



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCIENCIAS

**EFFECTO DE LA ESTACIONALIDAD Y LA
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO
EN LA BIOQUÍMICA DEL *rigor mortis*
DE LA ALMEJA MANO DE LEÓN
Nodipecten subnodosus CULTIVADA**

TESIS

Para obtener el grado de:

DOCTOR EN BIOCIENCIAS

Presenta:

EDGAR IVÁN JIMÉNEZ RUIZ

Hermosillo, Sonora, México

Junio de 2012

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess



UNIVERSIDAD DE SONORA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS**

POSGRADO EN BIOCIENCIAS

**EFFECTO DE LA ESTACIONALIDAD Y LA
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO
EN LA BIOQUÍMICA DEL *rigor mortis*
DE LA ALMEJA MANO DE LEÓN
Nodipecten subnodosus CULTIVADA**

TESIS

Para obtener el grado de:

DOCTOR EN BIOCIENCIAS

Presenta:

EDGAR IVÁN JIMÉNEZ RUIZ

Hermosillo, Sonora

Junio de 2012

“Efecto de la Estacionalidad y la Temperatura de Almacenamiento en la Bioquímica del *rigor mortis* de la Almeja Mano de León *Nodipecten subnodosus* Cultivada”

TESIS

para obtener el grado de:

DOCTOR EN BIOCENCIAS

Presenta:

EDGAR IVÁN JIMÉNEZ RUIZ

Hermosillo, Sonora

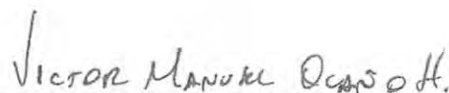
Junio de 2012

APROBACIÓN

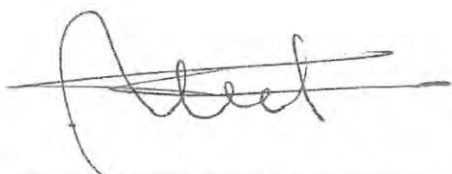
Los miembros del Comité designado para revisar la tesis intitulada “Efecto de la Estacionalidad y la Temperatura de Almacenamiento en la Bioquímica del *rigor mortis* de la Almeja Mano de León *Nodipecten subnodosus* Cultivada” presentada por el Maestro en Ciencias Edgar Iván Jiménez Ruiz, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Biociencias con especialidad en Biociencias Moleculares.



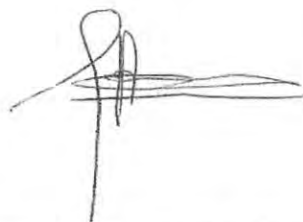
Dr. Alejandro Varela Romero
Co-Director



Dr. Víctor M. Ocaño Higuera
Co-Director



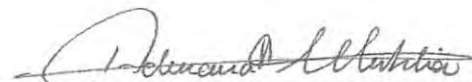
Dra. Ma. Guadalupe Burboa Zazueta
Sinodal Secretario



Dr. Alfonso N. Maeda Martínez
Sinodal



Dr. Francisco J. Castillo Yáñez
Sinodal



Dra. Adriana Muhlia Almazán
Sinodal

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico a toda mi familia tanto de sangre, como adoptiva, que siempre han estado conmigo en las buenas, en las malas y en las peores...me llenan de orgullo al hacerme sentir parte de ellos.

Una especial dedicación para mis abuelos paternos: Doña Margarita Barreiro y Don Félix Jiménez, que gracias a Dios me los sigue prestando con vida para llenarme la mía misma con consejos, vivencias y sobre todo cariño. A los que desde el cielo me siguen guiando en este camino: Doña María Astorga y Don Rosario Ruiz. A mi padre Félix Jiménez Barreiro por darme la vida y enseñarme antes que nada el valor de la humildad, a mi hermana Belén Jiménez por su cariño y apoyo. Por supuesto, a mi madre Blanca Flora Ruiz Astorga, porque con toda su humildad y autenticidad de una persona orgullosamente “de rancho”, ha sabido transmitir y enseñarme tantas cosas que no se encuentran en libros ni escuelas, las cuales me han forjado y me siguen haciendo cada vez mejor persona.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico otorgado para financiar mi posgrado y la realización de este trabajo con el proyecto 59898.

A la Universidad de Sonora (UNISON) y al Posgrado en Biociencias del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, por aceptarme y permitir desarrollar mi potencial como estudiante de Doctorado.

Al Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la UNISON, por permitirme ser parte en el proyecto del cual se desprende el presente trabajo. A todos los colaboradores del Laboratorio de Investigación en Alimentos, en especial a la Dra. Abril Graciano, al “Maestro” Q.B. César Otero y el Ing. Gerardo Ruiz, gracias por el apoyo brindado. A mis “hermanas académicas” Q.A. Nathaly Montoya y Q.B. Dalila Canizales por su amistad y cariño y todos esos momentos compartidos.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, en especial al grupo de trabajo del Dr. Alfonso Maeda y la Dra. Teresa Sicard en el Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos, al MC Armando Monge, Ing. Julio Félix y MC Gilberto González, gracias por recibirme como “en casa” y por todo el apoyo incondicional, asesoría y amistad durante mi estancia. Al Laboratorio de Histología e Histoquímica, por el apoyo durante los análisis físicos por parte de la MC Ma. del Carmen Rodríguez y Ma. Eulalia Meza.

A todo el grupo de trabajo del sistema de cultivo de almeja mano de león manejado por Marimex del Pacífico, en especial al MC Ramón Arce y al personal del CIBNOR: MC Horacio Verbera, Tec. Enrique Calvillo y Tec. Juan José Ramírez, por todo el apoyo durante el muestreo de los organismos experimentales a lo largo de un año. A la familia Patrón Astorga, por recibirme y apoyarme durante mis muestreos en Bahía Tortugas, B.C.S., gracias tíos y primos.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, en especial al Laboratorio de Fisiología de Invertebrados Marinos de la Dra. Silvia Gómez y los técnicos MC Alonso López y al Ecol. Mar. Alberto Molina, así como al Laboratorio de Productos Pesqueros, de Productos Cárnicos y de Biología Molecular de Organismos Acuáticos manejados por la MC Ma. Elena Lugo, el MC Martín Valenzuela y la MC Karina García, gracias por las facilidades otorgadas para la realización de parte de los análisis bioquímicos.

Al Comité de Tesis: Dra. Adriana Muhlia, Dra. María Guadalupe Burboa, Dr. Francisco Javier Castillo, Dr. Alfonso N. Maeda, en especial a mis co-directores Dr. Alejandro Varela y al Dr. Víctor Manuel Ocaño, por permitirme trabajar bajo su asesoría, creer en mi para realizar el presente trabajo y brindarme su apoyo y consejos no sólo en lo académico, sino también en lo personal.

A mi familia, por la paciencia para seguirme respaldando en este trayecto con su apoyo, consejos y cariño, en especial a mi madre Blanca Flora Ruiz Astorga, por heredarme esa fortaleza para salir adelante a pesar de cualquier situación adversa.

A todas esas personas que a pesar de la distancia o el tiempo siempre me han brindado su apoyo y amistad, además de permitirme tomar parte en sus vidas y que forman parte de la mía de una u otra manera...muchas gracias Amigos, Compañeros y Familias que me han adoptado como parte de ellos mismos.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE	v
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
2.1. Generalidades de la Especie	4
2.2. Distribución y Hábitat	4
2.3. Producción y Pesquería	7
2.4. Aspectos de la Biología y Estrategias de Reproducción	16
2.5. Fisiología y su Relación con Factores Físicos y Biológicos	19
2.6. Indicadores para Evaluar la Condición Fisiológica	21
2.6.1. Reservas de glucógeno	21
2.6.2. Carga energética adenilada (CEA)	21
2.6.3. Índice de rendimiento muscular (IRM)	22
2.6.4. Índice gonádico (IG)	23
2.7. <i>Rigor Mortis</i>	24
2.7.1 Generalidades	24
2.7.2. Procesos <i>post mortem</i> relacionados	26
2.7.2.1. Disminución de pH	26
2.7.2.2. Producción y utilización de energía	28
2.7.2.3. Desnaturalización de proteínas	31
2.7.2.4. Deterioro bacteriano	32
2.7.3. Factores que influyen en el desarrollo del <i>rigor mortis</i>	33
2.7.3.1. Especie	34
2.7.3.2. Condiciones <i>ante mortem</i>	35
2.7.3.3. Temperatura de almacenamiento	38

2.7.4. Métodos de seguimiento del <i>rigor mortis</i>	39
2.7.4.1. Métodos físicos	39
2.7.4.2. Métodos mecánicos	40
2.7.4.3. Métodos bioquímicos	42
2.7.5. Efecto del <i>rigor mortis</i> sobre la calidad del producto final	44
III. HIPÓTESIS	47
IV. OBJETIVOS	48
4.1. Objetivo General	48
4.2. Objetivos Particulares	48
V. MATERIALES Y MÉTODOS	49
5.1. Organismos Experimentales	49
5.2. Experimento de Almacenamiento	50
5.3. Índice de Rendimiento Muscular y Gonadal	50
5.4. ATP, ADP y AMP	50
5.5. CEA	50
5.6. Glucógeno	51
5.7. Arginina Fosfato	51
5.8. Arginina y Octopina	51
5.9. Ácido Láctico	52
5.10. pH	52
5.11. Longitud del Sarcómero	52
5.12. Diseño Experimental y Análisis de Datos	53
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
6.1. Índice de Rendimiento Muscular y Gonadal	55
6.2. ATP, ADP y AMP	57
6.3. CEA	63
6.4. Glucógeno	65
6.5. Arginina Fosfato	67
6.6. Arginina	70
6.7. Ácido Láctico	72

6.8. Octopina	75
6.9. pH	78
6.10. Longitud de Sarcómero	81
VII. CONCLUSIONES	84
VIII. RECOMENDACIONES	85
IX. LITERATURA CITADA	86

RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar el efecto de la estacionalidad y de la temperatura de almacenamiento sobre los principales metabolitos y parámetros relacionados con el *rigor mortis* de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. Asimismo, se evaluó el impacto del transporte de los organismos desde la laguna de cultivo hasta el lugar de sacrificio sobre estos metabolitos y parámetros. Adicionalmente, se midieron indicadores fisiológicos como el índice de rendimiento muscular (IRM) y el índice gonadal (IG) en los organismos iniciales (cosecha) y la carga energética adenilada (CEA) en la etapa de cosecha y *post*-transporte. Los metabolitos y parámetros evaluados fueron: ATP, ADP, AMP, glucógeno, arginina fosfato, arginina, ácido láctico, octopina, pH y longitud del sarcómero. Su análisis se realizó en los organismos iniciales, *post*-transporte y durante 48 h de almacenamiento a 0, 5 y 10 °C, con muestreos cada 8 h. La estación afectó el IRM, el IG y los niveles iniciales de ATP, ADP, AMP, CEA, glucógeno, arginina fosfato, octopina y el pH. El transporte de los organismos sólo influyó sobre los valores de ATP y CEA en primavera, verano y otoño, los valores de ADP en primavera y los de AMP en primavera y otoño. Durante el almacenamiento a 0 °C la concentración de ATP fue menor que las concentraciones cuantificadas a 5 y 10 °C, donde se presentó una regeneración de energía *post mortem* a las 8 h, por acción de la enzima arginina cinasa y esto coincidió con los resultados obtenidos para la arginina y arginina fosfato. Se presentó una degradación de glucógeno durante el almacenamiento confirmando la importancia de este metabolito como suministro o reserva de energía aún en las etapas *post mortem*; dicha degradación fue mayor a 5 y 10 °C. De acuerdo a los análisis de ácido láctico, octopina y pH, se observó una acidificación muscular independiente de la producción del primero. La determinación de longitud del sarcómero mostró que el *rigor mortis* fue menor a 5 y 10 °C para las cuatro estaciones. En general, los resultados demostraron que la temperatura presentó un efecto importante sobre los valores de todos los metabolitos y parámetros evaluados. Sin embargo, aunque la estacionalidad afectó los valores iniciales de algunos metabolitos y parámetros, se concluye que esta no mostró un impacto importante sobre sus valores durante el almacenamiento, ya que en general se observó un efecto similar para las tres temperaturas evaluadas. Además, debido a que se encontraron resultados muy similares a 5 y 10 °C, se sugiere que la temperatura adecuada para el almacenamiento es 5 °C durante la etapa inicial del *rigor mortis* y después reducirla a 0 °C si se va a comercializar en fresco.

ABSTRACT

The main objective of this study was to evaluate the effect of seasonality and storage temperature on the main metabolites and parameters related to *rigor mortis* of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus*. Also, the impact of organisms transport from the farming lagoon to the slaughter point on these metabolites and parameters was evaluated. In addition, physiological indicators, the muscular yield index (MYI) and gonadosomatic index (GI) in the initial organisms (harvest) and the adenylic energetic charge (AEC) at the *post*-harvest and transport stage were measured. The metabolites and parameters ATP, ADP, AMP, glycogen, arginine phosphate, arginine, lactic acid, octopine, pH and sarcomere length were evaluated, and their analysis on the initial organisms, *post*-transport and storage stage for 48 h at 0, 5 and 10 °C, with sampling every 8 h were carry out. Season affected the MYI, GI and the initial values of ATP, ADP, AMP, AEC, glycogen, arginine phosphate, octopine and pH. Transportation only influenced the ATP and AEC values in spring, summer and autumn, ADP values in spring and AMP values in spring and autumn. During the 0 °C storage, ATP concentration was lower than the concentrations quantified at 5 and 10 °C, where there was a *post mortem* energy regeneration at 8 h by arginine kinase action, and this coincided with results obtained from the arginine phosphate and arginine analysis. There was glycogen degradation during storage, confirming the importance of this metabolite as a supply or energy reserve even in the *post mortem* stage; such degradation was higher at 5 and 10 °C. According to the lactic acid, octopine and pH analysis, a muscular acidification independent of lactic acid production was observed. Sarcomere length determination showed a minor *rigor mortis* at 5 y 10 °C in all seasons. Overall, results demonstrated a significant effect of temperature on the metabolites and parameters evaluated. However, although season affected the initial values on some metabolites and parameters, it is concluded that it did not show a significant impact of their values during storage, since in general similar effect for the three temperatures was observed. Also, because there were found similar results at 5 and 10 °C, the best storage option of the abductor muscle is 5 °C during the *rigor mortis* initial stage and then decrease it to 0 °C, if it is focused to the fresh market.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Morfología externa de la almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> en la etapa adulta	5
2	Anatomía general de la almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i>	6
3	Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Pacífico Este, del Golfo de México y Caribe	8
4	Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Pacífico Este y del Atlántico Oeste	9
5	Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Pacífico Sureste y del Atlántico Suroeste	10
6	Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Atlántico Noreste y del Mediterráneo	11
7	Complejo lagunar de Guerrero Negro, en Baja California Sur, México. El recuadro muestra la Laguna Ojo de Liebre	12
8	Sitios de captura y cultivo de pectínidos en México	14
9	Producción anual de músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> en la Laguna de Guerrero Negro y Laguna Ojo de Libre, Baja California Sur, México	15
10	Esquematación del proceso de <i>rigor mortis</i> y procesos relacionados	25
11	Principales enzimas y metabolitos relacionados con la obtención de energía anaeróbica <i>post mortem</i> en organismos acuáticos invertebrados	29
12	Concentración de ATP en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	58
13	Concentración de ADP en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	59
14	Concentración de AMP en el músculo abductor de almeja mano de	

	león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	60
15	Concentración de glucógeno en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	66
16	Concentración de arginina fosfato en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	68
17	Concentración de arginina en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	71
18	Concentración de ácido láctico en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	73
19	Concentración de octopina en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	76
20	Valores de pH en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	79
21	Longitud del sarcómero en el músculo abductor de almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C	82

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Índices fisiológicos evaluados en el músculo abductor de la almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> cosechada en las distintas estaciones del año	56

I. INTRODUCCIÓN

La almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* representa uno de los recursos pesqueros más importantes en la Península de Baja California (B.C.S.), México, por su tamaño, exquisito sabor y alto precio de su músculo abductor. Esta almeja puede alcanzar una talla máxima de 22 cm de alto, un peso del organismo entero con concha de 2 kg y un músculo abductor de 250 g con un costo aproximado de \$200 MXN/kg (Chung y Merrit, 1991; Ocaño-Higuera, 1999; Massó-Rojas, com. pers.). En lo que respecta a su producción, los valores se incrementaron significativamente en la década de los 90's, de 35 ton producidas en 1993 hasta las 157 ton obtenidas en 1999. Sin embargo, en el año 2000 su producción disminuyó a 120 ton, lo cual se debió a la sobreexplotación de la especie en años anteriores (Massó-Rojas *et al.*, 2001). Posteriormente, hubo un aumento nuevamente en la producción a partir del año 2004, estabilizándose en los últimos años con valores mayores a 200 ton anuales (Carta Nacional Pesquera, 2010). Actualmente, debido a sus características de sabor, peso, tamaño y precio, así como de su alta tasa de crecimiento, se ha despertado el interés de los acuicultores por consolidar toda la cadena productiva de esta especie, lo cual involucra desde la producción de semilla hasta su comercialización (Massó-Rojas, com. pers.).

Hoy en día, en México los únicos sitios de cultivo de almeja mano de león se encuentran ubicados en la costa oeste de la Península de Baja California, México, en donde los organismos están expuestos a fluctuaciones de temperatura durante el año. Estas fluctuaciones generan diferentes situaciones de estrés en los organismos, por lo que tienen que realizar compensaciones fisiológicas para que sus órganos funcionen adecuadamente y puedan sobrevivir ante las diferentes condiciones imperantes en el medio. Para lograrlo, se ven obligados a consumir sus reservas energéticas, que se almacenan en el tejido en forma de glucógeno, proteínas y grasas. Sin embargo, si el nivel de estrés producido por la temperatura es muy elevado, pueden llegar a auto-consumir sus propios tejidos (Maeda-Martínez *et al.*, 2001; Ocaño-Higuera *et al.*, 2011b).

Uno de los principales cambios *post mortem* en organismos acuáticos destinados al consumo humano es el denominado *rigor mortis*, que ha sido estudiado debido al impacto que tiene sobre la calidad y vida de anaquel del producto alimenticio final. El *rigor mortis* consiste en el paso del músculo de un estado relajado a uno rígido e inflexible, donde se involucran una gran variedad de reacciones y producción de metabolitos (Huss, 1995). Existen estudios donde se ha evaluado el efecto de las condiciones *ante mortem* en el desarrollo de este importante proceso *post mortem*. Los estudios se han llevado a cabo principalmente en peces como el salmón del Atlántico, *Salmo salar* o la carpa común, *Cyprinus carpio* (Kiessling *et al.*, 2006; Roth *et al.*, 2006; Mørkøre *et al.*, 2008, Durán *et al.*, 2008), aunque también existen investigaciones al respecto que se han realizado con especies que no son del ambiente acuático como porcinos, bovinos, aves, entre otros (Sams y Dzuik, 1999; Graziotti *et al.*, 2000; Novelo-Barrera *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010). Con respecto a los productos relacionados con las pesquerías y acuicultura, los principales factores *ante mortem* evaluados han sido la temperatura de aclimatación o desarrollo de los organismos (relacionada a su vez con la estacionalidad o época de captura), el estrés y el ayuno. Además, se ha descrito para algunas especies como la carpa común, *Cyprinus carpio* (Hwang *et al.*, 1991), sardina japonesa, *Sardinops melanosticta* y macarela del Pacífico, *Pneumatophorus japonicus japonicus*, jurel del Pacífico, *Pneumatophorus japonicus* (Watabe *et al.*, 1989), tilapia, *Oreochromis* spp. (Tomé *et al.*, 2000), que las condiciones de almacenamiento afectan los procesos *post mortem* como el *rigor mortis*.

Los resultados para las condiciones *ante-* y *post mortem* muestran que su efecto sobre el *rigor mortis* esta influenciado a su vez por otros factores como por ejemplo el nivel de estrés previo a la muerte del organismo (Roth *et al.*, 2006), el método de sacrificio (Digre *et al.*, 2011) o de fileteado (Skjervold *et al.*, 2001; Birkeland *et al.*, 2007), entre otros. Al referirnos específicamente a la temperatura, ya sea de aclimatación (o desarrollo en organismos silvestres) ó de almacenamiento, se ha considerado que la diferencia entre estos dos es el factor más importante en el desarrollo del *rigor mortis*. Al respecto se ha observado un *rigor mortis* más pronunciado cuando la diferencia entre ambas temperaturas es mayor (Abe y Okuma, 1991; Hwang *et al.*, 1991; Jerrett *et al.*, 2002). Por lo anterior, el estudio y entendimiento de los aspectos bioquímicos y eventos relacionados con este proceso son

importantes para determinar las condiciones apropiadas de manejo pre- y *post*-captura de las especies de origen acuático utilizadas como alimento para el humano, lo cual a su vez podría resultar en un mayor y mejor aprovechamiento de las mismas.

Para la almeja mano de león se desconoce de qué manera las condiciones estacionales y la temperatura de almacenamiento afectan los principales metabolitos y parámetros relacionados con el proceso de *rigor mortis* en el músculo abductor. Por esto, el objetivo principal del presente trabajo fue evaluar el efecto de la estacionalidad y la temperatura de almacenamiento sobre los cambios bioquímicos y estructurales del *rigor mortis* en la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*.

II. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de la Especie

La almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835) pertenece a la familia Pectinidae, que a diferencia de otros bivalvos tienen la capacidad de nadar, poseen branquias acondicionadas para llevar a cabo la filtro-alimentación, así como un músculo abductor, un pie reducido, no cuentan con sifones y presentan hermafroditismo. En las Figuras 1 y 2 se muestran detalles característicos de la morfología externa de la almeja mencionadas en esta sección. Esta especie, al igual que todos los pectínidos tiene una concha con dos valvas comprimidas y articuladas dorsalmente, dicha concha es muy grande, fuerte, gruesa, convexa y sólida. Es equivalva y la ornamentación externa del disco está formada por costillas radiales anchas en formas redondeado-rectangulares y espaciadas uniformemente. Posee 9 costillas en la valva izquierda, alternando una o más series de nódulos, mientras que la valva derecha posee de 9 a 10 costillas que carecen de nódulos (Peña, 2001). Algunos organismos alcanzan una longitud de 218 mm (Félix-Pico *et al.*, 1999) y un peso con concha de 1,863 g (Reinecke, 1996).

2.2. Distribución y Hábitat

Las especies de la familia Pectinidae se distribuyen por todo el mundo. Existen alrededor de 350 especies de pectínidos y solo cerca de 15 son consideradas de importancia económica. Es posible que exista la pesca de más especies, sin embargo, su captura solo se realiza a un nivel que permite cubrir el consumo local, o bien, con volúmenes de pesca tan bajos que no han sido incluidos oficialmente en las estadísticas o que simplemente no se tiene un registro de los mismos. Las especies más importantes comercialmente habitan en aguas costeras sobre plataformas continentales (Bullough, 1958; Brand, 1991; González-Anativia, 2001). Entre estas podemos mencionar principalmente a la vieira reina, *Aequipecten opercularis* (Linnaeus 1758), vieira tehuelche, *Aequipecten tehuelchus* (d'Orbigny 1846), almeja concha de abánico,



Figura 1. Morfología de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* en la etapa adulta.

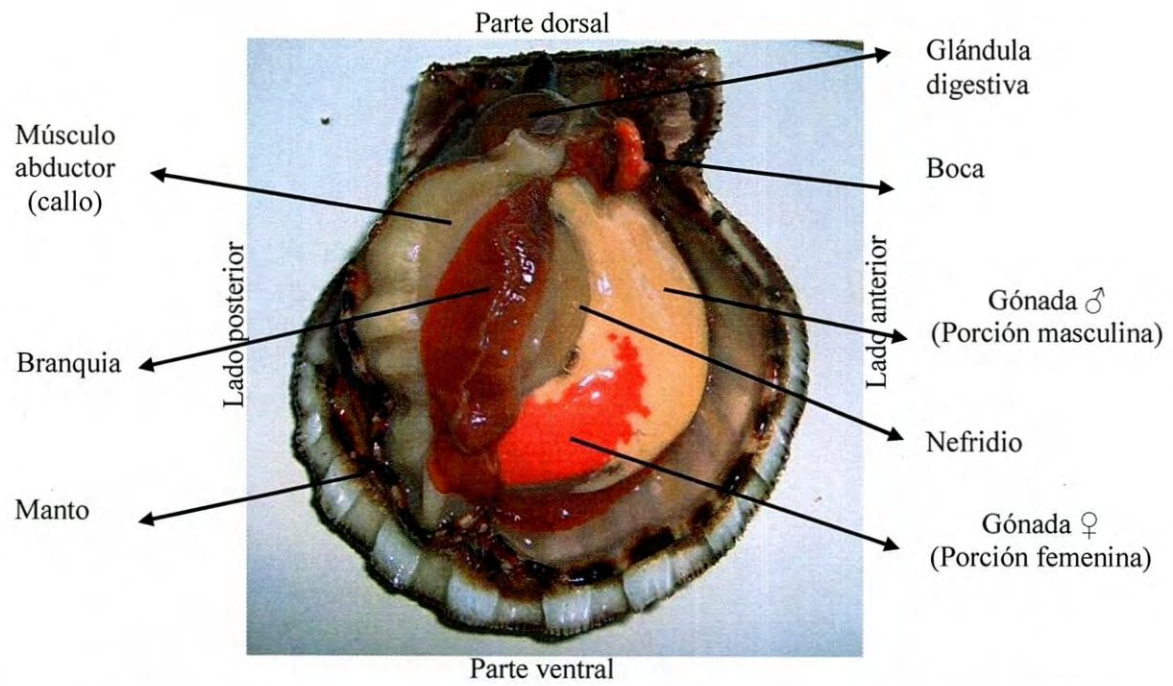


Figura 2. Anatomía general de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Rupp *et al.*, 2011).

Argopecten purpuratus (Lamarck 1819), vieira papiro, *Amusium papyraceum* (Gabb 1873), almeja catarina, *Argopecten ventricosus* (Sowerby II 1842), vieira patagónica *Zygochlamys patagonica* (King y Broderip 1832), zamburiña, *Chlamys (Chlamys) varia* (L. 1758), almeja voladorá, *Euvola vogdesi* (Arnold 1906), vieira zigzag, *Euvola ziczac* (L. 1758), vieira tropical, *Nodipecten nodosus* (L. 1758), almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* (Sowerby 1835), vieira común *Pecten (Pecten) jacobaeus* (L. 1758) y la almeja concha de pregrino, *Pecten (Pecten) maximus* (Linné 1758). En las Figuras 3, 4, 5 y 6 se presenta la distribución de estas especies de pectínidos en la región de Iberoamérica (Peña, 2001).

En el Pacífico mexicano existen varias especies de pectínidos entre las que podemos mencionar principalmente a *Argopecten ventricosus*, *Pecten vogdesi* y *Nodipecten subnodosus*. De éstas tres especies, una de las más importantes en lo que se refiere al valor del producto final obtenido es la almeja *Nodipecten subnodosus* conocida como mano o garra de león. Esta última especie se distribuye desde la laguna Ojo de Liebre en B.C.S., México (incluyendo el Golfo de California) hasta las costas del Perú (Keen, 1971) y habita en fondos arenosos (Smith, 1991) en lagunas y bahías desde la zona de mareas hasta los 110 m de profundidad (Alamo y Valdivieso, 1987) en canales profundos con fuertes corrientes de agua (García-Pámanes *et al.*, 1994). Debido a que éste es su hábitat preferido y que normalmente está asociado a corrientes definidas y bajas temperaturas, su mayor rendimiento pesquero se presenta en la región de los alrededores de Guerrero Negro, B.C.S., México (Figura 7). Por lo tanto, cualquier esfuerzo pesquero para llevar a cabo la extracción comercial de la especie en sitios alejados de esta área debería ser minuciosamente analizada. En esta región, el área de desarrollo principal de la especie se presenta en la laguna Ojo de Liebre, donde se pueden encontrar poblaciones con densidades de 4 a 12 individuos por cada 10 m² y generalmente asociadas a “camas” de pastos marinos de la especie *Zoostera marina* (Massó-Rojas *et al.*, 2001).

2.3. Producción y Pesquería

La estadística más reciente sobre la producción de pectínidos a nivel mundial indican un total de 1'583,629 ton métricas en el 2009. Hasta el año 2008, la producción de estas especies ocupaba el 4to lugar con respecto a la producción total de moluscos en el mundo (FAO, 2010).

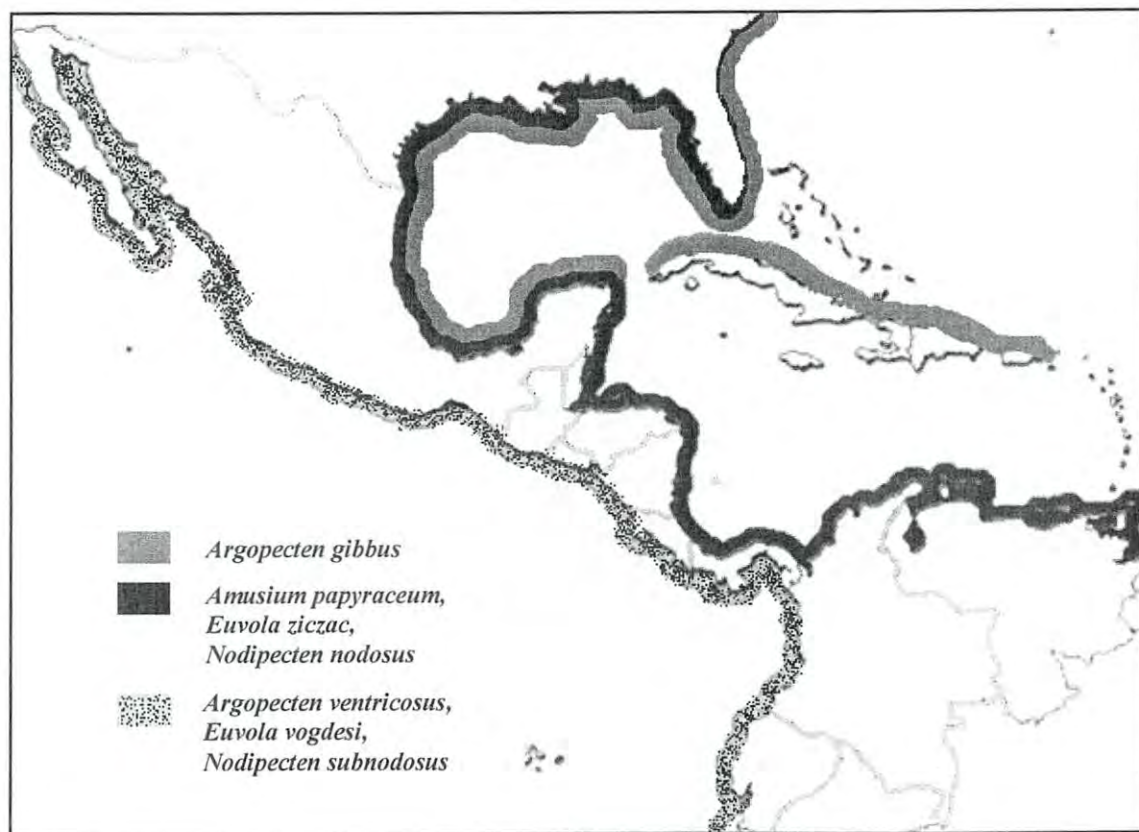


Figura 3. Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Pacífico Este, del Golfo de México y Caribe (Peña, 2001).

