



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

IZTACALA

CARRERA BIOLOGIA

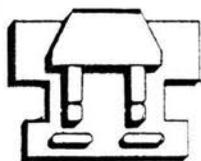
"EFECTO DE JUGOS VEGETALES SOBRE LA  
PRODUCCION DE *Daphnia pulex* (Cladocera:  
Daphniidae) EN CONDICIONES DE  
LABORATORIO".

T R A B A J O   D E  
ARTICULO PUBLICADO  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G O  
P R E S E N T A :  
MARGARITA LAURA ROJAS BUSTAMANTE

DIRECTORA: DRA. NORMA A. NAVARRETE SALGADO

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MEXICO.

JULIO DEL 2002



IZTACALA



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



**U.N.A.M. CAMPUS**

## DEDICATORIA

A mis padres Julieta Bustamante Rojas y Teofilo Rojas Ruiz (†) con todo mi amor y respeto, mil gracias por haberme apoyado y dado su confianza en todos los aspectos de mi vida.

A mi hija Marina Laura quien ocupa una gran parte de mi corazón, representa una de mis más grandes alegrías y es mi mayor motivo de superación.

A mi esposo Ricardo Olivares Garnica por su apoyo y comprensión.

A mis hermanas Irma Alicia y Lina Icela, por ser mis mejores compañeras y amigas, y por el apoyo económico que han brindado.

A mis cuñados Miguel Rojas y Greg Stempkoski por ser ahora parte de mi pequeña familia.

A mis tíos Ismael e Hilda Bustamante Rojas y a mi prima Diana Ma. Pérez-Molero Bustamante con todo mi cariño.

A mi abuelita Amelia Rojas Bueno (†), por el gran cariño que siempre me diste, donde quiera que te encuentres.

A Dios por haberme puesto en este camino y enseñarme a respetar y a amar la naturaleza.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Norma A. Navarrete Salgado por la dirección de esta investigación, de la publicación del artículo y de este trabajo que me ha servido como modalidad de titulación.

Al Dr. Sergio Cházaro Olvera, Biol. José Antonio Martínez Pérez, Biol. Gilberto Contreras Rivero y Biol. Guillermo Elías Fernández por sus importantes observaciones y sugerencias en la revisión de este trabajo.

A mis compañeros del Laboratorio de Producción de Peces e Invertebrados Acuáticos, Memo y Gil, por su apoyo e invaluable amistad.

A mis compañeros y amigos de la Carrera de Biología, en especial a Consuelo, Socorro, Josefina, Jacob y Estanislao, por haberme hecho tan grata mi estancia escolar y por continuar ofreciéndome su amistad.

A la ENEP o FES Iztacala y a los profesores de quienes recibí mucho más que una formación académica.

GRACIAS.

# INDICE

# IZT.

	Pag.
RESUMEN	i
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Familia Daphniidae	1
1.1.1 Caracteres morfológicos	1
1.2 <i>Daphnia pulex</i>	4
1.2.1 Posición taxonómica	4
1.2.2 Descripción de la especie	4
1.2.3 Morfología y fisiología	6
2. CUALIDADES BIOLÓGICAS DE <i>Daphnia pulex</i> EN CULTIVOS MASIVOS	12
2.1 Relacionadas con los factores ambientales	12
2.1.1 Temperatura	13
2.1.2 Contenido de oxígeno	13
2.1.3 Concentración de materia orgánica	14
2.1.4 Contenido de iones hidrógeno	14
2.1.5 Salinidad	15
2.1.6 Luz	16
2.2 Relacionadas con aspectos de su biología	17
2.2.1 Reproducción cíclica	17
2.2.2 Crecimiento y desarrollo	18
2.2.3 Crecimiento poblacional	18
2.2.4 Alimentación	20
2.2.5 Composición química del cuerpo	24
2.2.6 Respiración	26
3. MÉTODOS DE CULTIVO	27
3.1 Desarrollo del cultivo	28
4. RECOMENDACIONES	36
5. LITERATURA CITADA	37
6. APÉNDICE	41
6.1 Artículo publicado	41

## RESUMEN

El presente trabajo proporciona una visión general de las características biológicas de *Daphnia pulex* y de los aspectos metodológicos empleados en los cultivos masivos de la especie para respaldar nuestra investigación, cuyo objetivo fue probar el efecto enriquecedor del jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) y de espinaca (*Spinacia oleracea*), sobre un patrón de fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) en la producción de *D. pulex*. Los experimentos se llevaron a cabo en botellas de vidrio de 20 l de capacidad, llenadas con agua del grifo desclorada a un volumen de 14 l. Los cultivos tuvieron una duración de 21 días, durante los cuales las botellas testigo tan solo recibieron fermento de salvado de trigo y las botellas experimentales (I, II y III), en el primer caso recibieron la combinación de fermento y el jugo de hojas de rábano y en el segundo caso el fermento y el jugo de espinaca. La tasa de siembra en ambos experimentos fue de 200 organismos/botella. Durante el desarrollo de los cultivos se evaluaron: temperatura del agua, oxígeno disuelto, pH, conductividad, alcalinidad y dureza total. Los parámetros ambientales se comportaron de manera similar en ambos experimentos, sin mostrar variaciones drásticas, ni grandes diferencias en sus registros. Las producciones netas obtenidas para la *D. pulex* fueron de: 1722 organismos/botella en las testigo, 7997 org/botella en las de rábano (*Raphanus sativus*), y de 8921 org/botella en las de espinaca (*Spinacia oleracea*). De acuerdo con los datos de producción el análisis de varianza encontró diferencias significativas entre los cultivos (Fischer  $p < 0.005$ ) y estableció que la combinación del fermento enriquecido con el jugo de espinaca es la mejor alternativa alimenticia para la *Daphnia pulex* en condiciones de laboratorio.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los cladóceros son pequeños animales transparentes, de quienes a causa de su forma general y su nado accidentado se les da el nombre común de "pulgas de agua", son un grupo al que pertenecen de una a cuatro órdenes de crustáceos (Cladocera o Anomopoda, Ctenopoda, Onychopoda y Haplopoda). Aunque abundantes en la mayoría de los cuerpos de agua dulce, son bastante pequeños para pasar fácilmente desapercibidos (Dodson & Frey, 1991).

El grupo de los cladóceros forma una fracción muy importante y es el eslabón en el flujo de energía intermediario entre el detritus, bacterias, fitoplancton y los altos niveles tróficos, principalmente los peces (Conkli & Provasoli, 1978). Además de su importancia en la trama trófica, estos crustáceos han sido empleados por el hombre como indicadores de la calidad del agua (Gannon & Stemberger, 1978) y del grado de contaminación, en estudios paleolimnológicos y ecológicos relacionados con la sucesión de las comunidades acuáticas (Wetzel, 1983), también son empleados con fines acuaculturales como alimento vivo (Muthu, 1982; Vázquez *et al.*, 1986) y recientemente como excelentes objetos para bioensayos en farmacología y toxicología (Tonkoppil & Zagrebil, 1998).

Dentro de los cladóceros han sido seleccionados los géneros *Daphnia* y *Moina* puesto que ofrecen un alto contenido nutricional y facilidades de producción en cultivo (Torretera & Tacon, 1989).

En el caso del género *Daphnia* estas facilidades de producción se deben a importantes cualidades como son: gran resistencia a las variaciones ambientales, corto tiempo generacional, alta tasa reproductiva y a su relativamente poca selectividad como organismo filtrador, lo que facilita la utilización de diversas dietas y la implementación de cultivos masivos (Tech, 1982; Torretera & Tacon, 1989).

### 1.1 Familia Daphniidae

Muchas especies de la familia Daphniidae se presentan comúnmente en una gran variedad de cuerpos de agua. El género *Daphnia* comprende más de 20 especies; de las cuales las más conocidas son *Daphnia magna*, *D. pulex*, *D. longispina*, *D. strauss*, *D. pulicaria*, etc. (Torretera & Tacon, *op. cit.*).

#### 1.1.1 Caracteres morfológicos

Los datos que se desglosan a continuación se obtuvieron de las descripciones dadas por Pennak (1989) y Dodson & Frey (1991).

Los Daphniidae tienen un cuerpo oval, lateralmente comprimido e indistintamente segmentado (Fig. 2). La cabeza y el tronco están más o menos

definidos. La cabeza presenta ventralmente un rostrum puntiagudo y lleva 5 pares de apéndices. El primer par, las anténulas se elevan del margen ventral de la cabeza, son semejantes y muestran dimorfismo sexual. Las antenas constituyen el segundo par, son móviles y están articuladas a los lados de la cabeza. Las antenas son el principal órgano locomotor en Daphniidae. Los últimos tres pares de apéndices sirven como partes bucales.

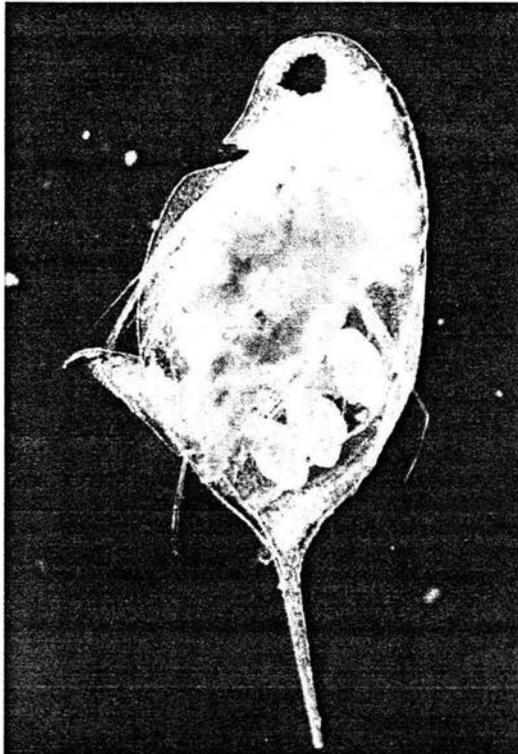


Fig. 1. Ejemplar del género *Daphnia*.

Un gran ojo compuesto y un simple ojo nauplio u ocelo quedan bajo la piel sobre los lados de la cabeza.

El tronco está cubierto con un caparazón quitinoso transparente cuyas valvas están firmemente asentadas a la pared del cuerpo sobre la orilla dorsal, pero están libres sobre la orilla ventral. Cinco pares de miembros están encerrados en el caparazón. Estos apéndices están densamente segmentados, son foliáceos y cubiertos con numerosas setas. En contraste con la condición de otros Branchiopoda, las patas son morfológica y funcionalmente diferentes.

Sobre la orilla dorsal del cuerpo de las hembras, entre el caparazón y la pared del cuerpo se localiza una cavidad, la cámara embrionaria o bolsa incubadora, donde los huevos y embriones se desarrollan (Fig. 2).

El abdomen no tiene miembros. Este lleva dorsalmente 4 pares de procesos abdominales. El proceso anterior es el más grande y en el género *Daphnia* cubre la parte posterior abierta de la cámara incubadora, de esta manera previene que los huevos y embriones se caigan.

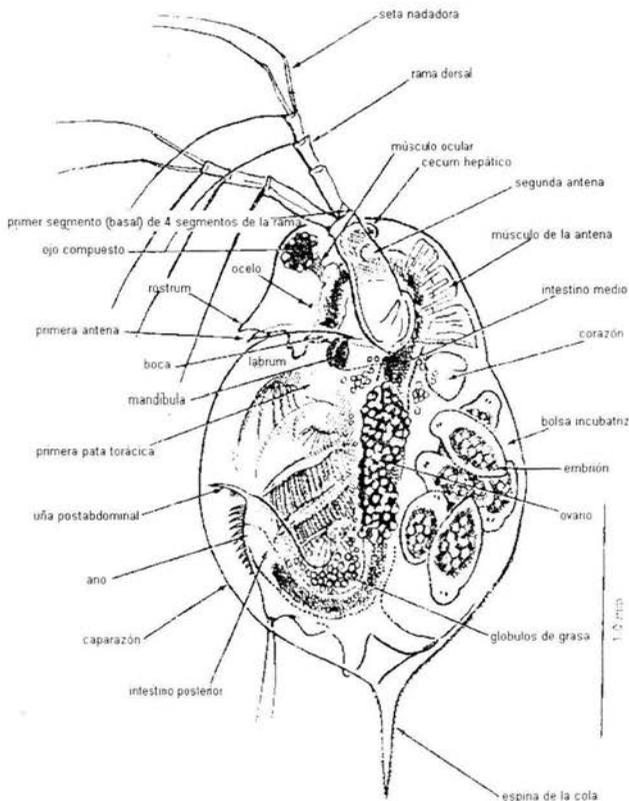


Fig. 2. Caracteres morfológicos generales del género *Daphnia* (Dodson & Frey, 1991).

El cuerpo termina posteriormente en un postabdómen móvil. El margen ventral del postabdómen está equipado con dos uñas cuya orilla cóncava lleva denticulos o filas de setas. El perfil dorsal del abdomen es curvo en *Daphnia magna*, recto en *D. pulex* y *D. longispina*; este lleva numerosos denticulos anales

los cuales junto con las uñas ayudan en la limpieza de las patas torácicas. La estructura del postabdomen es una de las principales características en la taxonomía de los Daphniidae.

El postabdomen lleva en la parte basal setas nadadoras equipadas con finos vellos.

## 1.2 *Daphnia pulex*

### 1.2.1 Posición taxonómica

La especie utilizada en el presente estudio fue *Daphnia pulex*, cuya posición taxonómica se da a continuación, considerando los criterios de Bowman & Abele (1982), Frey (1987) y De la Fuente (1994):

**Phylum** Arthropoda (Siebold & Stannius, 1845)

**Superclase** Crustacea (Lamarck, 1801)

**Clase** Branchiopoda (Latreille, 1817)

**Subclase** Diplostraca (Gerstaecker, 1866)

**Orden** Anomopoda (Frey, 1987)

**Familia:** Daphniidae (Strauss, 1820)

**Género** *Daphnia* (Müller, 1785)

**Especie** *Daphnia pulex* (Leydig, 1860)

### 1.2.2 Descripción de la especie

La siguiente descripción se basa en material analizado por Cervantes y Gutiérrez (1996) quienes revisaron hembras partenogénicas de los embalses Ignacio Ramírez y Taximay, y del charco del Km 28 de la Carretera Federal Ixtlahuaca – Jilotepec, Estado de México, además en este último cuerpo de agua también encontraron hembras epipiales de las que dan algunas diferencias.

Longitud total 1.8 a 2.3 mm, margen anterior de la cabeza redondeado, mientras que el margen ventral de la misma es cóncavo. Vesícula óptica, ojo y ocelo grandes. Generalmente, la vesícula óptica se encuentra unida al margen anterior de la cabeza, y la porción ventral de la misma está muy cercana al margen anterior de las valvas (Fig. 3A).

Rostrum puntiagudo con pelos sensoriales de la anténula que sobrepasan ligeramente a la punta del mismo (Fig. 3B).

En posición lateral, las valvas presentan forma oval, casi circular. Se observan espinulas cortas que cubren la mitad posterior del margen ventral de la

valva, aunque en algunas ocasiones, éstas pueden llegar a alcanzar hasta  $\frac{3}{4}$  partes de la misma. La distancia interespínular del margen ventral y dorsal oscila entre  $1\frac{1}{2}$  a 2 veces la longitud de una espina. El número de espinas en el margen ventral oscila entre 30 a 54. Espina de la valva corta, su longitud equivale a una quinta parte de la longitud de la concha. Antenas largas, ya que sobrepasan la mitad de la longitud de la valva.

