el banco de arena que se extiende después de la boca de la Ría. Existe alta dinámica entre la mezcla de agua dulce y marina, así como la remoción de sedimentos, lo que provoca aumento en la turbidez (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002).

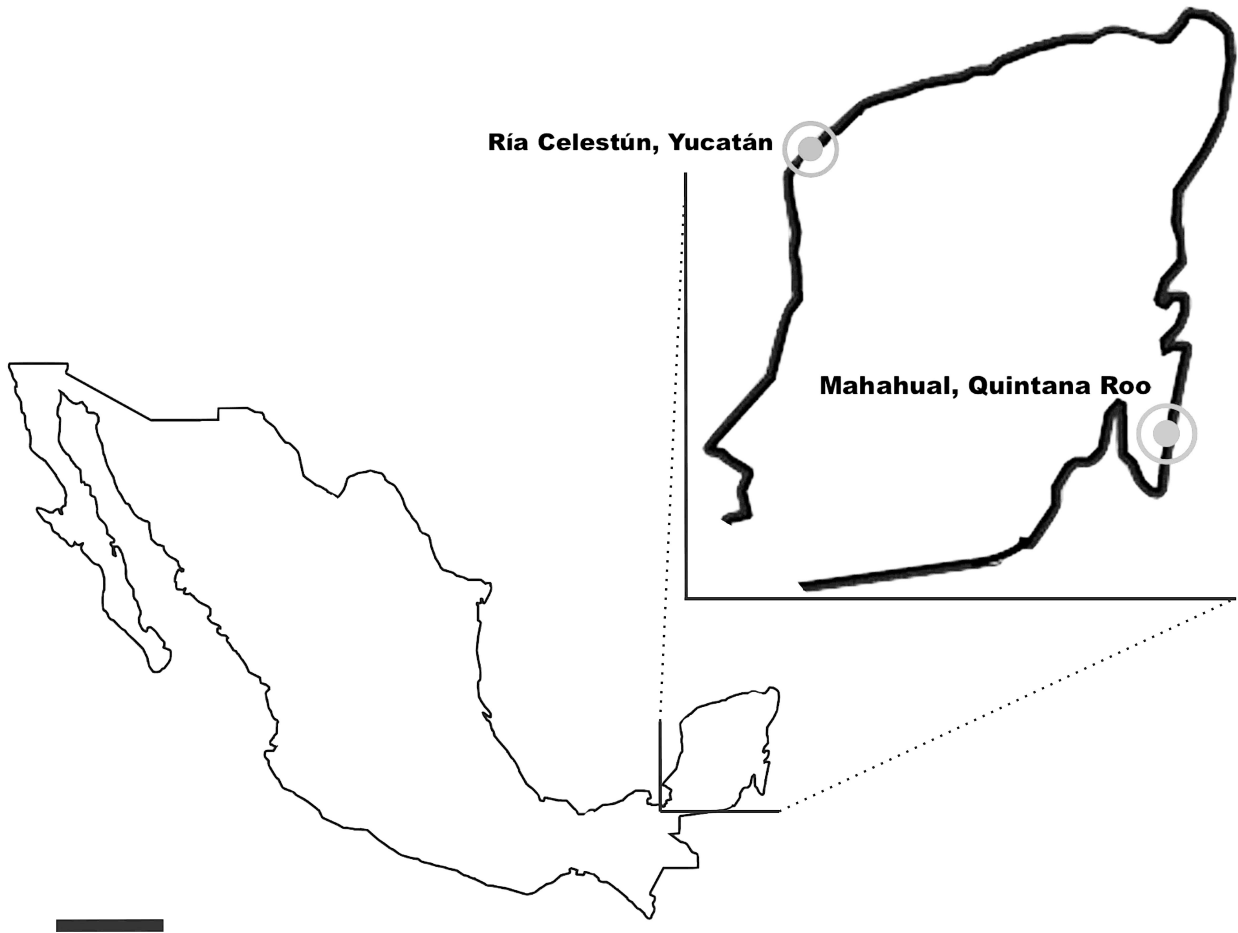


Figura 2. Sitios de colecta de *Tozeuma carolinense* en la costa de la península de Yucatán, México. Escala: 100km.

Método de captura

En los sitios de muestreo ya mencionados, Mahahual y Celestún, se realizaron 4 y 8 transectos respectivamente de 100m de longitud aproximadamente en dirección perpendicular a la costa. El transecto fue recorrido con una red de percha (55cm de largo, 20cm de ancho, 50cm de alto, malla interior de 5mm de luz) jalado por una lancha a baja velocidad (3km/h). El contenido del copo fue analizado a bordo. La muestra colectada era colocada en bandejas plásticas blancas con la finalidad de separar los camarones *Tozeuma carolinense* de la vegetación. Al finalizar, fueron colocados en una

hielera con agua marina del sitio y aireación constante para ser trasladados al laboratorio donde fueron aclimatados.

Mantenimiento de los organismos experimentales

En el área experimental, de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI), de la Universidad Nacional Autónoma de México en Sisal, Yucatán los animales fueron aclimatados mediante goteo desde el sistema de recirculación maduro en el cual serían colocados, a la hielera donde fueron transportados. Durante el proceso, la salinidad y la temperatura fueron revisadas con periodicidad verificando que las condiciones fueran similares. La alimentación consistió en microalgas *Nannochloropsis oculata* y *Tetraselmis suecica*. Se verificó la incorporación de estas mediante observaciones realizadas *in situ* y bajo microscopio estereoscópico, ya que por transparencia es posible visualizar el contenido del intestino.

Los camarones fueron mantenidos en un sistema de recirculación cerrada, el cual constaba de 4 peceras con un volumen de 35 litros c/u (40cm de largo x 35cm de ancho x 25 cm de alto). Las 4 peceras estuvieron conectadas a un reservorio general con un volumen de 95 L (61cm de largo x 39cm de ancho x 40cm de alto). Con el fin de mantener la calidad del agua, el reservorio contó con un filtro mecánico en la salida del agua (filtro de bolsa de monofilamento de nylon, que retenía los excedentes de alimento) y un filtro biológico, el cual estaba constituido de arena, fragmentos de piedras de coral o fragmentos de roca viva artificial y bio-esferas. La temperatura era mantenida en $29 \pm 1^\circ$ C utilizando un calentador Biopro® Aquarium glass heater de 100w y un aire acondicionado LG Jet cool sp121cn. La calidad del agua del sistema fue controlada con revisiones diarias de salinidad (37 ± 1 ppm), recambios de agua del 30% cada dos días y medición de nitratos, nitritos y amonio usando el Kit Exact® Eco Check al inicio, mitad y final de cada experimento (NO_2 : 4.4 ± 3.9 , NO_3 : 0.80 ± 0.74 ; NH_4 : 0.06 ± 0.11).

Los animales fueron mantenidos con un fotoperiodo 12:12hrs luz:obscuridad y alimentados con algas vivas (*Nannochloropsis oculata* de 2 a $4\mu\text{m}$ de diámetro y *Tetraselmis suecica* de 10 a $16\mu\text{m}$ de diámetro) ofrecidas *ad libitum* dos veces al día (10

y 18 hrs) durante media hora con recirculación cerrada para un mejor aprovechamiento del insumo. El alimento fue proporcionado por el área de producción de alimento vivo de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI-Sisal).

Diseño experimental

Los experimentos fueron realizados en dos acuarios pertenecientes al sistema de recirculación cerrado antes descrito con un fondo color arena hecho de fomi, bajo una lámpara HQI (Dymax™ 150W metal halides series) cubiertos por tela blackout con la finalidad de aislar al experimento de cualquier otra fuente lumínica.

Cada experimento contó con un total de 48 camarones, 24 verdes y 24 marrones, repartidos en 16 botes cilíndricos (3 camarones en cada uno) de 10cm de diámetro en la base y 17 cm de altura, con perforaciones de 5mm de diámetro en toda la superficie con el propósito de asegurar que el agua en recirculación difundiera a través de los botes llevándose los desechos y exceso de alimento que se produjeran durante los experimentos. Cada bote fue forrado con rafia de color verde, marrón o blanco según el tratamiento y dentro contuvo una imitación de pasto marino (*Thalassia testudinum*) realizado con rafia del mismo color que rodeaba al recipiente sujeta a un plomo de 2 gramos. Además, cada bote fue tapado con una malla de tul para evitar que los animales escaparan de los recipientes. (Fig. 3).

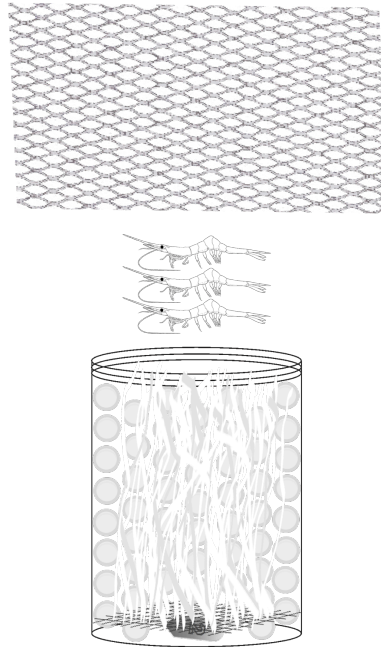


Figura 3. Esquema del dispositivo experimental utilizado que constaba de un bote perforado y forrado con rafia, la imitación del pasto *Thalassia testudinum* en el fondo unido a un plomo de 2 gr, tres camarones *Tozeuma carolinense* y una tapa hecha de malla de tul.

