

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“ADAPTACIÓN DE *Lithobates pipiens* PARA SU CRIANZA
BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

JESÚS JOSAFAT DE LEÓN RAMÍREZ

DIRIGIDA POR

Dr. JUAN FERNANDO GARCÍA TREJO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2014.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ADAPTACIÓN DE *Lithobates pipiens* PARA SU CRIANZA
BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

JESÚS JOSAFAT DE LEÓN RAMÍREZ

DIRIGIDA POR

Dr. JUAN FERNANDO GARCÍA TREJO

SINODALES

Dr. JUAN FERNANDO GARCÍA TREJO
DIRECTOR

IIA. HÉCTOR MARIANO ROJAS TOVAR
CO-DIRECTOR

Dr. VÍCTOR PÉREZ MORENO
SINODAL

Dr. CARLOS FRANCISCO SOSA FERREIRA
SINODAL

ÍNDICE GENERAL

| Contenido | Página |
|---|--------|
| ÍNDICE GENERAL | i |
| ÍNDICE DE CUADROS | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iv |
| RESUMEN | |
| 1. ANTECEDENTES | 1 |
| 1.1 Ranicultura | 1 |
| 1.2 Ranicultura en el mundo. | 1 |
| 1.3 Calidad del agua en ranicultura | 3 |
| 1.4 Aspectos generales de las ranas | 4 |
| 1.5 Ciclo de vida | 5 |
| 1.6 Reproducción | 7 |
| 1.7 <i>Lithobates pipiens</i> | 8 |
| 1.8 Reproducción de <i>Lithobates pipiens</i> | 10 |
| 1.9 Amenazas | 10 |
| 2. HIPÓTESIS | 12 |
| 3. OBJETIVOS | 13 |
| 3.1 General | 13 |
| 3.2 Específicos | 13 |
| 4. METODOLOGÍA | 14 |
| 4.1 Ubicación del proyecto | 14 |
| 4.2 Material biológico | 15 |
| 4.3 Mediciones fisicoquímicas | 15 |
| 4.3.1 Oxígeno Disuelto | 15 |
| 4.3.2 Nitratos | 17 |
| 4.3.3 Nitritos | 18 |
| 4.3.4 Amoniacó | 20 |
| 4.3.5 pH | 21 |
| 4.3.6 Temperatura | 21 |

| | |
|--|----|
| 4.4 Alimentación | 21 |
| 4.5 Densidad de carga | 23 |
| 4.6 Monitoreo de la biometría de la rana | 23 |
| 5. RESULTADOS | 24 |
| 5.1 Ubicación del proyecto | 24 |
| 5.2 Material biológico | 24 |
| 5.3 Mediciones fisicoquímicas | 25 |
| 5.3.1 Oxígeno Disuelto | 26 |
| 5.3.2 Nitratos | 26 |
| 5.3.3 Nitritos | 27 |
| 5.3.4 Amoniaco | 27 |
| 5.3.5 pH | 27 |
| 5.3.6 Temperatura | 28 |
| 5.4 Alimentación | 30 |
| 5.5 Densidad de carga | 34 |
| 5.6 Monitoreo de la biometría de la rana | 35 |
| 6. DISCUSION | 39 |
| 7. CONCLUSIONES | 41 |
| 8. REFERENCIAS | 42 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|--------|---|--------|
| 1 | Preparación de disoluciones de NO ₃ - | 18 |
| 2 | Relación volumen de muestra por cantidad de nitritos | 19 |
| 3 | Características del alimento | 21 |
| 4 | Rangos fisicoquímicos establecidos para el cultivo de rana toro | 26 |
| 5 | Rangos obtenidos de los parámetros evaluados para la calidad de agua de rana leopardo (<i>Lithobates pipiens</i>) | 27 |
| 6 | Rangos de temperatura dentro del invernadero | 28 |
| 7 | Rangos de temperatura dentro de los estanques | 28 |
| 8 | Rangos de temperatura registrada en el agua | 28 |
| 9 | Solución Rinder | 31 |
| 10 | Acciones realizadas en la ración y porción de comida | 31 |
| 11 | Análisis económico del alimento empleado | 33 |
| 12 | Descripción de las variantes en cuanto al horario para bridar alimento | 33 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | | Página |
|--------|--|--------|
| 1 | Diagrama de flujo para conseguir el correcto acondicionamiento de <i>Lithobates pipiens</i> para su crianza bajo invernadero | 14 |
| 2 | A) ejemplar de rana leopardo (<i>Lithobates pipiens</i>) rodeado de lirios colocados en los estanques como parte del acondicionamiento de las instalaciones. B) ejemplares hembra de rana leopardo | 24 |
| 3 | Comportamiento de la población de rana leopardo durante el periodo del trabajo | 25 |
| 4 | Grafico del comportamiento de la temperatura dentro del invernadero | 29 |
| 5 | Grafico del comportamiento de la temperatura dentro de los estanques | 29 |
| 6 | Grafico del comportamiento de la temperatura del agua en los recintos | 30 |
| 7 | Comparativo del alimento empleado para cada modulo, teniendo como partida el peso con el cual llegaron los ejemplares como 100% | 35 |
| 8 | Comportamiento de los módulos una vez que el alimento empleado fue el mismo para ambos grupos. | 36 |
| 9 | A) Hembra de rana leopardo, B) Macho de rana leopardo, posee sacos vocales pareados detrás de las mandíbulas C) Amplexo | 37 |
| 10 | Primera generación de renacuajos de rana leopardo (F ₁) nacidos en condiciones de invernadero | 38 |
| 11 | Renacuajos de rana leopardo (F ₁) con un 45 días de edad | 38 |

RESUMEN

La ranicultura es una actividad que se proyecta con una gran expansión en nuestro país, además surge como una alternativa para disminuir el lucro sobre la vida silvestre, tal es la situación de la rana *Lithobates pipiens* cuya población se ha visto disminuida a través de la captura. Es por dicha razón que se proyecta llevar su vida a condiciones de crianza bajo invernadero. Para conseguir dicha meta se trabajó sobre la evaluación de los factores más importantes en el ciclo de vida de esta rana, lo cual permitió delimitar cuestiones tales como: la alimentación, marcándonos la mejor opción una dieta con 40% de valor proteico y 6% en grasas; la densidad de animales conveniente por m² que permita su correcto desenvolvimiento; así como los parámetros del medio y del agua que son cruciales en el desarrollo óptimo de *Lithobates pipiens*; generando con ello un ambiente que permitió que los animales logran prosperar en cautiverio, permitiendo así su adecuación.

1. ANTECEDENTES

1.1 Ranicultura

La acuicultura es una actividad que se refiere al cultivo de organismos acuáticos, dentro de sus ramas se encuentra la ranicultura. Esta actividad es un campo de explotación animal altamente rentable que exige una gran dedicación, García (2005) menciona que poco a poco las ranas han dejado de ser un producto silvestre para convertirse en una fuente de ingresos económicos a través del cultivo (García, 2005).

El consumo de la carne de rana es un hábito existente en la sociedad humana conocido desde la antigüedad, pues era citado por Herodoto en sus escritos, donde lo describía como fino manjar que los griegos servían a los comensales en conmemoraciones de la más selecta sociedad; del mismo modo hay evidencia que constata que en China, la rana es conocida como alimento hace ya más de treinta siglos. En el siglo XIX en el flujo migratorio europeo, italianos, alemanes, suizos, belgas y otros pueblos extendieron el hábito del consumo de carne de rana como alimento en los Estados Unidos, Canadá, Chile, Venezuela y Argentina; a diferencia el caso de Brasil donde la costumbre de comer carne de rana ya era propia de los nativos del lugar (Bahamonde, 2005). En últimos años la ranicultura se ha convertido en una actividad tecnológica y económicamente viable, con un ritmo importante de crecimiento, principalmente en América Latina y el Sureste Asiático (Flores, 2000).

1.2 Ranicultura en el mundo

En Asia la ranicultura se originó como tal a principios de los años 50, cuando en Taiwán se introdujo la especie de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) bajo un programa de desarrollo tecnológico que permitiera su cultivo comercial (Flores, 2000). Por otra parte en Tailandia e Indonesia fue a principios de la década de los 80's que a partir de esfuerzos locales se consiguió la domesticación de la rana tigrina (*Hoplobatrachus tigerinus*), con lo que la actividad ranícola se convirtió en

una actividad de relativa importancia (Flores, 2000). De acuerdo con estimaciones de 1997, la región contaba con más del 60% de las granjas ranícola en operación en el mundo (Flores,1997).

Mientras tanto en el continente americano, los inicios del cultivo de rana apuntan a los Estados Unidos. Posteriormente hacia los años 30`s en Brasil se reportan los primeros intentos mediante introducción de rana toro (*Lithobates catesbeianus*), más sin embargo los fracasos en los primeros intentos mermaron la actividad y propiciaron su abandono por un lapso de 40 años, transcurrido este tiempo la ranicultura tuvo un nuevo auge guiada por un grupo de emprendedores en busca de diversificación económica. Recientemente, a mediados de los años 80`s países como Uruguay, Argentina y Ecuador, siguieron los pasos de Brasil, adoptando implementado sus sistemas en el cultivo de rana (Fontanello, 1992). La ranicultura se ha consolidado gradualmente en Latinoamérica. Tradicionalmente Cuba y México eran los países que exportaban carne de rana, aunque los animales eran originarios de la extracción del medio. Cuba fue uno de los principales exportadores mundiales de ancas de rana para los Estados Unidos. El dramático cambio económico afectó la producción y el mercado que hoy muestra a Cuba solamente como un pequeño productor y exportador.

En México, hasta la década de los 80, la abundancia de poblaciones de *Rana catesbeina* y *Rana pipiens* eran suficientes para satisfacer la industria de exportación, principalmente para los Estados Unidos (Pereira, 2003). La disminución de las poblaciones en la naturaleza, junto con las restricciones sanitarias y ecológicas influenciaron la disminución de la captura (Casillas, 1999).

En años recientes, el cultivo de rana se ha convertido en una alternativa de alto potencial para incrementar la producción sin acabar con las poblaciones silvestres (Casillas, 1999). De la rana pueden aprovecharse a nivel industrial una gran gama de productos y subproductos como la piel, el hígado, el aceite, la rana viva con fines de investigación, las vísceras secas combinadas con otros ingredientes para alimento de rana y por supuesto el anca de rana en sus diferentes presentaciones.

El aprovechamiento integral de la rana como un recurso biológico, representa un claro ejemplo de una actividad productiva que no afecta al ambiente, coadyuva a la preservación de las especies silvestres y se categoriza como un sistema biotecnológico de alto rendimiento y además ecológico, ya que puede emplearse el agua residual tratada de las granjas en sistemas agrícolas diversos (Casillas, 1999).

