



00377

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

*Panagrellus redivivus* (Nematoda)  
cultivado en un medio de avena  
enriquecido con *Spirulina sp.*  
para probar el crecimiento de la  
población y calidad nutritiva

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO  
EN CIENCIAS (BIOLOGÍA).

PRESENTA

**Ramón de Lara Andrade**

DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. THALÍA CASTRO BARRERA**

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2005

0350482



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.

# **D**EDICATORIA

**A LA MEMORIA DE MIS PADRES: Mariano y Ma. Irene (Nelly).**

**A MI FAMILIA.**

**A MIS SERES QUERIDOS.**

**A MIS AMIGOS.**

# AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Por sus valiosos comentarios y aportaciones del jurado para el documento final de la presente tesis:

Dra. Thalía Castro Barrera.

Dr. Marcos Rafael Lamothe Argumedo.

Dr. Jose Luís Arredondo Figueroa.

M. en C. Luís García Prieto.

M. en C. Mario Alfredo Fernández Araiza.

A las acertadas observaciones de la Dra. Guadalupe de la Lanza Espino.

A los apoyos de: M. en C. Jorge Castro Mejía, M. en C. Germán Castro Mejía, Ing. en Alimentos Frida Malpica Sánchez, M. en C. Aida Malpica Sánchez, Dr. Horacio Sandoval Trujillo, Dr. Jorge Soriano Santos, y a todas aquellas personas que me brindaron su ayuda.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: LARA DEGRATE

FECHA: 11 Noviembre 2005

FIRMA: [Firma]

# CONTENIDO

	Página
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
Objetivos.	
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>4</b>
Biología de <i>Panagrellus redivivus</i> .	
Clasificación taxonómica.	
Descripción del organismo.	
Ciclo de Vida.	
Habitat.	
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>10</b>
Estudios biológicos.	
Estudios bioquímicos.	
Estudios genéticos.	
Toxicidad-contaminación.	
Estudios agrícolas-control biológico.	
Acuicultura.	
Componentes del medio de cultivo.	
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>26</b>
Crecimiento de la población.	
Recoleta de microgusanos.	
Análisis de aminoácidos y ácidos grasos.	
Determinación de carbohidratos.	
Análisis estadístico de los datos.	
<b>RESULTADOS</b>	<b>31</b>
Crecimiento de la población.	
Contenido de aminoácidos.	
Contenido de ácidos grasos.	
Contenido de carbohidratos.	
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>41</b>
Crecimiento de la población.	
Contenido de aminoácidos.	
Contenido de ácidos grasos.	
Contenido de carbohidratos.	
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>50</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>	<b>51</b>

## RESUMEN.

La importancia del uso de nemátodos de vida libre en el cultivo de peces tropicales, se registra desde 1941 (Kahan y Appel, 1975) que por su facilidad de cultivo y obtención de grandes cantidades de alimento producidas, se han considerado como una opción para la crianza de estadios larvarios de peces y crustáceos comerciales. Los objetivos de éste trabajo fueron: Determinar la calidad nutritiva de *P. redivivus* en un medio de cultivo de hojuelas de avena comercial y en un medio de cultivo de avena enriquecido con *Spirulina sp.* en polvo; Comparar el crecimiento de la población de *P. redivivus* en cada uno de los dos medios de cultivo seleccionados y Evaluar su composición bioquímica principalmente de aminoácidos y ácidos grasos esenciales para peces y crustáceos en cultivo, así como calcular el contenido de carbohidratos.

El cultivo de las poblaciones de *P. redivivus* se realizó por triplicado en condiciones de laboratorio utilizando seis recipientes de plástico de 15 X 15 cm y 2 cm de altura, con 200 g. de avena y 300ml de agua purificada, se esterilizó en horno de microondas durante 5 minutos a la máxima potencia. A tres de los recipientes se les agregó 5g. de *Spirulina sp.* en polvo antes de meterlos al microondas. El experimento tuvo una duración de nueve semanas, cada semana se tomaron muestras de 0.10g de cada recipiente y se contaron los organismos de cada medio de cultivo. Al final de las nueve semanas se recolectó el contenido de cada recipiente y se realizaron las determinaciones para aminoácidos, ácidos grasos esenciales y carbohidratos totales. El tratamiento estadístico al que se sometieron los datos obtenidos fue llevado al cabo con el programa SYSTAT versión 9.0, se determinaron las diferencias entre los distintos tratamientos, utilizando un análisis de varianza unidireccional (ANDEVA).

Los resultados obtenidos muestran que la población que creció en el medio de avena con *Spirulina sp.* tuvo su mayor incremento en la segunda semana de cultivo de 16,706 a 22,288 individuos y posteriormente decreció, y la población cultivada en el medio de la avena sola a la sexta semana llegó a su máximo crecimiento alcanzando de 13,459 a 14,981 individuos. En cuanto a la cantidad de aminoácidos y ácidos grasos fue más amplia y con mayor concentración en las muestras de los nemátodos cultivados en el medio con *Spirulina sp.* El contenido de carbohidratos fue menor en los nemátodos del medio con *Spirulina sp.*

Los resultados se compararon con los de otros autores que han publicado sobre el crecimiento de la población utilizando diferentes medios de cultivo, así como con otros resultados publicados sobre aminoácidos y ácidos grasos en *P. redivivus* y en nauplios de *Artemia sp.*, siendo similares en su calidad nutritiva.

Como conclusión se puede decir que agregar *Spirulina sp.* en polvo al medio de cultivo de avena se acelera el crecimiento de la población de nemátodos y permite obtener un mayor número de individuos en menor tiempo. La calidad de aminoácidos y ácidos grasos es comparable con los que contienen los nauplios de *Artemia sp.* Por lo que *P. redivivus* puede ser un alimento suplementario o complementario para estadios larvarios de especies acuáticas comerciales.

## ABSTRACT.

Documentation of the importance of the use of free living nematodes in the cultivation of tropical fish dates back to 1941 (Kahan and Appel, 1975) in which it is noted that for their ease of cultivation and ability to obtain large quantities of produced food they have been considered as an option in rearing larvae stages of fish and commercial crustaceans.

The objectives of this work were: to determine the nutritious quality of *P. redivivus* in a culture of commercial oat flakes and a culture of oat enriched with powdered *Spirulina sp.*; to compare the growth of the population of *P. redivivus* in each one of the two selected cultivation mediums and to evaluate its biochemical composition particularly of amino acids and essential fatty acids for fish and crustaceans in cultivation, as well as to calculate the content of carbohydrates.

The cultivation of *P. redivivus* was carried out in triplicate under laboratory conditions using six plastic containers measuring 15 X 15 cm and 2 cm of height, with 200 g. of oat and 300ml of purified water, sterilized in a microwave oven for 5 minutes at maximum power. 5g. of powdered *Spirulina sp.* were added to three of the containers before placing them in the microwaves. The experiment took nine weeks. Each week samples of 0.10g were taken from each container and the organisms were counted. At the end of the nine weeks the content of each recipient was collected to determine the levels of amino acids, essential fatty acids and total carbohydrates. The statistical treatment of the data obtained was carried out with SYSTAT version 9.0. The differences were determined among the different treatments, using an analysis of unidirectional variance (ANOVA).

The results show that the population that grew in the medium of oat with *Spirulina sp.* had its greatest increment in the second week of cultivation from 16,706 to 22,288 individuals and later declined. The population cultivated in the medium of oat alone achieved its maximum growth at the sixth week, growing from 13,459 to 14,981 organisms. The amount of amino acids and fatty acids was higher and of greater concentration in the samples of nematodes cultivated in the medium with *Spirulina sp.* The content of carbohydrates was smaller in the nematodes of the medium with *Spirulina sp.*

The results were compared with those of other authors who have published studies on the population's growth using different cultivation mediums, as well as with other results published on amino acids and fatty acids in *P. redivivus* and in nauplii of *Artemia sp.*, being similar in their nutritious quality.

We can conclude that adding powdered *Spirulina sp.* to the oat culture accelerates the nematode population's growth and also results in a larger number of individuals in less time. The quality of amino acids and fatty acids are comparable with those that contain the nauplii of *Artemia sp.* such that *P. redivivus* can be a supplementary or complementary food for larvae stages of commercial aquatic species.

## INTRODUCCIÓN

Los organismos acuáticos en su medio natural tienen a su disposición una gran variedad de especies que les sirven como alimento, el cual varía en su composición y cantidad en el tiempo, motivo por el cual, las especies evolutivamente han desarrollado mecanismos de adaptación en la reproducción, para asegurar a las crías una mayor disponibilidad de alimento para que se continúe con la sobrevivencia de la especie.

Cuando el hombre extrae de su hábitat a los organismos acuáticos para su cultivo, uno de los problemas al que se enfrenta es proporcionar el alimento adecuado tanto en cantidad como en calidad, con el propósito de obtener una producción rentable. En forma empírica, anteriormente se alimentaban a los peces con productos preparados comercialmente para aves y/o cerdos, sin tomar en cuenta si se trataba de especies herbívoras, carnívoras u omnívoras, los niveles de producción en la acuicultura eran bajos debido a la alta mortalidad, principalmente por deficiencias nutritivas. En la actualidad, el avance en el estudio de la nutrición ha permitido desarrollar fórmulas alimenticias específicas, comerciales, ya sea para peces o crustáceos en etapa de reproducción, de crecimiento o engorda y de crianza o alevinaje.

Otra opción que se ha desarrollado para cubrir la dieta de las especies en cultivo, sobretodo para estadios larvarios, es suministrar organismos vivos principalmente planctónicos, ya sea mediante fertilización de estanques o por medio de su cultivo. Diversas especies se han cultivado como: microalgas, rotíferos y el principal crustáceo que mundialmente se utiliza es el anostraco *Artemia sp.*

El uso de nemátodos como alimento para organismos acuáticos tiene como antecedente el trabajo de Kahan y Appel, (1975) en donde se indica que desde 1941, se recomienda el uso de nemátodos de vida libre como alimento para peces tropicales, por su facilidad de cultivo y obtención de grandes cantidades de alimento que pueden ser producidas por los mismos criadores de peces. Los nemátodos se han considerado como una opción para la alimentación de estadios larvarios de especies comerciales de peces y crustáceos, por su tamaño de 250 µm a 2.0 mm, su gran movilidad, tolerancia a grandes variaciones ambientales, alta reproducción, ciclo de vida corto, fácil manejo y bajo costo de producción, (De la Cruz *et al.*, 1989; Rouse *et al.*, 1992; Silva y Rodrigues, 1997; Schlechtriem *et al.*, 2002; y Ricci *et al.*, 2003).

Conforme las investigaciones para utilizar al nemátodo *Panagrellus redivivus* como alimento han ido avanzando, se han realizado análisis bioquímicos para conocer su calidad y comparar cualitativa y cuantitativamente a este organismo con respecto a los nauplios de *Artemia sp.* que se utilizan frecuentemente como punto de referencia, así se tienen registros sobre el contenido de aminoácidos y ácidos grasos esenciales que presentan estos gusanos resultando un alimento idóneo para peces y camarones en cultivo (Biedenbach *et al.*, 1989, Rouse *et al.*, 1992 ). De las conclusiones que se han señalado, se considera a *P. redivivus* como alternativa para la alimentación de especies acuáticas de importancia comercial, principalmente para estadios larvarios de crustáceos, ya sea como complemento de la dieta o en ocasiones como sustituto de los nauplios de *Artemia sp.*, y tomando en cuenta además su producción a menor costo (Wilkenfield *et al.*, 1984; Biedenbach *et al.*, 1989).

En función de lo anterior, este trabajo tuvo como objetivos:

Determinar la calidad de *P. redivivus* en un medio de cultivo de hojuelas de avena comercial y en un medio de cultivo de avena enriquecida con *Spirulina sp* en polvo

Comparar el crecimiento de la población de *P. redivivus*; en cada uno de estos dos medios de cultivo seleccionados y

Evaluar su composición bioquímica principalmente de aminoácidos y ácidos grasos esenciales para peces y crustáceos en cultivo, así como calcular el contenido de carbohidratos.

## MARCO TEÓRICO

BIOLOGÍA DE *Panagrellus redivivus* (Linnaeus.1767) Goodey, 1945.

### CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Por medio del Papyrus Ebers descubierto en 1872 y que data del año 1550 a.C.(De Coninck 1965), se tienen antecedentes de la existencia de nemátodos parásitos como *Ascaris lumbricoides* y *Dracunculus medinensis*. De Coninck (1965) señala que es Bastian en 1865, quien encabeza el estudio de los nemátodos de vida libre describiendo 100 especies nuevas y es en la segunda mitad del siglo XIX, cuando los estudios fueron más frecuentes sobre estos organismos.

El primer nemátodo de vida libre, conocido como anguililla del vinagre , fue descrito en 1656 por Borellus y re-estudiado por Robert Hooke quien descubrió también a la anguililla del engrudo (*Panagrellus redivivus*), según De Coninck, (1965).

Los nombres comunes que recibe el nemátodo objeto de estudio, es el de microgusanos, anguililla, anguililla del engrudo, nemátodo de pasta agria, nemátodo del suelo. Su nombre científico actual y válido es *Panagrellus redivivus* (Linnaeus,1767) descrito por Goodey en 1945.

Nieto (1991)\*, se basó en el trabajo de Thorne (1961), para ubicar taxonómicamente a la especie *Panagrellus redivivus*, y a continuación se presenta.

---

\* Nieto, G.M.C. 1991. El nemátodo *Panagrellus redivivus* como alimento para larvas de camarones y peces. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones Marinas. Universidad de la Habana, Cuba. 66 p.

PHYLLUM:	Nematoda (Cobbs,1919) Potts,1932*.
CLASE:	Secernentea (von Linstow, 1905) Dougherty,1958.
SUBCLASE:	Phasmodia (Chitwood and Chitwood, 1933)
ORDEN:	Rhabditidia (Chitwood,1933)
SUPERFAMILIA:	Rhabditoidea (Orley,1880) Travassos,(1920).
FAMILIA:	Cephalobidae (Chitwood and McIntosh,1934)
GENERO:	<i>Panagrellus</i> (Thorne,1938)
ESPECIE:	<i>P. redivivus</i> (Linnaeus,1767) Goodey, (1945).

\*De Ley, P. y M. Blaxter, (2002).

De acuerdo con Hechler, (1971) *P. redivivus*, tiene como sinónimos a 17 especies:

*Chaos redivivum* Linnaeus, (1767)

*Vibrio anguillula* Muller, (1773).

*Vibrio glutinus* Muller, (1783). (Linnaeus,1767)

*Anguillula rediviva* (Linnaeus,1767) Stiles & Hassall,(1905)

*Turbatrix rediviva* (Linnaeus,1767) Peters, (1927).

*Turbator redivivus* (Linnaeus,1767) Goodey, (1945).

*Gordius glutinus* Oken, (1815).

*Rhabditis glutinus* Dujardin, (1845).