Con tres procesos abdominales: el primero es más largo, el segundo tiene la mitad de la longitud del primero y el tercero es más pequeño. Presentan de 6 a 12 espinas anales las cuales decrecen en longitud en la porción proximal del postabdómen. La región cóncava de la uña postabdominal posee tres estructuras denominadas peines de diferentes longitudes. El peine distal se forma por una serie de pelos finos, el medio se forma por dientes gruesos y largos (con tres veces la longitud de los distales) y el proximal es intermedio entre los dos anteriores. El número de dientes en el peine medio oscila entre 5 y 7 (Fig. 3C).

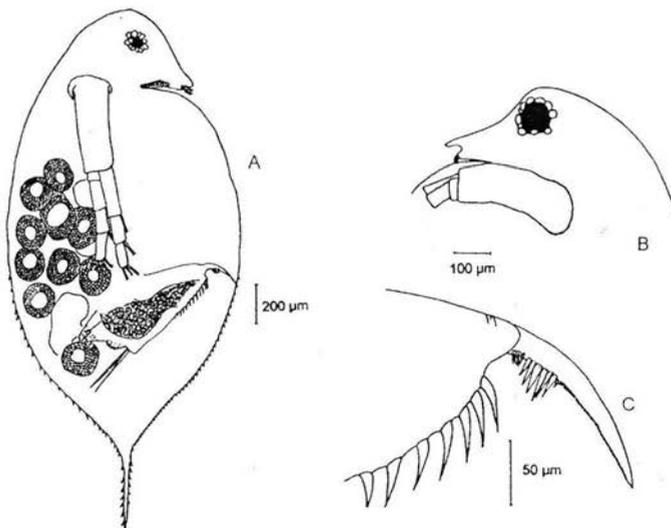


Fig. 3. *Daphnia pulex* (hembra partenogenética). (a) cuerpo, vista lateral, (b) cabeza, vista lateral y (c) uña postabdominal, mostrando los dientes del peine medio más grandes (Cervantes & Gutiérrez, 1996).

Las características presentadas corresponden a las hembras partenogenéticas de Ignacio Ramírez y Taxhimay. Sin embargo, las hembras epípias procedentes del charco del Km 28, presentaron hasta 17 espinas anales en el postabdómen. Además, las espinas de los márgenes dorsal y ventral son

más largas y robustas, por tanto, la distancia interespinular entre ellas decrece a 1. Los efipios poseen ornamentación poligonal; en su interior se observaron 2 huevos y la porción dorsal del mismo exhibe pelos finos.

Sólo algunos ejemplares exhibieron marcas poligonales en la región del rostro, tal como lo reportaron Brooks (1959) y Pennak (1989).

### 1.2.3 Morfología y fisiología

El ojo compuesto es quizás el órgano interno más conspicuo y está en constante movimiento (Fig. 2). El ojo compuesto es único, resultado de la fusión de dos ojos durante el desarrollo embrionario (Threlkeld, 1979). Muchas especies también poseen un solo ojo simple (ocelo), el cual en *Daphnia pulex*, está en la cabeza entre la boca y el ojo compuesto. El ocelo generalmente aparece como una manchita negra. Con un aumento de 50x, es posible ver los músculos casi transparentes que sujetan al ojo compuesto y son responsables del movimiento. Otros músculos son aquellos que sujetan el segmento basal de la antena (segunda) nadadora y la parte trasera del tórax y la cabeza.

El aparato alimenticio de Daphniidae es mucho más complejo y avanzado que el de otros branchiopodos. Partículas suspendidas en el agua son retenidas por las patas torácicas, las cuales tienen completamente perdida su función como órgano locomotor y están estrictamente diferenciadas para la ejecución de esta tarea.

El mecanismo de filtración de Daphniidae, funciona como una bomba de succión, en la que el quinto par de patas realiza el principal rol succionador del agua, mientras que el tercero y cuarto par están comprometidas en la filtración. El primero y segundo par crean una corriente de agua, así como un movimiento de partículas suspendidas. Por consiguiente las patas torácicas de las daphnias difieren en estructura de acuerdo a la función que ellas realizan (Storch, 1924; Cannon, 1933; *In* Dodson & Frey, 1991).

Las partículas alimenticias son atrapadas por las setas de la ranura alimenticia, formada por la base de la pata y el lado ventral del cuerpo. Propulsadas por estas setas, las partículas alimenticias se mueven hacia la parte anterior del cuerpo, a través del aparato bucal.

El intestino corre de la boca, dobla a través de la cabeza, continuando a lo largo del cuerpo a través del tórax y el abdomen, y termina en el ano cerca del extremo posterior del animal. El intestino se divide en tres regiones: anterior, medio y posterior. El intestino medio es lineal, extendiendo su epitelio mediante microvellosidades y es el sitio de la absorción. En la región de la cabeza están un par de pequeños sacos (saco hepático) unido a la parte anterior del intestino medio. El intestino está lleno de un material bastante amorfo de color verde a café,

de células algales no digeridas y de pequeños animales (Tappa, 1965; Porter, 1973).

El intestino posterior queda en el postabdomen y el ano abre cerca de la punta del postabdomen (Fig. 2). El ano carece de un músculo para cerrarse (esfínter). En animales vivos, ondas peristálticas rítmicas pueden verse subiendo el intestino posterior. El movimiento del intestino bajo causa una corriente de agua que fluye hacia el ano; el agua es excretada por las células columnares del intestino anterior. Así, los compuestos orgánicos pueden permanecer en el intestino más tiempo que el alimento del cual se derivaron (Hasler, 1937; *In* Pennak, 1989).

Estando el intestino a lo largo de la región del tórax en hembras adultas bien alimentadas, se observan glóbulos de grasa y un par de ovarios (Fig. 2). Los glóbulos de grasa son de color amarillo claro a naranja y se extienden a través de la cavidad del cuerpo en menor o mayor abundancia. Los ovarios parecen una masa de grandes glóbulos de grasa, pero los huevos maduros son frecuentemente de color verde claro. El número de huevos producidos en una nidada depende del estado nutricional y de la talla de la hembra adulta. Después que la hembra libera los neonatos que se desarrollaron durante el período de inter-muda, ella muda, y entonces hace salir nuevos huevos dentro de la cámara incubadora formada por el nuevo caparazón.

El corazón, es un órgano muscular claro, está arriba del intestino y junto a la cabeza (Fig. 2), es obvio en animales vivos debido a sus rápidos latidos, aproximadamente en sincronía con el batir de las patas torácicas. Con una correcta iluminación y aumento, se pueden ver las células sanguíneas moviéndose sobre y especialmente cerca del corazón, en la base de la segunda antena, y en el rostrum de *Daphnia*.

Los Daphniidae muestran un pronunciado dimorfismo sexual en términos del tamaño del cuerpo y de la morfología de la cabeza, apéndices y postabdomen. Los machos son más pequeños que las hembras. El cuerpo del macho es 1/3 menor que el de las hembras; algunas veces (en *D. magna*) la hembra es 2 – 2.5 veces el tamaño del macho. En el macho las anténulas son grandes e invariablemente móviles (Fig. 4B). Estas terminan en un largo, bisegmentado flagelo el cual ayuda a encontrar y sujetar a la hembra en el proceso de copulación. El cuarto segmento del endopodito del primer par de patas del macho es muy ancho; una de las setas de este segmento está modificado en un gancho por medio del cual el macho sujeta a la hembra durante la copulación (Fig. 4C). La seta del exopodito es muy larga y se proyecta desde el caparazón. El abdomen de la hembra Daphniidae lleva muy pobres procesos desarrollados.

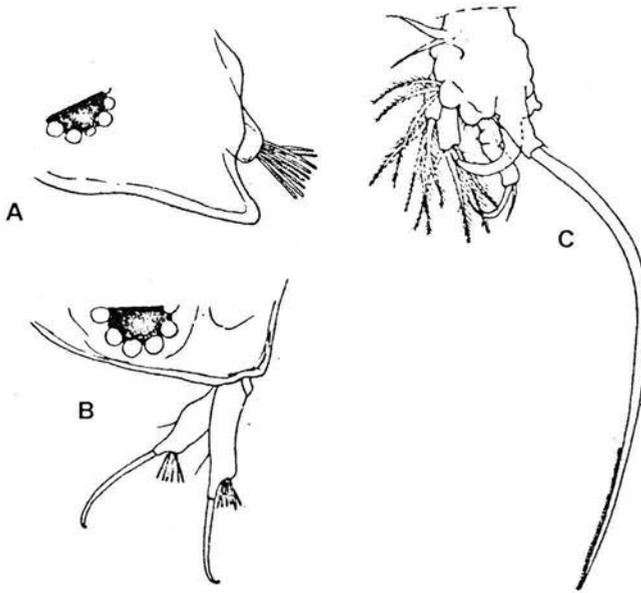


Fig. 4. Caracteres sexuales de *Daphnia pulex*: A, región del rostrum de la hembra; B, región del rostrum del macho, mostrando las anténulas más largas y terminadas en un bisegmentado flagelo de sujeción; C, primera pata del macho mostrando la larga seta sujetadora (Pennak, 1989).

La proporción de sexos en los Daphniidae muestra considerables variaciones y depende del medio ambiente. Incluso puede no haber machos en absoluto bajo condiciones favorables, en este caso las hembras producen huevos partenogénéticos los cuales pueden desarrollarse sin fertilización. Los machos aparecen en la población bajo circunstancias adversas e incluso pueden predominar grandemente en casos extremos (27 machos por hembra) (Manuilova, 1950; In Irleva, 1973).

El dimorfismo sexual comienza a aparecer durante la embriogénesis y logra un pico máximo al tiempo de maduración. Las gónadas de las hembras se desarrollan tempranamente durante el desarrollo embrionario y los ovarios ya contienen ovocitos de segundo orden al momento del nacimiento. Las gónadas de los machos se desarrollan lentamente y las espermatogonias permanecen en reposo dentro de los testículos al nacimiento (Green, 1956).

Con la aparición de los machos, la población comienza a reproducirse sexualmente y a formar huevos de resistencia (epípos).

La fertilización de la hembra es llevada a cabo por uno o dos machos. Los machos se cuelgan del margen ventral posterior de las valvas del caparazón de las hembras y pegan su abdomen bajo las valvas dentro de la cámara incubadora, cerca de la entrada de los oviductos. Los espermatozoos de Daphniidae son células inmóviles no flageladas.

Factores tales como deficiente alimento, inanición, deficiencia de oxígeno y sobrepoblación conducen a la aparición de una gran proporción de hembras efípias y de machos (Banta, 1939).

Los huevos partenogenéticos son también llamados huevos de verano o subitaneos. Su formación puede ser delineada como sigue: el epitelio de la zona germinativa de los ovarios produce cuartetos de células embrionarias en una sola fila (Green, 1956). Las ovicélulas maduran en la zona de crecimiento, la cual está situada en la parte posterior del ovario. Una de las células de cada cuarteto (usualmente la tercera) se desarrolla dentro de las propias ovicélulas. Las demás células forman la yema del huevo. El huevo completamente formado está lleno con una yema azul-verdosa y contiene gotitas de aceite (3 en *Daphnia pulex*). La maduración de las ovicélulas avanza a lo largo del oviducto dentro de la bolsa incubadora, donde terminan de madurar.

IZT.

Los huevos partenogenéticos son redondeados o subovales, y su diámetro es de 300 a 420  $\mu$  en *D. pulex*. El tamaño de los huevos depende de las condiciones ambientales y de las dimensiones de la hembra, grandes hembras producen huevos grandes. Un incremento en el número de huevos producidos es generalmente acompañado de un incremento en su tamaño. La temperatura tiene un fuerte efecto sobre el tamaño de los huevos.

En el caso de la partenogénesis, el desarrollo embrionario toma lugar en la bolsa incubadora. Los neonatos salen de la bolsa durante la muda de la hembra. Bajo condiciones favorables los huevos invariablemente se desarrollan en hembras, algunos de los huevos partenogenéticos dan lugar a machos cuando el suplemento alimenticio comienza a ser insuficiente o la temperatura es demasiado alta.

Los efípios (también conocidos como huevos latentes o de resistencia) se desarrollan bajo condiciones adversas (Berg, 1934) y generalmente proceden de la aparición de machos en la población. Por otra parte, un deterioro de las condiciones ambientales durante la formación de los huevos da por resultado la aparición de machos de algunos o de todos los huevos, la tasa de producción de machos es proporcional a la extensión del deterioro.

El sexo de los futuros embriones cambia en todos los estadios del desarrollo del huevo, inmediatamente antes de entrar en el oviducto (Mortimer, 1936; In Hutchinson, 1967). Cuando los efípios comienzan a formarse únicamente



1 – 2 ovicélulas (del futuro efipio) se desarrollan en la zona germinativa del ovario, las otras células son usadas para la formación de la yema.

Los efipios tienen un tipo diferente de división y no se desarrollan completamente en la cámara incubadora. Los huevos de resistencia normalmente están cubiertos por una cutícula fuertemente pigmentada. Las células efipiales del caparazón secretan una sólida capa doble que envuelve la bolsa incubadora, así se forma un efipio o alforja que contiene los huevos de reposo (Mortimer, 1936: *In* Hutchinson, 1967).

La capa interna de los efipios permanece delgada, mientras que la otra capa puede contener muchas células prismáticas llenas de aire. Los efipios difieren externamente de una especie de *Daphnia* a otra (Fig. 5). Las hembras arrojan el efipio totalmente desarrollado durante su muda. Los efipios flotan por largo tiempo sobre la superficie del agua en *Daphnia pulex*. Después de una parcial o completa desecación del cuerpo de agua, los efipios se encuentran en un estado desecado o cuando se congela en el fondo del hielo. No obstante, permanecen viables y comienzan su desarrollo cuando las condiciones mejoran.

Los huevos efipiales deben ser fertilizados para desarrollarse. Sin embargo, en los lagos árticos *D. pulex* tiene la capacidad de una reproducción "pseudosexual" (Edmondson, 1955), en la cual los huevos efipiales se desarrollan sin fecundación.

Los embriones efipiales se desarrollan dentro de la envoltura especial la cual rápidamente absorbe agua poco antes de la eclosión. Los efipios se revientan bajo la presión de la envoltura hinchada, y los jóvenes cladóceros a empujones rompen la capa delgada envolvente, antes de liberarse completamente. Los neonatos de efipios, invariablemente se desarrollan en hembras las cuales se reproducen partenogénicamente cuando maduran sexualmente.

La descendencia partenogénica o efipial se pueden distinguir una de otra por la proporción de las partes del cuerpo. La longitud dorsal de *D. pulex* originadas de huevos partenogénicos corresponde a un 50 – 80 % de la longitud total del cuerpo, comparado con un 25 – 50 % en la descendencia efipial de la misma especie. La longitud del cuerpo de *D. pulex* al momento de la eclosión es de 0.6 mm.

El tamaño del cuerpo se incrementa con cada muda, las cuales toman lugar a intervalos iguales (de 1, 3 o 4 días). Por esta peculiaridad es muy difícil determinar la tasa de crecimiento únicamente por el número de mudas (Edmondson, 1955).

El primer estadio del desarrollo bajo condiciones ambientales normales es completado después de dos mudas a una longitud del cuerpo de 0.7 – 0.8 mm. El segundo estadio es el período más crucial, porque las características sexuales

secundarias se hacen totalmente diferenciales y los productos sexuales maduran; este estadio involucra 2 – 3 mudas. Después de la tercer muda las hembras ya contienen la bolsa incubadora. La madurez sexual aparece después de la cuarta o quinta muda. La madurez sexual se alcanza a la edad de 5 – 6 días a una longitud del cuerpo de 1.8 – 2.1 mm, a una temperatura de 20 °C (McCauley *et al.*, 1990).