El mercado mundial de la rana está dominado por Estados Unidos, que aparece como el mayor importador (10,000 toneladas por año), seguido por Francia (2,000 toneladas) e Italia (500 toneladas), cuyas demandas son cubiertas con organismos que provienen principalmente de las capturas silvestres de países como Bangladesh, Indonesia, Albania, Turquía, Egipto, China, Malasia y Brasil. Todos los países exportadores requieren de una conciencia sobre los problemas ecológicos que ocasiona la sobreexplotación de estos anfibios, cuyo papel en la cadena alimenticia es determinante.

El mercado internacional para la rana mexicana lo constituye fundamentalmente Estados Unidos y Canadá con más del 95% de las exportaciones. El remanente es enviado de manera irregular a países de la Comunidad Económica Europea, o bien, al Japón (Flores, 1998).

1.3 Calidad del agua en ranicultura

El agua es el recurso básico en la producción de rana, por lo que es necesario disponer de ella en cantidad y calidad suficientes para sustentar el proceso productivo.

En la ranicultura, el agua debe cumplir con ciertas características fisicoquímicas y microbiológicas que permiten el correcto desarrollo de los organismos. El agua destinada para esta actividad puede provenir de varias fuentes: río, arroyo, manantial, pozos artesianos o canales de riego, pero ante todo con la suficiente calidad y cantidad, sin dejar de considerar sus rangos críticos (Méndez, 2010).

Algunas de las características con las que el agua debe contar son por ejemplo estar libre de residuos orgánicos y pesticidas, con niveles de oxígeno arriba de 5mg/l, un pH neutro, alcalinidad y dureza entre los 50-200 mg/l y temperatura óptima entre 20-28 °C por citar algunos.

1.4 Aspectos generales de las ranas

Los anfibios, conforman un grupo de organismos vertebrados con alrededor de 6.000 especies conocidas; que incluye ranas, sapos, salamandras o tritones y ápodos o cecilias, que existen desde hace aproximadamente 300 millones de años, y sólo entre los años 1970 y 2000 se cree que alrededor de 168 especies se han extinguido, y por lo menos 2.469 (43%) especies presentan un declive en su población (Stuart, 2004).

Las ranas son vertebrados poiquiloterms (de sangre fría) presentan cambios fisiológicos o de metamorfosis, alterando su vida acuática con la terrestre; puede habitar en medios lenticos o loticos (agua estancadas o de corriente), pero siempre con abundante vegetación emergente flotante y marginal (Pineda, 2001).

Tiene gran importancia en las cadenas alimenticias, ya que es depredado por culebras, aves y mamíferos; así mismo son animales benéficos para el hombre por su voracidad para consumir diversos insectos, particularmente en regiones agrícolas donde intervienen como controladores biológicos (Pineda, 1998).

Hoy en día su carne es buscada para la alimentación humana y la piel de muchas especies de gran tamaño (rana toro o mugidora) una vez curtida es utilizada para confeccionar bolsos y zapatos de gran valor en el mercado. No debemos olvidar que su mayor utilidad es como auxiliares de la agricultura, pues dada su voracidad y el hecho que se alimentan de presas vivas, convirtiéndose en eficaces depredadoras de insectos. Algunos países conocedores de esta cualidad, utilizaron ciertas especies para combatir determinadas plagas de sus cultivos, por ejemplo: el *Bufo marinus* se introdujo en Florida, Hawai, Haití y el *Bufo paracnemis* en Cuba, esto con el fin de acabar con el escarabajo de la caña de azúcar (Hernández,

1996). El medio ideal para estos animales parece ser aquel donde coinciden temperatura y humedad elevada, esto origina que en la zonas ecuatoriales las especies sean más diversas, sobre todo en América ecuatorial, África y en algunas islas de Indonesia (Hernández, 1996).

1.5 Ciclo de vida

Las ranas como en la mayoría de los anfibios, comienza su vida en el agua y mantienen una íntima relación con ella durante gran parte de su vida, para esto atraviesan una gran cantidad de cambios importantes en su organismo (Hernández, 1996). Durante la temporada de lluvias y cuando la temperatura alcanza los 20 °C, las ranas inician su reproducción. El macho abraza la hembra por la espalda, fijándose en la región axilar y comprimiéndola. Simultáneamente y en ritmos compasados, la pareja libera los gametos y distienden las patas para esparcir la freza por la superficie. En este momento, ocurre la fecundación de los óvulos por los espermatozoides (Storer, 2003)

Cuando el nacimiento de la larva se da, esta se fija mediante un par de ventosas anteriores a cualquier objeto solido donde permanecerá unos días hasta que reabsorba todos los restos del huevo. Durante este periodo de tiempo su cola se alarga y aparecen los ojos, orificios nasales, la boca y las bolsas branquiales. Más tarde adquieren la forma típica de renacuajo con una masa oval, constituida por la cabeza y su gran abdomen y una cola grande aplanada lateralmente y ribeteada por la cresta dorsal y ventral (Aguilar, 1970). Esta morfología pisciforme le permite nadar con cierta desenvoltura mediante su aleta caudal que flexiona y que contribuye mediante impulsos al movimiento de renacuajo (Hernández, 1996).

En su boca existen dos mandíbulas corneas y entre ellas y los labios poseen filamentos transversales de dientecillos, se alimentan de las partículas que se encuentra en el agua, tanto sea animal como vegetal. Durante ese periodo de tiempo sus branquias se atrofian a medida que se desarrollan unos pulmones que le sustituirán, pueden respirar absorbiendo a través de la epidermis el oxígeno del

agua, facultad que conserva hasta su estado adulto. Paralelamente comienza a reducirse el largo de su cola y su aleta dorsal, mientras aumenta el volumen de su cuerpo y cabeza, a su vez los ojos se protegen al quedar implantados en unos abultamientos filiales más destacados y se desarrollan en la parte media posterior de su cuerpo, los que serán sus dos patas traseras (Rubin, 1979).

El color negro de la epidermis se va aclarando y comienza con el lomo la aparición de las manchas características de su especie mientras sus ancas crecen; rápidamente presentan esa pigmentación a franjas oscuras y claras propias de los adultos. Al llegar a los dos meses de edad sus patas posteriores tienen ya una forma definida y en la mandíbula una boca que se ha ido haciendo amplia, mientras las dos patas anteriores alcanzan su definitiva conformación, su cuerpo ha ido absorbiendo la cola, al mismo tiempo que las articulaciones de sus patas posteriores se preparan sus órganos locomotores precisos que le permitirán nadar con ellos (Hernández, 1996).

Algunas especies de ranas, desarrollan sus estados larvarios durante largo tiempo, dándose el caso de que los renacuajos tienen que invernar en el lodo durante la época de frío, junto con las ranas adultas. La longevidad de algunas especies de rana llegan a los quince años y por consiguiente pueden reproducirse por varios años consecutivos (Rubin, 1979).

A medida que transcurre su metamorfosis su alimentación van cambiando, con lo que el aparato digestivo cambia, el renacuajo que se alimentaba de fitoplancton del medio acuático se ha ido tornando carnívoro mostrando una gran predilección por los insectos, crustáceos, anélidos, moluscos y pequeños vertebrados. Los cambios que hasta ese momento ha sufrido la rana han sido intensos, mientras que en la fase acuática la respiración era branquial y el corazón semejante al de los peces, con dos cavidades; en la fase terrestre el corazón tendrá tres cavidades y la respiración, además de pulmonar y cutánea, se hará en la región de la papada, donde ocurre la hematosis, gracias a la gran vascularización en esta región y a los

movimientos oscilatorios, cuando la rana infla y desinfla la papada periódicamente (Santamaría, 1999) .

Cuando la rana recién ha terminado la metamorfosis se dispone a dejar el ambiente acuático para ahora comenzar a vivir en el terrestre; presenta la forma del cuerpo totalmente semejante a la del adulto, pero inmadura sexualmente (Benítez, 1997).

1.6 Reproducción

La reproducción de las ranas se efectúa en la primavera, con llegada de la temporada de lluvias y cuando la temperatura alcanza los 15 y 16 °C. Pero siendo la óptima los 25 °C. Las ranas son ovíparas y la fecundación de sus huevos se realiza cuando han salido del oviducto como en muchos de los peces.

Las ranas inician su reproducción, agrupándose numerosamente sobre todo por la noche; la reunión de los ejemplares se acentúa entre los meses de abril, mayo y junio. Reunidos machos y hembras se emparejan, procediendo así los machos a sujetar a las hembras por detrás, abrazándolas fuertemente. Este abrazo o cópula tiene una duración variable, yendo de unas horas hasta varios días y termina en el momento en el que la hembra pone los huevos (Hernández, 1996) a medida que los huevos van siendo depositados por las hembras, el macho extiende el esperma sobre toda la masa gelatinosa, de manera que penetra a través de la gelatina y estos son fertilizados, durante el abrazo nupcial o amplexo (Pineda, 1998). El número de huevos producidos varía en función de la especie de la rana.

Después de efectuada la fecundación, pasados algunos minutos, la masa de huevecillos absorbe bastante agua y cada huevo se rodea de un vitelo y gelatina, el desarrollo embrionario se efectúa entre tres y veinticinco días dependiendo de la temperatura del agua, la humedad del ambiente, luminosidad, etc.

La forma larvaria tiene un cuello característico, cabeza prominente y cuerpo con cola pequeña y ausente. Por la parte ventral y anterior, fácilmente se nota una

depresión que es la boca y detrás están los discos, que le ayudan a fijarse primero a la masa gelatinosa y después a las plantas u objetos sumergidos.

El éxito de su desarrollo, existencial y reproducción de las ranas está directamente relacionada con la presencia de agua, así como su preferencia por ambientes húmedos durante todo lo largo de su vida, esto les permite mantener su piel hidratada y fresca si los rayos solares fueran a ser muy intensos. Su mejor crecimiento y aclimatación se presenta donde el agua es abundante y estancada, con vegetación acuática circundante en el estanque, así como follaje alrededor de éste, pero sin cubrirlo totalmente, a la vez ayudan a la atracción de insectos, de los cuales disfrutan en su dieta alimenticia. Dicha vegetación también proporciona zonas sombreadas para su protección directa a los rayos solares, brindándoles seguridad y refugio para poder descansar tranquilamente (Hernández, 1996).

1.7 *Lithobates pipiens*

Esta rana es de tamaño grande, en promedio los adultos miden entre 80 y 120 mm de longitud hocico - cloaca (LHC) (Degenhardt, 1996) Con complexión delgada, con cabeza pequeña y puntiaguda. Sus ojos son moderadamente grandes, aproximadamente del mismo diámetro que del tímpano. Los machos tienen sacos vocales pareados detrás de los ángulos de las mandíbulas. Sus miembros traseros son largos y robustos que les ayudan saltar distancias considerables. Los dedos de las manos están desprovistos de membrana, pero los pies son extremadamente palmeados. El color y el estampado son altamente variables; existe un color café o marrón, con distintas manchas de color café oscuro. La superficie dorsal está usualmente marcadas con manchas de color café oscuro y las superficies posteriores en los muslos están completamente marcados con reticulaciones oscuras sobre un fondo claro. La garganta, vientre y superficies inferiores de los apéndices son de color crema y amarillo claro.

