



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

Caracterización del microhábitat, variación morfológica y reproductiva en poblaciones de *Prasiola* (Prasiolales, Chlorophyta) en ríos de la región central de México

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

ROCIO RAMÍREZ RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. JAVIER CARMONA JIMÉNEZ

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A MI FAMILIA

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue realizado gracias al apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) y al Proyecto: Manejo de ecosistemas y desarrollo humano: río La Magdalena, ciudad de México.

En primer lugar quiero agradecer al Dr. Javier Carmona Jiménez quien una vez más me brindó el apoyo para la realización de este trabajo. Y sobre todo por compartir ese entusiasmo por este grupo tan enigmático y maravilloso.

A mi comité tutorial, Dr. Carlos Martorell Delgado por su asesoría en estadística del trabajo y al Dr. Luís Zambrano por las valiosas sugerencias para la realización de este escrito.

Al Dr. Gustavo Montejano Zurita y Dra Ma. Esther Meave del Castillo por las grandes contribuciones para mejorar el trabajo.

A la M. en C. Gloria Garduño y al M en C. Pablo Hernández por compartir tan valiosa información y la obtención de bibliografía.

Al M. en C. Rafael Barba por asesoría en la identificación de las larvas de macroinvertebrados.

A Biól. Oscar Sandoval, Biól. Mariana Cartagena, M. en C. Miriam Bojorge y M. en C. Mónica Ramírez Vázquez por el gran apoyo en el trabajo de campo.

A mi luna menguante por haber iluminado con tus rayos la primera parte de este camino...

A mis grandes amigos y compañeros del laboratorio Móni, Miriam, Itzel, Karina, Yenny, Edith. Pero sobre todo a Mariana y Oscar por brindarme siempre una sonrisa y una mano amiga.

A Isa por ser tan buena amiga a lo largo de estos años.

A mis amigos de clase Jorge Escutia y Luís Antonio por esas quemadas de pestañas y alentarme en todo momento. Y como olvidar a mis amigos de la carrera... en especial a Hiram, Arturo, Benjamín, Aldo, Anidia

A mis queridos padres Ofelia y Eliseo a quienes debo parte de lo que soy. A Claus por ser mi cómplice y amiga. Y Chak por tu tenacidad y gran valor.

...rivers and the inhabitants of the watery element were made for wise men to contemplate, and fools to pass by without consideration...for you may note, that the waters are Nature's storehouse, in which she locks up her wonders.

Izaak Walton

CONTENIDO

1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.- OBJETIVOS	10
Objetivo general	10
Objetivos particulares	10
3.- ÁREA DE ESTUDIO	11
4.- MATERIALES Y MÉTODOS	16
4.1 Caracterización del microhábitat	16
4.2 Efecto de la temperatura en la reproducción	20
5.- RESULTADOS	23
5.1 Caracterización del microhábitat y variación morfológica	23
5.2 Comparación de características entre poblaciones.....	24
5.3 Especies asociadas a los talos de <i>Prasiola</i>	38
5.4 Influencia de la temperatura en la reproducción	41
6.- DISCUSIÓN.....	51
7.- CONCLUSIONES.....	59

8.- PERSPECTIVAS	62
BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	72
Anexo I. Medios de cultivo	73
Anexo II. Gráficas de los valores de correlación.....	76
Anexo III. Taxonomy and distribution of freshwater <i>Prasiola</i> (Prasiolales, Chlorophyta) in central México.....	83
Anexo IV. Microhabitat and morphometric variation in two species species of <i>Prasiola</i> (Prasiolales, Chlorophyta) from streams in central México	96

RESUMEN

Se estudiaron cuatro poblaciones de *Prasiola mexicana* y una de *P. nevadensis* con el fin de relacionar el efecto de las variables microambientales (velocidad de corriente, profundidad, tipo de sustrato y radiación fotosintéticamente activa [RFA]) en la variación morfométrica, abundancia y distribución. Ambas especies crecen en sustrato rocoso y a bajas profundidades (0 – 15 cm). Las poblaciones de *P. mexicana* toleran amplios intervalos de velocidad de corriente (0 – 1.02 m s⁻¹) y RFA (45 – 1631 μmol fotones m⁻² s⁻¹) lo cual probablemente explica su amplia distribución y abundancia en ríos de la región central de México. *P. nevadensis* se ha registrado en una localidad en México y su restringida distribución parece estar relacionada con requerimientos particulares de un lento flujo de agua (0 – 0.3 m s⁻¹) y baja RFA (17.9 – 35.5 μmol fotones m⁻² s⁻¹). El análisis de correlación para *P. mexicana* mostró valores positivos para la velocidad de corriente con la cobertura porcentual, grosor de la lámina, número de células de grosor y longitud de la lámina; estos resultados sugieren una preferencia para ocupar microambientes con flujo de agua. *P. nevadensis* presentó correlación negativa en la RFA con el diámetro celular, lo cual parece indicar una limitada tolerancia a la elevada insolación. Todos los caracteres observados presentaron diferencias significativas entre las cinco poblaciones, no obstante, *P. nevadensis* se distinguió de *P. mexicana* por presentar talos estrechos y de menor grosor y células de mayor amplitud y longitud. Los gradientes de temperatura empleados (6, 10 y 17°C) no promovieron la formación de estructuras de reproducción sexual. La reproducción asexual se presentó para todos los tratamientos de temperatura, no obstante, la mayor producción y germinación de aplanosporas se observó a 17°C. Estas estructuras pueden ser liberadas al medio (*ex situ*) o seguir con la germinación sobre el talo parental (*in situ*). El número de cromosomas observado en células vegetativas fue de 2n= 6 (5) y para las aplanosporas fue de 2n= ca 5-6. De acuerdo el cariotipo el ciclo de vida de *P. mexicana* es monofásico diploide con meiosis gamética. Sin embargo, es necesario el conteo de cromosomas en los gametos para confirmar la identidad del gametofito en el ciclo de vida de *P. mexicana*.