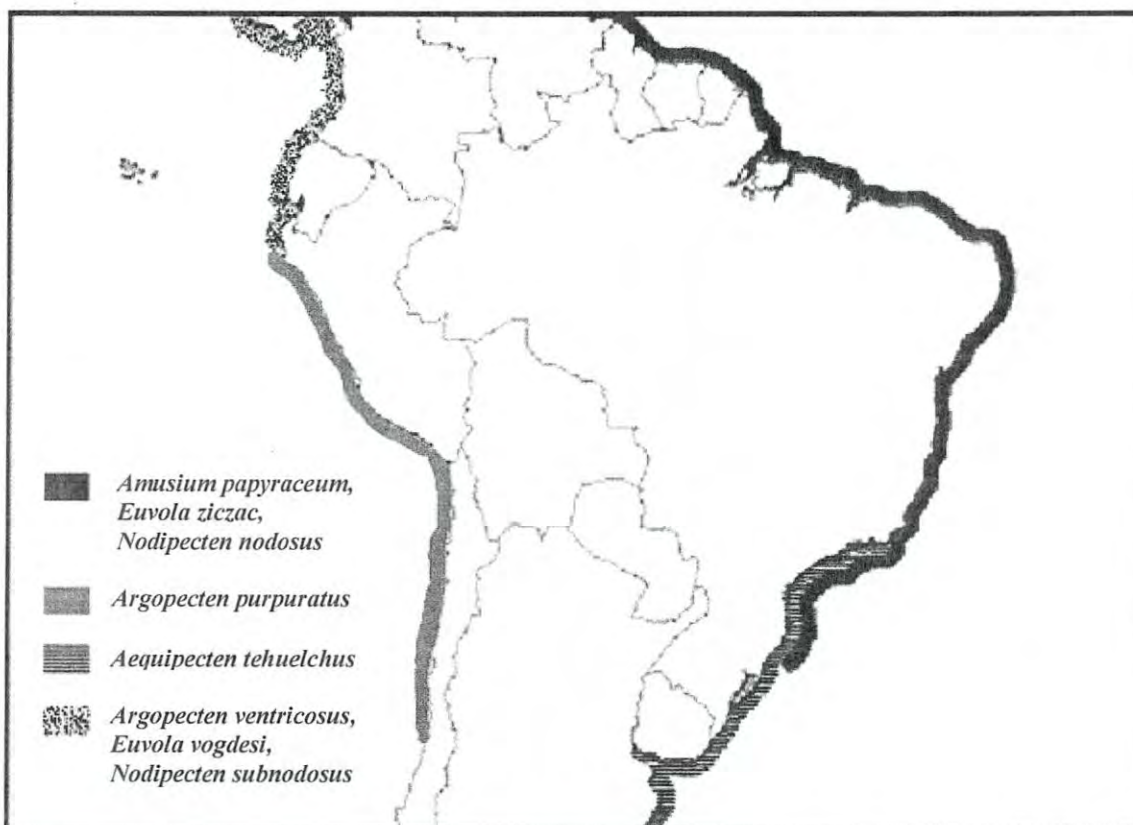


Figura 4. Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Pacífico Este y del Atlántico oeste (Peña, 2001).

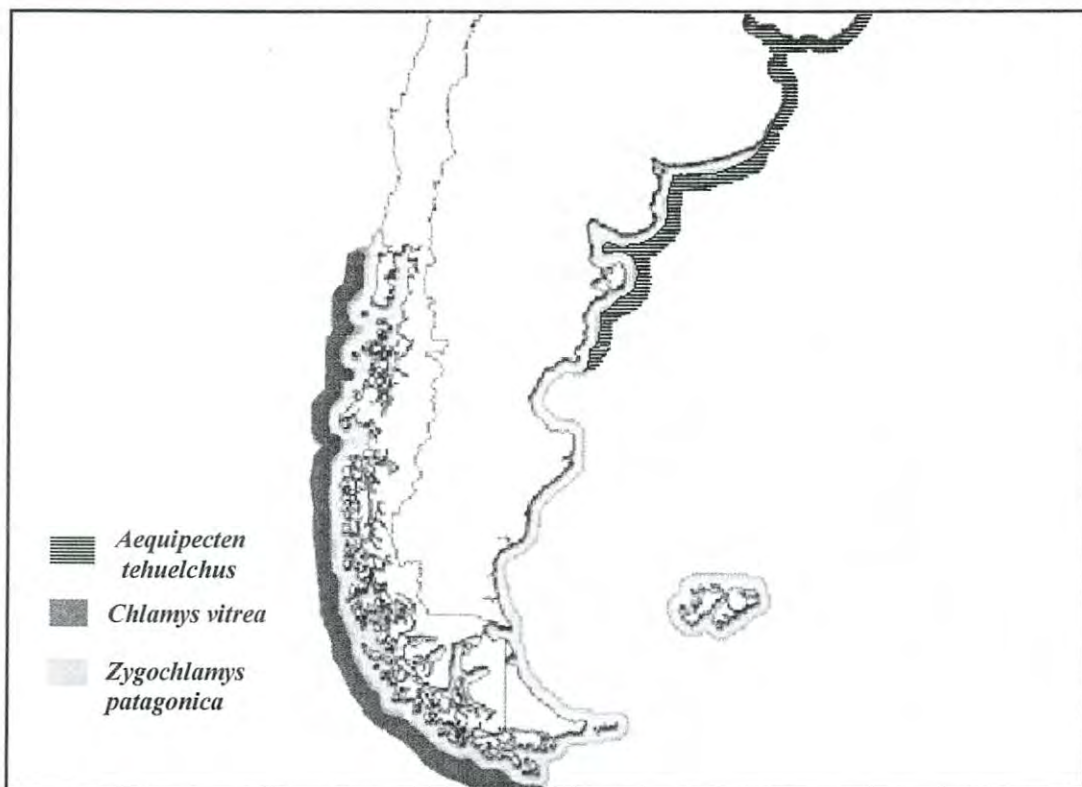


Figura 5. Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Pacífico Sureste y del Atlántico Suroeste (Peña, 2001).



Figura 6. Distribución geográfica de los pectínidos comerciales del Atlántico Noreste y del Mediterráneo (Peña, 2001).



Figura 7. Complejo lagunar de Guerrero Negro en Baja California Sur, México. El recuadro muestra la Laguna Ojo de Liebre, principal área de desarrollo de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*.

A través de los años y de acuerdo con las estadísticas, los principales países productores de pectínidos son China y Japón (González-Anatívia, 2001). Para nuestro país, no existen datos estadísticos que especifiquen la producción de pectínidos individualmente, sino que ésta familia de moluscos son incluidos en el volumen determinado para almejas en general. Este grupo denominado como almejas alcanzó una producción nacional de 27,900 ton para el 2010, siendo B.C.S. el estado de mayor producción con un 73 % del total de dicha producción.

Por otro lado, en el litoral del Pacífico mexicano se pueden encontrar hasta 30 especies de pectínidos, sin embargo, solo 3 se consideran de interés comercial: la almeja voladora, *Pecten vogdesi*, la almeja catarina, *Argopecten ventricosus* y la almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus*, de las cuales si se ha realizado un seguimiento de su producción en esta región hasta el año 2008. En la Figura 8 se pueden observar los principales sitios de captura y cultivo de estas especies que han sido explotadas considerablemente en B.C.S., llegándose a considerar a la almeja voladora en peligro de extinción (Baqueiro *et al.*, 1982). Al igual que en el caso de la almeja catarina, la almeja mano de león se ha considerado especie sobreexplotada, por lo que su abundancia es baja en la mayoría de los cuerpos de agua del estado, predominando en la Laguna de Guerrero Negro y Laguna Ojo de Liebre en B.C.S. Estos dos sitios de captura son las áreas que han sido monitoreadas desde hace 20 años en cuanto a sus volúmenes de producción. Debido a que los primeros registros se realizaron a partir de 1991 (Figura 9), se ha considerado una pesquería reciente, sin embargo ya era capturada desde finales de los años 70's (Massó-Rojas *et al.*, 2001). La producción de músculo abductor de *Nodipecten subnodosus* ha presentado un aumento notable desde 1996 con un pico máximo de 157 ton obtenidas en 1999. Posteriormente, hubo una disminución, estabilizándose alrededor de las 100 ton desde el 2000 hasta el 2003, observándose de nuevo un aumento alcanzando alrededor de 300 ton en el 2008 (Carta Nacional Pesquera, 2010).

Desde los inicios de la pesquería de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* en los sitios antes mencionados durante los años 70's, su captura se permite mediante buceo semiautónomo tipo "hooka". Esta técnica se practica en embarcaciones menores operadas por un motorista, un cabo de vida y un buzo. Lo anterior debido a que, a diferencia de la mayoría de los países, en México no se permite el uso del sistema de dragado para la captura de moluscos.



Figura 8. Sitios de captura y cultivo de pectínidos en México (Félix-Pico, 2006).

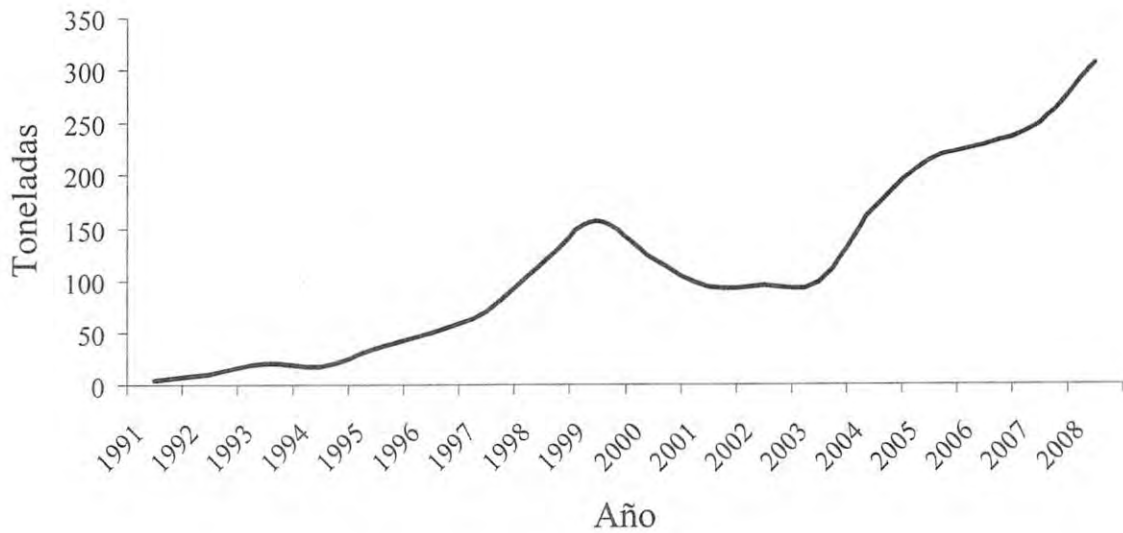


Figura 9. Producción anual de músculos abductores de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* en la Laguna de Guerrero Negro y Laguna Ojo de Libre, Baja California Sur, México (Carta Nacional Pesquera, 2010).

Una unidad de pesca se considera que esta formada por tres pescadores en embarcaciones menores tipo panga de fibra de vidrio de 20 a 22 pies de eslora, equipadas con un motor fuera de borda. La captura se lleva a cabo manualmente utilizando mallas de red acondicionadas con un aro metálico donde se colocan los organismos durante la extracción. Posteriormente, los organismos son colocados en costales para ser transportados a tierra, al lugar de desconche donde normalmente los músculos abductores se colocan en bolsas de polietileno mantenidas con hielo para su traslado, distribución y/o venta (Massó-Rojas *et al.*, 2001).

Hasta el año de 2008, el esfuerzo pesquero en la región de captura de la almeja mano de león constaba de 100 pangas y 300 pescadores, es decir, 100 pangueros o motoristas, 100 cabos de vida y 100 buzos. Para la captura de la especie se requieren permisos de pesca otorgados por el Instituto Nacional de Pesca (INP), órgano administrativo desconcentrado de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Además, con fundamento en estudios realizados por el INP (Libro de Sustentabilidad y Pesca Responsable y su Plan de Manejo Respectivo) la época de veda de la especie en esta región se regula de acuerdo a la temporada de desove, que se presenta normalmente alrededor del mes de octubre. Por lo tanto, dicha veda se establece desde el 15 de septiembre hasta el 15 de diciembre, aunque su captura normalmente se permite sólo dos o tres meses al año de mayo a julio o noviembre a enero, con una talla mínima de 14 cm (Carta Nacional Pesquera, 2010). El rendimiento del producto obtenido por captura es en promedio de 9 a 10 callos (músculos abductores) por kg, para especímenes de 15 cm o más de altura de la concha, tomando en cuenta que la talla comercial mínima es de 14 cm (Morales-Hernández y Cáceres-Martínez, 1996).

2.4. Aspectos de la Biología y Estrategias de Reproducción

Los moluscos son los invertebrados más abundantes en el mundo por debajo de los artrópodos. Los moluscos pertenecientes a la clase Bivalvia son organismos que se caracterizan por poseer dos conchas o valvas, los cuales realizan poco o nulo movimiento por lo que se consideran de vida sedentaria o sésil. Sin embargo, los representantes del grupo de los Pectínidos son capaces de realizar gran actividad natatoria con movimientos y migraciones, ya sea por razones de alimentación, reproducción o simplemente de huida como protección (Holguin-

Quiñones y García-Domínguez, 2011). La almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* pertenece al Phylum Mollusca, Clase Bivalvia y a la familia Pectinidae, posee valvas comprimidas y articuladas dorsalmente, pero a diferencia de otros miembros de la familia cuentan con una concha muy grande, fuerte, convexa y sólida, como se observa en la Figura 1 (Peña, 2001). Otra diferencia importante con respecto a los bivalvos en general, es que *Nodipecten subnodosus* cuenta con un alto grado de diferenciación anatómica ya que la mayor parte de sus órganos son diferenciados y fácilmente localizables (Figura 2). Entre las características más importantes de esta especie podemos mencionar una cavidad del manto muy espaciosa, además de branquias grandes que no sólo brindan capacidad respiratoria, si no también su gran capacidad de acumular alimento eficientemente. Al igual que toda la familia de pectínidos, *Nodipecten subnodosus* carece de un músculo abductor anterior, sin embargo posee un gran músculo abductor posterior cerca del centro, denominado comúnmente “callo” y tiene la función de cerrar las valvas con gran fuerza y rapidez y permitir la actividad natatoria. Dependiendo de la especie, el músculo abductor de los pectínidos puede llegar a representar del 5 hasta el 20 % del peso vivo del organismo. Éste se encuentra formado por dos tipos de tejidos, el primero es suave y blanco y se conoce como músculo estriado, el cual constituye más del 90 % del callo y el otro duro y amarillento de músculo liso. En el caso del músculo liso, este normalmente se retira durante el desconche, consumiéndose solo el estriado (Rupp *et al.*, 2011).

De la misma manera que para la mayor parte de los invertebrados, en los pectínidos el almacenamiento y utilización de las reservas energéticas se relaciona con el ciclo reproductivo anual (MacDonald y Thompson, 1985; Navarro *et al.*, 1989) que está influenciado por los cambios estacionales del medio donde se desarrollan (Gabbot, 1975; Barber y Blake, 1991). Para algunas especies de bivalvos se conoce que durante el periodo en que el alimento es escaso, el músculo abductor y otros tejidos funcionan como sitios de almacenamiento de los componentes bioquímicos como son los carbohidratos, proteínas y lípidos, mismos que serán transferidos a las gónadas durante la gametogénesis. El incremento o acumulación de lípidos y proteínas en la gónada ha sido frecuentemente asociado con la disminución de proteína del músculo, glucógeno y lípidos de la glándula digestiva, reafirmando la transferencia de componentes bioquímicos antes mencionada (Barber y Blake, 1991; Racotta *et al.*, 2003; Racotta *et al.*, 2008). De acuerdo al movimiento o transferencia de metabolitos energéticos

hacia la gónada desde órganos no involucrados en la reproducción y la estrategia de obtención y consumo de energía durante el periodo reproductivo, los pectínidos se han denominado del tipo oportunista o conservador. En el primer caso, el alimento disponible en el medio es suficiente para sostener el costo energético debido al proceso de gametogénesis. Por otro lado, los organismos conservadores son aquellos que tienen que recurrir a la movilización de reservas energéticas hacia la gónada para poder llevar a cabo dicho evento reproductivo (Bayne, 1976).

La movilización de reservas desde órganos no relacionados con la reproducción hacia la gónada es un evento interesante que se ha estudiado especialmente en pectínidos, ya que en estos organismos el proceso de transferencia de energía o metabolitos hacia la gónada en ocasiones involucra el músculo abductor, que es su principal porción comestible. En el caso específico del músculo abductor, éste se ha identificado como la principal fuente de reserva energética cuando se requiere transferencia de energía durante el desarrollo gametogénico. Lo anterior ha quedado claro al monitorear los cambios o la disminución en el índice de rendimiento muscular (IRM), en los carbohidratos y/o proteínas durante la gametogénesis en varias especies (Arellano-Martínez *et al.*, 2001). Específicamente, en el género *Nodipecten*, ya sea la especie *nodosus* o *subnodosus*, se ha observado una transferencia de reservas desde el músculo hacia la gónada durante la gametogénesis (Lodeiros *et al.*, 2001; Arellano-Martínez *et al.*, 2004). Sin embargo, en un trabajo realizado por Barrios-Ruiz *et al.* (2003) se encontró un aumento paralelo del IRM y el índice gonádico (IG) en *Nodipecten subnodosus*. Por su parte, Racotta *et al.* (2003) observaron una disminución en el IRM durante la primera madurez del ciclo gametogénico de la especie (aproximadamente 6 meses de edad), sin embargo, para el siguiente año, en organismos con una edad mayor a un año el IRM y los niveles de proteínas y carbohidratos se incrementaron paralelamente a la gametogénesis. En este trabajo se hace referencia a una relación entre la edad de los organismos y la posible transferencia de reservas hacia la gónada.

Los distintos comportamientos reproductivos que se han reportado en algunos estudios dejan claro que las especies del género *Nodipecten* spp. son capaces de elegir una estrategia conservadora u oportunista dependiendo de las condiciones del ambiente en el que se desarrollan. Entre los factores o condiciones ambientales más importantes se menciona la disponibilidad de alimento, la cual está asociada a una determinada región de captura o

cultivo, o bien a cierta condición experimental en el caso de los estudios controlados (Pazos *et al.*, 1997; Luna-González *et al.*, 2000; Román *et al.*, 2001). Particularmente, para la especie *Nodipecten subnodosus* del Pacífico mexicano existen dos estudios interesantes relacionados con la movilización de metabolitos energéticos. El primero de ellos se realizó con especímenes extraídos de la Laguna Ojo de Liebre, en los cuales se observó una baja disponibilidad de alimento y una movilización de reservas musculares durante la gametogénesis (Arellano-Martínez *et al.*, 2004). En el segundo estudio, los organismos se obtuvieron de Bahía Magdalena, B.C.S., la cual cuenta con una elevada productividad primaria (fitoplancton), donde no se encontró una dependencia de reservas musculares durante dicho proceso reproductivo. Es importante mencionar que los resultados de este último estudio corresponden a organismos mayores a un año de edad a diferencia del primero, donde los organismos alcanzaban apenas su primera madurez sexual de aproximadamente 6 meses de edad (Racotta *et al.*, 2003). Esta relación entre la edad y la transferencia de nutrientes durante la gametogénesis ya fue descrita anteriormente.

2.5. Fisiología y su Relación con Factores Físicos y Biológicos

La fisiología se puede definir como el área de la ciencia dedicada a estudiar el funcionamiento de los organismos o sistemas vivos, implicando todos los procesos físicos o químicos que llevan a cabo los seres vivos y que les permiten realizar sus actividades o funciones (Moyes y Schulte, 2008). Existe una gran cantidad de procesos fisiológicos que pueden ser estudiados en los seres vivos, entre ellos, se encuentran la ingestión, absorción, asimilación, excreción, respiración, contracción, entre otras. Por lo tanto, la condición fisiológica se puede definir como la capacidad de los organismos para crecer, desarrollarse y reproducirse y dependerá de como se estén llevando a cabo todos estos procesos mencionados anteriormente. En el caso de los pectínidos como la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*, las principales variables fisiológicas que se han estudiado son tasas de aclaramiento y de ingestión, eficiencia de absorción, consumo de oxígeno (relacionado con la respiración) y excreción, principalmente (Navarro, 2001).

La condición fisiológica de los pectínidos está influenciada por una serie de factores, entre los más importantes están las condiciones ambientales como la disponibilidad de alimento, la salinidad y principalmente la temperatura del medio donde se desarrollan

(Navarro, 2001). La alimentación se considera importante, ya que por ser organismos filtradores, la producción de fitoplancton aunado a otras variables ambientales puede limitar el desarrollo y crecimiento de las especies. Por lo anterior, organismos mal alimentados tendrán una condición fisiológica pobre, debido a las bajas reservas de glucógeno. Por otro lado, especímenes bien alimentados tendrán una óptima condición fisiológica para que su sistema lleve a cabo sus funciones adecuadamente y con buenas reservas energéticas, lo que les permitirá contrarrestar los efectos o adversidades del ambiente (Bayne *et al.*, 1975). En el caso de la salinidad, ésta es particularmente importante para todas aquellas especies que se desarrollan en las zonas costeras y estuarinas, donde las fluctuaciones de este factor pueden ser muy marcadas, afectando el crecimiento de los organismos (Widdows, 1985).

El medio donde se desarrollan los organismos acuáticos puede presentar un rango muy amplio de temperaturas de acuerdo a la latitud y las condiciones oceanográficas. Estas variaciones pueden llegar a tener un gran impacto sobre algunos procesos como la alimentación, respiración, crecimiento y su metabolismo en general. Por lo anterior, estos organismos se ven obligados a realizar compensaciones fisiológicas o aclimataciones para poder seguir realizando sus procesos metabólicos normales. Dependiendo de su capacidad de adaptación y de la condición fisiológica y/o energética, los organismos serán capaces de sobrevivir y superar los cambios ambientales a los que se enfrenten (Hochachka y Somero, 2002).

Existen algunos métodos y parámetros que se han utilizado para evaluar algunos aspectos relacionados con las preferencias de hábitat, limitaciones fisiológicas y capacidad de adaptación de diferentes especies, con respecto a las características ambientales de los sitios potenciales de cultivo. Algunos de estos parámetros son los rangos de resistencia y tolerancia, así como los intervalos óptimos de los factores ambientales, entre ellos la temperatura. Un ejemplo de estos trabajos es el realizado por González-Estrada (2003), quien reportó que *Nodipecten subnodosus* presenta una temperatura óptima de crecimiento de 22 °C y que la especie que puede tolerar temperaturas en un rango de 10 a 26 °C.

2.6. Indicadores para Evaluar la Condición Fisiológica

2.6.1. Reservas de glucógeno

Es bien sabido que los moluscos bivalvos como los pectínidos son capaces de almacenar cantidades considerables de glucógeno en el músculo (Sakaguchi *et al.*, 1975; Racotta *et al.*, 2003) y su concentración en este órgano esta influenciada principalmente por la disponibilidad de alimento, la temperatura del medio (Thompson *et al.*, 1996) y la estación del año (Kawashima y Yamanaka, 1996). Lo anterior se pudo comprobar en un trabajo realizado por Beltrán-Lugo *et al.* (2006) en el cual se reportaron valores de glucógeno en el músculo abductor de *Nodipecten subnodosus* de 3.51, 7.87, 2.21 y 0.79 % para especímenes colectados en primavera, verano, otoño e invierno, respectivamente. Por otro lado, Tsuji y Nishida (1988) analizaron el contenido de glucógeno en el músculo abductor de la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* y reportaron 2.8 y 9.1 % para especímenes colectados en el mismo mes (junio), pero en dos distintos sitios de cultivo. En este caso, las diferencias encontradas por estos autores pueden deberse a las distintas condiciones del medio de la región de cultivo, como pueden ser temperatura o bien, disponibilidad de alimento. Debido a que la concentración de glucógeno en el músculo abductor puede variar de acuerdo a los factores antes mencionados, este metabolito puede ser utilizado como un parámetro para evaluar la condición fisiológica o estrés. Las concentraciones bajas indican una condición pobre, donde los organismos pudieron haber sido sometidos a algún tipo de estrés, mientras que los valores elevados indican una buena condición fisiológica de especímenes saludables (Ocaño-Higuera *et al.*, 2011a).

2.6.2. Carga energética adenilada (CEA)

Al igual que el contenido de glucógeno, este parámetro también puede ser utilizado como indicador de la condición fisiológica en organismos acuáticos como fue reportado por Maguire *et al.* (1999b). La CEA hace referencia a la fisiología energética con respecto al contenido de ATP, ADP y AMP presente en el sistema analizado y se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula desarrollada inicialmente por Atkinson (1968):

$$CEA = [(ATP) + 1/2 (ADP)]/[(ATP) +(ADP) +(AMP)]$$

donde:

ATP = Adenosina 5´trifosfato

ADP = Adenosina 5´difosfato

AMP = Adenosina 5' monofosfato

La literatura indica que los especímenes con valores de CEA ≥ 0.8 presentan una excelente condición fisiológica; mientras que valores entre 0.5-0.7 muestran un estrés moderado y con una CEA < 0.5 una pobre condición y estrés muy fuerte del cual es muy difícil que se recuperen (Atkinson, 1968; Moal *et al.*, 1991; Fleury *et al.*, 1997; Maguire *et al.*, 1999b). La CEA se puede utilizar para evaluar los cambios en la condición fisiológica a largo plazo (durante el transcurso del año a través de cada mes o entre estaciones), sin embargo, también es muy confiable para determinar el estrés a corto plazo, como por ejemplo el que se genera durante el transporte de los organismos o cuando estos se ven sometidos a condiciones específicas como la emersión. Algunos estudios de este tipo se han realizado con especímenes de almeja concha de peregrino, *Pecten maximus* (Maguire *et al.*, 1999a) y de ostión gigante, *Crassostrea gigas* (Moal *et al.*, 1991), donde se ha demostrado su eficacia como indicador. Particularmente en *Nodipecten subnodosus*, Ocaño *et al.* (2011) evaluaron el efecto del transporte en emersión en organismos adultos. Estos autores reportaron un efecto significativo del transporte sobre la fisiología de los especímenes utilizando como indicador la CEA, la cual disminuyó de 0.8 (organismos saludables) a 0.5 (organismos *post*-transporte con estrés moderado).

2.6.3. Índice de rendimiento muscular (IRM)

El IRM también se puede utilizar como un indicador para monitorear la condición fisiológica de muchas especies, entre ellas los pectínidos. Este se calcula tomando en cuenta el peso del músculo abductor y su relación con respecto al peso total de las partes blandas, expresada como porcentaje (Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez, 1996). Existen algunos estudios donde se ha determinado el IRM para *Nodipecten subnodosus* en diferentes épocas del año. Beltrán-Lugo *et al.* (2006) encontraron valores de 28.1, 33.1, 39.5 y 33.1 % de IRM para invierno, primavera, verano y otoño, respectivamente. En otros estudios realizados con almeja catarina, *Argopecten ventricosus* se reportaron variaciones en el IRM con patrones similares a las encontradas por Beltrán-Lugo *et al.* (2006) para diferentes épocas del año. A su vez, Félix-Pico (1993) reportó valores de 26 y 47 % de IRM también para *Argopecten ventricosus*, atribuyendo esta diferencia a la estacionalidad y la gametogénesis. Además, en esta misma

especie Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez (1996) reportaron 30 y 50 % de IRM en invierno e inicio del verano, respectivamente. En los estudios mencionados anteriormente se hace referencia también a un proceso de transferencia de nutrientes hacia la gónada desde otros órganos como el músculo abductor o la glándula digestiva, el cual se presenta con temperaturas bajas y se relaciona con las variaciones estacionales en el IRM. Por otro lado, mencionan que la acumulación de nutrientes en el músculo abductor se presenta cuando las temperaturas del medio se elevan (Félix-Pico, 1993; Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez, 1996). Basado en lo anterior, es comprensible el hecho de que en algunas épocas del año el músculo abductor reduce su tamaño y firmeza, mientras que en otras, estas características se incrementan, lo cual a su vez se relaciona con la acumulación de proteínas y glucógeno en el mismo (Ocaño-Higuera *et al.*, 2001).

2.6.4. Índice gonádico (IG)

La condición fisiológica de los pectínidos también se puede evaluar de acuerdo al IG, el cual se calcula con el peso de la gónada en relación al peso húmedo de las partes blandas, expresado en porcentaje (Jaramillo *et al.*, 1993). El IG está influenciado por algunos factores ambientales entre los que destacan la temperatura del medio y la alimentación (Román *et al.*, 2001), modificándose de acuerdo al ciclo reproductivo de las especies. Entre los cambios más notables se ha observado que el inicio de la gametogénesis y el desove están marcados por un aumento y disminución del IG, respectivamente (Akaboshi e Illanes, 1983; Jaramillo *et al.*, 1993).

En la literatura existen algunos estudios realizados en pectínidos del género *Nodipecten* donde se ha determinado el IG. Manzoni *et al.* (1996) reportaron para especímenes de este mismo género valores de 9.93 y 15.24 % en organismos capturados en invierno y primavera, respectivamente. Para *Nodipecten subnodosus*, Arellano-Martínez *et al.* (2004), reportaron valores de IG de 6.1 a 8.4 para los meses más fríos entre otoño e invierno (diciembre-marzo), elevándose en los meses más cálidos entre primavera y verano (mayo, junio y julio) hasta alcanzar un 38 % a mitad del verano (agosto). Beltrán-Lugo *et al.* (2006) reportaron un comportamiento similar también para *Nodipecten subnodosus*, encontrando los valores de IG más elevados en organismos cosechados en verano (septiembre). Estas

variaciones cíclicas se han atribuido a eventos celulares dentro de la gónada, entre los que destacan la acumulación de nutrientes, principalmente lípidos (Sastry, 1979).

