

HIDROBIOLÓGICA

HIDROBIOLÓGICA

VOLUMEN 29
Número 2, 2019

29 (2): 53-100



UAM
Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

Agosto 2019



Mayo-Agosto de 2019

HIDROBIOLÓGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología

VOLUMEN 29

Número 2

2019

Hidrobiológica es una publicación científica cuatrimestral del Departamento de Hidrobiología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa creada desde 1991. **Hidrobiológica** está dirigida a publicar investigaciones originales e inéditas sobre la hidrología, biología, pesquerías, acuicultura, contaminación y ecología de los recursos y sistemas acuáticos, realizados en México y en todo el mundo.

Hidrobiológica (ISSN 0188-8897) pertenece al Catálogo de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del CONACyT desde 1994. Indizada en:

PERIÓDICA. Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.

Latindex. Catálogo-Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal.

Redalyc. Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal.

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts (ASFA).

ISI-Thomson: Biological Abstracts y Biosis Previews.

E&M Biology (Elsevier)

Journal Citation Reports - Thomson Reuters (JCR)

Página electrónica: <http://hidrobiologica.izt.uam.mx/index.php/revHidro/login>

HIDROBIOLÓGICA. Vol. 29 Año 2019, Número 2, mayo-agosto de 2019, es una publicación cuatrimestral editada por la Universidad Autónoma Metropolitana, a través de la Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Hidrobiología. Prolongación Canal de Miramontes 3855, Colonia Ex Hacienda San Juan de Dios, Delegación Tlalpan, C.P. 14387, México, Ciudad de México y Av. San Rafael Atlixco, No. 186, Colonia Vicentina, Delegación Iztapalapa, C.P. 09340, México, Ciudad de México, teléfono: 5804-6475.

Página electrónica de la revista: <http://hidrobiologica.izt.uam.mx> y dirección electrónica: rehb@xanum.uam.mx. Editora Responsable: Dra. Ma. del Rocío Torres Alvarado. Certificado de Reserva de Derechos al Uso Exclusivo de Título No. 04-2010-072711181500-203.

ISSN para revista electrónica: 2448-7333, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización del número: Dra. Ma. del Rocío Torres Alvarado, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco, No. 186, Colonia Vicentina, Delegación Iztapalapa, C.P. 09340, México, Ciudad de México.

Fecha de última modificación: 30 de agosto de 2019. Tamaño de archivo: 2.4 MB.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Universidad Autónoma Metropolitana.

COMITÉ EDITORIAL

Responsable de la edición del número

Editor en Jefe: Dra. María del Rocío Torres Alvarado

Área de Ecosistemas Costeros. Depto. de Hidrobiología.

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

EDITORES ASOCIADOS Y ÁRBITROS

ÁREA SISTEMÁTICA, FILOGENIA Y MORFOLOGÍA

Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero

Área de Zoología. Depto. de Biología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

Dr. Francisco F. Pedroche

Área de Ciencias Ambientales

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma (UAML)

CDMX, México

M. en C. Sandra Luz Guerra Martínez

Área de Ecotoxicología acuática. Depto. de Zoología

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB). Instituto Politécnico Nacional (IPN)

CDMX, México

ÁREA DE MANEJO DE RECURSOS ACUÁTICOS

Dra. Ana Laura Ibañez Aguirre

Área de Producción Acuática. Depto. de Hidrobiología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

Dra. Alma Socorro Sobrino Figueroa

Área de Producción Acuática. Depto. de Hidrobiología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

Dr. Oscar Sosa Nishizaki

Lab. de Ecología Pesquera. Depto. de Oceanografía Biológica

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CECESE)

Baja California, México.

ÁREA AMBIENTAL

Dra. Laura Georgina Calva Benítez

Área de Ecosistemas Costeros. Depto. de Hidrobiología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

Dra. Flor de Ma. Cuervo López

Área de Microbiología. Depto. de Biotecnología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

Dra. Patricia Ramírez Romero

Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos. Depto. de Hidrobiología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

ÁREA ECOLOGÍA

M. en B. E. Sergio Humberto Álvarez Hernández

Área de Producción Acuática. Depto. de Hidrobiología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

Dr. Ramón Andrés López Pérez

Área de Ecosistemas Costeros. Depto. de Hidrobiología

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México

CONSEJO EDITORIAL

Dr. Saúl Álvarez Borrego
Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada (CICESE)
Ensenada, México.

Dr. Luis S. Álvarez-Lajonchère
Grupo Picimar,
La Habana, Cuba.

Dra. Guadalupe Judith De la Lanza Espino
Instituto de Biología, UNAM
CDMX, México.

Dr. Alfonso Vázquez Botello
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM
CDMX, México.

Dr. Gerald J. Bakus
Allan Hancock Foundation
University of Southern California
California, USA.

Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez
Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada (CICESE)
Ensenada, México.

Dr. Carlos Cáceres Martínez
Universidad Autónoma de Baja California Sur
La Paz, México.

Dr. Roberto Civera Cerecedo
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
La Paz, México.

Dra. Laura Dávalos Lind
Baylor University, Texas
Texas, USA.

Dr. Enrique Reyes
East Carolina University
North Carolina, USA.

Dr. Fernando Díaz Herrera
Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada (CICESE)
Ensenada, México.

Dra. Martha E. Ferrario
Facultad de Ciencias Naturales y Museo La Plata
La Plata, Argentina.

Dr. Francisco J. García de León
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
La Paz, México.

Dr. Efraín Abraham Gutiérrez Galindo
Instituto de Investigaciones Oceanológicas
Universidad Autónoma de Baja California
Ensenada, México.

Dr. Jordi Leonart Aliberas
Institut de Ciències del Mar
Barcelona, España.

Dr. Fabio Massa
Experto FAO
Roma, Italia.

Dr. Alejandro Toledo Ocampo
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dr. José Vinicio Macías Zamora
Instituto de Investigaciones Oceanológicas
Universidad Autónoma de Baja California
Ensenada, México.

Dra. Marisa Mazari Hiriart
Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dr. Juan José Morrone Lupi
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dr. Federico Páez Osuna
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
Mazatlán, México.

Dra. Gabriela Parra Olea
Instituto de Biología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dra. Dolores Planas
Département des Sciences Biologiques
Université du Québec à Montréal
Québec, Canadá.

Dr. Víctor H. Rivera Monroy
Department of Oceanography and Coastal Sciences
Louisiana State University
Louisiana, USA.

Dr. Gilbert T. Rowe
Texas A&M University
Texas, USA.

Dr. Michael J. Smith
Simon Fraser University
Vancouver, Canadá.

Dra. Mutue Toyota Fujii
Instituto de Botânica São Paulo
São Paulo, Brasil.

Dr. Martin F. Wojciechowski
Arizona State University
Arizona, USA.

Dr. Giuseppe C. Zuccarello
Victoria University of Wellington
Wellington, Nueva Zelanda.

HIDROBIOLÓGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología de la
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa

ÍNDICE AL VOLUMEN 29, NÚMERO 2 • 2019

Cerón Ortiz, A. N., M. Á. Ángeles Monroy, M. A. Limón Mendoza y J. A. León Escamilla

Impacto de la proporción de sexos en aspectos reproductivos del acocil *Cambarellus montezumae*.....53-62

Tovar-Aguilar G. I., M. A. Arzate-Cardenas y R. Rico-Martínez

Efectos del diclofenaco en el rotífero dulciacuícola *Lecane papuana* (Murray, 1913)
(Monogononta: Lecanidae).....63-72

**Ramírez-Torrez J. A., M. del C. Monroy-Dosta, L. H. Hernández Hernández, J. Bustos-Martínez,
A. Hamdan-Partida, J. Castro-Mejía y D. I. Orozco-Rojas**

Crecimiento y actividad de las enzimas digestivas de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas
con probióticos autóctonos73-81

NOTAS CIENTÍFICAS

Gutiérrez-Benítez O., G. Galindo-Cortes, E. Velarde González y D. Salas Monreas

Análisis de la serie de captura de sardina Monterrey, *Sardinops sagax* en el Golfo de California, México83-87

Medina-Rosas P. y A. Raymundo-Huizar

Segundo reporte de la quimera *Harriotta raleighana* (Chondrichthyes: Rhinochimaeridae) en Bahía de Banderas,
Jalisco, México89-92

Instrucciones para autores93-96

HIDROBIOLÓGICA

A Journal from Departamento de Hidrobiología de la
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa

VOLUME INDEX 29, NUMBER 2 • 2019

Cerón Ortiz, A. N., M. Á. Ángeles Monroy, M. A. Limón Mendoza and J. A. León Escamilla

Impact of the Sex Ratio in the Breeding Aspects of the Crayfish *Cambarellus montezumae*53-62

Tovar-Aguilar G. I., M. A. Arzate-Cardenas and R. Rico-Martínez

Effects of diclofenac on the freshwater rotifer *Lecane papuana* (Murray, 1913) (Monogononta: Lecanidae).....63-72

**Ramírez-Torrez J. A., M. del C. Monroy-Dosta, L. H. Hernández Hernández, J. Bustos-Martínez,
A. Hamdan-Partida, J. Castro-Mejía and D. I. Orozco-Rojas**

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth and digestive enzymes activity fed with
autochthonous probiotics.....73-81

SCIENTIFIC NOTES

Gutiérrez-Benítez O., G. Galindo-Cortes, E. Velarde González and D. Salas Monreas

Monterrey's sardine catch series analysis, *Sardinops sagax* in the Gulf of California, Mexico.....83-87

Medina-Rosas P. and A. Raymundo-Huizar

Second report of the chimaera *Harriotta raleighana* (Chondrichthyes: Rhinochimaeridae) in Banderas Bay,
Jalisco, Mexico89-92

Instructions for authors97-100

Impacto de la proporción de sexos en aspectos reproductivos del acocil *Cambarellus montezumae*

Impact of the Sex Ratio in the Breeding Aspects of the Crayfish *Cambarellus montezumae*

Ana Nallely Cerón Ortiz^{1,2*}; Miguel Ángel Ángeles Monroy²; Marco Antonio Limón Mendoza¹ y José Antonio León Escamilla²

Recibido: 29 de julio de 2017.

Aceptado: 03 de julio de 2019.

Publicado: agosto de 2019.

RESUMEN

Antecedentes: El aprovechamiento de los recursos acuícolas como el acocil de río *C. montezumae* (crustáceo endémico mexicano) se relaciona con la fertilidad de las hembras por el número disponible de postlarvas que se puedan cultivar. **Objetivo:** Evaluar el impacto de la proporción de sexos en aspectos reproductivos del acocil *C. montezumae* en relación a la obtención de postlarvas. **Métodos:** En condiciones de laboratorio se determinó el impacto de tres proporciones de machos y hembras en el número de hembras ovigeras, fertilidad, fecundidad, tiempo de eclosión y la relación entre dichos aspectos. **Resultados:** El análisis de varianza de la proporción de sexos 1:1 produjo el mayor número de hembras ovigeras (61) y por tanto, una cantidad más elevada de postlarvas (2451). Al comparar la fecundidad promedio (37 huevos por hembra) y la eclosión media porcentual (97.96 %) no se registraron diferencias significativas entre tratamientos debido a que se utilizaron hembras de primera reproducción con tallas similares, lo cual es sustentado con la ausencia de relaciones lineales entre la talla (peso y longitud), y los aspectos reproductivos valorados (fecundidad y fertilidad). **Conclusiones:** La proporción 1:1 se establece como la óptima para obtener el mayor número de postlarvas. La ausencia de una relación lineal entre la talla y los aspectos valorados proporcionan la oportunidad de estudiar la influencia de hembras de segunda reproducción para determinar las condiciones técnicas de mayor producción de postlarvas en la especie estudiada.

Palabras clave: Eclosión, Fecundidad, Fertilidad, Postlarvas.

ABSTRACT

Background: The exploitation of aquaculture resources, such as the freshwater crayfish *C. montezumae* (Mexican endemic crustacean), is related with fertility of females due to the available number of postlarvae that can be cultivated. **Goals:** To evaluate the impact on reproductive aspects of the sex ratio *C. montezumae* in relation to obtained postlarvae. **Methods:** The impact of three sex ratio of males and females in the number of ovigerous females, fertility, fecundity, hatching time and the relation between these variables was determinate under laboratory conditions. **Results:** The analysis of variance shows that sex ratio 1:1 produced the highest number of ovigerous females (61) and a higher number of postlarvae (2451). When comparing the average fecundity (37 eggs per female) and the mean hatching percentage (97.96%), no significant differences between treatments were obtained. Females of first reproduction influenced the absence of linear relationships between size (weight and length) and reproductive aspects evaluated (fecundity and fertility). **Conclusions:** The sex ratio 1:1 is set as the optimum to get the highest number of postlarvae. The absence of linear relationship between size and studied variables provides the opportunity to study the influence of second breeding females to determine the technical conditions of higher postlarvae production in this specie.

Keywords: Fecundity, Fertility, Hatching, Postlarvae.

¹ Departamento de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo. Paseo del Agrarismo No. 2000, Carr. Mixquiahuala-Tula, Km. 2.5, Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo, 42700. México

² Departamento de Acuicultura en Aguas Continentales, Centro de Estudios Tecnológicos en Aguas Continentales No. 02. Carretera Tezontepec-Tenango, Km. 2.5, Tezontepec de Aldama, Hidalgo, 42760. México

***Corresponding author:**

Ana Nallely Cerón Ortiz: e-mail: aceron@itsoeh.edu.mx

Telephone: (+52) 6121225344

To cite as:

Cerón Ortiz, A. N., M. Á. Ángeles Monroy, M. A. Limón Mendoza y J. A. León Escamilla. 2019. Impacto de la proporción de sexos en aspectos reproductivos del acocil *Cambarellus montezumae*. *Hidrobiológica* 29 (2): 53-62.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura a nivel mundial es un referente de ganancias económicas y una fuente relevante en la generación de alimentos. Aunque es importante destacar que la producción acuícola se centra principalmente en el cultivo de especies con alto impacto, en términos de valor económico (Apún-Molina *et al.*, 2009) y deja de lado a especies autóctonas cuyos aspectos biológicos y contenido nutrimental las hacen candidatas a una producción y aprovechamiento sustentable (Álvarez *et al.*, 2012). Una especie con este potencial es el acocil de río *C. montezumae* (Saussure, 1858), crustáceo nativo de la región central de México; cuya tasa de crecimiento, resistencia a condiciones fisicoquímicas adversas (Latournerié-Cervera *et al.*, 2006; Rodríguez-Serna & Carmona-Osalde, 2002) y el perfil bioquímico en su tejido somático, lo hacen un organismo altamente aprovechable (Cerón-Ortiz *et al.*, 2015; Sánchez-Meza *et al.*, 2009; Rodríguez-Serna, 1999).

La especie *C. montezumae* durante mucho tiempo fue explotada mediante la extracción no regulada en sus nichos naturales, lo cual a largo plazo afectó negativamente la densidad poblacional, problemática que se acentuó al verse modificadas las zonas de apareamiento natural por acciones de origen humano (Ángeles-Monroy *et al.*, 2010; Álvarez & Rangel, 2007). Ante tal panorama, la acuicultura puede ser la vía para obtener de forma sustentable y planificada una cantidad suficiente de individuos de *C. montezumae* para realizar programas de repoblamiento y también de producción acuícola, este último con el objetivo de mantener una fuente de proteínas, carotenoides y ácidos grasos de alta calidad, además de proveerlo a la población que sigue extra-yéndolo de manera inadecuada. Para lo cual, es indispensable generar conocimiento sobre aspectos biológicos relacionados con los procesos reproductivos (Norzagaray-Campos *et al.*, 2012), y obtener un número suficiente de postlarvas que permita asegurar el proceso de engorda, cosecha y comercialización (Díaz & Neira, 2005). La información relacionada con la especie, indica que las hembras ovígeras presentan un desarrollo embrionario directo, partiendo de la incubación de los huevos en el abdomen, no registra estados larvales libres en la columna de agua y sucede la liberación después de concluido el segundo estadio de desarrollo (postlarva) (Rudolph *et al.*, 2010; Rudolph & Iraçabal, 1994); debido a lo cual producen un número menor de huevos, pero la sobrevivencia y tasa de eclosión es mayor (Holdich, 1993).

En tal sentido, la cantidad de hembras ovígeras que se pueden obtener y el número de huevos en su abdomen se ve afectado por diversos factores; uno de ellos es la proporción de sexos. Aunque son pocos los estudios que valoran el impacto del número de hembras y machos por cada unidad de área en ambientes controlados; en el medio natural depende ampliamente de la estacionalidad, época reproductiva, variables fisicoquímicas, condiciones del hábitat y la especie, dando como resultado diversas proporciones sexuales (Alejo-Plata *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2011). Los estudios realizados en *C. montezumae* no consideran hasta el momento, la influencia de la proporción de sexos como variable independiente en la obtención de hembras ovígeras y su impacto en la capacidad reproductiva de la especie mediante la determinación de su fecundidad, considerando el número de huevos producidos en determinado periodo. Asimismo, es relevante establecer la fertilidad de acuerdo al número de postlarvas que eclosionan de estos huevos (Parra-Medina *et al.*, 2010).

A la fecha, existe un estudio específico sobre el tema, en el cual se determinan algunos aspectos reproductivos en diferentes condiciones

de cultivo y con propósitos similares (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2011). Sin embargo, no toman en cuenta la proporción de hembras y machos para tales efectos. Por ello, y debido a la importancia de la especie en aspectos alimentarios y de repoblamiento, el presente trabajo tiene el propósito de evaluar el efecto de la proporción de sexos en la frecuencia reproductiva, fertilidad y fecundidad en adultos de primera reproducción del acocil de río *C. montezumae*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño Experimental. El trabajo se efectuó en las instalaciones acuícolas del Centro de Estudios Tecnológicos en Aguas Continentales No. 02 (CETAC No. 02). A lo largo de la investigación se monitorearon la alcalinidad, dureza, amonio y oxígeno en las unidades experimentales. Las lecturas se realizaron diariamente por la mañana (10:00 h) mediante kits colorimétricos individuales (HANNA Instruments, TX, US). La temperatura se midió tres veces por día (7:00, 15:00 y 17:00 h) a través de un termómetro de inmersión total (Taylor, TX, US).

El estudio se inició a partir de la reproducción en organismos adultos de *C. montezumae* con el propósito de obtener en poco tiempo, las hembras y machos que se denominaron de primera reproducción para utilizar en los bioensayos de proporción de sexos. En el cual se aplicó un diseño unifactorial, cuya variable independiente fue la proporción de sexos basada en la razón hembras/machos (H:M); y las variables dependientes, el número de hembras ovígeras, la cantidad de huevos por hembra (fecundidad), el número de postlarvas liberadas (fertilidad), el tiempo de incubación (período entre la fertilización de los huevos y la eclosión de las postlarvas). Los tratamientos se identificaron como $R_1 = 1$ hembra:1 macho; $R_2 = 2$ hembras:1 macho; $R_3 = 5$ hembras:1 macho; $R_4 = 1$ hembra:5 machos. El número de repeticiones por tratamiento fue de cuatro. Cabe señalar, que la proporción dos machos y una hembra no se realizó por haber sido abordada por un estudio previo (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2011).

Los valores obtenidos se analizaron en el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statsoft, Ina TX US), donde se verificó la normalidad distributiva (test de Shapiro Wilk) y homocedasticidad de Bartlett. Posteriormente, al determinar que los datos cumplieron ambos supuestos se aplicó un análisis paramétrico de varianza (ANOVA) con un $\alpha = 0.05$ para el nivel de confianza. Al registrar diferencias significativas se aplicó un Test HSD (Honestly-significant-difference) de Tukey. Asimismo, se registraron los valores de peso corporal y la longitud total de las hembras a los que junto con el número de huevos y postlarvas eclosionadas, se les aplicó un análisis de regresión lineal para identificar el coeficiente de regresión de acuerdo a lo mencionado en Aya-Baquero y Velasco-Santamaría (2013). La ocurrencia de mudas se expresó mediante un histograma de frecuencia y medidas de tendencia central.

Obtención de reproductores. La captura de organismos reproductores se realizó en el municipio de Tezontepec de Aldama, Hidalgo. La zona específica de captura se ubica a los 20°11'37.14" N y 99°16'43.64" O y está integrada por un cuerpo de aguas someras (profundidad entre los 30 y 50 cm). Los organismos se atraparon mediante una red de cuchara con una apertura de malla de 5 mm, la cual se introdujo en el área cercana a la vegetación, desde el fondo hacia la superficie evitando alterar o dañar el lugar. Una vez extraídos los organismos, se seleccionaron 15 hembras y 15 machos con un intervalo de longitud de

2.7 a 3 cm (desde el rostrum hasta la parte final del telson), y se verificó que ninguno estuviera en etapa de muda, no registrara daños mecánicos en su estructura anatómica, ni presentaran posibles lesiones o infecciones en su exoesqueleto. El traslado del lugar de captura hasta el laboratorio de acuicultura del CETAC No. 02 se realizó en bolsas de plástico con poca agua y vegetación riparia. Una vez en el laboratorio, los organismos se colocaron en un tanque de fibra de vidrio de 1 m x 1 m x 0.75 m, provisto de oxigenación a través de una bomba de acuario de dos salidas de la marca Elite 802 (China) y de refugios de policloruro de vinilo (pvc) de 1.27 cm de diámetro por 7 cm de longitud (uno por cada organismo).

Las características fisicoquímicas en el tanque al momento de la aclimatación al nuevo ambiente fueron: oxígeno (5 mg/L), amonio (0.00 mg/L) y temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$). Una vez concluidas 24 h, se procedió a verificar que no registraran daños mecánicos en su anatomía y cuantificar las posibles mortalidades y mudas ocasionadas por el estrés de captura, transporte y cambio de ambiente. Posterior a ello, se iniciaron las observaciones diarias durante los meses de marzo y abril para detectar las hembras ovígeras; cuando fue así, éstas se trasladaron a otro tanque con las características ambientales previamente descritas, en donde se llevó a cabo el desarrollo de los nuevos individuos hasta que fue posible identificar el sexo de las postlarvas.

En ese momento se realizó una separación de hembras y machos, colocándolos en tanques diferentes donde permanecieron hasta alcanzar una longitud mínima desde el rostrum hasta la parte final del telson de 2.7 cm. El procedimiento antes mencionado se realizó con el objetivo de iniciar los bioensayos de proporciones asegurando un estatus de primera reproducción en los organismos seleccionados. La talla de 2.7 cm se estableció con base a observaciones previas en estudios piloto. La alimentación de los organismos se realizó con Camaronina 35 (Purina, SON, MX) (Cerón-Ortiz *et al.*, 2015).

Ensayos de proporciones de sexo. Los organismos en estatus de primera reproducción se distribuyeron al azar en 16 unidades experimentales consistentes en acuarios de vidrio con dimensiones de 50x40x30 cm., llenos de agua dulce hasta un volumen de 40 L, provistos de aireación continua mediante una bomba de dos salidas (Elite 802, China, CN), refugios de pvc de 1.27 cm de diámetro por 7 cm de longitud (uno por organismo) y plantas artificiales (tres por unidad experimental) que funcionarían como zonas de resguardo durante la muda. El número de organismos en cada unidad experimental se llevó a cabo de acuerdo a cada tratamiento; en $R_1= 2$ organismos (1 hembra:1 macho); $R_2= 3$ organismos (2 hembras:1 macho); $R_3= 6$ (5 hembras:1 macho); $R_4= 6$ (1 hembra:5 machos). Es importante mencionar que el número de organismos antes referido se mantuvo igual para cada una de las repeticiones de acuerdo al tratamiento. Los bioensayos de reproducción duraron 13 semanas (del 21 de junio al 20 de septiembre). Los reproductores fueron alimentados con Camaronina 35 (Purina, SON, MX) (Cerón-Ortiz *et al.*, 2015).

Diariamente se revisaron las unidades experimentales para registrar si se observaba conducta de apareamiento, actividad de cópula, consumo de alimento y localización de los organismos en la unidad experimental. A las unidades se les retiró diariamente el alimento no consumido y las excretas. La frecuencia de muda por tratamiento se identificó de acuerdo al número de exoesqueletos localizados en las unidades experimentales.

Los organismos en las unidades experimentales se pesaron cada tres semanas a través de una balanza analítica modelo Adventurer con precisión de 0.0001 g (Ohaus, NJ US) y se midió la longitud desde el cefalotórax hasta el telson con un vernier de precisión tipo pie de rey (150 mm ajuste fino) (125MEA-6/150, Starrett, Mex). Las tasas específicas de crecimiento (TEC) se obtuvieron mediante la fórmula modificada de Hernández-Vergara *et al.* (2003) expresada como $TECL = ((\ln LF - \ln LI) / t) \times 100$ donde Ln= logaritmo natural, LF= longitud final, LI= longitud inicial, t= tiempo. El incremento en peso (mg) se obtuvo con una modificación de la ecuación propuesta por Mimbela-López (2000), quedando como $TECP = (\ln PF - \ln PI) / t \times 100$ donde TECP= peso ganado, PF= peso final, PI= peso inicial, t= tiempo. Los datos registrados se utilizaron para obtener la correlación entre las dimensiones de los organismos y la producción de hembras ovígeras, el número de huevos y las postlarvas liberadas.

Asimismo, con el propósito de mantener la proporción de hembras y machos en cada tratamiento y sus repeticiones, al identificar algún organismo muerto en las unidades experimentales, éste fue retirado y en su lugar se colocó otro del mismo sexo, talla y estatus de primera reproducción cultivado bajo las mismas condiciones fisicoquímicas en tanques alternos. El número total de organismos muertos se registró por tratamiento cada semana, con lo cual se cuantificó el porcentaje de sobrevivencia.

Ensayos de desarrollo de nuevos individuos. Al obtener hembras ovígeras en los bioensayos de proporción de sexos, éstas eran extraídas de las unidades experimentales y se remplazaban por otra con la misma longitud, peso aproximado y en etapa de primera reproducción. Lo anterior para no afectar los resultados de seguimiento en el crecimiento de los organismos y el número de hembras ovígeras durante las trece semanas del estudio. Las hembras ovígeras se extrajeron mediante una red de cuchara (Easy Catch 7.62 cm, MX) y se colocaron individualmente en unidades experimentales consistentes en acuarios de vidrio de 20x17x15 cm llenos de agua dulce hasta un volumen de 4 L. En cada unidad se instaló un refugio de pvc de 1.27 cm de diámetro por 7 cm de longitud y una planta artificial como zonas de resguardo.

Las unidades experimentales fueron etiquetadas de acuerdo al tratamiento del cual fue extraída la hembra ovígera y se anexó la fecha de colocación. Además, se registró en la bitácora correspondiente el número de huevos adheridos en el abdomen (fecundidad); el cual se obtuvo por conteo directo del abdomen de la hembra, evitando ocasionar estrés por manipulación y por ende la pérdida de los mismos. En los días subsecuentes se determinó el tiempo de incubación con base al periodo comprendido desde la fertilización hasta la liberación de las primeras postlarvas del abdomen de la hembra, las cuales se contaban directamente para obtener el número total (fertilidad).

La alimentación de las hembras ovígeras consistió en una ración diaria del mismo alimento utilizado para reproductores, la ración se proporcionó cada tercer día (por la tarde) a una tasa de alimentación del 10% de la biomasa (Aya-Baquero & Velasco-Santamaría, 2013). Al igual que en las unidades experimentales de los reproductores el alimento remanente y las heces fueron retirados antes de agregar el nuevo alimento.

RESULTADOS

Las hembras grávidas obtenidas a partir de los procesos reproductivos de los organismos capturados del medio natural generaron 542 postlarvas (203 machos y 339 hembras); las cuales se destinaron a los bioensayos de proporción de sexos una vez que alcanzaron 2.7 cm de longitud. En ese momento, el peso promedio de las hembras fue de 0.5041 ± 0.0140 g y de los machos 0.4856 ± 0.0104 g. El seguimiento del crecimiento de estos organismos en los bioensayos de proporción de sexos a lo largo de las 13 semanas de estudio, mostraron un crecimiento discontinuo, con una tendencia a un mayor crecimiento en los machos al final de estudio independientemente del tratamiento ($p \leq 0.05$). Los valores de longitud registrados en la semana trece para hembras van de los 3.25 cm (± 0.06) a los 3.33 cm (± 0.05) y en machos de 3.35 cm (± 0.05) a 3.38 cm (± 0.05). Resultados similares se observaron en los datos obtenidos en el peso de los organismos, cuyos máximos valores se registraron en los machos independientemente del tratamiento ($p \leq 0.05$). El peso promedio máximo en hembras fue de 0.7542 g (± 0.0806) y en machos de 0.8787 g (± 0.0067).

Las tasas específicas de crecimiento longitudinal (TECL) en hembras por semana registraron valores de 1.60% (R_1), 1.51% (R_2), 1.47% (R_3) y 1.42% (R_4); porcentajes por debajo de los obtenidos en los machos ($R_1 = 1.71\%$, $R_2 = 1.65\%$, $R_3 = 1.70\%$, $R_4 = 1.63\%$). En cuanto al incremento en peso (TECP) se registraron tendencias similares a las del TECL, en donde los machos obtuvieron los máximos valores ($R_1 = 4.35\%$, $R_2 = 3.33\%$, $R_3 = 4.07\%$, $R_4 = 4.40\%$) respecto a las hembras ($R_1 = 2.80\%$, $R_2 = 2.21\%$, $R_3 = 2.04\%$, $R_4 = 2.05\%$). Aunque, es importante en estudios posteriores considerar la posible influencia de las diferentes densidades de organismos en las tasas antes referidas como resultado de las proporciones de sexos en una misma unidad de área.

La mayor frecuencia de muda se registró en la proporción R_1 ($p \leq 0.05$) con 48 mudas a lo largo del estudio (Fig. 1). Asimismo, a lo largo de los bioensayos se pudo observar puntualmente en seis ocasiones el comportamiento reproductivo y la actividad de cópula, cuya duración osciló entre los 30 y 50 min. El intervalo de tiempo en el que tardaron en aparecer los huevos en el abdomen de la hembra, posterior a la cópula en los seis casos fue de 70 a 75 h.

Al final de las trece semanas y con un nivel del 95% de confianza, se registró una diferencia significativa en el número de hembras ovígeras entre tratamientos ($p \leq 0.05$). El tratamiento R_1 obtuvo el mayor número de hembras ovígeras (67) comparado con el resto de los tratamientos ($p \leq 0.05$); seguido por R_2 (34), R_4 (21) y R_3 (14). Es importante mencionar que los valores refieren el total de hembras grávidas registradas en cada tratamiento al sumar las obtenidas en las distintas repeticiones a lo largo de las 13 semanas.

En cuanto a la relación lineal entre la fecundidad (promedio de número de huevos) y las clases de talla (longitud y peso) de las hembras en cada tratamiento, no se registró una relación en ningún tratamiento (tabla 1). Resultados similares se obtuvieron en las regresiones lineales entre las dimensiones de clase de longitud y peso de las hembras en cada tratamiento y la cantidad promedio de postlarvas liberadas (fertilidad) (tabla 2). Asimismo, al comparar la fecundidad y fertilidad de las hembras ovígeras (todas ellas de primera reproducción independientemente de sus medidas morfométricas) obtenidas en los diferentes tratamientos, no se registran diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Aunque los mayores valores en la fecundidad se presentaron en el tratamiento R_4 y los menores en R_1 ; resultando similares a los obtenidos en el promedio de fertilidad, con valores máximos en R_4 y uno de los menores en R_1 (tabla 3).