ABSTRACT

Prasiolales are characterized by high levels of morphological plasticity. This is a problem in terms of the taxonomic delimitation of the species but may be the result of environmental heterogeneity. Habitat characteristics and morphological variation of *P. mexicana* and *P. nevadensis*, two species of freshwater leaf-like thallus green algae, were investigated in five sites in central México the morphological traits of these species are overlapped. Comparisons were made between habitat characteristics among streams and transects with and without *Prasiola* samples. The correlation analysis showed positive values of current velocity with percent cover, lamina length, thickness and number of layers, these results suggest a preference to grow in sites with water flow. The wider range of habitat characteristics of current velocity and irradiance and morphometric variation (lamina length, lamina diameter, cell length, surface of the thallus, thickness and number of layers) suggested that *P. mexicana* was more plastic in its physico-chemical requirements than *P. nevadensis*. Our results suggest that small variation of microhabitat conditions in *P. nevadensis* (irradiance and current velocity) could explain its very restricted geographic range in streams in central Mexico.

The treatments of temperature (6, 10 and 17°C) employed in this work did not triggered the production of gametes. But the asexual reproduction appeared for all treatments of temperature, however, the most abundant production and germination of aplanospores were observed at 17°C. These structures were released to environment (*ex situ*) or continued the germination on the parental thallus (*in situ*). The chromosomes number in vegetative cells was $2n=6$ and aplanospores was $2n=6(5)$. The characteristics observed in aplanospores, chromosomes number and general descriptions in previous studies show the diplohaplontic the life cycle of *P. mexicana* and the reductional division takes place in gametes. Nevertheless, is necessary find sexual structures and their number of chromosomes to confirm the life cycle in this species.

1. INTRODUCCIÓN

Los ríos son ambientes complejos, cambiantes y heterogéneos en espacio — tiempo y son regidos por diversos factores físicos, químicos y biológicos los cuales representan verdaderos retos para la distribución y desarrollo de los organismos que ahí habitan (Allan, 1995).

Las algas bentónicas son los productores primarios más significativos en la mayoría de los ríos y conforman el primer eslabón en la cadena alimenticia. Frecuentemente su abundancia y distribución se ven principalmente afectados por factores bióticos y abióticos propios del ambiente, tales como: temperatura, velocidad de corriente, radiación solar, tipo de substrato, química del agua y herbivoría (Allan, 1995; Biggs, 1996; Stevenson, 1996). Entre las algas es bien conocido que existe una alta plasticidad morfológica como respuesta a distintas presiones ambientales. Por ejemplo, *Cladophora glomerata* (L.) Kütz, presenta células más pequeñas, filamentos más cortos y con menos ramificaciones cuando la velocidad de corriente se incrementa (Ronnberg & Lax, 1980; Bergey *et al.*, 1995). Biggs & Hickey (1994) observaron que los pedúnculos de *Cymbella* y *Gomphoneis* son más largos cuando la intensidad del flujo de agua aumenta. Sheath & Hambrook (1988) muestran que la forma de crecimiento de las algas rojas está influenciado por el estrés mecánico del agua. Estos y otros trabajos manifiestan la importancia de los factores abióticos en la arquitectura de las algas.

No solo el ambiente físico altera el fenotipo, si no también influye en la distribución, abundancia y reproducción. Graham & Kranzfelder (1985) observaron que la distribución

y abundancia de las poblaciones de *Ulothrix zonata* Weber and Mohr son favorecidos por la baja temperatura (5°C) y elevadas condiciones de RFA (1100 $\mu\text{E m}^{-2}$). Mientras que para las poblaciones de *Spyrogira* sp. y *Ulothrix zonata* el incremento de la velocidad de corriente tiene un efecto negativo en la abundancia de estas especies (Biggs & Thomsen, 1995). Bergey *et al.*, (1995) observó mayor abundancia de *Cocconeis pediculus* Ehrenberg en condiciones de elevado flujo de corriente, a diferencia de *Ephitemia* spp. la cual domina en sitios de baja intensidad de corriente. Por otra parte Graham *et al.* (1985), Friedmann (1960) y Necchi (1997) observaron que el cambio en la temperatura aunado con los cambios en intensidad luminosa y fotoperiodo puede ser un estímulo importante para la reproducción sexual, geminación y formación de esporas de numerosas especies algales, como *Ulothrix zonata*, *Prasiola stipitata* Suhr (Chlorophyta) y *Batrachospermum delicatulum* (Skuja) Necchi & Entwisle (Rhodophyta).

Recientemente se han abordado investigaciones donde se destaca la influencia de los factores físicos en escala microambiental (velocidad de corriente, profundidad, RFA y tipo de sustrato) sobre la estructura del talo y su distribución. Entre los más relevantes para Cyanophyceae está el de *Blennothrix ganeshii* Watanabe et Komárek (Beltrán — Magos *et al.*, 2005); para Rhodophyta — *Batrachospermum delicatulum*, *B. macrosporum* Montagne (Necchi, 1997) y *Compsopogon coeruleus* (Balbis ex C. Agardh) Montagne (Necchi *et al.*, 1999); Chlorophyta — *Chaetophora elegans* (Roth) C. Agardh, *Stigeoclonium helveticum* Vischer (Branco & Necchi, 1998), *Chara guairensis* R. Bicudo y *Nitella subglomerata* A. Braun y *Nitella* sp. (Vieira & Necchi, 2002).