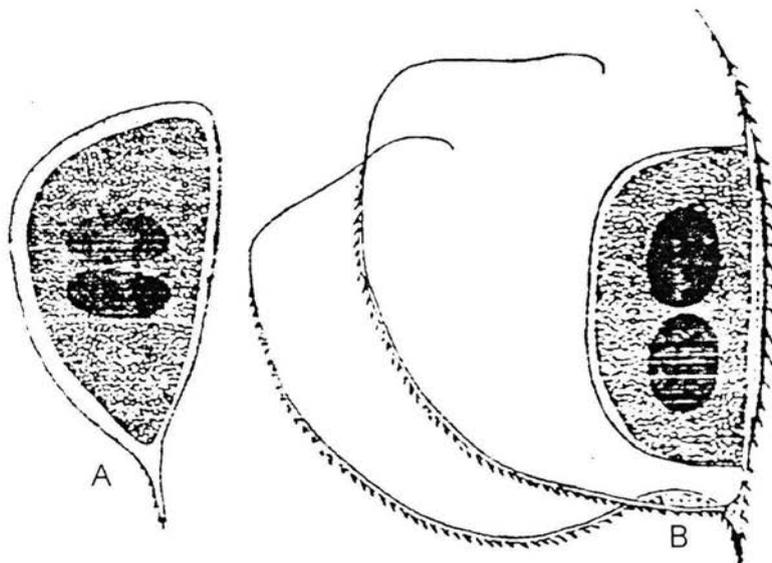


Fig. 5. Apariencia externa de los efipios de *Daphnia pulex* (A) y *D. magna* (B) (Irlvea, 1973).

El número total de mudas y el máximo tamaño del cuerpo en esta familia depende del período de vida. *D. pulex* muda 18 veces y la máxima longitud del cuerpo y peso son de 6 – 6.2 mm y 7 – 10 mg (Banta, 1939).

El peso de las hembras durante los períodos de rápida reproducción, cuando la bolsa incubadora esta atestada de huevos o embriones, es aproximadamente el doble que el de las hembras sin huevos.

## 2. CUALIDADES BIOLÓGICAS DE *Daphnia pulex* EN CULTIVOS MASIVOS

### 2.1 Relacionadas con los factores ambientales

Las especies del género *Daphnia* están ampliamente distribuidas y habitan en aguas dulces en latitudes del norte y del sur, se encuentran en una gran variedad de cuerpos de agua: lagos, reservorios artificiales, ríos y sus planicies de inundación, estanques, campos de arroz, y varias cuencas artificiales y temporales. Estos cladóceros pueden colonizar durante diferentes estaciones del año ambientes de planicie o de montaña, en aguas puras, así como en fuertemente contaminadas. Las daphnias incluso aparecen en diminutos cuerpos de agua tales como charcos, zanjas, hoyos y pisadas de cascos, etc. (Irleva, 1973).

La amplia distribución de estos crustáceos es debida a la producción de epípsios o huevos de resistencia, los cuales son fácilmente propagados por el viento y por diversos animales.

Las daphnias generalmente se encuentran en la zona litoral de grandes cuerpos de agua, entre la vegetación acuática junto con grandes cantidades de bacterias, levaduras y protozoarios, de las cuales se alimentan. Áreas con una vegetación acuática abundante, así como estanques y otros cuerpos de agua poco profundos, son especialmente ricos en esta fauna. También se vuelven muy abundantes en cuerpos de agua temporales, los cuales les suministran condiciones apropiadas por un breve período de tiempo.

*D. pulex* frecuentemente se presentan junto con *D. magna*, *D. longispina*, *Moina*, copépodos y otros branchiópodos (Torretera & Tacon, 1989).

Las especies de *Daphnia* están bien adaptadas a considerables fluctuaciones de las condiciones ambientales y pueden por lo tanto ser asignadas a la categoría de formas euritópicas. Por otro lado, sus poblaciones no alcanzan un pico de magnitud a menos que una combinación específica de factores ambientales este presente. *Daphnia* reacciona rápidamente a un cambio en las condiciones ambientales, con un abrupto cambio en la tasa y modo de reproducción. Las fluctuaciones estacionales y anuales de la densidad de estos cladóceros, tan típicas de las aguas naturales, son debidas a la inestabilidad del medio ambiente (Irleva, 1973).

### 2.1.1 Temperatura

Las especies de *Daphnia* fácilmente resisten fluctuaciones de temperatura diurnas y anuales. El límite superior es de cerca de 36°C y el límite inferior es de 4 °C, temperaturas en las cuales pocos individuos sobreviven. *D. pulex* es probablemente más resistente a condiciones extremas, como las que se presentan en la primavera e inicio del verano.

El intervalo de temperatura para las especies de *Daphnia* varía de acuerdo a sus adaptaciones a un ambiente particular. La literatura contiene muchos datos sobre las temperaturas óptimas para las daphnias, por ejemplo *D. pulex* se desarrolla adecuadamente a 18 – 22 °C o en algunos casos a 7 – 17 °C (Midzuni *et al.*, 1960).

El estudio de Vázquez *et al.* (1986) para la Presa José Antonio Alzate, Municipio de Toluca, Estado de México, determinó que el intervalo de temperatura de *Daphnia pulex* es de 15.8 – 24.1 °C, con un óptimo de 15.8 – 21.3 °C.

El intervalo de temperatura óptimo varía con la edad, en la presencia de un gradiente termal, los adultos de *Daphnia* seleccionan temperaturas de 19 – 21 °C, mientras que los jóvenes prefieren 22 – 24 °C, puesto que son más resistentes a altas temperaturas que los organismos viejos.

Hall (1964) observó que la temperatura influye sobre la frecuencia de mudas y de reproducción, sobre la duración del desarrollo del huevo y de la vida fisiológica de *Daphnia*.

### 2.1.2 Contenido de oxígeno

Las especies de *Daphnia* viven en aguas donde la cantidad de oxígeno disuelto varía considerablemente (de casi nada a la completa saturación o incluso supersaturación) como resultado de un gran número de factores tales como la temperatura, concentración de materia orgánica, densidad poblacional, presencia de algas planctónicas, etc.

*Daphnia pulex* en la Presa José Antonio Alzate, Estado de México, resiste concentraciones de oxígeno disuelto de 0.44 – 7.8 mg/l, aunque un 73% de las evaluaciones cayeron en un intervalo mínimo de 0.44 – 3.12 mg/l, implicando que en este embalse la especie está capacitada fisiológicamente para limitadas concentraciones de este elemento (Vázquez *et al.*, 1986).

Koh y colaboradores (1997) consideran que los bajos niveles de oxígeno inician mecanismos adaptativos, como lo es la producción de hemoglobina, que apacigua el estrés ambiental, pero también incrementa el tiempo de vida y la producción de huevos, acelera el desarrollo embrionario, mejora las actividades

generales y la tasa de filtración, habilitando a *Daphnia* para sobrevivir en ambientes hipoxicos, más allá del intervalo de tolerancia de estos cladóceros.

Un incremento en el contenido de hemoglobina en la sangre de *Daphnia* también tiene lugar como resultado de altas temperaturas o una excesiva densidad poblacional, estos factores también deterioran las condiciones de respiración. Los animales desarrollan una brillante pigmentación roja en contraste con el tono amarillo rosáceo bajo un régimen favorable de oxígeno (Landon & Stasiak, 1983). El contenido y la tasa de síntesis de hemoglobina son más altas en los machos que en las hembras (Green, 1956), ya que los machos son más activos, requiriendo grandes cantidades de oxígeno. La hemoglobina está también presente en los huevos de *Daphnia*, esto explica el desarrollo embrionario normal en aguas pobres en oxígeno.

No obstante la considerable adaptación a cambios en el contenido de oxígeno del ambiente, condiciones respiratorias adversas invariablemente dañan las poblaciones. Un crecimiento intensivo de la población de *Daphnia* tiene lugar en aguas ricas en oxígeno. La producción de huevos decrece con un contenido de oxígeno abajo de 3 mg por litro de agua (Fox *et al.*, 1951).

### 2.1.3 Concentración de materia orgánica

Las especies de *Daphnia* pueden vivir y multiplicarse normalmente en aguas que contienen grandes cantidades de materia orgánica. La materia orgánica estimula el crecimiento de grandes cantidades de bacterias, hongos y protozoarios los cuales les sirven de alimento. Un ambiente fuertemente contaminado puede tener una alta capacidad de oxidación (80 mg O<sub>2</sub>/l o más), lo cual naturalmente deteriora el régimen de oxígeno. Una baja capacidad de oxidación, por decir 7 – 8 mg O<sub>2</sub>/l, es también nocivo para la población porque da por resultado un deterioro en las condiciones de alimentación. Las condiciones son mejores cuando los intervalos de oxidación son de 15 – 40 mg O<sub>2</sub>/l (Rodina, 1972; In Wetzell, 1983).

### 2.1.4 Contenido de iones hidrógeno

Las especies de *Daphnia* viven en un amplio intervalo de valores de pH, siendo su pH óptimo difícil de determinar. No obstante, un medio ambiente neutro o ligeramente alcalino (pH 7.1 – 8.0) es considerado como el más favorable. Por otra parte, vastas poblaciones de *D. pulex* habitan en cuerpos de agua más ácidos (pH 5.0 – 6.0) en la Península de Kola, Noroeste de Rusia (Irleva, 1973).

Davis & Ozburn (1969) encontraron un amplio intervalo de supervivencia al pH para *Daphnia pulex*, de 4.3 - 10.4, sin embargo la reproducción partenogenética solo se da a un pH de 7.0 – 8.7, con un intervalo óptimo de 7.0 – 8.5.

Los machos aparecen en las poblaciones de *D. pulex* a un pH de 6.3 – 6.7, mientras que un medio fuertemente ácido (pH 3) provoca la muerte de la especie en pocas horas (Hutchinson, 1967).

### 2.1.5 Salinidad

Las daphnias son organismos típicamente de agua dulce. No obstante, algunas especies de *Daphnia* pueden penetrar en aguas ligeramente salobres.

Especies de *Daphnia* han sido adaptadas experimentalmente a soluciones equilibradas de agua de mar diluida a 3 – 4 ‰ mediante un incremento gradual de la salinidad a través de varias generaciones. En agua de mar muy diluida (0.5 – 1.0 ‰) las daphnias fueron capaces de vivir y reproducirse normalmente (Manuylova, 1948; *In* Hutchinson, 1967).

La asociación de estos crustáceos con el agua dulce puede ser explicado por su muy limitada capacidad para regular su presión osmótica interna. Cuando presentan considerables fluctuaciones en su presión sanguínea debido a la presión osmótica, está es estabilizada con las sales administradas por el alimento. Las especies de *Daphnia* son altamente resistentes a bajas concentraciones de sales en la sangre y pueden vivir largo tiempo en agua destilada sin ningún alimento (Naumann, 1934; *In* Irleva, 1973).

Por otra parte, estos animales son altamente sensibles a las alteraciones en el equilibrio iónico y a los cambios en las concentraciones de algunos cationes en el medio. Esto los hace excelentes objetos para pruebas especiales.

Un cambio en la concentración de diferentes elementos en el medio afecta el ritmo y modo de movimiento de estos animales y puede entonces matarlos en casos extremos.

La reacción de *Daphnia* a elementos introducidos en el medio como fertilizantes minerales (fosfatos, nitratos) es particularmente interesante. Bajas concentraciones de fósforo (0.5 mg/l) estimulan la reproducción de *D. pulex* al disminuir la edad de maduración sexual. Recíprocamente, altas concentraciones de este elemento reducen la velocidad de la tasa reproductiva; incluso es letal a concentraciones de 2 mg/l, especialmente para los animales jóvenes, los cuales mueren en 24 horas. Los adultos sobreviven, pero con un disminuido desarrollo de huevos. La embriogénesis procede normalmente, pero los cascarones de los huevos no se inflan o se revientan, tanto que la tasa de incubación decrece grandemente. Bajo tales condiciones los neonatos crecen muy lentamente y mueren antes de alcanzar la maduración (Taub & Dollar, 1964).

Si la concentración de fósforo es de 1 mg/l, las jóvenes daphnias alcanzan la madurez sexual, aunque a una tasa de crecimiento lento y el número de huevos partenogenéticos decrece.

*Daphnia* usualmente no reacciona a un incremento en la concentración de nitrógeno (nitratos y nitritos). El efecto del potasio es mucho más importante, ya que puede ser tóxico a menos que vaya acompañado por una concentración igual o mayor de sales de sodio (Taub & Dollar, 1964).

### 2.1.6 Luz

Algunos procesos metabólicos en estos animales requieren luz. Tanto los adultos como los huevos contienen carotenoides, cuya síntesis requiere la presencia de luz. Bajo condiciones idénticas de alimento, los individuos expuestos a prolongada iluminación sintetizan 3 veces más carotenoides que aquellos mantenidos en la obscuridad (Torretera & Tacon, 1989).

La reacción de Daphniidae a la luz varía de una especie a otra. *Daphnia pulex* mostró una predilección por el sombreado y es dañada por la luz intensa. Algunos investigadores (Derzhavin, 1947; Pyatakov, 1956; In Irleva, 1973) asumen que las variaciones estacionales en el número y tamaño de los huevos partenogenéticos, así como la duración de la madurez sexual están directamente relacionadas con el régimen de luz. En vista de ello, un exceso de iluminación solar directa reduce las poblaciones de todas las especies de *Daphnia*.

Las condiciones de alimento en el medio influyen en la reacción de *Daphnia* a la luz, organismos hambrientos reaccionan más fuertemente a la luz y exhiben una positiva fototaxis. La reacción a la luz cambia paralelamente con la saciedad, así mismo, la reacción es más rápida en los jóvenes que en los adultos.

En un régimen normal de luz, los animales están igualmente activos en el día o en la noche. En el alba los animales que viven en condiciones naturales se mueven activamente hacia la superficie y nadan incrementando su velocidad conforme la luz comienza a brillar. Sin embargo, en un cierto nivel de brillantez, sus movimientos se vuelven más lentos y gradualmente se hunden.

La luz es percibida no únicamente por los ojos sino a través del exoesqueleto. Los ojos son sensibles a las grandes longitudes de onda (arriba de 520 nm), mientras que el cuerpo después de quitar los ojos compuesto y nauplio, puede responder únicamente a cortas longitudes de onda (400 – 420 nm) (Waterman, 1961, In Hutchinson, 1967).

## 2.2 Relacionadas con aspectos de su biología

### 2.2.1 Reproducción cíclica

Una alternancia entre la reproducción sexual y la partenogenética bajo condiciones naturales puede tener lugar varias veces al año en las daphnias. La vida de la población de las formas monocíclicas termina en un año, con la reproducción sexual y el depósito de huevos de resistencia. Las formas dicíclicas y policíclicas son respectivamente aquéllas cuya población aparece dos o varias veces durante un año en el mismo cuerpo de agua. Una interrupción de la partenogénesis fue observada en algunos cuerpos de agua naturales (principalmente en lagos) y en poblaciones cultivadas artificialmente, dado que las hembras frecuentemente sobreviven después de liberar los epípteros y entonces comienza la producción de huevos partenogenéticos. Un cultivo de daphnias puede mantenerse en condición de partenogénesis por casi un tiempo indefinido bajo óptimas condiciones ambientales, tipo acíclico (Pennak, 1989).