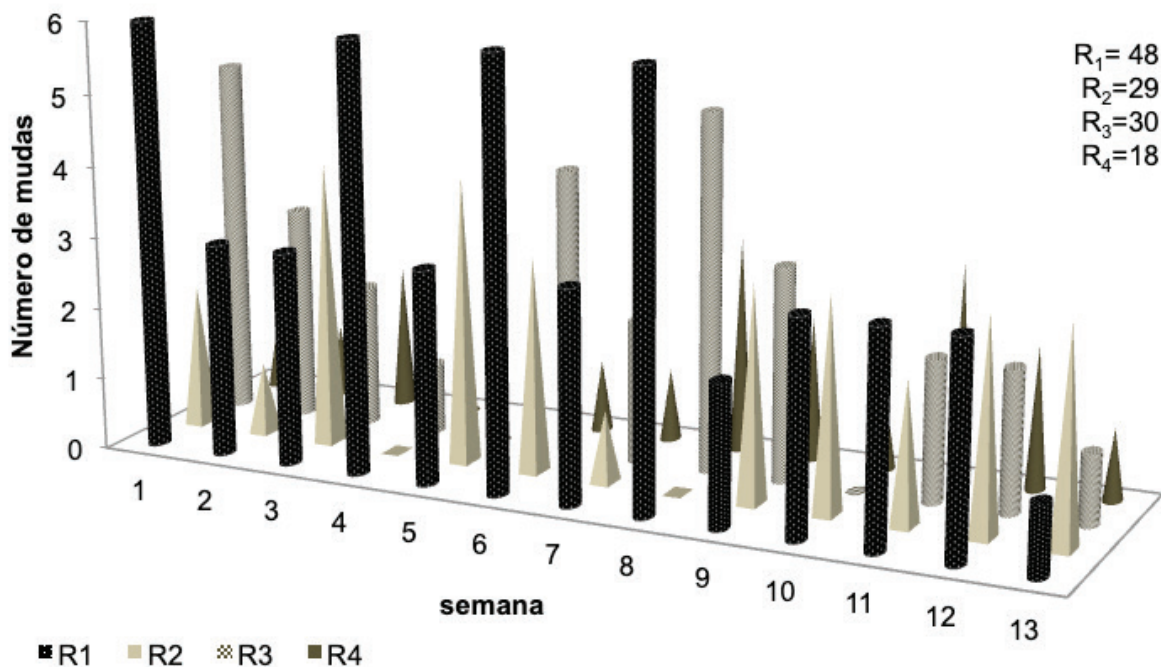


Figura 1. Frecuencia de muda registrada en los reproductores de *Cambarellus montezumae* mantenidos en diferentes proporciones de sexos durante 13 semanas. $R_1 = 1$ hembra: 1 macho; $R_2 = 2$ hembras: 1 macho; $R_3 = 5$ hembras: 1 macho; $R_4 = 1$ hembra: 5 machos.

Tabla 1. Coeficientes de correlación (r) y de determinación (R²) que expresan la relación entre las clases de longitud y peso con el promedio de fecundidad (número de huevos) registrados en las hembras ovígeras de *Cambarellus montezumae* obtenidas en los diferentes tratamientos a lo largo de 13 semanas. R₁= 1 hembras:1 macho; R₂= 2 hembras:1 macho; R₃= 5 hembras:1 macho; R₄= 1 hembra:5 machos.

Longitud (cm)	Tratamientos			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
r	0,2152	0,0925	-0,1499	0,3257
R ² (%)	4,635	0,8564	2,2482	10,6132
Peso (g)				
r	-0,1992	0,1426	-0,2413	0,2477
R ² (%)	3,969	2,033	5,824	6,136

Los porcentajes de eclosión registrados en cada tratamiento mostraron similitudes entre ellos, alcanzando porcentajes de 97.96 ± 3.75% en R₁, 98.38 ± 2.85% en R₂, 98.15 ± 3.23% en R₃ y de 97.99 ± 3.32% para R₄. Los valores máximos y mínimos por tratamiento oscilan entre el 83 y 100% (R₁), 93 y 100% (R₂), 89 y 100% (R₃), 88 y 100% (R₄). El tiempo de incubación registró variaciones entre las repeticiones dentro del mismo tratamiento y los otros tratamientos con valores mínimos de 12 días y máximos de 28 días (Fig. 2).

La supervivencia de los organismos a lo largo de los bioensayos de proporciones fue diferente debido a la densidad de organismos específica en el tratamiento. La cantidad máxima de organismos sustituidos en las unidades experimentales por mortandad fue de dos organismos en el tratamiento R₃ en la semana cuatro. El resto de los tratamientos registraron como máximo un organismo sustituido por mortandad en algunas de las semanas del estudio.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, la temperatura fue el único parámetro que mostró un margen en los datos recabados, indicando un intervalo estacional y un incremento al final de la primavera e inicios del verano. Los intervalos en temperatura para los meses de marzo, abril y mayo se ubicaron entre los 22 y 23°C, aumentando a lo largo de la estación de verano hasta alcanzar una temperatura máxima de 26°C a finales del mes de julio y disminuyendo paulatinamente hasta

Tabla 2. Coeficientes de correlación (r) y de determinación (R²) que expresan la relación entre las clases de longitud y peso con el promedio de fertilidad (número de postlarvas) registrado en las hembras ovígeras de *Cambarellus montezumae* obtenidas en los diferentes tratamientos a lo largo de 13 semanas. R₁= 1 hembras:1 macho; R₂= 2 hembras:1 macho; R₃= 5 hembras:1 macho; R₄= 1 hembra:5 machos.

Longitud (cm)	Tratamientos			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
r	0,1664	0,1335	-0,2969	0,0911
R ² (%)	2,768	1,782	8,819	0,8311
PESO (g)				
r	-0,0604	0,1819	-0,3950	0,0717
R ² (%)	0,365	3,311	15,609	0,5146

los 24°C en el mes de septiembre. Con relación al resto de los parámetros fisicoquímicos no se apreció una variación significativa. El consumo de alimento durante los bioensayos varió en diferentes momentos y aunque la ingesta fue mayor en los tratamientos con mayor densidad de acociles, el consumo durante las primeras siete semanas fue de entre 85 y 90%. En las hembras ovígeras el porcentaje disminuyó hasta un 50% con periodos de inanición de 24 horas, por lo cual se modificó la tasa de alimentación hasta el 5% de su biomasa.

DISCUSIÓN

Actualmente se busca implementar medidas adecuadas para el aprovechamiento sustentable de los recursos acuáticos; en crustáceos, se estudia la relación entre el tamaño de los organismos, la fertilidad, la fecundidad y la distribución poblacional de las especies (Aya-Baquero & Velasco-Santamaría, 2013; Segura & Delgado, 2012). Aunque en su mayoría se abocan a investigaciones biológicas-pesqueras y de crustáceos de profundidad e importancia comercial (Rodríguez *et al.*, 2012; Lorán-Núñez *et al.*, 2009). Hecho que impulsa la relevancia del presente estudio, enfocado a la generación de información en una especie nativa con potencial acuícola y económico, de la cual se tiene poca información sobre aspectos de crecimiento y reproducción tanto en condiciones de laboratorio como en el medio natural.

Tabla 3. Número promedio de huevos (fecundidad) y postlarvas (fertilidad) obtenidos al considerar el total de hembras ovígeras de *Cambarellus montezumae* registradas por tratamiento (R₁= 67; R₂= 34; R₃= 14; R₄= 21) durante 13 semanas. Donde R₁= 1 hembra:1 macho; R₂= 2 hembras:1 macho; R₃= 5 hembras:1 macho; R₄= 1 hembra:5 machos.

	Número de huevos (fecundidad)				Número de postlarvas (fertilidad)			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Promedio	37	39	38	41	37	38	37	40
Desviación Estándar	7	5	6	6	7	5	6	6
Mediana	37	39	38	41	36	39	38	40
Mínimo	22	27	27	33	22	25	24	33
Máximo	50	51	49	55	48	50	49	55
Rango	28	24	22	22	26	25	25	22

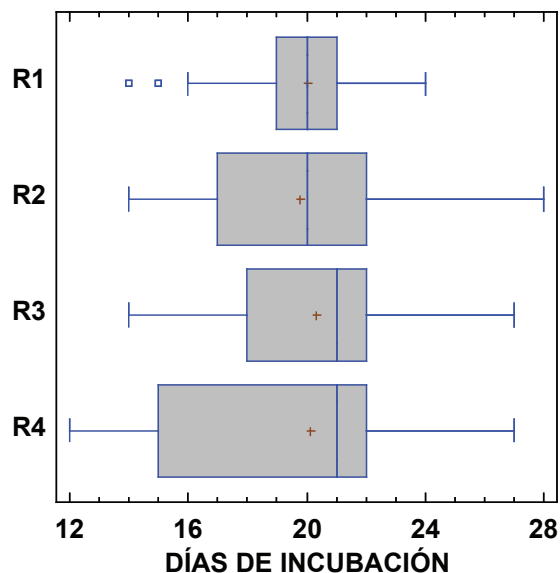


Figura 2. Variación en el tiempo de incubación registrado desde la aparición de los huevos en el abdomen de las hembras de *Cambarellus montezumae* hasta la liberación de las postlarvas. R₁=1hembra:1macho; R₂=2hembras:1macho; R₃=5hembras:1macho; R₄=1hembra:5machos.

En cuanto al crecimiento, las hembras alcanzaron la talla de primera reproducción en un periodo más corto (45 a 60 días) que los machos de su misma especie, y hembras de otros géneros de crustáceos como los reportados por Mueller (2007) para *Procambarus clarkii* (Girard, 1852), hasta 6 meses. Lo cual se relaciona con la biología del crecimiento de algunos crustáceos cuyo rango de talla máxima es pequeño y por ello alcanzan su desarrollo gonadal y talla de primera madurez en un periodo menor de tiempo (Sampognaro-Charquero, 2014). Sin embargo, una vez que las hembras alcanzaron la talla de primera reproducción, fueron los machos quienes registraron una mayor longitud y peso, ya que las hembras destinaron más energía a la producción de huevos que al crecimiento. Asimismo, una variable relacionada a estas diferencias es la muda terminal que se observa en algunas especies de crustáceos (Rodríguez-Domínguez *et al.*, 2012). Aunque, en *C. montezumae* no se tienen estudios que sustenten la existencia de la misma y el impacto que pudiera tener en el crecimiento. Además, las variaciones mencionadas son observadas también en camarones de las especies *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827), *Pachycheltes laevidactylus* (Ortmann, 1892), *Pleoticus robustus* (Smith, 1885) y *Penaeopsis serrata* (Bate, 1881) (Camiolo & Luppi, 2016; Paramo & Núñez, 2015). Algunos autores mencionan que las diferencias antes expuestas son debidas al desarrollo gonadal (Pérez-Ferro & Paramo-Granados, 2014), la fuente de alimento (Barbosa-Saldaña *et al.*, 2012) y al estrés ambiental (Cortés-Jacinto *et al.*, 2003).

Aunado a lo anterior, la ganancia en peso y longitud registrada en los reproductores de *C. montezumae* utilizados durante los bioensayos de proporciones de sexos, muestran un crecimiento discontinuo de acuerdo a las características expuestas por Martínez-Porchas (2009) y se relacionan con la frecuencia de muda y las características genéti-

cas propias del individuo (Reyes-Avalos *et al.*, 2010). Lo cual también afecta el consumo de alimento y los cambios fisiológicos que conlleva el atravesar por alguna de las cinco etapas del proceso de muda (Martínez-Porchas *et al.*, 2009). Lo cual coincide con lo observado en el presente estudio en los reproductores de *C. montezumae*, y principalmente en la disminución en las tasas de alimentación de las hembras ovígeras. Las fluctuaciones y bajo consumo de alimento en reproductores del género *Cambarellus* se han reportado en otros estudios que indican valores entre 0.005 y 0.16 g/día dependiendo de las condiciones de cultivo (Cerón-Ortiz *et al.*, 2015; Arredondo-Figueroa *et al.*, 2011). Asimismo, el bajo consumo de alimento en las hembras ovígeras se relaciona con una disminución en el gasto energético en aspectos como el movimiento, crecimiento y muda.

Por lo anterior, más allá de la influencia que indudablemente tienen los factores fisicoquímicos, otros aspectos de índole fisiológico tales como la madurez de células sexuales, alométricos (caracteres sexuales secundarios), funcionales (capacidad de conseguir una pareja y transportar los huevos) y sus condiciones generales de salud (Romero-Camarena *et al.*, 2013; López-Greco & Rodríguez, 1998) también inciden en la muda y en los procesos reproductivos. Ante el efecto de algunos de estos factores y con el propósito de disminuir el posible impacto de trabajar con hembras que previamente atravesaron por un momento de gravidez (producen un mayor número de huevos) (Huck *et al.*, 2007), se estableció como característica de selección una talla en donde se han obtenido hembras ovígeras de primera reproducción en *C. montezumae*.

El mayor número de hembras ovígeras al final del estudio se obtuvo en el tratamiento R₁ (una hembra y un macho por cada repetición) con un total de 67 hembras en comparación con los 14 y 21 de los tratamientos R₃ y R₄ respectivamente. Lo anterior a pesar de que en estos últimos se encontraba un mayor número de hembras por macho y viceversa (5 hembras: 1 macho y 1 hembra: 5 machos). Las diferencias en los valores entre tratamientos se explican en crustáceos por el impacto de la densidad de organismos sobre la competencia reproductiva y el estrés sobre las tasas metabólicas de los organismos (Abad-Rosales *et al.*, 2011; Martínez-Porchas *et al.*, 2009). Aspecto observado en los tratamientos con mayor densidad de machos (interrupción del cortejo y la cópula por competencia reproductiva). Sin embargo, es necesario realizar estudios fisiológicos específicos para determinar si el estrés bajo las condiciones de densidad poblacional en el estudio afecta significativamente la reproducción y por ello, los tratamientos con mayor densidad de organismos por repetición registraron el menor número de hembras grávidas.

Ante la escasa información sobre la temática aquí abordada, los resultados obtenidos en cuanto a las causas que influyeron en el número de hembras grávidas se comparan con los registrados en algunas investigaciones realizadas en ambientes no controlados. El mayor número de hembras ovígeras en la proporción 1:1 es similar a los resultados obtenidos en estudios de población en el medio natural; lo cual hace referencia al equilibrio biológico de una población, en donde, al existir un macho por cada hembra, se limita la competencia por el apareamiento (Franco-Meléndez, 2012; Fischer, 1930). Además, los resultados obtenidos en la proporción que registraba el mayor número de machos se asemejan a los mencionados para otros crustáceos, los cuales indi-

can que proporciones con mayor tendencia en alguno de los sexos se relacionan con la época post-reproductiva (Castilho *et al.*, 2007).

Las diferencias significativas determinadas en el número de hembras ovígeras entre tratamientos no son extensivas a la fecundidad y la fertilidad de las mismas, principalmente por utilizar hembras de primera reproducción y con tallas similares. Así, se limitó el impacto de la talla de la hembra y el macho en la capacidad reproductiva reportada por algunos autores, quienes observaron un mayor índice de fecundidad y fertilidad al incrementar la longitud y/o peso de las hembras (Aya-Baquero & Velasco-Santamaría, 2013; Rondón *et al.*, 2012). Al respecto, Camiolo & Luppi (2016) en estudios con *Pachycheltes laevidactylus* en el intermareal rocoso de Mar del Plata, Argentina, registraron un aumento en la fecundidad conforme la talla de la hembra era mayor (modelo exponencial), con intervalos de 160 huevos en las hembras de 4.38 mm y de 2 en tallas cercanas a los 2 mm del ancho del caparazón con respecto al segmento mayor del pleon. En la jaiba *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859) la fecundidad incrementa conforme aumenta el tamaño de caparazón de la hembra, la cantidad de huevos promedio es de $4,576,258 \pm 974$ en hembras con un ancho de caparazón de 112.8 ± 5.5 mm (Escamilla-Montes *et al.*, 2013). Asimismo, en *C. bellicosus* el gradiente latitudinal influye en la fecundidad (Rodríguez-Feliz *et al.*, 2018); no obstante, cabe señalar que en acocil no se ha determinado la influencia de factores latitudinales o altitudinales para el aspecto evaluado.

En el presente estudio no se registró relación entre la morfometría y la fecundidad, debido al pequeño intervalo existente en la talla de las hembras utilizadas y al hecho de que todas ellas fueron de primera gravidez; lo cual permitió identificar la fecundidad de *C. montezumae* bajo esta característica y plantea la necesidad de evaluar el efecto de los subsecuentes actos reproductivos en la fecundidad. La cantidad de huevos obtenido en *C. montezumae* independientemente del tratamiento es similar a los 45 ± 23 huevos en hembras de longitud promedio de 32.2 ± 4.0 mm reportado por Arredondo-Figueroa y colaboradores (2011). Sin embargo, son diferentes a los obtenidos en especies con tallas de reproducción mayores como *Ranina ranina* (Linnaeus, 1758) (72.2 mm de longitud), cuya fecundidad es de 74.600 a 256.000 huevos (Krajangdara & Watanabe, 2005). La discrepancia entre los resultados al comparar diferentes especies se relaciona ampliamente con el tamaño de la hembra y la amplitud en el espacio físico abdominal disponible para portar los huevos (Aya-Baquero & Velasco-Santamaría, 2013). Aunado a lo anterior, algunos estudios refieren que al disminuir las dimensiones del huevo se incrementa la fecundidad (Escamilla-Montes *et al.*, 2013; García-Pinto *et al.*, 2013). Lo cual, a pesar de no ser considerado en el presente estudio, se observó que el tamaño de los huevos en las hembras de *C. montezumae* es menor a lo reportado en *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868), lo cual desde un aspecto comparativo se debe a la diferencia en longitud, ancho y fecundidad. Además de ser organismos de desarrollo embrionario directo, lo cual según Reynolds (2002) disminuye la fecundidad de la especie y aumenta el tamaño de los huevos.

Las características biológicas antes mencionadas también influyen en la cantidad de larvas o postlarvas producidas, razón por la cual tampoco se obtuvo una relación entre la fertilidad y la morfometría al trabajar con hembras de tallas similares y de primera reproducción. Aunque el porcentaje de fertilidad en *C. montezumae* fue mayor a lo reportado para otras especies de crustáceos, los valores se explican

por las diferencias anatómicas y biológicas de las mismas. Además, el porcentaje de eclosión de los huevos y la sobrevivencia del embrión se relaciona con la calidad del vitelo (principalmente la presencia de lípidos), las condiciones ambientales y el estrés al que se enfrentan las hembras ovígeras (Bazán *et al.*, 2009; Sánchez-Paz *et al.*, 2006). Lo cual también puede afectar el tiempo de incubación de los huevos en el abdomen, algunos estudios mencionan intervalos desde dos semanas hasta los diez meses, registrándose incluso periodos de diapausa (Serrano-Silvas, 2016; Calcango *et al.*, 2005). En este estudio, las variaciones oscilan entre los 12 y 28 días, y no se percibe una influencia de la temperatura en estos valores debido al pequeño intervalo en dicho factor. El tiempo mínimo y máximo de incubación es menor a los reportados en *C. patzcuarensis* (27-35 días) (Rodríguez-Serna, 2014), *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) (25 a 28 días) (Romero-Camarena *et al.*, 2013), *Procambarus clarkii* (0.8 a 1 mes) y *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852) (5 a 9 meses) (Ruiz-Olmo y Clavero, 2008).

En cuanto a la influencia que pudieron haber tenido los parámetros fisicoquímicos en la obtención de hembras ovígeras, la temperatura fue el único parámetro que registró variaciones en sus valores. Sin embargo, las fluctuaciones se manifestaron en un intervalo corto (entre 1 y 2°C) a lo largo del día y una diferencia de 4°C durante las trece semanas debido a la estacionalidad (incrementó conforme avanzó la primavera y declinó al final del verano); por lo cual se considera que no afectaron los aspectos reproductivos del acocil, a diferencia de lo reportado en otros estudios en donde las variaciones en la temperatura son más amplias (Díaz *et al.*, 2006). Aunado a lo anterior, los intervalos de temperatura registrados se encuentran entre los mencionados para *Cambarellus patzcuarensis* en cultivos reproductivos (Gallardo-Pineda *et al.*, 2015), y en estudios de bioenergética y crecimiento en *C. montezumae* (Cerón-Ortiz *et al.*, 2015; Arredondo-Figueroa *et al.*, 2011; Latornerié-Cervera *et al.*, 2006).

AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente trabajo agradecen el apoyo otorgado por el M. en C. José Dolores Solano Becerra adscrito al Departamento de Biología, Facultad de Química UNAM y a la Q.F.B. Estela Montufar Serrano adscrita al Departamento de Ingeniería en Industrias Alimentarias, IT-SOEH por su apoyo en la revisión del presente documento. A la Coordinación Sectorial de Desarrollo Académico por el apoyo financiero a través del proyecto 061.14-P04.

REFERENCIAS

- ABAD-ROSALES, S. M., M. BETANCOURT-LOZANO, F. VARGAS-ALBORES & A. ROQUE. 2011. Interacción de factores físicos, químicos y biológicos en el cultivo del camarón. *En*: A. Ruiz-Luna, C. A. Berlanga-Robles y M. Betancourt-Lozano (eds.). *Avances en Acuicultura y Manejo Ambiental*. Mazatlán, México: Trillas. pp: 151-164.
- ALEJO-PLATA, M. C., J. L. GÓMEZ-MÁRQUEZ & J. E. HERRERA-GALINDO. 2015. Tallas, sexos y madurez del calamar dardo *Lolliguncula diomedea* (Cephalopoda: Loliginidae) en el Golfo de Tehuantepec, México. *Research Journal of the Costa Rican Distance Education University* 7 (1):79-88.

- ÁLVAREZ, F. A. & R. RANGEL. 2007. Estudio poblacional del acocil *Cambarellus montezumae* (Crustácea: Decápoda: Cambaridae) en Xochimilco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 78: 431-437.
- ÁLVAREZ, T. P., F. SOTO, Q. S. AVILÉS, L. C. DÍAZ & C. L. TREVIÑO. 2012. Panorama de la investigación y su repercusión sobre la producción Acuícola en México. Disponible en línea: http://www.uanl.mx/utillerias/nutricion_acuicola/III/archivos/1.pdf (consultado el 16 noviembre 2016).
- ÁNGELES-MONROY, M. Á., A. N. CERÓN-ORTIZ, J. A. LEÓN-ESCAMILLA, D. V. RAMÍREZ-RODRÍGUEZ, M. A. AGUILAR-PÉREZ & E. MONTUFAR-SERRANO. 2010. Análisis de parámetros físico-químicos que afectan la población en medios naturales del acocil (*Cambarellus montezumae*) en Tezon-tepec de Aldama, Hidalgo. *I Reunión Nacional de Innovación Acuicola y Pesquera Campeche, Campeche*. Nutrición Acuicola.
- APÚN-MOLINA, J. P., A. SANTAMARÍA-MIRANDA, A. LUNA-GONZÁLEZ, S. F. MARTÍNEZ-DÍAZ & M. ROJAS-CONTRERAS. 2009. Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature. *Aquaculture Research* 40 (1): 887-894. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02172.x
- ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., A. VÁSQUEZ-GONZÁLEZ, L. G. NÚÑEZ-GARCÍA, I. A. BARRIGA-SOSA & J. T. PONCE-PALAFOX. 2011. Aspectos reproductivos del acocil *Cambarellus (Cambarellus) montezumae* (Crustacea: Decápoda: Cambaridae) en condiciones controladas. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 169-178.
- AYA-BAQUERO, E. & Y. VELASCO-SANTAMARÍA. 2013. Fecundidad y fertilidad de *Macrobrachium amazonicum* (Héller 1862) (Decápoda, Palaemonidae) del Piedemonte Llanero Colombiano. *Revista MVZ Córdoba* 18(3): 3773-3780.
- BARBOSA-SALDAÑA M., P. DÍAZ-JAIME & M. URIBE-ALCOCER. 2012. Variación morfológica del camarón café (*Farfantepenaeus californiensis*) en el Pacífico mexicano. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83: 42-50.
- BAZÁN, M., S. GÁMEZ & W. E. REYES. 2009. Rendimiento reproductivo de hembras de *Cryphiopsca ementarius* (Crustacea: Palaemonidae) mantenidas con alimento natural. *Revista Peruana de Biología* 16(2): 191- 193. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v16i2.205>
- CALCAGNO, J. A., G. A. LOVRICH, S. THATJE, U. NETTELMANN & K. ANGER. 2005. First year growth in the lithodids *Lithodes santolla* and *Paralomis granulosa* reared at different temperatures. *Journal of Sea Research* 54: 243-230. DOI: 10.1016/j.seares.2005.04.004
- CAMILO, M. D. & T. A. LUPPI. 2016. Hábitat e historia de vida de *Pachycheiltes laevidactylus* (Crustacea, Anomura, Porcellanidae) en el intermareal rocoso de Mar del Plata, Argentina. *Iheringia, Série Zoologia* 106: 1-9. DOI: 10.1590/1678-4766e2016015
- CASTILHO, A. L., M. A. GAVIO, R. C. COSTA, E. E. BOSCHI, R. T. BAUER & A. FRANSOZO. 2007. Latitudinal variation of population structure and reproductive pattern of the endemic South American shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda: Penaeoidea). *Journal of Crustacean Biology* 27: 548-552. DOI: <https://doi.org/10.1651/S-2788.1>
- CERÓN-ORTIZ, A. N., O. MOCTEZUMA-RESÉNDIZ, M. A. ÁNGELES-MONROY, E. MONTUFAR-SERRANO & J. A. LEÓN-ESCAMILLA. 2015. Efecto interactivo del alimento y la calidad de agua en el crecimiento y sobrevivencia de postlarvas de acocil de río *Cambarellus montezumae*. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86 (1): 131-142. DOI: <http://dx.doi.org/10.7550/rmb.48502>
- CORTÉS-JACINTO, E., H. VILLARREAL-COLMENARES & M. RENDÓN-RUMUALDO. 2003. Efecto de la frecuencia alimenticia en el crecimiento y sobrevivencia de juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) (Decapoda: Parastacidae). *Hidrobiológica* 13 (2): 151-158.
- DÍAZ, F., G. ESCALANTE, A. D. RE & E. SIERRA. 2006. Fisiología Energética de *Cherax quadricarinatus* (von Martens) alimentado con dos dietas, expuesto a un régimen constante y fluctuante de temperatura. *Hidrobiológica* 16 (1): 35-44.
- DÍAZ, N. F. & R. NEIRA. 2005. Biotecnología Aplicada a la Acuicultura I. Biotecnologías clásicas aplicadas a la reproducción de especies cultivadas. *Ciencia e Investigación Agraria* 31: 45-58.
- ESCAMILLA-MONTES, R., G. DE LA CRUZ-AGÜERO, M. T. VILLALEJO-FUERTE, M. T. & G. DIARTE-PLATA. 2013. Fecundidad de *Callinectes arcuatus* (ORDWAY, 1863) y *C. bellicosus* (STIMPSON, 1859) (Decapoda: Brachyura: Portunidae) en la Ensenada de la Paz, Golfo de California, México. *Universidad y Ciencia* 29 (1): 53-61.
- FISCHER, R. 1930. The Genetic Theory of Natural Selection. Clarendon Press, Oxford. disponible en línea en: <https://archive.org/details/geneticaltheoryo031631mbp> (consultado el 3 de noviembre 2016).
- FRANCO-MELÉNDEZ, M. T. 2012. Breeding behavior and sex ratio variation of *Pleuroncodes monodon* (Crustacea: Galatheididae) off the Peruvian coast. *Ciencias Marinas* 38 (2):441-457. DOI: <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v38i2.2032>
- GALLARDO-PINEDA, Y., M. RODRÍGUEZ-SERNA & C. CARMONA-OSALDE. 2015. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento, supervivencia y reproducción de juveniles de *Cambarellus patzcuarensis*. Disponible en línea en: <http://revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/262/249>(consultado el 10 de diciembre 2016).
- GARCÍA-PINTO, L., C. SANGRONIS, R. BUONOCORE & H. BRICEÑO. 20013. Aspectos reproductivos del cangrejo azul, *Callinectes sapidus*, en el sistema de Maracaibo. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 47(3): 191 – 207.
- HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P., B. D. ROUSE, M. A. OLVERA-NOVOA & A. D. DAVIS. 2003. Effects of dietary lipid level and source on growth and proximate composition of juvenile redclaw (*Cherax quadricarinatus*) reared under semi-intensive culture conditions. *Aquaculture* 223:107-115. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00135-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00135-2)
- HOLDICH, M. D. 1993. A review of astaciculture: freshwater crayfish farming. *Aquatic Living Resources* 6(3): 307-317. DOI: 10.1051/alr:1993032
- HUCK, E., A. MARTÍN & P. MILOSLAVICH. 2007. Contenido proteico en los diferentes estadios embrionarios. *Revista de Biología Tropical* 55 (1): 1-8. DOI: 10.15517/rbt.v55i0.5799
- KRAJANGDARA, T. & S. WATANABE. 2005. Growth and reproduction of the red frog crab, *Ranina ranina* (Linnaeus, 1758), in the Andaman Sea off Thailand. *Fisheries Science* 71(1): 20-28. DOI: 10.1111/j.1444-2906.2005.00926.x

- LATOURNERIÉ-CERVERA, J. R., Y. N. OSORIO, R. J. CÁRDENAS-VÁZQUEZ & J. ROMERO-JARERO. 2006. Crecimiento, producción y eficiencias de energía de crías de Acocil *Cambarellus Montezumae* (Saussure) alimentadas con detritus de *Egeria densa*. *Revista Electrónica de Veterinaria* VII 12, 11.
- LÓPEZ-GRECO, L. S. & M. RODRÍGUEZ. 1998. Size at the onset of sexual maturity in *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Grapsidae, Sesarninae): a critical overall view about the usual criteria for its determination. In: F. R. Scharam y J. Von Vaupel Klein. (eds.). *Crustacean and the Biodiversity Crisis*. Leiden, Holanda: Brill. pp: 675-689.
- LORÁN-NÚÑEZ, R. M., A. J. VALDÉZ-GUZMÁN & F. R. MARTÍNEZ-ISUNA. 2009. Estudio biológico del "burro" *Atya scabra* en el río. Los Pescados y río Actopan, Veracruz, México. *Ciencia Pesquera* 17(1): 5-16.
- MARTÍNEZ-PORCHAS, M., L. R. MARTÍNEZ-CÓRDOVA & R. RAMOS-ENRIQUEZ. 2009. Dinámica del crecimiento de peces y crustáceos. *Revista Electrónica de Veterinaria* 10(10):1-16.
- MIMBELA-LÓPEZ, J. 2000. Evaluación del crecimiento de hembras y macho de la langosta australiana de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, bajo condiciones controladas. Tesis, Área de acuicultura, Universidad de Colima. Manzanillo, Colima, México. 50 p.
- MORENO, C., C. GRAZIANI, J. G. NÚÑEZ & E. VILLAROE. 2011. Caracterización bioecológica y poblacional de tres comunidades de crustáceos decápodos en la costa Noroccidental del estado Sucre, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 29(1): 29-47.
- MUELLER, K. 2007. Reproductive habits of non-native red swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) at Pine Lake, Sammamish, Washington. *Northwest Science* 81(3): 246-250. DOI: 10.3955/0029-344X-81.3.246
- NORZAGARAY-CAMPOS, M., P. MUÑOZ SEVILLA, L. SÁNCHEZ VELASCO, L. CAPURRO-FILOGRASSO & O. LLANES-CÁRDENAS. 2012. Acuicultura: estado actual y retos de la investigación en México. *Revista AquaTIC* 37: 20-25.
- PARAMO, J. & S. NÚÑEZ-RICARDO. 2015. Estructura de tallas, talla media de madurez sexual y razón sexual de camarones de aguas profundas de importancia comercial en el Caribe colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 39(152): 408-415. DOI: 10.18257/raccefyn.242
- PARRA-MEDINA, J. C., Y. GARCÍA DE SEVEREYN, A. FERRER & H. SEVEREYN. 2010. Aspectos reproductivos del camarón *Macrobrachium amazonicum* (Heller) en la zona de Nazaret, San Rafael de El Mojón, Lago de Maracaibo, Venezuela. *Ciencia* 16(4): 402-408.
- PÉREZ-FERRO, D. G. & J. E. PARAMO-GRANADOS. 2014. Estadios de madurez del camarón rosado *Farfantepenaeus notialis* (PENAEIDAE) en el Caribe Colombiano. *Acta Biológica Colombiana* 19(2):185-194.
- REYES-AVALOS, W., G. M. VELÁSQUEZ & E. R. GONZÁLEZ. 2010. Maduración, muda y crecimiento de hembras del camarón de río *Cryphiops caementarius* con ablación del pedúnculo ocular, en condiciones de laboratorio. *SCIÉNDIO* 13 (2):20-27.
- REYNOLDS, J. D. 2002. Growth and Reproductions. In: D. Holdich (ed.). *Biology of freshwater crayfish*. Nottingham: Blackwell Science. pp: 152-191.
- RODRÍGUEZ, E., G. ARDILA & J. PARAMO. 2012. Relaciones morfométricas de crustáceos de profundidad de importancia comercial en el mar caribe colombiano. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural* 16 (2):236-245.
- RODRÍGUEZ-DOMÍNGUEZ, G., S. CASTILLO-VARGAS-MACHUCA, R. PÉREZ-GONZÁLEZ & E. A. ARAGÓN-NORIEGA. 2012. Estimation of the individual growth parameters of the brown crab *Callinectes bellicosus* (Brachyura, Portunidae) using a multi-model approach. *Crustaceana* 85(1): 55-69.
- RODRÍGUEZ-FELIX, D., M. A. CISNEROS-MATA, D. GUEVARA-AGUIRRE, E. A. ARAGÓN-NORIEGA & E. ALCÁNTARA-RAZO. 2018. Variability in fecundity of the brown crab, *Callinectes bellicosus* Stimpson, 1859 (Brachyura, Portunidae), along the coast of Sonora. *Crustaceana* 91(12): 1523-1536.
- RODRÍGUEZ-SERNA, M. 2014. Análisis ecológico y poblacional de la especie *Cambarellus patzcuarensis* del Lago de Pátzcuaro. In: R. I. Huerto delgado y S. Vargas Velázquez (eds.). *Estudio ecosistémico del lago de Pátzcuaro: aportes en gestión ambiental para el fomento del desarrollo sustentable*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Comisión Nacional del Agua, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. pp. 98-128.
- RODRÍGUEZ-SERNA, M. 1999. Biología y sistemática de los Cambáridos del sudeste de México y su potencial aprovechamiento en la acuicultura. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México.
- RODRÍGUEZ-SERNA, M. & C. CARMONA-OSALDE. 2002. Balance energético del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) (Crustacea: Astacidae: Cambaridae), pérdida de energía en la tasa metabólica. *Universidad y Ciencia* 18:128-134.
- ROMERO-CAMARENA, H., C. A. ZELADA-MENDOZA & J. P. ÁLVAREZ-VELIZ. 2013. Producción larval del Camarón de río (*Cryphiops caementarius*) en condiciones de laboratorio, Huacho, Perú. Infinitum. disponible en línea en: https://www.researchgate.net/publication/280962088_Produccion_larval_del_Camaron_de_rio_Cryphiops_caementarius_en_condiciones_de_laboratorio_Huacho_Peru. (consultado el 3 de diciembre 2016).
- Rondón, R., I. Sprock, J. Bolaños, C. Lira, J. Hernández, K. Salazar & E. Ron. 2012. Aspectos de la biología reproductiva de *Raninoides louisianensis*, brathbun, 1933 (decapoda: raninoidea: raninidae) en la Plataforma Deltana Venezolana. *Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela* 51 (1): 93-99.
- RUDOLPH, E. & J. IRAÇABAL. 1994. Desarrollo embrionario y postembrionario del camarón de río *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 65: 43-49.
- RUDOLPH, E., F. RETAMAL & A. MARTÍNEZ. 2010. Cultivo de camarón de río *Samastacus spinifrons*: ¿Una nueva alternativa para la diversificación de la acuicultura chilena?. *Latin American Journal of Aquatic Research* 38 (2): 254-264.
- RUIZ-OLMO, J. & M. CLAVERO. 2008. Los cangrejos en la ecología y recuperación de la nutria en la Península Ibérica. En: J. M. López-Martín y J. Jiménez (eds.), *La nutria en España. Veinte años de seguimiento de un mamífero amenazado*. Málaga, España: SECEM. pp. 369-396.