Ambos experimentos tuvieron una duración de 10 días. A los 5 días y al término del periodo experimental se cuantificó el número de animales de cada morfotipo (verde y marrón) en cada tratamiento.

Efecto de la luz reflejada (color del sustrato)

En este experimento se expuso a individuos del morfotipo verde y marrón a entornos y sustratos (luz reflejada) de color verde y marrón. Las tapas de malla de tul eran de color blanco para que permitieran el paso de la mayor cantidad de luz (todo el espectro visible). Los 48 organismos fueron asignados aleatoriamente según su morfotipo (verde o marrón) a uno de los 4 tratamientos:

- ✓ Luz reflejada marrón sobre camarones del morfotipo marrón (RMM)
- ✓ Luz reflejada marrón sobre camarones del morfotipo verde (RMV)
- ✓ Luz reflejada verde sobre camarones del morfotipo verde (RVV)
- ✓ Luz reflejada verde sobre camarones del morfotipo marrón (RVM)

Cada tratamiento contó con 4 botes y 12 camarones (3 camarones en cada uno; Fig. 4).

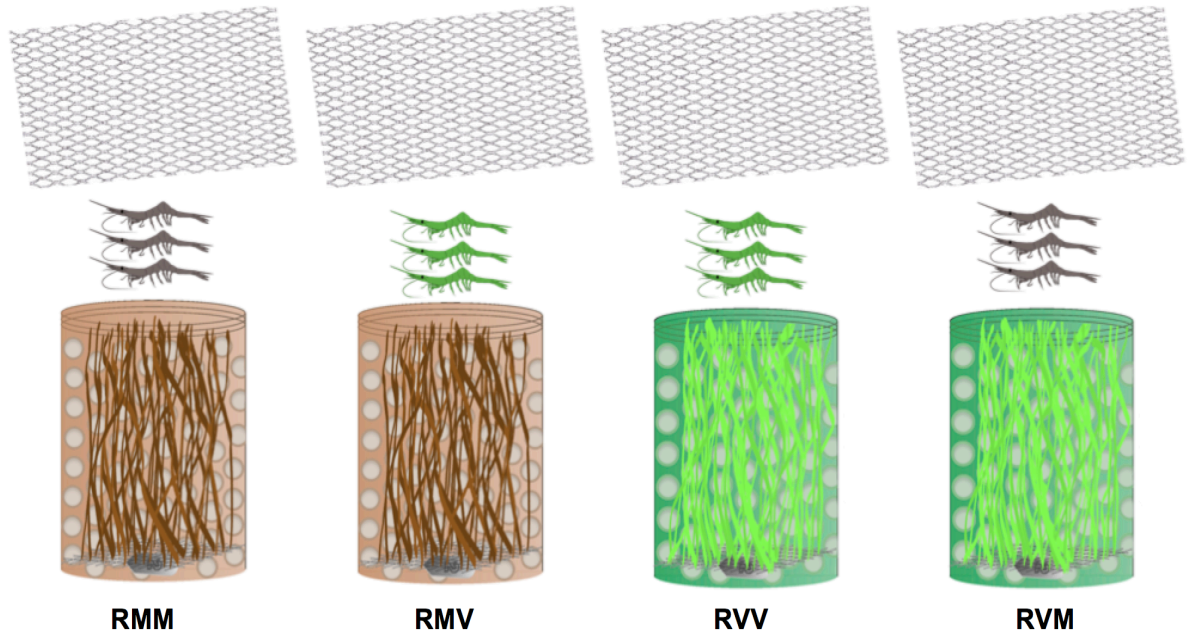


Figura 4. Esquema de los cuatro tratamientos del Experimento 1 Luz reflejada. (RMM) Luz reflejada marrón sobre camarones marrones; (RMV) Luz reflejada marrón sobre camarones verdes; (RVV) Luz reflejada verde sobre camarones verdes; (RVM) Luz reflejada verde sobre camarones marrones.

Los 16 botes, 8 luz reflejada marrón y 8 luz reflejada verde fueron dispuestos en los dos acuarios bajo la lámpara HQI al azar como se muestra en la Figura 5. Posteriormente los individuos fueron sacrificados y colocados en viales a -80°C (Scienc Temp. Modelo 856.8^a) para la cuantificación de astaxantina.

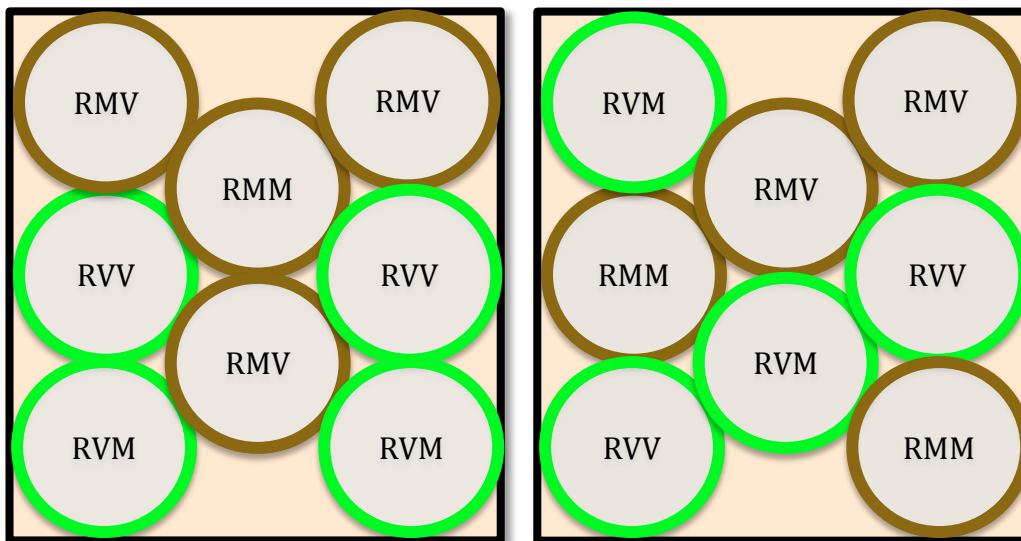


Figura 5. Esquema de colocación de tratamientos del experimento 1 Luz reflejada bajo la lámpara HQI. (RMM) Luz reflejada marrón sobre camarones marrones; (RMV) Luz reflejada marrón sobre camarones verdes; (RVV) Luz reflejada verde sobre camarones verdes; (RVM) Luz reflejada verde sobre camarones marrones.

Efecto de la luz emitida (efecto color de la malla)

En este experimento se expuso a los individuos del morfotipo verde y marrón a luz emitida de color verde y marrón colocando tapas de malla de tul de estos colores. El entorno y sustrato en ambos casos fueron de color blanco (rafia color blanca) para que reflejaran la mayor cantidad de luz posible. Los 48 organismos fueron asignados aleatoriamente según su morfotipo (verde o marrón) a uno de los 4 tratamientos (Fig. 6):

- ✓ Luz emitida marrón con camarones del morfotipo marrón (EMM)
- ✓ Luz emitida marrón con camarones del morfotipo verde (EMV)
- ✓ Luz emitida verde con camarones del morfotipo verde (EVV)
- ✓ Luz emitida verde con camarones del morfotipo marrón (EVM)