Las reproducciones sexual y partenogenética frecuentemente toman lugar simultáneamente en las poblaciones de daphnias. La reproducción sexual comienza a aparecer en la población al principio y está bastante limitada. Gradualmente se expande a un pico cuando la existencia de la población bosqueja un final; en este momento la población produce huevos epípteros y entonces muere (Vázquez *et al.*, 1986).

El modo de reproducción de esta familia depende de factores ambientales, especialmente del suplemento alimenticio, la densidad poblacional y el contenido de oxígeno disuelto. Por ejemplo, bajo condiciones normales de alimento y una densidad poblacional moderada, las hembras producen huevos partenogenéticos dentro de un amplio intervalo de temperaturas.

Individuos conteniendo un considerable número de huevos partenogenéticos (arriba de 25) se presentan en poblaciones de *Daphnia* en aguas naturales durante el otoño. La partenogénesis también persiste en cultivos desarrollados durante el invierno. (Briskina, 1956). Esta peculiaridad no es solo para *D. pulex* sino para otras especies de cladóceros.

La proporción de hembras epípteras y de machos comienza a aumentar bajo iluminación prolongada a baja temperatura. En este caso el efecto de la luz está asociado con una neurosecreción la cual influye sobre la función de los ovarios (Midzuni *et al.*, 1960).

Grandes hembras producen grandes lotes de huevos partenogenéticos de desarrollo simultáneo. La fecundidad en condiciones naturales es especialmente alta en hembras que se desarrollaron de epípteros durante los inicios de la primavera. El número de huevos por litro generalmente alcanza un máximo a la

mitad del ciclo de vida (por ej. 4 – 10 mil por litro). Bajo condiciones naturales, *D. pulex* forma 38 – 50 huevos.

La fecundidad generalmente alta de *Daphnia* no es únicamente debida a la numerosa progenie por litro, sino también a la rápida embriogénesis, la cual bajo condiciones favorables requiere únicamente de 2.5 – 3 días. Cada hembra administra la producción de crías durante su ciclo de vida, arriba de 25 en *D. pulex* (Woynarovich, 1959: *In* Irleva, 1973).

La fecundidad de las daphnias está estrechamente relacionada con la densidad poblacional y con un decremento en el contenido de oxígeno del medio. Una excesiva densidad da por resultado una marcada disminución en la producción de huevos.

El suplemento alimenticio también influye en la fecundidad. Usando células de *Chlorella* como alimento, Woynarovich (1959: *In* Irleva, *op. cit.*) encontró que la fecundidad se eleva a un pico en una concentración de 1 millón de células por ml. La producción de huevos decrece grandemente cuando el suplemento alimenticio disminuye a un décimo del valor original.

La duración del desarrollo de los huevos epiales depende de la temperatura; la embriogénesis se hace más prolongada a menor temperatura. De acuerdo con algunos investigadores, una proporción suficientemente grande de neonatos desarrollados de huevos epiales se pueden obtener si los huevos son mantenidos por lo menos 6 semanas a temperaturas cercanas a cero ((Mortimer, 1936: *In* Hutchinson, 1967).

## 2.2.2 Crecimiento y desarrollo

El crecimiento de Daphniidae depende de muchos factores, principalmente de la temperatura y del alimento. Altas temperaturas decrementan tanto la frecuencia de las mudas y la longitud promedio de estos cladóceros. El régimen alimenticio tiene una influencia principalmente sobre el crecimiento (Banta, 1939; Richman, 1958).

Un deterioro del régimen alimenticio durante algunos estadios del crecimiento y del desarrollo de las daphnias inevitablemente se reflejará en su talla, maduración, producción de huevos y períodos de mudas. Bajo extremas condiciones, el crecimiento se detiene completamente y la maduración sexual se retrasa por un largo período. Esta fase de la vida sin crecimiento o sin reproducción puede ser bastante larga. La disponibilidad de alimento afecta la tasa de crecimiento de *Daphnia pulex*. A una concentración adecuada de alimento, el desarrollo procede normalmente y los animales regulan la cantidad de mudas, 18 veces en 40 días.

El período de vida de Daphniidae depende de la temperatura. También las condiciones de respiración, el suplemento alimenticio y la inanición reducen el período de vida a un tercio o menos, como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Influencia de la temperatura y del alimento sobre el período de vida de las daphnias (Irleva, 1973).

Temperatura (°C)	Condiciones del alimento	Promedio del período de vida de las hembras (días)
17	Satisfactorio	150
17	Pobre	90
13	Satisfactorio	170
13	Pobre	53

El primer signo de senilidad en estos cladóceros aparece en el tracto digestivo. Después de liberar de 20 – 21 bolsas de huevos, el epitelio de la mitad del intestino comienza a arrugarse marcadamente y a desintegrarse en pocos días. Los animales subsisten durante este período a expensas de la grasa del cuerpo, cuyas células en consecuencia se rompen rápidamente. En los últimos 2 – 3 días de vida, los animales comienzan a palidecer, enflaquecer y a hacerse lentos; permaneciendo inmóviles por largos períodos sobre el fondo del recipiente y reaccionan pobremente a estímulos externos. La salida de la descendencia de la bolsa incubadora comienza a dificultarse porque el postabdómen ya no se mueve. Las mudas también se dificultan debido a la debilidad de los movimientos de las antenas. Las valvas del caparazón pierden su elasticidad y su superficie comienza a cubrirse con infusorios y algas epifitas y posteriormente la población muere (Schulze – Röbbcke, 1951; *In* Irleva, 1973).

### 2.2.3 Crecimiento poblacional

La máxima densidad varía de una especie a otra. *Daphnia pulex* es una de las más resistentes a este respecto, frecuentemente vive a altas densidades sin algún perjuicio apreciable.

El abatimiento de la población es debido a un número de factores resultado de la excesiva densidad. Uno de estos factores es el fuerte agotamiento del alimento por individuo (Slobodkin, 1960). Los recién nacidos y los animales juveniles consumen menos alimento que igual número de adultos. La escasez de alimento afecta la producción de huevos, las tasas de crecimiento y de maduración e incrementa la proporción de machos en la población. La proporción de hembras epíptales comienza a elevarse especialmente bajo la influencia combinada de estos dos factores (por ej. una alta densidad con una escasez de alimento).

El crecimiento de la población resulta en un marcado cambio en la composición por edad y tamaño. Seguido por un agudo decremento en el número de individuos en los estadios tempranos del desarrollo y una gradual elevación de adultos. La fecundidad de la población declina rápidamente después de la liberación de los huevos epipiales. Eventualmente la oviposición se detiene completamente y la población puede morir en casos extremos. La disminución de la densidad poblacional durante el período de abatimiento es siempre el resultado de la pérdida de su poder reproductivo (Frank, 1960).

Otro factor que afecta la composición por edad de la población es la carencia de oxígeno. El oxígeno captado por una densa población puede exceder la renovación por difusión de la atmósfera. Las condiciones permanecen pobres incluso con la presencia de algas verdes unicelulares, las cuales son alimento para estos cladóceros. La deficiencia de oxígeno afecta la producción de huevos tanto como el crecimiento y la tasa de desarrollo de la progenie.

La densidad poblacional de *Daphnia* puede fluctuar considerablemente incluso sin una conexión con las condiciones de alimentación y respiración (Pratt, 1943). Tales fluctuaciones resultan de la acumulación de metabolitos los cuales ejercen un efecto tóxico.

Se obtuvieron buenos resultados cultivando las daphnias en débiles flujos de agua. Si hay una constante disminución de la densidad poblacional y una eliminación parcial de metabolitos, la población no entra en un estadio de severo abatimiento.

El pico de densidad de una población cultivada masivamente depende de los factores ambientales. Cultivos de *Daphnia pulex* mostraron distintos signos de abatimiento a densidades de 1500 – 2000 org/l, aunque el pico de densidad de esta especie es de 5000 – 5500 org/l. La ganancia global en biomasa puede incrementarse varias veces al doble mediante el aclaramiento regular del cultivo y no permitiendo alcanzar un pico de densidad (Heisig, 1979; In De Pauw *et al.*, 1981).

## 2.2.4 Alimentación

Las daphnias jóvenes que tienen longitudes del cuerpo menores de 1 mm pueden filtrar pequeñas partículas (arriba de 20 – 30  $\mu$ ), mientras que las sexualmente maduras con longitudes del cuerpo de 2 - 3 mm pueden retener células tan grandes como 60 – 140  $\mu$ . Bajo condiciones normales de alimentación, la filtración y la entrada de alimento al tracto digestivo procede continuamente por días sin un ritmo definido.

La filtración y alimentación con partículas suspendidas en *Daphnia* constituye un proceso mecánico sin algún tipo de selección activa del componente alimenticio de mayor valor. Sin embargo, Gaevskaya (1949: *In* Irleva, 1973) describió la selectividad de la composición del alimento. En sus experimentos, *Daphnia* se mantuvo en presencia de materia orgánica y mineral suspendida, filtraba y consumía la suspensión completa indiscriminadamente durante las primeras 2 horas. El alimento encontrado después en el esófago consistía completamente de partículas orgánicas. La que implica la separación de los componentes "comestibles" de los "no comestibles", con la eliminación de las partículas minerales acumuladas en el filtrado.

Al respecto, Berman & Richman (1974) encontraron que *Daphnia pulex* en ambientes naturales puede seleccionar a la partícula alimenticia dominante en un tamaño de  $453 \mu^3$ , esta selección no es solo debida a una alta biomasa, pues también selecciona preferentemente las partículas de tamaño mediano. Pero además está capacitada para capturar pequeñas partículas, como las bacterias que tienen volúmenes promedio de  $0.05 - 0.10 \mu^3$  (Peterson *et al.*, 1978). Por lo que es claro que *Daphnia* selecciona las partículas alimenticias y también rechaza las que no le son útiles con la ayuda del postabdomen y del labrum (DeMott, 1982).

Daphniidae se alimenta de varios grupos de bacterias, levaduras, algas unicelulares, detritus, materia orgánica disuelta, etc., (Arnold, 1971). Las células bacteriales y fungicas tienen un importante valor en la composición del alimento. *Daphnia* puede vivir y reproducirse normalmente por largo tiempo con tales alimentos únicamente. Una escasez de alimento bacterial decrementa la población de daphnias no únicamente por la baja fecundidad, sino también como resultado de un incremento en la mortalidad. Green (1956) no comparten este punto de vista, y consideran que las bacterias pueden ser dispensables de la dieta de esta familia.

El valor alimenticio del detritus también depende en gran medida de la presencia de microorganismos. Un gramo de detritus crudo contiene arriba de 5 billones de células de bacterias y hongos (Rodina, 1972; *In* Wetzel, 1983).

Las algas unicelulares son un importante componente de la dieta de las daphnias. Su valor nutricional depende del tamaño, de su composición química y del espesor de las paredes de sus células. *Clamydomonas*, *Chlorogonium*, *Gonium*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus* y *Chlorella* son especialmente nutritivas. *Chlorella* destaca a causa de sus pequeñas células, paredes delgadas y grandes reservas nutritivas (proteínas, lípidos, carbohidratos y varias vitaminas). Schindler (1971) considera que la calidad del alimento afecta los valores de ingestión y asimilación en *Daphnia*.

Proporcionando únicamente algas a los neonatos (cultivos algales en rápida división celular) se tiene un alimento de gran valor. Las células viejas de las algas

liberan chlorellin, sustancia que ejerce un efecto inhibitorio sobre los cladóceros. El cultivo de *Daphnia pulex* con un medio puro de *Chlorella* también mostró que los productos metabólicos del alga tienen un efecto tóxico sobre la especie (Taub & Dollar, 1964).

Las daphnias raramente tienden a consumir únicamente un solo alimento por largo tiempo en la naturaleza. Su dieta generalmente consiste en una mezcla de diferentes ingredientes en varias proporciones. Los cultivos experimentales de diferentes especies de *Daphnia* han mostrado que el crecimiento poblacional más rápido se da con la presencia de una adecuada cantidad de bacterias, levaduras y células vegetales (Arnold, 1971).

El alimento determina grandemente el modo de reproducción y el desarrollo poblacional de Daphniidae. La partenogénesis continua aún cuando la temperatura sea adversa, si el alimento está presente. Por otra parte, los animales rápidamente mueren cuando la temperatura es óptima si no hay alimento. *D. pulex* reaccionan a un bajo suplemento alimenticio hundiéndose hacia el fondo, donde se alimenta de detritus revolviéndolo por medio de sus antenas (Irleva, 1973).

La tasa de alimentación de las daphnias depende de la temperatura, la cual no únicamente influye en las tasas de movimiento de las patas y de filtración asociada, sino también en la duración de la digestión y en el paso del alimento por el intestino. Las temperaturas altas (32 °C) y bajas (4 – 6 °C) dan por resultado un decremento en el consumo de alimento (McMahon & Rigler, 1963). Los cladóceros consumen más del 40% del suplemento alimenticio si la temperatura es óptima. A temperaturas altas y bajas la tasa de consumo de alimento decrece como sigue: a un 29% de la cantidad del suplemento a 32 °C, a 36% a 12 °C; a 9% a 7°C.

La concentración de alimento en el medio tiene una influencia principalmente sobre la tasa de filtración. Excesiva concentración de partículas alimenticias generalmente estorba los movimientos y la actividad alimenticia, y en casos extremos puede provocar su muerte, debido a la obstrucción del aparato filtrador. Por ejemplo, una alta densidad de colonias y filamentos de cianobacterias provocan la reducción de la ingestión de alimentos y su asimilación, y aumentan el ritmo respiratorio. Estos efectos pueden deberse a la toxicidad de las cianobacterias, pero más frecuentemente se deben a una inhibición física, ya que los filamentos causan serios disturbios en el proceso de filtración en *Daphnia*, estorbando la ingestión de algas comestibles para estos cladóceros (Arnold, 1971; Gliwicz & Lampert, 1990).

La mínima concentración de alimento necesario para una vida normal es de 5,000 células de algas o 10,000 células bacteriales por mililitro.

El consumo de alimento se incrementa en paralelo con su concentración en el medio (Tabla 2) hasta un nivel dado, donde permanece aproximadamente sin cambios e incluso puede disminuir aún después de un fuerte incremento en la concentración de alimento.

Tabla 2. Consumo de alimento por adultos de *Daphnia* en relación con su concentración en el medio (Richman, 1958).

Especie	Alimento	Concentración (miles de células/ml)	Temperatura (°C)	Consumo de Alimento (calorías)
<i>Daphnia pulex</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	25	20	0.459
		50		0.582
		75		1.388
		100		1.910

La tasa de filtración para *D. pulex* es de 1 – 5 ml/día con *Chlamydomonas* como complemento alimenticio. Esto muestra que la cantidad de agua filtrada depende del tamaño del cuerpo de los cladóceros, pero disminuye por unidad de peso en grandes animales (Tabla 3)

Tabla 3. Efecto del tamaño del cuerpo sobre la tasa de filtración de *D. pulex* (Richman, 1958).

Longitud del cuerpo (mm)	Volumen de agua filtrada por 24 horas	
	(ml/individuo)	(ml/mg de peso seco)
0.7	0.90	300.0
1.3	3.93	262.0
1.6	5.15	180.7

La ración promedio por día para *D. pulex* esta en el intervalo de 31% a 360% del peso corporal. En los animales adultos la ración es más baja que en los jóvenes y no excede del 50% del peso corporal con *Chlorella* como complemento alimenticio, 22 – 24% en el caso de *Oocystis* y 47 – 121% con *Scenedesmus* (Irleva, 1973).