*Leptodera oxophila* Schneider, (1866).

*Cephalobus parasiticus* Sandground, (1939).

*Neocephalus leucocephalus* Steiner (1936).

*Turbator leucocephalus* (Steiner,1936) Goodey, (1943).

*Panagrellus leucocephalus* (Steiner,1936) Goodey, (1945).

*Anguillula silusiae* de Man, (1913).

*Turbatrix silusiae* (de Man, 1913) Peters, (1927).

*Turbator silusuae* (de Man, 1913) Goodey,(1943).

*Panagrellus silusiaae* (de Man, 1913) Goodey, (1945).

## DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS NEMATODOS

La forma del cuerpo que presentan casi todos los integrantes del Phylum Nematoda, y que es su característica distintiva, es su figura corporal cilíndrica, delgada y alargada, los extremos se aguzan gradualmente; presentan una cutícula flexible e inerte que cubre a todo el cuerpo e incluso a la faringe, la parte posterior del aparato digestivo y otras aberturas del cuerpo; carecen de cilios o flagelos para la locomoción. La boca está situada en el extremo anterior que es ligeramente romo, rodeada de seis labios ligeramente separados. El extremo posterior presenta la cloaca que es el único poro que comunica con el exterior y en los machos aloja a las espículas copuladoras que son pareadas, curvas y separadas; en las hembras la cloaca aloja a la vulva; y en los machos, la región posterior esta curvada en forma de gancho como una característica sexual secundaria.

### CARACTERÍSTICAS DE *Panagrellus redivivus*

Las características anatómicas particulares para esta especie, son descritas por Hechler (1970, 1971), el cuerpo de *P. redivivus* está cubierto con una cutícula delgada, estriada de menos de una micra, con cuatro estrías profundas, longitudinales a la mitad del cuerpo y escasas en las papilas cervicales.

La cabeza ligeramente sobresale del cuerpo y contiene seis labios escasamente separados. El *prostomium* está parcialmente rodeado con el collar esofágico. La boca es triangular, atrás del *prostomium*, en donde la pared dorsal es ligeramente protuberante, con una pequeña verruga central, la cual tiene tres dientes angostos en la parte dorsal y dos pares de dientes subventrales. Un tubo circular se extiende desde la boca hasta el ano. En cuanto al tamaño, las hembras son más grandes que los machos, así Hechler (1971), registra para *P. redivivus* la longitud total para cuatro diferentes poblaciones, midiendo en cada una de ellas a distinto número de individuos, el tamaño para los machos fue de 0.705 a 1.806 mm, de longitud total y para las hembras de 1.110 a 2.090 mm,.

El aparato reproductor femenino tiene un saco post-vulvar largo, casi como la mitad de la distancia desde la vulva al ano ó ligeramente mayor, generalmente se observa con esperma. La vulva y el ano tienen aberturas transversales, ligeramente curvadas en la parte anterior. La cola de la hembra tiene una forma cónica alargada. En el caso de los machos, la cola tiene una forma de gancho en donde sobresale el *flagelum*, en la parte final de la cola, existen siete pares de papilas: un par subventral, anterior a la espícula del *manubrium*; un par subventral adanal; un par lateral adanal; dos pares subventrales, entre el ano y el inicio del *flagelum* de la cola; un par subdorsal, atrás del ano y un par suboral anterior a la cola.

Otras estructuras que sirven para clasificar a las diferentes especies del género *Panagrellus* son las espículas, que para la especie *P. redivivus*, además de ser curvas, pareadas y separadas, éstas llegan a engrosarse cerca de la parte distal, son cortas y se bifurcan.

En relación al número de cromosomas sexuales en el macho es de nueve pares y en la hembra son diez pares. La diferenciación de sexos se distingue a partir de la segunda muda de desarrollo. Las hembras de esta especie presentan un útero bastante alargado. Los huevos se producen posterior a la cópula y eclosionan en el útero.



Figura 1. Fotos de Hembra y Macho adultos de *Panagrellus redivivus*.

#### CICLO DE VIDA.

El ciclo reproductivo de *Panagrellus* es corto; son gusanos ovíparos, los huevos se desarrollan en la hembra hasta el estadio joven 2, cuando son expulsados al medio, las larvas incrementan su tamaño 3 veces durante el primer día y de 5 a 6 veces en los tres días siguientes, cuando alcanzan la madurez sexual. Las etapas de desarrollo de *P. redivivus*, basados en su tamaño son las siguientes según González, (2000)\*:

Estadio 1 o Huevo

Estadio 2 0.250-0.350mm.

Estadio 3 0.350-0.550mm.

Estadio 4 0.550-0.750mm.

Estadio 5 o Adulto 0.750-2.00mm.

\* González, C.L.V. 2000. Crecimiento poblacional del nemátodo *Panagrellus redivivus* en diferentes medios de cultivo. Informe final de Servicio Social para obtener el título de licenciatura en Biología. Depto El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México. 27 pp.

Las hembras adultas producen de 1 a 16 crías en cada puesta y su madurez sexual comienza aproximadamente en el cuarto día de haber nacido. La vida de estos organismos es hasta de 16 días (Nieto, 1991).

### *HABITAT*

En el medio natural, *Panagrellus redivivus* se localiza en suelos húmedos y con gran contenido de materia orgánica, así como en medios en proceso de fermentación ácida, y en donde las larvas de *Drosophila sp.* actúan como dispersores de estos gusanos (Hechter, 1971). Diversas especies de *Panagrellus* se han colectado en una gran variedad de habitats como son exudados de árboles, hojas de plantas aciculares y en recipientes de cerveza y sidra fermentadas. A *Panagrellus redivivus* también se le conoce como nemátodo de la pasta o masa fermentada, por ser en las panaderías donde se les encuentra con frecuencia.

## ANTECEDENTES

El microgusano *Panagrellus redivivus* por sus características biológicas de rápido o crecimiento, ciclo de vida corto, alta fecundidad y gran tolerancia a condiciones ambientales cambiantes, así como su fácil manejo, es considerado, a nivel mundial como un buen recurso para la investigación científica en diferentes campos. A continuación se presenta en forma resumida la revisión de las bases de datos ASFA Biological Sciences and Living Resources, Ecology Abstracts, Helminthological Abstracts, Agrindex y Nature, de los años de 1985 a 2003, que dieron como resultado 165 citas en donde se hacen referencias a trabajos utilizando *P. redivivus* en diferentes áreas de estudio.

### ESTUDIOS BIOLÓGICOS

Las fichas bibliográficas sobre los estudios biológicos se encuentran enfocadas principalmente al desarrollo embrionario de *Panagrellus*, así Albertson (1984), registra para *P. redivivus* que los “asters” espermáticos no se detectan por el efecto de tinción del anticuerpo del *tubulin* hasta que el pronúcleo femenino ha emigrado a la parte central del pronúcleo espermático. Los “asters” se incrementan en tamaño y forman el primer huso de segmentación. Sommer y Sternberg (1996), en un estudio sobre la evolución de la vulva de los nemátodos, señalan que los análisis genéticos de una especie, en la cual solamente tres células precursoras vulvares presentaron una mutación identificable que incremento el número de las células precursoras de la vulva parecido a lo encontrado en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* Felix (1999), describe la evolución de los mecanismos del desarrollo embrionario en nemátodos, la reproducibilidad de las células de linaje de nemátodos de vida libre del suelo y la conservación de las células larvales

blastodérmicas de otras especies de nemátodos, que permiten la comparación evolutiva de los mecanismos de desarrollo embrionario de los nemátodos a nivel celular. Otro trabajo sobre este campo es el que publican Cunha *et al.* (1999) sobre el número variable de células en nemátodos. Azevedo-Ricardo, *et al.* (2000) presentan un trabajo en donde comparan a 13 especies de nemátodos de vida libre y demuestran que la epidermis de los adultos de la mayoría de las especies, contienen un número variable de núcleos y que esta variación puede correlacionarse sin duda con un escaso número de núcleos epidermales. Dichos autores señalan que sus descubrimientos sugieren que muchos nemátodos pueden tener tejidos compuestos de un indeterminado número de células formadas de diversos linajes como sucede con otros metazoarios.

Por otra parte, se ha investigado sobre la tolerancia y aclimatación de *P. redivivus* a bajas temperaturas como es el trabajo de Mabbett y Wharton (1986), que a nivel de laboratorio los cultivos de *P. redivivus* los transfieren de 22° a 15°, 10° y 5° C. regresándolos a temperatura normal después de 15 horas. Los autores señalan que estos nemátodos tienen la capacidad de aclimatación a las variaciones de temperatura por un mecanismo que afecta el punto de sobreenfriamiento. El papel que desempeñan los compuestos (alcoholes polihídricos como el sorbitol, ribitol e inositol y algunos azúcares como la trealosa) en el potencial de crioprotección en los nemátodos para tolerar el frío, no es claro y amerita mayores investigaciones.

### ESTUDIOS BIOQUÍMICOS

En este campo destacan en número los trabajos realizados sobre aislamiento y caracterización de péptidos en *P. redivivus* y su comparación con otros nemátodos

como *Ascaris suum* y *Heterodera glycines* y sus efectos fisiológicos (Geary *et al.* 1992, Bowman *et al.* 1994, Davis *et al.* 1994, Franks *et al.* 1994, Maule *et al.* 1994 a; Maule *et al.* 1994b, Bowman *et al.* 1995, Cowden y Stretton 1995, Holden-Dye *et al.* 1995, Marks *et al.* 1995; Maule *et al.* 1995, Maule *et al.* 1996; Masler *et al.* 1997, Masler *et al.* 1999 a; Masler *et al.* 1999b y Fellowes *et al.* 2000). Otros trabajos bioquímicos realizados con péptidos neuroactivos son los de Walker *et al.*, (1995); Keating, *et al.*, (1996) y Huntington *et al.*, (1999), de sus datos obtenidos se sugiere que esa clase de péptidos pueden jugar un papel importante en la fisiología hipodermal de estos nemátodos.

También se han identificado enzimas sintetizadas por *P. redivivus*, como lo señalan en sus estudios Grantham y Barret (1988), Walker *et al.* (1992) y Papadopoulos *et al.* (1996). En cuanto a enzimas metabólicas Grantham y Barret (1986) y Grantham y Barret (1988) presentan el catabolismo de los aminoácidos en dos especies de nemátodos y concluyen que no existen diferencias significativas entre éstos con los mamíferos.

En relación con la ausencia de ácido siálico en *P. redivivus* y *Caenorhabditis elegans*, Reuter *et al.* (1991) y Bacic *et al.* (1990), han determinado la carencia de ésta sustancia y su síntesis a pesar de haber usado técnicas sensibles de diagnóstico.

Sobre estudios inmunocitoquímicos en este microgusano están los trabajos publicados por Graham *et al.* (1994); Smart *et al.* (1995) y Davenport *et al.* (1991).

Otros estudios publicados en el campo bioquímico pero que son muy diversos son: Onwuliri (1984), sobre el efecto de la anaerobiosis y contenido de

ATP en dos especies de nemátodos parásitos y *P. redivivus*; por su parte, Barret y Butterworth (1984) estudian la formación de acetaldehído por las mitocondrias de *P. redivivus*; Jansson *et al.* (1984), inhiben por medio de una enzima la quimiotaxis de *C. elegans* y *P. redivivus*; Bottjer *et al.* (1985), estudian los efectos de un azasteroide en el crecimiento, desarrollo y reproducción de *C. briggsae* y *P. redivivus*; Salt *et al.* (1986) publican por primera vez, la presencia de un esteroide -24- metil-23-dehidrocolesterol- en un organismo no fotosintético; Precious y Barret (1989), presentan la posible ausencia del citocromo P-450 relacionado con el metabolismo xenobiótico en helmintos entre ellos a *Panagrellus redivivus*; Brophy y Barret (1990), informan de las estrategias de detoxificación de productos aldehídicos de la peroxidación de lípidos en helmintos incluido *P. redivivus*; Chitwood y Lusby (1991), señalan el metabolismo de esteroides de plantas por nemátodos. Borgonie *et al.* (1995), realizan una caracterización del intestino de quince especies de nemátodos bacteriófagos, observando diferencias bioquímicas considerables en las células intestinales entre especies de nemátodos, aún tratándose de la misma familia.

### ESTUDIOS GENÉTICOS.

El nemátodo *P. redivivus* ha sido estudiado en este campo por Ager *et al.*, (1984), para conocer el efecto de una dosis total de 50 Gy de rayos X aplicando cantidades desde 0.23 Gy/min a 10.49 Gy/min y determinar la dosis letal en el cromosoma X. Por su parte Denich y Samoiloff (1984), estimaron la variación de mutación inducida en oocitos utilizando radiaciones de rayos gamma, protones y neutrones sobre el cromosoma X. De sus resultados se obtuvo que los rayos gamma son letales en todas las dosis probadas al contrario de las radiaciones de neutrones que no presentaron efectos letales en ninguna de las dosis. Hedgecock

y White (1985), realizan un estudio sobre los tejidos poliploides en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* y lo relacionan con *P. redivivus*. Link *et al.*(1987), aíslan y caracterizan un elemento de transposición en *P.redivivus.*, lo cual consideran como una aproximación para aislar otras transposiciones de nemátodos de otras especies. Una relación moderadamente repetitiva de la familia de ADN en los nemátodos *Ascaris lumbricoides* y *P. silusiae* es el estudio que realizaron Warren y Pasternak (1988), concluyendo que ambas especies comparten homólogos ordenados en secuencia y moderadamente repetitivos la familia de ADN. De Chastonay *et al.*(1990), De Chastonay *et al.* (1992), Goowin y Poulter (2001), han aislado de *P. redivivus* secuencias de nucleótidos transposones y retrosposones. Otros estudios de ADN son los estudiados por Retterath y Pasternak (1990), Von Besser *et al.*(1995) Niemann *et al.* (1996).

### TOXICIDAD-CONTAMINACIÓN

En este campo de estudio, *P. redivivus* cobra gran importancia por el número de publicaciones al respecto. Dentro de la toxicología ambiental destacan los bioensayos en donde ocho países ( Argentina, Canadá, Chile, Colombia, Costa Rica, India, México y Ucrania ) participan en el programa “WaterTox” utilizando diferentes sustancias contaminantes y diversos organismos pero siempre empleando a este nemátodo (Arkhipchuk *et al.* 2000, ; Beauregard y Ridal 2000; Castillo y Schafer, 2000, Diaz-Baez y Perez, 2000; Forget *et al.* 2000; Pica-Granados *et al.*2000, Ronco *et al.*2000). Sobre estudios toxicológicos en el medio acuático con bioensayos de metales pesados, plaguicidas, mezclas orgánicas, sedimentos urbanos y descargas industriales y urbanas, son registrados en las publicaciones de Munawar (1989),. Dutka *et al.* (1994), Cortes *et al.*(1996), Dutka *et al.* (1996), McInnis (1997), Castillo *et al.*(2000,) y Murillo y Diaz (2003). Estudios

relacionados con efluentes de refinerías son los publicados por Sherry *et al.* (1994), y Sherry *et al.* (1997). Los trabajos registrados sobre resonancia magnética son los de Peeling *et al.* (1988) y Taiwo *et al.* (2000) y Otras publicaciones relacionadas con contaminación son señaladas por: Reinhard y Rainer (1994), Hempel *et al.* (1995) y Hood *et al.* (2000).