El renacuajo de esta especie: es ovoide en una vista dorsal y es aproximadamente 1.8 veces más largo que ancho. Los ojos son moderadamente largos y situados

casi arriba de la cabeza. El hocico es redondeado. Hay normalmente dos hileras anteriores y tres posteriores de dientes, pero algunos especímenes tienen una breve tercera línea anterior. La mandíbula está finamente dentada, y el disco no está dentado lateralmente. La cola es de aproximadamente 1.4 veces el largo del cuerpo y ligeramente excedido en su fondo. Su aleta dorsal se extiende desde la porción posterior del cuerpo y de alguna manera más profunda que la aleta ventral. Los renacuajos son predominantemente de color café oscuro por la región dorsal, y más claros en el fondo, y la musculatura caudal y las aletas están moteados en color café.

El patrón de coloración del cuerpo es verde brillante, con manchas redondas de color verde oscuro a gris claro marginadas de color blanco o crema; presenta un pliegue en la región dorso lateral a cada lado del cuerpo, éstas son de color blanco a crema, las cuales se interrumpen en la región inferior del cuerpo, y se continúa hacia la región dorsal de las extremidades posteriores del organismo; la región ventral del cuerpo es de color blanco a crema. Las extremidades tienen el mismo patrón descrito en la región dorsal y ventral. Es una especie tolerante a las condiciones áridas, busca los cuerpos de agua para vivir, ya que es acuática o riparia. Como todos o casi todos los anfibios, esta especie se alimenta de una gran diversidad de artrópodos, así como de otros invertebrados y algunos pequeños vertebrados (Ramírez, 2004).

Esta especie se distribuye en varios estados de la República Mexicana como Coahuila, Chihuahua, Sinaloa y San Luis Potosí, y aunque no es endémica si se considera como especie sujeta a protección especial (NOM-059-SEMARNAT-2010). Es una especie importante por formar parte de un grupo de ranas de talla grande, las cuales son explotadas con fines comerciales (fuente alimenticia), de laboratorio (para estudios de experimentación), y en el medio natural, juega un papel muy importante en la cadena trófica de la comunidad de vertebrados (Ramírez, 2000)

1.8 Reproducción de *Lithobates pipiens*

Esta especie tiene una temporada reproductiva que incluye primavera y verano, se pueden encontrar grandes cantidades de masas de huevos y pequeños y medianos renacuajos desde abril, en algunas partes. Para ovipositar los huevos son utilizados tanto cuerpos de agua quieta como corriente, las masas de huevos son de 7 a 9 cm de largo y depositados entre 9 y 15 cm de profundidad en el cuerpo de agua.

Durante el apareamiento, los machos llaman desde la superficie de manera permanente o temporalmente, tiene tres llamadas (frecuencia de cantos) distintas, estas son comprendidas perfectamente por la hembra. Los cantos son una conducta para atraer a las hembras para realizar el amplexo. La primera llamada de aviso se deja oír cuando un macho es agarrado accidentalmente por otro; y el canto es emitido por el macho cuando intenta abrazar a una hembra. Otro tipo de llamada que presenta esta especie es muy parecido a un gruñido, y es emitido solamente por una hembra para indicar al macho que se acerca a ella que no está preparada para poner huevos (Pineda, 1998).

Con el amplexo comienzan a salir los huevos en pequeños racimos, proyectando con cierto ímpetu, casi como si fueran extraídos automáticamente como una bomba. El macho ayuda a la hembra para la salida de los huevos, oprimiendo con sus patas la pared abdominal de la hembra, al tiempo que mantiene pegada su cloaca contra la de su compañera, al objeto de ir fecundando los huevos a medida que salen. La masa de huevos pueden flotar libremente por la superficie del agua o ser adheridos a los tallos de las plantas acuática donde la larva completa todo su desarrollo. (Pineda, 1998).

1.9 Amenazas

En la mayoría del área de distribución de esta especie, el ambiente natural está siendo disminuido drásticamente, por lo que, los cuerpos de agua donde se reproduce esta especie, están desapareciendo, así que toda esta modificación del

ambiente, representa un grave factor de riesgo para el futuro de la especie (Ramírez,2000).

La principal amenaza para esta especie es la destrucción de los hábitats donde se distribuye, debido principalmente al cambio de uso de suelo por actividades agrícolas, ganaderas e industriales, la tala clandestina ha ocasionado cambios micro ambientales, reduciendo los refugios de la fauna silvestre. Por ejemplo, en el Municipio de Guadalcazar, San Luis Potosí se han visto fuertemente deteriorados los hábitats en los últimos 30 años (Ramírez, 2000).

2. HIPÓTESIS

El manejo óptimo de la rana *Lithobates pipiens* permitirá su adaptación al sistema de producción bajo invernadero, evitando con ello la explotación excesiva de esta especie en el medio silvestre.

3. OBJETIVOS

3.1 General

Lograr la adaptación de *Lithobates pipiens* para su crianza bajo invernadero.

3.2 Específicos

- Evaluar los parámetros para el mantenimiento de *Lithobates pipiens* bajo invernadero (fuente de agua y calidad, condiciones ambientales luz, temperatura, humedad y comida).
- Evaluar de las condiciones fisicoquímicas del agua.
- Determinar la mejor dieta para la alimentación de *Lithobates pipiens*.

4. METODOLOGÍA

4.1 Ubicación del proyecto

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa Aquanimals S. De R.L. de C.V., es una empresa Mexicana dedicada a la Acuicultura, ubicada en el municipio de Corregidora, Querétaro. La figura 1 resume los pasos a seguir para desarrollar el presente trabajo.

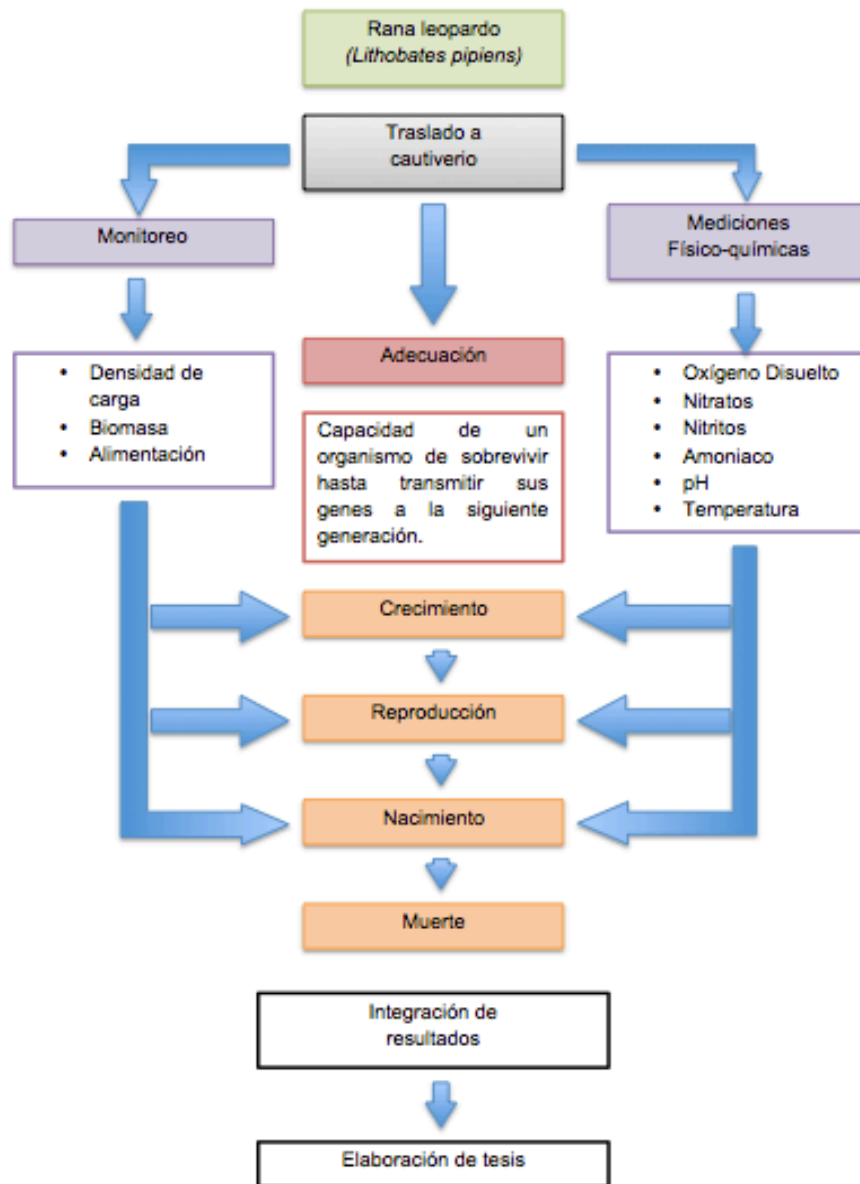


Figura 1. Diagrama de flujo para conseguir el correcto acondicionamiento de *Lithobates pipiens* para su crianza bajo invernadero.

4.2 Material biológico

Para desarrollar este trabajo se emplearon 532 (entre hembras y machos) ejemplares de *Lithobates pipiens*. Dichos animales fueron adquiridos en el estado de Sinaloa, mediante su captura en vida silvestre; posteriormente trasladados a las instalaciones mencionadas anteriormente.

4.3 Mediciones fisicoquímicas

En primera instancia se procedió con la evaluación de la calidad del agua; pues para tanto la cantidad como la calidad del agua son consideraciones a tomar en cuenta y están entre los factores más importantes para ayudar en la supervivencia de estos anfibios.

Se evaluaron parámetros tales como: oxígeno disuelto, dureza total, nitratos, nitritos, pH y temperatura.

4.3.1 Oxígeno Disuelto

El nivel de Oxígeno Disuelto (OD) puede ser un indicador de cuán contaminada está el agua y cuán bien puede dar soporte esta agua a la vida vegetal y animal de un determinado ecosistema. Generalmente, un nivel más alto de oxígeno disuelto indica agua de mejor calidad. Si los niveles de oxígeno disuelto son demasiado bajos, algunos peces y otros organismos no pueden sobrevivir. Los factores que influyen en la solubilidad del oxígeno están los siguientes:

La temperatura y la salinidad: Ambos influyen de igual manera, es decir, una menor salinidad y temperatura puede guardar más oxígeno en ella que el agua más caliente y salada, a menor temperatura y salinidad, mayor solubilidad presentara el oxígeno.

Los niveles de oxígeno disuelto típicamente pueden variar de 0 - 18 partes por millón (ppm) o (mg/L) aunque la mayoría de los ríos y riachuelos requieren un mínimo de 5 - 6 ppm para soportar una diversidad de vida acuática.

Se efectuaron dos procedimientos para la evaluación de este punto uno por la vía química y otro mediante la utilización de un oxímetro.