Conforme la concentración de alimento se eleva, el grado de asimilación decrece. La cantidad de *Chlamydomonas* asimiladas por *D. pulex* decrece en un factor de 2 – 3 seguido de un cuádruple incremento en la concentración del complemento alimenticio, como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Relación de la concentración y asimilación del alimento presente en el medio de cultivo (Richman, 1958).

Concentración de alimento (miles de células/ml)	Asimilación de alimento (%)	
	Juveniles	Adultos
25	23.9	31.4
50	15.5	20.1
75	8.4	16.5
100	6.6	14.0

La cantidad de alimento asimilado es mucho más bajo en organismos jóvenes que en adultos. Con la presencia de *Chlorella*, *D. pulex* reproductiva asimila cerca del 84% de su peso corporal.

La Tabla 5 muestra la energía gastada en el crecimiento, reproducción y metabolismo general de *D. pulex*. Cerca del 55 – 60% de la energía obtenida mediante la asimilación del alimento en individuos jóvenes sirve para el crecimiento y el otro 40 – 45% para la respiración, mientras que en animales sexualmente maduros del 50 – 70% de la energía es acumulada en los huevos.

Tabla 5. Balance energético de *D. pulex* durante el periodo previo a la madurez sexual (I) y durante el pico reproductivo (II), con la presencia de diferentes concentraciones de alimento (*Chlamydomonas*), temperatura 20 °C (Richman, 1958).

Periodo	Concentración de alimento en el medio (miles de células/ml)	Ración diaria de calorías	Energía asimilada (%)	Gasto de Energía		
				Respiración	Crecimiento	Reproducción
I	25	0.469	23.98	0.050	0.062	0.000
	100	1.910	6.60	0.052	0.074	0.000
II	25	6.140	31.12	0.841	0.075	0.995
	100	29.23	13.72	1.084	0.102	2.826

## 2.2.5 Composición química del cuerpo

Las Tablas 6 y 7 presentan algunos datos sobre la composición química y de calorías contenidas en el cuerpo de las daphnias por gramo de materia seca.

Tabla 6. Composición química del cuerpo de las daphnias (Irlava, 1973).

Especie	Agua	Materia seca	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos	Calcio	Fósforo	Hierro	Kcal/g	Referencia
	%		% del peso seco				%				
<i>Daphnia pulex</i>	89.43	10.57	60.36	21.76	16.75	1.13	9.50	1.494	95.45	4.516	Malikova, 1956
	–	–	47.00	4.00	–	27.00	–	–	–	4.141	Richman, 1958
	–	–	40.00	20.00	–	21.00	–	–	–	5.250	–
	90.67	9.33	58.04	6.58	16.25	18.63	–	–	–	3.766	Vinberg et al., 1934

Existen diferencias en la composición del cuerpo de jóvenes y adultos de *Daphnia*, por ejemplo los juveniles tienen un bajo contenido de cenizas y los adultos son ricos en grasas. Las hembras reproductivas son especialmente ricas en grasas, pues contienen abundantes gotas de aceite en el ovario y en los huevos. En total la cantidad de grasa por peso seco es de 20 a 27% en las hembras adultas y de 4 – 6% en los juveniles, lo que determina el gran valor calórico de las daphnias sexualmente maduras.

Tabla 7. Composición mineral y proximal para *Daphnia* (Watanabe *et al.*, 1983).

Componente	Especie <i>Daphnia</i> sp.
Agua %	89.30
Proteína %	7.50
Lípidos %	1.40
Cenizas %	0.70
Ca mg/g	0.21
Mg mg/g	0.12
P mg/g	1.46
Na mg/g	0.74
K mg/g	0.72
Fe mg/g	72.20
Zn mg/g	12.80
Mn mg/g	13.20
Cu mg/g	1.10

El contenido de proteínas varía considerablemente alrededor de un promedio del 50% del peso seco de los animales. Las proteínas contienen un rico contenido de aminoácidos. La siguiente lista muestra los aminoácidos contenidos en las proteínas de *D. pulex*:

Tabla 8. Contenido de aminoácidos en *Daphnia pulex* (Torreterra & Tacon, 1989).

Aminoácido	Cantidad (%)
Tirosina	4.27
Triptofano	3.62
Arginina	10.92
Histidina	2.69
Cistina	1.17
Metionina	3.45

Las daphnias tienen un bajo contenido de vitaminas. Los datos sobre este tóxico se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. Contenido de vitaminas en el cuerpo de las especies de *Daphnia*, mg del porcentaje de peso seco (Irleva, 1973).

Especie	A	C	B <sub>1</sub>		B <sub>2</sub>	B <sub>12</sub> mg/g	Referencia
			Libre	Total			
<i>Daphnia pulex</i>	0.519	Trazas	0.226	0.256	0.653	--	Malikova, 1956
	--	--	--	--	--	9.833	Fischer, 1960

### 2.2.6 Respiración

Las daphnias respiran principalmente vía las ramas de los epipoditos. Un intercambio normal de gases entre la sangre y el medio ambiente se efectúa por el constante movimiento de las patas torácicas, las cuales crean una corriente continua de agua fresca.

La manera en la cual la tasa de respiración se incrementa con la temperatura varía de una especie a otra. La tasa de gases intercambiados en las daphnias no está relacionado fuertemente con la concentración de oxígeno disuelto en el agua, puesto que estos animales son capaces de sintetizar considerables cantidades de hemoglobina en respuesta al decremento en el contenido de oxígeno. Un decremento más allá de 1 mg/l alerta el estado respiratorio. Así, la tasa de respiración decrece en un factor de 6 a concentraciones de 0.7 - 1.0 mg O<sub>2</sub>/l (Landon & Stasiak, 1983).

La saturación normal de oxígeno en el agua en hábitats naturales o artificiales para las daphnias es de 30 – 60%, lo cual corresponde a cerca de 3 – 6 mg O<sub>2</sub>/l. Un crecimiento abundante de algas, frecuentemente causa una supersaturación de oxígeno en el agua, bajo tales circunstancias los cladóceros migran a las capas del fondo. Los altos niveles de oxígeno en la supersaturación, 150 – 180 e incluso 300% de O<sub>2</sub> (Askerov, 1960; *In* Irleva, 1973) puede ser obtenidos en cultivos combinados de daphnias y células algales, pero las daphnias tienen el riesgo de atrapar burbujas de oxígeno en su caparazón, llevándolas a la superficie, sin poder regresar dentro de la masa de agua, debido a la tensión superficial.

### 3. MÉTODOS DE CULTIVO

No es sorprendente que las daphnias hayan sido cultivadas extensivamente, dado que ellas se presentan en una gran variedad de cuerpos de agua y muestran una marcada resistencia a los factores ambientales. Hay una vasta literatura que trata del cultivo de *Daphnia* en diferentes condiciones climáticas.

Los estudios biológicos de las daphnias han dado por resultado varios procedimientos para sus cultivos masivos. Dos proposiciones fundamentalmente diferentes emergen de la amplia variedad de métodos propuestos.

La primera de estas propuestas es la combinación del cultivo de daphnias con su complemento alimenticio, en condiciones similares a los cuerpos de agua existentes en la naturaleza. La segunda propuesta involucra los cultivos separados de daphnias y su complemento alimenticio, y requiere de un control constante del régimen alimenticio debido a que este factor determina grandemente la tasa de reproducción partenogénica de la población.

Un intervalo de temperatura de 15 – 25 °C es el óptimo para el cultivo, pero el crecimiento procede bien a altas y a bajas temperaturas.

Buenos resultados fueron obtenidos bajo las siguientes condiciones: pH neutro a ligeramente alcalino (5.8 – 7.8); un contenido de oxígeno no menor de 3 – 6 mg/l; actividad oxidativa de 14.8 – 26.2 mg O<sub>2</sub>/l (Shpet, 1950; Briskina & Zhuravleva, 1958; *In* Irleva, 1973).

La tasa de crecimiento de los cultivos de *Daphnia* depende no únicamente del ambiente, sino también de la cantidad de organismos sembrado. Una gran densidad inicial, provoca un rápido crecimiento y un período más corto de tiempo para lograr el pico máximo. La biomasa inicial usualmente va de un intervalo de 10 a 150 g/m<sup>3</sup>. Cosechas parciales a intervalos regulares son necesarias para mantener un rápido crecimiento sostenible del cultivo. Bajo tales condiciones el cultivo puede mantenerse por largos períodos en un estado de rápida reproducción (Heising, 1979; *In* De Pauw, 1981).

El enrarecimiento del cultivo puede comenzar a biomásas de 300 – 1000 g/m<sup>3</sup>. Bajo condiciones de alimentación satisfactoria, el cultivo por lo general requiere de 20 – 25 días para alcanzar este nivel, si la biomasa inicial es de 10 g/m<sup>3</sup>. El tiempo necesario para la maduración del cultivo puede acortarse a 3 – 16 días o 10 - 20 días incrementando al doble la tasa de siembra (Briskina, 1956). Un cultivo muy denso de daphnias puede obtenerse tan solo por un corto período, a grandes o pequeñas cantidades de biomasa inicial.

En algunos casos los animales son cultivados a un pico de densidad y entonces son cosechados completamente, después de ello el cultivo se inicia de nuevo. Por otra parte, cosechas parciales pueden ser tomadas a lo largo del período de cultivo, las cosechas parciales permiten un decremento regular de la población y alargan el período de rápido crecimiento poblacional, pero existe un límite más allá del cual el mantenimiento del cultivo no es rentable. Varios períodos de cultivo han sido recomendados, como se muestra en la Tabla 10.

Poblaciones degradadas de *Daphnia* contienen una gran proporción de hembras epíptales. La bolsa incubadora de las hembras partenogenéticas contienen únicamente 2 – 5 huevos, la proporción de formas jóvenes decrecen y la población consiste principalmente de individuos pequeños debido al incremento de la mortalidad de los grupos de edades mayores.

El envejecimiento del cultivo puede ser atribuido a dos factores: por una parte, a la acumulación de metabolitos y productos de la degradación de la fertilización adicionado, y por otra parte, a la contaminación por otros animales tales como ostrácodos, larvas de insecto (principalmente mosquitos), moluscos, ranacuajos, etc., (Muthu, 1982). Un cultivo agonizante frecuentemente contiene individuos anormalmente desarrollados con algas epífitas, infusorios, rotíferos, etc. Tales crustáceos se hunden hacia el fondo y pronto mueren.

Tabla 10. Duración máxima de los cultivos de *Daphnia* (Irleva, 1973).

Autor	Duración máxima del cultivo
Embody & Sadler (1934)	6 semanas
Shpet (1950)	2 – 2.5 meses
Meshkova (1957)	30 – 50 días
Bogatova & Askerov (1958)	0.5 – 1.0 mes
Askerov (1960)	0.5 – 1.0 mes
Briskina (1960)	6 – 9 meses

### 3.1 Desarrollo del cultivo

El material biológico inicial para el cultivo de daphnias debe ser colectado durante la primavera en cuerpos de aguas naturales. Los pequeños charcos, zanjas y estanques en los cuales las poblaciones de daphnias viven, contienen escasamente algún otro animal, por tanto, utilizando una red de cuchara ordinaria se obtiene un buen material. Las daphnias capturadas son transferidas a un balde o algún otro recipiente con agua y son transportadas al área de cultivo, la densidad de siembra a corto plazo puede ser tan alta como 100 g/l de agua. A la



llegada, las daphnias son alimentadas hasta donde sea posible como animales en observación. Posteriormente se colocaran en los recipientes de cultivo.

Muchos de los organismos colectados generalmente mueren en la transferencia al nuevo ambiente y las hembras epifiales aparecen. Los jóvenes individuos resisten tales transferencias más fácilmente que los sexualmente maduros. Las daphnias se adaptan a las nuevas condiciones en 3 – 7 días y comienzan su reproducción partenogénica (Nita, 1982).

## IZT.

El cultivo inicial de daphnias puede también obtenerse de huevos epifiales, colectados a finales del otoño en cuerpos de agua naturales. Ya que los epifios pueden hundirse o flotar, se recogen tanto de la superficie del agua, como del fondo, en la capa superficial de cieno, en el caso de secar los cuerpos de agua. Los epifios obtenidos (en forma pura o junto con el cieno) son secados al aire y almacenados a una temperatura de 1 – 5 °C. Diez o doce días previos al cultivo, los epifios son colocados en agua a 18 – 22 °C. Los cladóceros incuban al cabo de 4 – 7 días bajo tales condiciones y sirven como material inicial para el cultivo.

Un cultivo existente de daphnias puede mantenerse a lo largo del año a bajas densidades en una habitación o en reservorios al aire libre (en áreas templadas, con inviernos benignos). La partenogénesis persiste en tales condiciones a lo largo de la estación fría con la presencia de un suplemento alimenticio estable (Briskina, 1956).

Nuestro cultivo inicial de *Daphnia pulex* se obtuvo colectando ejemplares de unas piletas del Centro Piscícola "El Zarco", Ocoyoacac, Estado de México, a una altitud de 3100 msnm (Olivares, *et al.*, 1993), donde forman densas poblaciones de manera natural, durante la primavera y el verano. Las daphnias colectadas fueron depuradas un año previo a los experimentos, dado que cohabitaban con ácaros, chydoridos y especialmente ostrácodos, los cuales fueron los más difíciles de eliminar.

Las daphnias pueden ser cultivadas en contenedores de vidrio, vasijas de barro, arcilla, madera, esmalte, etc., así como en todo tipo de reservorios, excavaciones, zanjas y pequeños estanques, si se adaptan temporalmente o son especialmente construidos para este propósito.

Antes de iniciar el cultivo, los contenedores y recipientes deben limpiarse de polvo y suciedad, desinfectarse con cloro comercial y lavarse a fondo con agua. Toda grieta y rendija deberán ser selladas previamente con todo cuidado. En el caso de estanques, zanjas y excavaciones una capa de arcilla se colocará en la zona de fuga, actuando como impermeabilizante.

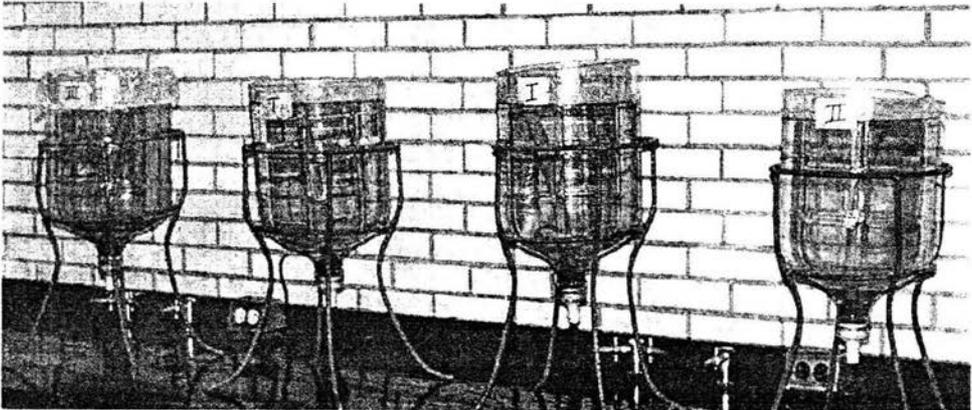


Fig. 6. Botellas de vidrio (garrafones) de 20 l de capacidad utilizados en los cultivos de *Daphnia pulex*.

En nuestro caso los experimentos se realizaron en botellas de vidrio (garrafones) de 20 litros de capacidad (ver Fig. 6), los cuales fueron adaptados colocándolos en forma invertida (con la boca hacia abajo y el fondo hacia arriba) y eliminando el fondo, proporcionando de esta manera una forma de embudo que disminuye el área de acumulación de desechos y de exceso de alimento, y facilita las maniobras de mantenimiento (sifoneo) del cultivo (ver Fig. 7).