### ESTUDIOS AGRÍCOLAS

La importancia de *P. redivivus* en el campo agrícola está reflejado en la gran cantidad de estudios que se realizan, donde éste organismo es utilizado principalmente para probar algunas sustancias nematicidas o el efecto de hongos nematófagos que pueden utilizarse como control de nemátodos parásitos de plantas de importancia comercial, así Jansson *et al.* (1984), realizaron un estudio sobre el ciclo de vida del hongo endoparásito nematófago *Meria coniospora*, observando que los conidios se encontraron principalmente en la región bucal de *P. redivivus*. Nair *et al.* (1989), prueban un antibiótico extraído de *Streptomyces griseus* var. *autotrophicus* en donde a una concentración de 100 mg/l causa la mortalidad del 100% a las larvas del mosquito *Aedes aegypti* y de *P. redivivus*. Mullens y Velten (1994), realizan dos trabajos utilizando a *Panagrellus redivivus* como alimento del díptero *Culicoides variipennis*.

*P. redivivus* ha sido utilizado en bioensayos para demostrar el efecto del hongo atrapa nemátodos *Arthrobotrys oligospora* (Dijksterhuis *et al.* 1994; Tunlid *et al.*, 1994; Flores Crespo *et al.*, 1999, Scholler y Rubner., 1999; Gomes *et al.*, 2000a, 2000b; Jansson *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2001), en estos trabajos se demuestra la actividad de este hongo en la capacidad depredadora sobre los

nemátodos, como una posibilidad de ser utilizado como contendiente biológico de nemátodos parásitos.

Lo mismo se presenta con respecto al hongo *Monacrosporium* que no afecta la germinación de las semillas y que puede ser útil como un depredador de nemátodos parásitos como lo señalan en sus publicaciones Gomes *et al.* (1999 c), Gomes *et al.* (1999 d) Ribeiro-Regina *et al.*, (1999), Ribeiro-Regina *et al.* (1999) y Ribeiro-Regina y Ferraz (2000).

Otros estudios registrados de especies de hongos con los mismos fines de lucha contra los nemátodos parásitos utilizando como prueba a ejemplares del género *Panagrellus* son: *Botryozyma nematodophila* que se trata de un típico ascomiceto aislado del nemátodo *Panagrellus* encontrado en las raíces de uvas ( Smith *et al.*,. 1992); con *Bacillus thuringiensis* ( Borgonie *et al.*, 1995); con *Verticillium balanoides* (Atkinson y Duerschner-Pelz, 1995); con *Catenaria anguillulae* (Deacon y Saxena 1997); con *Duddingtonia flagrans* (Flores-Crespo *et al.*, 1999); con *Pleurotus ostreatus* (Xiang-HongQiong *et al.*, 2000); con *Lampteromyces japonicus* (Mo-MingHe *et al.*, 2000) y con *Sclerotinia sclerotiorum* (Li *et al.*, 2001).

La bacteria *Burkholderia cepacia* es aislada para utilizarse contra ocho especies diferentes de nemátodos de la familia Rhabditida de las cuales las poblaciones extinguidas son: *P. redivivus* y *Diploscapter sp.* (Carta Lynn, 2000 ).

Otro tratamiento para inhibir el desarrollo de formas jóvenes de nemátodos es el "ice-nucleating" citado por Lynn y Murphy. (2000), para suprimir a los gusanos parásitos de plantas en lugares donde la temperatura ambiente no llega a

bajar lo suficiente para exterminarlos, con este procedimiento también se logra reducir el uso de productos químicos que pueden deteriorar el ambiente.

## ACUICULTURA

La bibliografía que se ha difundido en este campo de estudio es menos extensa que en los casos anteriores, destacando los trabajos en donde *P. redivivus* puede ser utilizado como alimento vivo sustituto de nauplios de *Artemia sp.* sobre todo tratándose del cultivo de estadios larvarios de camarones del género *Penaeus* (Biedenbach *et al.*, 1989 y Kumlu y Fletcher, 1997). Szewczyk (1993), señala que *P. redivivus* y *Caenorhabditis elegans* se han utilizado como alimento para formas juveniles del camarón *Penaeus plebejus*; por su parte Silva y Rodríguez (1997), establecen a *P. redivivus* como un alimento adecuado para las larvas de *Macrobrachium rosenbergii*.

Para la alimentación de larvas de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon Aristichthys nobilis*) Rottmann *et al.*( *idella*) y la carpa cabezazona (*Hypophthalmichthys nobilis* actualmente conocida como *Aristichthys nobilis*) Rottman *et al.*(1991) compararon el crecimiento utilizando como alimento al rotífero de agua dulce (*Brachionus rubens*), los nauplios de *Artemia sp.* y el nemátodo *P. redivivus* y concluyeron que el rotífero fue el mejor alimento vivo para las larvas de la carpa herbívora, mientras que para las larvas de la carpa cabezazona, el crecimiento fue mejor con *P. redivivus* y los nauplios de *Artemia sp.*, sin haber diferencias importantes entre ellos.

Santiago *et al* (2001) compararon el crecimiento y sobrevivencia de las larvas de la carpa (*Aristichthys nobilis*) y del bagre asiático (*Clarias macrocephalus*)

utilizando como alimento nauplios de *Artemia sp.*, al microgusano *P. redivivus* y a un nemátodo entomopatogénico comercial (EPN); en este estudio se obtuvo que para ambas especies el crecimiento y sobrevivencia de las larvas fue mayor cuando se les alimento con nauplios de *Artemia sp.* que con *P. redivivus*.

Por otra parte, Schlechtriem *et al.* (2001), probaron el crecimiento de larvas de la carpa común (*Cyprinus carpio*) utilizando como alimento a *P. redivivus* cultivado en diferentes medios. Los resultados obtenidos indican que la producción industrial de nemátodos tiene un potencial como alimento vivo para los criaderos de larvas como alimento alternativo de nauplios de *Artemia sp.* y otros tipos de alimento vivo. En este trabajo se destaca la influencia que tiene el medio de cultivo para modificar la calidad de los nemátodos.

Jahangard *et al.* (2001), evaluaron el crecimiento, sobrevivencia y composición de los ácidos grasos en las larvas del pez *Puntius gonionotus* utilizando diferentes especies como alimento vivo. El mayor crecimiento se tuvo en las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia sp.*, en segundo lugar las alimentadas con *Panagrellus redivivus* y el crecimiento fue significativamente menor cuando se suministró *Brachionus calyciflorus* y *Moina macrocopa*. También en este trabajo se menciona la influencia que tiene la calidad del alimento en las larvas cultivadas y que se muestra en su composición nutritiva.

En cuanto al cultivo de *Panagrellus sp.* con diferentes harinas como de trigo, avena y de maíz, Radwin y Rouse (1990), señalan que la harina de trigo resultó significativamente mejor. Sobre el incremento y composición de los ácidos grasos en diferentes medios de cultivo, Rouse *et al.* (1992), demuestran que el valor nutritivo de los nemátodos puede incrementarse dependiendo del medio de cultivo.

El enriquecimiento de *P. redivivus* con aceite de pescado, con ácido eicosapentaenoico y con el ácido docosahexaenoico junto con asthaxantina sintética permiten a este nemátodo convertirse en una buena dieta para el cultivo larvario de *Penaeus indicus* (Kumlu y Fletcher.1997).

Por otra parte, se presenta el estudio sobre los efectos de la salinidad en el crecimiento y reproducción de *P. redivivus*, en donde la salinidad óptima fue de 18 µg/L para su crecimiento (Harpaz *et al.*,2001).

Otra modalidad del uso de *Panagrellus* sp. es la capacidad de ser utilizado como un vehículo para tratamientos terapéuticos (bioencapsulación) como es el caso del antibacterial Romet-30, que se aplica al microgusano, comparando su efecto con el de los nauplios de *Artemia* sp. en las larvas de *Penaeus. stylirostris* (Mohny *et al.*, 1990).

En cuanto al desarrollo tecnológico a bajo costo para la producción masiva de *P. redivivus*, Ricci *et al.* (2003), registraron, después de doce días, a 25°C una producción de  $241 \times 10^3$  y de  $333 \times 10^3$  nemátodos por gramo en los medios de cultivo respectivos, utilizando bolsas de plástico de 50 X 30 cm con 750 g de medio de cultivo: uno a base de avena y otro medio semi sintético con ingredientes purificados (1.64% de peptona, 0.94% extracto de levadura, 12.6% almidón de maíz; 0.24% de glucosa, 1.48% de aceite de girasol, en una solución salina de 0.8%) inoculando inicialmente 350 nemátodos/g de medio.

## COMPONENTES DEL MEDIO DE CULTIVO

El cultivo de *Panagrellus redivivus* se ha realizado utilizando como medio de cultivo a las harinas de cereales, debido a que este tipo de granos ofrece una fuente rica de almidón que se fermenta y permite la proliferación de bacterias y levaduras de las cuales se alimentan los nemátodos. Así se encuentra en la literatura científica el cultivo de estos organismos en harina de maíz, harina de trigo y/o combinaciones entre ellas, (Biedenback *et al* (1989), De la Cruz *et al*, (1989), Radwin y Rouse (1990), Murillo y Diaz (2003); en cultivo con harina de arroz (Nieto 1991); con harina de avena (Sivapalan y Jenkis (1966), Hechler (1970), Schlechtriem, *et al.* (2002), Ricci *et al.* (2003). En todas ellas crecen estos nemátodos.

Para este trabajo se escogió a la avena, después de una selección cualitativa cultivando en el laboratorio a *P. redivivus* con las harinas: arroz, trigo, maíz y avena.

## CARACTERÍSTICAS DE LA AVENA.

Por ser la avena el medio de cultivo seleccionado en este trabajo, a continuación se presentan sus características:

La avena es una planta herbácea anual, perteneciente a la familia de las gramíneas, autógena y con un grado de alogamia que rara vez excede el 0.5%. La mayoría de las avenas cultivadas son hexaploides, siendo la especie *Avena sativa* la más cultivada, seguida de *Avena byzantina*.

(<http://html.rincondelvago.com/avena.html>).

El valor nutricional de la avena es superior al de otros cereales, al ser la avena más rica en aminoácidos esenciales, especialmente en lisina. El contenido en proteínas digeribles del grano de avena es mayor que el del maíz y también tiene una mayor riqueza en materia grasa (el 80 % del total son insaturadas, abundando el ácido graso esencial linoléico omega 6) que la cebada y el trigo. Destaca el contenido de hidratos de carbono, siendo el mayoritario el almidón, pero también contiene pequeñas cantidades de fructosa

([www.consumer.es/web/es/nutricion/aprender\\_a\\_comer\\_bien/complementos\\_dieteticos/2003/04/29/60650.php-60k-6nov2004](http://www.consumer.es/web/es/nutricion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2003/04/29/60650.php-60k-6nov2004)).

#### COMPOSICIÓN DEL GRANO DE AVENA EN 100 g

Hidratos de carbono	58.2—60.0
Agua	13.3
Celulosa	10.3—6.0
Proteínas	10.0—12.0
Materia grasa	4.8—7.1
Minerales	3.1

(fuente:<http://html.rincondelvago.com/avena.html>) y

([www.consumer.es/web/es/nutricion/aprender\\_a\\_comer\\_bien/complementos\\_dieteticos/2003/04/29/60650.php-60k-6nov2004](http://www.consumer.es/web/es/nutricion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2003/04/29/60650.php-60k-6nov2004))

#### ANTECEDENTES DE *Spirulina*

Debido a que *Spirulina sp* fue un constituyente determinante en la experimentación del presente trabajo, se ha considerado pertinente incluir la importancia que tiene este organismo en la acuicultura.

*Spirulina* sp. es un organismo considerado como cianobacteria y anteriormente se le incluía en las microalgas azul-verdes de la división Cyanophyceae. Se trata de una formación microscópica filamentosa colonial de aspecto helicoidal de tamaño entre 200 y 250 micrones de largo. Con una amplia distribución mundial, sobre todo en las aguas salobres de los trópicos.

Las cianófitas están relacionadas con las eubacterias gram negativas por poseer una pared celular de cuatro capas, la capa más característica está constituida por peptidoglucanos que contienen mureína; sin embargo, presentan importantes particularidades que las relacionan con las algas eucariotas, como son la presencia de clorofila y el realizar fotosíntesis aeróbica con desprendimiento de oxígeno. El principal pigmento que contiene *Spirulina* sp. es la clorofila  $\alpha$  y varias ficobiliproteínas como pigmentos accesorios como son  $\beta$ -caroteno, ficocianina, ficoeritrina y aloficocianina. Como sustancias de reserva, *Spirulina* sp. acumula gránulos de carbohidratos y de cianoficina, que es un compuesto de arginina y ácido aspártico (Gallardo, 1997).

*Spirulina* sp prolifera rápidamente en charcas poco profundas con aguas ricas en bicarbonato de sodio con un pH alcalino entre 8.5 y 9.5 unidades. Este organismo se le ha aprovechado en Kenia, Etiopía, Egipto, Zambia, Perú y México.

Las especies de *Spirulina* registradas a nivel mundial son *S. gigantea*, *S. jenneri*, *S. mayor*, *S. maxima*, *S. platensis*, *S. subsalsa*, *S. subtilisima*, *S. tenuis*, (Fogg, et al. 1973) de las cuales se encuentran en México: *S. geitleri*, *S. maxima*, *S. platensis*. *S. mayor* y *S. subsalsa* (Ortega, 1984).

Por sus características nutritivas se le ha utilizado como alimento de diversas especies que van desde crustáceos, insectos y peces hasta el ganado vacuno y porcino sin olvidar al hombre.

La composición bioquímica de esta cianobacteria está registrada en [www.csalud-vcarmen.com/infspiru.htm](http://www.csalud-vcarmen.com/infspiru.htm) y es la siguiente:

Proteínas de 65 a 71%

Glúcidos de 10 a 20%

Grasas 5%

Fibra 2%.

Carbohidratos 24 %.

Minerales: Calcio 1.1 mg.; Fósforo 8.28 mg.; Hierro 5.3 mg.; Magnesio 1.6 mg.; Manganeso 2.2 mg.; Potasio 4.3 mg.; Sodio 3.4. mg.; Zinc 0.3 mg.

Vitaminas: Provitamina A; vitamina B<sub>1</sub> ; vitamina B2; vitamina B6 ; vitamina B12; vitamina E; vitamina H; ácido pantoténico; ácido fólico; inositol; niacina.