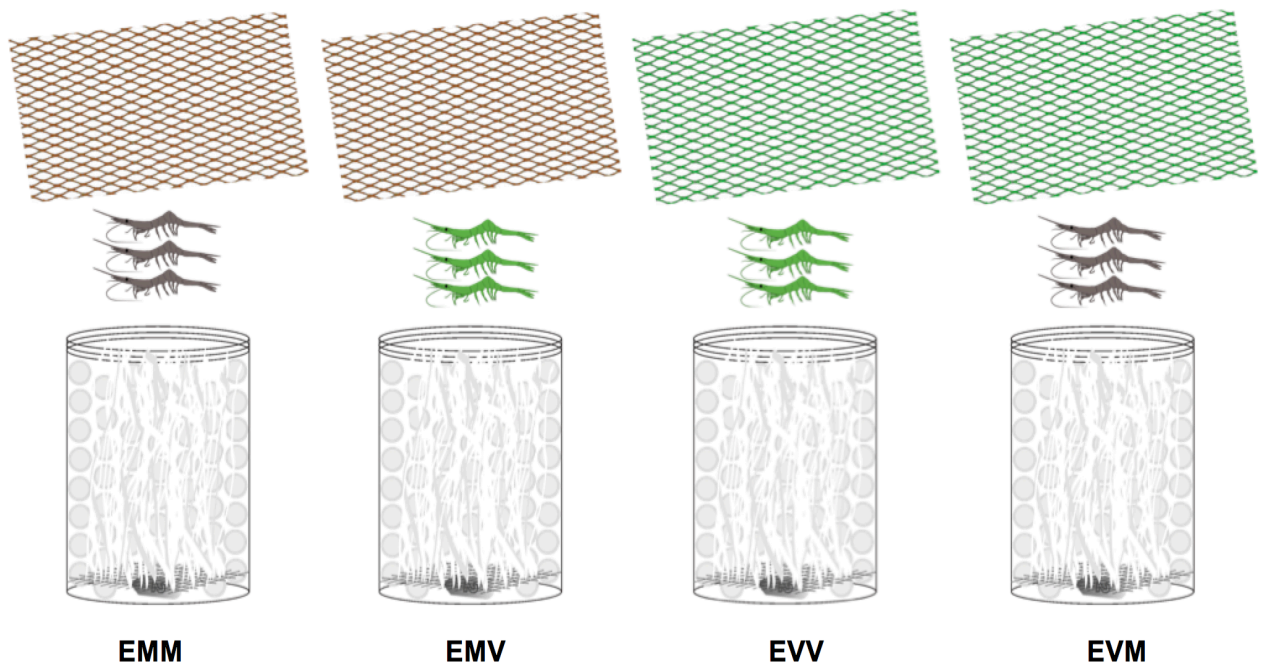


Figura 6. Esquema de los cuatro tratamientos del experimento 2 Luz emitida. (EMM) Luz emitida marrón sobre camarones marrones. (EMV) Luz emitida marrón sobre camarones verdes; (EVV) Luz emitida verde sobre camarones verdes; (EVM) Luz emitida verde sobre camarones marrones.

Los 16 botes, 8 luz emitida marrón y 8 luz emitida verde fueron dispuestos en los dos acuarios bajo la lámpara HQI al azar como se muestra en la Figura 7. Posteriormente los individuos fueron sacrificados y colocados en viales a -80°C (Scienc Temp. Modelo 856.8a) para la cuantificación de astaxantina.

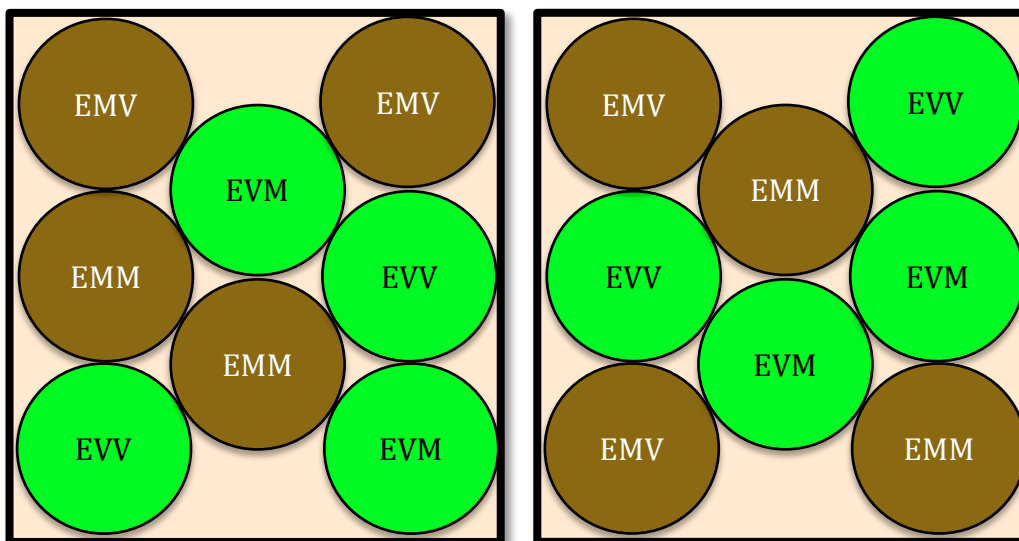


Figura 7. Esquema de colocación de tratamientos del experimento 2 Luz emitida bajo la lámpara HQI. (EMM) Luz emitida marrón sobre camarones marrones. (EMV) Luz emitida marrón sobre camarones verdes; (EVV) Luz emitida verde sobre camarones verdes; (EVM) Luz emitida verde sobre camarones marrones.

Extracción y cuantificación de astaxantina

Cada camarón fue colocado en baño maría a 70°C por 10 minutos, congelado, liofilizado (Labconco Freezone 2.5) y pesado (peso seco) utilizando una balanza analítica (precisión 0,1mg; Ohaus Pioneer™).

Dado que la masa seca mínima requerida para la cuantificación de astaxantina era de 30mg, se agruparon camarones y finalmente quedo solo 1 muestra por tratamiento del experimento 1. Para el experimento dos tambien se agruparon camarones quedando finalmente solo 3 o 4 muestras por tratamiento.

Cada muestra fue molida utilizando un mortero de ceramica y tamizada para garantizar la homogeneidad de la muestra (tamiz 100µm). Se colocaron entre 30 a 50mg de éste homogenato en un tubo de centrifuga de 15ml color negro para

evitar la descomposición de la astaxantina (Mezzomo et al., 2011) con 11.4ml de acetona. Los tubos fueron colocados en baño ultrasónico por 10 minutos, se refrigeraron por 20 minutos a 4°C y se centrifugaron por 10 minutos a 5000rpm. El sobrenadante de cada muestra fue colocado en un frasco de cristal ámbar donde se dispuso a secar el solvente en rotavapor (60atm y 25°C). Finalmete se resuspendio en 3ml de Dimetil Sulfóxido (DMSO) y se obtuvo la concentración de astaxantina utilizando un espectrofotómetro ($\lambda=490$) y un patrón de astaxantina (Cayman, 97% de pureza; Anexo Figura 1).

Análisis estadístico

Las frecuencias de los morfotipos de los camarones se registraron a los cinco y diez días mediante la revisión de los organismos dentro de cada bote. El análisis estadístico de los datos se realizó a través de tablas de contingencia y pruebas de Chi-cuadrado tridimensionales (Zar, 2010) utilizando la aplicación Excel del paquete Microsoft Office 2010 (Anexo). Para el primer experimento se estudió la asociación entre las variables “morfotipo de camarón” con 2 niveles (verde y marrón), “luz reflejada” con 2 niveles (verde y marrón) y “tiempo de exposición” con 3 niveles (0, 5 y 10 días), y para el segundo experimento se estudió las asociaciones entre las variables “morfotipo de camarón” con 3 niveles (verde, marrón y blanco), “luz emitida” 2 niveles (verde y marrón) y “tiempo de exposición” con 3 niveles (0, 5 y 10 días).

Para el Experimento 1 la hipótesis nula planteada fue que la frecuencia de camarones verdes o marrones no se asocia a la luz reflejada ni al tiempo de exposición a la misma, y para el experimento 2 la hipótesis nula planteada fue que la frecuencia de camarones verdes, marrones o blancos no se asocia a la luz emitida ni al tiempo de exposición a la misma. (Anexo Tabla 1)

Dado que la prueba anterior arrojó resultados contradictorios para el experimento 1 Luz reflejada, se realizó, además, otro análisis estadístico a través de una tabla de contingencia y una prueba de Chi cuadrada de dos dimensiones utilizando el

programa R (R 3.1.2 GUI 1.65 Mavericks build) estudiando la asociación entre las variables “cambio de morfotipo” con 2 niveles (cambió y no cambió) y “luz reflejada/ morfotipo” con 2 niveles (similar y diferente). En el nivel similar de la última variable descrita se agruparon los tratamientos RMM y RVV mientras que en el nivel diferente se agruparon los tratamientos RMV y RVM. La hipótesis nula planteada para esta prueba fue que el cambio de morfotipo de los camarones no se asocia a que la luz reflejada sea similar o diferente a su coloración (Zar, 2010).

Para comparar la concentración de astaxantina entre tratamientos se utilizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía y para compararla entre los diferentes experimentos se realizó una prueba de t de Student (Zar, 2010).

RESULTADOS

Durante la aclimatación los camarones mostraron una buena aceptación del alimento brindado que consistió en micro algas vivas *Nannochloropsis oculata* y *Tetraselmis suecica*. Cabe destacar que en el transcurso de ambos experimentos la mortalidad total alcanzada fue baja (10.4%), siendo de 14.5% para el Experimento 1 y de 6.2% para el Experimento 2 (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad, longitud promedio y peso seco (promedio \pm desviación estándar) en cada uno de los experimentos.

	Mortalidad %	Longitud (mm)	Peso seco (mg)
Experimento 1	14.5	31.7 \pm 3.9	8.5 \pm 3.9
Experimento 2	6.25	38.9 \pm 2.8	17.2 \pm 5.7

Efecto de la luz reflejada (color del sustrato)

Los camarones que fueron expuestos a la luz reflejada similar a su coloración (RMM y RVV) no presentaron variación en su morfotipo, mientras que, por el contrario, camarones que estuvieron expuestos a luz reflejada diferente a su coloración (RMV y RVM) mostraron en general cambios en su morfotipo desde los 5 días. La tendencia fue de cambiar al morfotipo similar al color del sustrato. Durante el periodo experimental 7 animales murieron y 12 escaparon del dispositivo experimental lo que ocasionó una merma en el número total de individuos hacia el final del experimento (Fig. 8).