Las daphnias pueden ser cultivadas en agua de alguna fuente natural. El agua del grifo deberá usarse en casos especiales y entonces deberá reposarse por 1 – 2 días. Además se filtrará a través de un tamiz fino o algún otro filtro. En nuestros experimentos se utilizó el agua disponible procedente del grifo y se dejó declorar por tres días antes de la preparación del medio patrón.

En la Tabla 11 se presentan los medios de cultivo utilizados para *Daphnia* y que sirvieron como antecedente a nuestra propuesta experimental.

Como se puede observar, los medios de cultivo son variados, pudiéndose agrupar en: minerales, orgánicos y enriquecidos (Torretera & Tacon, 1989). Debemos señalar, que muchos de los medios citados en la Tabla 11 están incompletos o son poco claros en sus detalles de preparación, lo que sí es destacable es la gran diversidad empleada, lo que amplía las posibilidades de experimentar con nuevas dietas para *D. pulex*.

Los medios o fertilizantes minerales son generalmente costosos y de difícil acceso para la acuicultura, ya que su fabricación está dirigida básicamente a las necesidades de la agricultura (Arredondo, 1993), por lo que consideramos poco viable su utilización en la producción de cladóceros.

Tabla 11. Fuentes alimenticias utilizadas en los cultivos de *Daphnia* y sus características generales de aplicación.

FUENTE ALIMENTICIA	DOSIS	TIEMPO DE MADURACIÓN DEL CULTIVO	TASA DE SIEMBRA	DURACIÓN DEL CULTIVO (DÍAS)	REFERENCIA
Tierra de jardín. Estiércol seco de caballo	100g/ 4 - 5 litros de agua 10 g/ 4 - 5 litros de agua	1 - 2	-----	-----	Bellosillo, 1937; In Tech, 1982
Jugo de hojas (trébol, lechuga, rabano o col)	1 puñal/ 10 litros de agua	Unos pocos días hasta notar el florecimiento de algas	-----	-----	Matsudaira, 1943; In Tech, 1982
Fertilizantes minerales	37.5 g Nitratos (13 mg N/ litro) 2.0 mg Superfosfatos/ litro	12	20 - 40 g/m <sup>3</sup>	15	Bogatova & Askerov, 1950; In Irieva, 1973
Infusión de pasto	2 kg/ 100 litros adicionando 10 litros cada 4 días por m <sup>3</sup> de agua	15 - 19	15 - 20 gr/m <sup>3</sup>	26 - 47	Meshkova, 1957; In Irieva, 1973
Levadura proteolizada	16 - 20 g/ m <sup>3</sup> de agua (inicio) 8 - 10 g/ m <sup>3</sup> de agua cada 5 días	18 - 20	30 - 40 g/ m <sup>3</sup>	120 - 130	Briskina, 1956
Levadura proteolizada	16 - 20 g/ m <sup>3</sup> de agua (inicio) 8 - 10 g/ m <sup>3</sup> de agua cada 5 días	20 - 25	10 - 40 g/ m <sup>3</sup>	180 - 270	Briskina, 1956
Fertilizantes minerales	37.5 g Nitrato de Amonio y 20 g de levadura (inicio) 19 g Nitrato de Amonio y 10 g de levadura cada 5 días por m <sup>3</sup> de agua	7 5 3 - 4	50 100 150 g/m <sup>3</sup>	20 - 25 (Verano) 35 - 45 (Invierno)	Askerov, 1958; In Irieva, 1973
Levadura proteolizada y fertilizantes minerales (10:2)	0.5 Kg/ m <sup>3</sup> de agua	3 - 4	-----	10 - 15	Askerov, 1960; In Irieva, 1973
Levadura, <i>Chlorella vulgaris</i> Excretas de aves Gallinaza seca	0.1% / día (no se indica) agregar cada 7 a 9 días Colocar en un saco, remojar 1 a 2 horas introducir al cultivo	-----	-----	-----	Nandy et al., 1977; In Tech, 1982
Salvado de arroz micronizado Salvado de arroz desgrasado y micronizado	50 g/100 ind por litro/2 días	-----	100 ind/litro	21 - 28 14 - 28	Ventura & Enderez, 1980 De Pauw, et al., 1981

Tabla 11. Continuación.

FUENTE ALIMENTICIA	DOSIS	TIEMPO DE MADURACION DEL CULTIVO	TASA DE SIEMBRA	DURACIÓN DEL CULTIVO (DÍAS)	REFERENCIA
Levadura de pan, <i>Scenedesmus</i> , Infusión de gallinaza	500 ppm 5 X 10 <sup>4</sup> cel/ml 2000 ppm	-----	5 org/ml	-----	Villegas & Tech Tech, 1982
Gallinaza seca, Fertilizantes minerales	200 g/m <sup>3</sup> de agua Urea y Superfosfato triple 20 g/m <sup>3</sup> de agua	-----	-----	-----	Nlta, 1982
<i>Chorella</i> , Gabazo de coco, Urea, Superfosfato	(no se indica) 250 g/ Ton 8 g/ litro 4 g/ Ton	2	-----	6 - 7	Muthu, 1982
Gallinaza seca	250, 750, 1250 g/1.70 m <sup>3</sup> /7días 2, 7, 10 g/1.70 m <sup>3</sup>	7 días	7 g/ 7 días	25 días	Porras, 1982
<i>Spinulina maxima</i>					
Levadura de pan	¼ de paquete/ 100 cc de agua, diluir a 70 litros de agua, agregar cada 5 a 6 días	-----	-----	-----	SEPESCA Acuacultura, 1983; In Torrentera & Tacon, 1989
Salvado de trigo, Cloruro de Sodio, Sulfato de Calcio	6.6 g/ litro 25 - 50 g/ 100 litros 25 - 50 g/ 100 litros	1 semana, previa fermentación por 8 días	-----	-----	SEPESCA Acuacultura, 1983; In Torrentera & Tacon, 1989
Salvado de trigo, Cloruro de Sodio, Sulfato de Calcio, Hígado cocido	6.6 g/ litro 25 - 50 g/ 100 litros 25 - 50 g/ 100 litros 5 - 10 g/ 100 litros, agregar cuando sea necesario	1 semana, previa fermentación por 8 días	-----	-----	SEPESCA Acuacultura, 1983; In Torrentera & Tacon, 1989
Estiércol de caballo Infusión de estiércol de caballo y jugo de plantas (3: 1)	1.5 Kg/m <sup>3</sup> /10 días 10 litros/m <sup>3</sup> /10 días	----- -----	7.86 g/m <sup>3</sup>	18	Olivares et al., 1993
Gallinaza seca molida	150g/600 litros 200g/600 litros 250g/600 litros 200g/600 litros	-----	4000 org/litro	-----	Soriano, 1995
Harina de arroz					



Fig. 7. Botella de vidrio modificada en forma de embudo para facilitar el mantenimiento de los cultivos de *D. pulex*.

En el caso de los medios orgánicos, destaca la fertilización con estiércoles, desechos de la actividad pecuaria (De Pauw *et al.*, 1981), sin embargo estimamos que esta alternativa es más adecuada para sistemas al aire libre, aunque el riesgo de que las daphnias producidas sean portadoras de bacterias y parásitos altamente nocivos, incluso para el hombre, no puede descartarse (Osorio & De la Lanza, 1990).

La dieta probada en nuestros experimentos combina un medio patrón (SEPESCA – Acuicultura, 1983: *In* Torrentera & Tacon, 1989) y el jugo de hojas verdes (una adaptación del método propuesto por Matsudaira, 1943: *In* Tech, 1982). El medio patrón es fermento de salvado de trigo (con un tiempo de fermentación de 8 días) adicionado con sulfato de calcio y cloruro de sodio, un medio bastante estable para el desarrollo de la daphnia y que además proporciona una rica fuente de bacterias y levaduras para su alimentación.

El jugo de hojas verdes sustituye a las células algales, convirtiéndose en la fuente de nutrientes vegetales para *Daphnia pulex*, con lo que se espera enriquecer más el medio patrón para obtener mejores producciones. El jugo de hojas verdes se elaboró a una proporción 1:50, pesando la cantidad apropiada de la hoja elegida y adicionando el volumen calculado de agua (agua purificada para consumo humano), estos ingredientes se licuaron y la mezcla obtenida se pasó a través de una malla fina para eliminar el exceso de bagazo, aplicando a los cultivos únicamente el jugo recién obtenido.

La elección de las hojas de rábano y de espinaca, fue con la idea en el primer caso de minimizar costos y de reciclar un subproducto agrícola, que comúnmente se desecha, como sucede con las hojas de rábano, y en el segundo caso con el pleno interés de utilizar una hortaliza con probada calidad nutricional como lo son las hojas de espinaca.

Tomando en cuenta las tasas de siembra y la duración de los cultivos presentados en la Tabla 11, se eligieron una densidad inicial de 200 organismos/botella (es decir, 14 litros de agua, volumen estándar utilizado) y una duración de 21 días de cultivo.

Durante este período se evaluaron 6 parámetros ambientales, dos veces por semana, los cuales consideramos de gran importancia para entender el comportamiento de los medios de cultivo y su relación con la producción de *D. pulex*, bajo las condiciones creadas en nuestro laboratorio. Los parámetros elegidos fueron: temperatura del agua (°C), oxígeno disuelto (mg/l), pH, conductividad ( $\mu\text{mhos}/\text{cm}^2$ ), alcalinidad (mg  $\text{CaCO}_3/\text{l}$ ) y dureza total (mg  $\text{CaCO}_3/\text{l}$ ).

Los resultados obtenidos nos dan la pauta para producir masivamente *Daphnia pulex* bajo condiciones asépticas y de experimentar con nuevas alternativas alimenticias como son los jugos de hojas verdes, los cuales no son costosos, son inocuos y de fácil elaboración. Sin las complicadas exigencias para mantener un cultivo puro de algas como fuente alimenticia para el cladóceros.

En nuestros experimentos, resultó que el jugo de espinacas fue la mejor alternativa alimenticia para la especie, pero no implica necesariamente que sea la única, pues existen muchas hojas verdes desperdicios hortícolas o agrícolas, o que son utilizadas como forrajes de bajo costo (pasto, alfalfa, etc.) para animales terrestres y que bien pudieran emplearse en la producción experimentalmente de las daphnias y de otros cladóceros.

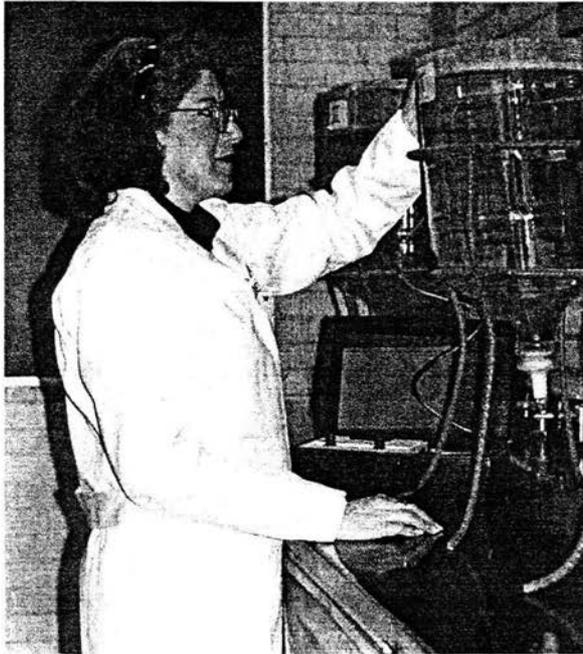


Fig. 8. Determinación del oxígeno disuelto en los cultivos de *Daphnia pulex*.

#### 4. RECOMENDACIONES

La utilización de jugos de hojas verdes en la producción masiva de *Daphnia*, abre un amplio campo de investigación, dado que se pueden manipular diversas variables, aún no probadas bajo estas condiciones, dentro de las cuales consideramos de gran interés las siguientes:

- a) Probar otros jugos de hojas verdes, especialmente aquellos que procedan de desechos o subproductos agrícolas de bajo o nulo costo
- b) Aplicar otras tasas de siembra, particularmente incrementando la aquí utilizada, ya que se mencionó que elevadas densidades de siembra dan resultados más rápidos y más productivos
- c) Incluir oxigenación en los cultivos, puesto que en párrafos anteriores se indicó su utilidad para aumentar la producción de las daphnias
- d) Realizar análisis bromatológicos para conocer la composición nutricional de los organismos cultivados y de las hojas verdes utilizadas como fuentes alimenticias en los experimentos
- e) Comparar los resultados con un cultivo de algas bajo las mismas condiciones experimentales
- f) Probar la eficiencia de las fuentes alimenticias aquí propuestas con otras especies de *Daphnia* o de *Moina*.

Todo ello se sugiere dada la importancia de los cladóceros y particularmente de las especies de *Daphnia* en diversas áreas de investigación, como oportunamente se señaló en la introducción de este trabajo.

## 5. LITERATURA CITADA

- Arnold, D.E. 1971. Ingestion, assimilation, survival, and reproduction by *Daphnia pulex* fed seven species of blue-green algae. *Limnol. Oceanogr.*, 16: 906 – 920.
- Arredondo, F.J.L. 1993. Fertilización y fertilizantes: su uso y manejo en Acuicultura. Libros de texto y manuales de práctica. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. México. 202 p.
- Banta, A. M. 1939. Studies on the physiology, genetics, and evolution of some Cladocera. *Publ. Carnegie Inst. Wash.*, 513: 1 – 285.
- Berg, K. 1934. Cyclic reproduction, sex determination and depression in the Cladocera. *Biol. Rev.*, 9: 139 –174.
- Berman, M. S. & S. Richman. 1974. The feeding behavior of *Daphnia pulex* from Lake Wiinnebago, Wisconsin. *Limnol. Oceanogr.*, 19 (1): 105 – 109.
- Bowman, T.E. & L.G. Abele. 1982. The classification of recent crustacea. *In* D. Bliss. (ed.). *The biology of crustacea*. Vol. I. Academic Press. New York. p. 1 – 27.
- Briskina, M.M. 1956. Procedure for the cultivation of lower crustaceans and gammarids at the Chaikend Hatchery. *Okeanografii*. Collection No. 1, Moskva.
- Brooks, J.L. 1959. Cladocera. *In* W.T. Edmonson (ed.). *Fresh-Water Biology*. Wiley & Sons. New York. p. 587 – 656.
- Cervantes, M.A. & Gutiérrez, A.M.A. 1996. Cladóceros del Estado de México, aportaciones sobre Biología y Sistemática Tesis Licenciatura Biología. UNAM Campus Iztacala. México. 91 p.
- Conkli, D.E. & L. Provasoli. 1978. Bifasic particulate media for the culture of filter-feeders. *Biol. Bull.*, 154: 47 – 54.
- Davis, P. & G.W. Ozburn. 1969. The pH tolerance of *Daphnia pulex* (Leydig, emend. Richard). *Can. J. Zool.*, 47: 1173 – 1175.
- De la Fuente, F.J.A. 1994. *Zoología de Artrópodos*. Interamericana - McGraw-Hill. España. 805 p.
- DeMott, W.R. 1982. Feeding selectivities and relative ingestion rates of *Daphnia* and *Bosmina*. *Limnol. Oceanogr.*, 27 (3): 518 – 527.
- De Pauw, N., P. Laureys & J. Morales. 1981. Mass cultivation of *Daphnia magna* Straus on ricebran. *Aquaculture* 25: 141 – 152.
- Dodson, S.I. & D.G. Frey. 1991. Cladocera and others Branchiopoda. *In*: J.H. Thorp & Covich A. (eds.). *Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press. San Diego. p. 723 – 776.