- SAMPOGNARO-CHARQUERO, L. 2014. Estructura y dinámica poblacional del camarón *Artemesia longinaris* Bate, 1888 (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) en Punta del Diablo, Uruguay. Disponible en línea en: <http://www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/pasan/uy24-16826.pdf> (consultado el 8 de octubre 2016).
- SÁNCHEZ-MEZA, P. E., J.J. ROMERO, R. P. NEGRETE, S. R. LÓPEZ & S. A. MALPICA. 2009. Aprovechamiento de los ambientes reducidos para la producción de organismos acuáticos susceptibles a cultivo para consumo humano. *Veterinaria México* 40 (1): 55-67.
- SÁNCHEZ-PAZ, A., F. GARCÍA-CARREÑO, A. MUHLIA-ALMAZAN, A. B. PEREGRINO-URIARTE, J. HERNÁNDEZ-LÓPEZ & G. YEPÍZ-PLASCENCIA. 2006. Usage of energy reserves in crustaceans during starvation: Status and future directions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36: 241-249. DOI: 10.1016/j.ibmb.2006.01.002
- Segura A. M. & E. A. Delgado. 2012. Size at sexual maturity and growth of the red shrimp *Pleoticus muelleri* (Decapoda: Penaeoidea) captured artisanally in the Atlantic coast of Uruguay. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 7 (3): 125-134.
- SERRANO-SILVAS, S. R. 2016. Caracterización morfológica, bioquímica y molecular de la vitelogénesis de las hembras del crustáceo subantártico centolla (*Lithodes santolla*). Tesis de Maestría. Uso, Manejo y Preservación de los Recursos naturales (Orientación en Biotecnología), Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, B.C.S., México. 124 p.

Efectos del diclofenaco en el rotífero dulciacuícola *Lecane papuana* (Murray, 1913) (Monogononta: Lecanidae).

Effects of diclofenac on the freshwater rotifer *Lecane papuana* (Murray, 1913) (Monogononta: Lecanidae)

Gabriela Ivonne Tovar-Aguilar¹, Mario Alberto Arzate-Cardenas^{2*} y Roberto Rico-Martínez³

Recibido: 18 de noviembre de 2018.

Aceptado: 05 de julio de 2019.

Publicado: agosto de 2019.

RESUMEN

Antecedentes: El diclofenaco (DCF) es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) que ha sido encontrado en aguas superficiales y subterráneas, derivado de su consumo en salud humana y veterinaria. Además, ha sido estudiado en diferentes modelos animales dulciacuícolas y se ha demostrado que tiene efectos perjudiciales en cladóceros, peces y anfibios, pero la información disponible aún es escasa en cuanto a las alteraciones inducidas en organismos que son base de los niveles tróficos como los rotíferos. **Objetivo:** En el presente trabajo se evaluó el efecto del DCF en respuestas agudas y crónicas en el rotífero *Lecane papuana* (Murray, 1913). **Métodos:** Se llevaron a cabo pruebas de toxicidad aguda en las que se determinó la concentración letal media del DCF (CL50 = 128.82 mg/L). Después, se seleccionaron cinco concentraciones subletales (1/160, 1/80, 1/40, 1/20 y 1/10 de la CL50) con sus respectivos testigos negativos (agua dura reconstituida), a las que fueron expuestos huevos amícticos para evaluar el efecto en la eclosión y también neonatos para pruebas de inhibición de la fecundidad y crecimiento poblacional, este último expresado en términos de *r*. **Resultados:** Se observó que el DCF reduce la tasa *r* a través de la inhibición de la eclosión de huevos amícticos y de la fecundidad de las hembras expuestas (menor cantidad de huevos/hembra) en concentraciones de 0.80 mg/L y superiores. Las concentraciones efectivas medias (CE50) fueron hasta 700 veces más bajas que la correspondiente CL50. **Conclusiones:** Estos resultados muestran que el DCF puede afectar a las poblaciones de rotíferos a concentraciones que, aunque son superiores a las concentraciones ambientales, su incorporación continua a los ambientes acuáticos tendría un efecto significativo en las poblaciones expuestas.

Palabras clave: antiinflamatorio no esteroideo, contaminantes emergentes, inhibición de la fecundidad, toxicidad crónica, zooplancton

ABSTRACT

Background: The diclofenac (DCF) is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) that has been found in groundwater and superficial water, as a result of its high consumption in animal and human health. Moreover, DCF toxicity has been studied in different fresh-water animal models and it has been shown to have harmful effects on cladocerans, fish and amphibians, but the available information is still scarce in terms of induced alterations in organisms that are the basis of trophic levels such as rotifers. **Goals:** The present work assessed the effect of DCF on acute and chronic responses of the freshwater rotifer *Lecane papuana* (Murray, 1913). **Methods:** Acute toxicity tests were carried out to determine the LC50 of DCF (128.82 mg/L). Then, five sublethal concentrations were selected (1/160, 1/80, 1/40 y 1/20, y 1/10 of the corresponding LC50), and a control group (reconstituted hard water), to which amictic eggs were exposed to determine the effect on hatching and neonates were exposed to evaluate the effects on further fecundity and population increase in terms of *r*. **Results:** DCF diminished the *r* rate through the inhibition of eggs hatching and reduced fecundity of exposed females (fewer eggs per female) at 0.80 mg/L and higher concentrations. The effective median concentrations were about 700-fold lower than the corresponding LC50. **Conclusions:** These results indicate that DCF can affect rotifer populations at concentrations, that despite being higher than environmental concentrations, and due to the continuous release of DCF to the aquatic systems, would eventually have a negative impact on the exposed populations.

Keywords: chronic toxicity, emergent contaminants, fecundity inhibition, non-steroidal anti-inflammatory drug, zooplankton

¹ Escuela de Ciencias de la Salud. Universidad del Valle de México Campus Toluca. Avenida de las Palmas Poniente 439, San Jorge Pueblo Nuevo, C.P. 52164, Metepec, México. México.

² Cátedras CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Av. Insurgentes Sur 1582, Crédito Constructor, Del. Benito Juárez, C.P. 03940, Ciudad de México. México.

³ Laboratorio de Toxicología Acuática, Departamento de Química, Centro de Ciencias Básicas. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 940, Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Ags. México.

***Corresponding author:**

Mario Alberto Arzate-Cardenas: e-mail: marzate@gmail.com

To cite as:

Tovar-Aguilar G. I., M. A. Arzate-Cardenas y R. Rico-Martínez. 2019. Efectos del diclofenaco en el rotífero dulciacuícola *Lecane papuana* (Murray, 1913) (Monogononta: Lecanidae). *Hidrobiológica* 29 (2): 63-72.

INTRODUCCIÓN

Debido a las actividades humanas, una gran cantidad de compuestos diversos han sido liberados al ambiente y sin ser el objetivo para el cual fueron diseñados, se han incorporado a las tramas tróficas, principalmente en cuerpos de agua por ser empleados en muchos casos como vertederos (Cizmas *et al.*, 2015). Entre estos nuevos contaminantes se encuentran fármacos y productos de cuidado y aseo personal, muchos de los cuales no son degradados por los métodos convencionales de tratamiento de aguas residuales (Capodaglio *et al.*, 2018).

Entre los fármacos más empleados en el mundo se encuentran los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), muchos de los cuales pueden conseguirse sin prescripción médica; además, también se encuentran entre los fármacos de mayor consumo por el sector salud por su efecto analgésico y antipirético (Katzung, 2007). Estas prácticas, sumadas a la falta de manejo adecuado de residuos y su uso veterinario, han logrado que este heterogéneo grupo de fármacos sea cuantificado con mayor frecuencia en efluentes (hospitalarios e industriales) y en diversos cuerpos de agua (Gómez-Oliván *et al.*, 2014a, 2014b).

El diclofenaco (DCF) es un AINE que se ha cuantificado en cuerpos de agua naturales y aguas subterráneas alrededor del mundo en niveles desde el orden de unos cuantos nanogramos por litro (ng/L), mientras que en efluentes hospitalarios las concentraciones pueden ser de hasta 1.9 µg/L (Nieder *et al.*, 2018). Las concentraciones de este fármaco en el ambiente pueden ser bajas debido a que tiende a degradarse por fotólisis; no obstante, su continua liberación al medio por el alto consumo de medicamentos que lo incluyen en su fórmula, tanto en medicina humana como veterinaria, podría ocasionar una exposición crónica a las especies dulciacuícola (Saucedo-Vence *et al.*, 2015). Además, se ha demostrado que este compuesto tiene un $\log K_{ow}$ entre 4.01 y 4.51 (Lefebvre *et al.*, 2010), y que puede acumularse en tejidos de diversos organismos (Schwaiger *et al.*, 2004, Świacka *et al.*, 2019), aunque es muy probable que por mecanismos de transformación este fármaco posea un bajo potencial de transferencia a través de las tramas tróficas (Xie *et al.*, 2015).

El DCF actúa como un inhibidor irreversible de las ciclooxigenasas, que son enzimas relacionadas con la síntesis de prostaglandinas (Dorne *et al.*, 2007). En organismos no diana se han reportado diversos efectos, como alteraciones del metabolismo, modificación de la actividad de enzimas antioxidantes, disminución de la fecundidad y bajas tasas de crecimiento poblacional y supervivencia, entre otras (Schwarz *et al.*, 2017; Majewska *et al.*, 2018; Yokota *et al.*, 2018).

A la fecha se han ocupado diferentes modelos animales para estudiar el efecto del DCF, entre los cuales pueden mencionarse a invertebrados como los rotíferos *Brachionus koreanus* (Hwang, Dahms, Park & Lee, 2013) (Rhee *et al.*, 2013) y *Plationus patulus* (Müller, 1786) (Sarma *et al.*, 2014; Martínez-Gómez *et al.*, 2015) y los cladóceros *Ceriodaphnia dubia* (Richard, 1894) y *Daphnia magna* (Straus, 1820) (Ferrari *et al.*, 2003; Haap *et al.*, 2008; Gómez-Oliván *et al.*, 2014a), s 0

Entre los modelos de vertebrados más empleados se encuentra el pez *Danio rerio* (Hamilton, 1822) (Praskova *et al.*, 2011; Cunha *et al.*, 2017), cuya fase embrionaria tiene una gran aplicación en estudios ecotoxicológicos pues permite identificar con gran facilidad alteraciones en el desarrollo durante esta etapa del ciclo de vida. Siguiendo esa misma tendencia, se cuenta hoy día con estudios de alteraciones

morfológicas en embriones de *Lithobates catesbaianus* (Shaw, 1802) y *Xenopus leavis* (Daudin, 1802) (Cardoso-Vera *et al.*, 2017). Sin embargo, no existen protocolos en los cuales se identifiquen estos mismos patrones en invertebrados dulciacuícola.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica (USEPA) presenta un listado de los organismos de prueba para ensayos de toxicidad; sin embargo, también sugiere el uso de modelos alternativos cuando no se cuenta con aquellos recomendados por la USEPA cuando no es posible importarlos y cuando los organismos autóctonos presenten una sensibilidad igual o mayor a los modelos convencionales (USEPA, 2002). Debido a que la mayoría de los protocolos para evaluación de la toxicidad son llevados a cabo con organismos limnéticos, existe aún la falta de información en organismos litorales, como los de la familia Lecanidae, que es una de las más diversas entre los rotíferos (Segers, 1995).

El género *Lecane* (Rotifera: Monogononta) es uno de los mayores representantes entre los rotíferos de agua dulce en territorio mexicano llegando a ocupar hasta el 45% de las especies de rotíferos, teniendo presencia en los estados del centro y sur de México (Quiroz-Vazquez, 2012). Además, diversos autores han confirmado la presencia de *Lecane papuana* (propuesto como organismo de prueba) en cuerpos de agua dulce (Sarma y Elías-Gutierrez, 1997, 1999; Vazquez-Sánchez *et al.*, 2014, Saucedo-Ríos *et al.*, 2017); además, de la amplia distribución que presenta esta especie, pudiendo encontrarse desde Estados Unidos hasta Brasil (Green, 1986; Lucena *et al.*, 2015).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo es presentar evidencia de que el DCF disminuye el crecimiento poblacional de *Lecane papuana* al inhibir por una parte la fecundidad y por otra la eclosión de huevos amícticos expuestos a este fármaco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los cultivos de *Lecane papuana* fueron mantenidos en el laboratorio por múltiples generaciones a través de hembras partenogénicas. Los lotes reproductores se mantuvieron con una densidad de 5 individuos/mL, alimentados con 10^6 células/mL de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Hibberd, 1981) cultivada en medio basal de Bold (Stein, 1973), fotoperiodo de 16 h luz por 8 h de oscuridad, y renovación total del medio al menos dos veces por semana. Previo al inicio de los bioensayos, se separaron los huevos de *Lecane* que se encontraban en el fondo de cajas de Petri, se transfirieron a medio EPA fresco sin alimento y se conservaron hasta su eclosión. Para todos los bioensayos se emplearon organismos menores de 24 h (USEPA, 2002).

Ensayos de toxicidad aguda. En placas de poliestireno de 24 pozos se colocaron al menos cinco concentraciones nominales diferentes de DCF (1, 3, 6, 13, 25 y 50 mg/L) en medio EPA y sus respectivos grupos control. El DCF se preparó a una concentración inicial de 2500 mg/L en agua desionizada; todas las diluciones posteriores fueron realizadas en medio EPA, teniendo en la concentración mayor (50 mg/L) sólo el 2% de agua desionizada con respecto al volumen final (1 mL). En cada pozo se colocó 1 mL de las soluciones de DCF, se depositaron 10 organismos de menos de 24 h de edad. Las placas fueron incubadas por 48 h a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con un fotoperiodo de 16 h luz por 8 h de oscuridad, sin alimento ni renovación del medio durante el bioensayo. Al término de la prueba se contabilizaron los organismos inmóviles y/o muertos en cada

concentración. Todas las concentraciones contaron con ocho réplicas. Con los datos de mortalidad se calculó la concentración letal media (CL50), y las concentraciones letales al 1 y 10% (CL1, CL10) mediante el paquete estadístico *drc* en R (Ritz *et al.*, 2015).

Bioensayos de toxicidad crónica. Se evaluaron cinco concentraciones diferentes que consistieron en fracciones de la CL50 de DCF para *L. papuana*, siendo 1/160, 1/80, 1/40 y 1/20 y 1/10, que corresponden a 0.82, 1.64, 3.28, 6.56, y 13.12 mg/L (concentraciones nominales), respectivamente. Cada una de las concentraciones contó con ocho réplicas ($n = 8$), para lo cual fue necesario el empleo de dos microplacas de poliestireno de 24 pozos cada una. Al inicio de la prueba fueron colocados 5 rotíferos menores de 24 h en cada pozo (réplica). Como alimento se suministraron 10^6 células/mL de *N. oculata* cultivada en medio basal de Bold. Se incubaron por un periodo de 120 h con fotoperiodo de 16 h luz por 8 h de oscuridad, a 25°C. El volumen final para las pruebas fue de 2 mL. Cada 24 horas se adicionaron 100 μ L de agua destilada para evitar pérdida de volumen por evaporación. Al final del bioensayo se contaron los organismos de cada réplica. Con estos datos se estimó la tasa intrínseca de crecimiento poblacional de cada réplica en cada tratamiento a través de la fórmula (Krebs, 1985):

$$r = [\ln(N_f) - \ln(N_i)] \cdot t^{-1}$$

en donde r es la tasa de crecimiento poblacional, \ln representa el logaritmo natural de N_f y N_i , número final e inicial de organismos por réplica, respectivamente, y t el tiempo que duraron las pruebas de toxicidad.

Efecto del diclofenaco en la fecundidad de *Lecane papuana*. Del mismo modo que las pruebas de toxicidad crónica, se emplearon cinco concentraciones nominales de DCF (0.82, 1.64, 3.28, 6.56 y 13.12 mg/L) y un testigo sin fármaco. En una microplaca de poliestireno transparente de 24 pozos se colocaron 5 organismos por réplica, cuatro réplicas por tratamiento ($n = 4$), en 2 mL de medio con 10^6 células de *N. oculata* y se incubaron a 25°C con un fotoperiodo de 16 horas luz por 8 horas de oscuridad. Cada 12 h se revisaron los diferentes tratamientos y se contabilizaron los huevos producidos en cada réplica durante tres días. Los resultados se reportan como huevos amícticos producidos por hembra por día.

Efecto del diclofenaco en la eclosión de huevos de *L. papuana*. Se llevó a cabo la renovación completa del medio de todos los lotes reproductores de *L. papuana* la noche previa a la selección de huevos amícticos, que fueron separados en un tiempo menor a 12 h posteriores al mantenimiento de los lotes reproductores y 2 h previas al inicio de las pruebas. Éstas consistieron en la exposición de huevos amícticos de *L. papuana* a las mismas concentraciones subletales que fueron empleadas en las pruebas crónicas (0.82, 1.64, 3.28, 6.56, y 13.12 mg DCF/L), además de los testigos correspondientes. Se incubaron a 25°C, con fotoperiodo 16 h de luz por 8 h de oscuridad, sin alimento, sin renovación del medio, en 2 mL de medio EPA. Se expusieron un total de 100 huevos por cada concentración (tratamiento) divididos en bloques de 20 por cada réplica ($n = 5$). Se contabilizaron los huevos eclosionados después de 24 h y 48 h de exposición. Con estos datos se calculó el porcentaje de eclosión en cada tratamiento.

Análisis Estadístico. Para los resultados de los diferentes ensayos se realizaron los correspondientes análisis de varianza (ANDEVA) de un solo factor y pruebas de comparación múltiple de Tukey. Las diferencias significativas entre los tratamientos se establecieron con un nivel de

significancia $P < 0.05$. Estos análisis se llevaron a cabo con ayuda del paquete *ggplot2* en el software estadístico R.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados de las pruebas de toxicidad aguda, en la que se observan los valores de concentración letal media (CL50) y los valores de CL1 y CL10, en sustitución de la concentración de efecto no observado (CENO, o por sus siglas en inglés, *No Observed Effect Concentration* (NOEC) y la menor concentración de efecto observado (MCEO), o del inglés LOEC, *Lowest Observed Effect Concentration*).

En los ensayos de toxicidad crónica, en las cuales se expusieron a los rotíferos por un periodo de cinco días, se encontró que el aumento en la concentración de DCF disminuyó la tasa reproductiva de *L. papuana* (Fig. 1), siendo significativa en todos los tratamientos, desde la concentración más baja (0.82 mg/L) que representa el 0.6% de la CL50 de DCF (128.82 mg/L) y que está dentro del intervalo correspondiente a la CE10 para estas pruebas de toxicidad (tabla 2).

En la figura 2 se presentan los resultados de la exposición por 24 y 48 horas a DCF; la tasa de crecimiento poblacional en ambos casos se vio afectada significativamente conforme se incrementaba la concentración del fármaco. En los grupos expuestos durante 24 h hubo diferencias significativas con respecto al control en los rotíferos a partir de 1.64 mg/L mientras que en los grupos cuya exposición fue de 48 h pueden observarse diferencias estadísticamente significativas a partir de 3.28 mg/L. En los grupos de 48 h se aprecia una meseta entre los grupos que se encuentran a la izquierda de la gráfica, del testigo hasta 1.64 mg DCF/L, que difiere de los organismos expuestos por 24 h en los que la tendencia a disminuir el valor de r es más evidente desde las primeras concentraciones. Es importante señalar que la tasa de crecimiento de los controles de 48 h fue menor que la de los de 24 h, muy probablemente por la falta de alimento en este periodo.

En la figura 3 se presentan los datos de fecundidad de las hembras de *L. papuana*, en la que puede observarse que el DCF, a concentraciones iguales o mayores a 0.82 mg/L, disminuye significativamente la cantidad de huevos que pueden producir estos rotíferos, siendo hasta menos de la mitad con respecto al control en concentraciones de 6.56 y 13.12 mg/L.

Tabla 1. Resultados de las pruebas agudas (48 h) de *Lecane papuana* (Murray, 1913) expuestos a diclofenaco.

	Media	EEM	LI	LS
CL1 (mg/L)	59.262	6.569	46.386	72.137
CL10 (mg/L)	88.869	5.502	78.084	99.653
CL50 (mg/L)	128.823	3.630	121.708	135.939

CLx, concentración letal a diferentes proporciones (1%, 10%, 50%); EEM, error estándar de la media; LI, límite inferior del intervalo de confianza, LS, límite superior del intervalo de confianza. Los valores de CLx se obtuvieron a partir de los datos de mortalidad de ocho ($n = 8$) pruebas de toxicidad, calculados mediante el paquete *drc* del software estadístico R.

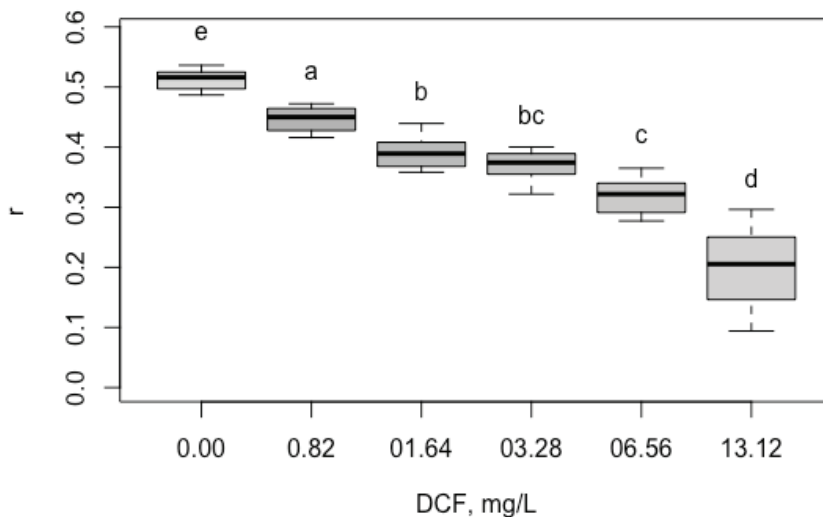


Figura 1. Efecto de la concentración de diclofenaco (DCF, mg/L) en el rotífero dulciacuícola *Lecane papuana* (Murray, 1913) expuesto durante 5 días (pruebas crónicas). El eje ordenado presenta la tasa de crecimiento poblacional (r , d^{-1}) calculada a partir de la fórmula de Euler-Lotka. Diferentes letras minúsculas sobre las cajas representan diferencias significativas entre los tratamientos, que fueron establecidas con un nivel de significancia de 0.05 a través de ANDEVA de un factor y pruebas de comparación múltiple de Tukey ($n = 8$).

Tabla 2. Respuestas poblacionales de *Lecane papuana* (Murray, 1913) expuestos a diclofenaco.

Respuesta	Parámetro	Promedio	EEM	LI	LS
Tasa de crecimiento poblacional (5 días)	CE ₅₀	9.582	1.109	7.349	11.814
	CE ₁₀	0.734	0.227	0.277	1.191
	CE ₁	0.090	0.049	-0.008	0.189
Tasa de crecimiento poblacional (24 h exposición)	CE ₅₀	11.429	1.626	8.147	14.710
	CE ₁₀	1.320	0.626	0.056	2.584
	CE ₁	0.227	0.191	-0.158	0.613
Tasa de crecimiento poblacional (48 h exposición)	CE ₅₀	8.066	0.521	7.014	9.119
	CE ₁₀	4.436	0.799	2.823	6.049
	CE ₁	2.724	0.814	1.101	4.347
Eclosión (24 h)	CE ₅₀	10.325	2.017	6.281	14.369
	CE ₁₀	0.666	0.224	0.218	1.115
	CE ₁	0.071	0.047	-0.024	0.167
Eclosión (48 h)	CE ₅₀	10.809	2.212	6.373	15.244
	CE ₁₀	0.590	0.207	0.176	1.005
	CE ₁	0.055	0.038	-0.022	0.132

CE_x, concentración efectiva a diferentes proporciones (1%, 10%, 50%); EEM, error estándar de la media; LI, límite inferior del intervalo de confianza, LS, límite superior del intervalo de confianza, que fueron calculados mediante el paquete *drc* del software estadístico R. Todos los valores están expresados en mg/L.

En la figura 4 se presentan los resultados de la eclosión de huevos de *L. papuana* expuestos a diferentes concentraciones de DCF. Se evaluaron dos tiempos diferentes, 24 y 48 h, aunque la mayoría de los huevos habían eclosionado a las 24 h, por lo cual no se encontraron diferencias significativas con respecto al tiempo dentro del mismo tratamiento. El factor significativo en estos ensayos fue la concentración de DCF, que a partir de 3.28 mg/L disminuyó el porcentaje de eclosión de los huevos de *L. papuana*.

En la tabla 2 se presentan las concentraciones efectivas para diferente nivel de efecto, 1, 10 y 50 % (CE₅₀, CE₁₀, y CE₁) para las pruebas de toxicidad crónica. Además, se obtuvieron los valores de concentración del tóxico máxima aceptable (CTMA), o por sus siglas en inglés, MATC (*Maximum Acceptable Toxicant Concentration*), que de acuerdo con la respuesta evaluada puede variar entre 0.820 y 2.319 mg/L cuando se consideran valores de NOEC y LOEC, mientras que al considerar los valores de CE₁ y CE₁₀ se obtuvieron CMAT entre 0.180 y 3.476 mg/L (tabla 3).

DISCUSIÓN

La sensibilidad del rotífero *Lecane papuana* a diclofenaco es muy semejante a la que se encuentra en otros miembros del zooplancton, como *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (CL₅₀ = 142.6 mg/L; Lee et al., 2011) y *Daphnia magna* (CL₅₀ = 94.1 mg/L; Ra et al., 2008). Sin embargo, existen también datos con *D. magna* que sitúan los valores de CL₅₀ entre 40 y 70 mg DCF/L, que son significativamente menores a los obtenidos con *L. papuana*. No obstante, consideramos que los datos aquí generados son de importancia por la escasa información que se tiene acerca de contaminantes emergentes, como fármacos, en organismos que no son usados convencionalmente en pruebas de toxicidad acuática, principalmente en México, en el que la normativa vigente incluye el uso de *D. magna*, una especie holártica que no se distribuye

de manera natural en territorio mexicano. Por lo tanto, es necesaria la búsqueda de alternativas sensibles a diversos contaminantes, que incluyan diferentes niveles tróficos, y que sean de fácil cultivo y acceso (Martínez-Jerónimo *et al.*, 2008).

En la tabla 1, dados los valores de CL10 (88.869 mg/L) y CL1 (59.262 mg/L), se observa que *L. papuana* parece no representar a una especie sensible al DCF (en pruebas de toxicidad aguda), en comparación con otras especies zooplanctónicas como en los rotíferos de la familia Brachionidae, con valores de LOEC y NOEC más bajos (12.5 y 25 mg/L, respectivamente; Ferrari *et al.*, 2003) o en *D. magna* con la que se encuentran valores de CL10 de 15.2 mg/L (Cleuvers, 2004). Reportes previos con organismos de la familia Lecanidae mencionan que estos rotíferos poseen una lóricas más gruesa en comparación con los rotíferos de la familia Brachionidae y que ésta podría funcionar como una barrera en contra de los tóxicos que se presentan en el ambiente y por esta razón disminuir su sensibilidad en pruebas de toxicidad aguda (Hernández-Ruiz *et al.*, 2016). Aunque aún no se ha determinado el mecanismo exacto para dicha barrera, con iones metálicos (cromatos con carga negativa) se ha observado que pueden depositarse en la lóricas de *Lecane quadridentata* en mayor proporción que en *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766 (Hernández-Ruiz *et al.*, 2016). Entonces, es probable que el DCF en forma aniónica se deposite en la lóricas; sin embargo, es necesario confirmar estas suposiciones mediante estudios dirigidos a elucidar el mecanismo de toxicidad del DCF en rotíferos.