2.7. Rigor Mortis

2.7.1 Generalidades

Se ha considerado que el *rigor mortis* es uno de los procesos bioquímicos más importantes en los productos pesqueros. Este fenómeno se presenta después de que los organismos mueren y cuando la concentración de ATP muscular disminuye a $\leq 1 \mu\text{mol/g}$, lo cual provoca un estado rígido e inflexible del músculo debido al entrecruzamiento permanente del complejo actino-miosina. En la Figura 10 se puede observar con más detalle la manera en que se presenta el inicio de este fenómeno y los principales procesos relacionados. Una vez que los organismos son capturados y sacrificados el flujo de oxígeno en el músculo cesa, por lo que la glucólisis aeróbica deja de funcionar, activándose otras vías de producción de energía. Existen dos vías para la obtención de energía y que se presentan en las etapas *post mortem* iniciales. Una de estas rutas incluye la utilización del fosfágeno arginina fosfato, el cual es el equivalente de la creatina fosfato en vertebrados y que mediante la acción de la enzima arginina cinasa (AK, EC 2.7.3.3) puede regenerar ATP a partir de la fosforilación de una molécula de ADP (Wongso *et al.*, 1998). La segunda ruta consiste en la condensación de dos moléculas de ADP, dando lugar a la formación de una de ATP y otra de AMP, todo esto por acción de la enzima adenilato cinasa (AK, 2.7.4.3). Después de que cesan estas vías, la glucólisis anaeróbica es la principal fuente de producción de ATP en el músculo (Hultin, 1976; Huss, 1995). Esta energía producida en el músculo *post mortem* se sigue consumiendo dentro del sistema de miofibrillas, ya que aún se presentan contracciones musculares, donde el ATP es necesario para regresar estas miofibrillas al estado relajado (Chantler, 2006).

Por otro lado, bajo condiciones anaeróbicas *post mortem* se sigue presentando una liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico (RS) hacia el sarcoplasma, promoviendo el proceso de contracción. En esta etapa se involucra la enzima adenosina trifosfatasa- Ca^{2+} (ATPasa- Ca^{2+} , EC 3.6.3.8) la cual se encarga de reingresar el Ca^{2+} hacia el RS, promoviendo a su vez la ruptura del entrecruzamiento del complejo miofibrilar (actino-miosina) y completando el ciclo de contracción-relajación. Esta enzima lleva a cabo su función a expensas de la energía en forma de ATP presente en el sistema muscular. Posteriormente, la

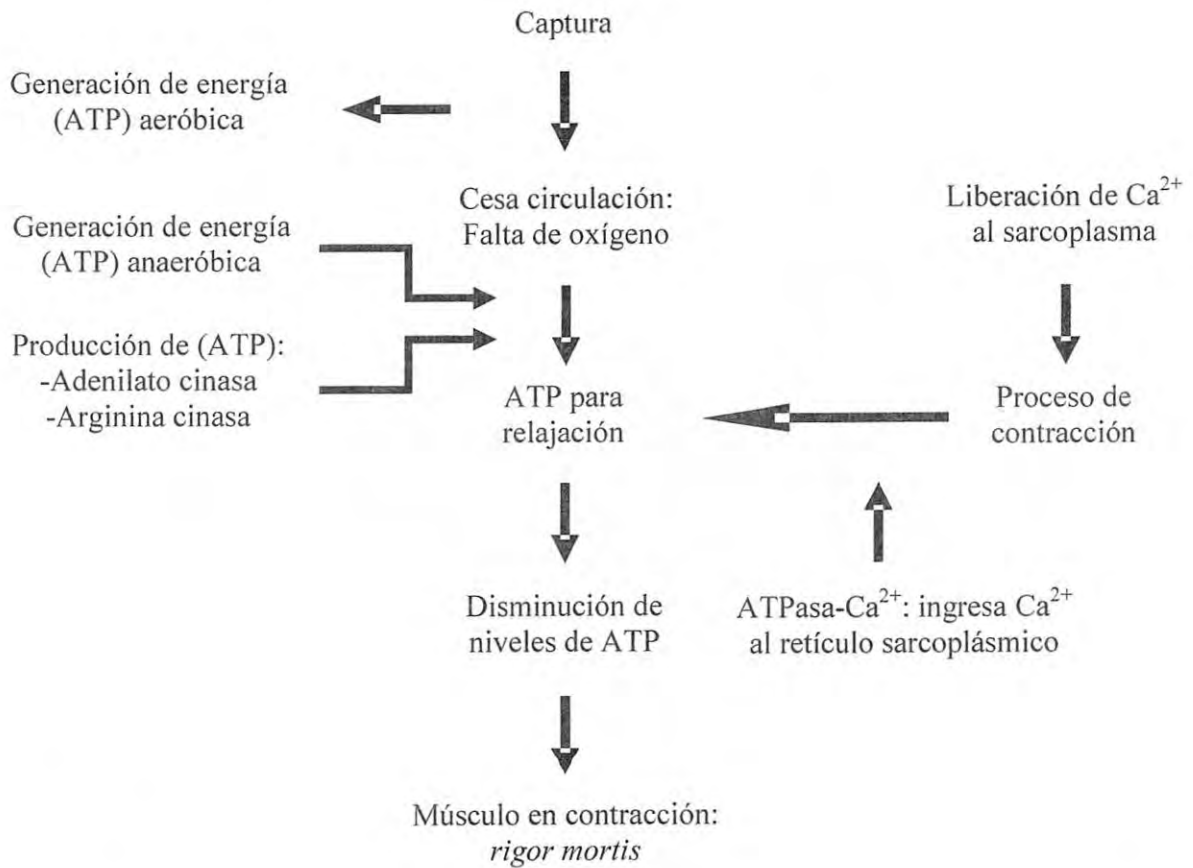


Figura 10. Esquematización del proceso de *rigor mortis* y procesos relacionados (Jacober y Rand, 1982).

concentración de ATP disminuye hasta cierto punto (normalmente se maneja $< 1\mu\text{mol/g}$ de músculo), donde estos niveles energéticos no son suficientes para evitar el entrecruzamiento permanente de la actina y la miosina, quedando el músculo en constante contracción y produciéndose lo que se conoce como *rigor mortis* (Jacobson y Rand, 1982; Watabe *et al.*, 1989; Iwamoto *et al.*, 1990; Tomé *et al.*, 2000).

En la literatura se han reportado resultados muy variables, ya que se ha observado que el tiempo en que se lleva a cabo este proceso varía dependiendo de la especie, las condiciones de captura, la temperatura y la velocidad de enfriamiento, entre otros factores (Cheftel y Cheftel, 1976; Sikorski *et al.*, 1990). Sin embargo, lo que sí es un hecho es que retardar el inicio y la velocidad del *rigor mortis* permitirá obtener un producto de mayor calidad y vida de anaquel. Lo anterior basado en que se ha observado que tras la resolución del *rigor mortis* se presentan una serie de eventos que disminuyen la calidad tanto sensorial como microbiológica de los productos pesqueros (Sikorski, *et al.*, 1990; Huss, 1995).

A la fecha se ha estudiado el desarrollo de este evento *post mortem* en peces como la tilapia, *Oreochromis* spp. (Tomé *et al.*, 2000), el pargo australiano, *Pagrus auratus* (Morison, 2004), el jurel del Pacífico, *Trachurus japonicus* (Mishima *et al.*, 2005), el lenguado japonés, *Paralichthys olivaceus* (Suárez-Mahecha *et al.*, 2007), el salmón del Atlántico, *Salmo salar* (Roth *et al.*, 2006; Mørkøre *et al.*, 2008), la carpa común, *Cyprinus carpio*, la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss* (Duran *et al.*, 2008) o crustáceos como el camarón japonés, *Penaeus japonicus* (Matsumoto y Yamanaka, 1991) y la langosta noruega, *Nephrops norvegicus* (Gornik *et al.*, 2009). De igual forma, se han desarrollado trabajos en animales terrestres como bovinos (Novelo-Barrera *et al.*, 2008), cerdos (Graziotti *et al.*, 2000), aves: pavo y pollo (Sams y Dzuik, 1999; Li *et al.*, 2010), entre otros. La mayoría de estos trabajos serán descritos más adelante.

2.7.2. Procesos *post mortem* relacionados

2.7.2.1. Disminución de pH

El pH es un parámetro que permite determinar si una sustancia es ácida, neutra o básica. Su cálculo se realiza aplicando el logaritmo inverso de la concentración de iones H^+ presentes en un sistema. Los valores varían de 0 a 14, en donde una sustancia o sistema con un valor de pH de 7 se considera neutra, mientras que valores por debajo o por encima del neutro se

consideran de carácter ácidos o básicos, respectivamente (Lehninger *et al.*, 2008). Aunado al desarrollo del *rigor mortis* se presenta una disminución del pH muscular por la producción de ácido láctico y su consecuente disociación generando lactato y un ión H^+ , además se cree que dicha disminución da lugar a su instauración. Anteriormente, se pensaba que la resolución del *rigor mortis* se presentaba por disociación del complejo actina-miosina formado durante la instauración, sin embargo, se ha observado que más bien se lleva a cabo por la separación de los filamentos delgados de actina de la línea “Z” debido a cambios iónicos en el sistema o bien, por acción de las enzimas catepsinas liberadas al desestabilizarse las membranas lisosomales por efecto de la disminución del pH muscular (Cheftel y Cheftel, 1976).

Como se mencionó anteriormente, la velocidad y grado de disminución de pH *post mortem* durante el *rigor mortis* se debe a la formación de ácido láctico. Este es el principal producto final de la glucólisis anaeróbica en la mayoría de los productos de la pesca, en donde el grado de descenso de pH dependerá de la cantidad de glucógeno almacenado en el músculo (Ashie *et al.*, 1996; Mørkøre *et al.*, 2008; Durán *et al.*, 2008; Gornik *et al.*, 2010), de la especie, de las condiciones *ante mortem* y de sacrificio y de la liberación de fosfato inorgánico y amonio provenientes de la degradación de ATP y proteínas, respectivamente (Sikorski *et al.*, 1990).

En la literatura se indica para el tejido muscular de organismos acuáticos valores de pH cercanos a 7.0, por ejemplo se han descrito valores iniciales de 6.6, 7.0, 6.9, 6.8 y 6.5 para lenguado, *Paralichthys patagonicus* (Massa *et al.*, 2005), langosta noruega, *Nephrops norvegicus* (Márquez-Ríos *et al.*, 2007), salmón del Atlántico, *Salmo salar* (Mørkøre *et al.*, 2008), carpa común, *Cyprinus carpio* y trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss* (Durán *et al.*, 2008), respectivamente. Existen algunos estudios llevados a cabo con especies de pectínidos, como los realizados por De Vido de Mattio *et al.* (2001) y Massa *et al.* (2001), quienes reportaron valores de iniciales de pH de 6.8 y 7.2 para las vieiras *Chlamys tehuelchus* y *Zygochlamys patagonica*, respectivamente. En estos últimos estudios se llevó a cabo el seguimiento de los valores de pH *post mortem* en el músculo abductor almacenado en refrigeración (2-4 °C) durante 96 h. En el caso del pectínido *Chlamys tehuelchus* se observó una disminución de ≈ 0.2 unidades cada 24 h, durante los primeros dos días de almacenamiento hasta llegar a valores cercanos a 6.2 al final del almacenamiento. Por otro lado, en el estudio realizado con la vieira *Zygochlamys patagonica* el pH disminuyó más

rápidamente en las primeras 24 h (≈ 0.5 unidades), sin embargo a partir de este tiempo de almacenamiento la caída de pH fue mas lenta hasta un valor de 6.3 al final del almacenamiento. En ambos estudios se relaciona la caída de pH con la degradación de glucógeno durante la glucólisis anaerobia y la consecuente formación de ácido láctico. Anteriormente Kawashima y Yamanaka (1995) reportaron resultados similares pero en la vieira canadiense, *Placopecten magellanicus*.

2.7.2.2. Producción y utilización de energía

El ATP es el nucleótido más abundante en el músculo de los organismos vivos, el cual se genera durante la glucólisis en el sarcoplasma, así como en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos y la fosforilación oxidativa en la mitocondria (Lehninger *et al.*, 2008). Cuando un organismo muere, la generación de energía aeróbica se detiene (Huss, 1995) y bajo éstas condiciones la mayor parte del ATP *post mortem* se genera por la glucólisis anaeróbica, la cual es un proceso sumamente ineficiente para la producción neta de energía (2 ATP) en comparación a la glucólisis aerobia (36 ATP). En la Figura 11 se presentan las principales rutas para la obtención de energía anaeróbica *post mortem* en organismos acuáticos (invertebrados) y los metabolitos relacionados. En las etapas iniciales *post mortem* se puede obtener energía rápidamente a través de la utilización de fosfágenos, que en los vertebrados es la creatina fosfato (Lehninger *et al.*, 2008) mientras que en invertebrados es la arginina fosfato (Wongso *et al.*, 1998). La reacción consiste en regenerar ATP por transferencia del grupo fosfato del fosfágeno al ADP por acción de la enzima creatina cinasa (CK, EC 2.7.3.2) o arginina cinasa, liberando creatina o arginina, respectivamente en el proceso (Livingstone *et al.*, 1981; Wongso *et al.*, 1998; Lehninger *et al.*, 2008).

Por otro lado, se conoce que cuando los organismos acuáticos se encuentran bajo condiciones en donde requieren energía, la obtienen a través de rutas aeróbicas o anaeróbicas utilizando el glucógeno almacenado en su músculo (Lehninger *et al.*, 2008). Como se puede observar en la Figura 11, bajo condiciones anaeróbicas cuando se produce energía (ATP) a partir del glucógeno almacenado en el músculo también se obtiene piruvato como producto intermedio. Bajo estas condiciones el piruvato es convertido a ácido láctico por acción de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH, EC 1.1.1.27). Sin embargo, es importante destacar que

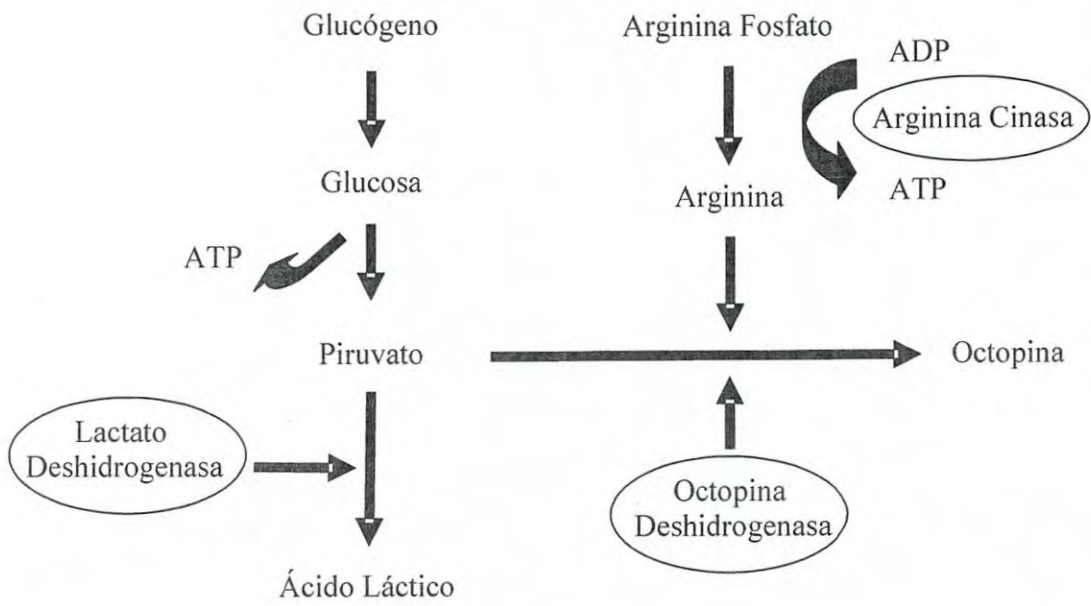


Figura 11. Principales enzimas y metabolitos relacionados con la obtención de energía anaeróbica *post mortem* en organismos acuáticos invertebrados (Huss, 1995).

en el caso de los invertebrados como algunos cefalópodos y bivalvos se ha observado que la arginina liberada a partir del fosfágeno arginina fosfato se puede unir a una molécula de piruvato por la enzima octopina deshidrogenasa (ODH, EC 1.5.1.11), para producir octopina y no ácido láctico (Grieshaber y Gäde 1976; Gäde *et al.*, 1978; Kawashima y Yamanaka, 1992; Wongso *et al.*, 1998). Como se mencionó anteriormente, se considera que la acumulación de ácido láctico es el factor principal en la acidificación muscular *post mortem*. Sin embargo, en el caso de la octopina no existe evidencia de su posible participación en la caída de pH debido a su alcalinidad (Huss, 1995).

En el músculo de organismos acuáticos la degradación del ATP presente en condiciones *post mortem* se presenta en dos etapas, la primera consiste en la transformación rápida de este metabolito hasta ADP, AMP y posteriormente a inosina 5' monofosfato (IMP), inosina (HxR) e hipoxantina (Hx), por acción de enzimas endógenas. En la segunda etapa la cual se lleva a cabo más lentamente, se observa una oxidación de la Hx hasta xantina y después hasta ácido úrico, por enzimas bacterianas durante la etapa de *post rigor* (Surette *et al.*, 1988; Ashie *et al.*, 1996).

En la literatura se ha observado que los niveles de ATP en productos pesqueros disminuyen significativamente durante las primeras 24 h *post mortem* cuando se almacenan a 0 °C, además la velocidad y nivel de degradación se relaciona con la especie y el tipo de músculo (Sikorski *et al.*, 1990). La mayoría de los estudios coinciden al reportar valores de ATP de $\leq 1 \mu\text{mol/g}$ en las primeras 12-24 h, observándose normalmente el inicio del *rigor mortis* en este periodo de tiempo. Lo anterior se ha evaluado en el jurel del Pacífico, *Pneumatophorus japonicus* (Mishima *et al.*, 2005), el calamar gigante, *Dosidicus gigas* (Márquez-Ríos *et al.*, 2007), el calamar japonés, *Todarodes pacificus* (Omura *et al.*, 2007) y el salmón del Atlántico, *Salmo salar* (Mørkøre *et al.*, 2008), entre otras especies. Por lo tanto, es importante tomar en cuenta la manera en que la energía es utilizada aún en las etapas *post mortem* de los organismos acuáticos, ya que las concentraciones de ATP y productos de degradación en el músculo están muy relacionados con el *rigor mortis* y con la pérdida de frescura e inicio de deterioro (Sikorski *et al.*, 1990).

2.7.2.3. Desnaturalización de proteínas

La desnaturalización de una proteína consiste en la pérdida de cualquiera de sus estructuras de orden superior: secundaria, terciaria o cuaternaria, lo que provoca a su vez una disminución o desaparición de sus propiedades funcionales por modificación de sus características fisicoquímicas como la estabilidad térmica, a diferentes pH o fuerzas iónicas. Los principales factores que afectan la estabilidad de las estructuras proteicas son la temperatura, detergentes y pH. Este último es el más importante por ser el más relacionado con el *rigor mortis*. Dependiendo del grado de descenso del pH, las diferentes proteínas musculares pueden enfrentarse a pH cercanos a su punto isoeléctrico, donde disminuyen las fuerzas de repulsión entre ellas, tendiendo a agregarse y precipitar, perdiendo así su funcionalidad (Lehninger *et al.*, 2008).

Durante la disminución de pH que normalmente acompaña al proceso de *rigor mortis* se promueve la liberación de catepsinas por desestabilización de las membranas lisosomales (inicio de la autólisis). Estas enzimas que tienen actividad en un amplio rango de pH (en especial las catepsinas D y L) pueden degradar proteínas estructurales provocando una inestabilidad en las células musculares, incluso rompiendo los complejos actina-miosina que forman el entrecruzamiento durante el proceso de *rigor mortis* (Huss, 1995). El mismo pH bajo generado pudiera promover la pérdida de conformación de algunas proteínas del sarcómero, disminuyendo su función estructural y generando inestabilidad dentro del propio sistema de la célula muscular. Además, se ha visto que las moléculas de colágeno que forman el tejido conectivo son más susceptibles a la degradación cuando pierden su configuración nativa (Pedrosa-Menabrito y Regenstein, 1988).

En la literatura se ha estudiado la desnaturalización de proteínas y su relación con el *rigor mortis*, en donde destacan estudios realizados con trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, salmón del Atlántico, *Salmo salar*, langosta noruega, *Nephrops norvegicus* (Robb *et al.*, 2000; Poli *et al.*, 2005; Mørkøre *et al.*, 2008; Gornik *et al.*, 2009), entre otras especies. En el estudio realizado por Robb *et al.* (2000) se utilizó la estimulación eléctrica *post mortem* como modelo para evaluar la actividad intensa de los organismos *in vivo* previa al sacrificio y su efecto sobre el *rigor mortis* y algunos parámetros de calidad en filetes de trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*. Estos autores encontraron que el *rigor mortis* se presentaba más rápido, además, que el color del filete era afectado considerablemente. Esto último lo relacionaron con la pérdida de

solubilidad de las proteínas musculares por efecto de su desnaturalización (Lehninger *et al.*, 2008). Por otro lado, Mørkøre *et al.* (2008) reportaron un efecto del estrés agudo por manejo *ante mortem* y del ayuno durante 35 días previos al sacrificio sobre algunos parámetros como la pérdida de firmeza y de la capacidad de retención de agua del músculo. Estos autores relacionaron este efecto con una caída de pH drástica y la consecuente desnaturalización de proteínas solubles en el sistema muscular. En el estudio realizado con langosta noruega, *Nephrops norvegicus*, Gornik *et al.* (2009) investigaron el *rigor mortis* a 10 °C sin lograr observar la instauración de este fenómeno durante un tiempo de almacenamiento de 24 h. Ellos atribuyeron este comportamiento a la degradación de las principales proteínas miofibrilares causada por la desnaturalización de estas a la temperatura de almacenamiento utilizada. En general, los efectos de la desnaturalización proteica asociada al *rigor mortis* se han relacionado con una disminución en la solubilidad de las proteínas, capacidad de retención de agua, firmeza e intensidad en la coloración muscular.

2.7.2.4. Deterioro bacteriano

El control de la acción bacteriana en el músculo vivo de los productos pesqueros se lleva a cabo por los propios sistemas de defensa de los organismos, sin embargo, una vez que los organismos mueren dichos mecanismos cesan. Por lo tanto, es en este punto cuando el crecimiento microbiano, dependiendo de las condiciones *ante mortem* y *post mortem* podrá retardarse o acelerarse (Huss, 1995). Otro mecanismo de defensa son las barreras físicas como la piel en el caso de los pescados, seguido de las estructuras de las células musculares que impiden el libre acceso para los microorganismos (Hjelmland *et al.*, 1983).

El deterioro bacteriano en los productos de la pesca se podría relacionar con el *rigor mortis* en 2 principales etapas, discutidas a continuación. En primer lugar, se ha observado que el descenso del pH por la acumulación de ácido láctico en el *rigor mortis* actúa como un antimicrobiano natural, retardando el crecimiento de las bacterias (Domínguez y Gutiérrez, 1993). En un estudio realizado por Anang *et al.* (2007) se comprobó la efectividad del ácido láctico para reducir significativamente las cuentas iniciales de *Salmonella enteritidis* y *Escherichia coli* O157:H7 en pechuga de pollo almacenada a 4 °C. En este caso, el ácido láctico fue incluso más efectivo que la lauridina, otro efectivo antimicrobiano natural. Killinger *et al.* (2010) demostraron la efectividad de una solución de ácido láctico al 2 % sobre

la reducción de bacterias como *Salmonella*, cuenta total en placa y coliformes durante la matanza y procesamiento de aves de corral. En este caso, el ácido láctico se utilizó como solución de enjuague, incluso proponiéndolo como una alternativa al uso de soluciones cloradas. Anteriormente, Dubal *et al.* (2004) comprobaron la efectividad de esta solución de ácido láctico al 2 % en la reducción significativa de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella Typhimurium* en carne de cabra y cordero almacenada en refrigeración. Estos autores lograron aumentar la vida de anaquel de la carne hasta en 5 días, en comparación con las muestras control. Resultados similares fueron reportados por Özdemir *et al.* (2006) pero para carne de res, reduciendo las cuentas iniciales de *S. Typhimurium* y *L. monocytogenes*.

El inicio de la proliferación bacteriana se ha relacionado con la resolución del *rigor mortis* cuando se inicia la autólisis, la cual promueve la desestabilización del complejo proteico que forma el sarcómero. Se cree que bajo éstas condiciones, el complejo estructural de las células musculares resulta más susceptible al ataque y proliferación de la microflora bacteriana propia del organismo (Surette *et al.*, 1988; Ashie *et al.*, 1996). Es bien conocido que los peces vivos y recién capturados contienen considerables cantidades de microorganismos tanto en su superficie externa (como la piel y branquias) como interna (intestinos). Aunque la cantidad de bacterias varía mucho, normalmente se manejan valores de 10^2 - 10^7 UFC (unidades formadoras de colonias)/cm² para la superficie de la piel y de 10^3 y 10^9 UFC/g para las branquias e intestinos, respectivamente. El medio ambiente de captura (o de cultivo en su caso) tiene incluso más influencia que la propia especie sobre la carga o flora bacteriana de organismos recién capturados. Al respecto se ha visto que los peces de aguas tropicales presentan una carga bacteriana mayor a aquellos que son capturados en aguas fría o templadas (Huss, 1995). Todo lo anterior es importante a considerar durante el estudio o evaluación de aspectos y parámetros de bioquímica *post mortem*, calidad y vida de anaquel de organismos pesqueros.

2.7.3. Factores que influyen en el desarrollo del *rigor mortis*

Existen muchas variables o condiciones que tienen influencia en el *rigor mortis*. A continuación se detallan los principales factores relacionados con este proceso tan importante para la calidad y vida de anaquel de los productos pesqueros.

2.7.3.1. Especie

Se ha descrito que la especie es uno de los factores involucrados en el desarrollo del *rigor mortis* y en algunos estudios publicados, los tiempos en los cuales se lleva a cabo este proceso son muy variados. En el caso de peces, Iwamoto *et al.* (1990) reportaron para el jurel japonés, *Seriola quinqueradiata*, el chato índico, *Platycephalus indicus* y la perca loro japonesa, *Oplegnathus fasciatus* almacenados a 0 °C, que el inicio y el máximo *rigor mortis* se presentaron a las 2 y 7, 10 y 20, 0 y 13 h, respectivamente. Por otro lado, en el bacalao noruego, *Gadus morhua* sacrificado mediante percusiones craneales y almacenado en hielo se reportó el inicio del *rigor* a las 22 h, con un *rigor* máximo a las 26 h, mientras que organismos que fueron anestesiados previo al sacrificio, el inicio del *rigor* se retrasó hasta las 47 h (Digre *et al.*, 2011). De igual forma, existen otros estudios que nos permiten aseverar que la velocidad de inicio del *rigor* si está en función de la especie (Skjervold *et al.*, 2001; Roth *et al.*, 2006; Kiessling *et al.*, 2006; Durán *et al.*, 2008), sin embargo, es necesario tomar en cuenta otras variables que también influyen sobre este proceso, como en el estudio realizado por Digre *et al.* (2011), mencionado anteriormente.

A la fecha, se han desarrollado algunos estudios con respecto al *rigor mortis* en especies de crustáceos. Matsumoto y Yamanaka (1991) evaluaron el inicio del *rigor mortis* del camarón japonés *Penaeus japonicus* a -3, 0, 5 y 10 °C. Estos investigadores reportaron que el *rigor* inició a las 3 h independientemente de la temperatura utilizada. Sin embargo, encontraron que el desarrollo del *rigor* se presentó más rápidamente a las temperaturas de almacenamiento más bajas (0 y -3 °C). Por otro lado, Gornik *et al.* (2009) no observaron la instauración del *rigor mortis* aún después de 24 h *post mortem* en langosta noruega.

Con respecto a los moluscos, Kimura *et al.* (1999) encontraron en el músculo abductor de la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* que el *rigor* máximo se presenta después de las 48 h cuando se almacena 0 °C. Por otro lado, Kagawa *et al.* (2002) realizaron un estudio con 3 diferentes especies de calamares: *Sepioteuthis Iessoiana*, *Todarodes pacificus* y *Heterololigo bleekeri* y evaluaron indirectamente el *rigor mortis* mediante pruebas de penetración, reportando un inicio de este proceso a las 4 h para las 3 especies. Sin embargo, de acuerdo al grado de penetración, el tiempo en el que se alcanzó el nivel de dureza máximo (relacionado con el máximo *rigor*) fue menor para el calamar de arrecife, *Sepioteuthis Iessoiana* (24 h), mientras que el mayor fue para el calamar lanceolado, *Heterololigo bleekeri*. Con todo lo

anterior, al igual que en el caso de los peces es evidente la diferencia en el desarrollo del proceso de *rigor mortis* de acuerdo a las distintas especies de moluscos estudiadas, sin embargo, también es importante mencionar el efecto de otras variables involucradas en estos estudios, como las condiciones *ante mortem* de los organismos, de almacenamiento y ambientales de la región de captura o cultivo. Por lo tanto, más adelante se discutirá el impacto de factores como el estrés *ante mortem*, el método de sacrificio y temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis*. Además de las diferencias encontradas entre calamares de diferente especie, de acuerdo a los estudios mencionados anteriormente, es evidente también la diferencia en comparación con los estudios sobre el *rigor mortis* en peces. Al respecto, podemos mencionar algunos aspectos interesantes sobre los tipos de músculos de vertebrados como los peces y los calamares (invertebrados). Por ejemplo, a diferencia de los vertebrados, no se observan líneas “Z” claras en los sarcómeros del músculo de calamar (Tsuchiya, 1988). Además, tampoco se han encontrado las bandas características de conectina en el manto de estos invertebrados (Kimura *et al.*, 1981).

2.7.3.2. Condiciones *ante mortem*

El proceso de *rigor mortis* en productos pesqueros se puede visualizar como una consecuencia del impacto de las condiciones de almacenamiento, principalmente la temperatura. Sin embargo, existen estudios donde se ha evaluado el efecto que las condiciones *ante mortem* pueden llegar a mostrar sobre el desarrollo de este importante proceso *post mortem*. Los estudios se han llevado a cabo principalmente en peces como el salmón del Atlántico, *Salmo salar* o la carpa común, *Cyprinus carpio* (Kiessling *et al.*, 2006; Roth *et al.*, 2006; Mørkøre *et al.*, 2008, Durán *et al.*, 2008), aunque también existen investigaciones al respecto que se han realizado con especies que no son del ambiente acuático como porcinos, bovinos, aves, entre otros (Sams y Dzuik, 1999; Graziotti *et al.*, 2000; Novelo-Barrera *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010). En este caso, enfocándonos a los productos relacionados con las pesquerías, los principales factores *ante mortem* evaluados han sido la temperatura de aclimatación o desarrollo de los organismos (relacionada a su vez con la estacionalidad o época de captura), el estrés y/o manejo previo al sacrificio, además de el ayuno.