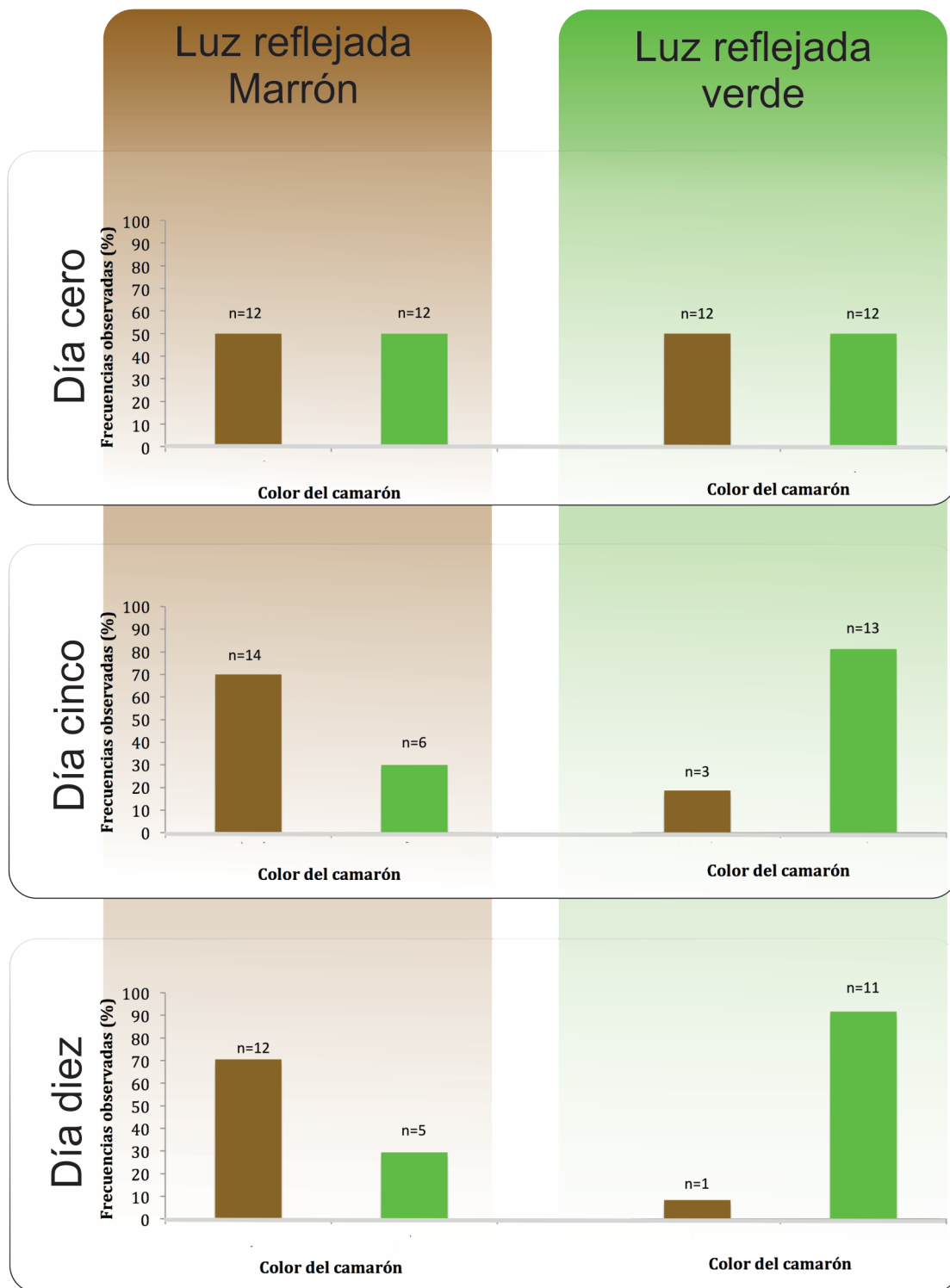


Figura 8. Frecuencias de camarones de morfotipo marrón y verde a los cero, cinco y diez días de exposición a Luz reflejada marrón y verde.

La prueba estadística de Chi-cuadrada tridimensional mostró que las proporciones de los morfotipos de cada color, en cada tiempo, expuestas a cada luz reflejada fueron diferentes a las esperadas por azar, es decir, se encontró asociación entre las variables (Prueba de mutua independencia; $\chi^2 = 20.55$; $p = 0.004$). En particular, se observó que el morfotipo de camarón fue la variable que contribuyó significativamente a esta diferencia (Análisis de correlación parcial; $\chi^2 = 20.48$; $p = 0.001$;). Contrariamente a lo esperado el tiempo no contribuyó significativamente a esa diferencia (Análisis de correlación parcial; $\chi^2 = 11.20$; $p = 0.082$; Anexo Tabla 2)

Los camarones expuestos a una luz reflejada diferente al color de su morfotipo (RMV y RVM) mostraron cambio de morfotipo (42.85%). Siempre que se registró cambio de coloración fue aumentando la frecuencia de camarones del morfotipo similar al sustrato. Por el contrario, cuando los camarones fueron expuestos a una luz reflejada similar al color de su morfotipos (RMM y RVV) no se registró ningún cambio de coloración. La prueba estadística de Chi-cuadrada de dos dimensiones mostró que el cambio de morfotipo se asocia a la semejanza entre la luz reflejada y el morfotipo de camarón (Luz reflejada/morfotipo; $\chi^2 = 5.7042$; $p = 0.01$; Tabla 2; Fig. 9).

Tabla 2. Tabla de contingencia del cambio de morfotipo y Luz reflejada/morfotipo

		Cambio de morfotipo		Total
		Cambió	No Cambió	
Luz reflejada/ morfotipo	Similar	0	15	15
	Diferente	6	8	14

Cambio de morfotipo

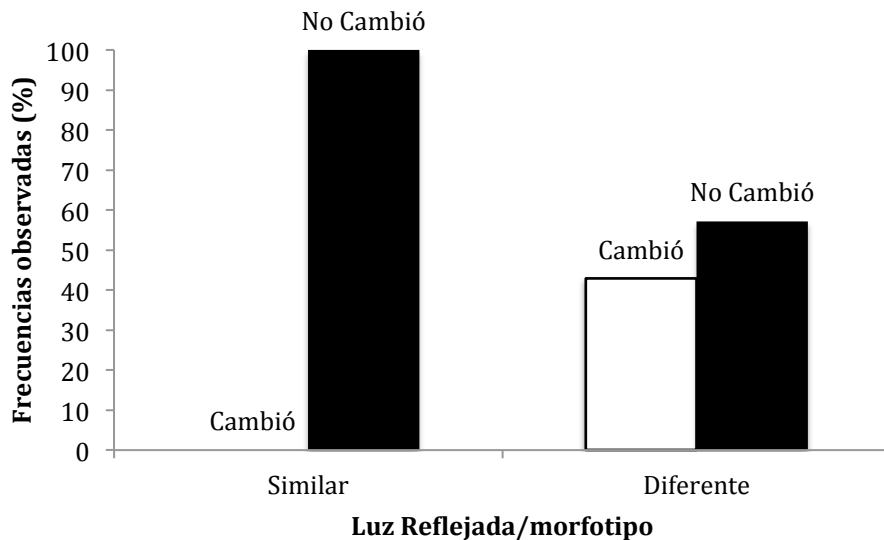


Figura 9. Frecuencias de cambio de morfotipo luego de ser expuestos a luz reflejada similar y diferente a su coloración.

Efecto de la luz emitida (color de la malla)

Durante el periodo experimental (10 días) 3 animales murieron y 10 escaparon del dispositivo experimental, lo que ocasionó una merma en el número total de individuos hacia el final del experimento. En este caso la mayoría de los camarones, de morfotipo verde y marrón que fueron expuestos a luz emitida igual o distinta a su coloración, presentaron variación en su morfotipo desde los 5 días (Fig. 10). La tendencia nuevamente fue de cambiar a un nuevo morfotipo similar al color del sustrato: Morfotipo blanco. El nuevo morfotipo no exhibía cromatóforos de color verde o marrón, tampoco exhibía ningún cromatóforo en la vista dorsal. Los cromatóforos hipodérmicos observables se encontraban en la zona ventral de los laterales, estos cromatóforos mostraban pigmentación blanca con un punto rojo en el centro. Este punto es interpretado como la contracción de un cromatóforo con astaxantina. También se observó pigmentación interpretada como astaxantina por debajo de la hipodermis que podría provenir de cromatóforos que cubren los órganos o de pigmentos disueltos en la hemolinfa (Fig. 11 y 12).