Preparación de reactivos

1) Reactivo alcalino de yoduro de potasio: Pesar 25 g de Hidróxido de sodio (NaOH) y 6,75 g de Ioduro de potasio (KI) diluir y aforar en 50 ml de agua destilada. En esta primera parte se mezclan el sulfato de manganeso con el hidróxido de potasio:

$$\text{MnSO}_4 + 2\text{KOH} \rightarrow \text{K}_2\text{SO}_4 + \text{Mn}(\text{OH})_2 \downarrow$$

Con la adición de estos dos reactivos se formara un precipitado que puede ser blanco (Hidróxido Manganoso) indicando la ausencia de oxígeno. En el caso de presencia de oxígeno, el Manganeso (Mn^{2+}) es oxidado a su estado superior de oxidación (Mn^{4+}) por lo que el color del precipitado se torna marrón debido a la formación de Hidróxido Mangánico.

$$2\text{H}_2\text{O} + 2\text{Mn}(\text{OH})_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{Mn}(\text{OH})_4 \downarrow$$

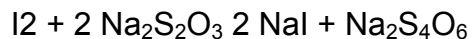
2) Solución de sulfato manganoso: Pesar 16,25 g de Sulfato manganoso hidratado ($\text{Mn SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) diluir y aforar en 50 ml de agua destilada.

El medio se torna ácido y el precipitado de Hidróxido Mangánico $\text{Mn}(\text{OH})_4$ se disuelve formando Sulfato Mangánico $\text{Mn}(\text{SO}_4)_2$, quien oxida el Yoduro de Potasio (KI) a Yodo (I_2).

$$\text{Mn}(\text{SO}_4)_2 + 2 \text{KI} \rightarrow \text{Mn SO}_4 + \text{K}_2 \text{SO}_4 + \text{I}_2$$

3) Solución de tiosulfato de sodio 0,01N: Pesar 1,24 g de Tiosulfato de sodio pentahidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) diluir y aforar en 500 ml de agua desionizada y destilada.

El yodo se puede titular con una solución de tiosulfato de sodio.



La cantidad de Yodo (I_2) liberado es químicamente equivalente al Oxígeno (O_2) presente en la muestra. Los miliequivalentes gastados de solución valorada de Tiosulfato de Sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) son iguales a los miliequivalentes de Yodo presentes en la solución (NMX-AA-012-SCFI-2001).

Ya determinada la cantidad de OD en el agua se comparo el valor obtenido por vía química con el valor determinado por medio del oxigenómetro (el instrumento empleado será el Modelo 55 de la marca YSI).

4.3.2 Nitratos

El nitrato es una de las formas de nitrógeno de mayor interés en las aguas naturales, residuales y residuales tratadas, se presenta generalmente a nivel de trazas en el agua de superficie, pero puede alcanzar niveles elevados en las subterráneas. El nitrato se encuentra sólo en pequeñas cantidades en las aguas residuales domésticas, pero en el diluyente de las plantas de tratamiento biológico desnitrificante, el nitrato puede encontrarse en concentraciones de hasta 30 mg de nitrato como N/L. El nitrato es un nutriente esencial para muchos autótrofos fotosintéticos, y en algunos casos ha sido identificado como el determinante del crecimiento de estos. Una concentración alta de nitratos es indicio de una etapa mayor de mineralización de los compuestos nitrogenados.

Procedimiento

1) Disolución stock de KNO_3 de concentración 300 mg/l

Secar una muestra (aproximadamente 2-3 g) de KNO_3 en una estufa a 105 °C durante 24 horas. Pesar 0.4887g de KNO_3 y disolver con agua destilada. Añadir 2 ml de CHCl_3 y enrasar en un matraz de 1 L. La disolución resultante es estable, al menos, durante 6 meses.

2) Disolución estándar de NO_3^- de concentración 30 mg/l.

Preparar 200 ml a partir de la disolución stock de KNO_3 .

3) Tratamiento de la muestra.

Filtrar si es necesario y pasarla a un matraz de 50ml que contiene 1 ml de HCl 1N. Reservar en un tubo de ensayo, 15-20 ml para medir.

4) Preparación de las disoluciones de la curva estándar

Preparar diferentes disoluciones de NO_3^- siguiendo el esquema del cuadro 1.

Las muestras son medidas en el espectrofotómetro a 220 nm.

Expresión de resultados

Representación gráfica de la curva estándar.

Determinación de la concentración de NO_3^- de la muestra problema por interpolación en la gráfica (NMX-AA-079-SCFI-2001).

Cuadro 1. Preparación de disoluciones de NO_3^- .

| Tubo | $[\text{NO}_3^-]$ (mg/l) | NO_3^- (30mg/l) | V(ml) |
|------|--------------------------|--------------------------|----------------------|
| | | | H_2O |
| 1 | 30 | 50 | 0 |
| 2 | 24 | 40 | 10 |
| 3 | 18 | 30 | 20 |
| 4 | 12 | 20 | 30 |
| 5 | 6 | 10 | 40 |

Una vez determinado el valor presente de nitratos fue comparado con el obtenido mediante el uso del test HI93728-01 de la marca HANNA instruments para nitratos.

4.3.3 Nitritos

El nitrito considerado como una etapa intermedia en el ciclo del nitrógeno puede estar presente en el agua como resultado de la descomposición biológica de materiales proteicos. En aguas superficiales crudas, las huellas de nitritos indican contaminación. También se puede producir el nitrito en las plantas de tratamiento o en los sistemas de distribución de agua, como resultado de la acción de bacterias sobre el nitrógeno amoniacal.

Procedimiento

1) Pre tratamiento de la muestra

La muestra debe estar libre de turbiedad y color, para lograr esto, filtrarla a través de membranas de $0,45 \mu\text{m}$ de poro, filtros de fibra de vidrio de $0,7 \mu\text{m}$ de poro o adicionar 2 mL o la cantidad necesaria de suspensión clarificadora según sea el

caso, a aproximadamente 100 mL de muestra con agitación y filtrarla a través de papel de poro medio.

Neutralizar el filtrado a un pH aproximado de 7,0 con H₂SO₄ 1N o NaOH 1N

2) Porción de muestra

De la disolución obtenida en el paso anterior tomar una porción de muestra, dependiendo del contenido esperado de nitritos según el cuadro 2.

Cuadro 2. Relación volumen de muestra por cantidad de nitritos.

| Cantidad de nitrógeno de nitritos en la muestra (mg / L) | Volumen de muestra necesario (mL) |
|--|-----------------------------------|
| 0.05 | 50 |
| 0.10 | 25 |
| 0.50 | 10 |
| 1.00 | 5 |

Con una pipeta volumétrica tomar 50 mL de la muestra o lo que indica la tabla y transferirla a un matraz Erlenmeyer. En donde se llevará al cabo el desarrollo del color. Adicionar 1 mL de la disolución de sulfanilamida, y agitar varias veces. Permitir que la mezcla reaccione de 2 min a 8 min. Adicionar 1 mL de NEDA, y agitar varias veces, revisar que el pH esté entre 1,9 y 2,5

Dejar reposar por lo menos 10 min pero no más de 1 h, la presencia de nitritos desarrolla una coloración púrpura. Leer la absorbancia a 543 nm.

3) Curva de calibración

En matraces volumétricos de 50 mL preparar una serie de al menos cinco patrones que contengan 1,0 µg de N- NO₂, 2,0 µg de N- NO₂, 3,0 µg de N- NO₂, 4,0 µg de N- NO₂, 5,0, µg de N- NO₂, a partir de la disolución patrón de nitritos (NMX-AA-099-SCFI-2006).

El valor obtenido fue analizado junto con el obtenido con el test HI93707-01 de la marca HANNA instruments para nitritos.

4.3.4 Amoníaco

El amoníaco, junto con los nitritos y nitratos, es el típico indicador de contaminación del agua. La presencia de amoníaco indica una degradación incompleta de la materia orgánica. Para evaluar este parámetro se empleará la técnica del reactivo de Nessler, la cual tiene como fundamento que este en presencia de iones amoníaco, se descompone formando yoduro de dimercuriamonio que permite la determinación colorimétrica de los iones amonios.

Procedimiento

Se puede producir turbidez, al añadir el reactivo de Nessler, y no pudiéndose efectuar la lectura espectrofotométrica, por lo que se recomienda lo siguiente:

Para la precipitación de iones (y su eliminación) que puedan interferir con el reactivo Nessler.

- 1) Los erlenmeyer deben ser enjuagados con CIH diluido, previamente.
- 2) Tomar 50 ml de la muestra sin filtrar y añadir:
0.5 ml de $ZnSO_4$ (10%) y se mezcla bien.
0.25 ml de NaOH 6N , y se agita para que reaccionen.
- 3) Las muestras se dejan decantar, para que se forme un precipitado durante al menos 12 horas.
- 4) Se recoge el sobrenadante (25 ml), que debe ser transparente e incoloro, con mucho cuidado, y se procede al análisis.
- 5) Se añaden unos 0.05 ml de Sal de la Rochela, se mezcla bien. Agregar 0.5 ml de reactivo de Nessler y mézclese cuidadosamente.
- 6) La muestra es medida en un espectrofotómetro a 425 nm.

Comparando después este valor con el obtenido con el test HI93700-01 de la marca HANNA instruments para amonio.

4.3.5 pH

Para la medición del pH fue empleado el instrumento HI 98128 de la marca HANNA instruments.

4.3.6 Temperatura

Dicho punto fue medido mediante el instrumento HI 98128 de la marca HANNA instruments.

4.4 Alimentación

El éxito del correcto desarrollo de las ranas se debe principalmente a la alimentación y a las técnicas utilizadas.

La cantidad y el tipo de alimento a suministrar debe ser controlado y evaluado periódicamente.

Los ejemplares de *Lithobates pipiens* fueron divididos en dos grupos para su diferente tratamiento y evaluación de 2 alimentos comerciales, las características de dichos alimentos son enunciadas en el cuadro 3.

Cuadro 3. Características del alimento.

| | |
|---|--|
| Alimento comercial 1 (marca MaltaCleyton®) | Fórmula extruida flotante con un 30% de proteína y 3% de grasa cruda, se presenta en forma de pellet extruido flotante en la medida de 3.5 mm y es apropiados para animales de los 100 a 350 gramos de peso. |
| Alimento comercial 2 (marca Nutripec®) | Alimento completo con 40% de proteína y 6% de grasa cruda. Su presentación es en extruido flotante en partícula de 4.8 mm Se recomienda para animales con un rango de peso promedio de 120 a 350 gramos. |

Se comenzó con un suministro de alimento del 5% de la biomasa propia de cada grupo de estudio. Recopilándose la siguiente información en cuanto al alimento empleado en cada tratamiento:

- Cálculo del consumo en total de alimento y de cada ingrediente conforme la dieta (por día y por semana).
- Horario de suministro de los alimentos (se pretende comenzar con un suministro de alimento cada 12 horas iniciando en la primeras horas de la mañana).
- Revisión de las características del agua, tratamientos y frecuencia de cambio.
- Revisión de las características físicas del alimento rechazado al otro día.
- Análisis de las características físicas de las heces producidas por los animales (presencia de alimento no masticado, etc.)
- Estimar la cantidad excretada y sus características.
- Evaluar la ganancia de peso en los ejemplares dentro de cada tratamiento (peso final – peso inicial).
- Evaluación de la relación consumo de alimento-ganancia de peso.
- Determinación de la eficiencia alimenticia ($\text{Ganancia de peso} / \text{consumo de alimento} \times 100$).