Aminoácidos: isoleucina 5.7%; leucina 87; lisina 5.1%; metionina 26%; fenilalanina 5.7%; treonina 5.4%; valina 7.5%; alanina 7.9%; arginina 7.6%; ácido aspártico 9.1%; cistina 12.7%; glicina 4.8%; histidina 1.5%; prolina 4.1%; serina 5.3%; tirosina 4.6%.

Acidos grasos: linoleico 1.325 mg y linolénico 1.065 mg.

Otros componentes: clorofila 600 mg; ARN 3.6%; ADN 0.8 %.

El uso de este organismo como alimento en la acuicultura ha sido limitado debido a su alto costo en el mercado, sin embargo por experiencias de

acuicultores japoneses quienes han señalado los beneficios que se obtienen utilizando *Spirulina sp.* en las dietas para peces se ve la conveniencia de aplicarla.

Los beneficios que *Spirulina sp* ha demostrado en peces son:

- 1) Mejor tasa de crecimiento;
- 2) Aporta calidad y coloración a la carne del pez;
- 3) El nivel de sobrevivencia es mejor;
- 4) Los requerimientos de medicamentos, se reducen.
- 5) Los desechos en los drenajes de los estanques, también se reducen (Henson,1990).

También se ha citado que *Spirulina sp* mejora la conversión de alimento en tres formas: *Spirulina sp* mejora la flora intestinal, lo que hace que desintegre compuestos no digeribles o de difícil digestión que contengan los alimentos; la misma flora bacteriana produce vitaminas y desplaza a bacterias dañinas o peligrosas dentro del intestino del organismo (Tsuchihashi, 1987). *Spirulina sp.* estimula la producción de enzimas que transportan a las grasas por el cuerpo, así el animal puede utilizar la grasa como energía para el crecimiento en lugar de que se acumule y se vuelva flácido (Iwata, 1990).

Para el caso de los crustáceos, *Spirulina sp* se ha utilizado como ingrediente en la formulación de dietas para el camarón *Penaeus japonicus* (Cuzon *et al*, 1981), estos autores concluyen que *Spirulina sp* contribuye positivamente a la dieta del camarón japonés, ya que promueve el crecimiento e induce a una buena coloración del producto debido al contenido de carotenoides que presenta.

Considerando el alto contenido de carotenoides que *Spirulina sp* tiene, también ha sido utilizada para intensificar el color rojo de la carpa de ornato, principalmente por la acción de la zeaxantina la cual permite aumentar el color hasta ocho veces cuando se incorpora en el alimento a *Spirulina sp* y manteniendo a los peces con esta dieta durante 69 días (Matsuno *et al*, 1979).

Otro crustáceo que ha mostrado beneficios al ingerir *Spirulina sp* es *Artemia sp* tanto a nivel de nauplios como en las demás fases de su ciclo de vida, así Person-Le Ruyet, (1976), registró que alimentar a los nauplios de *Artemia sp* con *Spirulina sp* seca permitió acelerar el crecimiento, con lo cual se disminuyó el tiempo de permanencia del cultivo de *Artemia* y por lo mismo el cultivo de peces a los que se les suministra este crustáceo puede hacerse mas rentable. Castro (1993) \*y Castro *et al.*, (1994), realizaron el cultivo de *Artemia* alimentada con *Spirulina* fresca, comparándolo con otros cultivos en donde el alimento fue *Chaetoceros*, *Spirulina* seca en polvo y alimento natural. Estos autores indican que la calidad nutritiva de *Artemia sp* alimentada con *Spirulina* fresca, se incrementa tanto en proteínas, como es algunos aminoácidos y ácidos grasos esenciales para la nutrición de peces y crustáceos comerciales.

---

\* Castro, B. T. 1993. Biología y cultivo de *Artemia franciscana* en el Ex Lago de Texcoco, de Ecatepec, Estado de México. Tesis doctoral. Fac. de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 72 p.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El cultivo de *Panagrellus redivivus* se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Invertebrados para la Nutrición en Acuicultura del Departamento El Hombre y su Ambiente de la Universidad Autónoma Metropolitana. Las determinaciones bioquímicas se llevaron al cabo en el laboratorio de Productos Biológicos del Departamento de Sistemas Biológicos, ambos laboratorios de la Unidad Xochimilco.

Los microgusanos que se utilizaron para iniciar el cultivo se obtuvieron por donación del Acuario de Veracruz, Ver.

### MEDIOS DE CULTIVO

La preparación del medio de cultivo para cada uno de los seis recipientes de plástico de 15 X 15 cm y 2 cm de altura utilizados, fue una mezcla de 200 g. de hojuelas de avena (para consumo humano) y 300 ml de agua purificada. Para evitar que las esporas de hongos proliferaran, los recipientes se esterilizaron en el horno de microondas durante 5 minutos a la máxima potencia. Se dejaron enfriar y se aplicó más agua hasta dejar un medio hidratado. Para la siembra, se pesaron 5 g de microgusanos y se mezclaron homogéneamente con el medio cubriendo los recipientes con una malla de 0.36 mm para evitar contaminación por insectos. Para enriquecer el medio de avena con *Spirulina sp*, se siguió el mismo procedimiento y antes de meter al microondas, se agregó a tres recipientes 5 g de *Spirulina sp*. en polvo, se distribuyó homogéneamente, y se continuó con el resto del proceso. Para el cultivo con avena sola como para el cultivo de avena con *Spirulina sp*, se llevaron al cabo 3 réplicas.

Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente y solo se reponía el agua que se perdía por evaporación. La duración de los cultivos fue de 9 semanas.

### *CRECIMIENTO DE LA POBLACIÓN.*

El crecimiento de la población, se evaluó realizando conteos semanales de una muestra de 0.10 g que se obtuvo colectando aleatoriamente en 10 sitios del recipiente del cultivo.

Los organismos se fijaron con alcohol al 70° y unas gotas solución de lugol, el cuál servía tanto para fijar como para colorear a los organismos y facilitar el conteo. Se utilizo un microscopio estereoscópico Olympus ZX40 con objetivo de 20X. Mediante una pipeta Pasteur, se tomó una muestra y se colocó en un portaobjetos, distribuyéndola a lo largo del mismo a manera de frotis, para evitar que se concentraran los ejemplares en un sitio y de este modo, facilitar su cuantificación mediante un contador manual. Este procedimiento se continuaba hasta terminar de contar toda la muestra de 0.10 g.

### *RECOLECTA DE MICROGUSANOS.*

La última colecta de nemátodos se hizo al finalizar la novena semana del cultivo, con el propósito de obtener la cantidad necesaria para la realización de los análisis químicos. El contenido de cada uno de los recipientes (avena y microgusanos) se lavó lentamente, utilizando tamices con abertura de malla de 1.54, 0.30 y 0.050 mm; el lavado se hizo bajo el chorro del agua. En el tamiz de 0.050 mm se recolectaron los microgusanos eliminando la mayor cantidad de agua y obteniendo una masa de microgusanos con partículas de avena; para eliminar lo

más posible los restos de avena, se hicieron 3 lavados más con agua, en vasos de precipitados de 250 ml para que por decantación y filtración utilizando una tela con una malla de 0.030 mm, se obtuvieran los organismos lo más limpio posible.

Los nemátodos recuperados de cada caja, se colocaron en láminas de aluminio para secarlos en una estufa de temperatura constante a 40° C durante 48h y posteriormente cada recolecta se trituró con la ayuda de un mortero.

### *ANÁLISIS DE AMINOÁCIDOS Y ACIDOS GRASOS.*

Los análisis para estos componentes se realizó en cada uno de los recipientes, y se aplicó el método que correspondiente. para cada determinación.

#### *AMINOACIDOS.*

El análisis de aminoácidos se efectuó en una muestra seca de un gramo de *P. redivivus* proveniente tanto del cultivo con avena, como del cultivo de avena con *Spirulina sp.* de cada una de las tres repeticiones de los dos cultivos. Las determinaciones se hicieron mediante cromatografía de líquidos de alta presión, en resina de intercambio catiónico, diluida con un gradiente de amortiguadores de pH de 3.1 a 5.6 y de 0.2M a 2M de citrato ( Beckman, 1985). El analizador utilizado fue un Beckman System Gold 6300 automático.

## ACIDOS GRASOS

La cuantificación de ácidos grasos se realizó mediante la extracción de lípidos totales con la técnica de Soxhlet (Rubinson y Rubinson, 1998). La muestra obtenida mediante la técnica antes señalada, se sometió a una metanólisis ácida (metanol-tolueno-ácido sulfúrico en proporción de 30:15:1), siguiendo el método descrito por Minnikin et al. (1980).

Los ácidos grasos (ésteres metílicos FAME) fueron inyectados en un cromatógrafo de gas Varian Start 3380 CP con una columna capilar DB-23 de 30 m x 0.53 mm. El gas Helio fue usado como eluyente. La temperatura del inyector fue de 170° C., y la del detector de 300° C. Para la identificación de los ácidos grasos se utilizó un estándar Supelco 37 componente FAME Mix.

## DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS

La cuantificación de los carbohidratos se realizó mediante la técnica del ácido Dinitrosalicílico de acuerdo con Miller, 1959. Se utilizó 0.125 g de muestra liofilizada en 24 h de *P. redivivus* de cada uno de los medios de cultivo. Se usó una liofilizadora Labconco, Freezone 6, con cabezal de 12 puertos y capacidad de 2 a 6 litros. Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro 20 Genesys de Spectronic Unicam.

## *ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.*

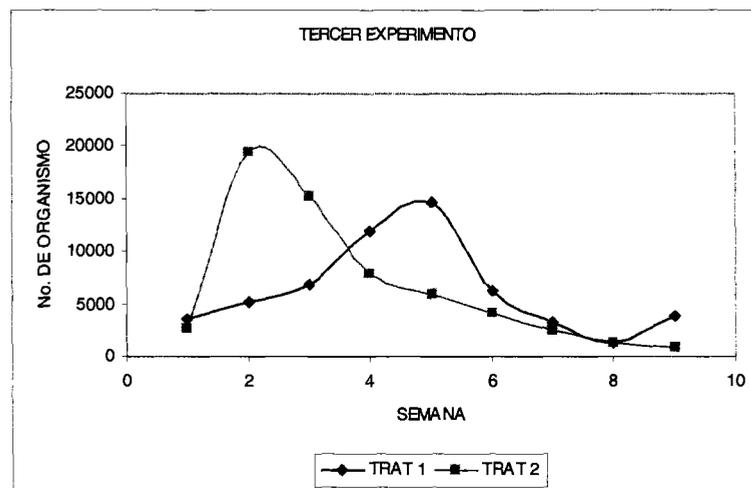
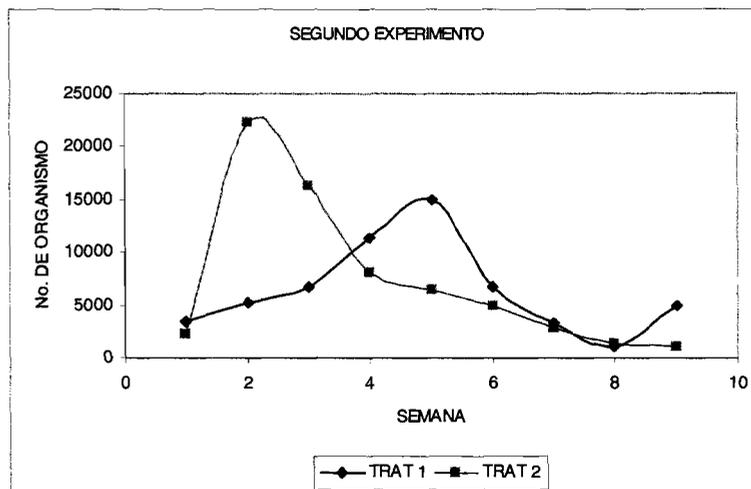
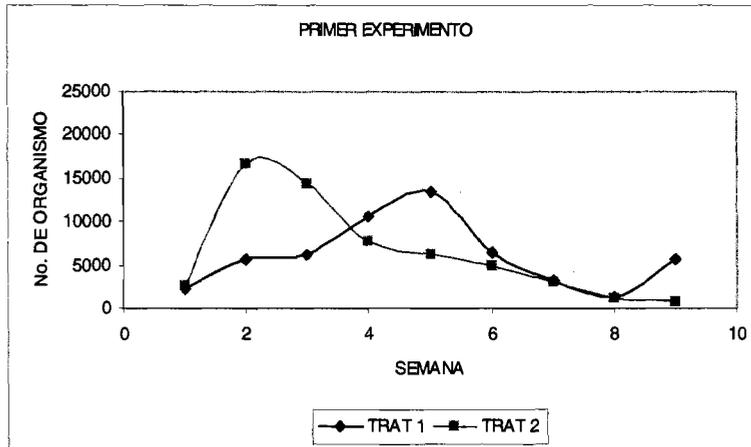
El tratamiento estadístico al que se sometieron los datos obtenidos fue llevado al cabo con el programa estadístico SYSTAT versión 9.0, mediante el cual se realizó la estadística descriptiva que consistió en las determinaciones de: media, desviación estándar, error estándar, intervalo de confianza de la media al 95%, así como determinar las diferencias entre los distintos tratamientos, utilizando un análisis de varianza unidireccional (ANDEVA) (Triola, 2000), con una confiabilidad  $\alpha=0.05$ .

## RESULTADOS

Los datos del crecimiento de la población se presentan en la Tabla 1, en donde se observa el comportamiento en cada una de las repeticiones tanto del cultivo de avena sola, como de avena con *Spirulina* sp.

En las figuras 1, 2, y 3 se presenta el comportamiento del crecimiento de las poblaciones cultivadas durante nueve semanas. Cada figura representa una repetición de cada tratamiento. Se puede apreciar que el crecimiento sigue un patrón similar en cada una de las repeticiones y se observa que el incremento de la población que se cultiva con *Spirulina* sp. es más acelerada y con mayor abundancia de individuos en las primeras dos semanas.

En la Tabla 1 se presentan los datos del crecimiento de los microgusanos, en las tres repeticiones. Los datos están dados en número de individuos. Se puede apreciar que en la segunda semana el número de individuos se incrementó en el medio que contiene la *Spirulina* sp. y en la quinta semana en el cultivo de avena sola es cuando el número de organismos es mayor.