- Edmondson, W.T. 1955. The seasonal life history of *Daphnia* in an arctic lake. *Ecology* 36 (3): 439 – 451.
- Fox, H.M., B.M. Gilchrist & E.A. Phear. 1951. Functions of haemoglobina in *Daphnia*. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.*, 138: 514 – 548.
- Frank, P.W. 1960. Prediction of population growth form in *Daphnia pulex* cultures. *Amer. Nat.*, 94: 357 – 372.
- Frey, D.G. 1987. The taxonomy and biogeography of Cladocera. *Hydrobiologia* 145: 5 – 17.
- Gannon, J.E. & Stemberger, R.S. 1978. Zooplankton (specially Crustaceans and Rotifers) as indicators of water quality. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, 11(97):16 – 35.
- Gliwicz, Z.M. & W. Lampert. 1990. Food thresholds in *Daphnia* species in the absence and presence of blue-green filaments. *Ecology* 71 (2):691 – 702.
- Green, J. 1956. Growth, size and reproduction in *Daphnia* (Crustacea: Cladocera). *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 126: 173 – 204.
- Hall, D.J. 1964. An experimental approach to the dynamics of a natural population of *Daphnia galeata mendotae*. *Ecology* 45: 94 –112.
- Hutchinson, G.E. 1967. A Treatise on Limnology. II. Introduction to Lake Biology and the Limnoplankton. John Wiley & Sons, Inc. New York. 1115 p.
- Irleva, I.V. 1973. Mass cultivation of invertebrates biology and methods. Academy of Sciences of the USSR. All Union Hydrobiological Society and Israel Program for Scientific Translations. *Cap. Brachiopoda* p. 52 – 78, *Daphnia* p. 79 – 120.
- Koh, H.L., T.G Hallam & H.L.Lee. 1997. Combined effects of environmental and chemical stressors on a model *Daphnia* population. *Ecological Modelling* 103: 19 – 32.
- Landon, M.S. & R.H. Stasiak. 1983. *Daphnia* hemoglobin concentration as a function of depth and oxygen availability in Arco Lake, Minnesota. *Limnol. Oceanogr.*, 28 (4): 731 –737.
- McCauley, E., W.W. Murdoch, R.M. Nisbet & W.S.C. Gurney. 1990. The physiological ecology of *Daphnia*: development of a model of growth and reproduction. *Ecology* 71 (2): 703 – 715.
- McMahon, J. W. & F.H. Rigler. 1963. Mechanisms regulating the feeding rate of *Daphnia magna* Straus. *Can. J. Zool.*, 41: 321 – 332.
- Midzuni, K., Y. Hata & N. Kono. 1960. Seasonal variations of generations of *Daphnia pulex* and analysis of external factors. I. Relationship between the life cycle of *Daphnia pulex* and water temperature. *Jap. J. Ecol.*, 10 (1): 57 – 71.

- Muthu, M.S. 1982. Methods of culturing zooplankton. Manual of research methods for fish and shellfish nutrition. Centre of Advanced Studies in Mariculture, Central Marine Fisheries Research Institute, Cochin. p. 119 – 125.
- Nita, T. 1982. Work on the growing of food organisms at Sakabumi freshwater aquaculture development center and other freshwater stations in Indonesia. South China Sea Fisheries Development and Coordinating Programme. Manila, Filipinas. p. 155 – 156.
- Olivares, R., M.L. Rojas & R. Sánchez. 1993. Producción de pulga de agua (*Daphnia* sp.) utilizando dos fertilizantes no convencionales, con algunas consideraciones económicas. Resúmenes. XII Congreso Nacional de Zoología. Monterrey, Nuevo León. México. p. 64.
- Osorio, I. & G. De la Lanza. 1990. El uso de biodigestores en acuicultura. La acuicultura en México: de los conceptos a la producción. Universidad Nacional Autónoma de México. México. p. 291 – 309.
- Pennak, R. 1989. Fresh-water Invertebrates of the United States. Protozoa to Mollusca. 3ª ed. John Wiley & Sons Inc. New York. 627 p.
- Peterson, B.J., J.E. Hobbie & J.F. Haney. 1978. *Daphnia* grazing on natural bacteria. Limnol. Oceanogr., 23: 1039 – 1044.
- Porras, D. 1982. Aspectos del cultivo rotatorio de *Daphnia* sp. Investigación Acuícola. 1er. Informe de Trabajo. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Secretaría de Pesca y Centro Nacional de Parasitología Animal. México. p. 20 – 26.
- Porter, K.G. 1973. Selective grazing and differential digestion of algae by zooplankton. Nature 244: 179 – 180.
- Pratt, D. M. 1943. Analysis of population development in *Daphnia* at different temperatures. Biol. Bull., 85: 116 – 140.
- Richman, S. 1958. The transformation of energy by *Daphnia pulex*. Ecol. Monogr., 28: 273 – 291.
- Schindler, J.E. 1971. Food quality and zooplankton nutrition. J. Anim. Ecol., 46 (1-3). 589 – 595.
- Slobodkin, L.B. 1960. Ecological energy relationships at the population level. Amer. Nat. 94: 213 – 236.
- Soriano, S.M.B. 1995. Utilización de gallinaza en el cultivo de pulga de agua *Daphnia pulex* en estanques de fibra de vidrio. Programa – Resúmenes. XIII Congreso Nacional de Zoología. Morelia, Michoacán. México. p. 118.
- Tappa, D.W. 1965. The dynamics of the association of six limnetic species of *Daphnia* in Aziscoos lake, Maine. Ecol. Monogr., 35: 395 – 423.

- Taub, F.B. & A.M. Dollar. 1964. A *Chlorella* – *Daphnia* food – chain study: the design of a compatible chemically defined culture medium. *Limnol. Oceanogr.*, 9 (1): 61 – 74.
- Tech, E. 1982. Culture of zooplankton (*Brachionus* and *Moina*). South China Fisheries Development and Coordinating Programme. Manila, Filipinas, p. 35 – 38.
- Threlkeld, S.T. 1979. Estimating cladoceran birth rates: the importance of egg mortality and the egg age distribution. *Limnol. Oceanogr.*, 24: 601 – 612.
- Tonkopi, V. D. & A.O. Zagrebini. 1998. Aquatic animals as an alternative bioobjects in toxicology. *Toxicology Letters* 95 (1): 240.
- Torrentera, B.L. & A.G.J. Tacon. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. FAO. Documento de Campo No. 12. Programa Cooperativo Gubernamental/ Región América Latina/ 075/ Italia. Brasilia, Brasil. 90 p.
- Vázquez, A., E. Solis, N. Macedo & I. Rosas. 1986. Influencia de la calidad del agua sobre la ocurrencia de *Daphnia pulex* en la presa José Antonio Alzate y algunos aspectos de su pesquería. *Cont. Amb.*, 2: 39 – 56.
- Ventura, R.F. & E.M. Enderez. 1980. Preliminary studies on *Moina* sp. Production in freshwater tanks. *Aquaculture* 21: 93 – 96.
- Watanabe, T., C. Kitajima & S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34: 115 – 143.
- Wetzel, R.G. 1983. *Limnología*. Omega, Barcelona. 679 p.

## 6. APÉNDICE

### 6.1 Artículo publicado

## Efecto de jugos vegetales sobre la producción de *Daphnia pulex* (Cladocera: Daphniidae) en condiciones de laboratorio

Margarita L. Rojas, Norma A. Navarrete, Guillermo Elías y Gilberto Contreras.

Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala. Av. de los Barrios s/n Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. A.P. 314. C.P. 54090. México. Fax: 390-5900 y 565-1009. Correo electrónico: normaa@servidor.unam.mx.

Recibido 14-VII-1998. Corregido 10-III-1999. Aceptado 18-III-1999.

**Abstract:** We tested the enriching effect of radish leaf (*Raphanus sativus*) and spinach leaf (*Spinacea oleracea*) extracts when added separately to the fermented wheat bran (*Triticum aestivum*) for producing *Daphnia pulex*. The experiments were conducted in 20 l glass bottles containing 14 l of dechlorinated tap water. The initial inoculation density was 200 organisms/bottle. The cultures were allowed to grow for 21 days; during this time the controls received only the fermented wheat bran (*Triticum aestivum*), while the test containers received either extract of radish leaf (*Raphanus sativus*) or that of spinach leaf (*Spinacea oleracea*), in addition to ferment wheat bran (*Triticum aestivum*). We also measured some physico-chemical variables of the medium during the experimental period. These are: water temperature, dissolved oxygen, pH, conductivity, alkalinity and total hardness. These variables remained more or less the same in all test bottles reflecting non-significant variations. After the test period, the net production of *D. pulex* in terms of numbers was: 1 722 organisms/bottle in the controls while that receiving radish leaf (*Raphanus sativus*) extract with 7 997 organisms/bottle and that with spinach leaf (*Spinacea oleracea*) extract with 8 921 organisms/bottle. Test of analysis of variance showed significant differences among the cultures (Fisher  $p < 0.005$ ). This study showed that the enrichment of fermented wheat bran (*Triticum aestivum*) with spinach (*Spinacea oleracea*) extract was a better nourishing source of food for culturing *Daphnia pulex* under laboratory conditions.

**Key words:** *Daphnia pulex*, Cladocera, net production, source of food, radish leaf (*Raphanus sativus*) extract, spinach leaf (*Spinacea oleracea*) extract, laboratory conditions.

La producción exitosa de peces y crustáceos con fines acuaculturales depende, entre otras cosas, de la disponibilidad de organismos zooplanctónicos de talla apropiada para la alimentación de sus larvas (Muthu 1982), dado que está extensamente documentado el rol del zooplancton en las cadenas alimenticias acuáticas, siendo la principal conducción de nutrientes entre los productores primarios y los altos niveles tróficos (Conklin & Provasoli 1978).

Recientemente la eclosión de nauplios de artemia se ha vuelto un alimento popular utili-

zado en investigación y acuicultura. Sin embargo, el alto costo de sus quistes ha sido la principal causa de incursionar en organismos zooplanctónicos, los cuales presentan ventajas de cultivo a gran escala y a muy bajo costo, como es el caso de ciliados, rotíferos, copépodos y cladóceros (Muthu 1982).

Dentro de los cladóceros han sido seleccionados los géneros *Daphnia* y *Moina* puesto que ofrecen un alto contenido nutricional y facilidades de producción en cultivo (Torretera & Tacon 1989).

En el caso del género *Daphnia* estas facilidades de producción se deben a importantes cualidades como son: gran resistencia a las variaciones ambientales, corto tiempo generacional, alta tasa reproductiva y a su relativamente poca selectividad como organismo filtrador, lo que facilita la utilización de diversas dietas y la implementación de cultivos masivos (Tech 1982, Torrentera & Tacon 1989).

Los medios de cultivo utilizados son variados, pudiéndose agrupar en: medios minerales, orgánicos y enriquecidos. En este sentido tenemos los trabajos de Nita (1982) quien cultivó *Daphnia pulex* utilizando gallinaza seca y fertilizantes minerales (Urea y Superfosfato Triple), Porras (1982) realizó un cultivo rotatorio de *Daphnia* sp. con gallinaza seca y gallinaza seca combinada con *Spirulina maxima*, Olivares *et al.* (1993) compararon la producción de *Daphnia* sp. utilizando estiércol de caballo y la infusión de estiércol de caballo y jugo de hojas de plantas, Soriano (1995) cultivó *Daphnia pulex* aplicando gallinaza seca a varias concentraciones y comparándolas con un testigo en base a harina de arroz.

El objetivo del presente estudio fue probar el efecto del jugo de hojas verdes como son rábano (*Raphanus sativus*) y espinaca (*Spinacia oleracea*), sobre un patrón de fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) en la producción de *Daphnia pulex* (Leydig 1860), en condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los cultivos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Producción de Peces e Invertebrados Acuáticos del Campus Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

Para su realización se utilizaron botellas de vidrio de 20 l de capacidad, las cuales fueron llenadas con agua del grifo a un volumen de 14 l y se dejaron reposar por tres días para la eliminación del cloro.

El medio de cultivo patrón para los dos experimentos se preparó con fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) (10 ml/l) adiciona-

do con Sulfato de Calcio (0.50 g/l) y Cloruro de Sodio (0.25 g/l) (Secretaría de Pesca-Acuacultura 1983, In Torrentera & Tacon 1989).

En el primer experimento la botella testigo tan solo fue alimentada con el fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) una vez por semana y las botellas experimentales (I, II y III) con la combinación del fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) y el jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) a una proporción 1:50, dos veces por semana (Matsudaira 1943, In Tech 1982).

En el segundo experimento la variable en las botellas experimentales (I, II y III), fue el jugo de hojas de espinaca (*Spinacia oleracea*) a la misma proporción y dosificación.

En ambos experimentos la tasa de siembra de *Daphnia pulex* en todas las botellas (testigo y experimentales) fue de 200 organismos/botella. La cepa de *D. pulex* utilizada en estos experimentos, fue recolectada en noviembre de 1996 de unas piletas del Centro Piscícola "El Zarco", Ocoyoacac, Estado de México y depurada un año en nuestro laboratorio.

El tiempo de cultivo fue de 21 días, durante los cuales se evaluaron dos veces por semana los siguientes parámetros ambientales: temperatura del agua (°C) con un termómetro digital marca Elite, oxígeno disuelto (mg/l) mediante un oxímetro digital marca Cole Parmer, pH mediante un potenciómetro digital marca Cole Parmer; conductividad ( $\mu\text{mhos}/\text{cm}^2$ ) con un conductímetro digital marca Sprite 6000; alcalinidad (mg  $\text{CaCO}_3/\text{l}$ ) por medio de la titulación con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 0.02 N y dureza total (mg  $\text{CaCO}_3/\text{l}$ ) por titulación con EDTA al 0.1 M (Anónimo 1989).

Al término de los períodos de cultivo se realizaron las cosechas filtrando el 14.29 % del volumen total de las botellas a través de una red para plancton de 125  $\mu\text{m}$  de luz de malla. La *Daphnia* colectada de todos los recipientes de ambos experimentos fue fijada con formalina al 4 % y almacenada en frascos viales para su cuantificación.

Para conocer la relación de los parámetros ambientales con las producciones de *D. pulex* se realizaron análisis de correlación simple.

Y finalmente para evaluar las diferencias entre los parámetros ambientales evaluados en los dos experimentos y el efecto de los jugos de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) y de espinaca (*Spinacia oleracea*) combinado con el patrón de fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) en la producción de *D. pulex*, se realizaron análisis de varianza para tres y dos variables de clasificación (técnica de Fisher), a niveles de significancia de 0.99 y 0.995 (Daniel 1985, Reyes 1987).

## RESULTADOS

En el Cuadro 1 se presentan los valores máximos y mínimos, el promedio y la desviación estándar de los parámetros físico-químicos evaluados en los dos experimentos que comprendió este estudio. En tanto que en las Fig. 1 (A) y (B) tan

solo se muestran los valores promedio de los mencionados parámetros ambientales.

Como se puede observar en la Fig. 1 (A) no existen grandes variaciones de temperatura del agua, oxígeno disuelto y pH, por ello el análisis de varianza tan solo fue significativo para el pH con  $p < 0.01$ .