Conforme los datos registrados de evaluación de los 2 tratamientos se determinó cual de ellos conllevaba mejores beneficios (consumo / incremento de biomasa / económico).

Posteriormente el tratamiento elegido fue sometido a un proceso de optimización en la técnica en empleada para su correcta aplicación.

- Evaluación del porcentaje más apropiado de alimento por biomasa de los ejemplares (5, 4 y 3%).

- Determinación de las horas más propicias para la actividad alimenticia (mañana, tarde, noche).
- Determinación de la cantidad idónea para dosis alimenticia por semana.

4.5 Densidad de carga

Del mismo modo también se evaluó la densidad de carga de acuerdo al modelo de crecimiento logístico (o de Verhulst) el cual explica que a mayor población menor será la tasa de crecimiento; lo cual nos permitirá determinar el tamaño de la población dentro de los estanque de producción.

4.6 Monitoreo de la biometría de la rana

Se llevó a cabo un seguimiento de la evolución de las dimensiones (peso y talla) semanalmente se medirá a los ejemplares el peso con una balanza de precisión, la longitud total (desde el hocico hasta la cloaca), en las patas delanteras, la longitud correspondiente al radio-ulna, y en las patas traseras la longitud correspondiente a la tibia-fíbula y la longitud del anca.

5. RESULTADOS

5.1 Ubicación del proyecto

Este trabajo tuvo lugar dentro de las instalaciones de la empresa Aquanimals S. De R.L. de C.V., empresa Mexicana dedicada a la Acuicultura, ubicada en el municipio de Corregidora, Querétaro.

5.2 Material biológico

Para llevar acabo este trabajo fueron empleados 532 (entre hembras y machos) ejemplares de *Lithobates pipiens*, de los cuales al finalizar el mismo se mantuvieron con vida 170 ejemplares (31.95%), lo anterior debido a varias circunstancias que culminaron con la muerte de 362 animales (68.05%). Figura 2.

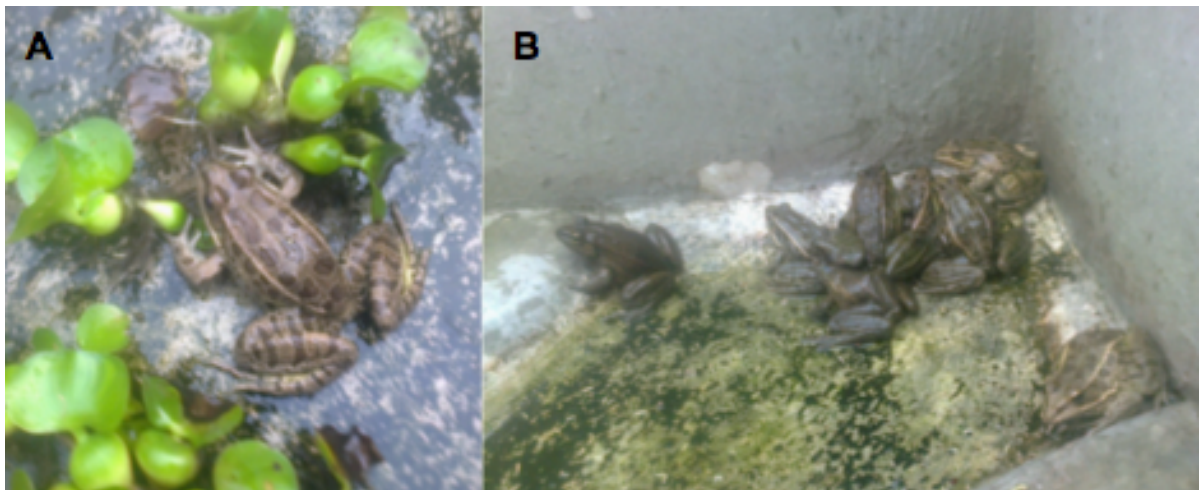


Figura 2. A) ejemplar de rana leopardo (*Lithobates pipiens*) rodeado de lirios colocados en los estanques como parte del acondicionamiento de las instalaciones.

B) ejemplares hembra de rana leopardo.

Los primeros 4 días después de llegados los animales las muertes se atribuyeron al estrés generado durante el transcurso del viaje y el confinamiento; sin embargo para el 5to día el número de muertes se elevó considerablemente, para conocer la razón de dicha mortandad se realizaron análisis bacteriológicos.

De acuerdo a la sintomatología observada se optó por la aplicación de un antibiótico de amplio espectro, la dosis empleada fue de entre 0.1 a 1 ml de acuerdo a la gravedad presentada en cada ejemplar, el medicamento fue aplicado por la vía intraperitoneal; transcurridos 3 días se aplicó antibiótico en polvo disuelto en el agua como refuerzo de la dosis anterior (10 g por 100 L de agua). El mismo proceso se repitió pasados 3 días, para entonces el número de muertes se coloca en 292, más sin embargo el número de decesos por día había disminuido, además de que las muertes subsecuentes se atribuyeron al poco consumo de alimento; para el día 30 de su estadio dentro de las instalaciones las muertas cesan por completo. Figura 3.

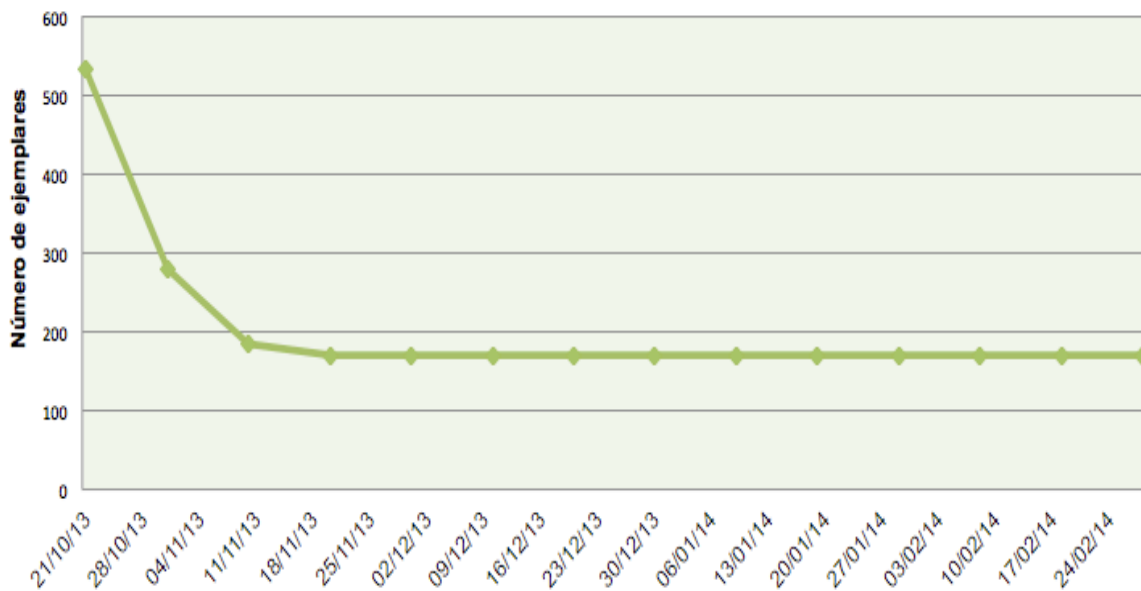


Figura 3. Comportamiento de la población de rana leopardo durante el periodo del trabajo.

5.3 Mediciones fisicoquímicas

El monitoreo de la calidad del agua se realizó de manera diaria, pues estos parámetros contribuyen en gran medida en el bienestar de los animales, los valores fueron referenciados en tablas documentadas sobre el cultivo de rana toro (*Lithobates catesbeianus*), estos sirvieron como punto de apoyo para tomar la

decisión en cuanto a los cambios del agua dentro de los recintos donde se localizaban los ejemplares de *Lithobates pipiens*. Cuadro 4.

Cuadro 4. Rangos fisicoquímicos establecidos para el cultivo de rana toro.

| Parámetros | Nivel óptimo | Nivel máximo | Nivel mínimo |
|--|--------------|--------------|--------------|
| Temperatura | 25 | 30 | 18 |
| pH | 7 | 8.5 | 6 |
| Transparencia | >45 | Ídem | 30 |
| O. D. (p.p.m) | 6 | 12 | 3 |
| Alcalinidad total (mg/lit CaCO ₃) | 100 | 200 | 50 |
| Dureza total (mg/lit CaCO ₃) | 100 | 150 | 50 |
| Nitratos (mg/l) | 0 | 0.2 | 0 |
| Nitritos (mg/l) | 0 | 0.05 | 0 |
| Amoniaco (mg/l) | 0 | 0.10 | 0 |

5.3.1 Oxígeno Disuelto

El nivel de Oxígeno Disuelto (OD) puede ser un indicador de cuán contaminada está el agua y cuán bien puede dar soporte esta agua a la vida vegetal y animal de un determinado ecosistema. Los valores registrados se muestran en el cuadro 5.

5.3.2 Nitratos

Los valores registrados de nitratos arrojaron un máximo de 0.11 mg/l y un mínimo de 0.02 mg/l, mismos que de acuerdo a la bibliografía se encontraron de dentro de los límites permitidos en la actividad ranícola. Ver cuadro 5.

5.3.3 Nitritos

Por su parte el valor obtenido en el monitoreo sobre el rubro de los nitritos dieron un máximo de 0.06 mg/l y un mínimo de 0 mg/l, lo cual conforme a lo referenciado se encontró ligeramente sobre los valores permitidos, pues el límite se encuentra en 0.06 mg/l, lo rescatable fue que este valor solo tuvo como número de incidencias una cantidad de 6 veces. Ver cuadro 5.

5.3.4 Amoniaco

En cuanto al registro de valores de amoniaco se tuvo un máximo de 0.09 mg/l y un mínimo de 0.01 mg/l, los cuales se encuentran dentro de los límites documentados en el sector ranícola. Ver cuadro 5.

5.3.5 pH

En cuanto al rubro del pH los valores sobrepasaron los límites encontrados en la bibliografía pues estuvieron localizados en una escala superior, más sin en cambio al realizar el mismo análisis en el agua empleada dentro de las instalaciones para la especie de rana toro se encontró que al igual que para el caso de estudio de *Lithobates pipiens* el valor del pH se encontró por encima de lo recomendado, sin embargo en base al correcto desarrollo de la rana leopardo se determinó que no existen complicaciones con respecto a los valores obtenidos. Ver cuadro 5.