El efecto de la temperatura *ante mortem* sobre el *rigor mortis* se ha evaluado llevando a cabo la aclimatación de los organismos a corto y largo plazo. Existe un estudio realizado por

Kiessling *et al.* (2006) con salmón del Atlántico, *Salmo salar* utilizando organismos mantenidos 10 días a una temperatura de aclimatación de 4 °C, mientras que otra parte de ellos fueron colocados en un tanque con agua a 12 °C y fueron transferidos a 4 °C durante 2 h previas al sacrificio. Este último lote de organismos presentó un *rigor mortis* más acelerado debido probablemente al estrés generado por el choque térmico. En otro estudio realizado por Jerrett *et al.* (2002) con pargo australiano, *Pagrus auratus* se evaluaron dos temperaturas de aclimatación simulando condiciones de verano (19.6 °C) e invierno (11.9 °C), encontrando que esta última temperatura simulada permitió retardar el *rigor mortis*. Algunos otros estudios donde se ha evaluado el efecto de la temperatura de aclimatación se han realizado con la carpa común, *Cyprinus carpio*, donde inicialmente se reportó un probable desarrollo más acelerado del *rigor mortis* en organismos aclimatados a una temperatura elevada (30 °C), en comparación con una baja (10 °C) (Watabe *et al.*, 1990). Sin embargo, a partir de estudios posteriores se encontró que además de la temperatura de aclimatación, lo que pudiese estar afectando el proceso de *rigor mortis* es la diferencia entre esta temperatura y la de almacenamiento (Hwang *et al.*, 1991; Abe y Okuma, 1991). Los resultados anteriores fueron obtenidos evaluando combinaciones de temperaturas de aclimatación con distintas temperaturas de almacenamiento. Estos resultados también aplican y se relacionan con el estudio mencionado anteriormente realizado con el pargo australiano, *Pagrus auratus* (Jerrett *et al.*, 2002). El efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis* será discutido en el siguiente apartado.

Los principales trabajos con respecto al impacto del estrés sobre el desarrollo del *rigor mortis* se han realizado en peces. En un estudio llevado a cabo con salmón del Atlántico, *Salmo salar* se evaluó el efecto del estrés por hacinamiento, por estimulación eléctrica y organismos descansados y relajados (controles), previo al sacrificio. Se encontró que la estimulación eléctrica *ante mortem* presentó mayores efectos negativos, ya que se disminuyó el tiempo de instauración del *rigor mortis* y se incrementó el nivel de *rigor* máximo, esto al compararlo con los dos tratamientos restantes. Como era de esperarse, los resultados más favorables se obtuvieron con los organismos que se mantuvieron en un estado *ante mortem* relajado, ya que estos presentaron un índice de *rigor* con valores pico menores, además que se logró extender el tiempo de duración de este proceso *post mortem* (Roth *et al.*, 2006). Resultados similares para la estimulación eléctrica previa al sacrificio se han reportado para la

trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* (Robb *et al.*, 2000). En este caso, la estimulación eléctrica *post mortem* se realizó inmediatamente después del sacrificio. Estos autores utilizaron la estimulación eléctrica como modelo para simular una intensa actividad muscular previa al sacrificio, la cual promovió un acortamiento del periodo o tiempo en que transcurrió el *rigor mortis*.

En otro estudio llevado a cabo por Durán *et al.* (2008) con trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* y la carpa común, *Cyprinus carpio* se evaluó el efecto del nivel de estrés provocado por el sacrificio mediante percusiones craneales y del método tradicional por asfixia sobre el proceso de *rigor mortis*. En ambas especies se encontró que el primer método permitió retardar el *rigor mortis* para poder realizar el fileteado y procesamiento de los organismos en estado de *pre rigor*. Este fileteado permitió obtener beneficios en la calidad y vida de anaquel del producto final, principalmente con respecto a la textura, los valores de bases volátiles totales y de malonaldehído. Además se observaron valores de pH iniciales más altos y concentraciones de ácido láctico menores para el método de sacrificio mediante percusiones, lo que se asocia con el retardo en el fenómeno de *rigor mortis*.

Thomas *et al.* (1999) evaluaron el efecto del ejercicio por aumento en el flujo del agua, del estrés por reducción en el nivel del agua del tanque de mantenimiento, así como una combinación de ambos: 30 min de persecución con reducción en el nivel de agua del tanque sobre el *rigor mortis* en salmón del Atlántico, *Salmo salar* y trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* con un almacenamiento *post mortem* de 72 h. Los resultados indicaron un *rigor mortis* más pronunciado y acelerado en los organismos expuestos a la combinación de ejercicio y estrés *ante mortem*. Este tratamiento promovió que los organismos alcanzaran su máxima intensidad de *rigor* a las 12 h y que su resolución iniciara a las 24 h de almacenamiento. En cambio, para los tratamientos restantes, en general, el máximo *rigor* se alcanzó hasta las 24 h, para después disminuir paulatinamente cada 12 h hasta su resolución. Al igual que en el trabajo realizado por Durán *et al.* (2008), los organismos en los que se observó un *rigor mortis* más corto y pronunciado presentaron también altos niveles de ácido láctico y un pH bajo. En este último estudio y al igual que en la mayoría de los trabajos antes discutidos (Thomas *et al.*, 1999; Robb *et al.*, 2000; Roth *et al.*, 2006), en este apartado donde se evalúa el impacto de factores *ante mortem* sobre el proceso de *rigor mortis*, se ha observado que también se ven afectados otros parámetros bioquímicos y de calidad, entre los cuales se encuentran una

disminución de los niveles de ATP muscular y una drástica caída de pH *post mortem*, así como cambios en la textura y color, entre otros.

2.7.3.3. Temperatura de almacenamiento

La temperatura de almacenamiento es uno de los principales factores que influyen en el proceso de *rigor mortis*. En la carpa común, *Cyprinus carpio*, se evaluó el desarrollo del *rigor mortis* utilizando temperaturas de almacenamiento de 0 y 10 °C y se encontró que a esta última temperatura el evento *post mortem* se retrasaba con respecto a su aparición y se obtenía un pico del valor del índice de *rigor* menor (Abe y Okuma, 1991). De igual manera, Hwang *et al.* (1991) encontraron que el efecto de la temperatura sobre el *rigor mortis* se relacionó no sólo con la temperatura de almacenamiento, sino también con la temperatura a la que habían sido mantenidos los organismos previo a su sacrificio o bien, a la diferencia entre estas dos. Ambos trabajos estudiaron el *rigor mortis* en especímenes de carpa común, *Cyprinus carpio* almacenados a 0 y 10 °C, con la diferencia que Abe y Okuma (1991) los aclimataron a 5 y 30 °C, mientras que Hwang *et al.* (1991) aclimataron a 10 y 30 °C.

En experimentos realizados por Watabe *et al.* (1989) con sardina japonesa, *Sardinops melanosticta* y macarela del Pacífico, *Pneumatophorus japonicus japonicus* almacenadas a 0 y 10 °C, se encontró para ambas especies un *rigor mortis* más pronunciado a 0 °C. Sin embargo, a pesar de que el valor de *rigor* máximo fue más bajo para los organismos almacenados a 10 °C, estos presentaron una rápida resolución del *rigor* (o relajación muscular), después de 5 h *post mortem*, sin tener una explicación clara y concisa acerca de este comportamiento. Como se mencionó anteriormente, Iwamoto *et al.* (1990) reportaron diferencias en el progreso del *rigor mortis* con respecto a la temperatura de almacenamiento para el jurel japonés, *Seriola quinqueradiata*, el chato índico, *Platycephalus indicus* y la perca loro japonesa, *Oplegnathus fasciatus*. De la misma manera, en un estudio realizado por Tomé *et al.* (2000) con tilapia, *Oreochromis spp.*, se encontró que a 10 °C se retardaba el tiempo para alcanzar el *rigor mortis* máximo, en comparación con organismos almacenados a temperaturas de 0 y 27 °C. Es importante mencionar que de acuerdo a las características sensoriales y parámetros bioquímicos evaluados (bases volátiles totales y pH), la vida de anaquel se determinó en 21 y 9 días para los organismos almacenados a 0 y 10 °C, respectivamente. Por lo anterior, en este estudio se recomendó almacenar los organismos a 10 °C durante las primeras 24 h para

aprovechar el aumento en el tiempo para alcanzar el máximo *rigor* y posteriormente transferirlos a la temperatura más baja, evitando así una posible contaminación bacteriana y reducción de la vida de anaquel. En algunos de estos estudios (Watabe *et al.*, 1989; Iwamoto *et al.*, 1990; Tomé *et al.*, 2000) se concluye que un *rigor mortis* más acelerado y de mayor magnitud a temperaturas bajas (normalmente utilizando 0 °C) se debe a la incapacidad del retículo sarcoplásmico para recaptar el Ca^{+2} desde el sarcoplasma. Lo anterior provoca que las concentraciones relativamente elevadas de Ca^{+2} mantenidas dentro del sarcoplasma promuevan la actividad de la adenosina trifosfatasa-Mg⁺² (ATPasa-Mg⁺², EC 3.6.4.1) muscular, consumiendo las reservas energéticas (ATP). Por lo tanto, con esta ausencia o baja concentración de ATP muscular, se forma el complejo actina-miosina sin pasar al estado relajado, dando lugar a la aparición del *rigor mortis*.

2.7.4. Métodos de seguimiento del *rigor mortis*

Debido a la importancia que representa el *rigor mortis* como factor determinante en la calidad de los productos pesqueros, se han desarrollado una serie de métodos para evaluarlo. A continuación se describirán brevemente los métodos físicos, mecánicos y bioquímicos empleados y estudios de casos donde se han aplicado, principalmente en peces.

2.7.4.1. Métodos físicos

Entre los métodos físicos utilizados para el estudio del desarrollo del *rigor mortis* reportados en la literatura se encuentran el basado en el analizador automático de imágenes (Kiessling *et al.*, 2006), determinación del índice de *rigor* (Bito *et al.*, 1983; Kiessling *et al.*, 2006) y análisis de imágenes por microscopía de luz apoyado con herramientas histológicas (Gornik *et al.* 2009).

En un estudio realizado con salmón del Atlántico, *Salmo salar* se aplicaron dos métodos físicos para monitorear el proceso de *rigor mortis* a diferentes temperaturas de aclimatación y almacenamiento (Kiessling *et al.*, 2006). Uno de ellos consistió en la determinación de la contracción del filete entero utilizando un analizador automático de imágenes, con la ventaja de que se pueden generar una gran cantidad de datos de las imágenes a medida que se desarrolla el *rigor mortis*. Estas imágenes permitieron crear una gráfica continua en el tiempo de datos de la contracción del músculo durante este proceso *post*

mortem. El segundo método utilizado por Kiessling *et al.* (2006), conocido como índice de *rigor*, es uno de los más utilizados en peces y toma en cuenta la rigidez *post mortem* que presentan los organismos. Con este método se mide la flexión de la cola del pez y se reporta como porcentaje de flexión con respecto a las condiciones iniciales. Esta técnica es relativamente fácil de realizar y no exige la utilización de herramientas, equipos o accesorios sofisticados (Bito *et al.*, 1983).

Algunos estudios sobre el *rigor mortis* donde se han utilizado evaluaciones físicas se han llevado a cabo también en crustáceos como la langosta noruega, *Nephrops norvegicus* (Gornik *et al.* 2009). Entre las evaluaciones realizadas en este estudio se encuentra el análisis de imágenes por microscopía de luz y herramientas histológicas para medir la contracción del sarcómero, relacionando esto con el *rigor mortis*. No se observó la presencia del fenómeno de *rigor mortis* debido tal vez a la temperatura de almacenamiento (10 °C) de los organismos. Por lo tanto, en este mismo estudio, se evaluó el *rigor mortis* determinando el ángulo de flexión del abdomen, similar a la técnica reportada por Bito *et al.* (1983) para peces, corroborando los análisis realizados mediante microscopía de luz. La técnica basada en la medición del ángulo de flexión ya había sido reportada anteriormente por Matsumoto y Yamanaka (1991) para el camarón japonés, *Penaeus japonicus*. Estos autores sí lograron detectar el *rigor mortis*, además de comparar sus resultados concordando con las evaluaciones bioquímicas de concentración de ATP, arginina fosfato y ácido láctico.

En general, las evaluaciones de tipo físicas para medir el *rigor mortis* se incluyen dentro de aquellas que toman en cuenta los cambios estructurales debidos a la fuerza endógena que se genera en el músculo por contracción del sarcómero. Por otro lado, también se evalúa el efecto o resistencia del músculo a una fuerza externa aplicada, como por ejemplo en la medición del ángulo de flexión determinado ya sea en peces o crustáceos (Bito *et al.*, 1983; Matsumoto y Yamanaka, 1991; Kiessling *et al.* 2006; Gornik *et al.* 2009).

2.7.4.2. Métodos mecánicos

Con respecto a los métodos de tipo mecánico que se han venido utilizando para dar seguimiento al proceso de *rigor mortis* se encuentran la utilización del analizador de carne Rigotech® (Reologica Instruments AB, Suecia) y dispositivos similares, además de sondas o émbolos esféricos. Al igual que en el caso de las evaluaciones físicas, los métodos mecánicos

también se pueden incluir dentro de esa misma clasificación que toma en cuenta la medición de la fuerza endógena muscular o bien la fuerza externa aplicada.

Kiessling *et al.* (2006) evaluaron dos métodos mecánicos para monitorear el *rigor mortis* en salmón del Atlántico, *Salmo salar*. En el primero de ellos se aplicó la medición de la tensión isométrica del músculo estriado extirpado, mediante un analizador de carne Rigotech[®]. Este equipo presenta la ventaja de que contiene una cámara o compartimento donde se llevan a cabo las mediciones, en la cual se puede controlar la temperatura durante las determinaciones. En productos pesqueros, esta técnica y el dispositivo también fueron utilizados en el análisis de *rigor mortis* de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss* (Stien *et al.*, 2006) como comparación con un método de análisis de imágenes similar al reportado por Kiessling *et al.*, (2006). Aquí, los autores definen al sistema de análisis de imágenes como más práctico, barato y preciso que el rigómetro.

Existen estudios donde se han utilizado aparatos o dispositivos (algunos más elaborados que otros) para dar seguimiento al proceso de *rigor mortis*, incluso en ciertos casos con otros tipos de músculo de organismos no pesqueros (Kiessling *et al.*, 2006; Stien *et al.*, 2006). Algunos de estos ya se han venido realizando desde hace tiempo con ratas, bovinos, cerdos y se puede decir que son diferentes variaciones del rigómetro mencionado anteriormente (Kobayashi *et al.*, 2001). La utilización del rigómetro o dispositivos similares pertenecen a métodos que determinan la fuerza endógena generada en el músculo (Kiessling *et al.* (2006).

Kiessling *et al.* (2006) también utilizaron un método mecánico basado en la evaluación de los cambios en la dureza muscular por compresión con una sonda esférica como las utilizadas en texturómetros convencionales. Este método se utilizó como una alternativa a técnicas poco objetivas basadas en evaluaciones sensoriales como el “Finger Test” utilizada normalmente por los consumidores bajo condiciones comerciales o algunas que incluso se siguen utilizando como es el método del estado de *rigor* (Digre *et al.*, 2011). En este caso, la técnica se incluye dentro de las basadas en la medición de la resistencia del músculo a una presión o fuerza externa aplicada.

Independientemente de los resultados obtenidos mediante la aplicación de los diferentes métodos, ya sean físicos o mecánicos descritas en el estudio de Kiessling *et al.* (2006) y sin olvidar la variación del *rigor mortis* intra-especie, es importante considerar que

de acuerdo a estas técnicas el *rigor mortis* se puede dividir en 2 fases. La primera fase dominada por las fuerzas endógenas generadas en los sarcómeros durante la contracción, la cual puede monitorearse evaluando la contracción del filete entero y la tensión isométrica. Lo anterior basándonos en que estas fuerzas endógenas arrojaron los valores más elevados para ambas técnicas entre 8 y 24 h *post mortem* (Kießling *et al.*, 2006). La segunda fase del *rigor mortis* se observa de mejor manera mediante la evaluación de la dureza y la rigidez, donde de en general los valores mayores se obtuvieron entre 24 y 48 h *post mortem* para ambos métodos (Kießling *et al.*, 2006). Por lo tanto, es muy importante aclarar el hecho de que, aunque todas estas técnicas discutidas son útiles y prácticas, ya que nos permiten estudiar el desarrollo del *rigor mortis*, no siempre es posible comparar resultados para diferentes experimentos cuando se han utilizado técnicas distintas.

2.7.4.3. Métodos bioquímicos

Existe una gran cantidad de parámetros, metabolitos o compuestos que acompañan y/o se relacionan con el proceso de *rigor mortis* en los productos pesqueros, por lo que su variación, producción o degradación ha sido utilizada como herramienta de apoyo en el estudio y entendimiento de este importante evento *post mortem*. Entre los principales podemos mencionar el ATP, ácido láctico, glucógeno y pH. En la mayoría de trabajos de bioquímica *post mortem* donde se estudia el proceso de *rigor mortis*, el ATP es reconocido como uno de los principales metabolitos involucrados. Previamente, antes de que se empezaran a reportar estudios al respecto en organismos acuáticos, uno de los primeros trabajos fue realizado por Bate-Smith y Bendall (1947), quienes llevaron a cabo sus experimentos con músculo de conejo. Estos autores reportaron la importancia del ATP en la contracción muscular y a su vez en el *rigor mortis*, además observaron que su hidrólisis y consumo juega un papel fundamental en el desarrollo de este proceso. Posteriormente, Sikorski *et al.* (1990) reportaron que de manera general en el músculo de los productos pesqueros la instauración del *rigor mortis* se lleva a cabo cuando los niveles de ATP disminuyen hasta $\leq 1 \mu\text{mol/g}$, como se discutió anteriormente. A partir de esto, la determinación de ATP se utiliza como apoyo o complemento en una gran cantidad de estudios donde se realiza el seguimiento al proceso de *rigor mortis* mediante otro tipo de técnicas.

Algunos de los primeros estudios donde se evalúa el comportamiento *post mortem* de la concentración de ATP con respecto al *rigor mortis* en productos pesqueros se llevaron a cabo con la carpa común, *Cyprinus carpio* (Watabe *et al.*, 1990, Abe y Okuma, 1991; Hwang *et al.*, 1991) y con el jurel japonés, *Seriola quinqueradiata*, el chato índico, *Platycephalus indicus* y la perca loro japonesa, *Oplegnathus fasciatus* (Iwamoto *et al.*, 1990). Los resultados obtenidos en estos estudios indicaron una clara tendencia a la disminución de los niveles de ATP con la concomitante aparición o instauración del *rigor mortis*. Lo anterior también se ha observado en los trabajos más recientes donde se ha utilizado este metabolito como indicador del inicio del *rigor mortis*. Entre los experimentos llevados a cabo en peces se encuentran los realizados con en salmón del Atlántico, *Salmo salar* (Wang *et al.*, 1998), bacalao noruego, *Gadus morhua* (Cappeln y Jessen, 2002) y trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* (Thomas *et al.*, 1999). Además, existen estudios realizados en otras especies como los crustáceos: camarón japonés, *Penaeus japonicus* y la langosta noruega, *Nephrops norvegicus* (Matsumoto y Yamanaka, 1991; Gornik *et al.*, 2009) o en la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* (Kimura *et al.*, 1999).

Además del uso del ATP como indicador, en muchos de los estudios realizados con productos pesqueros también se han determinado otros compuestos. Por ejemplo, el ácido láctico se considera un importante metabolito relacionado con el *rigor mortis* por ser el compuesto final de la glucólisis anaeróbica, teniendo en cuenta que bajo condiciones *post mortem* la principal fuente de producción de ATP es mediante esta vía. Además, el ácido láctico se relaciona con un parámetro muy importante como lo es el pH, ya que se considera a este compuesto como el principal responsable de la acidificación *post mortem* del músculo. Por otro lado, se sabe que el nivel de glucógeno que mantienen como reserva los organismos previo a su sacrificio dictará en gran parte los niveles en las concentraciones de ácido láctico *post mortem* y por lo tanto los movimientos de pH. Estos metabolitos han sido evaluados en varios estudios relacionados con el *rigor mortis* (Iwamoto *et al.*, 1985, 1990; Abe y Okuma, 1991; Hwang *et al.*, 1991; Mørkøre *et al.*, 2008). De estos trabajos, los resultados más relevantes indican un patrón en el comportamiento de las concentraciones de estos compuestos, reportándose normalmente una disminución en la concentración de glucógeno con el concomitante aumento de ácido láctico muscular durante el almacenamiento *post mortem*. En los casos en que se ha cuantificado el pH, se ha observado una disminución *post*

mortem temprana en los valores de este parámetro como respuesta al incremento de ácido láctico. También se ha observado que este último compuesto alcanza sus niveles máximos durante o inmediatamente después de alcanzado el máximo *rigor mortis*. En esta misma etapa, regularmente también se observan los valores mínimos en las concentraciones de ATP muscular.

Aunque todos estos compuestos mencionados anteriormente no se pueden utilizar directamente para evaluar el fenómeno del *rigor mortis*, si han sido de gran utilidad como herramientas de apoyo en diversos estudios. Normalmente se usan para corroborar, relacionar o reforzar los resultados obtenidos mediante otras técnicas más directas o efectivas para estudiar el desarrollo de este proceso, como son las del tipo físico y mecánicas, mencionadas anteriormente.

2.7.5. Efecto del *rigor mortis* sobre la calidad del producto final

Es bien conocido que el *rigor mortis* y los cambios bioquímicos asociados a este fenómeno pueden llegar a tener gran influencia sobre la calidad final de los productos pesqueros (Sikorski, *et al.*, 1990; Huss, 1995). Aunque existen una gran cantidad de trabajos donde se estudia el *rigor mortis* y los procesos *post mortem* relacionados (Matsumoto y Yamanaka, 1991; Tomé *et al.*, 2000; Morison, 2004; Mishima *et al.*, 2005; Suárez-Mahecha *et al.*, 2007; Roth *et al.*, 2006; Mørkøre *et al.*, 2008; Duran *et al.*, 2008; Gornik *et al.*, 2009), realmente son pocos aquellos donde se ha evaluado el efecto directo de este fenómeno sobre la calidad final de los productos pesqueros (Ando *et al.*, 1991; Tomé *et al.*, 2000; Skjervold *et al.*, 2001; Birkeland *et al.*, 2007; Durán *et al.*, 2008). A pesar de esto, al analizar los resultados de los diferentes trabajos reportados se pueden obtener conclusiones muy interesantes, las cuales se detallan a continuación.

Al hablar de calidad en productos pesqueros se debe tener en consideración dos aspectos importantes, uno de ellos corresponde a los atributos sensoriales, mientras que el segundo a la inocuidad (relacionada con la calidad microbiológica). En el primer caso, se sabe que la velocidad de inicio e intensidad con la cual se presente el *rigor mortis* en el músculo de organismos de origen acuático puede llegar a tener gran influencia sobre algunas características físicas entre las que se destacan el color, capacidad de retención de agua y la textura (Huss, 1995). Las variaciones en estos atributos se relacionan normalmente con

cambios conformacionales principalmente de las proteínas estructurales (miofibrilares) (Mørkøre *et al.*, 2008; Gornik *et al.*, 2010), que pueden llegar a sufrir una desnaturalización y con ello perder su funcionalidad, lo cual es de suma importancia tecnológica ya que se puede reflejar en pérdida de la capacidad de retención de agua y cambios adversos en la textura (Huss, 1995).

En los estudios discutidos anteriormente realizados por Tomé *et al.* (2000) y Durán *et al.* (2008) se evaluó el efecto de condiciones *ante-* y *post mortem* (método de sacrificio y temperatura de almacenamiento) sobre algunos parámetros bioquímicos y sensoriales relacionados con el *rigor mortis*, la calidad y vida de anaquel de productos pesqueros como son la concentración de ATP y sus productos de degradación, bases volátiles totales y concentración de malonaldehído. Sin embargo, existen estudios (Skjervold *et al.*, 2001; Birkeland *et al.*, 2007) donde se han evaluado algunas condiciones de procesamiento (ej. fileteado) llevadas a cabo en diferentes etapas del fenómeno del *rigor mortis*. Dichos estudios se han realizado con salmón del Atlántico, *Salmo salar* donde se ha reportado un impacto del fileteado o bien la inyección de soluciones salinas de filetes en estado de *pre-*, *in-* o *post rigor mortis* sobre algunos parámetros físicos como la capacidad de retención de agua, color, tamaño, grosor y nivel de contracción del filete y grado de desgajamiento, principalmente. En el estudio realizado por Skjervold *et al.* (2001), aunque no se encontró un efecto del fileteado sobre la capacidad de retención de agua, las muestras procesadas en estado de *pre rigor mortis* mostraron mejores características con respecto al color. Además, se observó que estas últimas muestras fueron significativamente más gruesas durante todo el almacenamiento (14 días en hielo), en comparación con las obtenidas de aquellos organismos que fueron fileteados en estado de *post rigor mortis*. Por otro lado, en el trabajo realizado por Birkeland *et al.* (2007), los filetes que fueron inyectados con solución salina en estado de *post rigor mortis* presentaron una mayor ganancia de peso y menor contracción, en comparación con aquellos inyectados en estado de *pre rigor mortis*. Sin embargo, para estas últimas muestras, el grado de desgajamiento observado fue menor.

Existe un trabajo relacionado con calidad y *rigor mortis* en productos pesqueros realizado por Ando *et al.* (1991) y que es interesante en particular, ya que se estudió el desarrollo de este proceso *post mortem* y de manera paralela se monitoreó los cambios en la textura evaluando la fuerza de ruptura del filete durante 72 h a 5 °C. Las especies estudiadas

fueron el lenguado japonés, *Paralichthys olivaceus*, la perca loro japonesa, *Oplegnathus fasciatus*, el jurel japonés, *Seriola quinqueradiata*, la carpa común, *Cyprinus carpio*, el pargo australiano, *Pragus auratus*, el ronco japonés, *Parapristipoma trilineatum*, el pez globo tigre, *Fugu rubripes* y la trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*. Es importante destacar que el *rigor* máximo se mantuvo hasta las 72 h de duración del experimento, sin observarse la resolución de este fenómeno durante este tiempo en ninguna de las especies mencionadas. Por otro lado, la fuerza de ruptura del filete para todas las especies analizadas, con excepción del pez globo tigre, disminuyó rápidamente en las primeras 24 h de almacenamiento, para después disminuir gradualmente. Con lo anterior, se puede decir que de acuerdo a la prueba de textura analizada, en este caso el ablandamiento de los filetes se presentó independientemente del desarrollo del *rigor mortis* y de la especie en cuestión.

Con respecto a la cuestión microbiológica, el deterioro de los productos pesqueros por esta vía se presenta después de la resolución del *rigor mortis*, provocando una cascada de eventos que aunados a los procesos endógenos actúan en detrimento de los atributos de calidad e inocuidad (Huss, 1995). Existen algunos estudios como los discutidos anteriormente donde se relaciona o hace inferencia del *rigor mortis* y de aspectos microbiológicos (Surette *et al.*, 1988; Ashie *et al.*, 1996). Sin embargo, no hay reportes de trabajos donde se evalué específicamente el efecto directo de este fenómeno sobre el desarrollo bacteriano en productos pesqueros.

A pesar de la información existente sobre el impacto que tiene el *rigor mortis* sobre la calidad y vida de anaquel de los productos de la pesca, es necesario el estudio más a fondo sobre el tema tratado. Sin embargo, lo que sí es un hecho es que retardar el inicio y la velocidad del *rigor mortis* permitirá obtener un producto de mayor calidad y vida de anaquel (Sikorski, *et al.*, 1990; Huss, 1995). Lo anterior basado en los estudios analizados anteriormente donde se ha observado que tras la resolución del *rigor mortis* se presentan una serie de eventos que pueden disminuir la calidad tanto sensorial como microbiológica de los productos pesqueros. A su vez, para la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* no existen estudios con respecto al proceso de *rigor mortis* y su relación con la estacionalidad y la temperatura de almacenamiento, por lo que basado en todo lo anteriormente expuesto se plantean la hipótesis y objetivos descritos a continuación.

III. HIPÓTESIS

La estacionalidad y la temperatura de almacenamiento afectan la bioquímica del *rigor mortis* en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cultivada.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la estacionalidad y de la temperatura de almacenamiento en diferentes niveles sobre la bioquímica del *rigor mortis* en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cultivada.

4.2. Objetivos Particulares

- Evaluar los principales metabolitos y parámetros relacionados con la energética *post mortem* en el músculo abductor de la almeja mano de león.
- Realizar análisis físicos relacionados con el *rigor mortis* en el músculo abductor de la almeja mano de león.
- Evaluar el efecto del transporte de los organismos desde el sitio de cultivo hacia el lugar de sacrificio sobre los parámetros y metabolitos relacionados con el *rigor mortis*.
- Determinar la estación y temperatura de almacenamiento que retarde el *rigor mortis* en el músculo abductor de la almeja mano de león.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Organismos Experimentales

Para el presente estudio se emplearon organismos adultos de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* con un tamaño aproximado de 10 cm de altura de la concha. Los organismos se colectaron de un sistema de cultivo en suspensión de linternas japonesas localizado en Bahía Tortugas, B.C.S. (27°41'30" N, 114°53'45" O). La obtención de los organismos se llevó a cabo tomando en cuenta las condiciones reales de captura durante la cosecha, para tal efecto se contó con la ayuda y asesoría de personal especializado de la empresa Marimex del Pacífico, S.A. de C.V. Por lo tanto, los organismos fueron obtenidos de acuerdo a la técnica normalmente utilizada en el sitio de cultivo. En esta etapa se tomó un lote de doce organismos para realizar evaluaciones de tipo biométrico, se congeló un lote de seis músculos abductores en nitrógeno líquido para análisis bioquímicos, además de fijar muestras (6 porciones de músculo abductor) para análisis de histología de los organismos al momento de su captura. Los detalles de estos análisis serán descritos más adelante.

Se realizaron cuatro muestreos para las estaciones de primavera, verano, otoño e invierno. Las primeras tres estaciones (primavera, verano y otoño) se muestrearon en el 2009, mientras que la última (invierno) en el 2010. Las fluctuaciones de temperatura fueron monitoreadas en un estudio paralelo realizado por Angel-Dapa (2010), del cual se tomaron los promedios para cada estación con valores de 14.69, 19.14, 21.57 y 17.78 °C para primavera, verano, otoño e invierno, respectivamente. Por cada estación, después de tomar muestras para los análisis en las condiciones iniciales, 114 organismos fueron inmediatamente transportados a un área de la empresa destinada y acondicionada para su desconche. Esta actividad se realizó por personal especializado en el desconche de organismos en un tiempo de aproximadamente de 2 h, tomando en cuenta el transporte. Durante este tiempo los especímenes fueron mantenidos en contenedores de plástico cubiertos con tela humedecida para aminorar los efectos de la desecación.