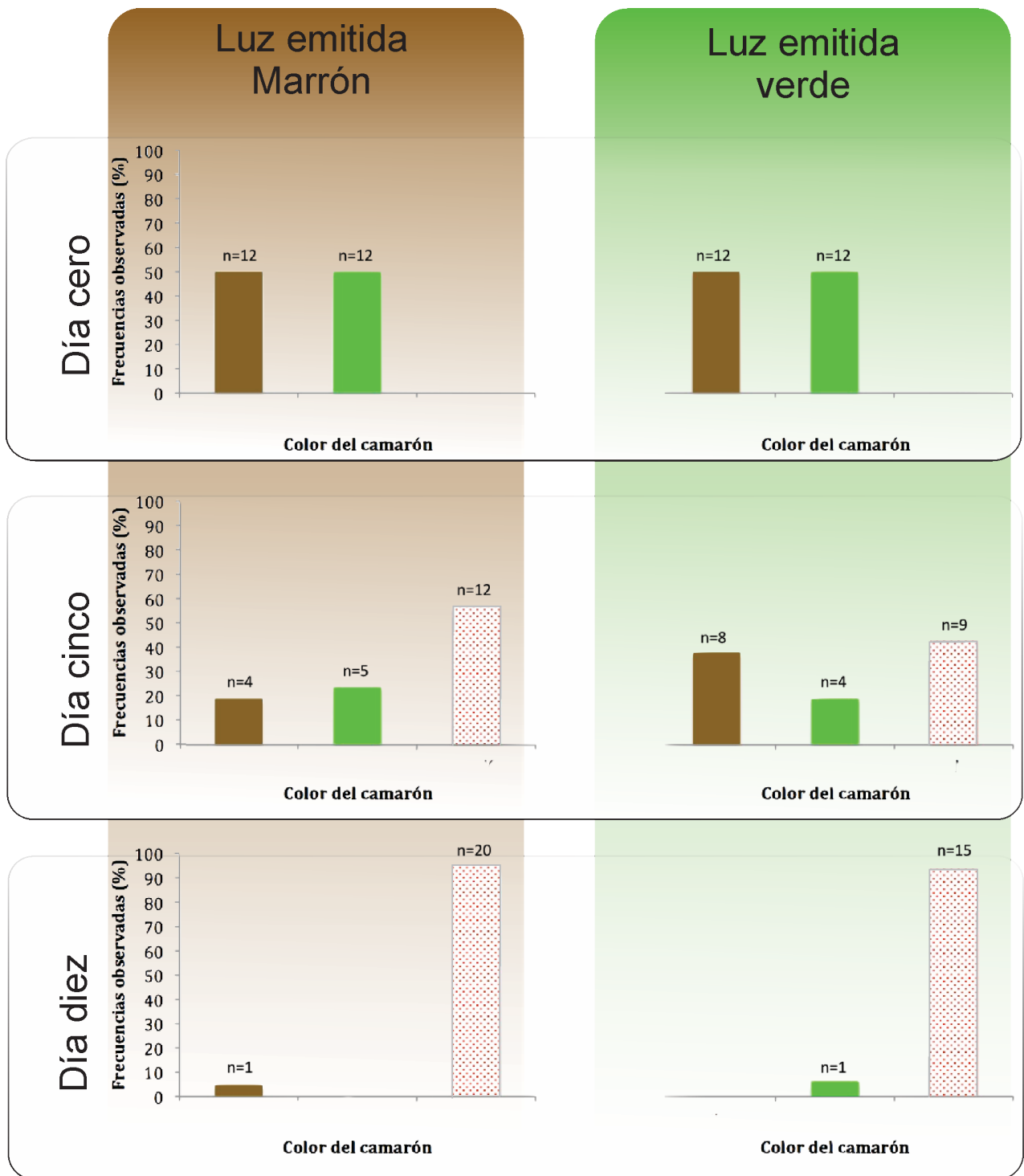


Figura 10. Frecuencias de camarones de morfotipo marrón, verde y blanco a los cero, cinco y diez días de exposición a Luz emitida marrón y verde.

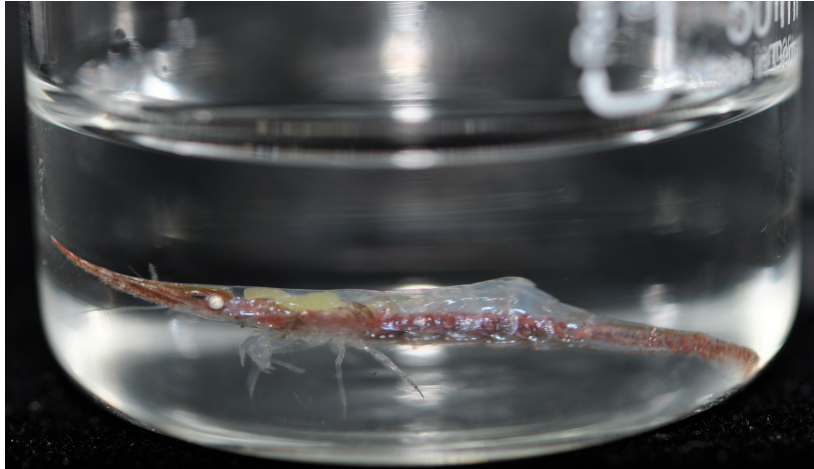


Figura 11. Fotografía de morfotipo blanco de *Tozeuma carolinense*.



Figura 12. Fotografía de morfotipo blanco de *Tozeuma carolinense* bajo estereoscopio (aumento=20X).

En particular, se observó que el morfotipo de camarón varía en forma significativa por efecto de la luz reflejada y el tiempo de exposición (Análisis de correlación parcial; $\chi^2 = 20.48$; $p = 0.001$). La prueba estadística de Chi-cuadrada tridimensional mostró que las proporciones de los morfotipos de cada color, en cada tiempo, expuestas a cada luz emitida fueron diferentes a las esperadas por azar, es decir, se encontró asociación entre las variables (Prueba de mutua independencia; $\chi^2=73.78$; $p<0.01$). En particular, se observó que el tiempo de exposición y el morfotipo fueron las variables que contribuyen a esta diferencia (Análisis de correlación parcial; $\chi^2=35.77$; $p<0.01$, $\chi^2=78.40$; $p<0.01$, respectivamente; Anexo Tabla 3).

Extracción y cuantificación de astaxantina

Durante las extracciones, particularmente al momento del baño maría a 70°C, se observó que los camarones verdes y marrones tornaron su coloración a rojo, el color de la astaxantina libre. La concentración de astaxantina obtenida en los camarones del experimento 1 mostró valores similares entre tratamientos. Así mismo la concentración de astaxantina obtenida en los camarones del experimento 2 también fue similar entre tratamientos ($F = 0.377$; $p = 0.775$). Sin embargo, la comparación entre las concentraciones de astaxantina de los experimentos, mostró que las obtenidas en el experimento 1 eran superiores a las obtenidas en el experimento 2 ($t = 15.163$, $p<0.01$; Fig. 13).

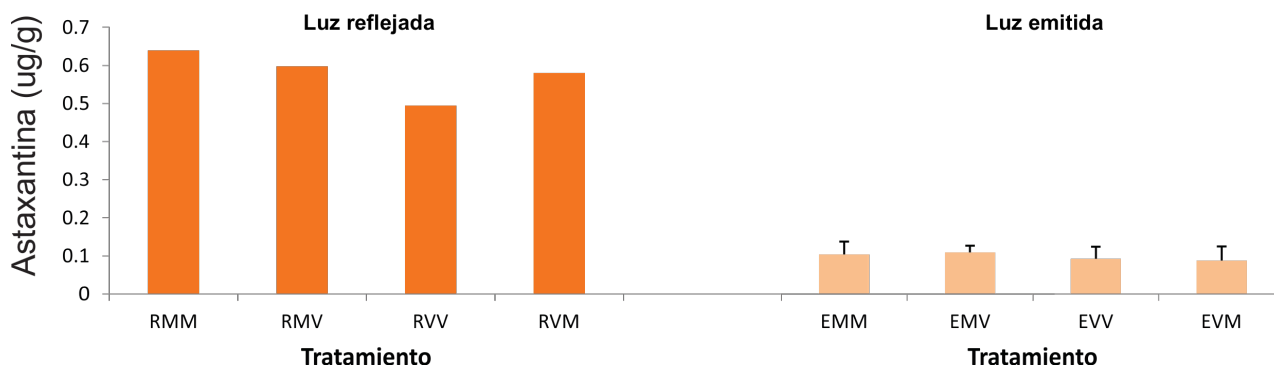


Figura 13. Concentración de astaxantina ($\mu\text{g/g}$) obtenida en cada tratamiento de los experimentos luz reflejada y luz emitida.

DISCUSIÓN

Cripsis es el tipo de camuflaje en el cual un organismo presenta coincidencias con el hábitat que le ayudan a fundirse con su entorno; por este motivo las especies crípticas están estrechamente asociadas con el hábitat al que están adaptadas (Maciá y Robinson, 2009). Tomando en cuenta la visión del espectador, el término cripsis incluye características de la apariencia física (e.g. coloración), características comportamentales o ambas para prevenir la detección del depredador (Stevens y Merilaita 2009).