Cuadro 5. Rangos obtenidos de los parámetros evaluados para la calidad de agua de rana leopardo (*Lithobates pipiens*).

| Parámetros | Nivel Máximo | Nivel Mínimo |
|------------------|--------------|--------------|
| Oxígeno Disuelto | 8.3 p.p.m. | 6.1 p.p.m. |
| Nitratos | 0.11 mg/l | 0.02 mg/l |
| Nitritos | 0.06 mg/l | 0.0 mg/l |
| Amoniaco | 0.09 mg/l | 0.01 mg/l |
| pH | 8.8 | 7 |

5.3.6 Temperatura

La temperatura fue evaluada diariamente en tres horarios diferentes (7 am. 1 pm. y 7 pm.) tomada dentro del invernadero Cuadro 6, dentro de los estanques Cuadro 7 y dentro del agua Cuadro 8.

Cuadro 6. Rangos de temperatura dentro del invernadero.

| | Max. | Min. |
|--|------|------|
| Temperatura promedio invernadero 7 am. | 23.8 | 21.4 |
| Temperatura promedio invernadero 13:00 pm. | 38.9 | 35.1 |
| Temperatura promedio invernadero 7 pm. | 35.0 | 30.2 |

Cuadro 7. Rangos de temperatura dentro de los estanques.

| | Max. | Min. |
|--|------|------|
| Temperatura promedio estanques 7 am. | 21.9 | 19.8 |
| Temperatura promedio estanques 13:00 pm. | 26.7 | 24.9 |
| Temperatura promedio estanques 7 pm. | 24.2 | 22.4 |

Cuadro 8. Rangos de temperatura registrada en el agua.

| | Max. | Min. |
|-------------------------------------|------|------|
| Temperatura promedio agua 7 am. | 20.6 | 18.8 |
| Temperatura promedio agua 13:00 pm. | 24.0 | 22.8 |
| Temperatura promedio agua 7 pm. | 22.5 | 20.9 |

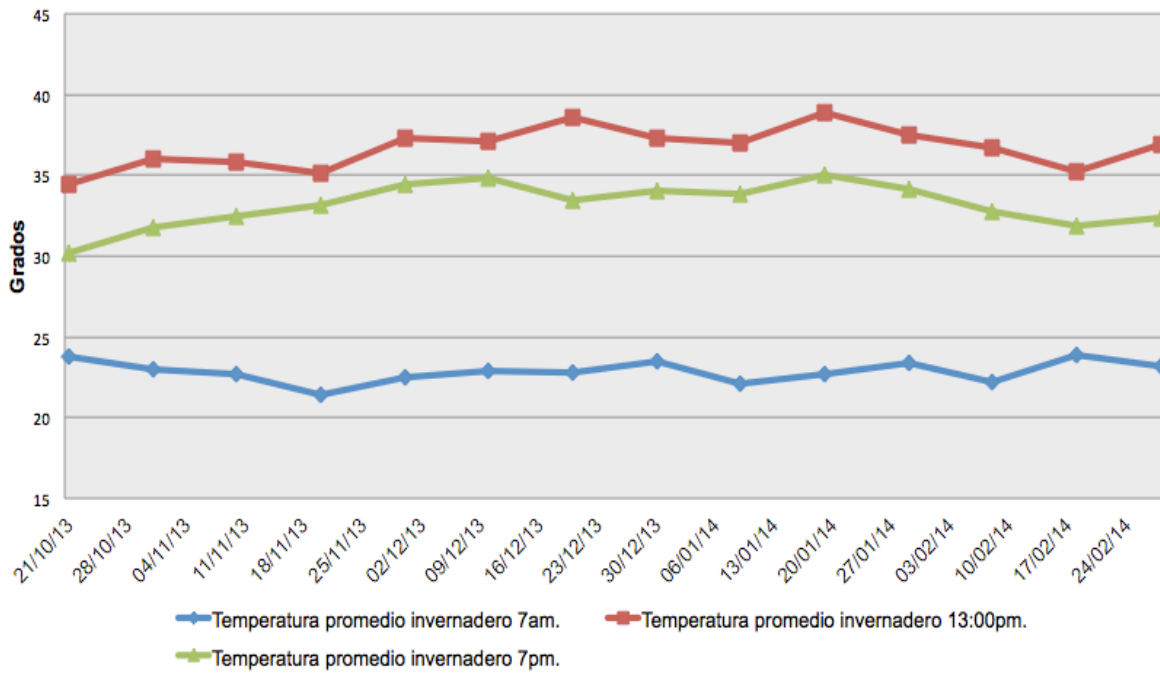


Figura 4. Grafico del comportamiento de la temperatura dentro del invernadero.

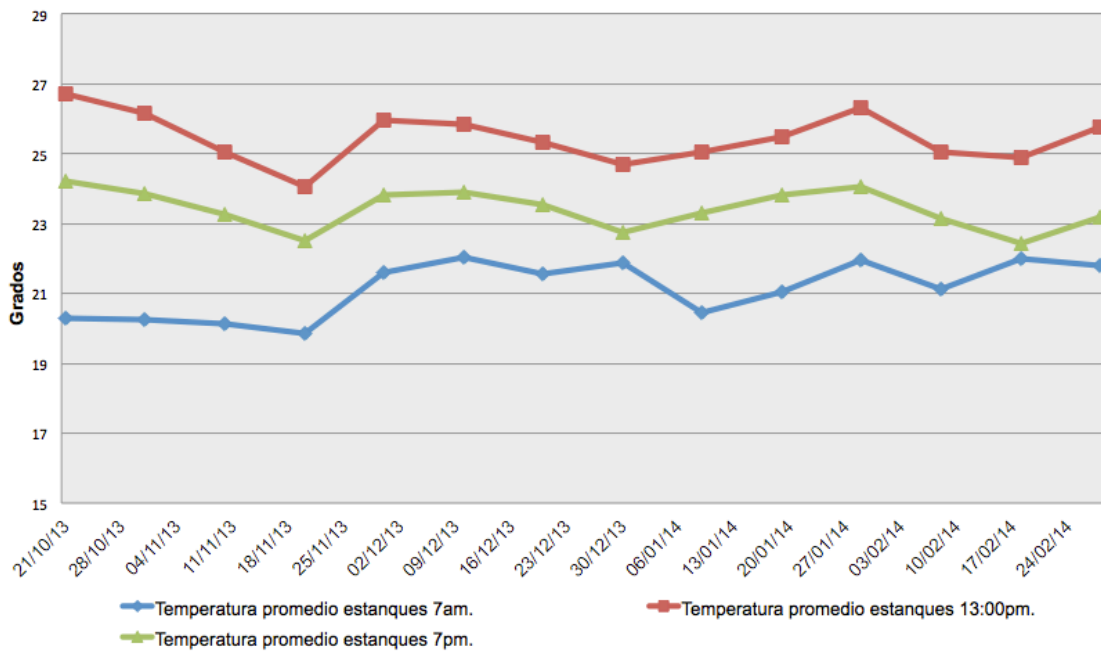


Figura 5. Grafico del comportamiento de la temperatura dentro de los estanques.

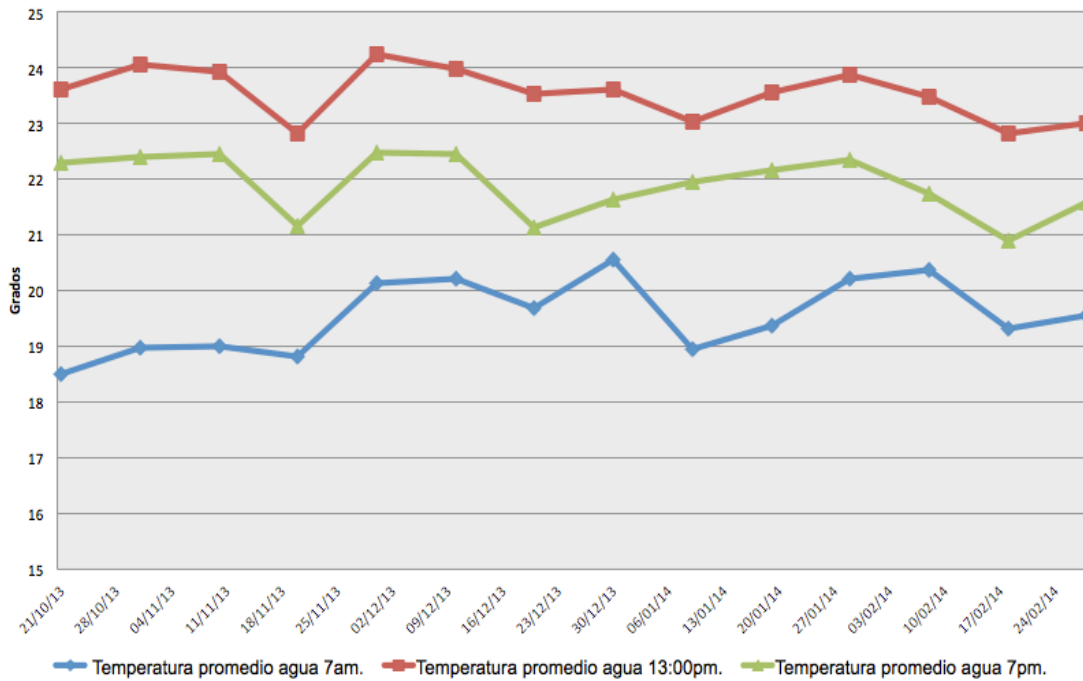


Figura 6. Grafico del comportamiento de la temperatura del agua en los recintos.

El contar con un sistema de tipo invernadero permite generar un ambiente controlado como lo muestran las figuras 4, 5 y 6 a modo tal que este parámetro fue sobre el cual se pudo tener un mayor manejo, con esto se consiguió mantener dicho parámetro en los estanques que albergaron a los animales entre un rango de 19.8 y 26.7 °C, pues conforme a lo documentado para que *Lithobates pipiens* desarrolle correctamente su ciclo de vida en ambiente natural el valor optimo de temperatura es de 25 °C, cosa que también repercute en su consumo alimenticio.

5.4 Alimentación

Los ejemplares de *Lithobates pipiens* fueron divididos en dos grupos con el fin de evaluar 2 alimentos comerciales, enunciados en el cuadro 3. El día 6 de confinamiento se inició con el proceso de alimentación, se comenzó brindando a los animales alimento vivo (larva de mosca y grillos) debido a que las ranas se ven alentadas a alimentarse gracias al movimiento de sus presas, mas sin embargo el consumo del mismo fue apenas del 25%. A partir del día 11 de confinamiento

además del alimento vivo se comenzó con el suministro de alimento balanceado, a razón del 5% de masa total por estanque, siendo la proporción 5:1 (larva de mosca:alimento). El día 15 de confinamiento se optó por el suministro de suero a modo tal que permitiera mantener a los animales mientras se acostumbraban a la ingesta del alimento balanceado, este proceso se repitió los días 17, 19, 21 y 23 de confinamiento.

El suero encontrado para la aplicación en los ejemplares de rana es el conocido como solución Ringer para anfibios, la cual posee la composición enunciada en el cuadro 9.