Gran parte de la taxonomía tradicional se basa principalmente en el análisis de caracteres morfológicos y morfométricos para la clasificación de los organismos (Morrone, 2001), sin embargo, la variación de los caracteres, la falta de información ecológica y su relación con el fenotipo han originado problemas en la sistematización de géneros y especies, tal es el caso de las especies de *Prasiola* (Rindi *et al.*, 2004; Ramírez & Carmona, 2006).

Las especies del género *Prasiola* es un alga verde que habita en ambientes marinos, dulceacuícolas y terrestres, además, cubre un amplio rango geográfico que va desde regiones boreales, templadas y tropicales (Starmach, 1972; Hamilton & Edlund, 1994; Rindi *et al.*, 1999; Sherwood *et al.* 2000; Dine & Hara, 2002; Rindi *et al.*, 2004; Rindi & Guiry, 2004; Ramírez & Carmona, 2005). Las especies de ambientes lóticos presentan dos morfologías: filamentos no ramificados y láminas extendidas (monostromático y pluristromático), los talos se adhieren al substrato por medio de un pequeño estípite y células rizoidales (Collins, 1909; Starmach, 1972). Las células son de forma poligonal o cuadrada, usualmente arregladas en grupos de cuatro (Agardh, 1847; Setchell & Gardner, 1920; Knebel, 1936; Friedmann, 1959; Ramírez, 2004). A pesar de su aparente sencillez y de los numerosos estudios monográficos publicados en los últimos dos siglos, la sistemática del grupo presenta numerosos problemas sin resolver. Uno de los cuales es la delimitación a nivel de especie debido a los frecuentes traslapes de caracteres entre sus especies y a la considerable plasticidad morfológica del grupo (Hamilton & Edlund, 1994; Dine & Hara, 2002; Rindi *et al.*, 1999; Rindi & Guiry, 2004; Rindi *et al.*, 2004). Recientemente se han utilizado técnicas moleculares para resolver problemas taxonómicos en Prasiolales, no obstante, se han enfocado principalmente para la ubicación de especies dentro del orden (Rindi & Guiry, 2004).

Aún cuando se reconoce la influencia de las variables, existen escasas investigaciones que aborden las características ecológicas de *Prasiola* y particularmente en su distribución temporal y espacial. La información disponible se restringe a especies de ambientes marinos. Anderson & Foster (1999) describen el efecto de la insolación y herbivoría en la distribución y abundancia de las poblaciones de *P. meridionalis* Setchell & Gardner. Por otro lado Rindi *et al.* (1999) observaron que la distribución y abundancia en poblaciones de *Prasiola* de ambientes terrestres se ven favorecidos por elevada precipitación fluvial y la baja la temperatura, mientras que a nivel microambiental el tipo de substrato es el principal factor que rige la distribución (Rindi & Guiry, 2004). Las variables físicas no solo afectan la distribución y morfología de *Prasiola* si no también su fenología; Rindi *et al.* (1999) reportan la formación de gametos en los meses de menor temperatura en poblaciones de *P. stipitata* Suhr, mientras que la formación de aplanosporas se presenta al incrementar la temperatura. En condiciones de cultivo Friedmann (1959; 1960) y Cole & Akintobi (1962) se percataron que la formación de gametos ocurre a bajas temperaturas y la liberación de gametos se produjo durante la obscuridad.

Para México se han descrito dos especies: *Prasiola mexicana* Agardh y *P. nevadensis* Setchell & Gardner. La primera se ha reportado en ríos de la cuenca de México (Ortega, 1984; Ramírez *et al.* 2001; Bojorge, 2002; Ramírez, 2002; Ramírez & Cantoral, 2003) y la segunda en la cuenca alta del Pánuco (Ramírez, 2004). Bojorge (2002) observó que la abundancia y permanencia de poblaciones de *P. mexicana* se ve favorecida por la baja temperatura y su capacidad de tolerar diferentes condiciones de velocidad de corriente, así mismo describe

que la variación en el tamaño de los talos puede ser causado por el efecto del flujo de corriente.

Recientemente Ramírez & Carmona (2005) analizaron los caracteres taxonómicos en *P. mexicana* y *P. nevadensis* de la región central de México; este trabajo considera que gran parte de la variación morfológica (rugosidad) y morfométrica (longitud del talo, dimensión celular y grosor), dinámica espacial y temporal podría ser explicado por influencia de los factores microambientales. En condiciones de cultivo reportan la formación de estructuras de reproducción sexual (gametangios) y asexual (paquetes celulares), sin embargo, no observaron el ciclo de vida completo.

El ciclo de vida completo se ha descrito para dos especies marinas (*P. stipitata* y *P. meridionalis*; Drew & Friedmann, 1957; Friedmann, 1959 y 1960; Cole & Akintobi, 1962; Bravo, 1965; Hanic, 1979) y una de ríos (*P. japonica* Yatabe Yabe, 1932 en: Friedmann, 1959; Uda, 1948) y lo más interesante es que el ciclo de vida de las especies marinas no concuerda con la del ambiente continental. *P. stipitata* y *P. meridionalis* presentan un ciclo heteromórfico monofásico diploide con meiosis gamética (Fig. 1) a diferencia de *P. japonica* que presenta un ciclo monofásico haploide con meiosis citótica (Fig. 2). La diferencia en el tipo de ciclo de vida plantea un problema serio que sugiere un error en el reconocimiento de las estructuras de reproducción y/o el momento de meiosis (Hoek *et al.*, 1995).