A la fecha, la información publicada con respecto al efecto de fármacos en rotíferos es aún escasa, en especial aquellos que evalúan respuestas de intoxicación crónica. Por lo tanto, es de destacar los trabajos de Martínez-Gómez *et al.* (2015), quienes expusieron por seis días al rotífero *P. patulus* al analgésico acetamidofenol, encontrando que la fecundidad de los rotíferos se veía disminuida a partir de concentraciones de 10 mg/L y superiores, así como el de Sarma *et al.* (2014), quienes reportaron que concentraciones iguales o mayores a 12.5 mg de DCF/L inhibieron la reproducción de *P. patulus*. Por otra parte, González-Pérez *et al.*, (2016) evaluaron el efecto del ibuprofeno (AINE) en *Brachionus calyciflorus* y *B. havanensis* (Rousselet, 1911) mostrando que la concentración mínima a la que se observa disminu-

ción de la fecundidad es a partir de 12.5 mg/L. En el caso de *L. papuana* (este trabajo), la reproducción fue significativamente disminuida a partir de 0.820 mg de DCF/L (Fig. 1) y se registró una CE50 de 9.582 mg/L (LOEC = 0.820 mg/L) (tabla 2), denotando una mayor sensibilidad de *L. papuana* en respuestas de intoxicación crónica en comparación con los otros rotíferos; sin embargo, el valor de CE50 es muy parecido a las concentraciones mínimas a las que los otros autores encontraron efectos adversos significativos.

Dada la escasez de datos de la toxicidad del DCF hacia los rotíferos, se han comparado con otros miembros del zooplancton, particularmente con cladóceros; en *C. dubia* el valor de CENO para reproducción fue 1 mg/L (Ferrari *et al.*, 2003), en *M. macrocopa* se reportó en 16.7 mg/L (Lee *et al.*, 2011) y para *D. magna* de 10 mg/L (Han *et al.*, 2006). Aunque la sensibilidad de *L. papuana* es menor que la de las especies de cladóceros para las respuestas de intoxicación aguda, se observa que al evaluar respuestas crónicas (Fig. 2) el rotífero *L. papuana* es hasta diez veces más sensible que los mismos cladóceros arriba mencionados.

La alta sensibilidad de *L. papuana* con respecto a la inhibición del crecimiento poblacional, generó dos preguntas: a) ¿El bajo crecimiento poblacional de *Lecane* se debe a que el DCF disminuye la fecundidad de las hembras expuestas?; o b) ¿La disminución del crecimiento poblacional se debe a que el DCF afecta la eclosión de los huevos amícticos de *L. papuana*? Para contestar la primera pregunta se contaron los huevos depositados por hembras expuestas a DCF a las 24 y 48 h de exposición (Fig. 3), encontrando una menor cantidad de huevos conforme se incrementó la concentración de DCF. Por lo tanto, el fármaco alteró la respuesta reproductiva de *L. papuana* reduciendo el número de huevos por hembra desde el inicio de la prueba, evento que podría deberse a que el DCF actúa como inhibidor de las ciclooxigenasas, enzimas que están relacionadas con la síntesis de prostaglandinas (Gan, 2010) y cuya baja actividad se ha visto relacionada con la extensión del promedio de vida en *B. koreanus* a expensas de la fecundidad, que se ve reducida por alteraciones en el metabolismo de lípidos (Lee *et al.*, 2018).

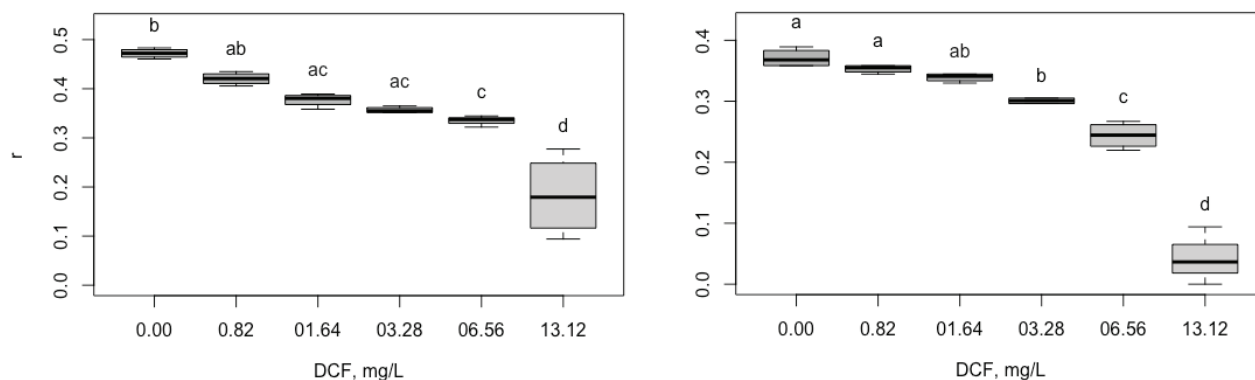


Figura 2. Efecto de la concentración de diclofenaco (DCF, mg/L) en *Lecane papuana* (Murray, 1913) expuestos durante 24 h (izquierda) y 48 h (derecha). El periodo de crecimiento del rotífero fue de cinco días sin DCF. El eje ordenado presenta la tasa de crecimiento poblacional (r , d^{-1}) calculada a partir de la fórmula de Euler-Lotka. Las letras minúsculas sobre las cajas representan diferencias significativas entre los tratamientos, que fueron establecidas con un nivel de significancia de 0.05 a través de ANDEVA de un factor y pruebas de comparación múltiple de Tukey ($n = 8$).

Tabla 3. Comparación del efecto del DCF en respuestas de intoxicación aguda y crónica, expresada como la relación entre toxicidad aguda/crónica (RTAC)

Respuesta evaluada	Valores definidos por ANDEVA (arbitrarios)				Valores obtenidos por regresión lineal			
	CNEO	MCEO	CMPT	RTAC	CE1	CE10	CMPT	RTAC
r, 5 días	<0.820	0.820	0.820	157.101	0.090	0.734	0.257	501.215
r, 24 h	0.820	1.640	1.160	111.087	0.227	1.320	0.547	235.339
r, 48 h	1.640	3.280	2.319	55.544	2.724	4.436	3.476	37.059
eclosión, 24 h	1.640	3.280	2.319	55.544	0.071	0.666	0.217	592.416
eclosión, 48 h	1.640	3.280	2.319	55.544	0.055	0.590	0.180	715.132

CNEO, concentración de no efecto observado; MCEO, mínima concentración a la que se observó efecto tóxico; CMPT, concentración máxima permitida de un tóxico; RTAC, relación entre toxicidad aguda y crónica; CE, concentración efectiva al 1% o 10%; r, tasa de crecimiento poblacional (d^{-1}). Todas las concentraciones están expresadas en mg/L.

La tasa de crecimiento poblacional de *L. papuana* al exponerse al DCF fue menor que la de los testigos, que puede explicarse parcialmente por la baja fecundidad de las hembras por la ya mencionada alteración del metabolismo de lípidos. Otro factor que influyó en los bajos valores de *r* se debió a la disminución del porcentaje de eclosión de los huevos expuestos a DCF (Fig. 4). En el pez *Danio rerio* se tiene información de que el DCF se adhiere a las membranas de los embriones expuestos (alrededor del 5% de la concentración en el medio), mientras que otra parte (alrededor del 50% del material que asociado a la membrana) se internaliza hacia el citosol; en donde causa diferentes anomalías en los embriones; además de disminuir la capacidad motriz del mismo organismo, lo que en cierta forma disminuye su potencial para eclosionar (Chen *et al.*, 2014). Consideramos que un mecanismo semejante puede estar actuando en los embriones de *L. papuana*, dado que el DCF tiene una carga negativa, éste podría asociarse con las diferentes estructuras polares, como los grupos carbonilo en las proteínas y alterar procesos metabólicos importantes en el desarrollo embrionario.

De acuerdo con los datos de De Felice *et al.* (2012), la toxicidad del DCF en embriones de *D. rerio* se debe a la falta de regulación de enzimas que participan en la gluconeogénesis y en el metabolismo de lípidos, la generación de estrés oxidativo y al incremento de procesos apoptóticos, lo que conlleva a la generación de disfunción mitocondrial y desórdenes metabólicos; que entre otros efectos, pueden observarse malformaciones en los embriones expuestos (ausencia de hígado, degeneración muscular, hidroedema, pigmentación anormal, entre otros) (Chen *et al.*, 2014). También en modelos de anfibios (embriones de *Xenopus laevis*) se han observado efectos teratogénicos y alteraciones del desarrollo embrionario ocasionadas por la exposición a DCF (Chae *et al.*, 2015); evidencia que indica que el efecto tóxico de este fármaco no es exclusivo de peces y por lo tanto, podría observarse en otros modelos animales, como el de *L. papuana*, que para esta especie se argumenta que generaría retrasos en el tiempo de eclosión y como consecuencia, disminución de la tasa de crecimiento poblacional, efecto observado experimentalmente en este trabajo.

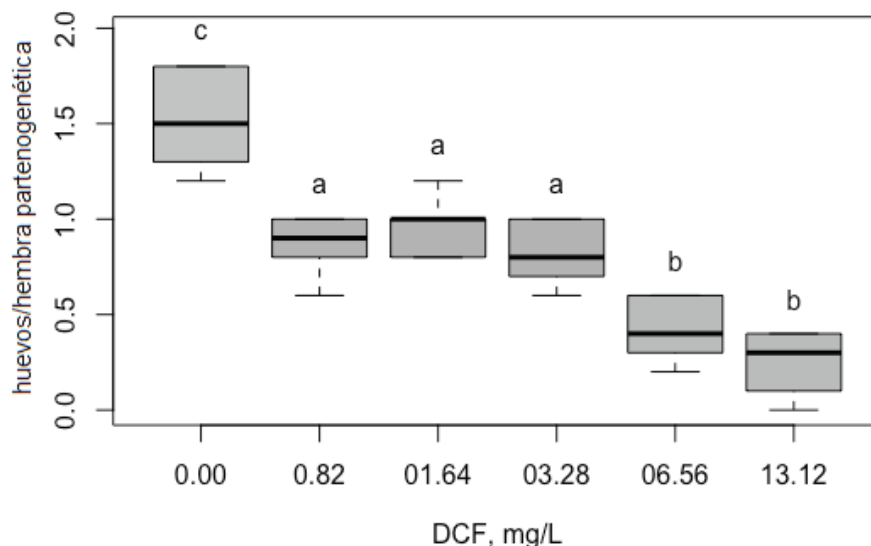


Figura 3. Efecto de la concentración de diclofenaco (DCF, mg/L) en la fecundidad (número de huevos por hembra) de *Lecane papuana* (Murray, 1913). Los huevos depositados en cada réplica fueron retirados y contabilizados cada 12 horas, dejando en los pozos de la microplaca sólo los organismos iniciales. Las letras minúsculas sobre las cajas representan diferencias significativas entre los tratamientos, que fueron establecidas con un nivel de significancia de 0.05 a través de ANDEVA de un factor y pruebas de comparación múltiple de Tukey ($n = 4$).

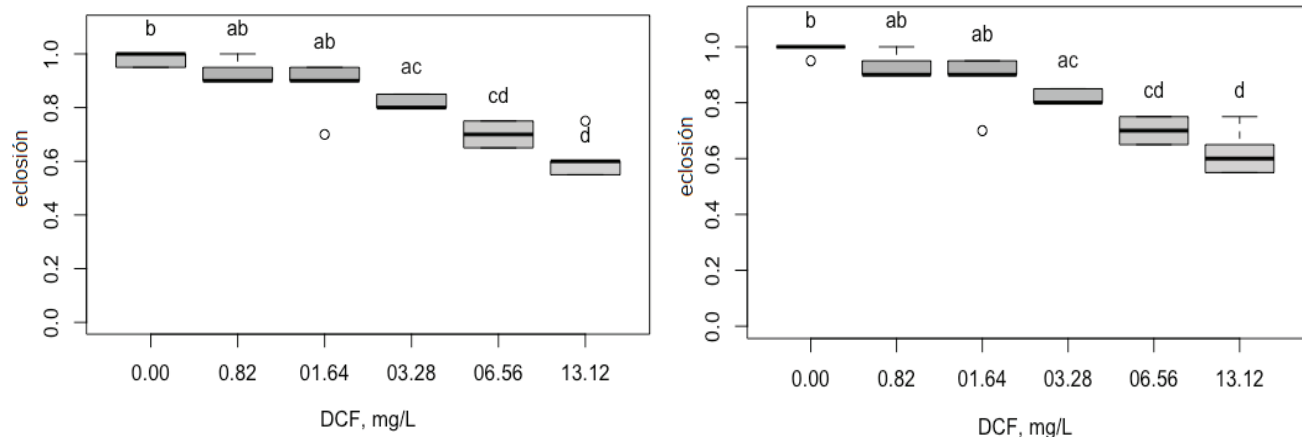


Figura 4. Efecto de la concentración de diclofenaco (DCF, mg/L) en la eclosión de huevos de *Lecane papuana* (Murray, 1913) expuestos durante 24 h (izquierda) y 48 h (derecha). Las letras minúsculas sobre las cajas representan diferencias significativas entre los tratamientos, que fueron establecidas con un nivel de significancia de 0.05 a través de ANDEVA de un factor y pruebas de comparación múltiple de Tukey ($n = 5$).

Los resultados de las pruebas de toxicidad agudas, subletales, y crónicas, sirvieron para calcular valores como CEx y CLx, derivados de análisis matemáticos y que de acuerdo con Laskowski (1995) son de mayor trascendencia que los valores CENO y MCEO (que también fueron obtenidos). Al observar la tabla 3 encontramos que al emplear los valores CENO y MCEO se tiene una relación máxima de 157 entre las respuestas agudas y las respuestas crónicas, siendo la tasa de crecimiento poblacional el parámetro más sensible, mientras que la eclosión de los huevos partenogenéticos resultó tres veces menos susceptible al efecto del DCF. Sin embargo, al emplear los valores de CEx, donde x es igual al 1% o 10%, la respuesta más susceptible fue la eclosión a las 48 h (ACR = 715.132), en segundo lugar la eclosión a las 24 h (ACR = 592.416) y en tercer lugar la tasa r (ACR = 501.215), que puede estar indicando que la baja en crecimiento poblacional se debe primeramente al retraso en la eclosión de los huevos expuestos a DCF, efecto que ha sido discutido en párrafos previos.

La exposición de 24 h y 48 h afectaron significativamente la fecundidad de *L. papuana* reduciendo la tasa de crecimiento poblacional, pero sus valores son muy diferentes entre sí, obteniéndose los valores más altos para la CMAT en los organismos que estuvieron expuestos por 48 h. Dado que la comparación se realizó con respecto al control, cuya fecundidad también se vio afectada, es muy probable que sea el resultado de la falta de alimento durante este periodo en combinación con el efecto tóxico del DCF, del cual se ha discutido que reduce el número de huevos que producen las hembras expuestas. Cuando las condiciones del medio son desfavorables (baja cantidad de alimento, presencia de depredadores o de tóxicos en el ambiente), los organismos del zooplancton pueden destinar la energía almacenada hacia la supervivencia, pero no al crecimiento o a la reproducción (Arzate-Cárdenas & Martínez-Jerónimo, 2012), disminuyendo así la tasa de crecimiento poblacional, del mismo modo que el DCF ha actuado en *L. papuana*.

Las concentraciones de DCF en aguas superficiales se encuentran generalmente alrededor de unos cuantos microgramos por litro y en algunos casos alcanzaron valores cercanos a los 4.7 $\mu\text{g/L}$ (Vie-

no & Sillanpää, 2014). Sin embargo, los estudios a escala laboratorio son llevados a cabo con concentraciones superiores a las detectadas en ambientes naturales. No obstante, se han justificado estos trabajos por la necesidad de conocer cuáles son los posibles mecanismos de toxicidad de los contaminantes emergentes, entre ellos diversos fármacos, cuyo consumo va incrementándose con el tiempo (Lonappan *et al.*, 2016). Además, aunque el DCF no es considerado un compuesto persistente, los organismos acuáticos pueden estar expuestos a éste y otros fármacos por tiempos prolongados dada su incorporación al medio por la liberación continua a partir de aguas residuales hospitalarias y municipales, en las cuales la concentración de fármacos suele ser más alta (Heberer & Feldman, 2005).

A pesar de la rápida fotodegradación del DCF, sus metabolitos son oxidados hacia intermediarios de la benzoquinonimina, que son más persistentes en el ambiente y sumamente tóxicos para los organismos acuáticos; pueden además depositarse en los sedimentos o adsorberse en la materia orgánica en solución y a partir de ahí ser consumidos por los invertebrados acuáticos (Oviedo-Gómez *et al.*, 2010). Por lo anterior, la intoxicación de *L. papuana* en exposiciones crónicas podría deberse tanto al fármaco en su forma original o por algún producto de su oxidación. No obstante, esto genera una hipótesis cuya exploración escapa por ahora los objetivos de este trabajo, que implicaría la extracción y cuantificación del DCF (y metabolitos) en rotíferos, que por su pequeño tamaño y escasa cantidad de biomasa, representaría un reto para el desarrollo de métodos analíticos.

Consideramos que este trabajo aporta evidencias importantes en las afectaciones que pueden sufrir los organismos del género *Lecane*, un grupo de rotíferos del cual a la fecha se cuenta con poca información sobre su susceptibilidad a contaminantes diversos. Además, los contaminantes emergentes como los fármacos (entre ellos el DCF) han adquirido mayor relevancia al encontrarse concentraciones crecientes en cuerpos de agua e incluso en agua para uso y consumo humano (Heberer, 2002). Por estos motivos, es necesario contar con modelos para la evaluación de la toxicidad, que sean representativos de los cuerpos

de agua de la zona de acuerdo con su distribución natural y cuya sensibilidad sea comparable con la de los modelos convencionales de los que se tiene una gran base de datos como *D. magna* (USEPA, 2002).

En conclusión, la exposición a DCF disminuye la fecundidad de *L. papuana* muy probablemente por alteración del metabolismo de lípidos, además de retrasar la eclosión de huevos amícticos de este rotífero cuando se expone a concentraciones entre 500 y 700 veces menores que la CL50 correspondiente, siendo inferiores a las reportadas para otros organismos del zooplancton de agua dulce en pruebas de toxicidad crónica. Por lo anterior, podría establecerse el uso de huevos amícticos de rotíferos como una prueba estándar de toxicidad al ser lo suficientemente sensible y rápida (<48h).

AGRADECIMIENTOS

MAAC agradece al Programa de Cátedras CONACYT (ID 811). Los autores, MAAC y RRM, agradecen al Sistema Nacional de Investigadores por el apoyo otorgado.

REFERENCIAS

- ARZATE-CÁRDENAS, M.A. & MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F. 2012. Energy resource reallocation in *Daphnia schodleri* (Anomopoda: Daphniidae) reproduction induced by exposure to hexavalent chromium. *Chemosphere* 87 (4): 326-332. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.12.014
- CAPODAGLIO, A.G., BOJANOWSKA-CZAJKA, A. & TROJANOWICZ, M. 2018. Comparison of different advanced degradation processes for the removal of the pharmaceutical compounds diclofenac and carbamazepine from liquid solutions. *Environmental Science and Pollution Research* 25(28): 27704-27723. DOI: 10.1007/s11356-018-1913-6
- CARDOSO-VERA, J.D., ISLAS-FLORES, H., SANJUAN-REYES, N., MONTERO-CASTRO, E.I., GALAR-MARTÍNEZ, M., GARCÍA-MEDINA, S., ELIZALDE-VELÁZQUEZ, A., DUBLÁN-GARCÍA, O. & GÓMEZ-OLIVÁN, L.M. 2017. Comparative study of diclofenac-induced embryotoxicity and teratogenesis in *Xenopus laevis* and *Lithobates catesbeianus*, using the frog embryo teratogenesis assay: *Xenopus* (FETAX). *Science of the Total Environment* 574: 467-475. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.095.
- CHAE, J.P., PARK, M.S., HWANG, Y.S., MIN, B.H., KIM, S.H., LEE, H.S. & PARK, M.J. 2015. Evaluation of developmental toxicity and teratogenicity of diclofenac using *Xenopus* embryos. *Chemosphere* 120: 52-58. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.05.063
- CHEN, J.B., GAO, H.W., ZHANG, Y.L., ZHANG, Y., ZHOU, X.F., LI, C.Q. & GAO, H.P. 2014. Developmental toxicity of diclofenac and elucidation of gene regulation in zebrafish (*Danio rerio*). *Scientific Reports* 4: 4841. DOI: 10.1038/srep04841
- CIZMAS, L., SHARMA, V.K., GRAY, C.M. & McDONALD, T.J. 2015. Pharmaceuticals and personal care products in waters: occurrence, toxicity, and risk. *Environmental Chemistry Letters* 13 (4): 381-394. DOI: 10.1007/s10311-015-0524-4
- CLEUVERS, M. 2004. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59 (3): 309-315. DOI: 10.1016/S0147-6513(03)00141-6
- CUNHA, V., BURKHARDT-MEDICKE, K., WELLNER, P., SANTOS, M.M., MORADAS-FERREIRA, P., LUCKENBACH, T. & FERREIRA, M. 2017. Effects of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) on multixenobiotic resistance (MXR) related efflux transporter activity in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 136: 14-23. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.10.022
- DE FELICE, B., COPIA, L. & GUIDA, M. 2012. Gene expression profiling in zebrafish embryos exposed to diclofenac, an environmental toxicant. *Molecular Biology Reports* 39(3): 2119-2128. DOI: 10.1007/s11033-011-0959-z
- DORNE, J., SKINNER, L., FRAMPTON, G., SPURGEON, D. & RAGAS, A. 2007. Human and environmental risk assessment of pharmaceuticals: differences, similarities, lessons from toxicology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387: 1259-1268. DOI: 10.1007/s00216-006-0963-7
- FERRARI, B., PAXÉUS, N., LO GIUDICE, R., POLLIO, A. & GARRIC, J. 2003. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55(3): 359-370. DOI: 10.1016/S0147-6513(02)00082-9
- GAN, T.J. 2010. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Current Medical Research and Opinion* 26 (7): 1715-1731. DOI: 10.1185/03007995.2010.486301
- GÓMEZ-OLIVÁN, L.M., GALAR-MARTÍNEZ, M., GARCÍA-MEDINA, S., VALDÉS-ALANÍS, A., ISLAS-FLORES, H. & NERI-CRUZ, N. 2014a. Genotoxic response and oxidative stress induced by diclofenac, ibuprofen and naproxen in *Daphnia magna*. *Drug and Chemical Toxicology* 37 (4): 391-399. DOI: 10.3109/01480545.2013.870191
- GÓMEZ-OLIVÁN, L.M., NERI-CRUZ, N., GALAR-MARTÍNEZ, M., ISLAS-FLORES, H. & GARCÍA-MEDINA, S. 2014b. Binary mixtures of diclofenac with paracetamol, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid and these pharmaceuticals in isolated form induce oxidative stress on *Hyalella azteca*. *Environmental Monitoring and Assessment* 186 (11): 7259-7271. DOI: 10.1007/s10661-014-3925-0
- GONZÁLEZ-PÉREZ, B.K., SARMA, S.S.S. & NANDINI, S. 2016. Effects of selected pharmaceuticals (ibuprofen and amoxicillin) on the demography of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 42 (3): 341-347. DOI: 10.1016/j.ejar.2016.09.003
- GREEN, J. 1986. Associations of zooplankton in six crater lakes in Arizona, Mexico and New Mexico. *Journal of Zoology* 208 (1): 135-159. DOI: 10.1111/j.1469-7998.1986.tb04715.x
- HAAP, T., TRIEBSKORN, R. & KÖHLER, H.R. 2008. Acute effects of diclofenac and DMSO to *Daphnia magna*: immobilisation and hsp70-induction. *Chemosphere* 73(3): 353-359. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.05.06
- HAN, G.H., HUR, H.G. & KIM, S.D. 2006. Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (1): 265-271. DOI: 10.1897/05-193R.1
- HEBERER, T. 2002. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology* 266 (3-4): 175-189. DOI: 10.1016/S0022-1694(02)00165-8

- HEBERER, T & FELDMANN, D. 2005. Contribution of effluents from hospitals and private households to the total loads of diclofenac and carbamazepine in municipal sewage effluents--modeling versus measurements. *Journal of Hazardous Materials* 122 (3): 211-218. Erratum in: *Journal of Hazardous Materials* 127 (1-3): 249.
- HERNÁNDEZ-RUIZ, E., ALVARADO-FLORES, J., RUBIO-FRANCHINI, I., VENTURA-JUÁREZ, J. AND RICO-MARTÍNEZ, R. 2016. Adverse effects and bioconcentration of chromium in two freshwater rotifer species. *Chemosphere* 158: 107-115. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.05.067
- KATZUNG, B. 2007. *Farmacología Básica y Clínica* (9a ed.). Mexico: Manual Moderno.
- KREBS, C.J. 1985. *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. 3a Ed. Harper and Row, New York. 67 pp.
- LASKOWSKI, R. 1995. Some good reasons to ban the use of NOEC, LOEC and related concepts in Ecotoxicology. *OIKOS* 73: 140-144. DOI: 10.2307/3545738
- LEE, J., JI, K., LIM KHO, Y., KIM, P. & CHOI, K. 2011. Chronic exposure to diclofenac on two freshwater cladocerans and Japanese medaka. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74(5): 1216-1225. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2011.03.014
- LEE, M.C., PARK, J.C., YOON, D.S., HAN, J., KANG, S., KAMIZONO, S., OM, A.S., SHIN, K.H., HAGIWARA, A. & LEE JS. 2018. Aging extension and modifications of lipid metabolism in the monogonont rotifer *Brachionus koreanus* under chronic caloric restriction. *Scientific Reports* 8(1):1741. DOI: 10.1038/s41598-018-20108-7
- LEFEBVRE, O., LEE, L.Y. & YONG, N.H. 2010. Physico-chemical treatment of Micropollutants: coagulation and membrane processes. In: Virkutyte, J., Jegatheesan, V., & Varma, R.S. (Ed). *Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater*. IWA Publishing, London, UK.
- LONAPPAN, L., BRAR, S.K., DAS, R.K., VERMA, M. & SURAMPALLI, R.Y. 2016. Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. *Environment International* 96:127-138. DOI: 10.1016/j.envint.2016.09.014.
- LUCENA, L.C.A., MELO, T.X., & MEDEIROS, E.S.F. 2015. Zooplankton community of Paranaíba River, Northeastern Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensis* 27 (1): 118-129. DOI: 10.1590/S2179-975X3214
- MAJEWSKA, M., HARSHKOVA, D., GU CIORA, M. & AKSMANN, A. 2018. Phytotoxic activity of diclofenac: Evaluation using a model green alga *Chlamydomonas reinhardtii* with atrazine as a reference substance. *Chemosphere* 209: 989-997. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.06.156.
- MARTÍNEZ-GÓMEZ, D.A., BACA, S. & WALSH, E.J. 2015. Lethal and sublethal effects of selected PPCPs on the freshwater rotifer, *Platyonus patulus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 34 (4): 913-22. DOI: 10.1002/etc.2873
- MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F., RODRÍGUEZ-ESTRADA, J. & MARTÍNEZ-JERÓNIMO, L. 2008. *Daphnia exilis* Herrick, 1895 (Crustacea: Cladocera): Una especie zooplanctónica potencialmente utilizable como organismo de prueba en bioensayos de toxicidad aguda en ambientes tropicales y subtropicales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 24(4): 153-159. DOI: S0188-49992008000400001
- NIEDER, R., BENBI, D.K. & REICHL, F.X. 2018. Occurrence and Fate of Human and Veterinary Medicinal Products. In: Nieder, R., Benbi, D.K. & Reichl, F.X. 2018. *Soil Components and Human Health*. Springer, Dordrecht. pp. 659-721. DOI: 10.1007/978-94-024-1222-2_12
- OVIEDO-GÓMEZ, D.G., GALAR-MARTÍNEZ, M., GARCÍA-MEDINA, S., RAZO-ESTRADA, C. & GÓMEZ-OLIVÁN, L.M. 2010. Diclofenac-enriched artificial sediment induces oxidative stress in *Hyalella azteca*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 29 (1): 39-43. DOI: 10.1016/j.etap.2009.09.004.
- PRASKOVA, E., VOŠLAROVA, E., ŠIROKA, Z., PLHALOVA, L., MACOVA, S., MARSALEK, P., PISTEKOVA, V. & SVOBODOVA, Z. 2011. Assessment of diclofenac LC50 reference values in juvenile and embryonic stages of the zebrafish (*Danio rerio*). *Polish Journal of Veterinary Sciences* 14(4): 545-549. DOI: 10.2478/v10181-011-0081-0
- QUIROZ-VÁZQUEZ, P. 2012. Base de datos de la colección de zooplancton de agua dulce de ECOSUR, Chetumal. El Colegio de la Frontera Sur. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto No. HC001. México D. F.
- RA, J.S., OH, S. Y., LEE, B. C. & KIM, S. D. 2008. The effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds. *Environment International* 34 (2): 184-192. DOI: 10.1016/j.envint.2007.08.001
- RHEE, J. S., KIM, B. M., JEONG, C. B., PARK, H. G., LEUNG, K. M., LEE, Y. M. & LEE, J. S. 2013. Effect of pharmaceuticals exposure on acetylcholinesterase (AChE) activity and on the expression of AChE gene in the monogonont rotifer, *Brachionus koreanus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology and Pharmacology* 158 (4): 216-224. DOI: 10.1016/j.cbpc.2013.08.005
- RITZ, C., BATY, F., STREIBIG, J. C. & GERHARD, D. 2015. Dose-Response Analysis Using R. *PLoS One*. 10(12): e0146021. DOI: 10.1371/journal.pone.0146021
- SARMA, S. S. S. & ELÍAS-GUTIÉRREZ, M. 1997. Taxonomic studies of freshwater rotifers (Rotifera) from Mexico. *Polish Archives of Hydrobiology* 44: 341-357.
- SARMA, S.S.S. & ELÍAS-GUTIÉRREZ, M. 1999. Rotifers (Rotifera) from four natural water bodies of Central Mexico. *Limnologia* 29: 475-483.
- SARMA, S. S. S., GONZÁLEZ-PÉREZ, B. K., MORENO-GUTIÉRREZ, R. M. & NANDINI, S. 2014. Effect of paracetamol and diclofenac on population growth of *Platyonus patulus* and *Moina macrocopa*. *Journal of Environmental Biology* 35 (1): 119-126.
- SAUCEDO-RÍOS, S., SANTOS-MEDRANO, G.E. & RICO-MARTÍNEZ, R. 2017. Life table analysis reveals variation in thermal tolerance among three species of the *Lecane* genus (Rotifera: Monogononta). *Annales of Limnologie – International Journal of Limnology* 53: 253-259. DOI: 10.1051/limn/2017009
- SAUCEDO-VENCE, K., DUBLÁN-GARCÍA, O., LÓPEZ-MARTÍNEZ, L.X., MORACHIS-VALDES, G., GALAR-MARTÍNEZ, M., ISLAS-FLORES, H. & GÓMEZ-OLIVÁN, L.M. 2015. Short and long-term exposure to diclofenac alter oxidative stress status in common carp *Cyprinus carpio*. *Ecotoxicology* 24: 527-539. DOI: 10.1007/s10646-014-1401-9
- SCHWARZ, S., SCHMIEG, H., SCHEURER, M., KÖHLER, H.R. & TRIEBSKORN, R. 2017. Impact of the NSAID diclofenac on survival, development, behaviour and health of embryonic and juvenile stages of brown trout, *Salmo*

- trutta f. fario*. *Science of the Total Environment* 607-608: 1026-1036. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.042.
- SCHWAIGER, J., FERLING, H., MALLOW, U., WINTERMAYR, H. & NEGELE, R. D. 2004. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology* 68(2):141-50. DOI: 10.1016/j.aquatox.2004.03.014
- SEGBERD, H., 1995. Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World: Volume 2: Rotifera: The Lecanidae (Monogonota), SPB Academic Publishing, Leyden, The Netherlands, 226 p.
- STEIN, J. R. 1973. *Handbook of phycological methods*. Culture Methods and growth measurements, Cambridge at the University Press, London, New York, 1973. pp. 448.
- ŚWIACKA, K., SZANIAWSKA, A., & CABAN, M. 2019. Evaluation of bioconcentration and metabolism of diclofenac in mussels *Mytilus trossulus* - laboratory study. *Marine Pollution Bulletin* 141: 249-255. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.02.050
- USEPA. 2002. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 5a Ed. U.S. Environmental Protection Agency. EPA-821-R-02-012.
- VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, A., REYES-VANEGAS, G., NANDINI, S. & SARMA, S. S. S. 2014. Diversity and abundance of rotifers during an annual cycle in the reservoir Valerio Trujano (Tepecoacuilco, Guerrero, Mexico). *Inland Waters* 4: 293-302. DOI: 10.5268/IW-4.3.564.
- VIENO, N. & SILLANPÄÄ, M. 2014. Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant - a review. *Environment International* 69: 28-39. DOI: 10.1016/j.envint.2014.03.021.
- XIE, Z., LU, G., LIU, J., YAN, Z., MA, B., ZHANG, Z. & CHEN, W. 2015. Occurrence, bioaccumulation, and trophic magnification of pharmaceutically active compounds in Taihu Lake, China. *Chemosphere* 138: 140-147. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.05.086
- YOKOTA, H., TAGUCHI, Y., TANAKA, Y., UCHIYAMA, M., KONDO, M., TSURUDA, Y., SUZUKI, T. & EGUCHI, S. 2018. Chronic exposure to diclofenac induces delayed mandibular defects in medaka (*Oryzias latipes*) in a sex-dependent manner. *Chemosphere* 210:139-146. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.016

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth and digestive enzymes activity fed with autochthonous probiotics

Crecimiento y actividad de las enzimas digestivas de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas con probióticos autóctonos

José Alberto Ramírez-Torrez¹, María del Carmen Monroy-Dosta², Luis Héctor Hernández Hernández^{3*}, Jaime Bustos-Martínez⁴, Aida Hamdan-Partida⁴, Jorge Castro-Mejía⁵ and Dafne Itzel Orozco-Rojas¹.