En la Fig. 1 (B) las diferencias en los parámetros de conductividad, alcalinidad y dureza total son algo más evidentes, siendo por tanto significativas para el análisis de varianza obteniéndose en todas una  $p < 0.005$ .

En cuanto a la producción neta de *Daphnia pulex* a los 21 días de cultivo mostrada en la Fig. 1 (C), esta fue de 1 722 organismos/botella en las testigo, de 7 997 org/botella en las que recibieron jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) y de 8 921 org/botella para las del jugo de hojas de espinaca (*Spinacia oleracea*), lo que determinó las tasas de producción

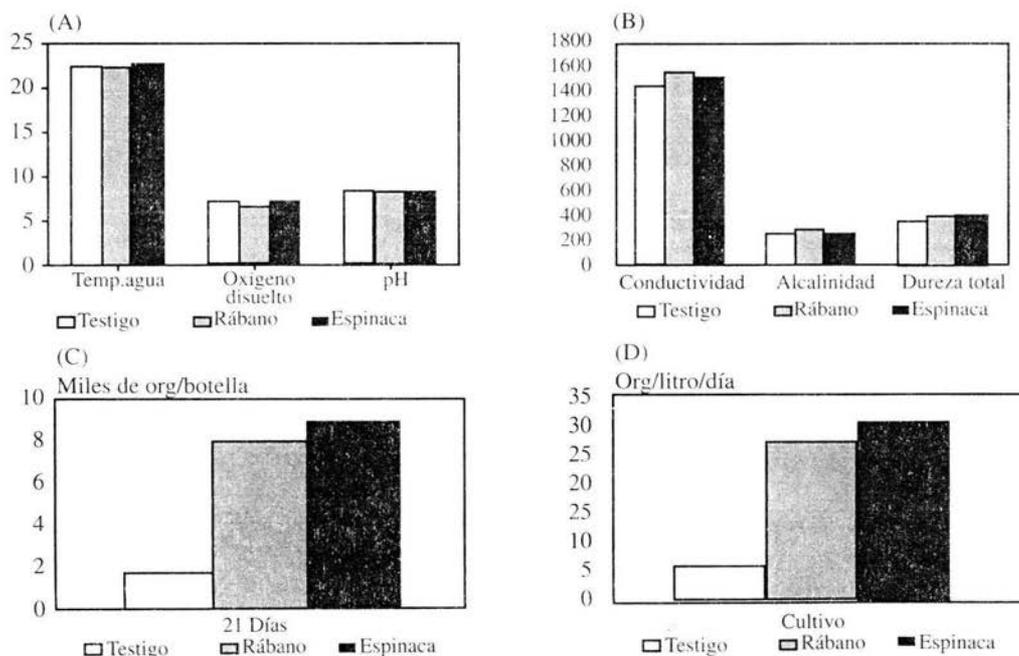


Fig. 1. (A) y (B) parámetro ambientales promedio, (C) producción neta y (D) tasas de producción en los cultivos de *Daphnia pulex*.

CUADRO I  
*Parámetros ambientales en los cultivos de Daphnia pulex*

Parámetro	Testigo				Rábano				Espinaca			
	máx	mín	prom	ds	máx	mín	prom	ds	máx	mín	prom	ds
Temperatura del Agua (°C)	23.50	21.50	22.45	0.74	23.60	21.20	22.32	0.97	23.40	21.80	22.57	0.58
Oxígeno Disuelto (mg/l)	7.50	6.90	7.20	0.22	7.00	6.10	6.47	0.36	7.40	7.00	7.25	0.15
pH	8.40	8.20	8.32	0.08	8.40	8.10	8.22	0.13	8.30	8.00	8.18	0.12
Conductividad (µmhos/cm <sup>2</sup> )	1461.00	1450.00	1455.67	4.18	1567.00	1546.00	1556.17	8.42	1533.00	1511.00	1521.17	8.52
Alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> /l)	270.00	259.50	264.92	4.31	294.00	284.00	290.83	3.76	268.00	243.00	254.50	9.91
Dureza Total (mg CaCO <sub>3</sub> /l)	372.30	353.60	358.17	7.10	403.20	384.80	393.07	7.68	420.20	393.10	402.37	10.46

máx = máximo, mín= mínimo, prom= promedio, ds = desviación estándar

siguientes y que se muestran en la Fig. 1 (D): testigo de 5.86 organismos/litro/día, rábano (*Raphanus sativus*) de 27.20 org/litro/día y espinaca (*Spinacia oleracea*) de 30.34 org/litro/día.

Del análisis de correlación simple entre los parámetros ambientales y la producción de *D. pulex*, aquellos que mostraron los valores más altos fueron: la temperatura del agua con una  $r=0.96$  para las testigo y con una  $r=0.94$  para las del jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*), en el caso de las del jugo de hojas de espinaca (*Spinacia oleracea*) este parámetro tuvo una  $r=0.89$  que también es alta, pero aquí destacó de manera particular la correlación obtenida con la alcalinidad con una  $r=0.96$ .

Finalmente el análisis de varianza entre las producciones netas obtenidas entre los dos experimentos mostró que sí existen diferencias entre los cultivos por lo que su  $p < 0.005$ . Sin embargo para detectar si realmente la producción de *D. pulex* con el jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) y con el jugo de hojas de espinaca (*Spinacia oleracea*) son significativamente diferentes, se realizó otro análisis de varianza con dos variables de clasificación y un nivel de significancia de 0.995, la cual también dio una  $p < 0.005$ .

## DISCUSIÓN

El medio de cultivo patrón preparado en base al fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) adicionado con Sulfato de Calcio y Cloruro de Sodio, nos da un medio bastante estable para el desarrollo de *Daphnia pulex*, esto se muestra en el Cuadro 1 y en las gráficas de las Fig. 1 (A) y (B), donde se aprecia que los parámetros físico-químicos evaluados, no mostraron variaciones drásticas, ni existen grandes diferencias entre los registros de los cultivos testigo, con jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) y con jugo de hojas de espinaca (*Spinacia oleracea*).

La temperatura del agua tiene relación con la producción de *D. pulex* en las botellas testigo y en las de rábano (*Raphanus sativus*), cuya tendencia general de incremento determinó co-

rrrelaciones positivas de 0.96 en las testigo y de 0.94 en las de rábano (*Raphanus sativus*), además consideramos que este parámetro también fue importante para las botellas con jugo de espinaca (*Spinacia oleracea*), ya que en los tres casos la temperatura promedio fue de 22.45, 22.32 y 22.57 °C respectivamente, valores que caen dentro del rango de ocurrencia de la especie en condiciones naturales, indicado por Vázquez *et al.* (1986) entre 15.8 y 24.1 °C.

Autores como Birge (1898), Ward (1940) y Pratt (1943) (*In* Hazelwood & Parker 1961), Hall (1964), Neill (1981) y Crossetti & Margaritora (1987) señalan a la temperatura como el factor físico más importante para determinar el incremento y el tamaño de las poblaciones de cladóceros en ambientes naturales y en condiciones de laboratorio.

En el caso de la alcalinidad mostró una correlación positiva de 0.96 para las botellas enriquecidas con jugo de espinaca (*Spinacia oleracea*), esto evidencia que su incremento favoreció el desarrollo de la *Daphnia*.

Al respecto Borecky (1956) (*In* Hazelwood & Parker 1961) reportó una muy alta correlación entre la densidad total de cladóceros y las concentraciones de bicarbonatos. Esto se apoya en el hecho de que la alcalinidad se refiere a la cantidad y clase de compuestos que en conjunto modifican el pH hacia el lado alcalino de la neutralidad, siendo principalmente los bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos los que la determinan, compuestos que son esenciales en la estabilidad y capacidad amortiguadora de los sistemas dulceacuícolas (Anónimo 1989, Wetzel 1983).

Además debemos agregar que el pH del cultivo enriquecido con espinaca (*Spinacia oleracea*) se ubicó en un rango de 8.00 a 8.30, con un promedio de 8.18 (ver Cuadro 1), valores alcalinos que caen dentro del intervalo óptimo de pH para la especie, que de acuerdo con Davis & Ozburn (1969) es de 7.0 a 8.7 en condiciones de laboratorio y para Vázquez *et al.* (1986) de 7.40 a 8.30 en ambientes naturales.

En cuanto a las producciones netas obtenidas y a las tasas de producción, resulta claro que la adición de los jugos de hojas verdes,

rábano (*Raphanus sativus*) y espinaca (*Spinacia oleracea*), enriquecen el medio patrón y suministran una mayor cantidad de alimento susceptible de ser pastoreado por la *D. pulex*, reflejándose en incrementos de la población del orden de 464% en las de rábano (*Raphanus sativus*) y de 518% en las de espinaca (*Spinacia oleracea*).

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los cultivos. Sin embargo, para conocer si el jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) y el jugo de hojas de espinaca (*Spinacia oleracea*) son enriquecedores significativamente diferentes, se aplicó un segundo análisis de varianza, el cual nos permitió saber que la producción con espinaca (*Spinacia oleracea*) es definitivamente la mejor alternativa alimenticia para la *D. pulex*, en condiciones de laboratorio, como se planteó en este estudio.

Datos de producciones de *Daphnia pulex* en condiciones de cultivo, solo tenemos las de Nita (1982) quien obtuvo de 0.63 a 1.25 organismos/litro/día utilizando gallinaza seca (200 g/m<sup>3</sup>) y fertilizantes minerales (Urea y Superfosfato Triple a 20 g/m<sup>3</sup>) y las de Soriano (1995) con 458 org/litro/día adicionando 250 g gallinaza seca/600 litros.

De acuerdo con nuestras tasas de producción que son de 27.20 org/litro/día en las de rábano (*Raphanus sativus*) y de 30.34 org/litro/día en las de espinaca (*Spinacia oleracea*), resultan mejores que las de Nita (1982), pero inferiores que las de Soriano (1995), sin embargo, consideramos que el uso de estiércoles como la gallinaza seca, no garantizan el estado sanitario de las dafnias cultivadas, pues esos subproductos con frecuencia son portadores de bacterias y de parásitos altamente nocivos incluso para el hombre (Osorio & De la Lanza 1990).

Finalmente debemos enfatizar la relevancia de este tipo de trabajos, por la posibilidad de producir masivamente cladóceros de una forma totalmente aséptica mediante el jugo de hojas verdes, que en algunos casos como el de las hojas de rábano (*Raphanus sativus*) son

desperdicios hortícolas. Esto concuerda con Davis & Ozburn (1969), ya que las daphnias resultan una excelente alternativa alimenticia para diferentes cultivos comerciales de peces y crustáceos, ya sea para el consumo humano o para la ornamentación.

## RESUMEN

El objetivo fue probar el efecto enriquecedor del jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*) y de espinaca (*Spinacia oleracea*), sobre un patrón de fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) en la producción de *Daphnia pulex*. Los experimentos se llevaron a cabo en botellas de vidrio de 20 l de capacidad, llenadas con agua del grifo desclorada a un volumen de 14 l. Los cultivos tuvieron una duración de 21 días, durante los cuales las botellas testigo tan solo recibieron fermento de salvado de trigo (*Triticum aestivum*) y las botellas experimentales (I, II y III), en el primer caso recibieron la combinación de fermento y el jugo de hojas de rábano (*Raphanus sativus*), y en el segundo caso el fermento y el jugo de espinaca (*Spinacia oleracea*). La tasa de siembra en ambos experimentos fue de 200 organismos/botella. Durante el desarrollo de los cultivos se evaluaron: temperatura del agua, oxígeno disuelto, pH, conductividad, alcalinidad y dureza total. Los parámetros ambientales se comportaron de manera similar en ambos experimentos, sin mostrar variaciones drásticas, ni grandes diferencias en sus registros. Las producciones netas obtenidas para la *D. pulex* fueron de: 1 722 organismos/botella en las testigo, 7 997 org/botella en las de rábano (*Raphanus sativus*), y de 8 921 org/botella en las de espinaca (*Spinacia oleracea*). De acuerdo con los datos de producción el análisis de varianza encontró diferencias significativas entre los cultivos (Fisher  $p < 0.005$ ) y estableció que la combinación del fermento enriquecido con el jugo de espinaca (*Spinacia oleracea*) es la mejor alternativa alimenticia para la *Daphnia pulex* en condiciones de laboratorio.

## REFERENCIAS

- Anónimo. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. Washington, 1193 p.
- Conklin, D.E. & L. Provasoli. 1978. Bifasic particulate media for the culture of filter-feeders. Biol. Bull. 154: 47-54.
- Crosetti, D. & E.G. Margaritora. 1987. Distribution and life cycles of cladocerans in temporary

- pools from Central Italy. *Freshwater Biol.* 18:165-175.
- Daniel, W.W. 1985. Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa, México, D.F. 485 p.
- Davis, P. & G.W. Ozburn. 1969. The pH tolerance of *Daphnia pulex* (Leydig, emend., Richard). *Can. J. Zool.* 47: 1173-1175.
- Hall, D.J. 1964. An experimental approach to the dynamics of a natural population of *Daphnia galeata mendotae*. *Ecology* 45: 94-112.
- Hazelwood, D.H. & R.A. Parker. 1961. Population dynamics of some freshwater zooplankton. *Ecology* 42: 266-274.
- Muthu, M.S. 1982. Methods of culturing zooplankton. Manual of research methods for fish and shellfish nutrition. Centre of Advanced Studies in Mariculture, Central Marine Fisheries Research Institute, Cochin, p. 119-125.
- Nita, T. 1982. Work on the growing of food organisms at Sakabumi freshwater aquaculture development center and other freshwater stations in Indonesia. South China Sea Fisheries Development and Coordinating Programme. Manila, Filipinas, p. 155-156.
- Neill, W.E. 1981. Developmental responses of juvenile *Daphnia rosea* to experimental alteration of temperature and natural seston concentration. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1357-1362.
- Olivares, R., M.L. Rojas & R. Sánchez. 1993. Producción de pulga de agua (*Daphnia* sp.) utilizando dos fertilizantes no convencionales, con algunas consideraciones económicas. Resúmenes. XII Congreso Nacional de Zoología. Monterrey, Nuevo León, México, p. 64.
- Osorio, I. & G. De la Lanza. 1990. El uso de biodigestores en acuicultura. La acuicultura en México: de los conceptos a la producción. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. p. 291-309.
- Porras, D. 1982. Aspectos del cultivo rotatorio de *Daphnia* sp. Investigación Acuícola. 1er. Informe de Trabajo. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Secretaría de Pesca y Centro Nacional de Parasitología Animal. México, p. 20-26.
- Reyes, C.P. 1987. Bioestadística aplicada. Trillas, México, D.F. 216 p.
- Soriano, S.M.B. 1995. Utilización de gallinaza en el cultivo de pulga de agua *Daphnia pulex* en estanques de fibra de vidrio. Programa - Resúmenes. XIII Congreso Nacional de Zoología. Morelia, Michoacán, México, p. 118.
- Tech, E. 1982. Culture of zooplankton (*Brachionus* and *Moina*). South China Sea Fisheries Development and Coordinating Programme. Manila, Filipinas, p. 35-58.
- Torrentera, B.L. & A.G.J. Tacon. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. FAO, Documento de Campo No. 12. Programa Cooperativo Gubernamental /Región América Latina /075 /Italia. Brasilia, Brasil. 90 p.
- Vázquez, A., E. Solís, N. Macedo & I. Rosas. 1986. Influencia de la calidad del agua sobre la ocurrencia de *Daphnia pulex* en la presa José Antonio Alzate y algunos aspectos de su pesquería. *Cont. Amb.* 2:39-56.
- Wetzel, R.G. 1983. Limnología. Omega, Barcelona. 679 p.