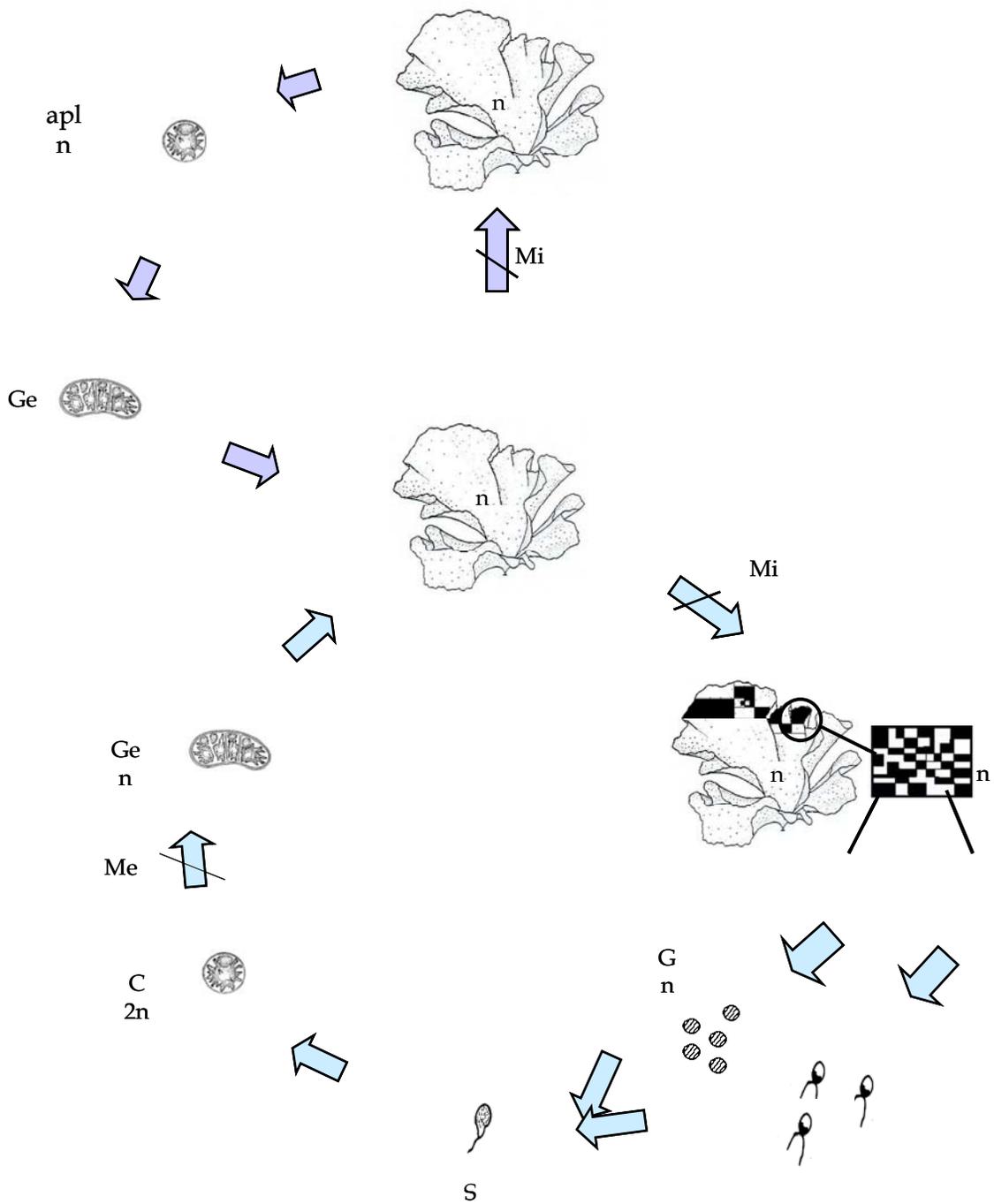


Fig. 2. El ciclo de vida en *Prasiola japonica* comienza con mitosis en la zona apical del talo (n). para formar células de color pálido (gametos masculinos biflagelados) y células oscuras (gametos femeninos sin flagelo). Al madurar la pared que rodea se rompe y libera los gametos y se lleva a cabo la singamia. La reproducción sexual es oogamia y el ciclo de vida es haplontico haploide, con meiosis cigótica. Mi= mitosis; apl= aplanosporas; Ge= germinación; Me= meiosis; G= gametos; S= singamia; C= cigoto (Fujiyama, 1949; Friedmann, 1959).

De acuerdo con lo anterior, acerca de la influencia de las variables microambientales en la distribución y variación morfométrica. Así como el efecto de la temperatura y fotoperiodo en la reproducción en poblaciones de *Prasiola* de ambientes lóticos en este trabajo se plantean las siguientes hipótesis: 1) los factores microambientales tales como, velocidad de corriente, RFA, tipo de substrato y profundidad son elementos determinantes en la distribución, variación morfológica y abundancia de los crecimientos algales y 2) la disminución de la temperatura en condiciones de laboratorio promueve la formación de estructuras de reproducción sexual (gametos) y asexual (aplanosporas, fragmentación y propágulos vegetativos).

2. OBJETIVO GENERAL

- Relacionar las variables microambientales con la variación morfométrica y reproductiva en poblaciones de *Prasiola* (Prasiolales, Chlorophyta) en ríos de la región central de México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la influencia de las variables microambientales (velocidad de corriente, RFA, substrato, profundidad) sobre la cobertura porcentual, distribución y variación morfológica en poblaciones de *Prasiola*.
- Determinar el efecto de la temperatura en el ciclo de vida en poblaciones de *Prasiola mexicana* bajo condiciones de cultivo.