Recibido: 23 de noviembre de 2018.

Aceptado: 13 de julio de 2019.

Publicado: agosto de 2019.

ABSTRACT

¹ Alumno del Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

² Laboratorio de Análisis Químico de Alimento Vivo - Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

³ Laboratorio de Producción Acuícola - Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México

⁴ Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular - Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

⁵ Laboratorio de Alimento Vivo - Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México, México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Avenida de los Barrios 1, Los Reyes Iztacala, 54090, Tlalnepantla, Estado de México, México

*Corresponding author:

Luis Héctor Hernández Hernández: e-mail: luish3@yahoo.com

To quote as:

Ramírez-Torrez J. A., M. del C. Monroy-Dosta, L. H. Hernández Hernández, J. Bustos-Martínez, A. Hamdan-Partida, J. Castro-Mejía, D. I. and Orozco-Rojas. 2019. Growth and digestive enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with autochthonous probiotics. *Hidrobiológica* 29 (2): 73-81.

Background: Probiotics in aquaculture are becoming important to improve the welfare of fishes because of some benefits to their physiological processes and, consequently, to their growth. **Goals:** To assess the effects of two autochthonous bacterial strains with probiotic features on the Rainbow trout growth and its digestive enzyme activities. **Methods:** In this study, the effect of *Bacillus pumilus* (BP), *Bacillus* sp. (BSP) and the mixture (BPSP) was tested on the growth and the activity of digestive enzymes of the Rainbow trout. The autochthonous strains, previously characterized as potential probiotics *in vitro*, were administered individually at 1×10^7 CFU g⁻¹ food and as a mixture, for the last one the concentration was 0.5×10^7 CFU g⁻¹ of food for each one; during 8 weeks. **Results:** Neither of the strains used generated significant growth, compared to the control. Fishes fed with BSP had a better growth respect to BP and BPSP. The highest activity of enzymes was obtained in the fish treated with bacteria, but only BPSP-treated fish had a significant increase ($P < 0.05$) in the three enzymes activities, compared to the control. Under the current test conditions, individual strains had no significant effects on growth, but the consortium had a significant increasing effect on enzyme activities.

Keywords: Digestive enzymes; probiotics; Rainbow trout

RESUMEN

Antecedentes: Los probióticos en la acuicultura han ganado importancia, ya que pueden mejorar la salud de los peces debido a los efectos positivos en la fisiología digestiva de los animales y, consecuentemente, en el crecimiento. **Objetivos:** Evaluar el efecto de dos cepas bacterianas autóctonas con potencial probiótico sobre el crecimiento y la actividad de las proteasas totales, lipasa y amilasa de la trucha arcoíris. **Métodos:** Se evaluó el efecto de *Bacillus pumilus* (BP), *Bacillus* sp. (BSP) y la mezcla (BPSP) en el crecimiento y la actividad de enzimas digestivas de la trucha arcoíris. Las cepas autóctonas, previamente caracterizadas como potenciales probióticos *in vitro*, fueron suministradas a los peces a una densidad celular de 1×10^7 UFC g⁻¹ de alimento, individualmente y la mezcla, a la mitad de la concentración cada una; durante ocho semanas. **Resultados:** Ninguna de las cepas empleadas generó crecimiento significativo, comparado con el control. Sin embargo, los peces alimentados con BSP tuvieron mejor crecimiento, respecto de BP y BPSP. La actividad enzimática (proteasas, lipasa y amilasa) más alta se obtuvo en los peces alimentados con BPSP, y fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) del control. **Conclusiones:** Las condiciones de experimentación evaluadas no generaron efecto significativo sobre el crecimiento y la actividad de las enzimas digestivas cuando las cepas se suministraron individualmente. El consorcio bacteriano incremento significativamente la actividad de los tres grupos enzimáticos de la trucha arcoíris.

Palabras clave: enzimas digestivas, probióticos, trucha arcoíris

INTRODUCTION

The growing need for food at global and local level has led to the development of production methods adequately to supply the demand. Aquaculture plays an important role in this aspect and it is clear that, its role will be decisive in food production (FAO, 2016), in years to come. In Mexico, aquaculture production is a growing activity, and specifically the production of Rainbow trout has maintained a sustained growth in the last decades (García-Mondragón *et al.*, 2013; SAGARPA, 2017). However, the production of this species begins to face associated complications related to improvement of health and nutrition of organisms in cultivation (FAO, 2018). Commercial diets for Rainbow trout don't offer any additional advantage other than the specified nutrient content, which doesn't guarantee their assimilation. This would mean food wastage, since it represents 40% to 70% of the total investment (Chao & Liao, 2007). In this sense, fish digestion is based on the production and activity of endogenous enzymes (Alarcón *et al.*, 1997; Ray *et al.*, 2012), and, recently, it has been reported that *thatits microbiota* has an important role in fish digestion, because the bacterial community wide range of hydrolases to this process (Bairagi *et al.*, 2002; Mondal *et al.*, 2008). Lately, in aquaculture, the development and application of probiotics has gained importance, considering that they can exert beneficial effects on the host (Ray *et al.*, 2012; Pandiyan *et al.*, 2013). From the physiological point of view, positive relationships have been found between probiotics and the digestion process, particularly, on the production and activity of digestive enzymes (Yanbo & Zirong, 2006; Rønnestad *et al.*, 2013). Consequently, probiotics are an option to increase fish digestion leading to a better growth of organisms and, therefore, to aquaculture development (Zorriehzahra *et al.*, 2016). This study aimed to determine the effect of *Bacillus pumilus* (BP), *Bacillus* sp. (BSP), and a mixture of them (BPSP) on the growth and digestive enzymes activities of *Oncorhynchus mykiss*, focusing on improving the production in this species.

MATERIAL AND METHODS

Bacteria. Strains *Bacillus pumilus* and *Bacillus* sp., used in the present study, were isolated, identified, and characterized as potential probiotics under *in vitro* conditions by Ramírez-Torrez *et al.* (2018).

Fish and diet. The Rainbow trout fingerlings (1.8 ± 0.03 g) were taken from the Aquaculture Center "El Zarco", Estado de México, Mexico, and transported to the Laboratorio de Producción Acuícola at FES Iztacala-UNAM. Health condition, visible abnormalities, and absence of skin lesions or hemorrhage were corroborated on the fish. The organisms were aleatory selected and conditioned in a recirculation system for 15 days and fed with basal diet (Biofingerling of Malta Clayton®), following the feeding program indicated by the manufacturer. An average of 88 g of initial biomass was distributed in plastic tanks of 160 L each. The containers were distributed in aleatory blocks as well. Experimental groups remained independent of each other, and only same group replicates were in are circulating aquaculture system. The groups corresponded to one control (CTRL); and those treated with BP, BSP, or BPSP. For the CTRL, commercial food was provided without added bacteria. For the treatments, bacterias were added to the food at 1×10^7 CFU g^{-1} . Each strain of the consortium had a concentration of 0.5×10^7 CFU g^{-1} of food. Bacteria were suspended in sterile distilled water, added to the food, mixing constantly, and aerated under a laminar flow hood for

eight hours. Subsequently, the prepared food was stored according to manufacturer's recommendations. Twice a day, fishes were fed at 6% of their biomass, as recommended by the formulated food manufacturer. Administration of bacteria in food to the experimental groups was intercalated, i.e., in the first week no group received bacteria; in the second week, the bacteria (BP, BSP, or BPSP) were added to the treated groups, except to the CTRL, and so on successively until the eighth week.

Viability of bacteria added to the food. The bacteria's viability in the food was determined as follows: a sample of 5 g of prepared food was taken, suspended in sterile saline solution (0.89%), adjusted to 10 mL, and homogenized in a culture tube. An aliquot of 100 μ L was extracted, inoculated in BHI agar plates. Viability was determined by counting the CFU per gram, after an incubation of 24 h at 30 °C; this was done on the first, fourth, and seventh day of having added the bacteria to the food (Madigan *et al.*, 2012).

From the prepared food, bacteria was recovered as follows: a homogenate was prepared, three decimal sequential dilutions were made, and aliquots were inoculated in three culture media: BHI, MRS, and TCBS (Difco™ and BBL™ Manual, NJ, USA). Agar plates were incubated at 32 °C for 24 h. Each differentiated bacterial colony was subcultured onto culture plates and the isolated bacteria was identified by sequencing the gene encoding the 16S rRNA (Han, 2006; Mignard and Flan-drois, 2006; Janda and Abbott, 2007), and amplified by the polymerase chain reaction (PCR), based on the methodology described by Hamdan (2004) and Sambrook and Russel (2011). The DNA was isolated with the Wizard® Genomic DNA Purification Kit (PROMEGA®, Madison, WI, USA). The PCR was performed with the Master Mix® PCR kit (PROMEGA®) with a total volume of 25 μ L of mixture reaction, according to manufacturer's instructions. In the thermocycler was induced (Bio-Rad® My Cycler, Hercules, CA, USA), following a pre-incubation cycle at 94 °C for 5 min; 40 cycles of denaturation at 94 °C for 38 s, hybridization at 52 °C for 40 s, and pre extension at 72 °C for 40 s; followed by an extension cycle at 72 °C for 7 min and, finally, a final cooling cycle at 4 °C. PCR amplicons were visualized on 1.5% agarose and stained with ethidium bromide (0.5μ g mL^{-1}), excited under 300 nm. PCR products were purified with the Illustra® Exoprostar® kit (GE®, CT, USA); sequencing was made by Macrogen, Inc. (Seoul, South Korea) and the information obtained was analyzed using the NCBI Blast algorithm and compared with the sequences available in the GenBank data base (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

The strains used had more than 90% viability.

Growth determination. Assessment of fish growth was made by measuring its biomass at the beginning, and at four and eight weeks of experimentation, and determined as:

Weight gain (WG):

$$WG = W_f - W_i$$

Where:

W_i : initial weight

W_f : final weight

Relative growth (RG; Busacker *et al.*, 1990):

$$RG = \frac{(W_f - W_i)}{W_i} * 100$$

Where:

W_i : initial weight

W_f : final weight

Specific growth rate (SGR; Ricker, 1979):

$$SGR = \frac{(\ln W_f - \ln W_i)}{\text{days}} * 100$$

Where:

$\ln w_i$: natural logarithm of initial weight

$\ln w_f$: natural logarithm of final weight

days: time of experimentation in days

Feed conversion ratio (FCR; Ramos *et al.*, 2017):

$$FCR = \frac{\text{Food offered in grams}}{\text{weight gain}}$$

Survival (S; Uribe & Luna-Figueroa, 2003):

$$S\% = \frac{\text{Final number of fish}}{\text{Initial number of fish}} * 100$$

Digestive somatic index (DSI; Hidalgo *et al.*, 1999):

$$DSI = \left(\frac{\text{Weight of GIT}}{\text{Weight of fish}} \right) * 100$$

Where:

GIT: Gastrointestinal tract

Enzyme activity determination. Fishes were fasted for 36 hours and, then, euthanized by thermal shock and subsequent decapitation (AVMA, 2013), and kept at 4 °C. The gastrointestinal tract (GIT) was removed and stored in an ultra-freezer (Thermo Fisher Scientific® Model: ULT1786-6-A49, Asheville, NC, USA), at -70 °C, until the samples were processed. The GIT was homogenized at 2 °C and diluted 1:9 (weight: volume) in phosphate buffer (pH 7.0). The suspension was centrifuged at 22,000 *g* (Microfuge 22R, Beckman Coulter®, Brea, CA, USA), for 30 min at 4 °C and the supernatant was recovered. From this, aliquots of 100 and 200 µL were prepared and stored at -70 °C, until their analysis was made (AVMA, 2013; Cahu & Zambonino-Infante, 1994).

The total protein content was measured, with the Lowry method (Waterborg, 2002), done with the Total Protein Kit, Micro Lowry, Peterson's Modification with precipitation (Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA), following the manufacturer's specifications. The assays were designed to obtain the specific activity from crude extracts of the fish GIT (Cahu & Zambonino-Infante 1994; García-Ortega *et al.*, 2003). To determine the specific activity of enzymes, a discontinuous spectrophotometric method was used (Nelson & Cox, 2008; Bisen, 2014; Cornish-Bowden, 2014). The generation of the product in a given period was measured, expressed as the change of the mixture in optical density (OD) (Cope-land, 2000; Mantle & Harris, 2000).

Proteases. Total proteolytic activity was determined by the method of casein hydrolysis described by Kunitz (1947) and modified by Walter (1984). The total volume of the reaction was 1.2 mL, composed of 250

µL of 1% casein (w/v) in sterile distilled water, 250 µL of phosphate buffer, pH 7.0, and 100 µL of GIT extract; then incubated at 37 °C for 1 h. The reaction was stopped by adding 8% trichloroacetic acid (Hidalgo *et al.*, 1999; Furné *et al.*, 2005). The mixture was centrifuged at 1800 *g* for 10 min and OD was measured at 280 nm. Tyrosine was used as a standard and one unit of proteolytic activity was defined as the amount of enzyme that releases 1 µmol of tyrosine mL⁻¹ min⁻¹ (Furné *et al.*, 2005; Al-Saraji & Nasir, 2013; Ahumada-Hernández *et al.*, 2014).

Lipase. Specific activity of lipase was determined by titration of fatty acids released from the hydrolysis of an olive oil emulsion, pH 8.0 (Näher, 1974; Ali *et al.*, 2010). The mixture's total volume was 7.6 mL, which consisted of 2 mL of olive oil emulsion (10% of olive oil - 10% of acaciagum in distilled water), 0.4 mL of 0.6% CaCl₂, 1 mL of phosphate buffer (pH 7.0), 0.2 mL of crude extract, and 4 mL of absolute alcohol-acetone (1:1) - phenolphthalein (0.09%). The mixture was titrated with 0.1 N NaOH. A unit of specific activity was considered as the amount of enzyme that releases 1 mmol of fatty acids in 1 min under specified conditions.

α-Amylase. Amylase activity was measured by the method described by Rick and Stegbauer (1974), based on starch hydrolysis, pH 7.0, detected from the release of the reducing group. The mixture's total volume was 1.2 mL, composed of 50 µL of starch solution (0.5 g of soluble starch and 17.5 mg of NaCl in 50 mL of 0.1 M potassium phosphate at pH 7.0), 50 µL of crude extract, 100 µL of dinitrosalicylate reagent (DNS, 1 g in 20 mL of 2 N NaOH and 50 mL H₂O, 30 g of K-Na tartrate and 100 mL distilled water), and 1 mL of distilled water. After adding the extract, the sample was incubated at 25 °C for 5 min and after DNS addition, the mixture was incubated at 100 °C for 10 min, then the OD was measured at 546 nm. One unit was defined as the amount of enzyme that released 1 µmol of reducing groups, calculated as maltose per minute from starch hydrolysis at 25 °C, pH 7.0, and maltose as standard.

Data analysis. Biometrical data of fish and specific enzyme activities were tested for parametric statistical assumptions and one-way ANOVA was used to identify differences among experimental groups, considering bacterial strains as variation source. When ANOVA indicated significant differences (α < 0.05), a Tukey test was applied to identify differences among groups (Montgomery, 2001; Zar, 2010). All analyses were performed with SYSTAT® ver. 12 for Windows®.

RESULTS

Growth. There was no significant difference ($P > 0.05$) in the initial biomass among the experimental units. The animals grew more than 900% after 8 weeks of experimentation; with a significant increase ($P < 0.05$) with respect to their initial weight. The survival rates among the groups didn't show significant differences. No significant effects ($P > 0.05$) or better growth were observed in the weight gain of the fish fed with bacteria compared to the CTRL during the eight weeks. However, when an ANOVA was made only among groups treated with probiotics, the BSP group exhibited a better weight gain (15.5 ± 0.06) and was statistically different ($P < 0.05$), contrasted to BP (14.7 ± 0.06) and BPSP (14.1 ± 0.04). Nevertheless, no significant effects were detected in the remaining calculated parameters (Table 1).

Enzyme activity. The inclusion of bacterial strains had a positive effect on the activity of the digestive enzymes. The proteolytic activity after 8

weeks of experimentation had a significant ($P < 0.05$) increase in fish fed with BPSP (0.23886 ± 0.000316), with the highest value, followed by BSP (0.23816 ± 0.001279), BP (0.23099 ± 0.000597), and CTRL (0.22452 ± 0.000492 ; Fig. 1). The lipase activity also displayed significant differences ($P < 0.05$) among groups and was higher in BSP (0.68284 ± 0.0001720) and BPSP (0.69012 ± 0.0004517), as compared to BP (0.68284 ± 0.0001720) and CTRL (0.68277 ± 0.0001394 ; Fig. 2). The amylolytic activity was higher and statistically different ($P < 0.05$) in BPSP (0.03877 ± 0.00000) than BS (0.03801 ± 0.00001), BP (0.03803 ± 0.00005), and CTRL (0.03803 ± 0.00002 ; Fig. 3). The strains mixture treatment showed the highest enzymatic activity produced in each case.

DISCUSSION

It has been reported that *Bacillus* strains have a positive effect on fish growth (Austin, 2006; Gómez & Balcázar, 2008); however, they are more effective in early stages of development, probably because of the absence of a microbiota established in the GIT of the fish. On the other hand, positive results on growth have been obtained only after treating the fish with an antibiotic (Merrifield *et al.*; 2010). In the same way, Park *et al.* (2017) reported that a 15-g Rainbow trout didn't show significant differences in growth. Also, it has been reported that *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822) does not undergo a significant increase in weight gain and specific growth rate when fed with *B. pumilus* and *B. clausii* (Sun *et al.*, 2010). In general terms, results obtained in this study agree with these authors. The density of bacteria inclusion in the food should also be considered, as Al-Saraji and Nasir (2013) reported that 1×10^5 CFU g^{-1} or 1×10^6 CFU g^{-1} increased significantly the growth of the common carp. However, the feeding habits of this fish should be considered, specifically when *B. pumilus* was used at 1×10^8 or 1×10^9 CFU g^{-1} of food, resulting in a significant weight gain (Srisapoomee &

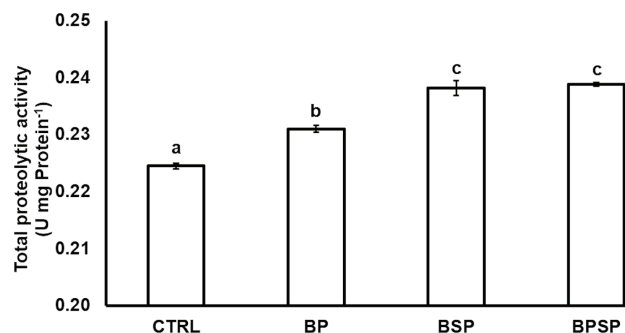


Figure 1. Total proteolytic activity of the gastrointestinal tract of Rainbow trout fed with autochthonous probiotics. Each column represents the means of three replicates \pm standard error. Different letters indicate significant difference between the means ($P < 0.05$).

Areechon, 2015). Probably, *B. pumilus*, as heterotrophic bacteria (Liu *et al.*, 2013) exert more positive effects on fish with omnivorous feeding habits, such as Tilapia, compared to Rainbow trout, a carnivorous fish. Results indicate that there was no improvement in fish growth; however, treated fish had a homogeneous growth, which is important for aquaculture (Gisbert *et al.*, 2014). Data point out the importance of experimentation, because from it we can know the strain and its optimal density to obtain significant results for a specific host.

The use of probiotics in aquaculture has shown important advantages, because it can improve the digestion of fish, either by providing enzymes or stimulating secretion and, consequently, favoring the growth of organisms (Zorriehzahra *et al.*, 2016). *Bacillus* species can produce a wide range of enzymes that can contribute to fish digestion (Bairagi *et al.*, 2002); however, *B. pumilus* has been used most

Table 1. Growth performance of rainbow trout fed with different autochthonous probiotics. The values are the means of three replicates \pm standard error. Means with different letters in the same line differ significantly ($P < 0.05$).

	CTRL	BP	BSP	BPSP
Fish weight	1.8 - 17.9	1.8 - 16.5	1.8 - 17.3	1.7 - 15.8
Ini ¹ - Fin ² (g)				
Change (%)	994	917	961	878
WG ³ (g)	16.1 \pm 0.8 ^a	14.7 \pm 0.06 ^b	15.5 \pm 0.06 ^a	14.1 \pm 0.04 ^b
RG ⁴ (%)	878.5 \pm 10.01	825.2 \pm 4.81	862.4 \pm 3.88	800.8 \pm 1.52
SGR ⁵ (%/day)	4.06 \pm 0.01	3.97 \pm 0.009	4.04 \pm 0.007	3.92 \pm 0.003
FCR ⁶	2.1 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	2.2 \pm 0.1	2.5 \pm 0.04
DSI ⁷ (%)	15.03 \pm 1.17	17.7 \pm 0.97	19.25 \pm 1.07	18.68 \pm 0.54
Survival (%)	99.16 \pm 0.8	95.83 \pm 1.7	96.6 \pm 0.8	96.6 \pm 0.8

¹Ini: initial

²Fin: final

³Weight gain

⁴Relative growth

⁵Specific growth rate

⁶Feed conversion rate

⁷Digestive somatic index

frequently to prevent and control diseases in White shrimp (Hilet *et al.*, 2009), *E. colioides* (Yang *et al.*, 2014), and Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L., 1758) (Srisapoom & Areechon, 2017), but not as a probiotic to improve digestion or growth. Monospecific probiotics have not always produced best results; in herbivorous carp, *B. subtilis* Ch9 did not generate benefits in enzymatic activity, during a prolonged supply (Wu *et al.*, 2012). *B. pumilus* did not improve *E. colioides* growth, but improved the immune system response (Sun *et al.*, 2009). On the other hand, a mixture of *Bacillus* spp. produced the highest activity of proteases, lipases, and amylases in common carp (Yanbo & Zirong, 2006). Nevertheless, contrary and according to Ozório *et al.* (2016), a bacterial consortium (*B. subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*, and *Lactobacillus reuteri*) didn't improve the growth of Rainbow trout, although anti-oxidative enzymes were lower in the treated group, but not significant against control. The results of the present study indicate that BPS generated higher enzymatic activity, but not better growth.

Most published works have found a direct relationship between growth and activity of digestive enzymes in fish and crustaceans (Ziaei-Nejad *et al.*, 2006; Zokaeifa *et al.*, 2012; Hauville *et al.*, 2016), in contrast to the results in this study in which the treatment with the mixture of strains did not show higher growth, although it produced higher enzymatic activity. When *Fenneropenaeus indicus* was fed with a consortium of *Bacillus* spp., digestive enzymes had greater activity and higher weight gain (Ziaei-Nejad *et al.*, 2006). In Rainbow trout fingerlings an opposite behavior was observed because fish fed with *B. cereus* var. *toyoi* grew better than the control, but there was no significant effect on digestive enzymes activity (Gisbert *et al.*, 2014). Another study showed that the use of *Bacillus* sp. didn't improve digestive enzymes activity or increase the growth of fish (Koca *et al.*, 2015), in agreement with this study.

There are aspects related to probiotics that should be considered: strain and density, time and frequency of administration and fish developmental stage. Also, whether testing was made under laboratory or in culture conditions (Welker & Lim, 2011; Cha *et al.*, 2013). The ability of *B. pumilus* to control a bacterial infection in Nile Tilapia has been evaluated and, at 1×10^6 CFU, fish didn't develop the infection (Aly *et al.*, 2016). In another study, a density of 1×10^8 CFU of *B. pumilus* didn't show any significant effect on *E. colioides* growth, but there was a significant difference with *B. clausii*, at the same density (Sun *et al.*, 2010). *B. pumilus* was assessed at 1×10^{10} CFU and produced best survival rate, but not better growth, when fishes were challenged with *Streptococcus iniae*; it was *B. subtilis* that significantly increased these two parameters (Cha *et al.*, 2013). *B. pumilus* has been tested to prevent or control diseases, rather than growth (Avella *et al.*, 2010). Its action has even been identified on genes expression associated with the immune system in the intestinal mucosa of *E. colioides* (Yang *et al.*, 2014). This was also reported in Rainbow trout with *Enterococcus faecium* (Panigrahi *et al.*, 2011) and *L. plantarum* (Pérez-Sánchez *et al.*, 2011). In some cases, density values were higher than those used in this study and produced significant effects, and in other cases, these values were lower. This provides information about the importance of this variable and of the time of evaluation of bacterial strains with probiotic potential, that is, the relationship between the observed effects and cell densities.

It's important to consider the experimental time and the frequency of bacterial supplementation in this study. Published works evaluated growth on a daily probiotic supply (Adineh *et al.*, 2013; Buruiană *et al.*,

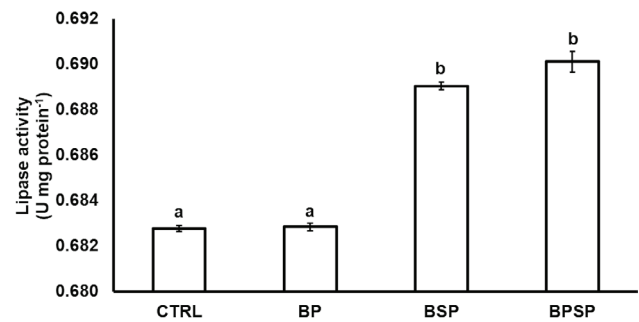


Figure 2. Lipase activity of the gastrointestinal tract of Rainbow trout fed with autochthonous probiotics. Each column represents the means of three replicates \pm standard error. Different letters indicate significant difference between the means ($P < 0.05$).

2014; Chen *et al.*, 2016), mainly through bacteria added to food, only not many added to water (Hauville *et al.*, 2016). In some cases, feeding was done *ad libitum* (Giannenas *et al.*, 2015) and in others feeding rate was calculated from fish biomass. In the present study, strains supplementation was intercalated during the eight weeks. It means that on the first week no bacteria were added to food of any experimental group; on the second week, strains were added to experimental groups, but not to the CTRL and so on until the eighth week. Therefore, a comparison between two methods, continuous and discontinuous probiotic administration, is necessary, because a beneficial effect was observed. The experimental time was eight weeks, a period in which growth changes of rainbow trout can be observed (FAO, 2018; Woynarovich *et al.*, 2011), based that the investigation initial proposal was evaluate two strains in a specific phase growth.

In contrast with other studies, which didn't obtain significant effects after 99 days of *B. amyloliquefaciens* supply (Reda & Selim, 2015); in another study, significant growth was obtained in fish after 30 culture days, but not up to 60 (Sun *et al.*, 2010). In this sense, most published works tested the strains of interest in relatively short periods, from 30 to 60 days (Giannenas *et al.*, 2015; Afrilasari *et al.*, 2016; Adeoye *et al.*, 2016), and in some cases only for a week (Hauville *et al.*, 2016), eva-

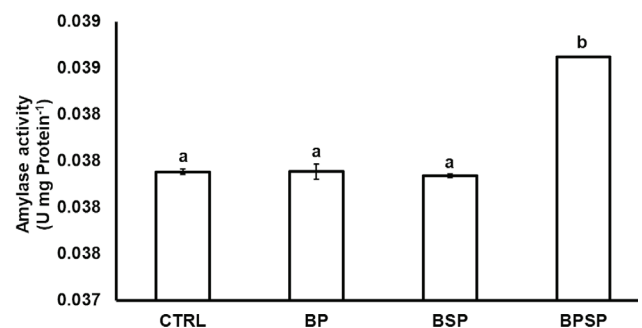


Figure 3. Amylase activity of the gastrointestinal tract of Rainbow trout fed with autochthonous probiotics. Each column represents the means of three replicates \pm standard error. Different letters indicate significant difference between the means ($P < 0.05$).

luating only the larval phases. Therefore, results depend mainly on the growth stage in which the bacterial strain is to be evaluated.

From a physiological point of view, significant growth effects on fish and crustaceans have been reported (Bidhan *et al.*, 2014) regarding the bacterial enzymes contribution to the host (Bidhan *et al.*, 2014; Allameh *et al.*, 2017). No mechanism has been proposed to explain this relationship (Welker & Lim, 2011). Growth is an event in which many variables are involved, because not all the energy assimilated from the diet is used exclusively for growth; therefore, the digestive enzymes activity isn't necessarily related to it (Lucas & Southgate, 2012). The fish biomass is not the only way to estimate growth (Wootton, 2011), considering that energy demand exists even in the absence of growth (Nelson, 2011). In this sense, it is necessary to assess other enzymes that are linked with fish metabolism. Not many studies have made this proposal. For example, some studies evaluated glycolytic and oxidative enzymes activity in wild Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and obtained a strong positive relationship between these and growth (Pelletier *et al.*, 1995). In addition, they associated protein and DNA content in muscle with previously mentioned enzymes activity.