5.2. Experimento de Almacenamiento

En esta etapa se tomaron seis muestras para los análisis al tiempo cero de almacenamiento. Posterior al desconche de los organismos, los músculos abductores se empacaron en bolsas de polietileno con un contenido de seis callos por bolsa, las cuales se sometieron a diferentes temperaturas de almacenamiento (0, 5 y 10 °C). El almacenamiento se llevó a cabo durante 48 h, periodo en el cual se tomaron muestras cada 8 h para realizar los análisis bioquímicos e histológicos correspondientes a las 0, 8, 16, 24, 32, 40 y 48 h.

5.3. Índice de Rendimiento Muscular y Gonadal

Para la determinación del índice de rendimiento muscular (IRM) e índice gonadal (IG) de la almeja mano de león se utilizó la técnica descrita por Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez (1996). Esta consistió en desconchar, remover y pesar los tejidos húmedos, para posteriormente extraer y pesar el músculo abductor (callo) y la gónada, aplicando la siguiente fórmula en cada uno de los casos:

$$\text{IRM o IG} = [(\text{Peso del músculo abductor o gónada}) / (\text{Peso de los tejidos húmedos})] \times 100$$

5.4. ATP, ADP y AMP

La extracción, identificación y cuantificación del ATP, ADP y AMP se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) siguiendo la metodología descrita por Ryder (1985) a partir de un extracto obtenido en ácido perclórico y utilizando estándares comerciales como referencia. Se inyectaron 20 µL del extracto diluido en un cromatógrafo Varian Prostar 240 (Varian Inc., Lake Forest, CA), utilizando una columna de fase reversa C18 de 4.6 x 150 mm (Varian Inc., Lake Forest, CA). La fase móvil consistió de un búfer de fosfatos compuesto de KH₂PO₄ 0.04M y K₂HPO₄ 0.06 M. Se utilizó un flujo de 1 mL/min, llevando a cabo la detección a 254 nm en un detector UV-Vis Varian Prostar 325 (Varian Inc., Lake Forest, CA).

5.5. CEA

La CEA se calculó de acuerdo a la ecuación utilizada por Maguire *et al.* (1999b), la cual fue descrita y desarrollada por Atkinson (1968):

$$\text{CEA} = (\text{ATP}) + 1/2 (\text{ADP}) / (\text{ATP}) + (\text{ADP}) + (\text{AMP})$$

donde:

ATP = Adenosina 5´trifosfato

ADP = Adenosina 5´difosfato

AMP = Adenosina 5´monofosfato

5.6. Glucógeno

Este compuesto se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Racotta *et al.* (2003). Para ello, se homogenizaron 0.3 g de músculo abductor con 1.0 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10 % en un homogeneizador Ultra-turrax T18 Basic (IKA Woeks Inc. NC, USA) durante 1 min. El homogenizado se centrifugó en una centrifuga refrigerada Thermo Electron Modelo IEC-MULTI RF (Thermo Fisher Scientific Asheville, NC 28804) a 3000 x g y -5 °C durante 15 min. Posteriormente, se tomó 0.1 mL del sobrenadante y se mezcló con 1 mL de etanol frío al 95 %. La mezcla se centrifugó de nuevo bajo las condiciones anteriormente descritas. El sobrenadante se desechó y se recuperó el precipitado (glucógeno) evaporando el solvente en un concentrador Vacufuge^R Plus (Eppendorf, Hamburg, Germany) a 45 °C durante 15 min. Este precipitado se resuspendió en 0.1 mL de agua destilada y se hizo reaccionar con 1 mL del reactivo de antrona (solución al 0.1 % de reactivo disuelto en ácido sulfúrico al 76 %) por calentamiento a 90 °C durante 5 min. La reacción se detuvo en un baño con agua y hielo, para posteriormente medir la absorbancia a 620 nm, cuantificando el glucógeno como unidades glicosil, utilizando glucosa como estándar.

5.7. Arginina Fosfato

La arginina fosfato se cuantificó a partir del extracto obtenido para la determinación de ATP, ADP y AMP. Para ello, se empleó la metodología descrita por Viant *et al.* (2001). Se utilizó un HPLC con una columna SUPELCOSIL[®] LC-NH₂ de 4.6 x 250 mm. La fase móvil consistió de KH₂PO₄ 0.02 M (pH 2.6)-acetonitrilo, (72-28), con un flujo de 1.2 mL/min. Se utilizó un detector UV-Vis Varian Prostar 325 (Varian Inc., Lake Forest, CA) para llevar a cabo la detección a 205 nm.

5.8. Arginina y Octopina

El análisis de estos metabolitos se realizó en los extractos utilizados para la cuantificación de nucleótidos, sin embargo, a diferencia del resto de los análisis, para arginina y octopina las

determinaciones se llevaron a cabo a las 0, 8, 24 y 48 h de almacenamiento. Para la determinación se siguió la técnica reportada por Sato *et al.* (1991). Durante la separación del analito se inyectaron 20 μ L del extracto en un cromatógrafo Varian (Varian Inc., Lake Forest, CA) con columna de fase reversa C18-A de 4.6 x 10 mm (Varian Inc., Lake Forest, CA) a 40 °C utilizando un horno para columna Metatherm (Varian Inc., Lake Forest, CA). Se realizó una elusión en gradiente utilizando como fase móvil un búfer de acetonitrilo al 20 % en Tris-HCl 0.25 M, pH 9.5 (solución A) y una solución de acetonitrilo-agua 80-20 % (solución B). El gradiente consistió en cambiar de 0 a 50 % de solución B en 20 min, para finalizar con un lavado de 5 min con 100 % de solución B, utilizando un flujo de 1 mL/min constante. La detección se llevó a cabo en un detector de fluorescencia Varian Prostar 363 (Varian Inc., Lake Forest, CA) a 325 y 425 nm para la excitación y emisión, respectivamente.

5.9. Ácido Láctico

El ácido láctico se cuantificó en los mismos extractos utilizados para el análisis de nucleótidos. Para ello se utilizó un kit comercial (RANDOX, Cat. LC2389, Antrim, United Kingdom), de acuerdo a las recomendaciones del proveedor.

5.10. pH

La medición de pH se llevó a cabo introduciendo un potenciómetro de penetración Hanna HI 90140 (Hanna Instruments, Inc. Woonsocket, RI) directamente en el músculo abductor de la almeja mano de león. El equipo fue calibrado diariamente con soluciones comerciales de referencia.

5.11. Longitud del Sarcómero

Para esta evaluación, inmediato al desconche se tomaron porciones de músculo abductor, las cuales fueron fijadas en solución de Davidson y después deshidratadas con alcohol y aclaradas e incluidas en parafina, siguiendo la metodología descrita por Shaw y Battle (1957). Una vez que las muestras se fijaron y deshidrataron se procedió a realizar los cortes de los bloques de parafina con un espesor de 4 μ m utilizando un microtomo Leica LM2025. Los cortes se tiñeron con la técnica de hematoxilina eosina descrita por Sheehan y Hrapchak (1973). Las

muestras se observaron en un microscopio óptico (BX-50, OLYMPUS, Co., Tokio, Japón) y se tomaron fotografías con una cámara digital (CoolSnap-Pro, Media Cybernetic, Inc., Silver Spring, MD, EU). Las imágenes fueron analizadas mediante el software Image-Pro Plus versión 4.1.5.19 (CoolSnap-Pro, Media Cybernetic, Inc., Silver Spring, MD, EU), midiendo el tamaño de los sarcómeros en cortes longitudinales de las distintas muestras obtenidas.

5.12. Diseño Experimental y Análisis de Datos

El estudio fue dividido en tres etapas y en la primera parte se evaluó el efecto de la estacionalidad sobre los valores iniciales del IRM, IG, ATP, ADP, AMP, CEA, glucógeno, arginina fosfato, arginina, octopina, ácido láctico, pH y longitud del sarcómero. Se realizó un análisis univariado con cuatro factores correspondientes a las estaciones de muestreo: primavera, verano, otoño e invierno.

En la segunda etapa, se evaluó el efecto del transporte de los organismos hacia el lugar de sacrificio en las cuatro estaciones del año. Para esto, se aplicó un diseño factorial de dos factores: cuatro estaciones de muestreo (primavera, verano, otoño e invierno) y las dos condiciones del organismo previo a su sacrificio (condiciones iniciales con organismos de la laguna y condiciones *post*-transporte en el lugar de sacrificio). En esta etapa se analizaron la mayoría de los parámetros y metabolitos, incluyendo el ATP, ADP, AMP, CEA, glucógeno, arginina fosfato, arginina, octopina, ácido láctico, pH y longitud del sarcómero.

En la tercera parte del experimento se tomó en cuenta un diseño factorial con tres factores principales: estación de muestreo (primavera, verano, otoño e invierno), temperatura (0, 5 y 10 °C) y tiempo de almacenamiento (0, 8, 16, 24, 32, 40 y 48 h). Para esto, se analizaron los siguientes parámetros: ATP, ADP, AMP, glucógeno, arginina fosfato, ácido láctico, pH y longitud del sarcómero. Como se mencionó anteriormente en la descripción de la metodología, para el caso de los metabolitos arginina y octopina, los análisis comprendieron solo el almacenamiento de las 0, 8, 24 y 48 h.

Las evaluaciones de IRM e IG se realizaron con doce organismos como repeticiones por cada muestreo. Además, los datos para el análisis de estos parámetros fueron transformados con la función arco-seno previo a la aplicación del estadístico. Para los análisis bioquímicos, así como para los histológicos se tomaron seis músculos abductores como repeticiones para los valores iniciales de cada estación, para cada combinación de estación-

condición (inicial o *post*-transporte) y combinación estación-temperatura-tiempo de almacenamiento. El análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el programa NCSS Ver. 2000 (Hintze, 2001). Para ello se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y cuando se encontraron diferencias significativas se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey. Adicionalmente, para las concentraciones de ATP y pH a 0 °C se realizó un análisis de correlación de Pearson. Durante el análisis estadístico, en todos los casos se consideró un nivel de significancia del 5 %.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Índice de Rendimiento Muscular y Gonadal

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos del IRM e IG de los organismos recién colectados en cada una de las estaciones. En ella se puede observar que tanto para el IRM como para el IG se encontraron cambios significativos ($p < 0.05$) con respecto a la estación, obteniéndose los valores más elevados para los organismos cosechados en verano y primavera. Beltrán-Lugo *et al.* (2006) reportaron resultados similares también para *Nodipecten subnodosus*. Lo anterior puede deberse a la alimentación o producción de fitoplancton dentro de la laguna, así como al ciclo reproductivo de la especie, ya que se sabe que el periodo de reposo gonadal se presenta desde noviembre a marzo, como fue reportado por Arellano-Martínez *et al.* (2004). Estos autores trabajaron también con *Nodipecten subnodosus*, pero en la Laguna Ojo de Liebre, el principal lugar de captura de la especie y que se encuentra en la misma zona del sitio de cultivo de donde se colectaron los organismos del presente estudio. Anteriormente, Beltrán-Lugo *et al.* (2006) reportaron valores para el IRM de 28.1, 33.1, 39.5 y 33.1 % en invierno (enero), primavera (abril), verano (septiembre) y otoño (noviembre) en organismos de esta misma especie obtenidos de un cultivo localizado en esta misma región. Por otro lado, Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez (1996) encontraron valores de IRM de 30 y 50 %, en invierno y verano, respectivamente en la almeja catarina, *Argopecten ventricosus*.

Al analizar los resultados de IRM e IG en conjunto para el presente estudio, se puede observar que ambos presentaron un comportamiento similar, correspondiendo los valores más altos y los más bajos de ambos parámetros en cada estación. Con esto, se deduce que la especie *Nodipecten subnodosus* en el sitio de cultivo de donde se obtuvieron los organismos presenta una estrategia reproductiva de tipo oportunista, ya que su gametogénesis se sostuvo solo con el alimento del medio. Al respecto, Pazos *et al.* (1997), Luna-González *et al.* (2000) y Román *et al.* (2001) realizaron estudios previos con el género *Nodipecten* spp., en donde observaron que de acuerdo a las condiciones del medio (principalmente la disponibilidad de

Tabla 1. Índices fisiológicos evaluados en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en las distintas estaciones del año.

Índice Fisiológico	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
IRM (%)*	35.99 ± 1.81 ^{bc}	37.20 ± 1.68 ^c	28.37 ± 4.22 ^a	33.94 ± 2.53 ^{ab}
IG (%)*	13.27 ± 1.24 ^b	12.21 ± 2.39 ^b	6.26 ± 0.85 ^a	8.17 ± 1.47 ^a
CEA-Cosecha**	0.58 ± 0.02 ^{2,3}	0.84 ± 0.11 ⁵	0.65 ± 0.02 ⁴	0.85 ± 0.02 ⁵
CEA- <i>post</i> -transporte**	0.31 ± 0.02 ¹	0.67 ± 0.08 ^{3,4}	0.51 ± 0.05 ²	0.83 ± 0.02 ⁵

*Los valores representan la media y la desviación estándar de n = 12. Medias en la misma fila con distinto superíndice son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

**Los valores representan la media y desviación estándar de n = 6. Medias en la misma columna o fila con distinto superíndice son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

alimento, además de la temperatura) estas especies de pectínidos son capaces de elegir una estrategia reproductiva oportunista o conservadora.

6.2. ATP, ADP y AMP

En las Figuras 12, 13 y 14 se presentan los resultados correspondientes a las concentraciones de ATP, ADP y AMP a las diferentes temperaturas de almacenamiento: 0, 5 y 10 °C, para las estaciones de primavera, verano, otoño e invierno. La concentración inicial de ATP de los organismos obtenidos directamente de la laguna fue de 2.32, 5.53, 3.93 y 5.65 $\mu\text{mol/g}$ para primavera, verano, otoño e invierno, respectivamente. Anteriormente, Ocaño-Higuera *et al.* (2011a) reportaron un valor de 7.4 $\mu\text{mol/g}$ para *Nodipecten subnodosus* en organismos obtenidos directamente de la Laguna Manuela, B.C.S. en verano (septiembre). En otro estudio realizado por Tsuji y Nishida (1988) se reportó un valor inicial en un rango de 1.66 a 3.33 $\mu\text{mol/g}$ para la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* en organismos obtenidos al inicio de verano (junio) en lagunas localizadas en Japón. Las diferencias observadas entre los distintos estudios pueden deberse a la estación o época del año y el sitio de captura (o cosecha), además de la especie.

La concentración de ATP de los organismos iniciales obtenidos en primavera, verano y otoño disminuyó durante el transporte hacia el lugar de sacrificio ($p < 0.05$), mientras que en invierno no se observaron cambios significativos ($p > 0.05$). En el caso de los organismos cosechados en primavera, la disminución observada se puede deber al estrés térmico provocado por las bajas temperaturas observadas en el agua de la laguna, las cuales fluctuaron alrededor de los 15 °C para esta estación del año (Angel-Dapa, 2010). Cabe mencionar que esta especie presenta una temperatura óptima de crecimiento de 22 °C, con un límite de tolerancia en el intervalo entre 10 y 26 °C (González-Estrada, 2003; Sicard *et al.*, 2006). Por otro lado, los organismos cosechados en verano y otoño posiblemente disminuyeron sus niveles de ATP debido a la condición que presentan durante esta época (desde el punto de vista reproductivo), cuando los organismos se encuentran en su mayor parte recientemente desovados y en la etapa de reposo, esto último debido a la baja disponibilidad de alimento (Angel-Dapa, 2010). Por lo tanto, es posible que sus reservas energéticas no sean suficientes

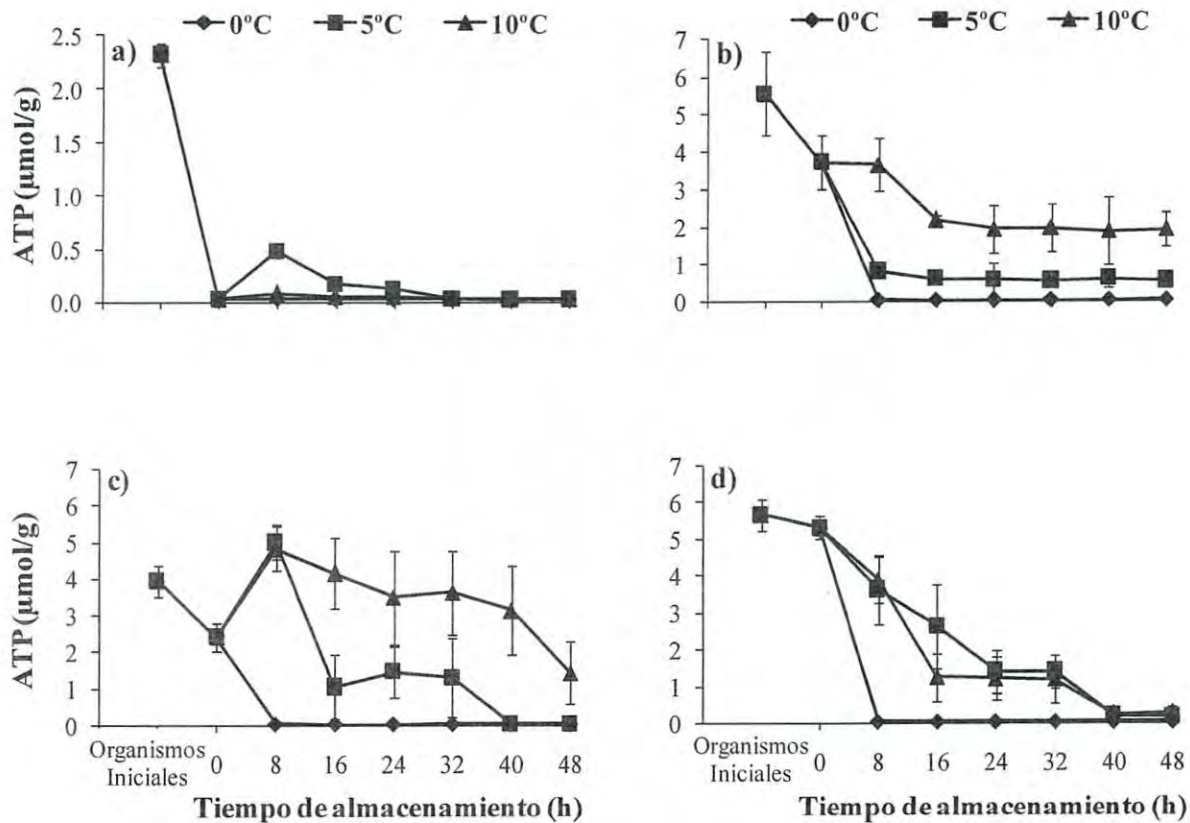


Figura 12. Concentración de ATP en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de n = 6. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post-transporte*.

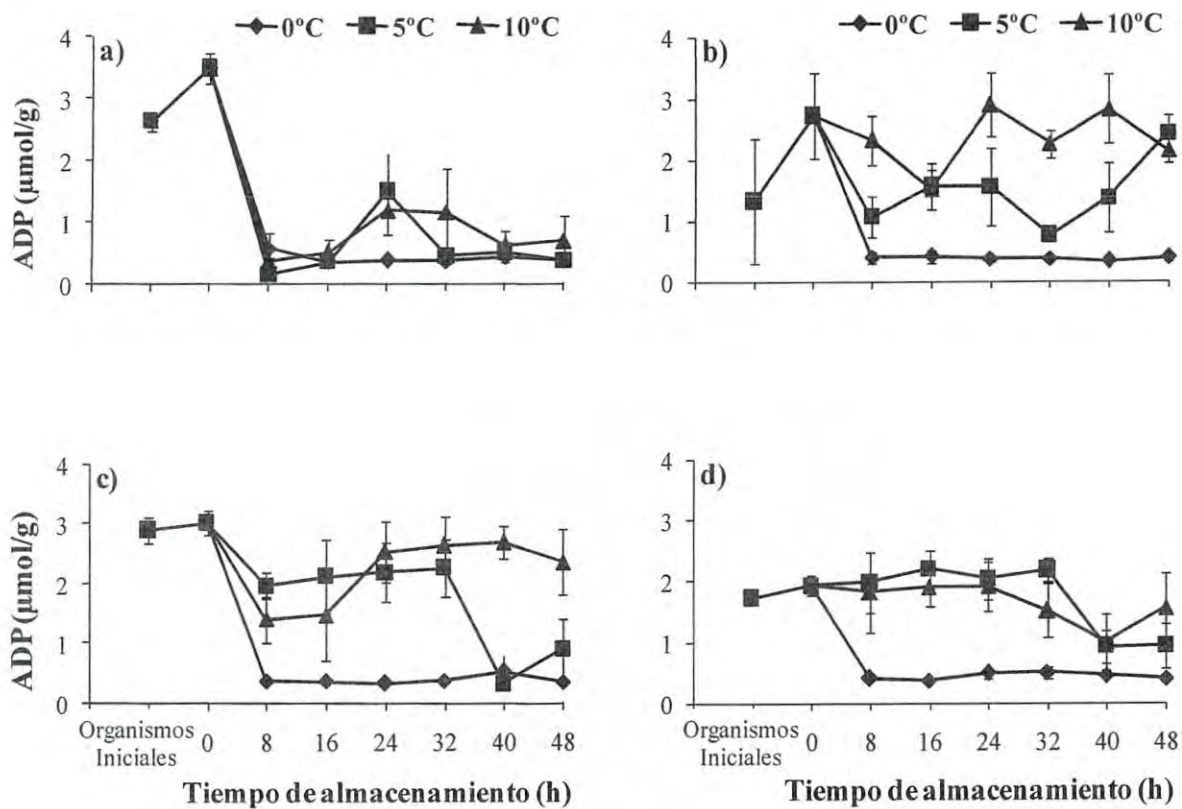


Figura 13. Concentración de ADP en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de n = 6. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post*-transporte.

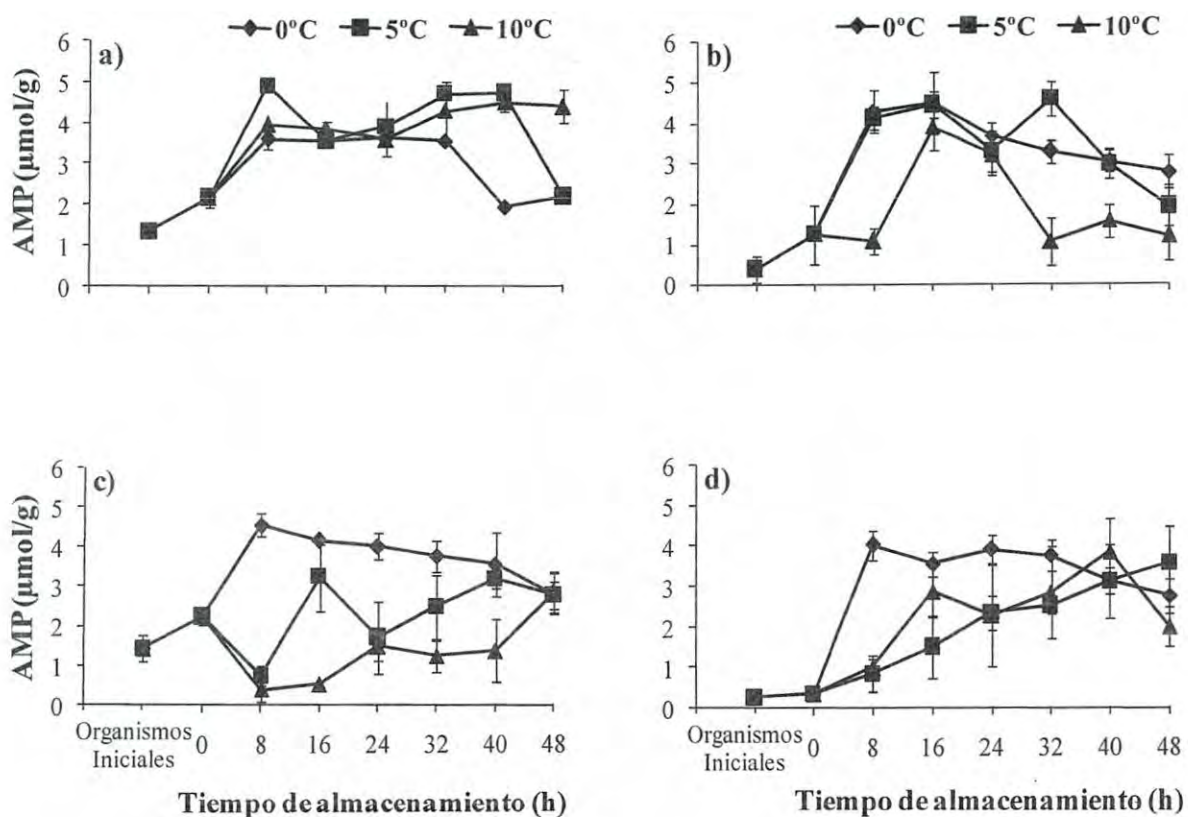


Figura 14. Concentración de AMP en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de $n = 6$. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post-transporte*.

para contrarrestar el efecto del estrés fisiológico generado durante el transporte (Barrios-Ruiz *et al.*, 2003; Racotta *et al.*, 2003; Ocaño-Higuera *et al.*, 2011a). En el estudio realizado por Ocaño-Higuera *et al.* (2011a) se reportó una disminución del 50 % en la concentración de ATP durante el transporte en emersión de adultos de *Nodipecten subnodosus* capturadas en la Laguna Manuela, B.C.S. En este último trabajo, al igual que en el presente estudio, la disminución en la concentración de ATP se atribuye a la compensación fisiológica por parte de los organismos para contrarrestar el estrés generado por la emersión consumiendo su energía de reserva.

Durante el almacenamiento, los valores de ATP de los músculos abductores mantenidos a 5 y 10 °C fueron mayores a los encontrados a 0 °C en todas las estaciones evaluadas ($p < 0.05$). Además, se puede observar un aumento significativo de este metabolito a las 8 h de almacenamiento para los músculos abductores de organismos colectados en primavera y otoño ($p < 0.05$). Lo anterior se puede atribuir a la acción de la enzima arginina cinasa, la cual lleva a cabo la regeneración de ATP a expensas de ADP y del fosfágeno arginina fosfato (Wongso *et al.*, 1998). Otra vía productora de ATP en las etapas *post mortem* iniciales se lleva a cabo por la enzima adenilato cinasa, que convierte 2 moléculas de ADP en una de ATP y otra de AMP (Hultin, 1976). Esto se relaciona con la disminución en la concentración de ADP (Figura 13) y el concomitante aumento de ATP mencionado para estas temperaturas. Al respecto, se ha reportado que la regeneración de ATP se presenta en los primeros minutos de la etapa *post mortem* (Hultin, 1976), por lo que en el presente estudio el aumento de este metabolito fue detectado a las 8 h de almacenamiento. Este aumento en la concentración de ATP *post mortem* ya ha sido reportado por Watanabe *et al.* (1992) y Massa *et al.* (2001) para el abulón japonés, *Haliotis discus* y para la vieira patagónica, *Zigochlamys patagonica* respectivamente, almacenados a una temperatura mayor que 0 °C.

Por otro lado, es posible que a las temperaturas de 5 y 10 °C en verano e invierno también se haya regenerado ATP en las primeras horas *post mortem*, sin embargo, su aumento no fue notable debido a la misma hidrólisis del metabolito, el cual es utilizado como suministro de energía en el músculo abductor bajo estas condiciones de almacenamiento (Sikorski *et al.*, 1990).

Actualmente, se ha destacado la importancia en las concentraciones de ATP durante las primeras etapas *post mortem* y como influye sobre el desarrollo de otros cambios

bioquímicos, incluyendo el *rigor mortis*, en donde se ha indicado de forma general que este proceso se presenta cuando disminuyen los niveles de ATP a $\leq 1 \mu\text{mol/g}$ de músculo (Sikorski, *et al.*, 1990). En el presente estudio se encontró que en verano a 10 °C y en otoño e invierno a 5 y 10 °C, los niveles de ATP se mantuvieron por encima de 1 $\mu\text{mol/g}$, por lo menos hasta las 32 h. Con lo anterior, podemos asociar un almacenamiento a las temperaturas más elevadas (5 y 10 °C) con un *rigor mortis* menos pronunciado o menor, en comparación con las muestras mantenidas a 0 °C.

En el caso del ADP, las concentraciones iniciales de los organismos obtenidos directamente de la laguna en las distintas estaciones oscilaron de 1.32 a 2.90 $\mu\text{mol/g}$, las cuales son similares a lo encontrado por Tsuji y Nishida (1988), quienes reportaron un rango de 1.83-2.69 $\mu\text{mol/g}$ para la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* en organismos capturados en distintas localidades de Japón. En la especie *Nodipecten subnodosus* Ocaño-Higuera *et al.* (2011a) reportaron un valor inicial de 2.3 $\mu\text{mol/g}$, el cual está dentro del rango de valores obtenido en el presente estudio. Por otro lado, las concentraciones iniciales mayores de ADP se obtuvieron en los organismos cosechados en primavera y otoño, coincidiendo con las estaciones que presentaron los niveles iniciales de ATP más bajos ($p < 0.05$). Durante el transporte, en primavera se observó un aumento significativo en la concentración de ADP ($p < 0.05$), permaneciendo sin cambio en las estaciones de verano, otoño e invierno ($p > 0.05$). En el caso de la estación de primavera, el aumento se puede relacionar con la disminución en la concentración de ATP por efecto de la emersión durante dicho transporte.

En cuanto al almacenamiento, en esta etapa se observó una disminución de la concentración de ADP a las 8 h en las mismas estaciones (primavera y otoño) y temperaturas (5 y 10 °C) donde hubo un aumento en la concentración de ATP ($p < 0.05$). Esto corrobora la acción de la enzima arginina cinasa produciendo energía en las etapas *post mortem* iniciales, recordando que en la reacción se consume ADP para formar ATP. Por último, para las cuatro estaciones evaluadas, después de las 8 h de almacenamiento se observó un patrón similar, ya que los valores de ADP en los músculos abductores almacenados a 5 y 10 °C fueron mayores que los obtenidos en aquellos almacenados a 0 °C.