Cuadro 9. Solución Rinder.

| Componente | Cantidad |
|---|----------|
| Agua destilada | 1 litro |
| NaCl (cloruro sódico) | 6.6 g |
| KCl (cloruro potásico) | 0.15 g |
| CaCl ₂ (cloruro cálcico) | 0.15 g |
| NaHCO ₃ (bicarbonato sódico) | 0.2 g |

Esta cantidad de suero fue aplicada por cada 10 litros de agua dentro del recinto que albergaba los ejemplares de rana leopardo, siendo la cantidad habitual de los mismos 80 litros. Los cambios posteriores se resumen en el siguiente cuadro.

Cuadro 10. Acciones realizadas en la ración y porción de comida.

| Día de confinamiento | Acción realizada |
|----------------------|--|
| 31 | La ración de comida es cambiada al 4% y la proporción 3:1 (larva de mosca:alimento). |
| 43 | Conforme a lo observado en cuanto a la aceptación de los tipos de alimento y al monitoreo de biomasa, se opta por solo continuar con el suministro del "alimento 2". |

| | |
|-----|--|
| 50 | La proporción de la comida nuevamente cambió a una razón de 3:2 (larva de mosca:alimento). |
| 57 | La cantidad de comida es modificada a un 3% de la biomasa de cada estanque. |
| 64 | La proporción se colocó 1:1 pues el alimento balanceado iba contando con mayor aceptación. |
| 78 | El avance fue mucho más notorio pues la proporción ya era a favor del alimento balanceado 1:2 (larva de mosca:alimento). |
| 92 | La proporción de comida se coloca en 1:4 (larva de mosca:alimento). |
| 106 | La proporción de comida brindada fue de 1:5 (larva de mosca:alimento). Y se establece una ración definitiva del 4%. |
| 113 | Para este día la proporción de comida se establece en un 90% de alimento balanceado y 10% de lava de mosca. Dicha relación es la que hasta el momento sigue presente junto con el 4% de comida suministrada. |

Conforme a los datos obtenidos de la alimentación, se procedió a la evaluación de la relación consumo / incremento de biomasa / económico. Ver cuadro 11

Cuadro 11. Análisis económico del alimento empleado.

| Alimento | Observaciones |
|-------------------------|---|
| 1 (marca MaltaCleyton®) | Aunque este alimento fue descartado en el transcurso del trabajo se hizo un estimando sobre su empleo generando que por cada 320 g del mismo / tendría un costo de 5.12 pesos / generando una ganancia en biomasa de aproximadamente 41 g. |
| 2 (marca Nutripec®) | Dicho alimento fue el empleado hasta la conclusión del trabajo por ser el que mostró mayor aceptación en su consumo, determinándose que la cantidad proporcionada por cada espécimen en un plazo de 120 días fue de 320 g / teniendo un costo de 6.78 pesos / generando un incremento de aproximadamente 55 g en biomasa. |

De lo anterior se resume que aunque el alimento 1 resulta un 24.48% más económico en el proceso retrasa el mismo en aproximadamente 40 días, a modo que analizando estas cifras el alimento 2 resulta mucho mejor para los intereses de la empresa sumado a que es un alimento por el cual los animales mostraron mejor aceptación. Para la cuestión del horario de alimentación se comenzó probando 4 variantes diferentes en listadas en el cuadro 12

Cuadro 12. Descripción de las variantes en cuanto al horario para bridar alimento.

| Variante | Observaciones |
|--|---|
| 1) Una sola ronda de alimentación siendo esta a las 11 am. | El consumo del alimento no es inmediato, el mismo comenzó en promedio 30 minutos después de suministrada la ración de comida. |

| | |
|--|--|
| 2) Una sola ronda de alimentación siendo esta a las 1 pm. | El consumo del alimento se realizó de manera aceptablemente |
| 3) Una sola ronda de alimentación siendo esta a las 3 pm. | El alimento suministrado fue consumido en un porcentaje muy bajo, generando el desperdicio de la mayoría del mismo. |
| 4) La porción dividida en dos rondas de alimentación siendo una a las 12 pm y la siguiente a las 3 pm. | La dosis brindada a las 12 pm era consumida inmediatamente y en su totalidad. Mientras que la porción de las 3 pm ya solo era consumida por unos pocos animales. |

Conforme a lo observado se decidió brindar el alimento cuando la temperatura dentro de los estanques fuese un poco más intensa pero sin llegara a ser excesiva destinando así las 12 pm como hora de comida (5% de alimento del total de biomasa), además de esta porción si en un lapso de 2 a 3 horas el alimento había sido consumido en su totalidad, se les proporcionaba un 0.5% extra.

Cubriendo el rubro de recambios de agua en un principio se realizaron diariamente, esto debido a una mayor cantidad de excretas generadas por el estrés del confinamiento aunado a que el alimento no consumido en el especial la larva de mosca caía al agua y generaban su descomposición de manera más rápida, posteriormente cuando el consumo del alimento se elevó los recambio de agua pasaron a ser cada 3er día; por último al día de hoy y con el consumo de casi la totalidad del alimento los cambios del agua se realizan cada 5 días.

4.5 Densidad de carga

En lo que se refiere a la densidad de carga se observó el comportamiento y la actividad de los ejemplares a modo de poder determinar el espacio que requieren para llevar acabo las mismas; se llevo a la conclusión de que ya en etapa

productiva el espacio a considerar para ser abarcado por *Lithobates pipiens* debiese ser del 65% de la superficie; pues estos animales tiene una actividad considerable a lo largo del día si se relaciona con la ejercida por la rana toro (especie actualmente explotada en la ranicultura) de la cual se tiene documentado que la densidad a la que se puede llegar es de un 80% en etapa productiva.

4.6 Monitoreo de la biometría de la rana

La biometría fue realizada cada 10 días y además su función como monitoreo también permitió hacer la elección a cerca de que alimento emplear a lo largo del trabajo. Ver Figura 7.

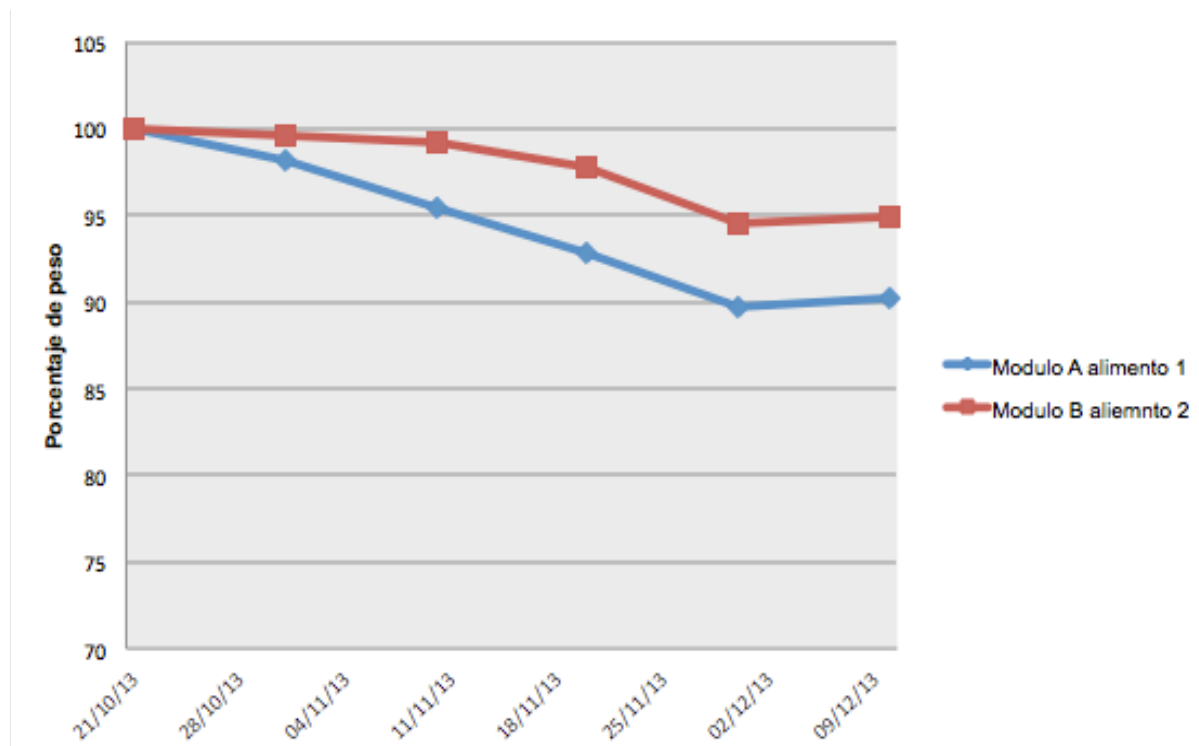


Figura 7. Comparativo del alimento empleado para cada modulo, teniendo como partida el peso con el cual llegaron los ejemplares como 100%.

Como era de esperarse ambas tendencias mostraron disminución del peso inicial de los animales, esto debido al entorno de cautiverio, sin embargo se aprecia que

el modulo B, el cual fue provisto con el alimento 2 tuvo menor decremento en su peso comparado con el modulo A, esto debido a que el alimento 2 tuvo mayor aceptación por parte de los ejemplares de rana leopardo generando mejor consumo y mantenimiento de cada ejemplar, lo cual hizo que se descartase el alimento 1 y se continuara el trabajo con solo la variante 2. Ver Figura 8.

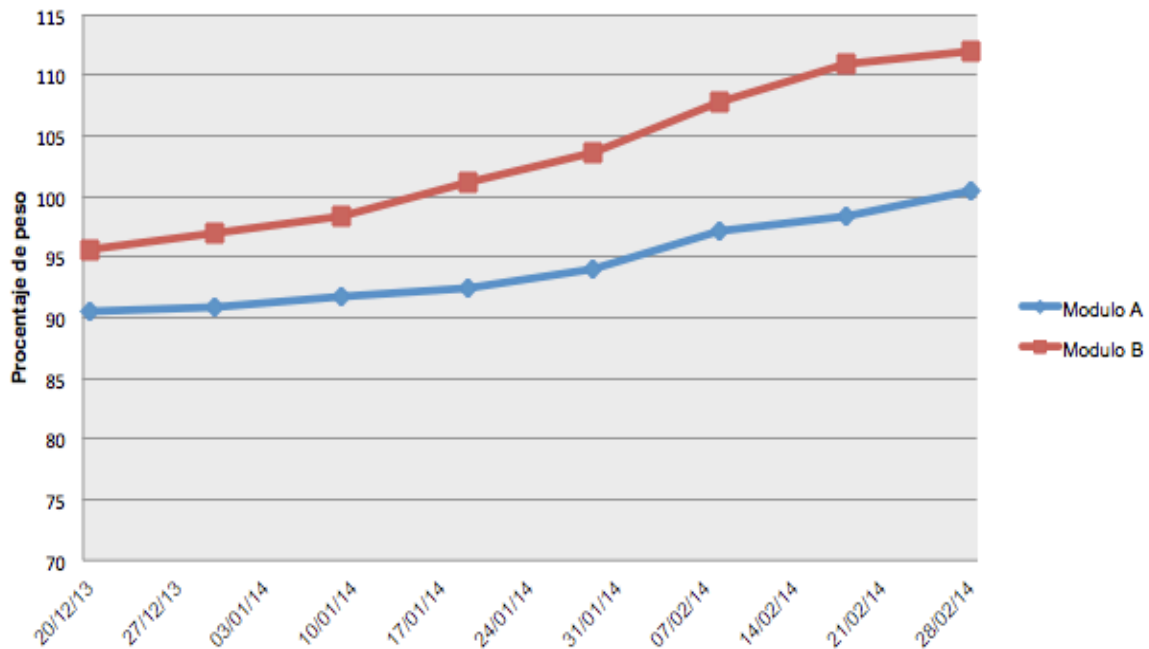


Figura 8. Comportamiento de los módulos una vez que el alimento empleado fue el mismo para ambos grupos.