FIGURAS 1, 2 Y 3. CRECIMIENTO POBLACIONAL DE *P. redivivus* EN EL CULTIVO CON AVENA (Tratamiento 1) Y DE AVENA CON *Spirulina maxima*. (tratamiento 2)

**TABLA 1. NÚMERO DE INDIVIDUOS DEL NEMATODO *Panagrellus redivivus* EN LOS EXPERIMENTOS DE CRECIMIENTO EN LOS MEDIOS DE AVENA Y AVENA CON *Spirulina sp.***

*Tratamiento	SEMANAS**								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2207	5651	6167	10636	13459	6450	3210	1374	5648
1	3375	5187	6802	11429	14981	6724	3267	1086	4868
1	3589	5219	6837	11949	14659	6360	3281	1307	3840
2	2687	16706	14372	7836	6300	4856	2967	1231	845
2	2189	22288	16260	8107	6497	4965	2831	1340	997
2	2659	19444	15251	8006	6061	4264	2494	1394	903

\*Tratamiento 1 sin *Spirulina sp.*

\*Tratamiento 2 con *Spirulina sp.*

\*\*Número de individuos/ semana en cada 0.10 g

En la Tabla 2 se presenta el análisis de varianza (ANDEVA) de los datos de crecimiento de la población, durante las nueve semanas que duraron los cultivos. La primera columna se refiere a la suma de cuadrados (SS), la siguiente son los grados de libertad (g. l.), se señala la media de cuadrados (M. S.), la prueba de F (F) y la de probabilidad (P). Estos resultados indican que hay diferencias significativas entre el crecimiento de ambas poblaciones en las semanas 2 a 7 y en la 9.

TABLA 2. ANÁLISIS ANDEVA DEL CRECIMIENTO DE LA POBLACIÓN.

Semanas de muestreo.	SS	g.l.	M.S.	F	P
SEMANA 1	446082.667	1	446082.667	1.413	0.300
SEMANA 2	2.99358E+08	1	2.99358E+08	76.194	0.001
SEMANA 3	1.13335E+08	1	1.13335E+08	219.054	0.000
SEMANA 4	1.68840E+07	1	1.68840E+07	74.059	0.001
SEMANA 5	9.79377E+07	1	9.79377E+07	283.453	0.000
SEMANA 6	4948600.167	1	4948600.167	55.529	0.002
SEMANA 7	358192.667	1	358192.667	11.799	0.026
SEMANA 8	6534.000	1	6534.000	0.441	0.543
SEMANA 9	2.24692E+07	1	2.24692E+07	54.259	0.002

En la Tabla 3 se presenta el promedio de las tres repeticiones del contenido de aminoácidos en *P. redivivus* de ambos medios de cultivo. Se incluyen los datos de la media, la desviación estandar (D. S.) y el error estandar (E. S.). Puede apreciarse que los 16 aminoácidos detectados se registran en los dos medios de cultivo, con un ligero incremento en los ejemplares del medio con *Spirulina sp.*

**TABLA 3. PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE AMINOÁCIDOS (g/100mg DE PESO SECO) POR DIETA.**

Aminoácido	Dieta Avena			Dieta Avena+Spirulina sp		
	Media	D.S.	E.S.	Media	D.S.	E.S.
Aspártico	25.205	27.616	15.944	33.839	28.774	16.613
Trionina	7.524	5.341	3.083	9.112	3.626	2.094
Serina	8.595	6.215	3.588	10.198	5.828	3.365
Glutámico	60.728	71.890	41.506	65.694	48.158	27.804
Glicina	19.306	17.040	9.838	20.499	11.942	6.895
Alanina	30.585	30.156	17.411	30.618	27.886	16.100
Cisteina	1.074	1.860	1.074	1.520	2.633	1.520
Valina	17.597	21.515	12.421	19.457	15.457	8.924
Metionina	0.196	0.339	0.196	4.175	7.038	4.063
Isoleucina	6.298	5.795	3.346	9.530	3.698	2.135
Leucina	14.631	13.152	7.594	17.286	6.942	4.008
Tirosina	1.167	2.021	1.167	1.425	2.468	1.425
Fenilalanina	8.645	5.001	2.887	10.182	2.504	1.446
Histidina	25.785	41.813	24.141	25.203	37.057	21.395
Lisina	7.941	9.077	5.241	11.778	7.777	4.490
Arginina	2.279	3.947	2.279	9.166	4.893	2.825

En la Tabla 4 se presenta el análisis de varianza de la concentración de los 16 aminoácidos registrados para cada medio de cultivo. Éste análisis estadístico incluye la suma de cuadrados (S. S.), los grados de libertad (g. l.), la media de los cuadrados (M. S.), la prueba de F (F) y la de probabilidad (P). Lo que se puede apreciar es que no existen diferencias significativas entre los datos de ambos tratamientos.

**TABLA 4 ANÁLISIS ANDEVA DEL CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS EN *P. redivivus* CULTIVADOS EN AVENA Y AVENA CON *Spirulina sp.***

Aminoácido	SS	g.l.	M.S.	F	P
Aspártico	111.802	1	111.802	0.141	0.727
Trionina	3.781	1	3.781	0.181	0.692
Serina	3.854	1	3.854	0.106	0.761
Glutámico	36.997	1	36.997	0.010	0.926
Glicina	2.135	1	2.135	0.010	0.926
Alanina	0.002	1	0.002	0.000	0.999
Cisterna	0.299	1	0.299	0.058	0.822
Valina	5.191	1	5.191	0.015	0.909
Metionina	23.749	1	23.749	0.957	0.383
Isoleucina	15.672	1	15.672	0.663	0.461
Leucina	10.571	1	10.571	0.096	0.773
Tirosina	0.100	1	0.100	0.020	0.895
Fenilalanina	3.545	1	3.545	0.227	0.659
Histidina	0.508	1	0.508	0.000	0.986
Lisina	22.084	1	22.084	0.309	0.608
Arginina	71.153	1	71.153	3.601	0.131

En la Tabla 5 se presenta el promedio de la concentración de ácidos grasos de las tres replicas de los ejemplares analizados de cada medio de cultivo. Se incluyen los datos de la media, desviación estandar (D. S) y error estandar (E. S.) en cada tratamiento. Es de notarse que no todos los ácidos grasos detectados están presentes en ambos tratamientos, siendo en el cultivo de avena con *Spirulina sp*

donde se obtiene el mayor número de ácidos grasos y también con una concentración superior en la mayoría de los casos.

**TABLA. 5 CONCENTRACIÓN PROMEDIO (%) DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN *P. redivivus* CULTIVADO EN AVENA Y AVENA CON *Spirulina sp.***

ACIDO GRASO	Media	D.S.	E.S.	Media	D.S.	E.S.
	Dieta Avena			Dieta Avena+ <i>Spirulina sp.</i>		
C4:0	0.061	0	0	0.037	6.58545E-10	3.80211E-10
C6:0	0.059	0	0	0.171	0.077	0.044
C8:0	0	0	0	0.013	0	0
C12:1	0.012	0.021	0.012	0.038	0.002	0.001
C13:1	0.237	0	0	1.994	0.798	0.46
C14:0	0.328	0.061	0.035	0.505	0.007	0.004
C14:2	0	0	0	0.016	0	0
C15:0	0	0	0	0.027	0.008	0.004
C15:2	0	0	0	0.092	0.002	0.001
C16:0	18.03	4.331	2.5	19.58	0.283	0.163
C16:1	0.595	0.168	0.097	0.7	0.051	0.029
C16:2	0	0	0	0.017	0	0
C17	0.075	0.015	0.009	0.07	0.001	0
C17:2	0	0	0	0.151	0.022	0.012
C18:3n6	0.11	0.005	0.003	0.127	0.023	0.013
C18:0	2.493	0.076	0.044	2.521	0.126	0.072
C18:1t	3.886	1.163	0.672	33.939	0.573	0.331
C18:2t	25.665	0	0	22.305	0.573	0.331
C18:1c	32.676	0.519	0.3	26.268	0.334	0.193
C19:0	0	0	0	0.032	0	0
C20:0	0.337	0	0	0.28	0.005	0.003
C20:1	2.108	0.017	0.01	1.488	0.131	0.076
C20:2	0.29	0.016	0.009	0.85	0	0
C20:3	1.301	0.0005	0.0003	0.741	0.149	0.086
C20:4	0.816	0.003	0.002	0.7	0.078	0.045
C20:5	0.564	0.096	0.056	1.731	0.122	0.071
C21:1	0.149	2.63418E-09	1.52084E-09	0.581	0.012	0.007
C22:0	0.045	0	0	0.176	0.028	0.016
C22:6	0.089	0	0	0.058	0.006	0.003
C24:0	0.151	0	0	0.15	0.007	0.004
C24:1	0.087	0	0	0.035	0.002	0.001
C27:0	0.083	1.31709E-09	7.60422E-10	0.032	0.002	0.001

En la Tabla 6 se presenta el análisis de varianza de los datos de los ácidos grasos detectados en *P. redivivus* de los medios de cultivos de avena y avena con *Spirulina sp.* El análisis incluye la suma de cuadrados (S. S.), grados de libertad (g. l.), media de cuadrados (M. S.), prueba de F (F) y probabilidad (P). De donde se aprecia que existen diferencias significativas entre las concentraciones de solo los siguientes ácidos grasos: C4:0, C6:0, C16:2, C18:2t, C20:2, C21:1, C22:0, C24:1 y C27:0.

**TABLA 6. ANÁLISIS ANDEVA DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN *P. redivivus* CULTIVADO EN AVENA Y AVENA CON *Spirulina sp.***

Ácido graso	SS	g.l.	M.S.	F	P
C4:0	0.002	1	0.002	7.612	0.028
C6:0	0.024	1	0.024	6.575	0.037
C8:0	0.000	1	0.000	0.467	0.516
C12:1	0.000	1	0.000	0.217	0.656
C13:1	1.765	1	1.765	2.249	0.177
C14:0	0.014	1	0.014	1.571	0.250
C14:2	0.000	1	0.000	0.467	0.516
C15:0	0.000	1	0.000	1.079	0.334
C15:2	0.011	1	0.011	3.624	0.099
C16:0	6.289	1	6.289	0.972	0.357
C16:1	0.012	1	0.12	0.320	0.589
C16:2	0.001	1	0.001	819.292	0.000
C17:0	0.000	1	0.000	0.113	0.747
C17:2	0.011	1	0.011	2.267	0.176
C18:3n6	0.001	1	0.001	0.380	0.557
C18:0	1.205	1	1.205	2.396	0.166

TABLA 6. ANÁLISIS ANDEVA (Continuación...).

Ácido graso	SS	g.l.	M.S.	F	P
C18:1t	198.855	1	198.855	1.145	0.320
C18:2t	6.899	1	6.899	7.624	0.028
C18:1c	39.341	1	39.341	2.748	0.148
C19:0	0.000	1	0.000	0.467	0.516
C20:0	0.005	1	0.005	2.761	0.141
C20:1	0.017	1	0.017	0.047	0.834
C20:2	0.633	1	0.633	116.855	0.000
C20:3	0.042	1	0.042	0.142	0.717
C20:4	0.049	1	0.049	0.424	0.536
C20:5	1.695	1	1.695	4.714	0.066
C21:1	0.213	1	0.213	16.204	0.005
C22:0	0.026	1	0.026	6.910	0.034
C22:6	0.005	1	0.005	2.578	0.152
C24:0	0.001	1	0.001	0.296	0.603
C24:1	0.011	1	0.011	48.407	0.000
C27:0	0.010	1	0.010	53.337	0.000

### CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS

En cuanto al contenido de carbohidratos en *P. redivivus* cultivado en avena sola, se obtuvo una concentración media de 344.68 mg/ml, con una desviación estandar de 47.35, y un error estandar de 23.675. La concentración media para *P. redivivus* cultivado en avena con *Spirulina sp* .fue de 50.0 mg/ml, con una desviación

estandar de 23.89 y un error estandar de 11.94. El análisis de varianza indica que existe diferencia significativa entre el contenido de carbohidratos de los organismos cultivados con avena sola y el contenido de los cultivados en avena con *Spirulina sp.* ( $P \leq 0.001$ ); suma de cuadrados (S.S. = 173681.44); grados de libertad (g.l. = 1); media de cuadrados (M.S.= 173681.44); prueba de F ( $F = 123.49$ ).

## DISCUSIÓN

Con respecto a la revisión bibliográfica realizada, es interesante que organismos del género *Panagrellus*, tengan tan amplia utilidad en los distintos campos del conocimiento tanto en temas básicos (genéticos, embriológicos, bioquímicos) como en los aplicados (toxicidad, contaminación , agricultura) y en el caso particular de la acuicultura, el interés se enfoca principalmente en la alimentación de diversas especies de peces y crustáceos de importancia comercial, sin embargo aún existen diferencias entre autores en cuanto a su posibilidad de incorporarlo en dietas de las especies, debido a que los resultados obtenidos cuando se compara con los nauplios de *Artemia sp* aún no convencen para poderlos sustituir, no obstante que su manejo y producción serían más económicos.

A continuación se presenta la discusión de los resultados obtenidos en el presente trabajo en donde se analiza el crecimiento de la población, contenido de aminoácidos, ácidos grasos y carbohidratos en los cultivos de *P. redivivus* con avena sola y en un medio de avena con *Spirulina sp.*

### CRECIMIENTO DE LA POBLACIÓN.

De los resultados obtenidos se puede apreciar que la población de *P. redivivus* cultivada con avena, alcanza su mayor número en la quinta semana, (de 13 459 a 14 981 organismos en 0.10g).. Por el contrario, en el medio de avena con *Spirulina sp.* el mayor crecimiento de la población se obtiene en la segunda semana de cultivo (de 16 706 a 22 288 organismos en 0.10g) y posteriormente va descendiendo. En este caso, el aplicar *Spirulina sp.* al medio de avena dio como

resultado un crecimiento acelerado de la población, lo cual es importante para cuando se requieren obtener cantidades suficientes de *P. redivivus* para alimentar larvas de peces y/o de crustáceos.

Los trabajos sobre el crecimiento poblacional de *P. redivivus* son escasos, probablemente por la dificultad de su cuantificación. Radwin y Rouse (1990), quienes registran el crecimiento de *P. redivivus* cultivado únicamente con avena, señalan que la máxima producción la alcanzan en la segunda semana y la población llegó hasta la sexta semana. Estos datos no son comparables debido a que los resultados están señalados en mg de nemátodos / 100 cm<sup>2</sup> a diferencia de éste trabajo que representa número de organismos por peso de medio de cultivo. Otro autor, González (2000), cita que el valor máximo de organismos se alcanzó a los 28 días (3 semanas) cuando es cultivado este microgusano con avena.

Ricci *et al* (2003) obtuvieron  $241 \times 10^3$  nemátodos/ g de medio de cultivo a base de avena (16.7 % de harina de avena en 0.8% de solución salina); y  $333 \times 10^3$  organismos en un medio de cultivo con ingredientes purificados (PIM) (1.64% peptona, 0.94% extracto de levadura, 12.6% almidón de maíz, 0.24% de glucosa, 1.48% aceite de girasol en 0.8% de solución salina), estos resultados se obtuvieron en un período de 11 a 13 días (1 y ½ semana aproximadamente) a una temperatura de 25° C. Al hacer una comparación entre los resultados de esos autores con los de este trabajo, se observa que los datos obtenidos fueron menores ( 134,590 a 149,810 individuos por gramo, en el medio de avena sola y de 167,060 a 222,880 individuos por gramo en el medio de avena con *Spirulina sp.*) en comparación con los de Ricci *et al.*, (2003).