Con respecto a el AMP, los valores iniciales más bajos fueron para los organismos cosechados en verano ($0.37 \pm 0.33 \mu\text{mol/g}$) e invierno ($0.27 \pm 0.06 \mu\text{mol/g}$) ($p < 0.05$), siendo

primavera ($1.36 \pm 0.35 \mu\text{mol/g}$) y otoño ($1.44 \pm 0.32 \mu\text{mol/g}$) en donde se encontraron los valores mas elevados y similares entre sí ($p > 0.05$). La concentración de AMP determinada en estas últimas estaciones está dentro del rango encontrado por Tsuji y Nishida (1988), quienes reportaron valores de 1.13 a 2.41 $\mu\text{mol/g}$ en el músculo abductor de la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis*. Por otro lado, las concentraciones iniciales de AMP determinadas en verano e invierno son similares a las reportadas por Ocaño-Higuera *et al.* (2011a), quienes encontraron 0.6 $\mu\text{mol/g}$ también en la especie *Nodipecten subnodosus*.

Durante el transporte solo hubo variación significativa para las muestras obtenidas en primavera y otoño, en las cuales se observó un aumento en la concentración de AMP. Lo anterior se relaciona y coincide con las disminuciones de ATP en estas mismas muestras durante el transporte, tomando en cuenta que durante la utilización de energía a partir de este metabolito, la molécula se degrada a ADP y posteriormente a AMP (Lehninger *et al.*, 2008). La acumulación de AMP durante el transporte y a las 24 h *post mortem* ya ha sido reportada para esta misma especie por Ocaño-Higuera *et al.* (2011a) y por Pacheco-Aguilar *et al.* (2008), respectivamente. De acuerdo a Mendes *et al.* (2001), el AMP es uno de los nucleótidos más abundantes en moluscos y crustáceos y su acumulación se debe a la baja o nula actividad AMP deaminasa en el músculo de estos organismos.

Es importante señalar un aumento significativo observado a las 8 h de almacenamiento a 0 °C para los músculos abductores de organismos cosechados en las 4 estaciones ($p < 0.05$). Dicho aumento en la concentración de AMP se presentó paralelamente a la degradación tan drástica de ATP que se observó desde las etapas iniciales *post mortem* para esta temperatura de almacenamiento. De la misma manera que se presentó el aumento durante el transporte, en este caso también puede ser resultado de la degradación rápida de ATP a ADP y posteriormente hasta AMP (Lehninger *et al.*, 2008). Por esto mismo, de manera general, para todas las temperaturas evaluadas y en las cuatro estaciones se obtuvo una acumulación de AMP desde las etapas iniciales y hacia el final del almacenamiento.

6.3. CEA

Este indicador refleja claramente el estado energético de los organismos y es útil para evaluar el efecto de situaciones de estrés a corto plazo como la emersión o el transporte (Atkinson,

1968; Fleury *et al.*, 1997; Maguire *et al.*, 1999a). De acuerdo a Fleury *et al.* (1997), un organismo saludable tiene una CEA de 0.8-1.0, mientras que organismos con un estrés moderado de 0.5-0.7 (los cuales tendrán dificultad para reproducirse y crecer, pero pueden recuperarse) y con un estrés agudo aquellos que presentan un valor entre 0.3-0.5 de CEA.

En la Tabla 1 se presentan los valores de CEA para organismos recién colectados y *post*-transporte en las estaciones de primavera, verano, otoño e invierno. En ella se puede observar que los organismos obtenidos directamente de la laguna en las estaciones de primavera y otoño, presentan la CEA más baja ($p < 0.05$), lo cual indica un estrés moderado, del cual podrían recuperarse hasta alcanzar un estado saludable (Atkinson, 1968; Moal *et al.*, 1991; Fleury *et al.*, 1997; Maguire *et al.*, 1999b). En verano e invierno se encontraron organismos con una excelente condición energética que corresponde a especímenes saludables. Al igual que en el caso de la concentración de ATP, los valores bajos de CEA iniciales obtenidos en primavera y otoño pueden deberse a la temperatura y a la baja disponibilidad de alimento en el sitio de cultivo, respectivamente. En un estudio realizado por Ocaño *et al.* (2011a) también con *Nodipecten subnodosus*, se colectaron especímenes a finales de verano (septiembre), los cuales presentaron una CEA de 0.8, coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente estudio para los organismos cosechados en la misma estación y reflejando en ambos estudios una condición energética saludable. Resultados similares fueron reportados por Maguire *et al.* (1999b) para la almeja concha de peregrino, *Pecten maximus* con organismos colectados en primavera (mayo).

Por otro lado, el transporte afectó significativamente ($p < 0.05$) la CEA en las almejas colectadas en primavera, verano y otoño, lo cual coincide con una disminución significativa en los niveles de ATP ($p < 0.05$), debido posiblemente al estrés generado por la emersión al ser extraídos de su hábitat natural. Anteriormente, Ocaño *et al.* (2011a) reportaron un efecto del transporte en emersión para adultos de *Nodipecten subnodosus*, en los cuales se observó una reducción de su CEA de 0.8 a 0.5. Estos autores también relacionaron esta modificación en la condición con la compensación fisiológica llevada a cabo por los organismos para contrarrestar el estrés durante la emersión. De la misma manera, Maguire *et al.* (1999a) reportaron un efecto negativo de la desecación por emersión en semillas de almeja concha de peregrino, *Pecten maximus* (30 mm de altura de la concha), observando una disminución de la CEA (de 0.89 a 0.71) después de las 3 h de iniciado el experimento. Por otro lado, en un

estudio realizado con ostión gigante, *Crassostrea gigas* también se encontró un efecto estacional sobre la CEA de organismos mantenidos en emersión (estrés a corto plazo por desecación). Los organismos más afectados energéticamente durante la emersión fueron aquellos capturados en primavera (mayo) y verano (julio), mientras que los correspondientes a la estación de invierno (enero) mantuvieron una condición energética óptima (Moal *et al.*, 1991). Lo anterior coincide con los resultados del presente estudio, ya que los organismos cosechados en invierno no presentaron un efecto negativo en su CEA por la emersión a la que fueron sometidos durante el transporte ($p > 0.05$).

6.4. Glucógeno

En la Figura 15 se presentan las concentraciones de glucógeno (convertido a porcentaje en base húmeda) en el músculo abductor de la almeja mano de león a las diferentes temperaturas de almacenamiento y para cada una de las estaciones (primavera, verano, otoño e invierno). En primavera y verano se encontraron los valores iniciales mayores de glucógeno con 6.43 ± 1.43 % y 7.69 ± 0.58 %, respectivamente, los cuales fueron iguales entre sí ($p > 0.05$), pero mayores a los de otoño (2.05 ± 0.14 %) e invierno (2.07 ± 0.21 %) ($p < 0.05$). Beltrán-Lugo *et al.* (2006) reportaron 3.51, 7.87, 2.21 y 0.79 % de glucógeno en el músculo abductor de esta misma especie para primavera (abril), verano (septiembre), otoño (noviembre) e invierno (enero). En otro estudio, Wongso y Yamanaka (1998) reportaron una valor inicial de glucógeno de 7.5 % en el músculo abductor de la vieira *Pecten albicans* cosechada en verano (julio) en un cultivo en Japón. Las diferencias observadas pueden deberse principalmente a la especie, al mes de muestreo en cada estación, o bien, al sitio de cultivo específico en la región, pero también al tamaño y estado reproductivo de los organismos, así como al origen de las semillas utilizadas para el cultivo. A partir de esos estudios es interesante observar que la estación o época del año muestra una clara influencia sobre las reservas de glucógeno en el músculo abductor de los pectínidos.

Debido a la variación en el contenido de glucógeno en el músculo abductor de pectínidos en diferentes épocas del año, este compuesto ha sido utilizado como indicador de estrés a largo plazo o crónico que se puede presentar de una estación a otra (Maguire *et al.*, 1999b).

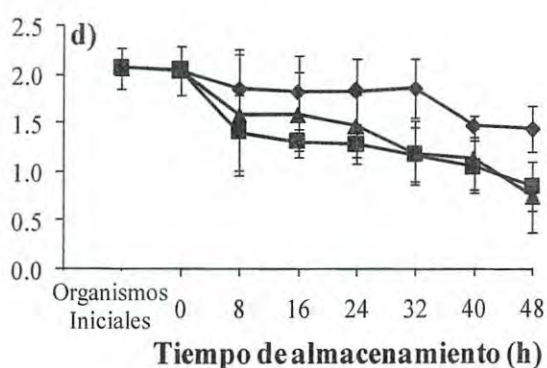
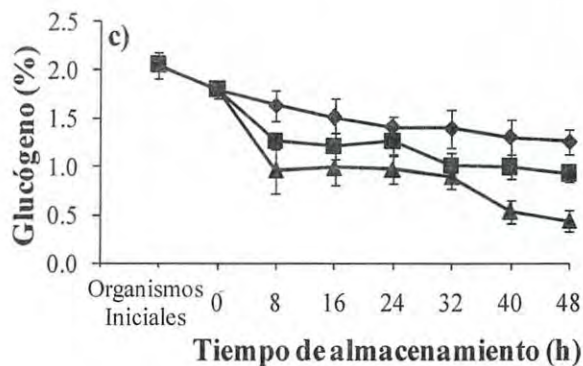
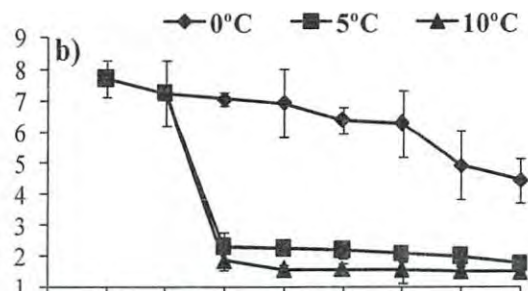
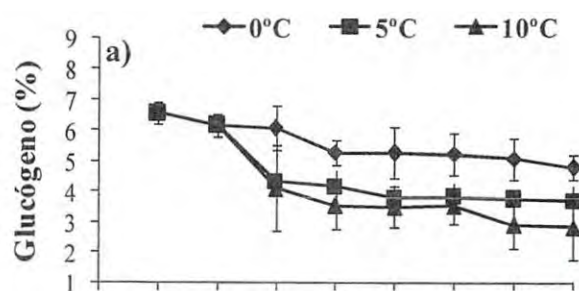


Figura 15. Concentración de glucógeno en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de $n = 6$. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post*-transporte.

En un estudio realizado por Ansell (1978) con la almeja concha de peregrino, *Pecten maximus* se reportó que el contenido de glucógeno puede variar dependiendo del sitio de captura (o cultivo) y época de cosecha. Al igual que en el presente estudio, este autor encontró un máximo valor de glucógeno (5.2 %) almacenado en el músculo abductor de este pectínido al final del verano (septiembre) y el valor mínimo (0.55 %) obtenido al final del invierno (marzo).

Por otro lado, aunque el transporte no afectó significativamente las concentraciones iniciales de glucógeno ($p > 0.05$), se observa una disminución en sus niveles a 5 y 10 °C en las primeras horas de almacenamiento ($p < 0.05$), a diferencia de la temperatura de 0 °C donde prácticamente se mantuvo sin cambio desde el inicio del experimento ($p > 0.05$). Este patrón se repitió en las cuatro estaciones analizadas y concuerda con los datos de ATP, ya que en las temperaturas donde se mantuvieron niveles elevados de este metabolito hubo también una degradación de glucógeno, favoreciendo la obtención de energía *post mortem* (Huss, 1995). Anteriormente, Wongso y Yamanaka (1998) determinaron el contenido de glucógeno en el pectínido *Pecten albicans* durante el almacenamiento a 0 y 5 °C. Estos autores reportaron una disminución progresiva del metabolito durante el almacenamiento *post mortem*, siendo la temperatura de 5 °C donde se observó una mayor degradación, lo que coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio. Con lo anterior, es importante mencionar el papel del glucógeno como fuente de energía aún en condiciones *post mortem*, recordando que los bivalvos pectínidos son capaces de almacenar cantidades considerables de este metabolito en su músculo abductor (Racotta *et al.* 2003, 2008).

6.5. Arginina Fosfato

En la Figura 16 se presentan las concentraciones de arginina fosfato en el músculo abductor de *Nodipecten subnodosus* colectada en distintas estaciones y almacenados a diferentes temperaturas. Los valores iniciales mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) y oscilaron desde 1.65 $\mu\text{mol/g}$ en primavera hasta 8.17 $\mu\text{mol/g}$ en verano. Kawashima y Yamanaka (1992) reportaron un valor inicial de 5 $\mu\text{mol/g}$ para la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* en organismos obtenidos en verano (julio a octubre), el cual está dentro del rango obtenido en el presente estudio. Sin embargo, los valores encontrados en nuestro estudio son menores a los

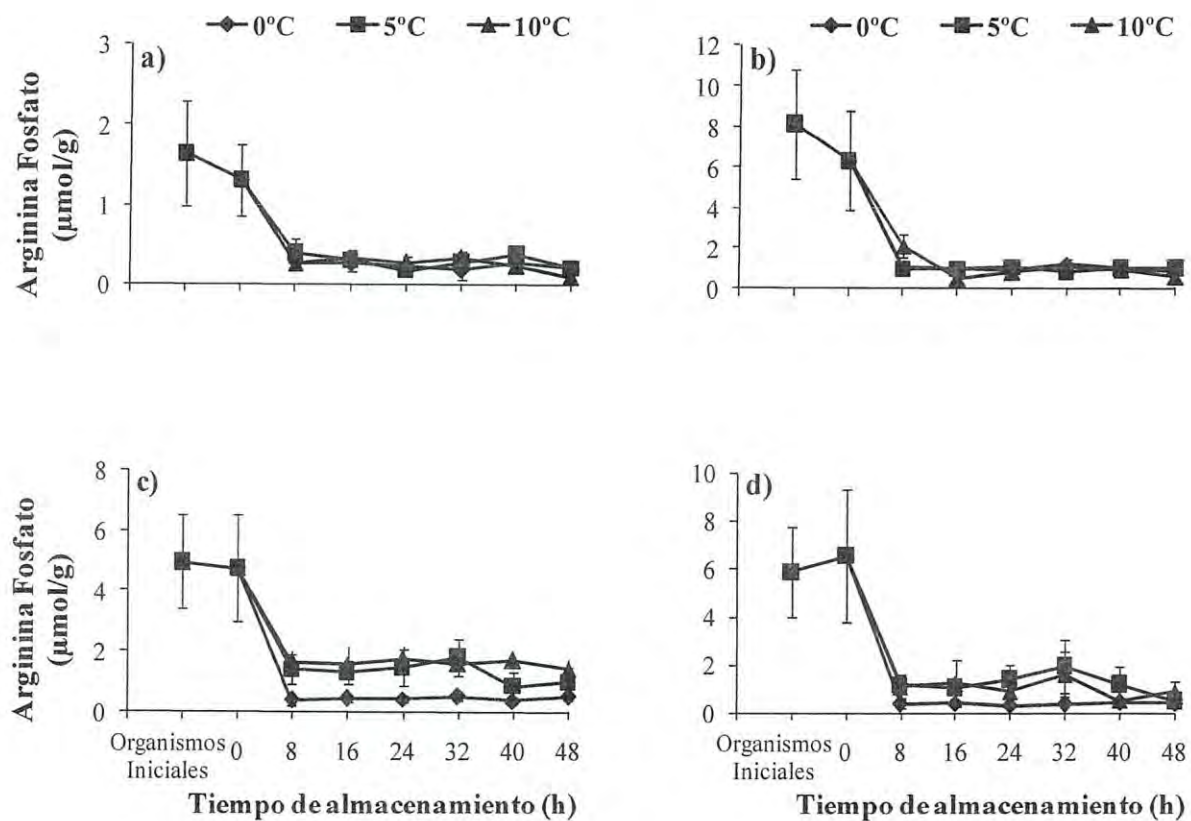


Figura 16. Concentración de arginina fosfato en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de n = 6. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post*-transporte.

reportados por Wongso *et al.* (1998) en *Pecten albicans* y en la misma almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* reportando ≈ 17.5 y ≈ 14 $\mu\text{mol/g}$, respectivamente. Los pectínidos de la especie *Pecten albicans* fueron colectados en verano (julio) y los *Patinopecten yessoensis* al final del invierno (marzo). En este mismo estudio se reportó un valor inicial de ≈ 7 $\mu\text{mol/g}$ en la vieira noble, *Chlamys nobilis* obtenida en primavera (abril), el cual es similar al 8.17 y 5.86 $\mu\text{mol/g}$ encontrado en los organismos colectados en invierno (marzo) y verano (septiembre), respectivamente en el presente estudio.

Las diferencias al comparar entre nuestro estudio y otros trabajos pueden deberse principalmente a la especie u otros factores como la época de captura y las condiciones ambientales del sitio de captura o cultivo. Existe un estudio en particular, realizado por Pérez *et al.* (2008) con juveniles (2.5-3.5 cm de altura de la concha) de la vieira canadiense, *Placopecten magellanicus* obtenidos de un sistema de cultivo en Québec, Canada, al final de la primavera (junio). En este estudio se reportó un valor inicial de arginina fosfato de 3.66 $\mu\text{mol/g}$ en organismos obtenidos directamente de la laguna. Para este caso, las diferencias al comparar con el presente estudio y los mencionados anteriormente pueden deberse también al tamaño de los organismos. Además, en el experimento realizado con la vieira canadiense, *Placopecten magellanicus* los organismos fueron sometidos a un estrés experimental por manejo, al momento de colectarlos en el sitio de cultivo para realizar un proceso de resiembra. Con esto, se puede deducir que dicho estrés puede promover el consumo de energía en forma de ATP y por ende la disminución de las reservas de arginina fosfato al momento de tratar de compensar esta pérdida energética.

Con respecto al transporte de los organismos, se pudo observar que éste no afectó significativamente los valores iniciales de arginina fosfato en ninguna de las estaciones evaluadas ($p > 0.05$). En el estudio realizado por Pérez *et al.* (2008) con la vieira canadiense tampoco se observaron disminuciones en el contenido de arginina fosfato durante el transporte de los organismos juveniles hacia el sitio de clasificación para la resiembra. Por el contrario, estos autores mantuvieron los organismos en tanques con un flujo de agua de la laguna durante 3 h después de la clasificación y observaron que estos aumentaron sus reservas de arginina fosfato hasta niveles cercanos a los de organismos sanos y sin ningún tipo de estrés.

Por otro lado, durante el almacenamiento se observó una disminución de este compuesto a las 8 h para todas las temperaturas y las distintas estaciones de muestreo ($p < 0.05$). Se conoce que este metabolito es un fosfágeno capaz de producir ATP mediante la regeneración de ADP a través de la transferencia de un grupo fosfato con la intervención de la enzima arginina cinasa, liberándose arginina durante la reacción, como se describió en el apartado 6.2 (Wongso *et al.*, 1998; Livingstone *et al.*, 1981).

A partir de las 8 h, las concentraciones menores de arginina fosfato se encontraron en primavera, con valores en un rango de 0.09 a 0.4 $\mu\text{mol/g}$ para las tres temperaturas evaluadas. En cambio, las muestras obtenidas en las estaciones de verano, otoño e invierno, mantuvieron valores de 0.36 a 1.92 $\mu\text{mol/g}$ a partir de las 8 h de almacenamiento y hasta el final. A pesar de las diferencias observadas en la concentración de arginina fosfato en diferentes puntos del almacenamiento, al final los valores se igualaron para las 3 temperaturas evaluadas en cada una de estaciones de muestreo ($p > 0.05$). Este mismo comportamiento ya ha sido reportado por Watanabe *et al.* (1992) en el abulón japonés y por Wongso *et al.* (1998) en el pectínido *Pecten albicans*, la vieira noble, *Chlamys nobilis* y la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis*.

6.6. Arginina

En la Figura 17 se muestra la concentración de arginina en el músculo abductor de organismos de *Nodipecten subnodosus* muestreados en las 4 estaciones y almacenados a las 3 temperaturas de almacenamiento. Los resultados de las concentraciones iniciales de este compuesto no mostraron diferencias significativas en las cuatro estaciones evaluadas ($p > 0.05$). Estos resultados oscilaron alrededor de los 10 $\mu\text{mol/g}$ y son iguales a los reportados por Kawashima y Yamanaka (1992) en la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis*, pero menores a los encontrados por Watanabe *et al.* (1992) en el abulón japonés, *Haliotis discus* (22 $\mu\text{mol/g}$) y por Wongso *et al.* (1998) en los pectínidos *Pecten albicans*, la vieira noble y la almeja yeso ($\approx 24\text{-}45$ $\mu\text{mol/g}$). Las diferencias observadas entre estudios pueden deberse a la especie o a las condiciones previas al sacrificio de los organismos. Por otro lado, en nuestro estudio las concentraciones de este metabolito no fueron afectadas durante el transporte de los organismos desde la laguna hacia el lugar de sacrificio ($p > 0.05$). Lo anterior se relaciona con las concentraciones de arginina fosfato encontradas después del transporte de los organismos, ya

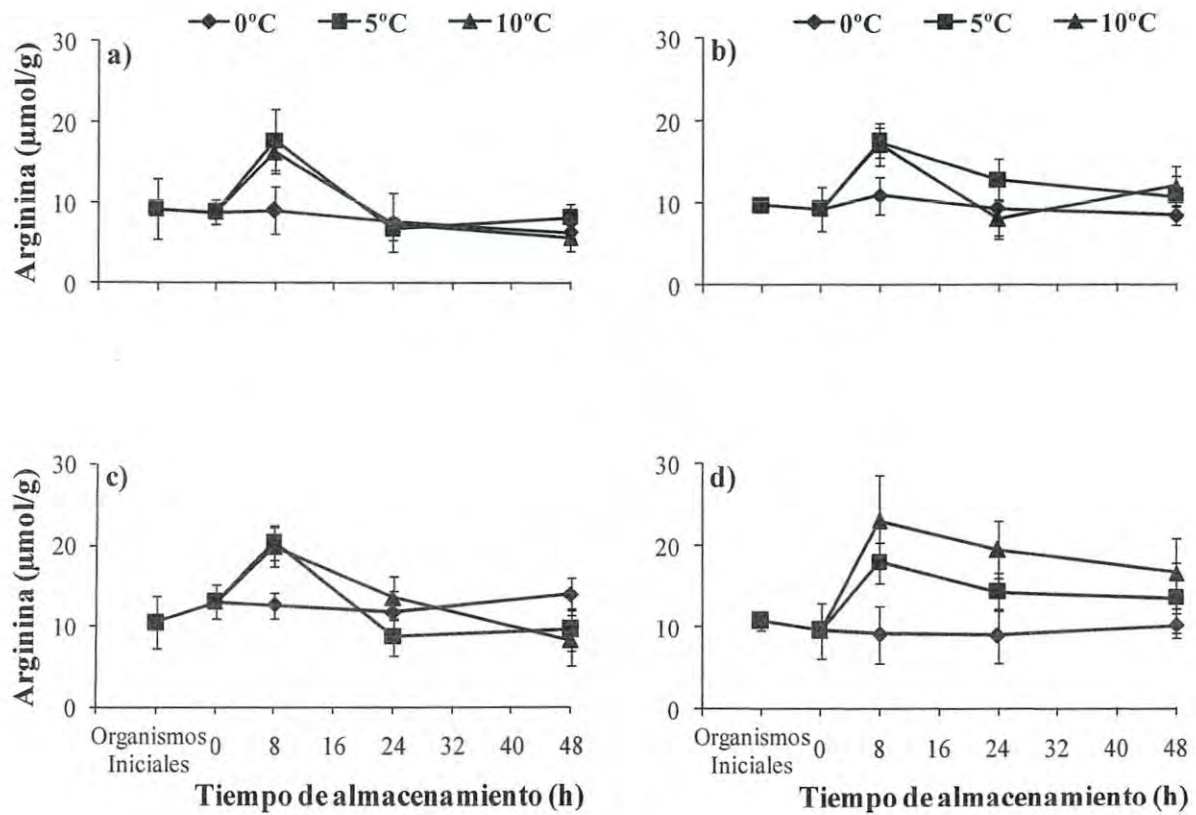


Figura 17. Concentración de arginina en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de $n = 6$. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post-transporte*.

que estas no se modificaron con respecto a los valores iniciales, recordando que durante la degradación de este fosfágeno se libera arginina en el músculo (Livingstone *et al.*, 1981; Wongso *et al.*, 1998).

Los valores de arginina durante el almacenamiento mostraron un patrón similar para las distintas estaciones evaluadas. En todas las estaciones se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) en la concentración de este compuesto a las 8 h de almacenamiento para las temperaturas de 5 y 10 °C. Este aumento puede deberse a la acción de la enzima arginina cinasa, la cual puede regenerar ATP en las etapas iniciales *post mortem*, a partir de arginina fosfato y ADP, liberando arginina en el proceso, como se mencionó previamente (Watanabe *et al.*, 1992; Massa *et al.*, 2001). Lo anterior concuerda con los resultados de arginina fosfato, donde se observó una disminución ($p < 0.05$) de este metabolito a las 8 h de almacenamiento y a lo descrito por Watanabe *et al.* (1992) y Massa *et al.* (2001).

Por otro lado, después de las 8 h de almacenamiento, los valores de arginina a 5 y 10 °C disminuyeron nuevamente, para igualarse a los obtenidos a 0 °C al final del experimento en las 4 estaciones analizadas ($p < 0.05$). Este comportamiento ya ha sido reportado por Kawashima y Yamanaka (1992) en la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* quienes evaluaron tres temperaturas, encontrando también al inicio del experimento valores mayores para las temperaturas más altas (0 y 5 °C), pero igualándose al final del almacenamiento con las concentraciones determinadas a la temperatura más baja (-3 °C).

6.7. Ácido Láctico

En la Figura 18 se muestran los datos de ácido láctico en el músculo abductor de organismos de *Nodipecten subnodosus* colectados en primavera, verano, otoño e invierno y almacenado a 0, 5 y 10 °C. Los valores iniciales de este compuesto para las cuatro estaciones no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$), sin embargo, son menores a los reportados por Kawashima y Yamanaka (1992), quienes encontraron 40 µg/g de ácido láctico en un estudio realizado con la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis*. Estos autores cosecharon los organismos experimentales en verano en un sistema de cultivo en Tokio, Japón. La diferencia entre estos trabajos pueden deberse a la especie, aún y cuando se estudien organismos de la misma familia: Pectinidae.

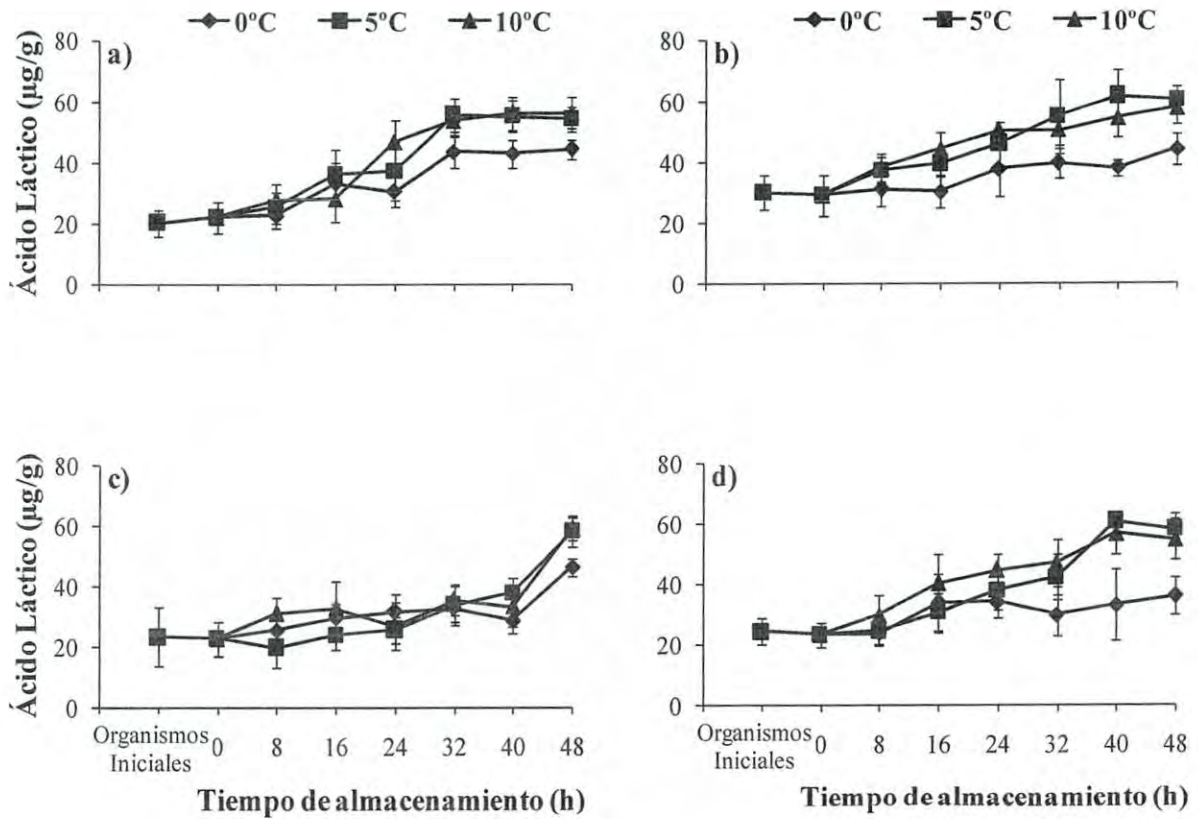


Figura 18. Concentración de ácido láctico en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de $n = 6$. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post-transporte*.

Existen otros estudios realizados en peces como por ejemplo en pargo australiano, *Pagrus auratus* (Iwamoto *et al.*, 1985), sardina japonesa, *Sardinops melanosticta* y macarela del Pacífico, *Pneumatophorus japonicus japonicus* (Watabe *et al.*, 1989), así como en tilapia de Mozambique, *Oreochromis mossambicus* (Sakinohara *et al.*, 1998) y jurel del Pacífico, *Trachurus japonicus* (Mishima *et al.*, 2005), donde se han encontrado niveles iniciales de ácido láctico entre 1-3 mg/g. Estos valores son mayores a los encontrados al inicio de nuestros experimentos (20.21-29.98 µg/g) en el músculo abductor de *Nodipecten subnodosus* para todas las estaciones analizadas. Con respecto a estos valores de ácido láctico tan bajos obtenidos en nuestro estudio, es importante mencionar que para otros invertebrados como el pectínido *Pecten albicans*, la almeja concha de abánico, *Argopecten purpuratus*, almeja yeso, *Patinopecten yessoensis*, vieira noble, *Chlamys nobilis* y el calamar europeo, *Loligo vulgaris* se ha comprobado la presencia de otro metabolito final de la glucólisis anaerobia como es la octopina (Grieshaber y Gäde 1976; Gäde *et al.*, 1978; Kawashima y Yamanaka, 1992; Wongso *et al.*, 1998). Por el contrario, es bien conocido que en vertebrados el producto final de la glucólisis anaerobia es el ácido láctico (Huss, 1995; Lehninger *et al.*, 2008) como se ha visto en varios estudios (Ashie *et al.*, 1996; Mørkøre *et al.*, 2008; Durán *et al.*, 2008; Gornik *et al.*, 2010).