3. ÁREA DE ESTUDIO

Se visitaron cuatro ríos en la región Central de México dos pertenecientes a la cuenca del Valle de México (río La Magdalena y Agua de Leones), y dos a la cuenca del alto Pánuco (río Molinitos y río Malila)

a) Río La Magdalena (4° dinamo, 2° dinamo; Fig. 3a y b; Tabla 1)

El río Magdalena se localiza en el parque Nacional Los Dinamos y pertenece a las delegaciones políticas Magdalena Contreras y Álvaro Obregón (Ávila, 2002; Ramírez, 2002). Este río es uno de los cuerpos de agua más importantes de la ciudad de México, ya que es empleado como fuente de abastecimiento de agua potable, además de que las características del tipo de suelo y las masas forestales permiten la recarga de los mantos freáticos (Ávila, 2004). El río Magdalena nace en las faldas del cerro la Palma y es alimentado por numerosos manantiales y afluentes. Posteriormente el río entra en zona urbana hasta llegar a la presa Anzaldo y la otra parte continua hasta unirse con al río Mixcoac y formar el río Churubusco, el cual desemboca en el Lago de Texcoco (Nava, 2003).

En enero de 1897 se otorgó la concesión para la construcción de cuatro plantas hidroeléctricas conocidas como: Primero, Segundo, Tercer y Cuarto Dinamo. La fuerza motriz de estas plantas accionaba a la región fabril de San Ángel. En este río se ubicaron dos sitios de colecta: el segundo y cuarto dinamo, siendo este último una zona alejada de

la influencia directa de los comercios, mientras que el segundo dinamo se encuentra rodeado por establecimientos donde se vende alimento.

b) Río Agua de Leones (Fig. 3c, Tabla 1)

Éste río nace en el Parque Nacional del Desierto de los Leones, el cual se ubica al suroeste de la Ciudad de México entre la vertiente del cerro de Las Cruces y sierra del Ajusco. Esta corriente es de carácter permanente y conforma una red de tipo dendrítico. Después de un recorrido de 7.5 km desemboca en el río Borracho posteriormente se une con el río Ajolote para formar el río Hondo. Desafortunadamente en los últimos dos kilómetros recibe aporte de aguas residuales. En el parque se localizan otros afluentes como San Borja y Santo Desierto.

Río Molinitos (Fig. 3d, Tabla 1)

Esta área de estudio se localiza en el poblado Los Molinitos perteneciente al municipio de Villa del Carbón, Estado de México. Este cuerpo de agua es de carácter permanente y es un afluente del río El Oro, el cual desemboca en la presa Taxhimay. Molinitos es la fuente principal que abastece al poblado para el uso en abrevaderos, pesca deportiva y autoconsumo. En el área se construyó una represa en un embalse natural para retener agua durante la época de estiaje. La constante actividad antrópica tal como: turismo, ausencia de fosas sépticas, tiraderos de basura al aire libre y las aguas residuales han

provocado un deterioro en el cuerpo de agua, lo cual crea problemas de salud a los habitantes de la zona (Nava, 2005).

Río Malila (Fig. 3e)

Este cuerpo de agua se localiza al norte del estado de Hidalgo, atraviesa los municipios de Molango y Zacualtipan. A un costado del río se ubica una mina de manganeso Autlán, la cual emplea el agua en el proceso de extracción del metal. Desafortunadamente las irregularidades en la emisión de residuos peligrosos han causado el deterioro de la vegetación y del cuerpo de agua.



Fig. 3. Localidades de estudio con poblaciones de *Prasiola*. **a)** río Magdalena (4° Dinamo), **b)** río Magdalena (2° Dinamo), **c)** río San Borja, **d)** río Molinitos. **e)** río Malila.

Tabla 1. Ubicación y características ambientales de las localidades de estudio.

Cuenca Hidrológica	Corriente	Localidad	Estado	Delegación/ Municipio	Ubicación geográfica		Altitud (m s.n.m)	Clima*	Substrato*	Vegetación*
					LN	LO				
Cuenca del Valle de México	Río La Magdalena	Sitio 1 4° Dinamo	Distrito Federal	Magdalena Contreras	19° 16'	99°18'	3,150	Cb'(w ₂)(w) (b')	Andesítico-basáltico	<i>Quercus rugosa</i> , <i>Q. laurina</i> , <i>Abies religiosa</i> , <i>Senecio angulifolius</i> , <i>Pinus hartwegii</i> , <i>Trisetum altijugum</i> .
"	"	Sitio 2 2° Dinamo	"	Magdalena Contreras	19°29'	99°17'	2,800	"	"	<i>Q. rugosa</i> , <i>Q. laurina</i> , <i>A. religiosa</i> , <i>S. angulifolius</i> , <i>P. hartwegii</i> , <i>T. altijugum</i> .
"	Río Agua de Leones	Sitio 3 Agua de Leones	"	Cuajimalpa	19°17'	99°19'	3,220	C(w ₂) (w)	"	<i>A. religiosa.</i> , <i>P. hartwegii.</i> y <i>Quercus sp</i> , <i>Bachharris conferta</i> ,
Alto Pánuco	Río Molinitos	Sitio 4 Molinitos	Estado de México	Villa del Carbón	19°40'	99°26'	2,522	C(w ₂)(w)	Andosol y feozem, predominancia de arenas y ricos en materia orgánica	<i>Q. castanea</i> , <i>Q. crasifolia</i> , <i>Q. disophylla</i> , <i>Q. laeta</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i> , <i>P. hartwegii</i> , <i>Cupressus lindeyi</i> , <i>Phytolaca icosandra</i> , <i>Buddleia parviflora</i> , <i>Erynginium proteiflorum</i>
"	Río Malila	Sitio 5 Malila	Hidalgo	Molango	20°45'	98°45'	1,530	C(fm)	Caliza-lutita	<i>Alnus arguta</i> , <i>S. salignus</i> , <i>B. conferta</i> y <i>Equisetum spp.</i>

*= De acuerdo con INEGI (1970, 1992), Mooser, 1975, Ávila (2002 y 2004) y Nava (2005). Cb' (w₂)(w) (b')= templado subúmido con lluvias en verano; C(w₂) (w)= templado húmedo con lluvias en verano; C(fm)=templado húmedo con lluvias durante todo el año.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Caracterización del microhábitat para las poblaciones de *Prasiola*

Las muestras se recolectaron en cinco sitios de la región central de México: río La Magdalena: sitio 1 y sitio 2 (4° y 2° Dinamo), Agua de Leones (sitio 3), Río Molinitos (sitio 4) y río Malila (sitio 5) (Fig. 3, Tabla 2) en el periodo más favorable de crecimiento (noviembre–febrero; Bojorge, 2002; Ramírez, 2004). Cada una de las localidades se ubicaron con un GPS Gramin y se registró la conductividad, pH y temperatura con un conductímetro / potenciómetro marca Conductronic PC-18 ($\pm 1\%$) y oxígeno disuelto con un medido de oxígeno Yellow Spring Instrument 51B.