A pesar de que el modulo A mostró mejoría significativa al incorporar el alimento 2 en su dieta el tiempo perdido en el suministro del alimento 1 ya no fue recuperado, pues al final del estudio el peso promedio del modulo A quedó por debajo del modulo B que fue tratado en su totalidad con el alimento 2. Es aquí donde se resalta la importancia de una correcta alimentación para un futuro cultivo en el sector ranícola.

Al termino de este trabajo se consiguió mantener 170 ranas de la especie *Lithobates pipiens* mismas que encuentran adecuadas en su totalidad a la vida en

cautiverio e inclusive ya iniciando con su periodo reproductivo. Ver figura 9. Durante este primer periodo de reproducción algunos de los amplexos de *Lithobates pipiens* han dado grandes resultados, como lo son los primeros renacuajos de esta especie nacidos en bajo las condiciones de confinamiento en un invernadero. Ver Figura 10. Dichos renacuajos han seguido satisfactoriamente su proceso de crecimiento como se aprecia en la figura 11.



Figura 9. A) Hembra de rana leopardo, B) Macho de rana leopardo, posee sacos vocales pareados detrás de las mandíbulas C) Amplexo.

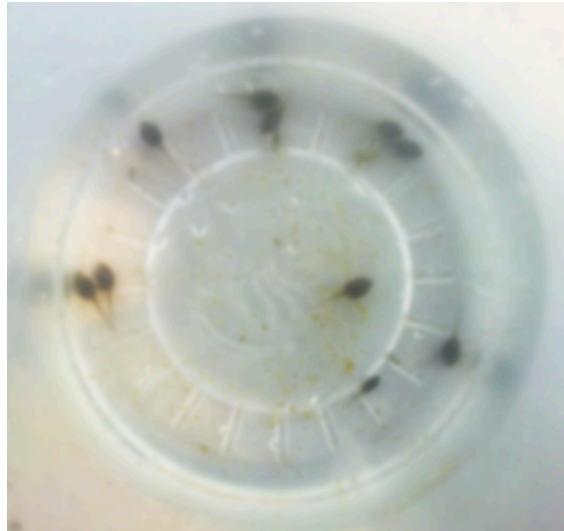


Figura 10. Primera generación de renacuajos de rana leopardo (F_1) nacidos en condiciones de invernadero.



Figura 11. Renacuajos de rana leopardo (F_1) con un 45 días de edad.

6. DISCUSION

Una vez recopilados y analizados los resultados obtenidos en este trabajo se aprecia claramente que el éxito o fracaso al introducir una nueva especie a un sistema controlado para su explotación, en este caso comercial, depende del manejo y cuidados con los que se trate a la especie en cuestión.

Para nuestro caso, el grupo que fue sujeto de estudio en un principio se vio afectado por el cambio radical que fue pasar de la vida libre al estar confinados en una pequeña superficie; que a pesar de ser recreada lo más cercano a la realidad en la que se desenvuelven, esta no podría llegar a ser exactamente igual, cosa que indudablemente los animales perciben.

El presente estudio se basó en lo documentado para la producción de *Lithobates catesbeianus* (rana toro), siendo esta la información la más semejante obtenida en la actualidad, recordando que los datos sobre *Lithobates pipiens* (rana leopardo) son muy escasos, pese a dicha situación lo recopilado en los antecedentes sirvió de base para solventar los rubros a cubrir a lo largo de este trabajo guardando sus debidas proporciones, pues de acuerdo a lo observado y obtenido *Lithobates pipiens* posee necesidades diferentes en a las de *Lithobates catesbeianus*; partiendo desde el diseño y equipamiento de los recintos elaborados para albergar a estos animales pues el comportamiento de la rana leopardo requiere de una mayor cantidad de ejemplares vegetales en sus recintos, así como la actividad a lo largo de su vida, la cual sugiere que la cantidad a incorporar por metro cuadrado es cerca de un 20% menor de la que se puede abarcar en un ciclo productivo de rana toro que se encuentra reportada en 80% por m² (Méndez, 2010).

Por lo otro lado los parametros fisicoquímicos del agua a emplear son un aspecto crucial en la actividad ranícola pues esto delimita el correcto desarrollo de los organismos; basados en los rangos de la rana toro se buscaron y determinaron los valores mas idóneos para el mantenimiento de *Lithobates pipiens* encontrándose

que parámetros como el oxígeno disuelto tienen una marcada diferencia reduciéndose el margen de 3 – 12 mg/l en rana toro (Pineda, 2001) a 6.1 – 8.3 mg/l en rana leopardo, mismo caso el pH donde los límites además de verse reducidos tuvieron una tendencia hacia valores ligeramente más altos (6 – 8.5 para rana toro ajustándose en 7 – 8.8 para la rana leopardo). Mientras que para los datos de nitratos, nitritos y amoníaco, los rangos se mantuvieron por el mismo tenor que lo sugerido dentro del cultivo de rana toro (Pineda, 2001); para la cuestión de la temperatura se delimitaron como límites 26.7 y 18.8 °C recalándose como el más apropiado 23 °C, con lo cual se muestra una pequeña diferencia de lo referenciado que maneja como valor óptimo los 25 °C (Pineda, 2001).

Dentro de la cuestión alimenticia los datos prácticamente coinciden con los de las referencias en cuanto a la proporción y forma de brindar el alimento según lo enunciado por Bahamonde (2005), ajustándose solo a un horario que fuese más conveniente para incrementar el consumo de alimento por parte de los ejemplares de *Lithobates pipiens*, pues no solo es fundamental el grado de consumo para el mejor mantenimiento de los animales, sino que es vital para el periodo reproductivo de dichos ejemplares.

Al final el conjunto de todos estos rubros, contribuyen de manera directa a que los animales puedan comportarse normalmente y prosperar en cautiverio llegando así a tener una mayor longevidad y una mejor reproducción, aspectos buscados y necesarios en esta actividad comercial.

7. CONCLUSIONES

El cultivo de rana leopardo *Lithobates pipiens* es factible en condiciones de producción bajo el sistema de invernadero, pues una vez cubiertas plenamente sus necesidades básicas es posible la adecuación de esta especie, permitiendo con ello el desarrollo completo de su ciclo de vida (nacer, crecer, reproducirse y morir), como lo demostró el presente estudio

Lo logrado con este trabajo abre las puertas y sirve como punto de partida para una explotación más controlada de esta especie (*Lithobates pipiens*) pues cabe recalcar que su actual forma de consumo es derivada de la caza de animales silvestres, esto debido a que no se cuenta con estudios sobre su posible incursión en un sistema de producción bajo condiciones de invernadero; empero para trabajos futuros queda por cubrir el estudio detallado del proceso reproductivo así como del crecimiento de esta especie desde su etapa de renacuajo.

8. REFERENCIAS

Aguilar IV. V. El cultivo de la rana en México: III Congreso de Medicina Veterinaria y Zootecnia; México, DF; **1970**. 1-7

Bahamonde, G. Franklin, Factibilidad de la producción, procesamiento y comercialización de ancas de rana. **2005**.

Benitez, M. Growth and metamorphosis of Rana catesbeiana tadpoles fed live and supplementary feed, using tilapia Oreochromis niloticus as a biofertilizer. Aquac. **1997**. 481-488.

Casillas, T. Martha. El cultivo de la rana toro. Nuevas oportunidades de negocios en la acuicultura. Boletín informativo, Morelia, Michoacán; **1999**, 8 -12.

Flores, N. Alejandro. An overview of Modern world frog farming. Proc. Technofrog97. On frog Res. And Tech. July 19-23, Santos, Brasil. **1997**. 109-116.

Flores, N. Alejandro. Some considerations on the international market for frog products with emphasis on the United States. IX ENAR & Technofrog97. Santos, Brasil. **1998**. 19-23.

Flores, N. Alejandro, Perspectivas de la ranicultura moderna, **2000**, 246.

Fontanello, D.; R. Wirz; H. Armda; A. Texeira e A. Freitas. Perspectivas da criação de rãs em gaiolas. Anais do VII Encontro Nacional de Ranicultores. Rio de Janeiro, Brasil, **1992**. 4-13.

Garcia, A. Noemí, Cultivo comercial de rana toro Subdelegación de Pesca, SAGARPA Michoacán; **2005**, 25-32.

Hernández, B, F. La rana cría y explotación 2ª. Edición. Madrid. Editorial Mundiprensa. **1996**.

Méndez, B. Larisa. Manual de producción de rana toro. Centro de investigación y desarrollo del Estado de Michoacán. **2010**, 34 – 37.

NMX-AA-012-SCFI-2001. Análisis de agua - determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba.

NMX-AA-079-SCFI-2001. Análisis de aguas - determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba.

NMX-AA-099-SCFI-2006. Análisis de agua – determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales y residuales – métodos de prueba.

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.

Pereira M. Silvia. Ranicultura en América latina. Agromeat. **2003**. Disponible en <http://www.agromeat.com/print.news.php?idNews=38892>

Pineda V. G Manual de producción de rana toro. SAGARPA; **1998**. 16 - 27

Pineda V.G. “Manual de producción comercial de rana toro: Instructivo para productores”. Secretaría de Desarrollo Agropecuario Subsecretaría de Fomento. **2001**.

Ramírez B. A. Ficha técnica de *Lithobates berlandieri*. Sistemática e historia natural de algunos anfibios y reptiles de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. **2004**.

Rubín, R. R. La rana y su explotación; Ed. Continental S.A.; México, DF. **1979**. pp.14, 15-1135

Santamaría, LI. J. A. Curso introductorio de zootecnia acuícola, extracurricular; FMVZ-UMSNH. **1999**. Morelia, Michoacán.

Sober, E. The Two Faces of Fitness. Thinking about Evolution: Historical, Philosophical, and Political Perspectives. Cambridge University Press, **2001** pp.309-312.

Storer, I. T., Usinger L. R., Stebbins, C. R. y Nybakken W. J. Zoología general; Omega; **2003**. pp.727- 740

Stuart, S.N., J.S. Chanson, N.A. Cox, B.E. Young, A.S.L. Rodrigues, D.L. Fischman, and R.W. Waller. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. **2004**. Science 306:1783-1786.