Los autores arriba señalados también mencionan en sus resultados 333,000 individuos/gramo en un medio con ingredientes purificados, lo que hace que se incremente la producción a más de 100,000 individuos por gramo de medio de cultivo, que bajo condiciones de laboratorio vigiladas, como son cultivos axénicos, se evita la presencia de competidores y depredadores de los nemátodos como son los hongos y que permite obtener esas producciones más elevadas.

En lo que se refiere al análisis estadístico, se observa que existen diferencias significativas entre los datos del crecimiento de las poblaciones cultivadas con avena sola y avena con *Spirulina sp.*, esto es evidente entre la segunda y sexta semana que duró el cultivo, nuevamente en la novena semana se vuelven a presentar diferencias significativas que corresponde al crecimiento mayor del cultivo de avena sola y la disminución del cultivo con *Spirulina sp.*

Es recomendable el no continuar el cultivo de nemátodos después de la sexta semana ya que el medio se va deteriorando por contaminación de hongos, que hacen que la población de microgusanos disminuya.

#### CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS.

De la información obtenida se puede apreciar que no hay diferencias significativas en la cantidad de aminoácidos de los medios de cultivo de avena y avena con *Spirulina sp.* Es importante señalar que en ambos cultivos, están presentes los aminoácidos esenciales (treonina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina e histidina) faltando el triptófano que por el método empleado no considera su registro. Como puede observarse en la Tabla 7, están presentes los

amino ácidos requeridos por los peces y crustáceos, tanto si se trata del nemátodo cultivado en avena sola, como cuando es combinado con *Spirulina sp.* las excepciones son la metionina, tirosina y arginina que el contenido en *Panagrellus redivivus* que crece en avena sola, están ligeramente por debajo de los requerimientos de los peces y crustáceos, sin embargo, cuando se le adiciona al cultivo *Spirulina sp.* el incremento de estos aminoácidos es superior.

**TABLA 7. REQUERIMIENTOS DE AMINOÁCIDOS EN PECES Y CRUSTÁCEOS Y SU COMPARACIÓN CON EL CONTENIDO EN *P. redivivus* CULTIVADO EN AVENA (1) Y AVENA CON *Spirulina sp.* (2) (FUENTE: Castro, 1993\*).**

Aminoácido	Peces	Crustáceos	<i>Panagrellus</i> 1	<i>Panagrellus</i> 2
Aspártico			25.2	33.83
Trionina	1.77	1.85	7.52	9.11
Serina			8.59	10.19
Glutámico			60.72	65.69
Glicina			19.3	20.49
Alanina			30.58	30.61
Cisteina	0.38	0.52	1.07	1.52
Valina	1.83	1.62	17.59	19.45
Metionina	1.06	1.04	0.19	4.17
Isoleucina	1.54	1.31	6.29	9.53
Leucina	2.81	2.69	14.63	17.28
Tirosina	1.27	1.5	1.16	1.42
Fenilalanina	1.6	1.48	8.64	10.18
Histidina	1	0.85	25.78	25.2
Lisina	3.25	2.83	7.94	11.77
Arginina	2.37	2.98	2.27	9.16

Comparando el contenido de aminoácidos de *Artemia sp* con los obtenidos en *P. redivivus* de este trabajo, se puede apreciar en la Tabla 8 que las concentraciones en el microgusano son mayores que los señalados para *Artemia sp* aún cuando ésta sea alimentada con *Spirulina sp.*.

\* Castro, B. T. 1993. Biología y cultivo de *Artemia franciscana* en el Ex Lago de Texcoco, de Ecatepec, Estado de México. Tesis doctoral. Fac. De Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.72.

**TABLA 8. CONTENIDO (%) DE AMINOÁCIDOS EN *Artemia* sp. Y EN *P. redivivus* CULTIVADO EN AVENA (1) Y EN AVENA CON *Spirulina* sp. (2) (g de aminoácidos/ 100 g de proteína.)**

<b>Aminoácido</b>	<b><i>Artemia</i> 1</b>	<b><i>Panagrellus</i> 1</b>	<b><i>Panagrellus</i> 2</b>
Aspártico	N.R	11.887	10.386
Trionina	0.979	3.2	3.1
Serina	N.R.	3.582	3.541
Glutámico	N.R.	23.077	25.025
Glicina	N.R.	7.2	7.955
Alanina	N.R	10.755	12.603
Cisteína	0.078	0.533	0.442
Valina	0.578	6.834	7.25
Metionina	0.64	1.466	0.08
Isoleucina	1.339	3.347	2.595
Leucina	1.377	6.072	6.029
Tirosina	0.9	0.5	0.48
Fenilalanina	1	3.576	3.562
Histidina	0.76	8.853	10.625
Lisina	1.466	4.137	3.272
Arginina	1.579	3.219	0.939

\*Castro, 1993.

Es relevante hacer notar la presencia de los ácidos aspártico, y la alanina que si bien no están considerados como esenciales, son necesarios en procesos metabólicos vitales para todos los animales. El ácido aspártico es precursor metabólico de otros aminoácidos como la lisina, treonina, metionina e isoleucina, (Lehninger, 1975) de los cuales algunos son esenciales como ya han sido señalados., de ahí que su presencia deba de considerarse.

El ácido glutámico también es esencial para los animales ya que participa activamente en reacciones de transaminación conectándose con importantes esquemas metabólicos como es el ciclo de Krebs. La alanina por su parte es el precursor metabólico del ácido pantoténico (vitamina del complejo B) y su función bioquímica radica en su participación en la estructura de la coenzima A (Lehninger, 1975). La presencia de estos aminoácidos en *P. redivivus* cultivado tanto en avena

sola como en avena con *Spirulina sp.*, es importante ya que en ambos casos sus concentraciones son de las más elevadas con respecto a las concentraciones de los otros aminoácidos (Tabla 3), por lo que éste nemátodo es recomendable como fuente de alimento para los peces y crustáceos.

### CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS.

Es importante resaltar que el perfil de ácidos grasos que presenta *P. redivivus* es amplio y lo más interesante es el registro de los ácidos grasos esenciales como son el araquidónico (20:4), que es un precursor de las prostaglandinas y norma la acción de varias hormonas; y el ácido linoleico (18:2) que es un precursor del anterior. Otros ácidos esenciales como el linolénico (18:3) y el eicosapentanoico (20:5), también están presentes en las muestras procesadas y han sido citados en otros trabajos relacionados con la calidad de *Artemia franciscana*. (Castro, 1993).

En la Tabla 9 se hace la comparación de los datos de los ácidos grasos esenciales linoleico, linolénico y araquidónico obtenidos en *P. redivivus* cultivado en avena y avena con *Spirulina sp.*, con los publicados por Biedenbach *et al.*, (1989) y Rouse, *et al.* (1992) y se observa que el ácido linolénico se encuentra en mayor porcentaje en los resultados obtenidos en este trabajo, y el linoleico es mayor en el cultivo de avena con *Spirulina sp.*. En el caso del ácido araquidónico son mayores en los estudios de Rouse *et al.* (1992), y si bien están registrados en este trabajo, su porcentaje es reducido, sin embargo no es trascendente ya que el ácido linoleico es su precursor, lo cual permite que pueda ser sintetizado por el animal que se alimente de los nemátodos. Es el mismo caso del ácido eicosapentanoico y del docosahexanoico en donde el linoleico es su precursor.

**TABLA 9. COMPARACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES REPORTADOS EN *Panagrellus redivivus*. (DATOS EN %).**

Ac, Graso	Biedenbach et al (1989)	Rouse, et al (1992)	Cultivo de avena	Avena con <i>Spirulina sp.</i>
18:2 (n-6)	3.969	28.55	28.43	19.32
18:3 (n-3)	3.031	5.06	0.121	14.65
20:4 (n-6)	1.504	6.40	0.904	0.06
20:5 (n-3)	7.219	4.58	0.624	1.49
22:6 (n-3)	0.195	0.15	0.098	0.05
Ac, grasos totales	15 registrados y 25.6% no identificados.	22 registrados	25 registrados	32 registrados

Por otra parte, es notoria la variación en el número de registros de ácidos grasos registrados en cada estudio señalados en la Tabla 9, esto se debe a que el porcentaje de concentración de cada ácido graso es mayor o menor, dependiendo del total de las determinaciones realizadas. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que el total de ácidos grasos identificados en *P. redivivus* alimentado con avena y *Spirulina sp.*, es mayor, por lo que las concentraciones de cada uno de ellos son menores. Es de resaltar que la aplicación de *Spirulina sp.* amplió el perfil de ácidos grasos.

Mediante el análisis estadístico de las muestras, se aprecia que existen diferencias significativas, con 95% de confianza, en el valor promedio de cada ácido graso ( $\mu$ ) registrado en *Panagrellus redivivus* cultivado en avena sola, y en cultivado con avena y *Spirulina sp.*. Esta diferencia es evidente en las cadenas

hidrocarbonadas de los ácidos grasos: C4:0, C6:0, C12:1, C13:1, C14:1, C15:0, C15:2, C16:0, C16:2, C17:2, C18:0, C18:1t, C18:2t, C18:1c, C20:0, C20:2, C20:5, C21:1, C22:0, C24:1 y C27:0, que incluyen al araquidónico, linoleico. y eicosapentanoico, que como ya se ha señalado son esenciales. Sin embargo, no existen diferencias en el contenido de los siguientes ácidos: C16:1, C17:0, C18:3n3, C18:3n6, C20:1, C20:3, C20:4, C22:6 y C24:0 cuando se agrega *Spirulina sp.*, al medio de avena y resalta el linolénico (C18:3n3) como ácido esencial.

#### CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS.

El análisis de carbohidratos fue difícil debido a que el medio de cultivo de avena interfiere en las determinaciones ya que aun cuando se trate de limpiar las muestras de los microgusanos, siempre quedan algunos residuos de avena que ocultan los datos reales de estos compuestos.

Al comparar los resultados de carbohidratos obtenidos en los dos cultivos, se observó que la cantidad de estos compuestos es mayor en *P. redivivus* alimentado en avena sola, que con avena y *Spirulina sp.* Una explicación a estas diferencias puede ser que microorganismos que se desarrollan en el medio con *Spirulina sp.* y que sirven de alimento a *P. redivivus*, son más abundantes que los que estarían en el cultivo de avena sola. Esta abundancia de microorganismos se puede demostrar en el crecimiento acelerado de *P. redivivus* en las dos primeras semanas.

Al comparar los datos obtenidos de carbohidratos totales en *P. redivivus*, (34.4%) cultivado en avena sola, con los registrados en Biedenbach *et al.*, (1989) (31.3%), con el mismo medio, se observa que son similares. Por otra parte, si se comparan los carbohidratos de *P. redivivus* con los que contiene *Artemia sp.* según Biedenbach *et a.* (1989) (17.7±0.6 %) y los registrados por Castro (1993) (21.16% alimentada con *Spirulina sp.* fresca, 60.70% alimentada con salvado de arroz) se puede decir que el contenido de carbohidratos en *P. redivivus* es mayor (34.4%)

Considerando el análisis bioquímico sobre el contenido de aminoácidos, ácidos grasos y carbohidratos, se puede recomendar el uso del nemátodo *Panagrellus redivivus* como alimento de estadios larvarios de peces y crustáceos así también de peces de ornato ya sea en organismos adultos o estadios larvarios y formas jóvenes dependiendo de las especies. *P. redivivus* es una opción ya sea complementaria o suplementaria de dietas en donde los nauplios de *Artemia sp.* son utilizados.

## CONCLUSIONES

El crecimiento de *Panagrellus redivivus* cultivado en avena con *Spirulina sp.* presenta un crecimiento mayor y más acelerado que cultivado con avena sola.

El perfil de aminoácidos y ácidos grasos de *Panagrellus redivivus* cultivado en avena con *Spirulina sp.* es más amplio.

La cantidad de carbohidratos totales fue menor en *Panagrellus redivivus* cultivado en avena con *Spirulina sp.* que en avena sola.

El cultivo de *Panagrellus redivivus* no debe prolongarse por más de seis semanas debido a que fácilmente se contamina con hongos y otros microorganismos.

## RECOMENDACIONES

El cultivo de *Panagrellus redivivus* no debe de prolongarse por más de seis semanas debido a que fácilmente se contamina con hongos y otros organismos.

Investigar nuevas técnicas para evaluar el crecimiento de la población de *Panagrellus redivivus* en cultivo.

Trabajar en métodos que permitan una mejor separación de los organismos con partículas del medio de cultivo para poder evaluar el contenido de carbohidratos con mayor precisión.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ager, D., M.R.Samoiloff, A.Petkau. 1984. Effect of dose-rate on the frequency of X-linked lethal mutation in the nematode *Panagrellus redivivus*. *Mutation Research*. 140(2-3): 107-10.
- Albertson, D.G. 1984. Formation of the first cleavage spindle in nematode embryos. *Developmental Biology*. 101(1):61-72.
- Arkhipchuk, V.V., V.D. Romanenko, M.V. Malinovskaya, L.S. Kipnis, V.D. Solomatina, G. Krot Yu. 2000. Toxicity assessment of wather samples with a set of animal and plant bioassays: Experience of the Ukrainian participation in the WatherTox program. *Environmental Toxicology*. 15(4):227-286.
- Atkinson, H. J., U. Duerschner-Pelz. 1995. Spore transmission and epidemiology of *Verticillium balanoides*, an endozoic fungal parasite of nematodes in soil. *Journal of Invertebrate Pathology*. 65(3):237-242.
- Azevedo-Ricardo, B.R. , A. Cunha, W. Emmons-Scott, M. Leroi-Armand. 2000. The demise of the planctonic worm. *Nematology* 2(1): 71-79.
- Bacic, A., I. Kahane B.M. Zuckerman. 1990. *Panagrellus redivivus* and *Caenorhabditis elegans* : evidence for the absence of sialic acids. *Experimental Parasitology*. 72 (4) :483-8.

- Barret, J., y P. E. Butterworth. 1984. Acetaldehyde formation by mitochondria from the free-living nematode *Panagrellus redivivus*. *Biochemical Journal*. 221(2) : 535-40.
- Beauregard, T. y J. Ridal. 2000 Evaluation of six simple biossays for the determination of drinking water quality: Canadian results. *Environmental Toxicology*. 15 (4):304-311.
- Beckman. 1985. The system 6300 series high performance amino-acids analyzer. Instruction manual. Spinco Division of Beckman, Division Instrument. Palo Alto, California.
- Biedenbach, J.M.: L.L. Smith, T.K. Thomsen y A.L. Lawrence. 1989. Use of the nematode *Panagrellus redivivus* as an *Artemia* replacement in larval penaeid diet. *Journal of the World Aquaculture Society* 20 (2):61-71.
- Borgonie, G., R. Van Driessche, F. Leyns, G. Arnaut, D. De Waele y A. Coomans. 1995. Germination of *Bacillus thuringiensis* spores in bacteriophagous nematodes ( Nematoda: Rhabditida). *Journal of Invertebrate Pathology*. 65(1):61-67.
- Bottjer, K. P., P. P. Weinstein, M.J. Thompson. 1985. Effects of an azasteroid on growth, development and reproduction of the free-living nematodes *Caenorhabditis briggsae* and *Panagrellus redivivus*. *Comparative Biochemistry & Physiology-B: Comparative Biochemistry*. 82(1):99-106.