Los sitios de muestreo consistieron de transectos del río de 10 metros de longitud, con crecimientos visibles de *Prasiola*. Las observaciones y recolectas de material se realizaron sobre substrato natural (canto rodado, roca, grava y arena). El análisis microambiental se realizó de acuerdo con la técnica de Necchi *et al.* (1995) la cual evalúa la influencia de las variables microambientales (velocidad de corriente, profundidad, radiación fotosintéticamente activa [RFA] y tipo de substrato) en la abundancia y características morfológicas de los crecimientos algales. La unidad de muestreo consistió en un círculo de 10 cm de radio (área= 314 cm²). El tipo y tamaño de las unidades de muestreo fueron definidas de acuerdo a trabajos previos (Necchi *et al.* 1995; Ramírez & Carmona, 2005). En

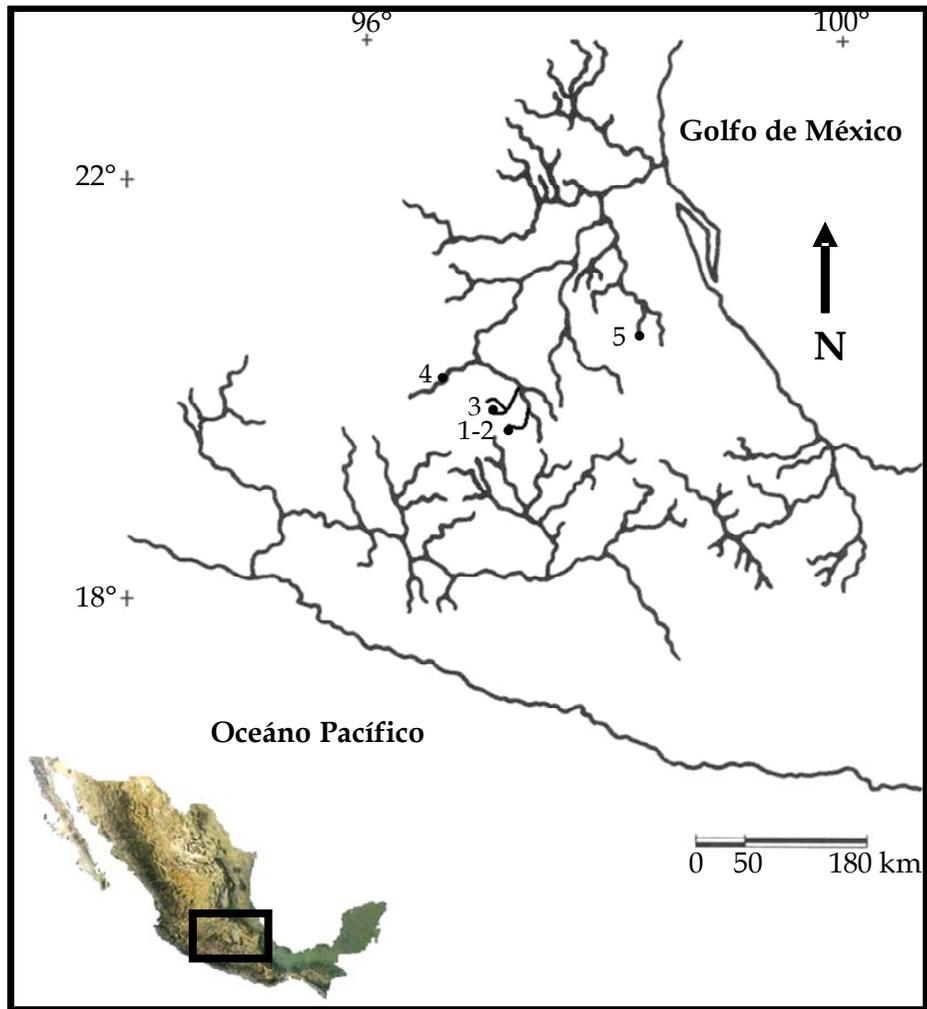


Figura 4.- Ubicación de las localidades con poblaciones de *Prasiola* en la región central de México (●). Cuenca de México: **1.** Río Magdalena, Sitio 1 (4° Dinamo). **2.** Sitio 2 (2° Dinamo). **3.** Sitio 3 (Agua de Leones). Alto Pánuco: **4.** Sitio 4 (Río Molinitos). **5.** Sitio 5 (Río Malila).

cada transecto se ubicaron 10 puntos separados por un metro cada uno, para determinar la ubicación del muestreo se utilizaron números aleatorios entre 0 y 180. En uno de ellos se ubicó el crecimiento de *Prasiola* más cercano, denominado presencia, y en la otra se buscó una zona sin crecimiento algal denominado ausencia. Se muestrearon un total de 20 unidades por transecto (10 cuadrantes de presencia y 10 control).