El camarón carideo *Tozeuma carolinense* presenta comportamientos crípticos (Main, 1987) y morfotipos que coinciden con la coloración de los sustratos en su entorno (Calvo et al., 2014). Cournoyer y Cohen (2011) demostraron además, que *Tozeuma carolinense* es menos detectado por predadores (con visión dicromática y tricromática) cuando el color del morfotipo coincide con el del pasto marino.

En este contexto, la presente tesis aporta nuevo conocimiento biológico que contribuye a la descripción de la reciente estrategia de camuflaje de la especie ya que se comprobó que ésta es capaz de cambiar de morfotipo (cambio morfológico; Bauer, 2004) y que cuando esto ocurre siempre lo hace para coincidir con el color del sustrato o luz reflejada.

En el primer experimento más del 40% de los organismos expuestos a un sustrato (luz reflejada) distinto a su coloración original viraron su coloración después de 10 días de experimentación, este cambio en la concentración o tipo de pigmento implica la detección del color del sustrato por parte del individuo y luego la síntesis de nuevos pigmentos o modificación de los existentes como respuesta al estímulo. Se ha registrado que crustaceos decapodos biolumincentes como *Oplophorus spinosus* y *Systellaspis debilis*, cuentan con estructuras llamadas fotoforos que son complejos celulares sensibles capaces de emitir luz como respuesta al estímulo permitiendo disimular su sombra (Nowel, Shelton y Herring, 1998).

Este antecedente nos invita a pensar que quizá *Tozeuma carolinense* cuente con una estructura similar ya que es capaz de responder al estímulo de la luz reflejada

proveniente del sustrato. Por otro lado, los animales que no cambiaron su coloración pudieran no haber detectado de manera correcta el color del sustrato o, no contar con los precursores necesarios para la modificación del pigmento a pesar de haber sido alimentados igualmente. Según Bauer (2004) el pimiento verde y marrón en carídeos proviene de uniones no covalentes entre carotenos (como la astaxantina) y proteínas hasta el momento no identificadas. Si bien se asume que la astaxantina fue incorporada en la dieta (por medio de las algas) desconocemos si estas proteínas necesarias para el cambio estructural del pigmento se encontraban en la alimentación.

En un ambiente natural, el agua puede tomar coloraciones marrones (sedimentos disueltos) o verdes (por alta concentración de fitoplancton; Herrera-Silveira y Morales-Ojeda, 2009), los camarones podrían responder cambiando su morfotipo a la coloración del agua con el objetivo reducir el contraste y disminuir la probabilidad de ser detectados. Por lo anterior se esperaba que la luz emitida mostrara un efecto sobre la coloración de los camarones en el segundo experimento, sin embargo el color de la luz emitida así fuera similar o no a la coloración del camarón, no produjo ningún efecto detectable, nuevamente la coloración fue similar a la del sustrato. El cambio ocurrió después de 5 días, el 50% de los camarones presentaron el morfotipo blanco descrito en resultados; con una coloración rojiza por debajo de la dermis que podría provenir de cromatóforos que cubren los órganos y cromatóforos hipodérmicos con un pigmento blanco.

Lo arrojado por ambos experimentos contradice lo reportado por Ewald (1969) quien adjudicó la coloración de los camarones a la alimentación, en este estudio se alimentaron a todos los animales con algas verdes y exhibieron morfotipos diferentes por efecto de la luz reflejada proporcionada por el sustrato.

Parisenti et al., (2011) reportaron que al colocar a camarones de la especie *Litopenaeus vannamei* en acuarios de color negro o blanco los camarones exhiben un cambio de coloración evidente, sin embargo no hubo cambios en la cantidad de astaxantina aun después de 30 días esto coincide con un cambio de coloración fisiológico. Durante el cambio de coloración morfológico las cantidades reales o

tipos de pigmentos aumentan o disminuyen tratando de imitar el color del sustrato. Esto fue observado en otros camarones carídeos, *Crangon crangon* mostró un aumento (50%) de cromatóforos negros luego de colocarlos en tanques con fondo negro y un aumento (200-300%) de cromatóforos blancos luego de colocarlos en tanques con fondo de este color produciendo que el tono general se modifique para coincidir con el fondo (Bauer, 2004).

Los morfotipos existentes de *Tozeuma carolinense* y los cambios de color resultantes juegan un papel significativo en el camuflaje. En los dos experimentos existieron cambios de coloración morfológicos, tanto los organismos que cambiaron en el experimento uno como los organismos del experimento dos.

Pudimos constatar que existió un cambio de coloración morfológico, porque si bien obtuvimos concentraciones similares de astaxantina entre tratamientos de ambos experimentos, hubo cambios en los tipos de pigmento de ambos experimentos. Los organismos del segundo experimento (camarones blancos) mostraron concentraciones de astaxantina menores en comparación a los camarones del primero (camarones verdes y marrones). Esto concuerda con lo expuesto por Noël y Chassard-Bouchaud (1994) donde describen que la coloración blanca en los decápodos podría deberse a pigmentos como pterinas o flavinas, ninguno sintetizado a base de astaxantina.

En los camarones del segundo experimento hubo una evidente disminución de cromatóforos visibles a lo largo del cuerpo, se notaba el cuerpo transparente con algunos cromatóforos blancos y con una coloración rojiza por debajo de la dermis, es posible que los pigmentos verde o marrón hayan sido degradados liberando la astaxantina (color rojo) y paralelamente se haya sintetizado el pigmento blanco. Sin embargo, sería necesario repetir los experimentos con camarones de la misma población para descartar diferencias genéticas entre los camarones flecha provenientes de las dos localidades. Los organismos no son capaces de sintetizar astaxantina *de novo*, así que la obtienen de la dieta (Ambati et al., 2014; Latscha, 1989). A la Astaxantina se han atribuido funciones de pigmentación, antioxidante, y fuente dietética de pro-vitamina A (Meyers and Latscha, 1997).

Paniagua-Michel y Liñan-Cabello (2000) sugieren que β - caroteno y la astaxantina y formas retinoides poseen la bioactividad necesario para la mejora de los procesos fisiológicos básicos, tales como la mejora observada de índice gonadosomático y hepatosomático. Los carotenoides son los únicos precursores biológicos de los retinoides en crustáceos, la importancia de los carotenoides como moléculas bioactivas reside en gran medida en su conversión a los retinoides que están implicados en la activación de receptores nucleares hormonales. Los retinoides juegan un papel prominente en muchos procesos del desarrollo, incluyendo el desarrollo embrionario y la diferenciación de diversos tipos de células (Liñan-Cabello, Paniagua-Michel y Hopkins, 2002).

Los comportamientos crípticos de especie *Tozeuma carolinense* han sido descritos por Main (1987). Este en nadar de manera vertical paralela a los pastos con el rostro hacia abajo (Video 1). Posteriormente Cournoyer y Cohen (2011) demostraron que cuando la coloración de los camarones coincide con el entorno son menos detectables para los depredadores (dicromaticos y tricromaticos). Esta tesis presenta el cambio de coloración (hacia el color del sustrato) como una estrategia no descrita anteriormente ya que imitando a los pastos tanto en color como en forma contribuye a disminuir la detección del animal y ser, por lo tanto, más eficiente en su camuflaje justificando la sub-representación reportada en la dieta de sus depredadores (Main, 1985).

Corroboramos con este estudio que estos camarones presentan astaxantina, que unida a una proteína (caroteno-proteína) dan la plasticidad para generar una amplia gama de colores. Más estudios son necesarios para identificar estas proteína así como las moléculas responsables de la cloración blanca (pterinas o flabinas).

CONCLUSIONES

Tozeuma carolinense puede cambiar su morfotipo por efecto de la luz reflejada

Tozeuma carolinense no cambia su morfotipo por efecto de la luz emitida.

El tipo de pigmento del camarón *Tozeuma carolinense* varía por efecto de la luz reflejada.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, J., Mäthger, L., Barbosa, A. y Hanlon, R. (2009). Cuttlefish use visual cues to control three-dimensional skin papillae for camouflage. *J Comp Physiol A*, 195(6), pp.547-555.
- Ambati, R., Moi, P., Ravi, S. y Aswathanarayana, R. (2014). Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications, A Review. *Marine Drugs*, 12(1), pp.128-152.
- Auerswald, L., Freier, U., Lopata, A. y Meyer, B. (2008). Physiological and morphological colour change in Antarctic krill, *Euphausia superba*: a field study in the Lazarev Sea. *Journal of Experimental Biology*, 211(24), pp.3850-3858.
- Bandaranayake, W. (2006). The Nature and Role of Pigments of Marine Invertebrates. *ChemInform*, 37(32).
- Bastida-Zavala, J., Beltrán-Torres, A., Gutiérrez-Aguirre, M. y Fuente-Betancourt, G. (2000). Evaluación rápida de los arrecifes parche de Majahual, Quintana Roo, México. *Revista biológica tropical*, 48(1), pp.137-143.
- Bauer, R. (2004). Coloration and color patterns. En: R. Bauer, ed., *Remarkable Shrimps: Adaptations and Natural History of the Carideans*, 1st ed. Norman: University of Oklahoma Press, pp.95-110.
- Brusca, R. C. y Brusca, G. J. (2003). *Invertebrates*, second edition. Sunderland, U.S.A: Sinauer Associates, Inc. pp.936
- Calvo, N.S., Martínez Moreno, G.L., Ugalde, D., Stefanini, M.I., Simões, N, Mascaro-Miquelajauregui, M. (2014). Evaluación preliminar de la influencia del sustrato en la coloración del camarón críptico *Tozeuma Carolinense* (Decapoda: Hippolytidae). En libro de resúmenes de la IX Reunión Nacional Alejandro Villalobos. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Mexico. p. 55
- Cournoyer, B. y Cohen, J. (2011). Cryptic coloration as a predator avoidance strategy in seagrass arrow shrimp color morphs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 402(1-2), pp.27-34.