CONCLUSIONS

The probiotics and cellular density used didn't improve fish growth, resulting in a similar fish growth in all experimental treatments; this finding can be useful for aquaculture, because it could generate homogeneous lots. Bacterial mixture had a positive and significant effect on digestive enzymes activity. In this study, autochthonous bacteria of Rainbow trouts were used not under laboratory settings, but in a study conducted under culture conditions, which provides essential information on probiotic functionality, their development, and implementation.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author is grateful to the *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)* for the scholarship provided. The authors kindly acknowledge funding support by the *Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco*, for the Functional Foods for Aquatic Organisms project, number: 34307016, and *Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)* of *DGAPA-UNAM*, project number IN213115.

REFERENCES

- ADEOYE A. A., R. YOMLA, A. JARAMILLO-TORRES, A. RODILES, D. L. MERRIFIELD & S. J. DAVIES. 2016. Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. *Aquaculture*. 463: 61-70.
- ADINEH H., H. JAFARYAN, J. SAHANDI & M. ALIZADEH. 2013. Effect of *Bacillus*-pp. Probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 16: 29-36.
- AFRILASARI W., WIDANARNI & MERYANDINI. 2016. Effect of probiotic *Bacillus megaterium* PTB 1.4 on the population of intestinal microflora, digestive enzyme activity and the growth of catfish (*Clarias* sp.). *HAYATI Journal of Biosciences* 23: 168-172.
- AHUMADA-HERNÁNDEZ R. I., C. A. ALVAREZ-GONZÁLEZ, R. GUERRERO-ZARATE, R. MARTÍNEZ-GARCÍA, S. CAMARILLO-COOP, A. SÁNCHEZ-ZAMORA, M. G. GAXIOLA-CORTES, I. G. PALOMINO-ALBARRÁN. D. TOVAR-RAMÍREZ & E. GISBERT. 2014. Changes of digestive enzyme activity on yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*) during initial ontogeny. *International Journal of Biology* 6(4): 110-117.
- ALARCÓN F. J., M. DÍAZ & F.J. MOYANO. 1997. Studies on digestive enzymes in fish. Characterization and practical applications. *Cahiers Options Méditerranéennes* 22: 113-122.
- ALI S., H. RAFI & IKRAM-UL-HAQ. 2010. Production of an extracellular lipase from *Candida lipolytica* and parameter significance analysis by Plackett-Burman design. *Engineering in Life Science* 10(5): 465-473.
- ALLAMEH S. K., V. NOAMAN & R. NAHAVANDI. 2017. Effect of probiotic bacteria on fish performance. *Advanced Techniques in Clinical Microbiology* 1: 1-2.
- AL-SARAJI A. Y. J. & N. A. N. NASIR. 2013. Effect of different dietary proteins in the common carp fingerlings (*Cyprinus carpio* L.) reared in floating cages. *Mesopotamian Journal of Marine Science* 28(2): 121-130.
- ALY S. M., A. M. ABD-EL-RAHMAN, G. JOHN & M. F. MOHAMED. 2008. Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. *Aquaculture* 277: 1-6.
- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION (AVMA). 2013. Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013. Available online at: <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf> (downloaded august 2016)
- AUSTIN B. 2006. The bacterial microflora of fish, revised. *The Scientific World Journal* 6:931-945.
- AVELLA M. A., G. GIOACCHINI, O. DECAMP, P. MAKRIDIS, C. BRACCIATELL & O. CARNEVALI. 2010. Application of multi-species of *Bacillus* in sea bream larviculture. *Aquaculture* 305: 12-19.
- BAIRAGI A., K.S. GHOSH, S. K. SEN & A. K. RAY. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International* 10(2): 109-121.
- BIDHAN C. D., D. K. MEENA, B. K. BEHERA, P. DAS, P. K. MOHAPATRA & A. P. SHARMA. 2014. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry* 40: 921-971.
- BISEN P. S. 2014. Enzymology. In: Bisen P. S. (Ed.). *Laboratory Protocols in Applied Sciences*. CRC Press, pp. 547-617.
- BURUIANĂ C.-T., A. G. PROFIR & C. VIZIREANU. 2014. Effects of probiotic bacillus species in aquaculture – an overview. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology* 38: 9-17.

- BUSACKER P. G., R. I. ADELMAN & M. E. GOOLLISH. 1990. Growth. *In: Schreck B. C. & B. P. Moyle (Eds.). Methods for Fish Biology*. American Fisheries Series, pp. 363-387.
- CAHU C. L. & J. L. ZAMBONINO-INFANTE. 1994. Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 109(2): 213-222.
- CHA J.-H., S. RAHIMNEJAD, S.-Y. YANG, K.-W. KIM & K.-J. LEE. 2013. Evaluation of *Bacillus* spp. as dietary additives on growth performance, innate immunity and disease resistance of Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) against *Streptococcus iniae* as water additive. *Aquaculture* 402-403: 50-57.
- CHEN Y., J. LI, P. XIAO, G. Y. LI, S. YUE, J. HUANG, W. Y. ZHU & Z. L. MO. 2016. Isolation and characterization of *Bacillus* spp. M001 for potential application in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) against *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture Nutrition* 22: 374-381.
- COPELAND R. A. 2000. Experimental measures of enzyme activity. *In: Copeland R. A. (Ed.). Enzymes*, Wiley-VCH, pp. 188-265.
- CORNISH-BOWDEN A. 2014. Analysis and interpretation of enzyme kinetic data. *Perspectives in Science* 1(1-6): 121-125.
- FAO. 2016. The state of world fisheries and aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all. Available at: <http://www.fao.org/3/i9540en/i9540EN.pdf> (downloaded December 2017)
- FAO. Programa de información de especies acuáticas. *Oncorhynchus mykiss*. Programa de información de especies acuáticas. 2018. Available from: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/es]. Accessed: January 14, 2018).
- FURNÉ M., M. C. HIDALGO, A. LÓPEZ, M. GARCÍA-GALLEGO, A. E. MORALES, A. DOMEZAIN, J. DOMEZAINÉ & A. SANZ. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser maccharii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture* 250: 391-398.
- GARCÍA-MONDRAGÓN, D., I. GALLEGO-ALARCÓN, A. ESPINOZA-ORTEGA, A. GARCÍA-MARTÍNEZ & C. M. ARRIAGA-JORDÁN. 2013. Desarrollo de la producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en el Centro de México. *Revista AquaTIC* 38: 46-56.
- GARCÍA-ORTEGA A., J. VERRETH & H. SEGNER. Post-prandial protease activity in the digestive tract of African catfish *Clarias gariepinus* larvae fed decapsulated cysts of *Artemia*. *Fish Physiology and Biochemistry* 22: 237-244.
- GIANNENAS I., I. KARALIGAS, M. MARGARONI, I. PAPPAS, E. MAYER, P. ENCARNACIÓN & E. KARAGOUNI. 2015. Effect of dietary incorporation of a multi-strain probiotic on growth performance and health status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 41: 119-128.
- GISBERT E., M. CASTILLO, A. SKALLI, K. B. ANDREE & I. BADIOLA. 2014. *Bacillus cereus* var. *toyoi* promotes growth, affects the histological organization and microbiota of the intestinal mucosa in rainbow trout fingerlings. *Journal of Animal Science* 91: 2766-2774.
- GÓMEZ G. D. & J. L. BALCÁZAR. 2008. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 52: 145-154.
- HAN X. Y. 2006. Bacterial Identification Based on 16S Ribosomal RNA gene sequence analysis. *In: Yi-Wei Tang & W. Charles W. Stratton (Ed.). Advanced techniques in diagnostic microbiology*. New York, Springer, pp. 323-332.
- HAMDAN P. 2004. Biomonitoreo: seguimiento de poblaciones microbianas en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Ms thesis in Biotechnology. Mexico, Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa.
- HAUVILLE M.R., J. L. ZAMBONINO-INFANTE, J.G. BELL, H. MIGAUD & K. L. MAIN. 2016. Effects of a mix of *Bacillus* sp. as a potential probiotic Florida pompano, common snook and red drum larvae performances and digestive enzyme activities. *Aquaculture Nutrition* 22: 51-60.
- HIDALGO M. C., E. UREA & A. SANZ. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170: 267-283.
- HILL J. E., J. F. C. BAIANO & A. C. BARNES. 2009. Isolation of a novel strain of *Bacillus pumilus* from penaeid shrimp that is inhibitory against marine pathogens. *Journal of Fish Diseases* 32: 1007-1016.
- JANDA J. M. & S. L. ABBOTT. 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology* 45: 2761-2764.
- KOÇA S. B., N. Ö. YIGIT, B. I. DIDINEN, S. METIN, H. BAYRAK, E. E. ONUK, İ. İLHAN, H. ERALP & İ. DILER. 2015. Effects of enzyme-producing probiotic bacteria isolated from the gastrointestinal tract of trout on the growth performance, survival, and digestive enzyme activity of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgah IJA* 67.2015.1190.
- KUNITZ M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor: II. General properties. *The Journal of General Physiology* 30: 291-310.
- LIAO I. C. & N. H. CHAO. 2007. Taiwanese aquaculture at the crossroads. *In: Leung P. S., C.-S. Lee & P. J. O'Bryen (eds.) Species and Systems Selection for Sustainable Aquaculture*. Oceanic Institute, Hawaii, pp. 161-174.
- LIU Y., Q. LAI, C. DONG, F. SUN, L. WANG, L. GUANGYU & Z. SHAO. 2013. Phylogenetic diversity of the *Bacillus pumilus* group and the marine ecotype revealed by multilocus sequence analysis. *PLoS ONE* 8(11): e80097. doi:10.1371/journal.pone.0080097
- LUCAS J. S. & P. C. SOUTHGATE. 2012. Reproduction, Life Cycles and Growth. *In: Lucas J. S. & P. C. Southgate (Ed.). Aquaculture farming aquatic animals and plants, 2d edition*. Wiley- Blackwell, pp. 126-137.
- MADIGAN M. T., MARTINKO J. M., STAHL D. A. & CLARK D. P. 2012. Viable counts. *In: Brock biology of microorganisms, 13th edition*. New York Benjamin Cummings, pp. 129-131.
- MANTLE T. J. & D. A. HARRIS. 2000. Spectrophotometric assays. *In: Michael G. Gore, (Ed). Spectrophotometry and Spectrofluorimetry: a Practical Approach*. Oxford University Press, pp.183-208.
- MERRIFIELD D. L., A. DIMITROGLOU, G. BRADLEY, R. T. M. BAKER & J. DAVIES. 2010. Probiotics applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*Walbaum) I. Effects on growth performance, food utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aquaculture Nutrition* 16: 504-510.

- MIGNARD S. & J.P.FLANDROIS 2006. 16S rRNA sequencing in routine bacterial identification: A 30-month experiment. *Journal of Microbiological Methods* 67: 574-581.
- MONDAL S., T. ROY, S. K. SEN & A. K. RAY. 2008. Distribution of enzyme-producing bacteria in the digestive tracts of some freshwater fish. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 38(1): 1-8.
- MONTGOMERY D. C. 2001. *Design and analysis of experiments, 5th edition*. John Wiley and Sons Inc.
- NÄHER G. 1974. Lipase – tritometric assay. In: Bergmeyer H. U. (Ed.). *Methods of enzymatic analysis, 2d edition*. Academic Press, pp. 814-818.
- NELSON D. L. & M. M. COX. 2008. Enzymes. In: Nelson D. L. & M. M. Cox (Eds.). *Lehninger Principles of Biochemistry, 5th edition*. Freeman and Company, pp. 183-227.
- NELSON J. A. 2011. Energetics: an introduction. In: Farrell A. P. (Ed.). *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment, Vol 3*. Academic Press-Elsevier, pp. 1563-1566.
- OZÓRIO R. O. A., J. KOPECKA-PILARCZYK, M. J. PEIXOTO, R. LOCHMANN, R. J. SANTOS, G. SANTOS, B. WEBER, J. CALHEIROS, L. FERRAZ-ARRUDA, P. VAZ-PIRES & J. F. M. GONÇALVES. 2016. Dietary probiotic supplementation in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under cageculture production: effects on growth, fish welfare, flesh quality and intestinal microbiota. *Aquaculture Research* 47: 2732-2747.
- PANDIYAN P., D. BALARAMAN, R. THIRUNAVUKKARASU, G. E. E. JOTHI, K. SUBARAMANIYAN, S. MANIKKAM & D. SADAYAPPAN. 2013. Probiotics in aquaculture. *Drug Invention Today* 5(5): 55-59.
- PANIGRAHI A., V. KIRONA, S. SATOH, I. HIRONO, T. KOBAYASHI, H. SUGITA, J. PUANGKAEW & T. AOKI. 2007. Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. *Developmental & Comparative Immunology* 31: 372-382.
- PARK Y., S. LEE, J. HONG, D. KIM, M. MONIRUZZAMAN & S. C. BAI. 2017. Use of probiotics to enhance growth, stimulate immunity and confer disease resistance to *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 48: 2672-2682.
- PELLETIER D., U. B. PIERRE, J.-D. DUTIL & H. GUDERLEY. 1995. How should enzyme activities be used in fish growth studies? *Journal of Experimental Biology* 198: 1493-1497.
- PÉREZ-SÁNCHEZ T., J. L. BALCÁZAR, D. L. MERRIFIELD, O. CARNEVALI, G. GIOACCHINI, I. DE BLAS & I. RUIZ-ZARZUELA. 2011. Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieae* infection. *Fish & Shellfish Immunology* 31: 196-201.
- RAMÍREZ-TORREZ J. A., M. DEL C. MONROY-DOSTA, L. H. HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, J. CASTRO-MEJÍA, J. A. BUSTOS-MARTÍNEZ & A. HAMDAN-PARTIDA. 2018. Presumptive probiotic isolated from *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), cultivated in Mexico. *International Journal of Aquatic Science* 9(1): 3-12.
- RAMOS M. A., J. F. M. GONÇALVES, B. COSTAS, S. BATISTA, R. LOCHMANN, M. A. PIRES, P. REMA & R. O. A. OZÓRIO. 2017. Commercial *Bacillus* probiotic supplementation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*): growth, immune responses and intestinal morphology. *Aquaculture Research* 48(5): 2538-2549.
- RAY A. K., K. S. GOSH, E. RINGØ. 2012. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. *Aquaculture Nutrition* 8 (5): 465-492.
- REDA R. M. & K. M. SELIM. 2015. Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal morphology, hematology and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Interantional* 23: 203-217.
- RICK W. & H. P. STEGBAUER. 1974. α – Amylase. Measurement of reducing groups. In: Bergmeyer H. U. (ed.). *Methods of enzymatic analysis, 2d edition*. Academic Press, Inc., pp. 884-889.
- RICKER W. 1979. Growth rates and models. In: Hoar W. & D. R. J. Brett (eds). *Fish Physiology*. vol. 3, Bioenergetics and Growth. Academic Press, pp. 677-743.
- RÖNNESTAD I., M. YÚFERA, B. UEBERSCHÄR, L. RIBEIRO, Ø. SÆLE & C. BOGLIONE. 2013. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. *Reviews in Aquaculture* 5(Suppl. 1): S59-S98.
- SAMBROOK J. Y. & RUSSEL D. W. 2011. *In vitro* amplification of DNA by the polymerase chain reaction, In: Joseph Sambrook and David W. Russel (eds.), *Molecular cloning, A laboratory manual*, vol. 2, 3rd ed. New York. 8.1-8.126.
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN (SAGARPA). 2017. Avanza México como una potencia en producción acuícola Ciudad de México, April 15, 2017. Comunicado de Prensa. La Paz Baja California Sur; Available from: [http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/bajacaliforniasur/boletines/2017/abril/Documents/2017BS135.PDF].
- SRIASPOOME P. & N. AREECHON. 2017. Efficacy of viable *Bacillus pumilus* isolated from farmed fish on immune responses and increased disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Laboratory and on-farm trials. *Fish and Shellfish Immunology* 67:199-210.
- SUN Y.-Z., H.-L. YANG, R.-L. MA & W.-Y. LIN. 2010. Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish and Shellfish Immunology* 29: 803-809.
- URIBE A. E. & J. LUNA-FIGUEROA. 2003. Efecto de dietas con diferente contenido proteico en las tasas de crecimiento de crías de bagre del Balsas *Ictalurus balsanus* (Pisces: Ictaluridae) en condiciones de cautiverio. *Revista Aquatic* 18: 39-47.
- WALTER H. E. 1984. Proteinases: method with hemoglobin, casein and azocoll as substrate. In: Bergmeyer H. U. (Ed.). *Methods of Enzymatic Analysis, vol. 5*. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 270-277.
- WATERBORG J. H. 2002. The Lowry Method for Protein Quantitation. In: J. M. Walker (ed.). *The Protein Protocols Handbook, 2d edition*. Humana Press, pp. 7-9.
- WELKER T. L. & C. LIM. 2011. Use of probiotics in diets of Tilapia. *Journal of Aquaculture Research and Development* S1: 014

- WOOTTON R. J. 2011. Energetics of Growth. In: Farrell A. P. (ed.). *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment, Vol 3*. Academic Press-Elsevier, pp. 1623-1628.
- WOYNAROVICH A., G. HOITSY & T. MOTH-POULSEN. 2011. Small-scale rainbow trout farming. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 561*. 81 pp. Available online at: <http://www.fao.org/docrep/015/i2125e/i2125e.pdf> (downloaded August 29, 2017)
- WU Z. X., X. FENG, L. L. XIE, X. Y. PENG, J. YUAN & X. CHEN. 2012. Effect of probiotic *Bacillus subtilis* Ch9 for grass carp, *Ctenopharyngodonidella* (Valenciennes, 1844), on growth performance, digestive enzyme activities and intestinal microflora. *Journal of Applied Ichthyology* 28: 721-727.
- YANBO W. & X. ZIRONG. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Science and Technology* 127(3-4): 283-292.
- YANG H.-L., H.-Q. XIA, Y.-D. YE, W.-C. ZOU & Y.-Z. SUN. 2014. Probiotic *Bacillus pumilus* SE5 shapes the intestinal microbiota and mucosal immunity in grouper *Epinephelus coioides*. *Diseases of Aquatic Organisms* 111: 119-127.
- ZAR J. H. 2010. *Biostatistical Analysis, 5th edition*. New Jersey: Prentice Hall, 947 p.
- ZIAEI-NEJAD S., M. H. REZAEI, G. A. TAKAMI, D. L. LOVETT, A. R. MIRVAGHEFI & M. SHAKOURI. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 252: 516-524.
- ZOKAEIFA H., J. L. BALCÁZAR, S. C. ROOS, K. M. SALLEH, K. SIJAM, A. ARSHAD & N. NEJAT. 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* 33: 683-689.
- ZORRIEHZAHRA M. J., D. S. TORABI, M. ADEL, R. TIWARI, K. KARTHIK, K. DHAMA & C. C. LAZADO. 2016. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary Quarterly* 36(4): 228-241.

NOTA CIENTÍFICA

Monterrey's sardine catch series analysis, *Sardinops sagax* in the Gulf of California, Mexico

Análisis de la serie de captura de sardina Monterrey, *Sardinops sagax* en el Golfo de California, México

Oswaldo Gutiérrez-Benítez^{1*}, Gabriela Galindo-Cortés², Enriqueta Velarde González² y David Salas Monreal²

Recibido: 22 de junio de 2018.

Aceptado: 20 de julio de 2019.

Publicado: agosto de 2019.

RESUMEN

Antecedentes: La sardina monterrey es un pez pelágico menor que sustenta la pesquería más importante en términos de volumen a nivel nacional. **Objetivos:** En este trabajo se analiza la evolución temporal histórica de la captura comercial de sardina Monterrey generada por la flota pesquera, que opera en el Golfo de California de 1969 a 2016 con la finalidad de identificar la tendencia y presencia de componentes armónicos en las capturas que se relacionen con la variabilidad ambiental del área de pesca. **Métodos:** A los datos de captura se les aplicó la transformada rápida de Fourier (TRF) para obtener las frecuencias dominantes y el método "Singular Spectrum Analysis" (SSA) para separar la tendencia de las capturas y los componentes armónicos. Cada componente armónico fue correlacionado con el índice de Oscilación del Sur (IOS), Oscilación Decadal del Pacífico (ODP) y Actividad Solar. **Resultados:** La TRF mostró frecuencias a 7 y 11 años. Con SSA se identificó una tendencia lineal creciente de 1969 a 2008 y decreciente de 2009 a 2016, así como dos componentes armónicos (7 años y 11 años, respectivamente). La tendencia y los dos componentes armónicos explican el 87.49% de la varianza total de la serie de captura. El primero y segundo componente armónico se correlacionaron positivamente con el IOS ($r = 0.2921$, $r = 0.3870$ respectivamente), mientras que el segundo componente armónico se correlacionó negativamente con la actividad solar ($r = -0.5313$). No se presentaron correlaciones con la ODP. **Conclusiones:** Las fluctuaciones en las capturas comerciales de sardina Monterrey en el Golfo de California son dadas principalmente por tres factores: Incremento en las capturas, la influencia de eventos de El Niño y la influencia externa de la actividad solar.

Palabras clave: componente armónico, *Sardinops sagax*, series de tiempo, variables oceanográficas

¹ Posgrado en Ecología y Pesquerías, Universidad Veracruzana. Calle Mar Mediterráneo 314, Piso 1-3 Colonia Costa Verde, Boca del Río, Veracruz, 94294. México

² Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías, Universidad Veracruzana. Calle Hidalgo 617, Colonia Río Jamapa, Boca del Río, Veracruz, 94290. México

***Corresponding author:**

Oswaldo Gutiérrez-Benítez: e-mail: ogutierrezbenitez@gmail.com

To cite as:

Gutiérrez-Benítez O., G. Galindo-Cortés, E. Velarde González y D. Salas Monreal. 2019. Monterrey's sardine catch series analysis, *Sardinops sagax* in the Gulf of California, Mexico. *Hidrobiológica* 29 (2): 83-87.

ABSTRACT

Background: The Pacific sardine is a small pelagic fish which supports the most important fishery at national scale. **Goals:** This paper analyzes the catch information generated by the commercial fleet operating in the Gulf of California from 1969 to 2016 in order to identify the catch trends and the presence of the harmonic components that is related to environmental variability. **Methods:** Fast Fourier Transformation (FFT) was applied to the time series in order to establish the dominant frequencies. The Singular Spectrum Analysis (SSA) method was used to separate the trend and harmonic components. Each harmonic component was correlated to the Southern Oscillation Index (SOI), the Pacific Decadal Oscillation (PDO) and the Solar Activity data. **Results:** The FFT showed dominant frequencies at 7 and 11 years. An increasing linear trend was identified from 1969 to 2008 with a decreasing linear segment from 2009 to 2016, as well as two harmonic components of different frequencies (7 and 11 years respectively). The trend and the two harmonic components explain 87.49% of the total variance of the capture. The first and second harmonic components correlated positively with SOI ($r = 0.2921$, $r = 0.3870$ respectively), while the second harmonic component

correlated negatively with solar activity ($r = -0.5313$). There were no correlations with the PDO. **Conclusions:** The fluctuations of Pacific sardine in the Gulf of California are mainly due to three factors: increased catch, the influence of the El Niño events and the influence of the solar activity cycle.

Keywords: harmonic component, oceanographic variables, *Sardinops sagax*, time series

Los peces pelágicos menores forman grandes cardúmenes que soportan pesquerías a escala mundial, éstos poseen ciclos de vida cortos, alta fecundidad, varios desoves al año, con alta movilidad vertical y horizontal en las zonas costeras (Fréon *et al.*, 2005). Se tiene evidencia de que las fluctuaciones de las capturas comerciales en sus principales áreas de pesca están asociadas a su vez a grandes fluctuaciones en la abundancia poblacional de las principales especies objetivo (p.ej. *Engraulis mordax* (Girard, 1854), *Sardinops sagax* (Jenyns, 1842)), atribuidas a fenómenos climáticos a diferentes escalas espacio-temporal (Lluch-Belda *et al.*, 1989; Lluch-Belda *et al.*, 1992; Lluch-Cota *et al.*, 1999; Schwartzlose *et al.*, 1999; Chávez *et al.*, 2003) y al esfuerzo pesquero (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). Entre los fenómenos climáticos atribuibles a las variaciones en las capturas comerciales de los pelágicos menores que se han estudiado, resaltan los eventos de El Niño (Lluch-Belda *et al.*, 1986), índice de circulación atmosférica (Klyashtorin, 2001) y la Oscilación Decadal del Pacífico (Cárdenas-Quintana *et al.*, 2015).

En particular, en el Golfo de California (GC), México, la pesquería de sardina Monterrey *S. sagax* (Jenyns, 1842) es la más importante a nivel nacional y sus capturas se llevan a cabo en embarcaciones pesqueras con red de cerco y jareta (DOF, 2012). Esta pesquería ha experimentado cinco fases a lo largo de su desarrollo en el Golfo de California: 1) Exploración y establecimiento (1969/70-1975/76); 2) desarrollo y crecimiento (1976/77-1981/82); 3) expansión y estabilización (1982/83-1988/89); 4) declinación (1989/90-1993/94); 5) recuperación (1994-Presente) (DOF, 2012). En el periodo actual se observa un aumento en las fluctuaciones de las capturas, con los registros más altos de toda la serie y los más bajos desde la fase de expansión. En

este trabajo se analiza la evolución temporal histórica de la captura comercial de sardina Monterrey en el GC durante el periodo 1969 al 2016, con la finalidad de determinar una tendencia clara y la presencia de componentes que se relacionen con la variabilidad ambiental que origina las fluctuaciones de las capturas de este recurso a diferentes escalas temporales.

Se utilizó una serie temporal con resolución anual de 48 registros de capturas de sardina Monterrey, recabados de las estadísticas oficiales de desembarcos realizados por la flota comercial de Guaymas y Yavaros, en el estado de Sonora, México, durante el periodo de 1969 a 2016, obtenidos de los informes del Instituto Nacional de la Pesca y Acuicultura (INAPESCA). Para identificar los periodos dominantes de la serie de capturas, se usó el espectro de potencia utilizando un método espectral no paramétrico, basado en la transformación de Fourier de la función de autocovarianza de la serie de tiempo, descrita en el software estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008). Este método se utilizó debido a su alta confiabilidad para obtener las frecuencias (Salas-Pérez *et al.*, 2012). El análisis de la estructura de la serie temporal de capturas de sardina Monterrey se hizo por el método "Singular Spectrum Analysis" (SSA) utilizando el software Caterpillar 1.00 (GistaT Group, 1996). Esta técnica no paramétrica de análisis de series de tiempo se basa en principios de estadística y geometría multivariada, sistemas dinámicos y procesamiento de señales, que descompone la serie de tiempo original en un conjunto de componentes aditivos independientes o separables (ortogonales), siguiendo el procedimiento de análisis de componentes principales (ACP), ayudando a predecir a corto y mediano plazo las capturas a partir de la estructura de la serie temporal y la contribución de sus principales componentes aditivos. El resultado de la descomposición permite identificar la tendencia de la captura y diferentes componentes armónicos, así como cuantificar el porcentaje de la varianza con el que contribuye cada uno de los componentes en la serie original (Golyandina *et al.*, 2001). Para establecer la relación entre los componentes armónicos identificados con la variabilidad ambiental, se obtuvieron los valores anuales de 1969 a 2016 del Índice de Oscilación del Sur (IOS) como un indicador de la variabilidad ambiental relacionada con condiciones de El Niño (datos disponibles en

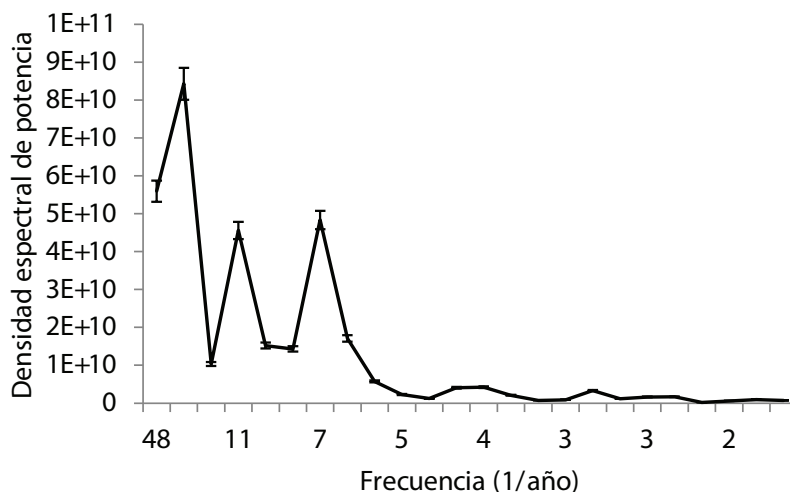


Figura 1. Densidad espectral de potencia de la serie temporal de capturas de sardina Monterrey en el Golfo de California.

<http://www.bom.gov.au>), la Oscilación Decadal del Pacífico (ODP) como un patrón de variabilidad climática del Pacífico norte similar a El Niño (datos disponibles en <https://www.ncdc.noaa.gov>) y con la actividad solar como un indicador de la variabilidad solar (interna o externa), el cual en promedio aumenta y disminuye con un ciclo aproximado de 11 años, que origina cambios en el patrón climático, corrientes superficiales y el clima global (datos disponibles en <https://www.esrl.noaa.gov>). Finalmente, se utilizó el análisis de correlación para comparar los armónicos obtenidos con cada una de las variables ambientales. Todas las correlaciones reportadas se consideraron significativas si $P < 0.05$.

La densidad espectral de potencia de la serie de capturas de sardina Monterrey mostró dos picos a 7 y 11 años (Fig. 1). Se observó una tendencia lineal creciente de las capturas a partir del año 1969 hasta 2008, posterior a este año se observó un comportamiento decreciente hasta el año 2016 (Fig. 2a). El porcentaje de la varianza total que es explicado por la tendencia fue del 67.46%. Se obtuvieron dos componentes armónicos de diferente frecuencia de oscilación. El primer armónico fue de 7 años con un porcentaje de contribución a la varianza explicada del 14.58% (Fig. 2b) y el segundo armónico fue de 11 años, con un porcentaje de contribución a la varianza explicada del 5.44% (Fig. 2c). En conjunto la tendencia y los dos componentes armónicos explicaron el 87.49% de la variabilidad total de la serie original de capturas de sardina Monterrey. Se obtuvieron correlaciones positivas entre el primero y segundo armónico con el IOS ($r = 0.2921$, $r = 0.3870$ (Figs. 2b, 2c) respectivamente) y una correlación negativa entre el segundo armónico y la actividad solar ($r = -0.5313$) (Fig. 2d). Ningún componente armónico presentó una correlación significativa con la ODP. Los coeficientes de correlación entre los armónicos y las variables ambientales se presentan en la tabla 1.

Los resultados sugieren que el comportamiento de la tendencia y su porcentaje de contribución son consistentes con el rápido incremento de las capturas de sardina Monterrey durante el desarrollo de esta pesquería en el GC. Cisneros-Mata *et al.* (1995) mencionan que los cambios en la captura son debidos al aumento de la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) relacionado con el incremento en el poder de pesca y experiencia de los pescadores. Sin embargo, las fluctuaciones en las capturas también se encuentran sujetas a factores que actúan directa o indirectamente sobre la abundancia de los peces, ya sean de origen antropogénico, ambiental y/o biológico (Pedraza-García & Cubillos, 2008).

Para la serie de captura de sardina Monterrey las fluctuaciones se ven reflejadas en el primer periodo armónico identificado, el cual

se correlaciona con los cambios en la intensidad del IOS en el Océano Pacífico, como un indicador de la ocurrencia de fases cálidas de eventos de El Niño con una periodicidad 3 a 7 años (White & Tourre, 2003). En este sentido, se tiene evidencia que los cambios físicos derivados del fenómeno de El Niño en el GC, afectan la biomasa fitoplanctónica, nutrientes y productividad primaria (Barber & Chávez, 1983), alterando el entorno del desove, el hábitat larvario de la sardina Monterrey (Sánchez-Velasco *et al.*, 2000), el reclutamiento de juveniles a la población y por ende la disponibilidad de adultos para la pesquería (Hamman *et al.*, 1988). Niquen y Bouchon (2004) mencionan que la intensidad del fenómeno de El Niño es directamente proporcional con los cambios en la distribución espacial de los organismos, su concentración y su estructura de tallas. Otros autores como Martínez-Aguilar *et al.* (2009) han reportado cambios en la estructura de tallas en la captura de sardina Monterrey en el GC relacionados con El Niño y la Niña. De esta manera, estos eventos pueden cambiar las condiciones donde se distribuyen los organismos en las áreas de pesca y por ende reflejarse en las fluctuaciones de las capturas.