Para cada uno de las unidades de muestreo (presencia y ausencia) se midieron las siguientes variables microambientales: velocidad de corriente (Swoffer 2100), profundidad (flexómetro), RFA (Datalogger Li-1000 y un sensor plano subacuático Li-COR que mide la luz fotosintéticamente activa) y tipo de substrato (estimación visual). Estas variables se registraron en el centro de cada unidad de muestreo, y lo más cercano a los crecimientos algales (2-5 cm).

La cobertura algal (%) fue registrada por la misma persona por medio de estimación visual. De cada unidad de muestreo se recolectaron cinco individuos y se fijaron en formalina al 4% para el posterior análisis de caracteres morfométricos. De acuerdo con estudios previos se midieron los caracteres que pueden ser influenciados por las variables microambientales (Hamilton & Edlund, 1994; Bojorge, 2002; Ramírez & Carmona, 2005), como son: ancho y largo del talo, ancho y largo celular, grosor de la lámina, número de células de grosor y rugosidad de la superficie de la lámina. Las mediciones del diámetro y longitud del talo se realizaron en réplicas de cinco láminas, mientras que para las dimensiones celulares, número de células de grosor y grosor en réplicas de 20. Para determinar el grado de rugosidad se utilizó en número de ondulaciones en 1 cm de la

lámina (ondulaciones cm^{-1}). El ancho y largo de la lámina se midió con una regla de 30 cm en la parte más amplia y larga para el resto de los caracteres se utilizó un microscopio Olympus Bx51 con iluminación de contraste interferencial y sistema de microfotografía (Olympus DP-12). El grosor del talo se obtuvo a partir de cortes en la sección apical del talo (10 μm de grosor) en un microtomo de congelación (Sartorius Werke Mod. 27). Las mediciones se realizaron en réplicas de 20 individuos y quedaron representadas en un intervalo que contiene valor mínimo, máximo, media y error estándar.

Debido a que la mayoría de los datos obtenidos no presentaron distribución normal y varianzas homogéneas, se utilizaron pruebas de Mann-Whitney para evaluar diferencias significativas de las variables microambientales entre las unidades de muestreo de presencia y ausencia en cada sitio, y pruebas de Kruskal-Wallis para evaluar las diferencias morfométricas y microambientales entre las cinco poblaciones de *Prasiola*. En el caso de que se encontraran diferencias significativas se procedió a comparar cada población con las demás a través de pruebas pareadas de Mann-Witney para buscar las poblaciones que diferían entre sí. Para evaluar la preferencia por algún tipo de sustrato, se aplicó un modelo log-lineal a las frecuencias con las cuales se presentaron los crecimientos de *Prasiola* y se compararon con las frecuencias de los mismos en los sitios de ausencia. Se incorporaron a las poblaciones al modelo para evaluar si las preferencias diferían en cada una, para esto se utilizó el paquete Glim 4. Para la asociación entre la cobertura porcentual y caracteres morfométricos con factores ambientales se empleó el coeficiente de correlación ρ de Spearman (Gotelli & Ellison, 2004). El paquete estadístico utilizado fue SPSS 12. Para la identificación de especies algales asociadas a los

crecimientos de *Prasiola* se utilizó la siguiente literatura: Komárek & Anagnostidis (1999); Ramírez & Cantoral (2003); Ramírez et al., (2001). Para la identificación de larvas de macroinvertebrados se utilizó a Merrit & Cummins (1996).

4.2 Efecto de la temperatura en la reproducción en condiciones de cultivo

En el sitio dos (Fig. 3 y 4) se recolectaron diez ejemplares los cuales se transportaron en frascos de plástico, con agua de la localidad en una hielera. En el laboratorio se revisó el aspecto superficial de las láminas (color, textura) con un microscopio estereoscópico. De cada talo se tomaron fragmentos de aproximadamente 0.5 — 1.0 cm de la sección media y apical, se lavaron con agua destilada en condiciones estériles dos veces en cajas de petri agitándolos suavemente con una pinza de disección, y por último en tubos de cultivo de rosca con agua destilada estéril, agitando vigorosamente durante un lapso de tres minutos para eliminar de manera mecánica las algas epífitas.

Los fragmentos del talo se cultivaron en diferentes medios de cultivo: Bold Basal Medium (líquida) y Bourrelly (líquido y sólido; ver anexo I). El medio favorable para el mantenimiento y desarrollo *P. mexicana* fue Bourrelly en forma sólida. En cada caja de petri se colocaron tres fragmentos de la lámina. Los cultivos se mantuvieron en cámaras de ambiente controlado (Sanyo Scientific Mod. MLR- 350) con lámparas fluorescentes (Phillips 15 W). Con el fin de evitar el efecto corte, los cultivos se aclimataron durante una

semana a 13 °C y fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad, a manera de simular las condiciones a las que fueron encontradas. Posterior al periodo de aclimatación los cultivos se mantuvieron a 50 μmol fotones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de iluminación y a un fotoperiodo de 10:14 luz/oscuridad en tres condiciones experimentales de temperatura: 6, 10 y 17 °C. Se cultivaron un total de nueve réplicas por tratamiento de temperatura. La duración del experimento fue de 120 días aproximadamente.

Los cultivos se revisaron semanalmente para la observación de estructuras que intervienen en la reproducción (sexual y asexual). Al término del periodo de experimentación los fragmentos fueron preservados en solución de carnoy (etanol 95% - ácido acético glacial 3:1) y teñidos con hematoxilina de Wittmann de acuerdo al procedimiento descrito en Goff & Coleman (1990) y Ramírez (2004). El conteo de cromosomas se utilizó un microscopio Olympus Bx51 y se realizó en base al mínimo de diez observaciones para cada tipo celular. Se revisaron todos los caracteres citológicos considerados en Uda (1948); Friedman (1959 y 1960) y Ramírez & Carmona (2005). Se tomaron fotografías digitales y las imágenes fueron editadas en el programa Adobe Photoshop.