- Endler, J. (2006). Disruptive and cryptic coloration. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1600), pp.2425-2426.
- Ewald, J.J. (1969). Observations on the biology of *Tozeuma Carolinense* (Decapoda, Hippolytidae) from Florida, with special reference to larval development. *Bulletin of Marine Science* 19, pp. 510-549.
- Fingerman, M. (1963). *The Control of Chromatophores*. Burlington: Elsevier Science.
- Getty, T. y Hazlett, B. (1978). Decoration Behavior in *Microphrys Bicornutus* (Latreille, 1825) (Decapoda, Brachyura). *Crustaceana*, 34(1), pp.105-108.
- Grinnell, A., Narins, P., Awbrey, F., Hamner, W. y Hamner, P. (1988). Eye/Photophore Coordination and Light-following in Krill, *Euphausia Superba*. *Journal of Experimental Biology*, 134, pp.61-77.
- Hacker, S. y Madin, L. (1991). Why habitat architecture and color are important to shrimps living in pelagic Sargassum: use of camouflage and plant-part mimicry. *Marine Ecology Progress Series*, 70, pp.143-155.
- Hays, C. (2005). Effect of nutrient availability, grazer assemblage and seagrass source population on the interaction between *Thalassia testudinum* (turtle grass) and its algal epiphytes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 314(1), pp.53-68.
- Heck Jr., K., Hays, G. y Orth, R. (2003). Critical evaluation of the nursery role hypothesis for seagrass meadows. *Marine Ecology Progress Series*, 253, pp.123-136.
- Herrera-Silveira, J. y Morales-Ojeda, S. (2009). Evaluation of the health status of a coastal ecosystem in southeast Mexico: Assessment of water quality, phytoplankton and submerged aquatic vegetation. *Marine Pollution Bulletin*, 59(1-3), pp.72-86.
- Hoang, T., Lee, S., Keenan, C. y Marsden, G. (2002). Spawning behaviour of *Penaeus (Fenneropenaeus) merguensis* de Man and the effect of light intensity on spawning. *Aquaculture Research*, 33(5), pp.351-357.

- Horinouchi, M., Mizuno, N., Jo, Y., Fujita, M., Sano, M. y Suzuki, Y. (2009). Seagrass habitat complexity does not always decrease foraging efficiencies of piscivorous fishes. *Marine Ecology Progress Series*, 377, pp.43-49.
- Houston, A., Stevens, M. y Cuthill, I. (2007). Animal camouflage: compromise or specialize in a 2 patch-type environment?. *Behavioral Ecology*, 18(4), pp.769-775.
- Hung-Pan, C., C. Yeh-Hu y J. Cheng. 2001. Effects of light regime, algae in the water and dietary astaxantin on pigmentation, growth and survival of black tiger prawn *Penaeus monodon* poslarvae. *Zool. Stud.*, 40(4): 371-382.
- Johnsen, S. (2002). Cryptic and conspicuous coloration in the pelagic environment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269(1488), pp.243-256.
- Johnsen, S. y M. Sosik, H. (2003). Cryptic coloration and mirrored sides as camouflage strategies in near-surface pelagic habitats: Implications for foraging and predator avoidance. *Limnol. Oceanogr*, 48(3), pp.1277-1288.
- Latscha, T. (1989). The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in tropical aquaculture, AQUACOP IFREMER Actes de Colloque*(9), pp.319-325.
- Levine, J. S. y MacNichol, E. F. (1979). Visual pigments in teleost fishes: effects of habitat, microhabitat, and behavior on visual system evolution. *Sensory Processes*, 3(2), pp.95-131.
- Maciá, S. y Robinson, M. (2009). Why be cryptic? Choice of host urchin is not based on camouflage in the caridean shrimp *Gnathophyllodes mineri*. *acta ethol*, 12(2), pp.105-113.
- Main, K. (1987). Predator Avoidance in Seagrass Meadows: Prey Behavior, Microhabitat Selection, and Cryptic Coloration. *Ecological Society of America*, 68(1), pp.170-180.

- Manríquez, K., Wells, R., Pardo, L. y Palma, A. (2008). Crypsis in *Paraxanthus Barbiger* (Decapoda: Brachyura): Mechanisms Against Visual Predators. *Journal of Crustacean Biology*, 28(3), pp.473-479.
- Marshall, J., Kent, J. y Cronin, T. (1999). Visual adaptations in crustaceans: Spectral sensitivity in diverse habitats. *Adaptive Mechanisms in the Ecology of Vision*, pp.285-327.
- Merilaita, S. (1998). Crypsis through disruptive coloration in an isopod. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 265(1401), pp.1059-1064.
- Mezzomo, N., Maestri, B., dos Santos, R., Maraschin, M. y Ferreira, S. (2011). Pink shrimp (*P. brasiliensis* and *P. paulensis*) residue: Influence of extraction method on carotenoid concentration. *Talanta*, 85(3), pp.1383-1391.
- Noël, P. Y. y Chassard-Bouchaud, C. (2004). Chromatophores and pigmentation. In *The Crustacea I* (ed. J. Forest and J. C. von Vaupel Klein), pp. 145-160. Leiden: Brill NV.
- Nowel, M., Shelton, P. y Herring, P. (1998). Cuticular Photophores of Two Decapod Crustaceans, *Oplophorus spinosus* and *Systellaspis debilis*. *Biological Bulletin*, 195(3), p.290.
- Palma, Á., Orrego, C. y Arriagada, M. (2003). Crypsis in early benthic phases of Brachyuran Decapod Crustaceans in central Chile. *Rev. chil. hist. nat.*, 76(2).
- Paniagua-Michel, J. y Liñan-Cabello, M., 2000. Carotenoids and retinoids metabolites as precursors of receptors-specific bioactive compounds. *Advances in shrimp*. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, Mexico.

- Parisenti, J., Beirão, L., Vieira, F., Buglione, C. y Maraschim, M. (2011). Effect of the background color on shrimp pigmentation. *Bol. Inst. Pesca*, 37(2), pp.177-182.
- Ribeiro, M. y McNamara, J. (2007). Calcium movements during pigment aggregation in freshwater shrimp chromatophores. *Pigment Cell Research*, 20(1), pp.70-77.
- Ruxton, G. y Stevens, M. (2015). The evolutionary ecology of decorating behaviour. *Biol. Lett.*, 11(6), p.20150325.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, (2002). Programa de manejo, reserva de la biosfera, Ría Celestún. Distrito Federal, México, pp. 8-17.
- Stevens, M. y Merilaita, S. (2009). Animal camouflage: current issues and new perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1516), pp.423-427.
- Stevens, M., Rong, C. y Todd, P. (2013). Colour change and camouflage in the horned ghost crab *Ocypode ceratophthalmus*. *Biol J Linn Soc Lond*, 109(2), pp.257-270.
- Teyssier, J., Saenko, S., van der Marel, D. y Milinkovitch, M. (2015). Photonic crystals cause active colour change in chameleons. *Nature Communications*, 6, p.6368.
- Vega Villasante, F., Martínez Ochoa, E., García Guerrero, M. y Arrona Ortiz, J. (2015). Efecto de diferentes intensidades de luz sobre la expresión de cromatoforos, crecimiento y supervivencia en juveniles de *Macrobrachium tenellum*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43(1), pp.255-261.
- Vestheim, H. y Kaartvedt, S. (2006). Plasticity in coloration as an antipredator strategy among zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 51(4), pp.1931-1934.
- Wicksten, M. (1993). A Review and a Model of Decorating Behavior in Spider Crabs (Decapoda, Brachyura, Majidae). *Crustaceana*, 64(3), pp.314-325.

Zar, J. (2010). Biostatistical analysis. 5ta edición. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall.

Zhang, P., Zhang, X., Li, J. y Huang, G. (2006). The effects of body weight, temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, 256(1-4), pp.579-587.