De acuerdo a los resultados obtenidos para el segundo armónico, las fluctuaciones en las capturas de sardina Monterrey también responden en menor medida a forzamientos a escala inter-decadal. Se ha establecido que los forzamientos climáticos a escala inter-decadal en el océano Pacífico del Norte son asociados principalmente a la ODP, el cual presenta una ocurrencia aproximada de 20-30 años (Mantua *et al.*, 1997). Sin embargo, los resultados indican que no hay una correlación significativa entre el segundo componente armónico y los cambios de largo periodo en la ODP. Este resultado coincide con lo obtenido por MacClatchie (2012) quien demostró de forma cualitativa que la abundancia de la sardina Monterrey en el océano Pacífico se correlaciona pobremente con la ODP, por lo que es probable que en esta región se estén presentando procesos que interactúen de manera externa sobre las fluctuaciones de las capturas de sardina Monterrey o en el ambiente oceánico donde se distribuyen los organismos. Se ha documentado que aproximadamente cada 11 años la actividad solar presenta periodos de mínimos y máximos solares, que tienen efectos sobre la atmósfera, la superficie de la tierra, y el clima global (Muñoz-Jaramillo & Vaquero 2018), por lo que es factible que el segundo componente armónico sea un reflejo del ciclo de la actividad solar al presentar una periodicidad similar de 11 años. Bajo este contexto los resultados sugieren una correlación significativa entre el segundo componente armónico con el IOS como una evidencia de la relación entre la actividad solar con el IOS. La relación de la actividad solar y el IOS también ha sido documentada por Zhai (2017) quien reporta que hay una clara variación temporal

Tabla 1. Coeficientes de correlación entre componentes armónicos y la variabilidad ambiental.

	Primer armónico	Segundo armónico	IOS	ODP	Actividad solar
Primer armónico	1				
Segundo armónico	0.2639	1			
IOS	0.2921 (P= 0.0440)	0.3870 (P= 0.0066)	1		
ODP	0.0720	0.1836	-0.4077 (P= 0.0040)	1	
Actividad solar	-0.2807	-0.5313 (P= 0.0001)	-0.5194 (P= 0.0002)	-0.0619	1

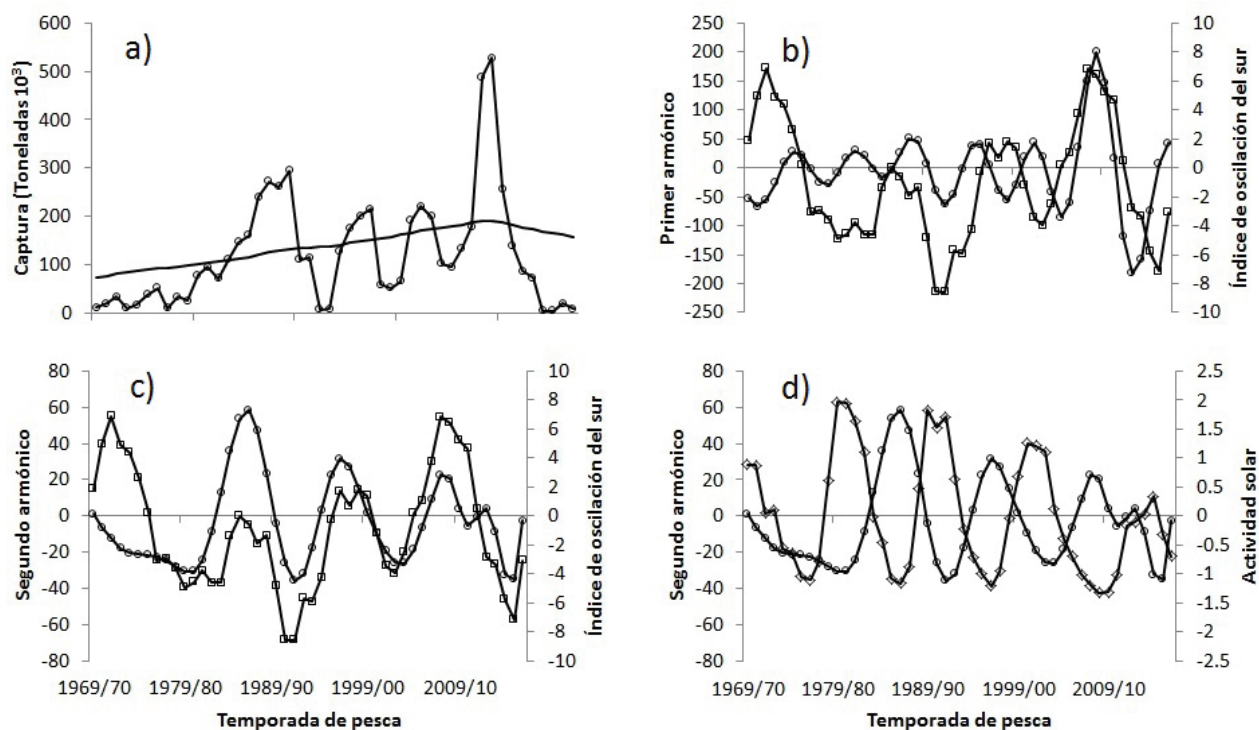


Figura 2. Evolución temporal de la sardina Monterrey (*Sardinops sagax* (Jenyns, 1842)) capturada por la flota de Sonora (México), durante 1969-2016 (○). (a) Se representa la tendencia (-), (b) componente armónico de 7 años (○) e Índice de Oscilación del Sur (□), (c) componente armónico de 11 años (○) e Índice de Oscilación del Sur y (d) componente armónico de 11 años (○) y actividad solar (◇). La tendencia y armónicos fueron estimados con el método Singular Spectrum Analysis (SSA).

entre ambas cada 11 años, lo que implica la influencia de la actividad solar sobre el IOS, y que dependiendo del nivel de actividad solar puede correlacionarse de manera positiva o negativa con el IOS. En este sentido los resultados sugieren que el segundo componente armónico se relacionan de manera inversa con la actividad solar, es decir a mayor actividad solar menor fluctuación en la captura de sardina Monterrey y viceversa. Se ha documentado que los desembarques de la sardina europea *Sardina pilchardus* varía en función de la actividad solar, al cambiar el transporte de agua hacia la costa lo que favorece o perjudica la retención de larvas en zonas cerca de la costa, lo que se refleja en las capturas de sardina (Guisande *et al.*, 2004). Así mismo autores como Patterson *et al.* (2004) encontraron que el ciclo solar de Gleissberg, con un periodo de 75 a 90 años, tuvo una influencia en las fluctuaciones de las poblaciones de anchoveta del Norte y arenque del Pacífico durante el Holoceno en América del Norte. De esta manera, se puede apreciar que la actividad solar con una ocurrencia de 11 años, coincide con una de las frecuencias de la sardina Monterrey para la pesquería en el GC, sin embargo esta coincidencia aún debe ser validada.

En conclusión, las fluctuaciones en la captura de sardina Monterrey en el GC son dadas en mayor medida por el incremento de las capturas, por la influencia de eventos de escala interanual como el evento de El Niño y por eventos externos de escala inter-decadal, el cual tiene una influencia sobre el ambiente donde se distribuye la sardina Monterrey.

REFERENCIAS

- BARBER, R.T. & F.P. CHÁVEZ. 1983. Biological consequences of El Niño. *Science* (222): 1203-1210. DOI:10.1126/science.222.4629.1203
- CÁRDENAS-QUINTANA, G., M. FRANCO-MELÉNDEZ, J. SALCEDO-RODRÍGUEZ, D. ULLOA-ESPEJO & J. PELLÓN-FARFÁN. 2015 The Peruvian sardine, *Sardinops sagax*: Historical analysis of the fishery (1978-2005). *Ciencias Marinas* 41 (3): 203-216. DOI:10.7773/cm.v41i3.2466.
- CHÁVEZ, F. P., J. RYAN, S. E. LLUCH-COTA & C. M. NIQUEN. 2003. From anchovies to sardines and back: Multidecadal change in the Pacific Ocean. *Science* 10 (299): 217-221. DOI: 10.1126/science.1075880.
- CISNEROS-MATA, M.A., M. O. NEVÁREZ-MARTÍNEZ & M. G. HAMMANN. 1995. The rise and fall of the Pacific sardine, *Sardinops sagax caeruleus* Girard, in the Gulf of California, Mexico. *CalCOFI Report* 36: 136-146.
- DI RENZO, J. A., F. CASANOVES, M. G. BALZARINI, L. GONZÁLEZ, M. TABLADA & C. W. ROBLEDO. 2008. *InfoStat, versión 2008*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DOF (DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN) 2012. Plan de manejo pesquero para la pesquería de pelágicos menores (sardinias, anchovetas, macarelas y afines) del noroeste de México. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA) noviembre. México, 51 p.

- FRÉON, P., P. CURY, L. SHANNON & C. ROY. 2005. Sustainable exploitation of small pelagic fish stocks challenged by environmental and ecosystem changes: A review. *Bulletin of Marine Science* 76 (2): 385-462.
- GISTAT GROUP, 1996. Software Caterpillar Version 1.0 of Windows. PhD, St. Petersburg University. Department of Mathematics. Russia.
- GOLYANDINA, N., V. NEKRUTKIN & A. ZHIGLJAVSKY (Eds.). 2001. *Analysis of time series structure: SSA and related techniques*. Chapman and Hall/CRC, London, England, 300 p. DOI:10.1201/9781420035841
- GUISANDE, C., A. ULLA & P. THEJLL. 2004. Solar activity governs abundance of Atlantic Iberian sardine *Sardina pilchardus*. *Marine Ecology Progress Series* (269): 297-301. DOI:10.3354/meps269297
- HAMMANN, M. G., T. R. BAUMGARTNER & A. BADAN-DAGON. 1988. Coupling of the Pacific sardine (*Sardinops sagax caeruleus*) life cycle with the Gulf of California pelagic environmental. *CalCOFI Reports* 29: 102-109.
- KLYASHTORIN, L. B. 2001. Climate change and long-term fluctuations of commercial catches. The possibility of forecasting. *FAO Fisheries Technical Paper*, Rome 410: 1-86.
- LLUCH-BELDA, D., F. J. MAGALLON & R. A. SCHWARTZLOSE. 1986. Large fluctuations in the sardine fishery in the Gulf of California: Possible causes. *CalCOFI Report* 27: 136-140.
- LLUCH-BELDA, D., R. J. M. CRAWFORD, T. KAWASAKI, A. D. MACCALL, R. H. PARRISH, R. A. SCHWARTZLOSE & P. E. SMITH. 1989. World-Wide fluctuations of sardine and anchovy stocks: The regime problem. *South African Journal of Marine Science* 8: 195-205. DOI: 10.2989/02577618909504561
- LLUCH-BELDA, D., R. A. SCHWARTZLOSE, R. SERRA, R. H. PARRISH, T. KAWASAKI, D. HEDGECOCK & R. J. M. CRAWFORD. 1992. Sardine and anchovy regime fluctuations of abundance in four regions of the world oceans: a workshop report. *Fisheries Oceanography* 1 (4): 339-347. DOI:10.1111/j.1365-2419.1992.tb00006.x
- LLUCH-COTA, S., D. LLUCH-COTA, D. LLUCH-BELDA, M. NEVÁREZ-MARTÍNEZ, A. PARRÉS-SIERRA & S. HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ. 1999. Variability of sardine catch as related to enrichment, concentration and retention processes in the central Gulf of California. *CalCOFI Report* 40: 184-189.
- MANTUA, N.J., S. R. HARE, Y. ZHANG, J. M. WALLACE & R. C. FRANCIS. 1997. A Pacific interdecadal climate oscillation with impacts on salmon production. *Bulletin of the American Meteorological Society* 6 (78): 1069-1079. DOI:10.1175/1520-0477(1997)078%3C1069:API-COW%3E2.0.CO;2
- MARTÍNEZ-AGUILAR, S., J. A. DE ANDA-MONTAÑEZ, F. ARREGUÍN-SÁNCHEZ & M. A. CISNEROS-MATA. 2009. Constant harvest rate for the Pacific sardine (*Sardinops caeruleus*) fishery in the Gulf of California based on catchability-at-length estimations. *Fisheries Research* 99: 74-82. DOI:10.1016/j.fishres.2009.05.002
- MCCLATCHIE, S. 2012. Sardine biomass is poorly correlated with the Pacific Decadal Oscillation off California. *Geophysical Research Letters* 39: 1-6. DOI:10.1029/2012GL052140, 2012
- MUÑOZ-JARAMILLO, A. & J. A. VAQUERO. 2018. Visualization of the challenges and limitations of the long-term sunspot number record. *Nature Astronomy* 12 (2): 11-7. DOI: 10.1038/s41550-018-0638-2
- NIQUEN, M. & M. BOUCHON. 2004. Impact of El Niño events on pelagic fisheries in Peruvian waters. *Deep-Sea Research III* 51: 563-574. DOI: 10.1016/j.dsr2.2004.03.001
- PATTERSON, R. T., A. PROKOPH, C. WRIGHT, A. S. CHANG, R. E. THOMPSON & D. M. WARE. 2004. Holocene solar variability and pelagic fish productivity in the NE Pacific. *Paleontología Electrónica* 7 (4): 1-17.
- PEDRAZA-GARCIA, M. & L. A. CUBILLOS, 2008. Population dynamics of two small pelagic fish in the central-south area off Chile: delayed density-dependence and biological interaction. *Environmental Biology Fisheries* 82: 111-122. DOI:10.1007/s10641-007-9260-3
- SALAS-PÉREZ, J. J., D. SALAS-MONTERAL, M. A. MONREAL-GÓMEZ, M. L. RIVERON-ENZASTIGA & C. LLASAT. 2012. Seasonal absolute acoustic intensity, atmospheric forcing and currents in tropical coral reef system. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* (3): 1-11. DOI:10.1016/J.ECSS.2012.01.002
- SÁNCHEZ-VELASCO, L., B. SHIRASAGO, M.A. CISNEROS-MATA & C. AVALOS-GARCÍA. 2000. Spatial distribution of small pelagic fish larvae in the Gulf of California and its relation to the El Niño 1997-1998. *Journal of Plankton Research* 8 (22): 1611-1618. DOI:10.1093/plankt/22.8.1611
- SCHWARTZLOSE, R.A., J. ALHEIT, A. BAKUN, T. R. BAUMGARTNER, R. CLOETE, R. J. M. CRAWFORD, W. J. FLETCHER, Y. GREEN-RUIZ, E. HAGEN, T. KAWASAKI, D. LLUCH-BELDA, S. E. LLUCH-COTA, A. D. MACCALL, Y. MATSUURA, M. O. NEVÁREZ-MARTÍNEZ, R. H. PARRISH, C. ROY, R. SERRA, K. V. SHUST, M. N. WARD & J. Z. ZUZUNAGA. 1999. Worldwide large-scale fluctuations of sardine and anchovy populations. *South African Journal of Marine Science* 21: 289-347. DOI:10.2989/025776199784125962
- WHITE, W. B. & Y. M. TOURRE. Global SST/SLP waves during the 20th century. *Geophysical Research Letters* 12 (30): 53-56. DOI:10.1029/2003GL017055
- ZHAI, Q. 2017. Evidence of the effect of sunspot activity on the El Niño/Southern Oscillation. *New Astronomy* 52: 1-7. DOI: 10.1016/j.newast.2016.09.004

NOTA CIENTÍFICA

Segundo reporte de la quimera *Harriotta raleighana* (Chondrichthyes: Rhinochimaeridae) en Bahía de Banderas, Jalisco, México

Second report of the chimaera *Harriotta raleighana* (Chondrichthyes: Rhinochimaeridae) in Banderas Bay, Jalisco, Mexico

Pedro Medina-Rosas y Alma Raymundo-Huizar

Recibido: 06 de febrero de 2019.

Aceptado: 17 de julio de 2019.

Publicado: agosto de 2019.

RESUMEN

Antecedentes: Las quimeras son peces cartilaginosos que habitan en aguas de más de 200 m de profundidad. Se conocen dos especies del género *Harriotta* de la Familia Rhinochimaeridae, una de las cuales, *H. raleighana* Goode & Bean 1895, se distribuye en México. En casi cien años se han recolectado solamente seis ejemplares de esta especie en el Pacífico Mexicano, por lo que se le considera como una especie rara y pobremente conocida. **Objetivo:** Describir el último y más reciente ejemplar de esta especie recolectado en esta región. **Métodos:** a principios de 2018 se recolectó un ejemplar atrapado en una red de pesca en el sur de Bahía de Banderas, Jalisco, que representa el segundo registro para este estado, el único lugar de México con dos reportes. **Resultados:** Se incluyen los datos y medidas del ejemplar, una hembra que pesó 1.343 kg y midió 85.5 cm de longitud total, que corresponde al individuo más grande encontrado en el país. El tracto digestivo estaba vacío. **Conclusiones:** este el segundo reporte de esta quimera en Jalisco, en particular en Bahía de Banderas, el único lugar de México con dos reportes para esta especie rara.

Departamento de Ciencias Biológicas,
Centro Universitario de la Costa, Universidad de Guadalajara. Av. UdeG #203, Del. Ixtapa, Puerto Vallarta, Jalisco, 48280. México

***Corresponding author:**

Pedro Medina-Rosas: e-mail: pedromedinarosas@gmail.com

To cite as:

Medina-Rosas P. y A. Raymundo-Huizar. 2019. Segundo reporte de la quimera *Harriotta raleighana* (Chondrichthyes: Rhinochimaeridae) en Bahía de Banderas, Jalisco, México. *Hidrobiológica* 29 (2): 89-92.

Palabras clave: quimera, especie rara, arquibéntico, abisal

ABSTRACT

Background: Chimaeras are cartilaginous fish that live in waters more than 200 m deep. There are two species of the genus *Harriotta* in the Rhinochimaeridae Family, but only one, *H. raleighana* Goode & Bean 1895, occurs in Mexican waters. In almost one hundred years it has been collected only six times in the Mexican Pacific, and it is considered a rare and poorly known species. **Goals:** this note describes the last and most recent specimen collected in this region. **Methods:** in early 2018 a specimen was found in a fishing net in the south of Bahía de Banderas, Jalisco, and represents the second record in the area, the only place in Mexico with two records. **Results:** data and measurements are included. A female weighing 1.343 kg, with a total length of 85.5 cm, corresponding to the largest specimen ever collected in México. Digestive tract was empty. **Conclusions:** this is the second report for this species for Jalisco, particularly in Bahía de Banderas, the only place in Mexico with two records of this rare species.

Keywords: chimaera, rare species, archibenthic, abyssal.

Las quimeras pertenecen a la familia *Rhinochimaeridae*, subclase *Holocephali*, clase *Chondrichthyes*, que incluye a los peces cartilagosos (Nelson *et al.*, 2016). Han sido clasificadas como monstruos marinos por su apariencia, incluso el origen que da nombre a la familia hace referencia a su nariz y apariencia monstruosa (*rhinos* y *chimaera*). Son peces de aguas profundas, de más de 200 m, que han sido recolectados pocas veces debido a su hábitat y comportamiento. Esta familia contiene ocho especies de tres géneros (*Harriotta*, *Neoharriotta* y *Rhinochimaera*). El género *Harriotta* incluye dos especies: *H. haeckeli* Karrer (1972), que se distribuye en el Atlántico nororiental y Pacífico cercano a Nueva Zelanda; y *H. raleighana* Goode & Bean 1895, que se ha encontrado en puntos aislados de aguas templadas del Atlántico y Pacífico, tanto en el hemisferio norte como en el sur, aunque con registros aislados en aguas tropicales (Ebert & Stehmann 2013; Nelson *et al.*, 2016; Weigmann 2016).

En México, *Harriotta raleighana* es conocida como quimera ratón o picuda (Espinosa *et al.*, 2008) y está registrada como parte de las 2763 especies de peces que habitan las aguas mexicanas (Espinosa-Pérez, 2014). Precisamente debido a su hábitat y baja abundancia carecen de interés comercial, y su estatus de conservación es de preocupación menor de acuerdo a la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Del Moral-Flores *et al.*, 2015; Dagit *et al.*, 2016). En México se ha observado en pocas ocasiones y se han recolectado pocos ejemplares (Medina-Rosas & Raymundo-Huizar 2014).

El objetivo de este trabajo es reportar y describir el segundo ejemplar de *Harriotta raleighana* recolectado en Jalisco a principios de 2018, el primer y único estado de México con dos reportes de esta especie rara.

El 18 de enero de 2018 se encontró un ejemplar de *Harriotta raleighana* sin vida atrapado en un chinchorro, arte de pesca utilizada por los pescadores de la cooperativa de Yelapa, Jalisco. Se encontró a unos metros de la costa en la localidad conocida como Las Iglesias, Jalisco, México (20° 28' 21" N, 105° 36' 52" O), en la parte sur de Bahía de Banderas (Fig. 1). Por el estado de descomposición y la condición en que se encontraba el ejemplar al momento de la colecta, se puede concluir que tenía pocas horas de haber muerto.

Para su preservación, el espécimen recolectado fue congelado hasta que se fijó con formalina comercial al 10% por tres días y posteriormente se transfirió a alcohol etílico al 70%. La identificación y mediciones se realizaron de acuerdo al proceso reportado por Medina-Rosas y Raymundo-Huizar (2014).

El ejemplar fue depositado en la Colección de Vertebrados del Centro de Estudios en Zoología (CZUG) con el registro CZUG1042 y resguardado en las instalaciones del Centro Universitario de la Costa (CUC), de la Universidad de Guadalajara, en Puerto Vallarta, Jalisco, México.

El espécimen es de color café claro (Fig. 2a), pesó 1.343 kg y midió 85.5 cm de longitud total (ver medidas en tabla 1). Se identificó como hembra por la ausencia de claspers (Fig. 2b). No presentó marcas copulatorias en el cuerpo, como las observadas por Van der Heiden (1985), aunque posee marcas que pudieron ser ocasionadas por el arte de pesca donde se encontró (Fig. 2c). El tracto digestivo se encontró completamente vacío.

El primer ejemplar de esta especie reportado para Jalisco fue colectado en 2014 también en la parte sur de Bahía de Banderas (Medina-Rosas & Raymundo-Huizar, 2014), a unos 20 km del hallazgo de este segundo ejemplar y está depositado en la misma Colección CZUG,

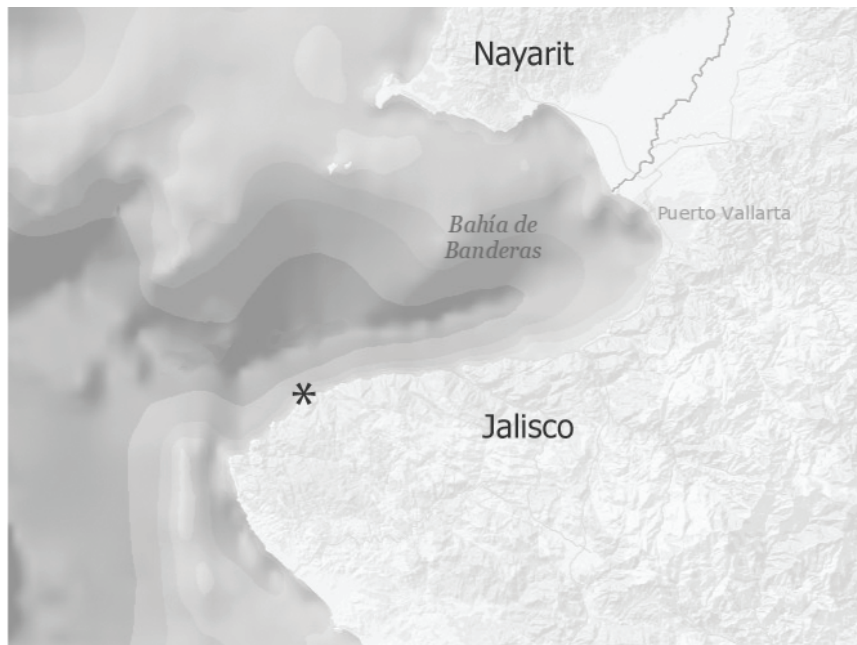


Figura 1. Mapa de Bahía de Banderas. La costa al sur de Puerto Vallarta corresponde a Jalisco, México. Localidad de recolecta del ejemplar de *Harriotta raleighana* Goode & Bean 1895 en Las Iglesias, Jalisco en 2018 (asterisco). En la parte sur de la bahía se encuentra el ambiente potencial de la quimera, con un cañón submarino de profundidades mayores a 1000 m.



Figura 2. Segundo ejemplar de *Harriotta raleighana* Goode & Bean 1895 en Jalisco. A) Vista lateral donde se observa el color café claro del espécimen y el cuerpo sin marcas copulatorias en el cuerpo. B) Vista ventral donde se observa el área del ano con la ausencia de claspers. C) Vista frontal donde se observa una marca en la base de la proboscis, que pudo haber sido provocado por el arte de pesca donde se encontró. D) Vista lateral del espécimen preservado e incluido en la colección científica (CZUG1042).

con el registro CZUG1041, y resguardado en las instalaciones del CUC. Ambos ejemplares están preservados en contenedores de cristal que permiten su observación directa (Fig. 2d), lo que favorecerá su estudio y adecuada preservación (Espinosa, 2003).

Ambos individuos de Jalisco fueron encontrados cerca de la costa, a diferencia de los otros ejemplares encontrados en aguas mexicanas, que fueron colectados en aguas profundas o alejados de las costas de Colima (Castro-Aguirre *et al.*, 2007), Sinaloa (Van der Heiden, 1985) y la península de Baja California (Townsend & Nichols, 1925). Comparado con estos ejemplares, el del presente estudio corresponde al de mayor longitud encontrado en las aguas del Pacífico Mexicano.

En Bahía de Banderas se han reportado 210 especies de peces (Moncayo-Estrada *et al.*, 2006), sin embargo, no se tenían reportes de especies de aguas profundas, como *Harriotta raleighana*, por lo que es necesario seguir conociendo y estudiando más sobre los peces de ambientes profundos de la bahía. Diversos organismos de estos ambientes se han observado varados en las playas de la región, como el caso de al menos seis ejemplares del pez remo *Regalecus glesne* (Familia Regalecidae) en los últimos veinte años (observaciones personales del primer autor).

La quimera *Harriotta raleighana* es una especie rara en el Pacífico mexicano y debido a que se han recolectado pocos ejemplares (menos de diez) en casi cien años, la relevancia de este reporte es que representa el segundo registro de esta especie rara para la costa de

Tabla 1. Morfometría del ejemplar de *Harriotta raleighana* Goode & Bean 1895 encontrado en 2018, en la costa de Bahía de Banderas, Jalisco, Pacífico central de México (cm). Mediciones realizadas de acuerdo a Medina-Rosas y Raymundo-Huizar (2014).

Longitud total	85.5
Longitud cefálica (incluye proboscis)	21.5
Longitud preoral	15.5
Amplitud de la boca	3.2
Longitud prenatal	14.5
Diámetro horizontal del ojo	2.9
Diámetro vertical del ojo	2.2
Anchura máxima de la cabeza	6.7
Anchura máxima del hocico	4.4
Longitud de la proboscis	12.6
Anchura de la proboscis	3.4
Longitud del orificio respiratorio	2.5
Altura máxima	8.2
Longitud de la espina dorsal	13.0
Base de la primera aleta dorsal	9.2
Base de la segunda aleta dorsal	21.4
Base del lóbulo superior de la aleta caudal	19.5
Base del lóbulo inferior de la aleta caudal	26.2
Longitud de las aletas pectorales	17.2
Base de las aletas pectorales	3.8
Longitud de las aletas pélvicas	8.6
Base de las aletas pélvicas	2.5
Distancia entre ojos	2.8

Bahía de Banderas, por lo que Jalisco es el primer estado mexicano con dos reportes de esta quimera. Además, al igual que el reportado en 2014 (Medina-Rosas & Raymundo-Huizar, 2014), este ejemplar fue recolectado cerca de la costa, a unos metros de la playa, en comparación a los ejemplares del Pacífico Mexicano que fueron recolectados en mar abierto, a varios kilómetros del litoral. Esto puede significar que las aguas profundas de Bahía de Banderas están habitadas por diversas especies no conocidas, lo que justifica la investigación de este hábitat poco estudiado. Esta región se caracteriza por su plataforma continental corta y profunda, donde se pueden encontrar ambientes y organismos de aguas profundas cerca de la costa. Por lo mismo, es necesaria la prevención y regulación de actividades que puedan significar una amenaza potencial a este hábitat (Dagit *et al.*, 2016) de Jalisco y el Pacífico Mexicano.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los pescadores de la cooperativa de Yelapa, Jalisco y a Iliana Fonseca por encontrar y facilitar el segundo ejemplar de Jalisco. A Abraham Reyes por su colaboración en la preservación del ejemplar. Se agradece el apoyo de Sergio Guerrero, de la Colección de Vertebrados del Centro de Estudios en Zoología, de la Universidad de Guadalajara. Gracias a los revisores que hicieron que la nota mejorara.

REFERENCIAS

- CASTRO-AGUIRRE, J.L., SANTANA-HERNÁNDEZ, H., ESPINO-BARR, E. & JIMÉNEZ-QUIROZ, M.C. 2007. Primer registro de *Harriotta raleighana* (Chondrichthyes: Holocephali: Rhinochimaeridae) en la costa del Pacífico central de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 78: 489-492.
- DAGIT, D. D., R.H.L. WALLS & E. BUSCHER. 2016. *Harriotta raleighana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T60140A3088899 dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T60140A3088899.en
- DEL MORAL-FLORES, L.F., J.J. MORRONE, J. ALCOCER DURAND, H. ESPINOSA-PÉREZ, & G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN. 2015. Lista patrón de los tiburones, rayas y quimeras (Chondrichthyes, Elasmobranchii, Holocephali) de México. *Arxius de Miscel·lània Zoològica* 13: 47-163. doi:10.15470/hr11kv
- EBERT, D.A. & M.F.W. STEHMANN. 2013. *Sharks, batoids and chimaeras of the North Atlantic*. FAO Species Catalogue for Fisheries Purposes, Roma. 523 p.
- ESPINOSA, H. 2003. La Colección Nacional de Peces, métodos y usos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 6: 30-36.
- ESPINOSA-PÉREZ, H. 2014. Biodiversidad de peces en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, Suplemento 85: S450-S459.
- ESPINOSA, P. H., L. HUIDOBRO, C. FLORES, P. FUENTES-MATA, & R. FUNES. 2008. *Catálogo de Autoridades Taxonómicas de los Peces de México*. Base de datos del Sistema Nacional de Información de Biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F.
- MEDINA-ROSAS, P. & A.R. RAYMUNDO-HUIZAR. 2014. Primer registro del pez de aguas profundas *Harriotta raleighana* (Chondrichthyes: Rhinochimaeridae) en la costa de Jalisco, Pacífico mexicano. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 1277-1281.
- MONCAYO-ESTRADA, R., J.L. CASTRO-AGUIRRE & J. DE LA CRUZ-AGÜERO. 2006. Lista sistemática de la ictiofauna de Bahía de Banderas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 77: 67-80.
- NELSON, J.S., GRANDE, T.C. & WILSON, M.V.H. 2016. *Fishes of the world*. John Wiley & Sons, New Jersey. 752 pp.
- TOWNSEND, C.H. & NICHOLS, J.T. 1925. Deep sea fishes of the 'Albatross' Lower California Expedition. *Bulletin of American Museum of Natural History* 52: 1-20.
- VAN DER HEIDEN, A. 1985. Additional morphometric data on *Harriotta raleighana* (Holocephali: Rhinochimaeridae) and description of copulation marks. *Revista de Biología Tropical* 33: 185-187.
- WEIGMANN, S. 2016. Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *Journal of Fish Biology* 88: 837-1037.