En cuanto a la etapa de transporte de los organismos desde el cultivo hacia el lugar de sacrificio, no se observó algún efecto sobre las concentraciones de ácido láctico en el músculo abductor ($p > 0.05$). Sin embargo, durante el almacenamiento se puede observar un patrón similar entre las tres temperaturas y las cuatro estaciones evaluadas, aumentando los niveles de ácido láctico hacia el final del almacenamiento ($p < 0.05$). A pesar de esta tendencia mencionada, las concentraciones de ácido láctico a 0 °C fueron menores a las obtenidas a 5 y 10 °C, principalmente después de las 32 h de almacenamiento ($p < 0.05$). Los valores finales más elevados se obtuvieron a 5 y 10 °C, alcanzando concentraciones alrededor de 60 µg/g en todas las estaciones evaluadas, mientras que el menor fue para los músculos abductores mantenidos a 0 °C correspondientes a invierno (35.83 µg/g a las 48 h de almacenamiento). Esto último puede estar relacionado con la actividad de las enzimas involucradas en la glucólisis anaeróbica y la producción de ácido láctico, las cuales pueden realizar su función más eficientemente dependiendo de las condiciones de pH o temperatura de almacenamiento.

Al respecto, se sabe que una disminución de pH puede inactivar o afectar la actividad de las enzimas glucolíticas involucradas en el metabolismo anaerobio *post mortem* (Adams y Moss, 1997), recordando que el ácido láctico es uno de los principales metabolitos finales de la glucólisis anaeróbica (Huss, 1995; Lehninger *et al.*, 2008). Es importante mencionar que en el presente estudio se observó una disminución de pH *post mortem* mayor en los músculos almacenados a 0 °C, como se discutirá mas adelante.

6.8. Octopina

En la Figura 19 se muestran los resultados correspondientes a la concentración de octopina en el músculo abductor de *Nodipecten subnodosus* almacenado a 0, 5 y 10 °C en primavera, verano, otoño e invierno, donde se puede observar que los valores iniciales mayores fueron obtenidos en las muestras de primavera y verano ($p < 0.05$). En general, los valores iniciales oscilaron entre 0.29-1.53 $\mu\text{mol/g}$. Kawashima y Yamanaka (1992) reportaron un valor inicial de octopina de 1 $\mu\text{mol/g}$ en la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* cosechada en verano, el cual está dentro del rango de concentraciones encontradas para las cuatro estaciones en el presente estudio. Por otro lado, Márquez-Ríos *et al.* (2007) reportaron niveles iniciales de octopina mayores para el músculo del manto de calamar gigante, *Dosidicus gigas* (7.1 $\mu\text{mol/g}$). Estas diferencias en la concentración inicial de octopina podrían deberse a la especie, ya que de acuerdo a la variación en las concentraciones reportadas en los resultados de otros estudios realizados en diferentes organismos invertebrados como el calamar europeo, *Loligo vulgaris*, el pectínido *Pecten albicans*, la almeja concha de abánico, *Argopecten purpuratus*, la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* y la vieira noble, *Chlamys nobilis*, podemos considerar que la producción de octopina es especie-dependiente (Grieshaber y Gäde 1976; Gäde *et al.*, 1978; Márquez-Ríos *et al.*, 2007).

Para el estudio realizado por Márquez-Ríos *et al.* (2007) es importante mencionar que en cefalópodos la producción de octopina está relacionada con roles biológicos asociados a la glucólisis anaeróbica *in vivo* durante la actividad intensa o explosiva de estos organismos. Por lo tanto, es común encontrar niveles relativamente elevados en condiciones anaeróbicas *post mortem* (Grieshaber y Gäde, 1976).

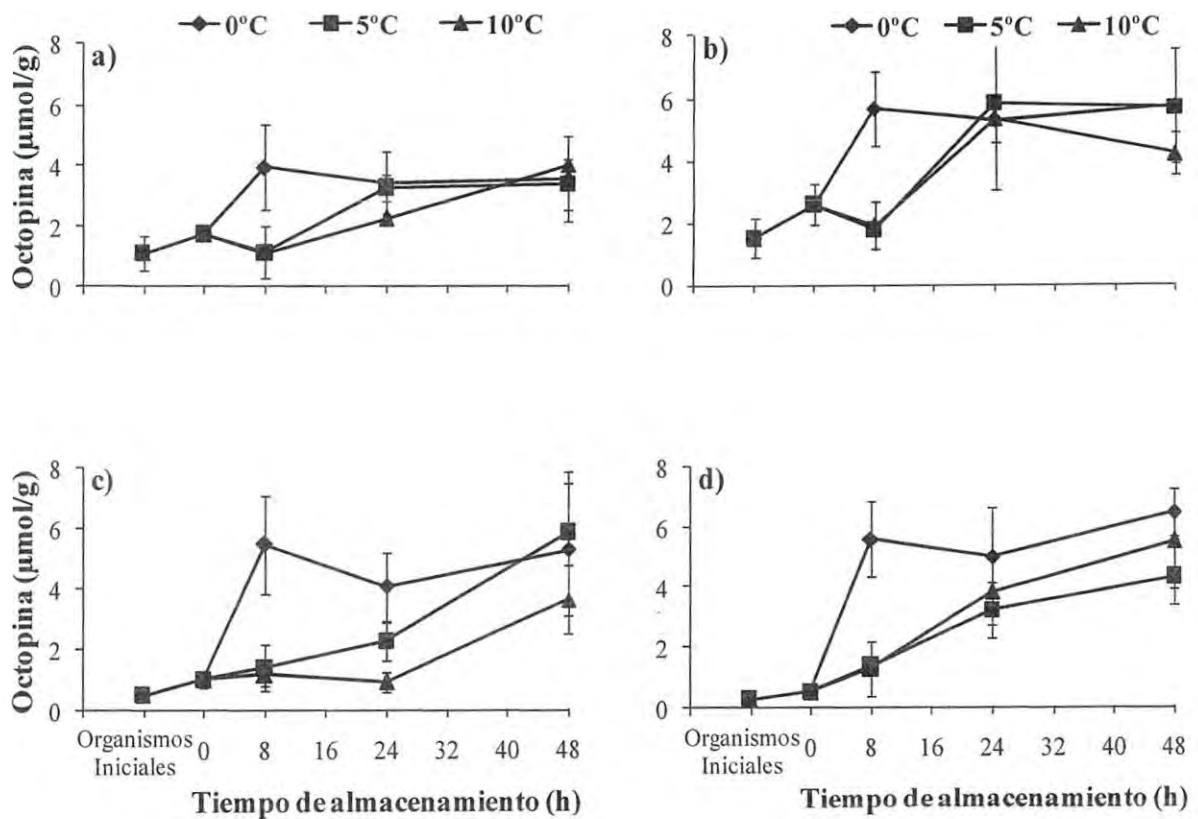


Figura 19. Concentración de octopina en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de n = 6. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post-transporte*.

Con respecto al transporte de los organismos desde el cultivo hacia el lugar de sacrificio, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de octopina ($p > 0.05$). Sin embargo, durante el almacenamiento se presentaron variaciones significativas en los niveles de octopina para las tres temperaturas de almacenamiento en las cuatro estaciones monitoreadas ($p < 0.05$). En el caso de los músculos abductores almacenados a 0 °C, estas variaciones se presentaron desde las etapas iniciales del experimento (8 h *post mortem*). Para las muestras almacenadas a 5 y 10 °C, en general los cambios significativos se observaron durante las etapas *post mortem* más avanzadas hasta las 24 h de almacenamiento ($p < 0.05$). A pesar de estas diferencias, al final del almacenamiento la concentración de octopina se igualó para las 3 temperaturas en los 4 muestreos ($p > 0.05$). Este comportamiento ya ha sido reportado por Kawashima y Yamanaka (1992) para la almeja yeso, *Patinopecten yessoensis* donde encontraron mayores concentraciones iniciales de octopina en muestras almacenadas a -3 °C en comparación con aquellas mantenidas a 5 °C, para posteriormente igualarse hacia el final del almacenamiento. Por otro lado, en un estudio realizado por Wongso *et al.* (1998) también con *Patinopecten yessoensis* se obtuvieron resultados diferentes, ya que el aumento de octopina *post mortem* se presentó paulatina y simultáneamente en músculos abductores almacenados a 0 y 5 °C, sin presentar diferencias entre ambas temperaturas en las concentraciones de este metabolito en ningún punto del almacenamiento.

Se ha venido mencionando acerca del efecto de la especie en la concentración de ciertos metabolitos involucrados en la bioquímica *post mortem* de diferentes organismos acuáticos. Sin embargo, es importante notar que para estos dos últimos trabajos (Kawashima y Yamanaka, 1992; Wongso *et al.*, 1998), aún y cuando se hace referencia a organismos de la misma especie (*P. yessoensis*) con un mismo origen en un mercado japonés, la diferencia en las concentraciones de octopina reportadas durante el almacenamiento de su músculo abductor puede deberse al lote de especímenes o bien al tamaño o edad de estos, ya que Wongso *et al.* (1998) no reportan datos al respecto para sus organismos experimentales.

Como se mencionó previamente, la octopina es considerada uno de los principales metabolitos finales de la glucólisis anaeróbica para ciertos invertebrados (Grieshaber y Gäde 1976; Gäde *et al.*, 1978; Kawashima y Yamanaka, 1992; Wongso *et al.*, 1998). En nuestro caso, la presencia de este compuesto en todas las muestras analizadas justifica los valores relativamente bajos de ácido láctico obtenidos. Lo anterior debido a que en estos organismos

la presencia de la enzima octopina deshidrogenasa y la arginina liberada a partir del fosfágeno arginina fosfato, promueven que la ruta anaeróbica *post mortem* tienda hacia la formación de octopina en vez de ácido láctico (Grieshaber y Gäde, 1976).

6.9. pH

En la Figura 20 se muestran los resultados correspondientes al pH de músculos abductores de *Nodipecten subnodosus* mantenidos a 0, 5 y 10 °C, para organismos colectados en las 4 estaciones del año. El pH inicial mostró diferencias significativas ($p < 0.05$), siendo en verano donde se encontró el valor más bajo con respecto al resto de las estaciones ($p < 0.05$). Anteriormente, Beltrán-Lugo *et al.* (2006) reportaron valores bajos de pH iniciales en el músculo abductor de *Nodipecten subnodosus* capturada en esta misma estación, los cuales fueron menores a los encontrados en el presente estudio. Estos autores atribuyeron el bajo pH (6.59) al alto contenido de glucógeno del músculo abductor en esta época. Además, es importante mencionar, que los valores iniciales de pH reportados por Beltrán-Lugo *et al.* (2006) corresponden a organismos transportados hacia el lugar de inicio de los análisis en una hielera simplemente acondicionada con agua marina, transcurriendo como mínimo 30 min. Bajo estas condiciones, pudo haberse presentado una primera etapa de glucólisis anaerobia con la concomitante producción de ácido láctico que disminuyó el pH hasta dicho valor. Por otro lado, Kimura *et al.* (1999) reportaron un pH inicial de 7.0 en adultos de almeja yeso, *Patinopecten yessoensis*, el cual es similar a los encontrados en el presente estudio, además que están dentro del rango (6.7-7.0) reportado por Love (1975) para organismos marinos inmediato a su captura.

El transporte de los organismos desde la laguna de cultivo hacia el lugar de sacrificio no tuvo un efecto significativo sobre el pH del músculo abductor en todas las estaciones de muestreo ($p > 0.05$). Esto se relaciona con los niveles de ácido láctico encontrados en estas mismas etapas, los cuales como se mencionó previamente, no mostraron una variación durante el transporte de los organismos ($p > 0.05$).

Por otro lado, durante el almacenamiento al igual que para los parámetros anteriores, en este caso se observó un patrón singular en las temperaturas evaluadas para las distintas estaciones. De manera general, en las 4 épocas de cosecha los músculos almacenados a 5 y 10 °C mantuvieron valores muy similares entre sí prácticamente durante todo el experimento.

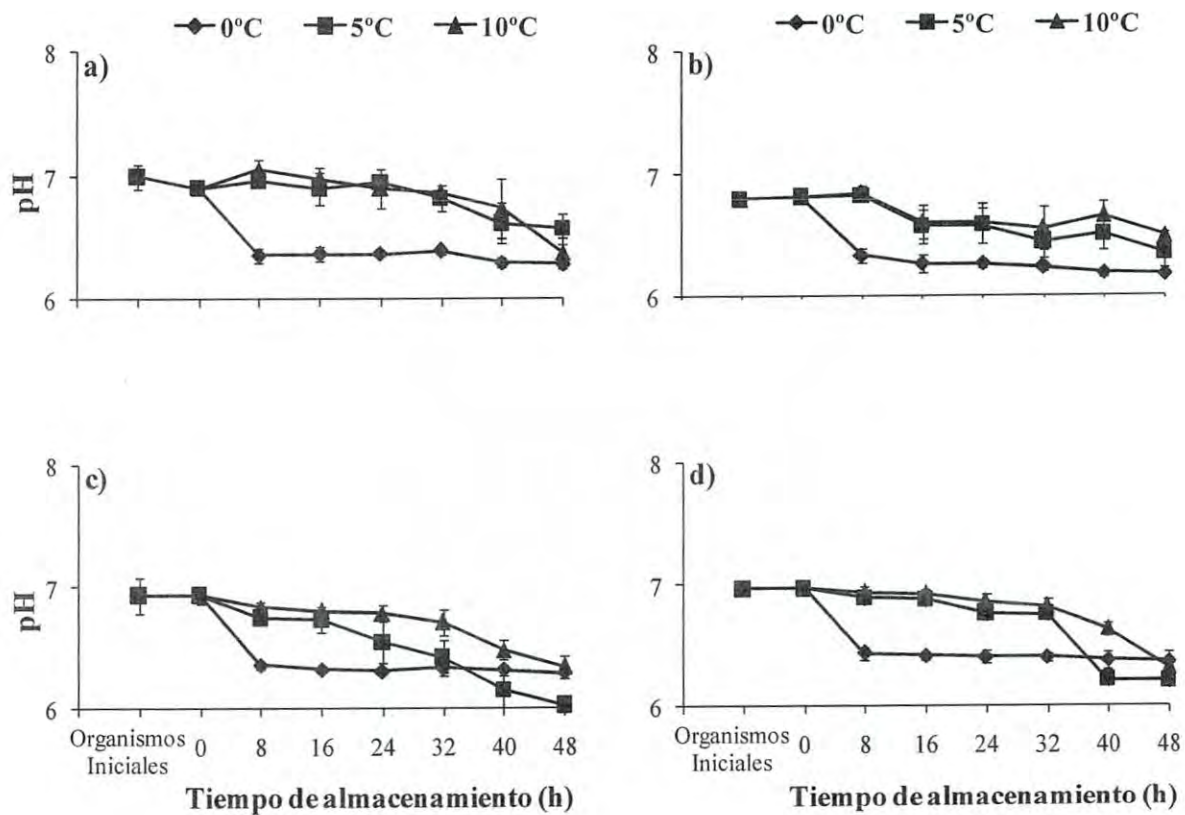


Figura 20. Valores de pH en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de n = 6. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post-transporte*.

Normalmente se maneja que la velocidad y grado de disminución de pH *post mortem* durante el *rigor mortis* se debe a la formación de ácido láctico, el cual es el principal producto final de la glucólisis anaeróbica en la mayoría de los productos pesqueros (Ashie *et al.*, 1996; Durán, *et al.*, 2008; Mørkøre *et al.*, 2008; Gornik, *et al.*, 2010). Sin embargo, en contraste con lo esperado y debido a que a 0 °C las concentraciones de ácido láctico fueron menores, es interesante observar que a esta temperatura los valores de pH disminuyeron significativamente a las 8 h ($p < 0.05$), para posteriormente mantenerse en esos niveles hasta el final del almacenamiento ($p > 0.05$). Además, el pH a 0 °C se mantuvo por debajo de los valores encontrados a 5 y 10 °C durante la mayor parte del experimento para las cuatro estaciones evaluadas. Por lo tanto, aunque en las etapas iniciales de almacenamiento a 0 °C no haya existido un aumento significativo ($p > 0.05$) de ácido láctico que provocara la disminución observada en los valores de pH ($p < 0.05$), existen otras vías de acidificación *post mortem* como es la hidrólisis de ATP (Sikorski *et al.*, 1990; Robergs, 2001). Al respecto, es importante mencionar que la hidrólisis de ATP fue mayor durante el almacenamiento de los músculos abductores almacenados a 0 °C de organismos obtenidos en los cuatro diferentes muestreos. Lo anterior se refuerza mediante un análisis de correlación entre ATP y pH (temperatura de almacenamiento = 0 °C), obteniendo una $r = 0.74$ ($p < 0.05$). Por lo tanto, es posible que se esté presentando una acidificación *post mortem* del músculo abductor que no solo depende de la acumulación de ácido láctico, si no también de la liberación de fosfatos inorgánicos durante la hidrólisis de ATP (Sikorski *et al.*, 1990; Robergs, 2001).

En el presente estudio, los niveles de octopina, el cual es otro producto final de la glucólisis anaeróbica en algunos invertebrados marinos se encontró en cantidades considerables y mayores en comparación con el ácido láctico. Sin embargo, es importante destacar que dicha octopina no es de carácter ácido, por lo que la disminución de pH no puede ser atribuida o relacionada con la presencia de este metabolito (Huss, 1995).

La menor producción de ácido láctico a 0 °C en la parte final del almacenamiento para las cuatro estaciones puede deberse a la inactivación de las enzimas glucolíticas involucradas en el metabolismo anaerobio *post mortem* debido al bajo pH observado a esta temperatura (Adams y Moss 1997). Por otro lado, la acumulación temprana de octopina a 0 °C puede deberse al pH mantenido a esta temperatura en las cuatro estaciones evaluadas, ya que la

enzima octopina deshidrogenasa que participa en la síntesis de este metabolito tiene un pH óptimo de 6.3-6.5 (Gäde y Grieshaber 1975, Gäde y Grieshaber 1986).

6.10. Longitud de Sarcómero

En la Figura 21 se pueden observar los datos correspondientes a la longitud del sarcómero de las fibras del músculo abductor de especímenes de *Nodipecten subnodosus* capturados en primavera, verano, otoño e invierno y almacenados a 0, 5 y 10 °C. Los valores iniciales del tamaño del sarcómero para las cuatro estaciones analizadas no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$), asimismo, no varió significativamente durante el transporte de los organismos desde el sitio de cultivo hacia el lugar de sacrificio ($p > 0.05$). Con respecto al almacenamiento, la longitud del sarcómero medida en los músculos abductores mantenidos a 0 °C disminuyó significativamente ($p < 0.05$) en las primeras 8 h en primavera, otoño e invierno. Las muestras del muestreo de verano a 0 °C mostraron una disminución en la longitud de sarcómero hasta las 16 h *post mortem* ($p < 0.05$). En este mismo tiempo (16 h), los valores obtenidos para las temperaturas de 5 y 10 °C fueron similares entre sí ($p > 0.05$) y mayores al compararlos con los obtenidos a 0 °C ($p < 0.05$). Durante todo el almacenamiento, en las cuatro estaciones evaluadas y las tres temperaturas utilizadas las muestras mantenidas a 5 y 10 °C presentaron longitudes de sarcómero mayores que las observadas a 0 °C.

Es importante destacar que los músculos almacenados a 5 y 10 °C (donde se observó una contracción del sarcómero mínima o nula) mostraron un pH más elevado durante la mayor parte del almacenamiento, con los valores más bajos de este parámetro hasta las 40-48 h. Además, a estas temperaturas se encontraron las concentraciones de ATP más elevadas durante la mayor parte del experimento para las cuatro estaciones analizadas en comparación con las muestras mantenidas a 0 °C. Al respecto, ya se ha reportado un aumento en el inicio y velocidad del *rigor mortis* a temperaturas de almacenamiento bajas, especialmente para 0 °C. Esto se ha relacionado con una incapacidad del retículo sarcoplásmico para retomar el calcio desde el sarcoplasma a temperaturas bajas. El calcio mantenido en el sarcoplasma activa la enzima adenosina trifosfatasa-Mg⁺² que degrada parte del ATP generado en el músculo y provoca que el sarcómero se mantenga en constante contracción. Algunos estudios donde se han encontrado este tipo de resultados se han llevado a cabo en organismos acuáticos como el

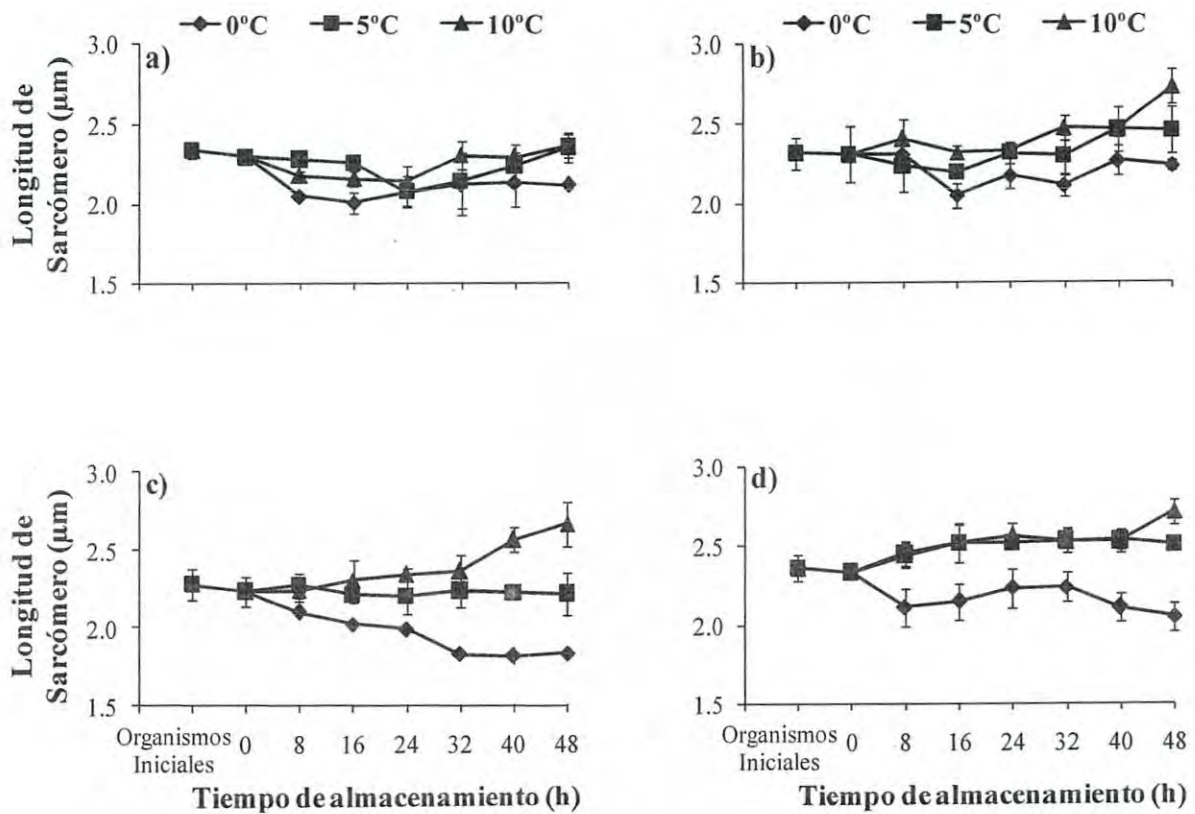


Figura 21. Longitud del sarcómero en el músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechada en diferentes estaciones y almacenado a temperaturas de 0, 5 y 10 °C. a) Primavera; b) Verano; c) Otoño; d) Invierno. Los valores representan la media y desviación estándar de n = 6. Los valores al inicio del almacenamiento (tiempo 0 h) corresponden a organismos de la etapa *post*-transporte.

lenguado japonés, *Paralichthys olivaceus* (Watabe *et al.*, 1989), la carpa común, *Cyprinus carpio* (Watabe *et al.*, 1990) y la tilapia *Oreochromis* spp. (Tomé *et al.*, 2000).

La obtención de los resultados mostrados en este apartado dió origen a los siguientes productos:

Artículos científicos:

Jiménez-Ruiz, E.I., Ocaño-Higuera, V.M., Maeda-Martínez, A.N., Castillo-Yáñez, F.J., Varela-Romero, A., Graciano-Verdugo, A.Z. y Márquez-Rios, E. 2012. Quality and shelf life of the adductor muscle of lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* transported and stored whole in refrigeration. *Interciencia*, 37(6): 464-469.

Jiménez-Ruiz, E.I., Ocaño-Higuera, V.M., Maeda-Martínez, A.N., Varela-Romero, A., Márquez-Rios, E., Muhlia-Almazán, A.T. y Castillo-Yáñez, F.J. Effect of seasonality and storage temperature on *rigor mortis* in the adductor muscle of lion-paw scallop *Nodipecten subnodosus*. *Aquaculture* (enviado).

Jiménez-Ruiz, E.I., Ocaño-Higuera, V.M., Maeda-Martínez, A.N., Varela-Romero, A., Sicard, M.T., Castillo-Yáñez, F.J. y Graciano-Verdugo, A.Z. Effect of seasonality and storage temperature on *rigor mortis* energetic in the adductor muscle of lion-paw scallop *Nodipecten subnodosus*. *Aquaculture Research* (enviado).

Jiménez-Ruiz, E.I., Montoya-Camacho, N., Graciano-Verdugo, A.Z., Maeda-Martínez, A.N., Castillo-Yáñez, F.J., Navarro-García, G., F.J., Márquez-Rios, E. y Ocaño-Higuera, V.M. Quality and shelf life of the gonad of lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* transported and stored whole in refrigeration. *African Journal of Biotechnology* (enviado).

Capítulo de libro:

Jiménez-Ruiz, E.I., Márquez-Rios, E., Castillo-Yáñez, F.J., Graciano-Verdugo, A.Z., Maeda-Martínez, A.N. y Ocaño-Higuera, V.M. Importancia del *rigor mortis* en productos pesqueros. En: M.L. Aldana, J.A. Ramírez de León, R.M. Uresti-Marín y M.G. Flavia-Loarca (eds.), *Avances en Ciencia y Tecnología Alimentaria en México*. Editorial Planea. México (en prensa).

VII. CONCLUSIONES

La estacionalidad afectó los valores iniciales de algunos parámetros como el ATP, ADP y AMP (afectando la CEA), glucógeno, arginina fosfato, octopina y pH.

El transporte de los organismos del sitio de cultivo hacia el lugar de sacrificio influyó en los valores de algunos parámetros, observándose una disminución en los niveles de ATP y la CEA en primavera, verano y otoño, un aumento de ADP en primavera y de AMP en primavera y otoño.

La temperatura mostró un efecto sobre los valores de todos los metabolitos analizados durante el almacenamiento.

El almacenamiento de los músculos abductores a 5 y 10 °C permitió mantener niveles energéticos (ATP) elevados durante la mayor parte del experimento, por lo que a 0 °C el *rigor mortis* se inició más rápido y fue más pronunciado para todas las estaciones evaluadas.

De acuerdo al comportamiento observado, en general para todos los parámetros evaluados a 0, 5 y 10 °C, la diferencia de la temperatura estacional con la de almacenamiento mostró un efecto sobre el desarrollo del *rigor mortis*. Por lo que, la temperatura de almacenamiento más baja que fue la que presentó una diferencia mayor con respecto a la temperatura estacional, promovió un *rigor mortis* mayor.

La estación de muestreo no mostró un impacto sobre los diferentes parámetros relacionados con el *rigor mortis* al analizarlos durante el almacenamiento, ya que en general se observó un efecto similar para las tres temperaturas evaluadas, el cual puede deberse a que el rango de variación entre las temperaturas estacionales no fue muy amplio.

VIII. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los datos de IRM y tomando en cuenta el punto de vista económico por parte de los productores, se recomienda la cosecha de organismos en primavera, verano e invierno, que fueron las estaciones donde se obtuvieron los valores más elevados de este parámetro.

Debido a que se observaron comportamientos similares en todos los análisis realizados a 5 y 10 °C, la temperatura de almacenamiento recomendada para los músculos abductores es de 5 °C durante la etapa inicial del *rigor mortis* (por ejemplo las primeras 24 h *post mortem*) y posteriormente almacenar a 0 °C si se va a comercializar en fresco. De esta manera se evita emplear la temperatura de 10 °C, disminuyendo a su vez la posibilidad de una contaminación o desarrollo microbiano.

Debido a que la captura de *Nodipecten subnodosus* de los bancos naturales en esta región normalmente se permite sólo tres meses al año, ya sea de mayo a julio o de noviembre a enero, se puede aprovechar la cosecha de organismos en los sistemas de cultivo durante los meses de veda.

IX. LITERATURA CITADA

- Abe, H. y Okuma, E. 1991. *Rigor mortis* progress of carp acclimated to different water temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 2095-2100.
- Adams, M.R. y Moss, M.O. 1997. Microbiología de los alimentos. 2da edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 464 p.
- Alamo, V. y Valdivieso, V. 1987. Lista sistemática de moluscos marinos del Perú. Boletín del Instituto del Mar del Perú. Vol. Extraordinario. 205 p.
- Akaboshi, S. e Illanes, J.E. 1983. Estudio experimental sobre la captación, pre-cultivo y cultivo, en ambiente natural de *Chlamys* (*Argopecten purpurata*, Lamarck 1819), en Bahía Tongoy, IV Región Coquimbo. p. 233-254. Simposium Internacional de Acuicultura. Septiembre. Coquimbo, Chile.
- Anang, D.M., Rusul, G., Bakar, J. y Ling, F.H. 2007. Effects of lactic acid and lauricidin on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in chicken breast stored at 4 °C. *Food Control*, 18(8): 961-969.
- Ando, M., Toyohara, H., Shimizu, Y. y Sakaguchi, M. 1991. *Post mortem* tenderization of fish muscle proceeds independently of resolution of *rigor mortis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(6): 1165-1169.
- Angel-Dapa, M.A. 2010. Estudio de la reproducción de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835) (Pectinidae) en un sistema de cultivo en suspensión en Bahía Tortugas, B.C.S., México. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. La Paz, Baja California Sur, México.
- Ansell, A.D. 1978. Storage and utilization of reserves in pectinid bivalves with particular reference to the adductor muscle. p. 8-13. Proceedings of the Scallop Workshop. May 1978. Brest, France. 17 p.