- Bowman, J.R., C.A. Winterrowd, A.R. Friedman, D.P. Thompson, R.D. Klein, J. P. Davis, A.G. Maule, K.L. Blair, T.G. Geary. 1995. Nitric oxide mediates the inhibitory effects of SDPNFLRFamide, a nematode FMRFamide-related neuropeptide, in *Ascaris suum*. *Journal of Neurophysiology* 74(5): 1880-8.
- Bowman, J.R., C. A. Winterrowd, A.R. Friedman, D. P. Thompson, R.D. Klein, J.P. Davis, Bowman, J.W., D.P. Thompson, A.R. Friedman, C.A. Winterrowd, A.K. Ichpurani, K. L. Blair, T.G. Geary. 1994. Neuromuscular effects of nematode FmRFamide-like peptides in *Ascaris suum*. *Society for Neuroscience Abstracts*. 20 (1-2). 1353.
- Brophy P.M. y J. Barrett. 1990. Strategies for detoxification of aldehydic products of lipid peroxidation in helminths. *Molecular & Biochemical Parasitology*. 42(2) : 205-11.
- Carta Lynn, K. 2000. Bacterial-feeding nematode growth and preference for biocontrol isolates of the bacterium *Burkholderia cepacia*. *Journal of Nematology*. 32(4):362-369.
- Castillo, G., L. Schaefer. 2000. Evaluation of a bioassay for water toxicity testing: A Chilean experience. *Environmental Toxicology* 15(4): 331-337.
- Castro, B.T., De Lara, A.R. y Castro, M.J. 1994. *Artemia franciscana* Alimentada con *Spirulina* fresca, como Dieta de Especies Acuáticas Comerciales. *Revista Hidrobiológica*. Vol. 4 (1-2): 15-20.

- Chitwood, D.J., Lusby, W.R. 1991. Metabolism of plant sterols nematodes. *Lipids* 26 (8): 619-627.
- Cortes, G., A. Mendoza, D. Muños. 1996. Toxicity evaluation using bioassays in rural developing district 063 Hidalgo, Mexico. *Environmental Toxicology & Water Quality*.11(2):137-143.
- Cowden,C., Stretton, A.O. 1995. Eight novel FMRFamide-like neuropeptides isolated from the nematode *Ascaris suum*. *Peptides*.16(3):491-500.
- Cunha, A., B. R. Azevedo-Ricardo, W.Emmons-Scott, M. Leroi-Armand. 1999. Variable cell number in nematodes. *Nature-London*. 402 (6759): 253.
- Cuzon, G., R. Dos-Santos, M. Hew y G. Poullaouac. 1981. Use of Spirulina in *Srimp (Penaeus japonicus)* diet. *J. World Maricul. Soc.* 12(2):282-291.
- Davenport, T.R., R.E. Isaac, D. L. Lee. 1991. The presence of peptides related to the adipokinetic hormone/red pigment concentrating hormone family in the nematode, *Panagrellus redivivus*. *General & Comparative Endocrinology*. 81 (3):419-25.
- Davis, J. P., J.W. Bowman., T. G. Geary, A.R. Friedman, M. J. Larsen, D. E. Lowery, D.P. Thompson. 1994. Binding of the nematode FMRFamide-like neuropeptide, SDPNFLRFamide, to *Panagrellus redivivus* membranes. *Society for Neuroscience Abstracts*. 20(1-2) 1352.

- De Chastonay, Y. H., Felder., C. Link, P., Aeby, .H.,Tobler, F. Muller. 1992. Unusual features of the retroid element PAT from the nematode *Panagrellus redivivus*. Nucleic Acids Research. 20 (7): 1623-8.
- De Chastonay, Y., F. Muller, H. Tobler. 1990. Two higly reiterated nucleotide sequences in the low C-value genome of *Pangrellus redivivus*. Gene. 93 (2): 199-204.
- De Chastonay, Y., H. Felder, C. Link, P. Aeby, H.Tobler. y F. Muller. 1992. Nucleotide sequence of PAT, a retroid element with unusual DR organization, isolated from *Panagrellus redivivus*. DNA Sequence 3 (4): 251-5.
- De Coninck, L. 1965. Systématique des Nématodes . en Traité de Zoologie. Anatomie, systématique, biologie. Némathelminthes. Grassé, P.P. ( Directeur). Masson et Cie Éditeurs. Paris (VI). Tome IV deuxième fascicule.721 pp.
- De la Cruz, S. A., C. D.; Cabrales, y L. Fernández. 1989. El cultivo de nemátodos como alimento para larvas de camarón. Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de la Habana. Cuba. Boletín ( 1): 1- 12.
- De Ley, P. y M. Blaxter. 2002. Systematic Position and Phylogeny. En: The Biology of Nematodes.. Lee. L. D.(Ed.). First Publication. Ed. Taylor and Francis. London.

- Deacon, J. W., Saxena, G. 1997. Orientated zoospore attachment and cyst germination in *Catenaria anguillulae*, a facultative endoparasite of nematodes. *Mycological Research* 101(5): 513-522.
- Denich, K.T., M.R. Samoiloff. 1984. Estimation of mutation rates induced by large doses of gamma, proton and neutron irradiation of the X-chromosome of the nematode *Panagrellus redivivus*. *Mutation Research*. 140( 2-3): 103-6.
- Díaz-Baes, M. C., J. B. Pérez. 2000. Intralaboratory experience with a battery of bioassays: Colombia experience. *Environmental Toxicology*. 15(4):297-303.
- Dijksterhuis, J., K.A. Sjollema. M. Veenhuis, W. Harder. 1994. Competitive interactions between two nematophagous fungi during infection and digestion of the nematode *Panagrellus redivivus*. *Mycological Research*. 98(12):1458-1462.
- Dong-JY, Zhang-KQ, Liu-MH. 2000. *Lampteromyces japonicus*, a new Chinese record of nemetotoxin-producing fungi. *Mycosystema*. 19: 4, 529-533.
- Dutka, B. J., J. Marsalek. A. Jurkovic., K.K. Kwan, R. McInnis. 1994. Ecotoxicological study of stormwater ponds under winter conditions. *Zeitschrift Fuer Angewandte Zoologie*. 80(1):25-41.

- Dutka, B. J., R. McInnis, A. Jurkovic., D. Liu, G. Castillo. 1996. Water and sediment ecotoxicity studies in Temuco and Rapel River Basin, Chile. *Environmental Toxicology & Water Quality*. 11(3):237-247.
- Felix, M.A.1999. Evolution of developmental mechanisms in nematodes. *Journal of Experimental Zoology*. 285 (1):3-18.
- Fellowes, R. A., A. G. Maule, N. J .Marks, T.G. Geary, D.P. Thompson, D.W. Halton. 2000. Nematode neuropeptide modulation of the vagina vera of *Ascaris suum*: In vitro effects of PF1, PF2, PF4, AF3, and AF4. *Parasitology* 120(1): 79-89.
- Flores-Crespo, J., D. Herrera-Rodríguez., V., Vazquez-Prats, R., Flores\_Crespo, E. Liebano-Hernández, P. Mendoza de Gives. 1999. In vitro predatory activity of 8 fungal isolates against the nematode *Panagrellus redivivus*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 41(4):239-44.
- Forget, G., P.Gagnon, W.A. Sanchez, B.J.Dutka. 2000. Overview of methods and results of the eighth country International Development Research Centre (IDRC) WaterTox project. *Environmental Toxicology*.15(4):264-276.
- Franks, C.J., L. Holden-Dye., R.G.Williams, F.Y.Pang, R.J. Walker. 1994. A nematode FMRFamide-like peptide, SDPNFLRFamide (PF1), relaxes the dorsal muscle strip preparation of *Ascaris suum*. *Parasitology*, 108(Pt 2):229-36.

- Gallardo, T. 1997. Las algas. Cap.8. de Botánica. Izco. S., J y col.. Ed. McGraw-Hill-Interamericana de España. 195 y 196 p.p.
- Geary, T. G., D.A. Price, J.W. Bowman., C.A. Winterrowd, C.D. Mackenzie, R.D. Garrison, J.F. Williams, A.R. Friedman. 1992. Two FMRFamide-like peptides from the free-living nematode *Panagrellus redivivus*. Peptides 13(2):209-14.
- Gomes, A.P., J.V. Araujo, R.C. Ribeiro. 1999. Differential in vitro pathogenicity of the genus *Monacrosporium* for phytonematodes, free-living nematodes and parasitic nematodes of cattle. Brazilian Journal of Medical & Biological Research. 32(1):79-83.
- Gomes, A.P.S, M.L.Ramos., R.S. Vasconcellos., J.R. Jensen., M.C.R., Vieira-Bressan., J.V. Araujo. 2000. In vitro activity of Brazilian strains of the predatory fungi *Arthrobotrys* spp. on free-living nematodes and infective larvae of *Haemonchus placei*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 95(6):873-876.
- Gomes, A.P.S., R.S. Vasconcellos., M.L. Ramos, M.P. Guimaraes, A.P. Yatsuda, M.C.R. Vieira-Bressan. 2001. In vitro interaction of brazilian strains of the nematode-trapping fungi *Arthrobotrys* spp. on *Panagrellus* sp , and *Copperia punctata*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 96(6): 861-864.
- Goodwin, T. J.D, R.T.M, Poulter. 2001. The DIRS1 group of retrotransposons. Molecular Biology and Evolution. 18(11): 2067-2082.

- Graham, R. S., R. N. Perry, D. J. Wright. 1994. Immunocytochemical studies on the occurrence of gamma-aminobutyric acid in the nervous system of the nematodes *Panagrellus redivivus*, *Meloidogyne incognita* and *Globodera rostochiensis*. *Fundamental & Applied Nematology*. 17(5): 433-439.
- Grantham, B .D. y J. Barret. 1986. Amino acid catabolism in the nematodes *Heligmosomoides polygyrus* and *Panagrellus redivivus*. 2. Metabolism of the carbon skeleton. *Parasitology*. 93 ( Pt 3 ):495-504.
- Grantham, B.D. y J. Barret. 1988. Glutamina and asparagine síntesis in the nematodos *Heligmosomoides polygyrus* and *Pangrellus redivivus*, *Journal of Parasitology*. 74 (6):1052-3.
- Harpaz, S., I. Glazer, and V. Goffman. 2002. Effects of salinity and initial inoculum level on growth rate and reproduction of *Panagrellus redivivus* utilized as live feed for larval fish. *Journal of Applied Ichthyology*. Vol. 9 (4):239-243.
- Hechler, H. C. 1970. Reproduction, cromosome number, and postembryonic development of *Pangrellus redivivus* ( Nematoda: Cephalobidae ). *Journal of Nematology*. 2 (4):355-361.
- Hechler, H. C. 1971. Taxonomic notes on four species of *Panagrellus* Thorne (Nematoda: Cephalobidae). *Journal of Nematology*. 3(3): 227-237.

- Hedgecock, E.M., J.G. White. 1985. Polyploid tissues in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology*. 107 (1): 128-33.
- Hempel, M., Y. K. Chau, B. J. Dutka, R. Mc Innis, K. K. Kwan, D. Liu. 1995. Toxicity of organomercury compounds: bioassay results as a basis for risk assessment. *Analyst*. 120(3):721-4.
- Henson, H. R. 1990. Spirulina algae improves japanese fish feeds. *Aquaculture Magazine*. Nov-Dec.38-43 pp.
- Holden-Dye, L., Franks C.J., Williams, R.G., Walker, R. J. 1995. The effect of the nematode peptides SDPNFLRFamide (PF1) and SADPNFLRFamide (PF2) on synaptic transmission in the parasitic nematode *Ascaris suum*. *Parasitology* 110 (pt4): 449-455.
- Hood, T. E., E. J. Calabrese., B.M. Zuckerman. 2000. Detection of an estrogen receptor in two nematode species and inhibition of binding and development by environmental chemicals. *Ecotoxicology & Environmental Safety*. 47(1) : 74-81.
- Huntington, M. K., T.G. Geary, C.D. Mackenzie, J.F. Williams. 1999. Bombesin-like neuropeptides in nematodes. 1999. *Journal of Parasitology*. 85(3):473-477.
- Iwata, K. 1990. Effects of *Spirulina platensis* on plasma lipoprotein lipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. *Journal of nutritional science and vitaminology* 1990. 36 pages 165-171. Laboratory of Nutrition, Kagawa Nutrition College, Toshima-ku, Tokyo 170 Japan.

- Jahangard, A., M.S. Kamarudin, C.R. Saad, K. Sijam, A.R.A Razak. 2001. Changes in growth, survival, and fatty acids compositions of silver barb (*Puntius gonionotus*) larvae fed on different live foods organism. 6<sup>th</sup> Asian Fisheries Forum Book of Abstracts. p. 110.
- Jansson, H.B., A. Von Hofsten, y C. Von Mecklenburg. 1984. Life cycle of the endoparasitic nematophagous fungus *Meria coniospora*: a light and electron microscopic study. *Antonie van Leewenhoek*. 50(4):321-7.
- Jansson, H.B., C., Persson., R., Odeslius. 2000. Growth and capture activities of nematophagus fungi in soil visualized by low temperature scanning electron microscopy. *Mycologia*. 92(1):10-15.
- Kahan, D. y L. Appel. 1975. The value of *Pangrellus sp* ( Nematoda ) as food for fish. 10 th. European Symposium on Marine Biology. Ostend, Belgium. Vol. 1: 243-253.
- Keating, Ch. D., L.M. Holden-Dye, R.J. Walker. 1996. Investigation of the model of action of nematode neuropeptides. *Pesticide Science*. 46 (3):263-266.
- Kumlu, M., y D. J. Fletcher. 1997. The nematode *Panagrellus redivivus* as an alternative live feed for larval *Penaeus indicus*. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 49 (1):12-18.
- Lehninger, L. A. 1975 *Biochemistry*. Second edition. Worth Publishers, Inc. New York. 1104.