INSTRUCCIONES PARA AUTORES

HIDROBIOLÓGICA es una publicación **cuatrimestral** del Departamento de Hidrobiología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa (UAM-I), que difunde trabajos originales e inéditos de investigación sobre temas relacionados con el ambiente acuático. No se aceptarán trabajos previamente publicados en obras con ISSN o ISBN (proceedings, resúmenes en extenso, libros, etc.). Las contribuciones podrán ser en español o en inglés y en ambos casos contendrán un resumen en español y un abstract en inglés.

HIDROBIOLÓGICA publica cuatro tipos de documentos: **artículos, notas científicas, artículos de revisión y monografías taxonómicas**. A criterio del Comité Editorial, se podrán publicar números especiales sobre tópicos o temas específicos. No se aceptarán trabajos preliminares o inconclusos, ni aquellos que pudiendo integrarse como una unidad, sean presentados por separado en forma de pequeñas contribuciones o notas seriadas.

La revista cubre un perfil amplio con las siguientes cuatro áreas generales en la que participen diversos editores asociados:

- 1 Área Morfología, Sistemática y Filogenia
- 2 Área Ambiental
- 3 Área Manejo de Recursos Acuáticos
- 4 Área de Ecología

Los trabajos recibidos serán objeto de arbitraje guiado por miembros del Comité Editorial y por los asesores del Consejo Editorial. En esta evaluación se considerarán:

- 1) Originalidad y rigor científico.
- 2) Contribución al avance en las diversas áreas del conocimiento hidrobiológico.
- 3) Presentación, en lo referente a coherencia, continuidad y consistencia.
- 4) Empleo apropiado de tablas, figuras y fotografías en relación con el texto.

Los manuscritos y figuras que no se ajusten a las siguientes instrucciones serán devueltos sin evaluación a los autores para que procedan a su adecuación.

Todo trabajo recibido por los Editores merecerá un acuse de recibo inmediato. En el caso de contribuciones firmadas por diversos autores, la correspondencia necesaria durante el proceso editorial se establecerá con el primer autor, salvo indicación distinta, indicada en el manuscrito.

Una vez que los manuscritos hayan sido revisados y se haya comprobado que cumplen cabalmente con las normas editoriales, serán introducidos en el sistema OJS (Open Journal System) de Hidrobiológica para iniciar su proceso de evaluación.

Publicar en la revista HIDROBIOLÓGICA tiene un costo de recuperación de \$500 pesos mexicanos por página en blanco y negro

(aproximadamente 27 dólares americanos) y \$1000 pesos por página a color (aproximadamente 54 dólares americanos)

MANUSCRITOS ORIGINALES

Existen varios tipos de publicaciones que pueden ser enviadas:

- a) Artículo científico
- b) Nota científica
- c) Artículo de revisión
- d) Monografía taxonómica

Las contribuciones deberán ser enviadas a través del portal Open Journal System (OJS) de HIDROBIOLÓGICA, enviando además un aviso a las siguientes direcciones de correo electrónico.

Dirección de la revista *Hidrobiológica*: rehb@xanum.uam.mx

Dirección de apoyo a la revista: enlacerevistahidrobiologica@gmail.com

Editora en jefe: rta@xanum.uam.mx

NORMAS EDITORIALES

Los autores deberán ajustar la estructura de su manuscrito dependiendo de la modalidad del trabajo.

Los archivos de texto (manuscrito, pies de figuras, tablas) se enviarán en formato Word y las figuras (fotografías, mapas, composiciones) en formato jpg o tif con buena calidad, mayor o igual a 300 ppp (puntos por pulgada).

FORMATO DE PRESENTACIÓN ARTÍCULO CIENTÍFICO

Los manuscritos se presentarán en **tamaño carta**, escritos a **doble espacio**, sin sangría y utilizando el tipo **Univers condensada** o **Arial 12** puntos en todo el trabajo.

Los **márgenes del texto tendrán 3 cm** de cada lado. Los manuscritos elaborados en procesadores de palabras: Word o formato RTF, **no estarán justificados**, sino alineados a la izquierda y **sin espacio interpárrafo**. La versión final de los manuscritos aceptados deberá acompañarse de la actualización electrónica correspondiente.

Título

Será breve y se presentará tanto en inglés como en español. Sin dejar de ser explícito con respecto al tema de trabajo, no deberá exceder de 20 palabras y deberá estar escrito con mayúsculas y minúsculas. Se

propondrá también un título resumido en el idioma en que esté escrito el manuscrito, no mayor de seis palabras. Ambos se presentarán en una página aparte, en la cual se hará constar también el nombre completo de los autores iniciando con el nombre de pila, indicando claramente la forma en la que aparecerán los créditos y su dirección institucional completa, incluyendo exclusivamente el correo electrónico del autor designado para la correspondencia.

Para citar las direcciones postales seguir el modelo:

(Laboratorio/Área/Departamento), (Facultad/Instituto/Centro), (Universidad, Unidad Académica), (Dirección con calle, número y colonia), (Ciudad, Estado o Provincia), (Código postal), (País)

Para puntuación, seguir el ejemplo:

Laboratorio de Biología Acuática, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Avenida Francisco J. Mújica s/n, Ciudad Universitaria, col. Felicitas del Río, Morelia, Michoacán, 58040, México

Resumen

En un sólo párrafo y con una extensión de mínimo 250 a máximo 280 palabras, se escribirá en una página por separado y será acompañado de su traducción al inglés (Abstract). Ambos deben estructurarse utilizando los siguientes rubros; **Antecedentes.**, **Objetivos.**, **Métodos.**, **Resultados.**, **Conclusiones.**

Palabras clave

Los autores propondrán un máximo de cinco palabras clave, tanto en español, como en inglés (Keywords), y deberán estar ordenadas alfabéticamente.

Texto

Dividido en secciones: **INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, AGRADECIMIENTOS, REFERENCIAS, TABLAS** (con título en la parte superior), **LISTADO DE PIES DE FIGURA, COPIAS DE LAS FIGURAS** en Word ordenadas consecutivamente con su pie de figura en la parte inferior. Los títulos de las secciones se ubicarán en el centro de la página, claramente diferenciados del texto y escritas con mayúsculas y en negritas. Evitar en lo posible el uso de subtítulos y en caso necesario, emplear negritas nuevamente y de forma continua con el texto. Los objetivos y las conclusiones deberán incluirse en la introducción y en la discusión, respectivamente. **En ningún caso se usarán sangrías.**

Las páginas deberán ir debidamente foliadas con números consecutivos y arábigos. Para facilitar el arbitraje y la redacción de los comentarios por parte de los revisores, **se recomienda que los renglones de todo el texto, estén numerados consecutivamente desde el inicio hasta el final del manuscrito.**

En símbolos y unidades se empleará el sistema métrico decimal.

Los nombres latinos de especies biológicas se escribirán en cursivas y cuando se citen por primera vez en el texto, incluirán la autoridad nomenclatural, sin abreviaturas. Para este punto revisar las siguientes ligas:

<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=search>

<http://www.algaebase.org/search/species/>

http://ucjeps.berkeley.edu/cgi-bin/get_bpu_from_number.pl?lookfor=118025118026118027118028

Las citas en el texto que incluyan dos autores deberán incorporar el símbolo & y para las de tres o más autores se usará *et al.*, (en cursivas)

Taxa nuevos

La descripción de taxa nuevos para la ciencia deberán ajustarse a los Códigos Internacionales de Nomenclatura.

Referencias bibliográficas

Los criterios que deberán prevalecer en esta sección serán:

- Orden alfabético del apellido del primer autor
- Citas de trabajos del mismo autor primeramente se organizarán en orden cronológico las que tengan un sólo autor, seguidas por las publicadas con dos autores en orden alfabético de acuerdo al apellido del segundo autor y cronológico si ambos apellidos coinciden.
- La citas mencionadas en el texto con el apellido del primer autor seguido de *et al.* se ordenarán cronológicamente.

Los nombres de los autores deberán escribirse con mayúsculas y minúsculas, nunca exclusivamente con mayúsculas. Las iniciales del primer autor seguirán el apellido. Para los siguientes autores las iniciales antecederán el apellido, en el caso de dos o más iniciales, estas serán separadas por un punto, y un espacio adicional. Los títulos de las revistas no deberán abreviarse y, al igual de los títulos de libros, deberán ser escritos en cursivas. Deberá existir una correspondencia total entre los autores citados en el texto del manuscrito y en las referencias. En caso necesario de citas del mismo autor, publicadas en el mismo año, o del mismo autor en coautoría con dos o más autores (primer apellido seguido de *et al.*), usar siglas (a, b, c) en minúsculas tanto en el texto como en la sección de referencias. En ningún caso usar sangrías.

Un ejemplo de las citas más comunes se presenta a manera de ayuda:

Publicaciones periódicas

Ahmad, V. U. & M. S. Ali. 1991. Pinnatifinone, a new halogenated chami-grene from the red alga *Laurencia pinnatifida* (Lamour). *Scientia Pharmaceutica* 59 (2): 243-246.

Ahmad, V. U., M. S. Ali & S. Bano. 1990a. Marine natural products. XII: lauroil, a new metabolite from the red alga *Laurencia pinnatifida* (Lamour). *Scientia Pharmaceutica* 58 (2): 299-301.

Ahmad, V. U., S. Bano, W. Shaikh, S. Uddin & M. Shameel. **1990b**. Isolation and structure determination of 1,1,6,6-tetrachloro, 3,4-diphenyl hexane from brown alga *Dictyota dichotoma*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 33 (3): 428-430. (Nótese que ésta y la cita anterior deberán ser mencionadas en el texto como Ahmad *et al.*, 1990a y Ahmad *et al.*, 1990b).

Ahmad, V. U., M. S. Ali, S. Bano & M. Shameel. 1991. Pinnatifolide, a new metabolite from red alga *Laurencia pinnatifida* Lamour. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 34 (1): 161-162.

Libros

Lind, O. T. 1985. *Handbook of common methods in limnology*. Kendall-Hunt Publishing Company, Dubuque. 199 p.

Eaton, A. D., L.S. Clesceri & A. E. Greenberg (eds.). 1995. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19th ed. American Public Health Association (APHA). Washington, D. C. Folio variado.

Capítulos de libro

Litter, M. M. & D. S. Litter. 1998. Structure and role of algae in tropical reef communities. *In*: Lembi, C. A. & J. R. Waaland (eds.). *Algae and human affairs*. Cambridge University Press, pp. 29-56.

Suárez-Morales, E. & M. Elías-Gutiérrez. 1992. Cladóceros (Crustacea: Branchiopoda) de la reserva de la biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo y zonas adyacentes. *In*: Navarro, D. & E. Suárez-Morales (eds.). *Diversidad biológica en la reserva de la biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo. Vol. 2*. Centro de Investigaciones de Quintana Roo. Chetumal, pp. 145-161.

Tesis

Ibáñez-Aguirre, A. L. 1995. Algunos aspectos de la dinámica de poblaciones de *Mugil cephalus* (Linneo, 1758) y *M. curema* (Valenciennes, 1836) (Pisces: Mugilidae) en la Laguna de Tamiahua, Veracruz. Tesis de Doctorado en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM. CDMX, México. 216 p.

Otros

CNA (Comisión Nacional del Agua). 2003. *Ley Federal de Derechos Normas Aplicables en materia de Aguas Nacionales y sus Bienes Públicos Inherentes 2003*. Diario Oficial de la Federación. México, D.F. Enero 2: 173-191.

Systematics Agenda. 2000. 1994. *Systematics Agenda 2000: Charting the Biosphere*. Technical Report. New York. 34 p.

Las citas a los documentos que se encuentran en la web deben hacerse de la siguiente manera: se mencionarán el autor (o en su caso la organización responsable de la publicación del documento, como por ejemplo FAO, WHO, FDA etc.), la fecha de consulta y el título, seguidos por:

En español: disponible en línea en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/en (consultado el 19 febrero 2010).

En inglés: Available online at: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/en (downloaded February 19, 2010).

Ejemplos:

FAO (Food and Agriculture Organization). 2004. El estado mundial de la pesca y la acuicultura-2004 (SOFIA). Disponible en línea en: <http://www.fao.org/docrep/007/y5600e/y5600e00.htm> (consultado el 19 febrero 2010).

WHO (World Health Organization). 2004. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2nd ed. World Health Organization, Geneva. Available online at: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/9241546123.pdf> (downloaded February 19, 2010).

Cuando se trate de artículos, libros etc. disponibles en las dos maneras, se dará primero la cita completa y posteriormente la página web, de acuerdo al siguiente ejemplo:

SAGARPA-CONAPESCA. 2006. *Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2006*. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Pesca. Mazatlán. 219 p. También disponible en la página web (si el escrito es en inglés, usar: also available at:) http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca

Adición del DOI a las Referencias

Los libros y publicaciones periódicas colocados en las referencias bibliográficas que posean DOI (Digital Object Identifier), agregarlo al final de la referencia correspondiente, como se muestra a continuación:

Calor, A. 2009. Considerações Acerca da Filogenia de Trichoptera Kirby 1813: da Análise dos Dados para as Hipóteses ou dos Cenários para os Dados. *Entomobrasilis* 2 (1): 01-10. DOI:10.12741/entomobrasilis.v2i1.24

Tablas

Se presentarán a doble espacio, **orientadas verticalmente (a menos que la tabla contenga varias columnas)**, numeradas consecutivamente con números arábigos, con **un breve título en la parte superior y referidas al texto**. Deberán escribirse con letras y números en tipo Univers condensada o Arial 10 puntos, con mayúsculas y minúsculas; si son necesarias notas aclaratorias, éstas se pondrán en la parte inferior de la figura, con tamaño de fuente 8. **Se evitarán las líneas verticales y horizontales así como el uso de columnas que implique el empleo de tabuladores.**

Figuras

Las figuras deben ser originales, en caso de que algunas de ellas que forman parte del manuscrito hayan sido publicadas previamente, el autor estará obligado a solicitar los permisos correspondientes e indicar la referencia y cita correspondiente de donde son tomadas. En caso de que las figuras se modifiquen, indicarlo con la leyenda "Fig. modificada de (...)".

Además de las figuras incorporadas en el texto en Word, éstas se enviarán en archivos separados en alta resolución, cada uno identificado por el autor y con la numeración correspondiente a la figura. Serán numeradas consecutivamente con números arábigos y referidas al texto en forma secuencial. Las leyendas deberán escribirse con mayúsculas y minúsculas. El tamaño máximo para una figura o grupo de figuras será de 17 cm de longitud y 13 cm de ancho; el mínimo permitido será de 8 X 8 cm. Letras y números tendrán como máximo 10 puntos y como mínimo 8. Las figuras a escala deberán acompañarse de una escala gráfica. Todos los términos, símbolos y abreviaturas serán los empleados en el texto. **Es indispensable que las figuras o dibujos se envíen como archivos TIFF o JPG, con una definición mínima de 300 ppp., por ejemplo: Figura_1_Meave_dinos.jpg**

Fotografías

Sólo las estrictamente indispensables y con buen contraste. Cuando se realicen composiciones se dejará un pequeño espacio entre foto y foto. Las dimensiones máximas y mínimas se apegarán a las mencionadas en el inciso de figuras. Los números y letras no serán mayores de 10 puntos ni menores de 8 puntos. Las fotografías deben ser enviadas por separado y con buena calidad. Se numerarán como figuras en orden consecutivo a su referencia en el texto. **Se aceptarán figuras, o fotografías a color, cuando su uso sea indispensable y su costo será cubierto por los autores al momento de pagar los gastos de publicación.**

FORMATO DE PRESENTACIÓN PARA NOTAS CIENTÍFICAS

Para la elaboración de notas, los autores deberán seguir el formato: **TÍTULO** en el idioma del trabajo, **TÍTULO** traducido al inglés o al español, **AUTORES, INSTITUCIONES DE ADSCRIPCIÓN, RESUMEN, ABSTRACT (resumen en inglés), Palabras clave y Keywords, AGRADECIMIENTOS y REFERENCIAS.** Éstas se apegarán a las normas editoriales de los artículos de investigación, **aunque sin apartados en el cuerpo de la nota.** Se ajustará el texto a un mínimo de cinco cuartillas y un máximo de siete, a doble espacio. Se recomienda la presentación de una sola tabla o figura.

FORMATO DE PRESENTACIÓN PARA ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Este tipo de artículo podrá llevar el mismo formato que los artículos científicos o al menos los encabezados de **INTRODUCCIÓN, DISCUSIÓN y REFERENCIAS,** incluyendo en ellos los subtemas que los autores consideren pertinentes.

La recepción y aceptación final de los artículos de revisión estarán sujetas a la decisión final por parte del Comité Editorial.

FORMATO DE PRESENTACIÓN PARA MONOGRAFÍAS TAXONÓMICAS

Este tipo de artículos podrá tener el mismo formato que los artículos científicos, en la porción de resultados incluirá la descripción de especies. La extensión de estos trabajos podrá ser de hasta 2/3 partes de un volumen (aprox. 60 páginas del formato Word a doble espacio).

Derechos de autor

La aceptación final de un manuscrito para su publicación **implica la cesión de los derechos de autor a la casa editorial de la revista Hidrobiológica, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.**

Pruebas de galera

Las pruebas serán revisadas por los autores y devueltas al Editor en jefe **tres días después de haber sido recibidas.** Si las pruebas no se entregan a tiempo, su contribución se publicará sin las correcciones correspondientes.

Dirección Postal

Departamento de Hidrobiología, DCBS, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco N° 186. Col. Vicentina, Iztapalapa, 09340, Apartado Postal 55-535, Ciudad de México, México. Edificio AS, cubículo 305.

Teléfono: 01 (55) 5804 4600 Ext. 3053. Desde otro país: 52 (55) 5804 4600, Ext. 3053.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

HIDROBIOLÓGICA is a peer-reviewed research journal published every four months by the Departamento de Hidrobiología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa (UAM-I). The journal publishes original papers related to aquatic environments. Data previously published in works with ISSN or ISBN (proceedings, extensive abstracts, books, etc.) will not be accepted. Contributions can be in Spanish or English. In both cases an abstract in Spanish and English must be included.

HIDROBIOLÓGICA publishes four types of documents: **scientific papers, scientific notes, review papers, and taxonomic monographs**. Periodically, the Editorial Board decides to publish special issues on specific topics or themes. Preliminary or unfinished works will not be accepted. Similarly, research presented in serial parts or small contributions are not accepted.

Various associate editors participate with the Journal to cover a wide variety of topics within the following four general areas:

- 1 Morphology, Systematics, and Phylogenics
- 2 Environment
- 3 Aquatic Resources Management
- 4 Ecology

All articles received **will go through a review process guided by a member** of the Editorial Committee or an Editorial Board Advisor. This evaluation will consider:

- 1) Originality and scientific rigor
- 2) Advances in knowledge of the different areas of hydrobiology
- 3) Coherence, continuity, and consistency of presentation
- 4) Appropriate use of tables, figures, and photographs in the text

Manuscripts and figures that do not comply with the following instructions will be returned to the authors without evaluation so that appropriate changes can be made.

All manuscripts received by the Editors will be immediately acknowledged. Correspondence during the editorial process will be directed to the first author unless otherwise indicated in the manuscript.

Once manuscripts have been reviewed and found to comply fully with the editorial instructions, they will be included in the *Hidrobiológica* Open Journal System to begin the evaluation process.

Publishing in *HIDROBIOLÓGICA* has a recovery cost of \$500 Mexican pesos per page in black and white (27 USD, approximately) and \$1000 Mexican pesos per page in color (54 USD, approximately).

ORIGINAL PAPERS

Several types of papers can be submitted:

- a) Scientific article
- b) Scientific note
- c) Review article
- d) Taxonomical monograph

Contributions should be submitted through the portal Open Journal System (OJS) of *HIDROBIOLÓGICA*, also sending a notice to:

Hidrobiológica: reh@xanum.uam.mx

Assistant editor: enlacerevistahidrobiologica@gmail.com

Editor-in-chief: rta@xanum.uam.mx

AUTHOR GUIDELINES

Authors must adjust the structure of their paper to the type of manuscript being submitted.

Text files (manuscript, figure legends, tables) must be presented in Word format, while figures (photographs, maps, compositions) should be in good-quality **JPG** or **TIFF** format, equal or higher than 300 dpi.

SUBMISSION FORMAT FOR A SCIENTIFIC PAPER

All manuscripts must be submitted in **letter format**, single column, **double spaced**, without tabs, in **Universe Condensed** or **Arial 12** font.

Texts will have **3 cm margins on each side**. Manuscripts written in Word or RTF word processors **should not be justified**, but rather aligned to the left with **no space between paragraphs**. The final version of accepted manuscripts must be accompanied by relevant electronic updates.

Title

The title should be concise, no longer than 20 words, and indicative of the nature of the paper. It must be written in English and Spanish in capital and lower-case letters. A short title of up to six words should also be provided in the same language as the rest of the manuscript. Both titles must be submitted on a separate sheet that includes authors' names. These should include the last name and one first name of each author spelt in full, clearly indicating the order in which credits must appear and their institutional address, including the email of the corresponding author.

For postal addresses, follow the pattern:

(Laboratory/Area/Department), (Faculty/Institute/Center), (University/Campus), (Address with street and number), (City, State or Province), (ZIP Code), (Country)

For punctuation, follow the example:

Laboratorio de Biología Acuática, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Avenida Francisco J. Mújica s/n, Ciudad Universitaria, col. Felicitas del Río, Morelia, Michoacán, 58040, México

Abstract

We require a one-paragraph abstract in English and a one-paragraph "resumen" in Spanish, each with a **maximum length of 250 words**. Both must be submitted on a separate sheet. **Background., Goals., Methods., Results., Conclusions.**

Keywords

Appropriate **keywords** (4-5) should be provided in English and Spanish in alphabetical order.

Main text

The following sections must be included in a bold center title: **INTRODUCTION**. This should state the investigated problem, the aim of the work, and previous relevant work with appropriate references. The **MATERIALS AND METHODS** used should be stated clearly in sufficient detail to permit others to repeat the research, if so desired. **RESULTS** should be presented concisely, with tables or illustrations for clarity. **DISCUSSION** should cover the significance of the findings without repetition of material in the Introduction and Results sections. This section must contain the conclusions of the work, **ACKNOWLEDGEMENTS**, and **REFERENCES**. It is very important that references be checked carefully. Subheadings should be avoided but if necessary they must be in bold and continuously written within the paragraph.

Pages should be numbered consecutively with Arabic numerals. **Please number all lines in the manuscript consecutively** in order to facilitate the review process by allowing reviewers to pinpoint specific references more easily.

The decimal metric system should be used for symbols and units.

Latin names of **biological species should be written in italics**. The first mention of a species in the text should include the **nomenclature authors without abbreviation**. In the case of **animal species, the year of publication of the description** should be indicated.

References in the text that include two authors should incorporate the ampersand (&) symbol, whereas three or more authors should include *et al.* (in italics).

New taxa

Description should follow the international code of nomenclature.

References

References should adhere to the following guidelines:

- In alphabetical order by the first author's last name.
- Citations of works by the same author in chronological order, then those published by two authors in the same order (alphabetically by the second author's last name and chronologically in case of coincidence).
- References in the text with **et al.** should be ordered chronologically.

Authors' names should be written in capital and lower-case letters, not in capital letters exclusively. Initials of the first author will follow the last name. For additional authors, initials will precede the last name. In the case of two or more initials these should be separated by a period and a space. **Journal titles should not be abbreviated. Book and journal titles should be in italics.** The total number of cited authors in the text should coincide with the total number of references. Citations of the same author, published in the same year, or with the same co-authors (last name followed by *et al.*), should use the small letters (a, b, c) within the text and in the reference section. Never use indentations.

Examples of the most common citations are presented below:

Periodical publishing

Ahmad, V. U. & M. S. Ali. 1991. Pinnatifinone, a new halogenated chami-grene from the red alga *Laurencia pinnatifida* (Lamour). *Scientia Pharmaceutica* 59 (2): 243-246.

Ahmad, V. U., M. S. Ali & S. Bano. **1990a**. Marine natural products. XII: lauroil, a new Metabolite from the red alga *Laurencia pinnatifida* (Lamour). *Scientia Pharmaceutica* 58 (2): 299-301.

Ahmad, V. U., S. Bano, W. Shaikh, S. Uddin & M. Shameel. **1990b**. Isolation and structure determination of 1,1,6,6-tetrachloro, 3,4-diphenyl hexane from brown alga *Dictyota dichotoma*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 33 (3): 428-430. (Please note that this citation and the one before, should be mentioned in the text as Ahmad *et al.* 1990a and Ahmad *et al.* 1990b).

Ahmad, V. U., M. S. Ali, S. Bano & M. Shameel. 1991. Pinnatifolide, a new metabolite from red alga *Laurencia pinnatifida* Lamour. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 34 (1): 161-162. 4

Books

Lind, O. T. 1985. *Handbook of common methods in limnology*. Ken-dall-Hunt Publishing Company, Dubuque. 199 p.

Eaton, A. D., L. S. Clesceri & A. E. Greenberg (eds.). 1995. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19th ed. American Public Health Association (APHA). Maryland. Varied folio.

Book chapter

Litter, M. M. & D. S. Litter. 1998. Structure and role of algae in tropical reef communities. *In: Lembi, C. A. & J. R. Waaland (eds.). Algae and human affairs*. Cambridge University Press, pp. 29-56.

Suárez-Morales, E. & M. Elías-Gutiérrez. 1992. Cladóceros (Crustacea: Branchiopoda) de la reserva de la biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo y zonas adyacentes. *In: Navarro, D. y E. Suárez-Morales (eds.). Diversidad biológica en la reserva de la biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo. Vol. 2.* Centro de Investigaciones de Quintana Roo. Chetumal, pp. 145-161.

Thesis

Ibáñez-Aguirre, A. L. 1995. Algunos aspectos de la dinámica de poblaciones de *Mugil cephalus* (Linneo, 1758) y *M. curema* (Valenciennes, 1836) (Pisces: Mugilidae) en la Laguna de Tamiahua, Veracruz. Tesis de Doctorado en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM. CDMX, México. 216 p.

Others

CNA (Comisión Nacional del Agua). 2003. *Ley Federal de Derechos Normas Aplicables en materia de Aguas Nacionales y sus Bienes Públicos Inherentes 2003.* Diario Oficial de la Federación. CDMX, México. Enero 2: 173-191.

Systematics Agenda 2000. 1994. *Systematics Agenda 2000: Charting the Biosphere.* Technical Report. New York. 34 p.

Online citations

References to online-only journals and books should include the author (or the responsible agency, i.e., FAO, FDA, WHO, etc.), title, website, and date of access, followed by:

In Spanish: Disponible en línea: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/en (consultado el 19 febrero 2010).

In English: Available online at: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/en (downloaded February 19, 2010).

Examples:

FAO. 2004. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2004 (SOFIA). Available on line at: <http://www.fao.org/docrep/007/y5600e/y5600e00.htm> (downloaded february 19, 2010).

WHO. 2004. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2nd ed. World Health Organization, Geneva. Available online at: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/9241546123.pdf> (downloaded February 19, 2010).

Citations available in both printed and online sources should be cited as follows: First with a complete citation and then the website address, as in the following example:

SAGARPA-CONAPESCA. 2006. *Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2006.* Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Pesca. Mazatlán. 219 p. Also available at: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca

Addition of DOI to References

The references of books and articles that have DOI (digital object identifier), it must be added at the end, as shown below:

Calor, A. 2009. Considerações About da Filogenia de Trichoptera Kirby 1813: da Análise dos Dados for Hipóteses ace or dos Cenários for Dados. *Entomobrasilis* 2 (1): 01-10. DOI:10.12741 / ebrasilis.v2i1.24

Tabular material

Tabular material must be clearly set out with the number of columns in each table kept to a minimum and **vertically oriented** using double spacing **without tabs**, Universe Condensed or Arial 10 font. Tables, numbered consecutively with Arabic numerals, must be typed on separate sheets, leaving sufficient space around the copy for printer's instructions. Tables must have **concise headings at the top** that enable comprehension without reference to the main text. Please ensure that the data in columns are consistent in the number of significant figures. Footnotes should be kept to a minimum and indicated by asterisks and daggers (*, †) at the bottom of the table with type 8. **Vertical and horizontal lines should be avoided.**

Figures

Figures should be originals. If you intend to use previously published figures, you must obtain written permission and indicate the reference and citation of their original appearance. If the figure was changed, indicate this with the legend "Figure modified by (...).

In addition to the figures included in the Word file, each one should be **sent as a separate high-resolution file**. Number illustrations with Arabic numerals consecutively, in order of appearance in the text. Legends should be written in capital and lower-case letters. **Maximum size** of a figure or group of figures will be **17 cm length and 13 cm width** with a minimum size of 8X8 cm. Numbers and letters in the figure must be 10 points maximum and 8 points minimum. **Figures with scale must be accompanied with a graph scale.** Terms, symbols, and abbreviations will be the same as in the text. **Suitable file types include Joint Photographic Experts Group (JPEG), Tagged Image File Format (TIFF) with a minimum resolution of 300 dpi. Example: Figure_1_Meave_dinos.jpg**

Photographs

Keep photographs to a minimum. They should be of good quality and well contrasted. Number photographs with Arabic numerals consecutively, in order of appearance in the text. When using compositions, leave a small space between each photo. Photographs should follow the same size instructions as figures. Photographs should be placed in separate files.

The Journal will accept color figures and photographs only when essential to the paper. Authors must cover the additional production costs of color printing.

SUBMISSION FORMAT FOR SCIENTIFIC NOTES

The format of a Scientific Note is as follows: **TITLE (in Spanish and English), AUTHORS, INSTITUTIONS, ABSTRACT** (with keywords in alphabetic order), **RESUMEN** (abstract in Spanish with keywords (“palabras clave”) in alphabetic order), **ACKNOWLEDGEMENTS**, and **REFERENCES**. The same format as a scientific paper should apply, but without **separate sections in the body of the note**. The minimum and maximum total manuscript length is 5-7 letter-sized, double-spaced pages. Please refrain from including more than one table or figure.

SUBMISSION FORMAT FOR A REVIEW PAPER

Review papers will have the same format as original manuscripts with at least the **INTRODUCTION, DISCUSSION**, and **REFERENCES** headings, and any headings and subheadings that authors consider pertinent.

Reception and final acceptance of review papers will be decided by the Editorial Board.

Publishing in Hidrobiológica implies that all authors agree to transfer the article's copyright to the Editorial Board of Hidrobiológica Journal, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

Monographs should have the same format as a scientific paper. The results section should include a description of the species. The length of a monograph can be up to two-thirds of a volume (60 double spaced Word pages).

Copyright

Final acceptance of a manuscript for publication implies **the transfer of all rights to the Editorial Board of Hidrobiológica, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.**

Proofs

Author's proofs will be emailed to the corresponding author. Proofs must be corrected and returned to the Associate Editor **within 72 hours after receipt**; failure to do so will result in publication without corrections.

Postal address

Departamento de Hidrobiología, DCBS, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186. Col. Vicentina, Iztapalapa, 09340, Apartado Postal 55-535, Ciudad de México, México. Edificio AS, cubicle 305.

Telephone: +52 55-5804 4600, Ext. 3053.