- Arellano-Martínez, M., Ceballos-Vázquez, B.P., Lodeiros, C., Freitas, L., Palacios, E., Racotta, I., Valdez-Ramírez, M.E. y García-Domínguez, F. 2001. Reproducción. p. 59-86. En: A.N. Maeda-Martínez (ed.), Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa. México.
- Arellano-Martínez, M., Racotta, I.S., Ceballos-Vázquez, B.P. y Elorduy-Garay, J.F. 2004. Biochemical composition, reproductive activity, and food availability of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* in the Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 23: 15-23.
- Ashie, I.N., Smith, J.P. y Simpson, B.K. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36: 87-121.
- Atkinson, D.E. 1968. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. *Biochemistry*, 7: 4030-4034.
- Baqueiro, E., Massó, J.A. y Guajardo, H. 1982. Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en Baja California Sur. Serie de divulgación. CRIP-La Paz. INP 11: 7-32.
- Barber, B.J. y Blake, N.J. 1991. Reproductive physiology. p. 337-428. En: S.E. Shumway (ed.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier Amsterdam.
- Barrios-Ruiz, D., Chávez-Villalba, J. y Cáceres-Martínez, C. 2003. Growth of *Nodipecten subnodosus* (Bivalvia: Pectinidae) in La Paz bay, Mexico. *Aquaculture Research*, 34: 633-639.
- Bate-Smith, E.C. y Bendall, J.R. 1947. *Rigor mortis* and adenosine triphosphate. *The Journal of Physiology*, 106: 177-185.
- Bayne, B.L. 1976. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. p. 432-448. En: M. Wiley (ed.), *Estuarine Processes*. Vol. 1. Academic Press. London.
- Bayne, B.L., Bayne, J., Carefoot, T.C. y Thompson, R.J. 1975. The physiological ecology of *Mitilus californianus* Conrad 2. Adaptations to exposure to air. *Oecología*, 22: 211-228.
- Beltrán-Lugo, A.I., Maeda-Martínez, A.N., Pacheco-Aguilar, R. y Nolasco-Soria, H.G. 2006. Seasonal variations in chemical, physical, textural, and microstructural properties of adductor muscles of Pacific lions-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*). *Aquaculture*, 258: 619-632.
- Birkeland, S., Akse, L., Joensen, S., Tobiassen, T. y Skåra, T. 2007. Injection-salting of *pre rigor* fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, 72: 29-35.

- Bito, M., Yamada, K., Mikumo, Y. y Amano, K. 1983. Studies on *rigor mortis* of fish: I. Difference in the mode of *rigor mortis* among some varieties of fish by modified Cutting's method. Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, 109: 89–96.
- Brand, A.R. 1991. Scallop ecology: Distribution and behavior. p. 651-744. En: S.E. Shumway y G.J. Parsons (eds.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier Amsterdam.
- Bullough, W. 1958. *Practical Invertebrate Anatomy*. 2nd edition. Macmillan and Co. LTD. England. 483 p.
- Cappeln, G. y Jessen, F. 2002. ATP, IMP, and glycogen in cod muscle at onset and during development of *rigor mortis* depend on the sampling location. *Journal of Food Science*, 67: 991–995.
- Carta Nacional Pesquera. 2010. Diario Oficial de la Federación. 2 de Diciembre de 2010. SEMARNAT, México.
- Chantler, P.D. 2006. Scallop adductor muscle: Structure and function. p. 229-316. En: S.E. Shumway y G.J. Parsons (eds.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier Amsterdam.
- Cheftel, J.C. y Cheftel, H. 1976. Carne y pescado. p. 5-97. En: *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*. Vol. I. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Chung, S.L. y Merritt, J.H. 1991. Physical measures of sensory texture in thawed sea scallop meat. *International Journal of Food Science and Technology*, 26: 207-210.
- De Vido de Mattio, N., Paredi, M.E. y Crupkin, M. 2001. *Post mortem* Changes in the adductor muscle of scallop (*Chlamys tehuelchus*) in chilled and frozen storage. *Journal of Food Product Aquatic Technology*, 10(3): 49-60.
- Digre, H., Erikson, U., Aursand, I.G., Gallart-Jornet, L., Misimi, E. y Rustad, T. 2011. Rested and stressed farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) chilled in ice or slurry and effects on quality. *Journal of Food Science*, 76: 89–100.
- Domínguez, G.T. y Gutiérrez, V. 1993. Elaboración y evaluación de la estabilidad de salchichas ahumadas de tilapia. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Dubal, Z.B., Paturkar, A.M., Waskar, V.S., Zende, R.J., Latha, C., Rawool, D.B. y Kadam, M. M. 2004. Effect of food grade organic acids on inoculated *S-aureus*, *L-monocytogenes*, *E-coli* and *S-Typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. *Meat Science*, 66: 817-821.

- Durán, A., Erdemli, U., Karakaya, M. y Tyilmaz, M. 2008. Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in *pre-, in- or post rigor* periods. *Fisheries Science*, 74: 1146–1156.
- FAO. 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. FAO. Rome. 197 p.
- Félix-Pico, E.F. 2006. México. p. 943-980. En: S. Shumway (ed.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. Elsevier Science Publisher. B.V. NY, USA.
- Félix-Pico, E.F. 1993. Aspectos biológicos de la almeja catarina *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835), en Bahía Magdalena, B.C.S., México. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, B.C.S., México.
- Félix-Pico, E.F., Villalejo-Fuerte, M., Tripp-Quezada, A. y Holguin-Quiñones, O. 1999. Growth and survival of *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1835) in suspended culture at the National marine park Bahía de Loreto, B.C.S., México. p. 39-40. *Book of Abstracts 12th Internacional Pectinid Workshop*. Bergen, Norway.
- Fleury, P.G., Mingant, C. y Castillo, A. 1997. A preliminary study of the behavior of reseeded juvenile great scallops of three sizes in three seasons. *Aquaculture International*, 4: 325-337.
- Gabbot, P.A. 1975. Storage cycles in the marine bivalve molluscs: a hipótesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. p. 191–211. En: H. Barnes (ed.), *9th European Marine Biology Symposium*. Aberdeen University Press. Aberdeen.
- Gäde, G. y Grieshaber, M. 1986. Pyruvate reductases catalyze the formation of lactate and opines in anaerobic invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 83B(2): 255–72.
- Gäde, G. y Grieshaber, M. 1975. Partial purification and properties of octopine dehydrogenase and the formation of octopine in *Anodonta cygnea* L. *Journal of Comparative Physiology B*, 102: 149-158.
- Gäde G, Weeda, E. y Gabbott, P.A. 1978. Changes in the level of octopine during the escape responses of the scallop, *Pecten maximus* (L.). *Journal of Comparative Physiology*, 124: 121-127.
- García-Pámanes, L.E, García-Pámanes, F., Chi-Barragan, G., Pares-Sierra, G., García-Pámanes, J., Medina-Hurtado, O. y Núñez, F. 1994. Desarrollo de la tecnología del cultivo de la mano de leon *Lyropecten subnodosus*. Resúmenes Primer congreso

- Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar. González-Aguilar, S.A. (ed.). SEP/SEIT, Guaymas, Sonora, México.
- González-Anativia, C.R. 2001. Mercados y comercialización de pectínidos. p. 451-468. En: A.N. Maeda-Martínez (ed.), Los Moluscos Pectínidos de Iberómerica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa. México.
- González-Estrada, F. 2003. Temperaturas letales y temperatura óptima para crecimiento en una población de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835). Tesis de maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. La Paz, B. C. S., México. 90 p.
- Gornik, S.G., Albalata, A., Atkinson, R.J.A., Coombs, G. y Neil, D.M. 2010. The influence of defined *ante-mortem* stressors on the early *post-mortem* biochemical processes in the abdominal muscle of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine Biology Research*, 6(3): 223-238.
- Gornik, S.G., Albalata, A., Atkinson, R.J.A. y Neil, D.M. 2009. Biochemical investigations into the absence of *rigor mortis* in Norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 373: 58-65.
- Graziotti, G., Ríos, C. y Basso, L. 2000. Las fibras musculares esqueléticas y la producción de carne en el cerdo. *Revista Argentina de Producción Animal: As*, 20(2): 145-159.
- Grieshaber, M. y Gäde, G. 1976. The biological role of octopine in the squid, *Loligo vulgaris* (Lamarck). *Journal of Comparative Physiology B*, 108: 225-232.
- Hintze, J. 2001. NCSS and PASS. Number Cruncher Statistical Systems. Kaysvill, Utah.
- Hjelmland, J., Christie, M. y Raa, J. 1983. Skin mucous protease from rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). I. Biological significance. *Journal of Fish Biology*, 23: 13-22.
- Hochachka, P.W. y Somero, G.N. 2002. Biochemical adaptation. Mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press. NY, USA. 466 p.
- Holguin-Quñones, O.E. y García-Domínguez, F.A. 2011. Fisiología, Bioquímica *post mortem* y procesamiento de los moluscos pectínidos del género *Nodipecten*. p. 1-9. En: A.N. Maeda-Martínez y C. Lodeiros-Seijo. (eds.), Biología y cultivo de los pectínidos del género *Nodipecten*. Editorial Limusa. México.
- Hultin, H.O. 1976. Characteristics of muscle tissue. p. 577-617. En: O.R. Fennema (ed.), *Food Chemistry*. Marcel Dekker, Inc. N.Y., USA.
- Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO. Fisheries Technical Paper. 348. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Italy. 202 p.

- Hwang, G.C., Ushio, H., Watabe, S., Iwamoto, M. y Hashimoto, K. 1991. The effect of thermal acclimation on *rigor mortis* progress of carp stored at different temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (3): 541-548.
- Iwamoto, M., Ioka, H., Saito, M. y Yamanaka, H. 1985. Relation between *rigor mortis* of sea bream and storage temperatures. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 51(3): 443-446.
- Iwamoto, M., Yamanaka, H., Watabe, S. y Hashimoto, K. 1990. Comparison of *rigor mortis* progress between wild and cultured plaices. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 56(1): 101-104.
- Jacober, L.F. y Rand Jr., A.G. 1982. Biochemical evaluation of seafood. p. 347-365. En: R.E. Martin, G.I. Flick, C.E. Hebard y D.R. Ward (eds.), *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. A VI Publishing Company. Westport, Connecticut.
- Jaramillo, R., Winter, J., Valencia, J. y Rivera, A. 1993. Gametogenic cycle of the chiloe scallop (*Chlamys amandi*). *Journal of Shellfish Research*, 12(1): 59-64.
- Jerrett, A., Law, R., Holland, A. y Black., S. 2002. Profiles of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*) *post mortem* metabolism as affected by acclimated temperature and *post mortem* storage temperature. *Journal of Food Science*, 67: 2843–2850.
- Kawashima, K. y Yamanaka, H. 1992. Effects of storage temperatures on the *post mortem* biochemical changes in scallop adductor muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58(11): 2175-2180.
- Kawashima, K. y Yamanaka, H. 1995. Effects of freezing and thawing on *post mortem* biochemical changes in scallop adductor muscle. *Fisheries Science*, 61(4): 691.
- Kawashima, K. y Yamanaka, H. 1996. Influences of the variations in contents of glycogen and its metabolites on browning of cooked scallop adductor muscle. *Fisheries Science*, 62(4): 800-805.
- Keen, A.M. 1971. *Sea shells of tropical West America*. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 1064 p.
- Kagawa, M., Matsumoto, M., Yoneda, C., Mitsuhashi, T. y Hatae, K. 2002. Changes in meat texture of three varieties of squid in the early stage of cold storage. *Fisheries Science*, 68: 783–792.
- Killinger, K.M., Kannan, A., Bary, A.I. y Cogger, C.G. 2010. Validation of a 2 percent lactic acid antimicrobial rinse for mobile poultry slaughter operations. *Journal of Food Protection*, 73: 2079-2083.

- Kimura, M., Narita, M., Nomata, H., Ushio, H. y Yamanaka, H. 1999. Effects of washing methods on the *rigor* of scallop adductor muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 65(1): 103-107.
- Kimura, S., Miyaki, T., Takema, Y. y Kubota, M. 1981. Electrophoretic analysis of connectin from the muscles of aquatic animals. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47: 787-791.
- Kiessling, A., Stien, L.H., Torslett, Ø., Suontama, J. y Slinde, E. 2006. Effect of *pre-* and *post-mortem* temperature on *rigor* in Atlantic salmon muscle as measured by four different techniques. *Aquaculture*, 259: 390-402.
- Kobayashi, M., Ikegaya, H., Takase, I., Hatanaka, K., Sakurada, K. e Iwase, H. 2001. Development of *rigor mortis* is not affected by muscle volume. *Forensic Science International*, 117(3): 213-219.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L. y Cox, M.M. 2008. *Lehninger: principles of biochemistry*. 5ta edición. W.H. Freeman. New York. 1158 p.
- Li, C., Shi, P., Xu, C., Xu, X. y Zhou, G. 2010. Tracing processes of *rigor mortis* and subsequent resolution of chicken breast muscle using a texture analyzer. *Journal of Food Engineering*, 100: 388-391.
- Livingstone, D.R., De Zwaan, A. y Thompson, R.J. 1981. Aerobic metabolism, octopine production and phosphoarginine as sources of energy in the phasic and catch adductor muscles of the giant scallop *Plucopecten magellanicus* during swimming and the subsequent recovery period. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 708: 35-44.
- Lodeiros, C.J., Rengel, J.J., Guderley, H., Nusetti, O.A. y Himmelman, J.H. 2001. Biochemical composition and energy allocation in the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* during the months leading up to and following the development of gonads. *Aquaculture*, 199: 63-72.
- Love, M. 1975. Variability in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) from northeast atlantic a review of seasonal and environmental influences on various atributes of the flesh. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32: 2333-2342.
- Luna-González, A., Cáceres-Martínez, C., Zúñiga-Pacheco, C., López-López, S. y Ceballos-Vázquez, B.P. 2000. Reproductive cycle of *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842) (Bivalvia: Pectinidae) in the Rada of Puerto de Pichilingue, B.C.S., Mexico and its relation to temperature, salinity, and quality of food. *Journal of Shellfish Research*, 19: 107-112.
- Maeda-Martínez, A.N., Lombeida, P., Freitas, L., Lodeiros, C. y Sicard, M.T. 2001. Cultivo de pectínidos en fondo y estanques. p. 213-231. En: A.N. Maeda-Martínez (ed.), *Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa. México.

- Maguire, J.A., Cashmore, D. y Burnell, G. 1999a. The effect of transportation on the juvenile scallop *Pecten maximus* (L). *Aquaculture Research*, 30: 325-333.
- Maguire, J.A., Flury, P. y Burnell, G. 1999b. Some methods for quantifying quality in the scallop *Pecten maximus*. *Journal of Shellfish Research*, 18(1): 56-66.
- Márquez-Ríos, E., Gómez-Jiménez, S., Ocaño-Higuera, V.M., Castillo-Yañez, F.J. y Pacheco-Aguilar, R. 2007. Efecto de la emersión a corto plazo a dos temperaturas de exposición aérea sobre parámetros de calidad en cola de langosta espinosa, *Panulirus interruptus*. *Ciencias Marinas*, 33(1): 1-10.
- Massa, A.E., Palacios, D.L., Paredi, M.E. y Crupkin, M. 2005. *Post mortem* changes in quality indices of ice-stored flounder (*Paralichthys patagonicus*). *Journal of Food Biochemistry*, 29: 570-590.
- Massa, A.E., Paredi, M.E. y Crupkin, M. 2001. Nucleotide catabolism in cold stored adductor muscle of scallop (*Zygochlamys patagonica*). *Journal of Food Biochemistry*, 26(4): 295-305.
- Massó-Rojas, J.A., Morales-Bojorques, E., Talavera-Mayer, J., Fajardo-León, M. y Hernández-Valenzuela, R. 2001. La Pesquería de Almeja Mano de León, Baja California. p. 349-366. En: M.A. Cisneros-Mata, L.F. Beléndez-Moreno, E. Zárate-Becerra, M.T. Gaspar-Dillanes, L. López-González, L. Saucedo-Ruiz y J. Tovar-Avila (eds), *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México, Evaluación y manejo. 1999-2000*. Editorial Instituto Nacional de Pesca, SAGARPA. México
- MacDonald, B.A. y Thompson, R.J. 1985. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*: II. Reproductive output and total production. *Marine Ecology Progress Series*, 25: 295-303.
- Manzoni, G.C., Polo, C.R. y Rupp, G.S. 1996. Periodo reproductivo del pectínido *Nodipecten nodosus* (Mollusca: Bivalvia) en los alrededores de la Isla Do Arvoredo (27°17'S-48°22'W) –Santa Catarina Brasil. p. 197-201. En: A. Silva y G. Merino (eds), 2do Simposio Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile. Universidad Católica del Norte. Asociación Latinoamericana de Acuicultura. Coquimbo. Chile.
- Matsumoto, M. y Yamanaka, H. 1991. Studies of *rigor mortis* of kuruma prawn muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 2121-2126.
- Mendes, R., Quinta, R. y Nunes, M.L. 2001. Changes in baseline levels of nucleotides during ice storage of fish and crustaceans from the Portuguese coast. *European Food Research and Technology*, 212: 141-146.

- Mishima, T., Nonaka, T., Okamoto, A., Tsuchimoto, M., Ishiya, T., Tachibana, K. y Tsuchimoto, M. 2005. Influence of storage temperatures and killing procedures on *post-mortem* changes in the muscle of horse mackerel caught near Nagasaki Prefecture, Japan. *Fisheries Science*, 71: 187–94.
- Moal, J.J., Le Coz R., Samain, J.F. y Daniel, J.Y. 1991. Oyster adenylate energy charge (AEC) and its natural variability: implications for environmental monitoring. *Serie de Documents Oceanographiques*, 17(3): 279-280.
- Morales-Hernández, R. y Cáceres-Martínez, C. 1996. Pesquería de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. p. 87-100. En: M. Casas-Valdéz y G. Ponce-Díaz (eds.), Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur. México. La Paz, B.C.S.: SEMARNAP, Gobierno de B.C.S., FAO, U.A.B.C.S., CICIMAR-IPN, CRIP La Paz.
- Morison, A.K. 2004. Is *rigor mortis* the cause of *post mortem* shrinkage in juvenile *Pagrus auratus*?. *Journal of Fish Biology*, 65: 883–888.
- Mørkøre, T., Pablo I., Mazo, T., Vildana, T. y Einen, O. 2008. Impact of starvation and handling stress on *rigor* development and quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L). *Aquaculture*, 277: 231-238.
- Moyes, C.D. y Schulte, P.M. 2008. Principles of Animal Physiology (The Physiology Place Series). 2da edición. Editorial Pearson Benjamin Cummings. San Francisco, CA. 754 p.
- Navarro, E., Iglesias, J.I.P. y Larrañaga, A. 1989. Interannual variation in the reproductive cycle and biochemical composition of the cockle *Cerastoderma edule* from Mundaca Estuary (Biscay, North Spain). *Marine Biology*, 101: 503-511.
- Navarro, J.M. 2001. Fisiología energética de pectínidos iberoamericanos. p. 61-76. En: A.N. Maeda-Martínez (ed.), Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa. México.
- Novelo-Barrera, R., Franco-Sconamiglio, J., Bianchi-Olascoaga, G., Feed-Boliolo, O., Bentacur-Murgiondo, O., Benia-Arocena, P. y Stefanell-Fuidio, V. 2008. Efecto de la temperatura de refrigeración sobre la calidad de la carne de novillos Holstein a lo largo de la maduración. *Técnica Pecuaria en México*, 46(2): 137-145.
- Ocaño-Higuera, V.M. 1999. Caracterización parcial del comportamiento bioquímico *post mortem* y desarrollo de productos a partir del callo de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) y almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) de Baja California México. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Hermosillo, Sonora México. 111p.

- Ocaño-Higuera, V.M., Pacheco-Aguilar, R. y Maeda-Martínez, A.N. 2001. Bioquímica *post mortem* en pectínidos. p. 405-429. En: A.N. Maeda-Martínez (ed.) Los Moluscos Pectínidos de Iberómerica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa. México.
- Ocaño-Higuera, V.M., Maeda-Martínez, A.N., Lugo-Sánchez, M.E., García-Sánchez, G., Márquez-Ríos, E., Gómez-Jiménez, S. y Pacheco-Aguilar, R. 2011a. Effect of emerged shipment on the physiological condition of the adductor muscle in adult giant lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* (Sowerby 1835). *Aquaculture Research*, 42: 1087-1095.
- Ocaño-Higuera, V.M., Pacheco-Aguilar, R., Maeda-Martínez, A.N., Lugo-Sánchez, M.E. y Beltrán-Lugo, A.I. 2011b. Fisiología, bioquímica *post mortem* y procesamiento de los moluscos pectínidos del género *Nodipecten*. p. 287-326. En: A.N. Maeda-Martínez y C. Lodeiros-Seijo. (eds.), *Biología y Cultivo de los Pectínidos del Genero Nodipecten*. Editorial Limusa. México.
- Omura, Y., Yamazawa, M., Yamashita, Y., Okazaki, E. y Watabe, S. 2007. Relationship between *post mortem* changes and browning of boiled, dried, and seasoned product made from Japanese common squid (*Todarodes pacificus*) mantle muscle. *Journal of Food Science*, 72: 44–49.
- Özdemir, H., Yildirim, Y., Küplülü, O., Koluman, A., Göncüoğlu, M. e Inat, G. 2006. Effects of lactic acid and hot water treatments on *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on beef. *Food Control*, 17(4): 299-303.
- Pacheco-Aguilar, R., Márquez-Ríos, E., Lugo-Sánchez, M.E., García-Sánchez, G., Maeda-Martínez, A.N. y Ocaño-Higuera, V.M. 2008. *Post mortem* changes in the adductor muscle of Pacific lions-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*) during ice storage. *Journal of Food Chemistry*, 106: 253–259.
- Pazos, A.J., Román, G., Acosta, C.P., Abad, M. y Sánchez, J.L. 1997. Seasonal changes in condition and biochemical composition of the scallop *Pecten maximus* L. from suspended culture in the Ria de Arousa (Galicia, N.W. Spain) in relation to environmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 211: 169-193.
- Pedrosa-Menabrito, A. y Regenstein, J.M. 1988. Shelf-life extension of fresh-fish spoilage of fish. *Journal of Food Quality*, 11: 117–127.
- Peña, J. 2001. Taxonomía, morfología, distribución y hábitat de los pectínidos iberoamericanos. p. 1-25. En: A.N. Maeda-Martínez (ed.), *Los Moluscos Pectínidos de Iberómerica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa. México.
- Pérez, H.M., Janssoone, X., Nadeau, M. y Guderley, H. 2008. Force production during escape responses by *Placopecten magellanicus* is a sensitive indicator of handling stress:

- Comparison with adductor muscle adenylate energy charge and phosphoarginine levels. *Aquaculture*, 282: 142–146.
- Poli, B.M., Parisi, G., Scappini, F. y Zampacavallo, G. 2005. Fish welfare and quality by pre-slaughter management. *Aquaculture International*, 13: 29-49.
- Racotta, I.S., Palacios, E., Ibarra, A.M., Ramírez, J.L., Arcos, F. y Arjona, O. 2008. Comparative biochemical composition of ploidy groups of the lion-paw scallop (*Nodipecten subnodosus* Sowerby) supports the physiological hypothesis for the lack of advantage in triploid mollusc's growth in food-rich environments. *Marine Biology*, 153: 1245–1256.
- Racotta, I.S., Ramírez, J.L., Ibarra, A.M., Rodríguez-Jaramillo, M.C., Carreño, D. y Palacios, E. 2003. Growth and gametogenesis in the lion's paw scallop *Nodipecten* (*Lyropecten*) *subnodosus*. *Aquaculture*, 217: 335-349.
- Reinecke, M.A. 1996. Madurez y desove de la almeja mano de león *Lyropecten subnodosus*, Sowerby, 1835. (Bivalvia: Pectinidae) en Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México. *Boletín Pesquero*, 3: 17-20.
- Robb, D.H.F., Kestin, S.C. y Warriss, P.D. 2000. Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. *Aquaculture*, 182: 261–269.
- Robergs, R.A. 2001. Exercise-induced metabolic acidosis: Where do the protons come from? *Sportsmedicine*, 5(2): 1-20.
- Román, G., Martínez, G., García, O. y Freitas, L. 2001. Reproducción. p. 27-59. En: A.N. Maeda (ed.), *Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa. México.
- Roth, B., Slinde, E. y Arildsen, J. 2006. *Pre or post mortem* muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on *rigor mortis* and the physical properties of flesh. *Aquaculture*, 257: 504–510.
- Rupp, G.S., Váldez-Ramírez, M.E. y Leme Da Fonseca, M. 2011. p. 27-58. *Biología y Ecología*. En: A.N. Maeda-Martínez y C. Lodeiros-Seijo (eds.), *Biología y Cultivo de los Moluscos Pectínidos del Género Nodipecten*. Editorial Limusa. México.
- Ryder, J.M. 1985. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high performance liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33: 678-680.
- Sakaguchi, M., Hiltz, D. y Dyer, W. 1975. Metabolism of pyruvate in *post mortem* adductor muscle of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*) during iced storage. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32: 1329-1337.

- Sakinohara, A., Shindo, J. y Miki, H. 1998. Evaluation of *rigor mortis* in tilapia muscle by rheological and biochemical properties. *Memoirs of Faculty of Fisheries Kagoshima University*, 47: 7-11.
- Sams, A.R. y Dzuik, C.S. 1999. Meat quality and *rigor mortis* development in broiler chickens with gas-induced anoxia and *post mortem* electrical stimulation. *Poultry Science*, 78: 1472-1476.
- Sastry, A.N. 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). p. 113-292. En: A.C. Giese y J.S. Pearse (eds), *Reproduction of Marine Invertebrates: Molluscs*. Academic Press. New York.
- Sato, M., Takeuchi M., Kanno, N., Nagahisa, E. y Sato, Y. 1991. Determination of octopine by pre-column fluorescence derivatization using benzoin. *Biochemistry International*, 23(6): 1035-1039.
- Shaw, B.L. y Battle, H.I. 1957. The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Canadian Journal of Zoology*, 35(1): 325-347.
- Sheehan, D.C. y Hrapchak, M.T. 1973. *Theory and practice of histotechnology*. 2da edición. Mosby Company. St. Louis, MO. 481 p.
- Sicard, M.T., Maeda-Martínez, A.N., Lluch-Cota, S.E., Lodeiros, C., Roldán-Carrillo, L.M. y Mendoza-Alfaro, R. 2006. Frequent monitoring of temperature: an essential requirement for site selection in bivalve aquaculture in tropical-temperate transition zones. *Aquaculture Research*, 37: 1040-1049.
- Sikorski, Z.E., Kolakowska, A. y Burt, R. 1990. Postharvest biochemical and microbial changes. p. 55-75. En: Z.E. Sikorski (ed.), *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. CRC Press. FI, USA.
- Skjervold, P.O., Bencze-Rora, A.M., Fjaera, S.O., Vegusdal, A., Vorre, A. y Einen, O. 2001. Effects of *pre-*, *in-*, or *post rigor* filleting of live chilled Atlantic salmon. *Aquaculture*, 194(3-4): 315-326.
- Smith, J.T. 1991. Cenozoic giant pectínids from California and tertiary Caribbean province: *Lyropecten*, "*Macrochlamis*", *Vertipecten*, and *Nodipecten* species. U.S. Geological survey Professional Paper, 1391. 155 p.
- Stien, L.H., Suontama, J. y Kiessling, A. (2006). Image analysis as a tool to quantify *rigor* contraction in *pre-rigor*-filleted fillets. *Computers and Electronics in Agriculture*, 50: 109-120.
- Suárez-Mahecha, H., De Francisco, A., Beirão, L.E., Pardo-Carrasco, S. y Cortés-Rodríguez, M. 2007. Pérdida de textura *post mortem* de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío. *Acta Biológica Colombiana*, 12(1): 3-18.

- Surette, M.E., Gill, T.A. y Leblanc, P.J. 1988. Biochemical basis of *post mortem* nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36: 19-22.
- Thomas, P.M., Pankhurst, N.W. y Bremner, H.A. 1999. The effect of stress and exercise on *post mortem* biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 54: 1177-1196.
- Thompson, J.T., Newell, I.E., Kennedy, V.S. y Mann, R. 1996. Reproductive processes and early development. p. 335-370. En: V.S. Kennedy, Newell R.I.E. y A.F. Eble (eds.), *The eastern oyster Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant Book. Maryland.
- Tomé, E., Iglesias, M., Kodaira, M. y González, A. 2000. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el *rigor mortis* y en la estabilidad de la tilapia (*Oreochromis* spp.) cultivada. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 10(4): 339-345.
- Tsuchiya, T. 1988. The muscle structure and its composition proteins of invertebrates – Especially about squid and octopus. *Cookery Science*, 21: 159-166.
- Tsuji, K., y Nishida, H. 1988. Seasonal changes in biochemical composition of the scallop *Patinopecten yessoensis* in Nemuro Bay, Hokkaido. *Scientific Reports of the Hokkaido Fisheries Experimental Station*, 31: 27-54.
- Viant, M.R., Rosenblum, E.S. y Tjeerdema, R.S. 2001. Optimized method for the determination of phosphoarginine in abalone tissue by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 765: 107-111.
- Villalejo-Fuerte, M. y Ceballos-Vázquez, V.P. 1996. Variación de los índices de condición general, gonádico y de rendimiento muscular en *Argopecten circularis* (Bivalvia: Pectinidae). *Revista de Biología Tropical*, 44(2): 591-594.
- Wang, D., Tang, J., Correia, L. y Gill, T. 1998. *Post mortem* changes of cultivated Atlantic salmon and their effects on salt uptake. *Journal of Food Science*, 63: 634-637.
- Watabe, S., Hwang, G.C., Ushio, H. y Hashimoto, K. 1990. Changes in *rigor mortis* progress of carp induced by temperature acclimation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(1): 219-221.
- Watabe, S., Ushio, H., Iwamoto, M., Kamal, M., Ioka, H. y Hashimoto, K. 1989. *Rigor mortis* progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55(10): 1833-1839.
- Watanabe, H., Yamanaka, H. y Yamakawa, H. 1992. *Post mortem* biochemical changes in the muscle of disk abalone during storage. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58: 2081-2088.

- Widdows, J. 1985. Effects of fluctuating and abrupt changes in salinity on the performance of *Mytilus edulis*. p. 555-566. En: J.S. Gray y M.E. Christiansen (eds.), Marine Biology of polar regions and effects of stress on marine organism. Editorial Wiley-Interscience. Chichester.
- Wongso, S, Ushio, H, Ohshima, T. y Yamanaka, H. 1998. Changes in content of octopine, acidic opines, related amino acids and phosphoarginine in the adductor muscle of three species of scallop during storage. *Journal of Food Biochemistry*, 22: 65-81.
- Wongso, S. y Yamanaka, H. 1998. Extractive components of the adductor muscle of japanese baking scallop and changes during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 63: 772-776.

T-160210