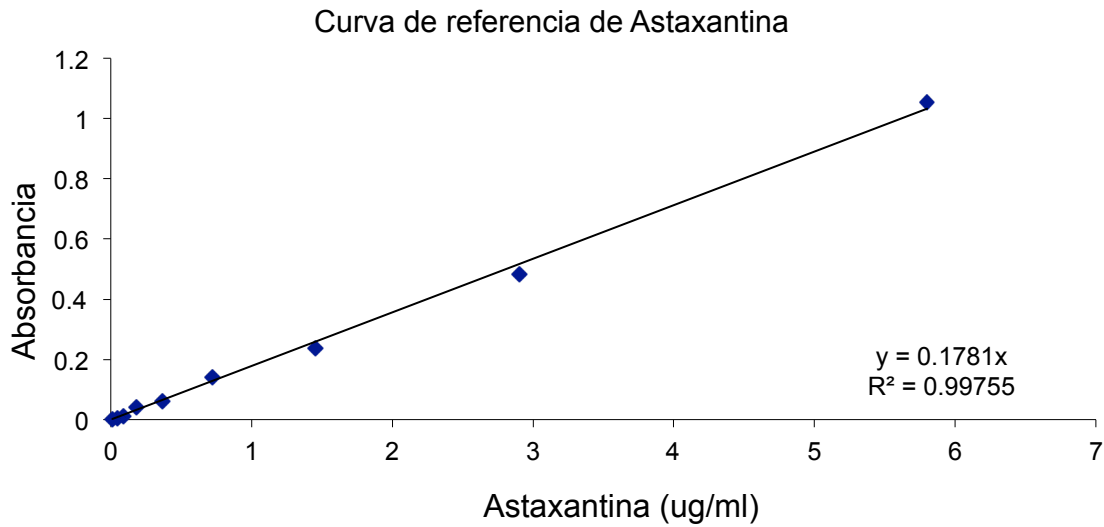
ANEXO

Técnica de extracción de astaxantina

Los camarones se colocan en baño maría a 70°C por 10 minutos con la finalidad de liberar a la astaxantina (2ml) de cualquier unión posible con otras moléculas, luego son colocados en tubos viales y congelados a -80°C. Luego se quita la tapa y se coloca parafilm, se agujera y posteriormente son colocados en la liofilizadora para extraer todas las partículas de agua existentes en el cuerpo del camarón.

Ya totalmente secos, los organismos son pesados. Cada muestra es molida utilizando un mortero de cerámica y tamizada (100µm) para garantizar la homogeneidad de la muestra. Para la detección de astaxantina la masa seca mínima requerida es de 30mg. En tubos de centrifuga negros de 15ml se colocan de 30 a 50mg del homogenato y 15ml de acetona, consecutivamente son colocados en baño ultrasónico por 10 minutos para facilitar la extracción. Los tubos son refrigerados a 4°C por 20 minutos y colocados en la centrifuga por 10 minutos a 5000rpm.

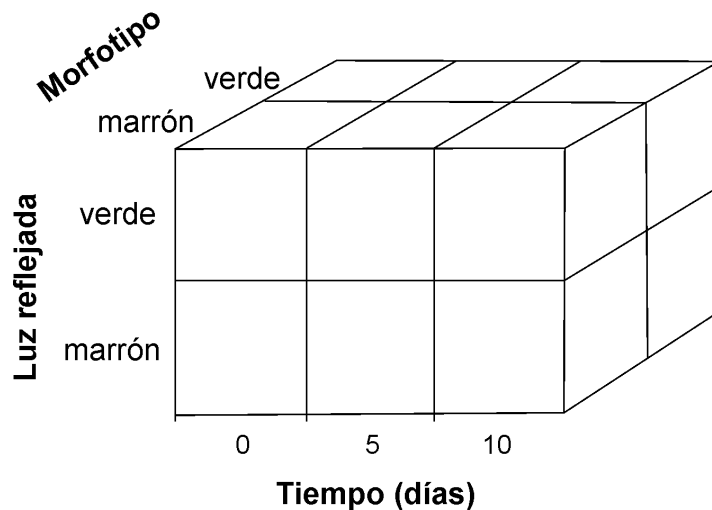
El sobrenadante de cada muestra es colocado en un frasco de cristal ámbar y secado para extraer el solvente en rotavapor (60atm y 25°C). Finalmente la muestra es resuspendida en 3ml de Dimetil Sulfóxido (DMSO), y medida en espectrofotómetro ($\lambda=490$). Para poder obtener la concentración de astaxantina es necesario comparar los valores obtenidos con una curva de referencia, realizada con concentraciones conocidas preparadas utilizando un patrón de astaxantina comercial (Cayman, 97% de pureza).



Anexo Figura 1. Curva de referencia de astaxantina utilizado para calcular la concentración de astaxantina de las muestras (astaxantina (μg) = absorbancia/0.1781).

Chi-cuadrada de tres dimensiones

La prueba χ^2 de tres dimensiones es una prueba no paramétrica utilizada para probar la independencia entre tres variables, mediante la presentación de los datos en tablas de contingencia.



Anexo Figura 2. Diagrama de tabla de contingencia del experimento 1. Las variables fueron “morfotipo de camarón” con 2 niveles (verde y marrón), “luz reflejada” con 2 niveles (verde y marrón) y “tiempo de exposición” con 3 niveles (0, 5 y 10 días).

La prueba estadística de Chi-cuadrada tridimensional pone a prueba la hipótesis de independencia entre las variables (prueba de mutua independencia). Luego se pone a prueba la independencia de cada variable con las restantes (análisis de correlación parcial, Anexo Tabla 1).

Anexo Tabla 1. Hipótesis nulas propuestas para ambos experimentos.

Prueba	Interpretación
Prueba de mutua independencia	H ₀ No existe asociación entre las diferentes variables (tiempo, morfotipo y luz)
Análisis de correlación parcial (Morfotipo)	H ₀ El morfotipo es independiente de las combinaciones de tiempo y luz
Análisis de correlación parcial (Luz reflejada)	H ₀ La luz es independiente de las combinaciones de tiempo y morfotipo
Análisis de correlación parcial (Tiempo)	H ₀ El tiempo es independiente de las combinaciones de morfotipo y luz

Chi cuadrada tridimensional del Efecto de la luz reflejada

La prueba estadística de Chi-cuadrada tridimensional mostro que no hay independencia entre las variables morfotipo, tiempo y luz reflejada (Prueba de mutua independencia; $\chi^2=20.55$; $p=0.004$). Los análisis de correlación parcial mostraron inconsistencias ya que el morfotipo mostró dependencia de las otras dos variables ($\chi^2=20.48$; $p = 0.001$) y ningunas de las otras dos variables mostro dependencias (Anexo Tabla 2).

Se esperaba que tanto el tiempo como la luz reflejada fueran dependientes de las otras dos variables ya que el cambio de coloración ocurrió en el tiempo y por

efecto del tratamiento, sin embargo no fue significativo. Es posible que la merma en el número de organismos para el tiempo final haya afectado este análisis. Con el objetivo de resolver esta inconsistencia de llevo a cabo una segunda prueba de Chi cuadrada de dos dimensiones como se explica en materiales y métodos.

Anexo Tabla 2. Prueba de Chi cuadrada tridimensional del experimento 1 Luz reflejada.

Prueba	χ^2	g.l	p	Interpretación
Prueba de mutua independencia	20.55	7	0.004*	El tiempo, el morfotipo y la luz reflejada no son independientes entre sí
Análisis de correlación parcial (Morfotipo)	20.48	5	0.001*	El morfotipo no es independiente de la luz reflejada y el tiempo
Análisis de correlación parcial (Luz reflejada)	9.65	5	0.08	La luz reflejada es independiente del tiempo y morfotipo
Análisis de correlación parcial (Tiempo)	11.20	6	0.082	El tiempo es independiente del morfotipo y la luz reflejada

*simboliza diferencias significativas entre las frecuencias observadas y las esperadas por azar.

Chi cuadrada tridimensional del Efecto de la luz emitida

La prueba estadística de Chi-cuadrada tridimensional mostro que no hay independencia entre las variables morfotipo, tiempo y luz emitida (Prueba de mutua independencia; $\chi^2=73.78$; $p<0.05$). Los análisis de correlación parcial de las variables morfotipo y tiempo mostraron independencia de las otras dos variables ($\chi^2=35.77$, $p<0.05$; $\chi^2=78.40$, $p<0.05$, respectivamente; Anexo Tabla 3).

Anexo Tabla 3. Prueba de Chi cuadrada tridimensional del experimento 2 Luz emitida.

Prueba	χ^2	g.l	p	Interpretación
Prueba de mutua independencia	73.78	12	p<0.05*	El morfotipo, el tiempo y la luz emitida no son independientes entre sí
Análisis de correlación parcial (Morfotipo)	35.77	10	p<0.05*	El morfotipo no es independiente de la luz emitida y el tiempo
Análisis de correlación parcial (Luz emitida)	0.129	5	p>0.05	La luz emitida es independiente del tiempo y del morfotipo
Análisis de correlación parcial (Tiempo)	78.40	10	p<0.05*	El tiempo no es independiente del morfotipo y la luz emitida

*simboliza diferencias significativas entre las frecuencias observadas y las esperadas por azar