- Li S.D., Y.H.Zhang, Z.Q. Miao, X.Z. Liu. 2001. Nematode-trapping hyphomycetes as mycoparasites on sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. *Phytopathology* 91(6 supplement).
- Link, C.D., J. Graf-Whitsel y W.B. Wood. 1987. Isolation and characterization of a nematode transposable element from *Panagrellus redivivus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 84(15):5325-9.
- Lynn, E. F. Erbe, Ch. A. Murphy. 2000. Effect of an ice-nucleating activity agent on subzero survival of nematode juveniles. *Journal of Nematology*. 32(2):198-204.
- Mabbett, K. y D. A. Wharton. 1986. Cold-tolerance and acclimation in the free-living nematode, *Panagrellus redivivus*. *Revue Nématol.*, 9 (2):167-170 pp.
- Marks, N.J., C. Shaw, A.G. Maule, J.P. Davis, D.W. Halton, P. Verrhaert, T.G. Geary, D.P.Thompson. 1995. Isolation of AF2 (KHEYLRfamide) from *Caenorhabditis elegans* : Evidence for the presence of more than one FMRfamide-related peptide-encoding gene. *Biochemical & Biophysical Research Communications*. 217(3):845-851.
- Masler, E.P., E.S. Kovaleva, S. Sardanelli. 1999. Comparison of FaRP immunoreactivity in free-living nematodes and in the plant parasitic nematode *Heterodera glycines*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 897: 253-63.

- Masler, E.P., E.S. Kovaleva, S. Sardanelli. 1999. FMRfamamide-like immunoactivity in *Heterodera glycines* ( Nematoda: Tylenchida ). Journal of Nematology. 31(2):224-231.
- Masler, E.P., E.S. Kovaleva, T.G. Kingan. 1997. A competitive ELISA for detection and quantification of FMRFamide-like peptides in free-living and parasitic nematodes. Journal of Nematology. 29(4):592.
- Matsuno, T. S. Nagata, M. Iwahashi, T. Koike, M. Okada. 1979. Intensification of Color of Fancy Red Carp with Zeaxanthin and Myxoxanthophyll, Major Carotenoid Constituents of *Spirulina*. Bull. Japanese Society of Scientific Fisheries. 45(5): 627-632.
- Maule, A.G., C. Shaw, J.W Bowman, D.W. Halton, D.P. Thompson, T.G. Geary, L. Thim. 1994a. KSAYMRFamide a novel FMRFamide – related heptapeptide from the free-living nematode, *Panagrellus redivivus*, which is myoactive in the parasitic nematode, *Ascaris suum*. Biochemical & Biophysical Research Communications 200 (2): 973-80.
- Maule, A. G., C. Shaw, J.W. Bowman, D.W. Halton, D.P.Thompson, T.G. Geary, L. Thim. 1994b. The FMRFamide-like neuropeptide AF2 ( *Ascaris suum*) is present in the free-living nematode, *Panagrellus redivivus* ( Nematoda, Rhabditida). Parasitology 109(Pt 3):351-6.
- Maule, A.G., C. Shaw, J.W. Bowman, D.W. Halton, D.P.Thompson. L.Thim, T.M. Kubiak, R.A Martin, T.G. Geary. 1995. Isolation and preliminary biological characterization of KPNFIRFamide, a novel FMRFamide-related peptide from the free-living nematode, *Panagrellus redivivus*. Peptides.16(1):87-93.

- Maule, A.G., J. W. Bowman., D.P. Thompson, N.J. Marks, A.R. Friedman, T. G. Geary. 1996. FMRFamide-related peptides (FaRPs) in nematodes: occurrence and neuromuscular physiology. ( Review ) (71 refs ). Parasitology 113 Suppl: S 119-35.
- Mc Innis, R. 1997. Technical methods section: Toxicity/ genotoxicity of solid phase samples using *Panagrellus redivivus*. Environmental Toxicology & Water Quality. 12(2):185-193.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analyt. Chem. 31:426 – 429.
- Minnikin, E. D., Hutchinson, G. I. y Caldicott, B. A. 1980. Thin-Layer chromatography of methanolysates of mycolic acid-containing bacteria. En: Journal of Chromatography. 188:221-233.
- Mohney, L. L, D.V. Lightner, R.R. Williams, M. Bauerlein. 1990. Bioencapsulation of therapeutic quantities of the antibacterial Romet-30 in nauplii of the brine shrimp *Artemia* and in the nematode *Panagrellus redivivus*. J. World Aquaculture Soc. 21(3):186-191.
- Mo-MingHe, Li-GuoHong, Dong-Jinyan, Zhang-KeQin, Liu-MeiHua, Mo-MH, Li-GH. 2000. *Lampteromyces japonicus*, a new Chinese record of nematotoxin-producing fungi. Mycosystema. 19:4, 529-533.

- Mullens, B. A., Velten, R. K. 1994. Rearing *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) on agar and nematodes. *Journal of Medical Entomology*. 31 (1): 175-177.
- Munawar, M. 1989. Assessing toxicity of Lake Diefenbaker (Saskatchewan, Canada) sediments using algal and nematode bioassays. *Hydrobiologia*. vol. 188-189 : 291-300.
- Murillo, N., y M. C. Diaz. 2003 Evaluación de la toxicidad de Cr+6, Cu+2 y el efluente de cromado de una industria metalmecánica utilizando *Panagrellus redivivus* como organismo de prueba. *Rev. Ingeniería e Investigación*. Fac. de Ingeniería. Universidad Nacional de Colombia. 38:1-12.
- Nair, M.G., A. R. Putnam, S.K. Mishra, M.H. Mulks, W.H. Taft, J.E. Keller, J.R. Miller, P.P Zhu, J.D. Meihart, y D.G. Lynn. 1989. Faeriefungin: a new broad-spectrum antibiotic from *Streptomyces griseus* var.*autotrophicus*. *Journal of Natural Products*. 52 (4): 797-809.
- Niemann, G., H. Von Besser., R.D. Walter. 1996. *Panagrellus redivivus* ornithine decarboxylase: Structure of the gene, expression in *Escherichia coli* and characterization of the recombinant protein. *Biochemical Journal*. 317 (1): 135-140.

- Onwuliri, C. O. 1984. The effect of anaerobiosis on adenosine triphosphate levels in larval *Nippostrongylus brasiliensis* and *Haemonchus contortus*. *Zeitschrift fur Parasitenkunde*. 70 (5) : 667-71.
- Ortega, M. 1984. Catálogo de algas continentales recientes de México. Universidad Nacional Autónoma de México. 566p.
- Papadopoulos, A.I., J. Walker, J. Barret. 1996. A novel cystathionine beta-synthase from *Panagrellus redivivus* ( Nematoda). *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 28(5) :543-9.
- Peeling, J., J. S. Lewis, M. Samoiloff, M., E. Bock. E. Tomchuk. 1988. Biological effects of magnetic fields: chronic exposure of the nematode *Panagrellus redivivus*. *Magnetic Resonance Imaging*. 6(6):655-60.
- Person-Le Ruyet. J. 1976. Elevage Larvaire D' *Artemia salina* (Branchiopode) Sur Nourriture Inerte: *Spirulina maxima* (Cyanophyceae). *Aquaculture*, 8:157-167.
- Pica-Granados, Y., G. D. Trujillo, H. S. Hernández. 2000. Biossay standardization for water quality monitoring in Mexico. *Environmental Toxicology*. 15(4):322-330.
- Precious, W.Y. y J. Barrett. 1989. The possible absence of cytochrome P-450 linked xenobiotic metabolism in helminthes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 992(2):215-22.

- Radwin, I. A. y D.B. Rouse. 1990. Yield characteristics of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* in different culture media. Prog. Fish. Cult. 52(4):237-240.
- Reinhard, D., N. Rainer. 1994. Nematode test to estimate the hazard potential of solved contaminations. Chemosphere. 29(3): 611-621.
- Retterath, M.A. y J.J.Pasternak. 1990. Genomic arrangement of repeated PS700 elements in the nematode *Panagrellus redivivus*. Genome. 33 (2): 164-9.
- Reuter, G., J. Aumann, U. Wyss, H.B. Jansson, R. Schauer. 1991. *Panagrellus redivivus*: failure to find evidence for the occurrence and biosynthesis of sialic acids. Experimental Parasitology. 73(4):389-95.
- Ribeiro-Regina, C. F., Ferraz-Silamar. 2000. Evaluation of *Monacrosporium* spp. on the control of *Meloidogyne javanica* in tomato plants. Summa Phytopathologica.26(1):62-68.
- Ribeiro-Regina, C.F., Ferraz-Silamar, H. Mizobutsi-Edson. 1999. Evaluation of *Monacrosporium* species efficiency on the control of *Meloidogyne javanica* and *Heterodera glycines*. Nematologia-Brasileira. 23(2):48-61.
- Ribeiro-Regina,C.F., Ferraz –Silamar. 1999. Treatment of tomato seed as a possible means of introducing *Monacrosporium* species in soil. Nematologia Brasileira 23(2):84-91.

- Ricci, M., A.P. Fifi, A. Ragni, C. Schlechtriem, U. Focken,. 2003. Development of a low cost technology for mass production of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* as an alternative live food for first feeding fish larvae. *Appl. Microbiol. Technol.* 60 : 556-559.
- Ronco, A., C. Sobrero, V. Grassi, L. Kaminski, L. Massolo, L. Mina. 2000. WaterTox bioassay intercalibration network: Results from Argentina. *Environmental Toxicology.* 15(4):287-296.
- Rottman, R. W., J.V. Shireman, E.P. Lincoln. 1991. Comparison of three live foods and two dry diets for intensive culture of grass carp and bighead carp larvae. *Aquaculture* 96 (3-4):269-280.
- Rouse, B.D., C.D. Webster, I.A. Radwin. 1992. Enhancement of the fatty acid composition of the nematode *Panagrellus redivivus* using three different media. *Journal of the World Aquaculture Society.* Vol 23, (1): 89- 95.
- Rubinson, F. J. y Rubinson, A. K. 1998. *Química Analítica Contemporánea* . Ed. Prentice may. México, 644 pp.
- Salt, T.A., Lozano, R., Lusby, W. R., Chitwood, D. J., Thompson, M. J. 1986. 24-Methyl-23-dehydrocholesterol: a new sterol intermediate in C-24 demethylation from the nematodes *Panagrellus redivivus* and *Caenorhabditis elegans*. *Steroids.* 48 (5-6): 451-460.

- Santiago, C.B., A.C. Gonzal, M. Ricci, S. Harpas. 2001. Free-living nematode *Panagrellus redivivus* as alternative live food for bighead carp *Aristichthys nobilis* and asian catfish *Clarias macrocephalus* larvae. 6<sup>th</sup> Asian Fisheries Forum Book of Abstracts. p. 221.
- Schlechtriem, C., U. Focken, M. Ricci, K. Becker. 2001. Testing of nematodes *Panagrellus redivivus* grown on different media as alternative live food for first feeding carp *Cyprinus carpio* larvae. 6<sup>th</sup> Asian Fisheries Forum Book of Abstracts. p. 24.
- Schlechtriem, C. M. Ricci, U. Focken, K. Becker. 2002. A new technology for the mass production of the free-living nematode *Panagrellus redivivus*, as alternative live food for first-feeding fish larvae: a contribution to the improvement of sustainable seed supply for aquaculture. International Symposium. Sustaining Food Security and Managing Natural Resources in Southeast Asia.-Challenges for the 21<sup>st</sup> Century- January 8-11, 2002, at Chiang Mai, Thailand.
- Sherry, J. P., B. F. Scott, E. Nagy, B. J. Dutka. 1994. Investigation of the sublethal effects of some petroleum refinery effluents. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*. 3(2):129-137.
- Sherry, J., B. Scott., B. Dutka. 1997. Use of various acute, sublethal and early life-stage test to evaluate the toxicity of refinery effluents. *Environmental Toxicology & Chemistry*. 16(11):2249-2257.
- Silva, F. M., y J. B. R. Rodrigues. 1997. Effect of the replacement of *Artemia* sp. for the nematode *Panagrellus redivivus* on the larval growth and survival of the freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). 1997. Boletim-do-Instituto-de-Pesca-Sao-Paulo. 24 (n. especial): 35-48.

ESTA TESIS NO DEBE  
 SER DE LA BIBLIOTECA

- Sivapalan, P. y W. R. Jenkins. 1966. Phospholipid and long-chain fatty acid composition of the nematode *Panagrellus redivivus*. Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 33(2): 149-157.
- Smart, D., C.F. Johnston, A. G. Maule, D.W., Halton, G. Hrcikova., C. Shaw., K.D. Buchanan. 1995. Localization of *Diploptera punctata* allastostatin-like immunoreactivity in helminthes: An immunocytochemical study. Parasitology 110 (1): 87-96.
- Smith, M.T., C.Shann, W.H. Batenburg-van der Vegte., R. Schmitt., E. Wehrli., H.J. Roelijmans., G.W. van Eijk. 1992. *Botryozyma nematodophila* gen . nov., spec. nov. (Candidaceae). Antonie van Leeuwenhoek. 61(4):277-84.
- Sommer, J.R. y P.W. Sternberg. 1996. Evolution of nematode vulval fate patterning. Developmental Biology. 173(2): 396-407.
- Taiwo, F .A., P. M. Brophy, D .I .Pritchard, A. Brown, A. Wardlaw. L. H. Patterson. 2000. Comparative metal content profiling of parasitic helminthes by electron paramagnetic resonance spectrometry: Significance for metalloprotein content. International Journal for Parasitology. 30(1):29-33.
- Triola, F. M., 2000. Análisis de varianza. Capítulo 11. pp. 570-609. En: Estadística Elemental. 7° ed. Ed. Addison Wesley Longman, México. 791 p.

- Tsuchihashi, N. 1987. Effects of *Spirulina platensis* on cecum content in rats. Chiba Hygiene Bulletin. February 5(2).
- Tunlid, A., S.Rosen., B. Ek., L. Rask. 1994. Purification and Characterization of an extracellular serine protease from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. Microbiology. 140 (Pt 7 ): 1687-95.
- Von Besser, H., G., Niemann., B. Domdey., R.D. Walter. 1995. Molecular cloning and characterization of ornithine decarboxylase cDNA of the nematode *Panagrellus redivivus*. Biochemical Journal. 308 (2) : 635-640.
- Walker, J., J. Barret, K.W. Thong. 1992. The identification of a variant form of cystathionine beta-synthase in nematodes. Experimental Parasitology. 75 (4): 415-24.
- Walker, R.J., Z. Bascal., A.R. White, S. Pedder, C.J. Franks, Y. Muneoka, L. Holden-Dye. 1995. Action of neuroactives peptides and nitric oxide on *Ascaris*, *Achatina* and *Helix tissues*. Acta Biologica Hungarica. 46(2-4):183-193.
- Warren, T. y J.J. Pasternak. 1988. A related moderately repetitive DNA family in the nematodos *Ascaris lumbricoides* and *Panagrellus redivivus*. Nucleic Acids Research. 16 (22): 10833-47.

Wilkenfield, J.S., A.L. Lawrence y F.D. Kuban. 1984. Survival, methamorphosis and growth of penaeid shrimp larvae reared on a variety of algal and animal foods. *Journal of the World Mariculture Society* 15:31-49.

Xiang-Hong Qiong, Feng-ZhinXin, HQ-Xiang, ZX-Feng. 2000. Studies on the pathogenesis of *Pleurotus ostreatus* on nematodes. *Acta-Phitopathologica-Sinica*. 30:4, 357-363.