Para determinar el número de cromosomas del talo vegetativo se colectaron cinco individuos en el sitio dos, la muestra se preservó en solución de carnoy y se siguió el mismo procedimiento mencionado con anterioridad. De acuerdo a reportes previos (Uda, 1948; Friedman 1959 y 1960; Cole & Akintobi, 1962), el conteo de cromosomas se realizó en la región basal del talo, debido a que la meiosis esta restringida únicamente al ápice del

talo. Para así tener un punto de referencia sobre el número de cromosomas del talo vegetativo.

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización del microhábitat y variación morfológica

Las características ambientales de los sitios de estudio se presentan en la tabla 2. Las poblaciones de *P. mexicana* crecieron en cuatro sitios de agua fría (7.2 – 14.0 °C), con un pH ligeramente ácido a circumneutral (6.0 – 7.8) y baja conductividad (45 – 66 $\mu\text{S cm}^{-1}$). Mientras que las poblaciones de *P. nevadensis* crecieron en un río de corriente fría (16°C), pH neutral (7.5) y elevada conductividad específica (262 $\mu\text{S cm}^{-1}$).

La RFA difirió entre las cinco poblaciones de *Prasiola* ($H= 31.94$; $p < 0.001$), los crecimientos de *P. mexicana* se desarrollaron en condiciones luminosas superiores a 45.0 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mientras que las poblaciones de *P. nevadensis* crecieron en condiciones menores a 35.5 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Tabla 2).

La velocidad de corriente, profundidad y tipo de substrato no mostraron diferencia significativa entre las poblaciones. Sin embargo, los crecimientos de *P. mexicana* y *P. nevadensis* muestran una tendencia a ocupar sitios con velocidad de corriente muy variable (0 - 1.02 m s^{-1}), baja profundidad (subaéreos a 15 cm) y roca como substrato predominante (90 - 100%) (Tabla 2, Fig. 5 y 6). La cobertura porcentual varió significativamente para las cinco poblaciones ($H= 17.34$, $p < 0.05$). El menor porcentaje se observó para *P. mexicana* del sitio 3 (1 – 45 %), mientras que la mayor cobertura se registró para población de *P. nevadensis* del sitio 5 (20 – 90%; Tabla 4, Fig. 8).

Todos los caracteres morfométricos difirieron en las cinco poblaciones. En los casos del largo (largo: $H = 59.5; p < 0.001$) ancho celular (ancho: $H = 53.7; p < 0.001$) y largo del talo ($H = 54.4; p < 0.001$), *P. nevadensis* mostró valores extremos que difirieron significativamente de los observados en cualquier población de *P. mexicana* (Tabla 4; Fig. 7 – 10) *P. nevadensis* presentó láminas de menor longitud ($H = 40.4; p < 0.001$), menor número de células de grosor ($H = 76.9; p < 0.001$; Fig. 8 – 10) y menor rugosidad en la superficie ($H = 50.2; p < 0.001$). Sin embargo, en estos tres casos hubo al menos una población de *P. mexicana* que no difirió significativamente de los valores registrados para *P. nevadensis*. A pesar de que hubo diferencias significativas entre los sitios en términos del grosor de la lámina ($H = 105.4; p < 0.001$), *P. nevadensis* tiene un valor intermedio a los observados en las diferentes poblaciones de la otra especie (Tabla 4).

5.2 Comparación de características entre poblaciones

Los valores obtenidos para las unidades de muestreo de presencia y ausencia se presentan en las tablas 2 y 4.

Las diferencias entre los cuadrantes de presencia y ausencia para las poblaciones de *P. mexicana* fueron significativas para la profundidad en todos los sitios ($U = 1.00 - 17.50; p < 0.05$), velocidad de corriente para el sitio 2 ($U = 16.0; p < 0.001$) y tipo de substrato ($\chi^2 = 65.52; p < 0.001$) No se encontraron diferencias para la RFA en los cuatro sitios de colecta (Tabla 2, 3 y Fig. 6).

Todos los caracteres morfométricos de las poblaciones de *P. mexicana*, a excepción del largo celular, fueron variables para todos los sitios estudiados. Las láminas más largas ($U = 24.02$; $p < 0.001$) y anchas ($U = 18.21$; $p < 0.001$) se presentaron para el sitio 3, sin embargo, para el caso del largo del talo el sitio 4 presentó dimensiones similares al sitio 3. Mientras que para el ancho celular ($U = 20.7$; $p < 0.01$), grosor ($U = 94.71$; $p < 0.001$), número de células de grosor ($U = 52.01$; $p < 0.001$) y rugosidad ($U = 26.55$; $p < 0.001$) el sitio 3 presentó los valores más bajos y fue estadísticamente significativo del resto de los sitios de *P. mexicana*. (Tabla 4; Fig. 7y 8).

Los valores y gráficas obtenidas en el análisis de correlación de Spearman se presentan en las tablas 5 y 6 y láminas 1 a 5 del anexo.

La velocidad de corriente estuvo positivamente correlacionada con el grosor de la lámina del sitio 1 ($\rho = 0.76$; $p < 0.01$), número de células de grosor del sitio 2 ($\rho = 0.63$; $p < 0.05$), cobertura porcentual del sitio 3 ($\rho = 0.71$; $p < 0.05$) y largo de la lámina del sitio 4 ($\rho = 0.66$; $p < 0.05$; Tabla 5, Láminas 1 y 2).

Se observaron algunas tendencias generales entre caracteres morfométricos. En todas las poblaciones de *P. mexicana* la longitud de la lámina estuvo positivamente correlacionado con el ancho de la lámina ($\rho = 0.69 - 0.94$; $p < 0.05$). En los sitios 2 y 4 la longitud de la lámina presentó valores positivos con el largo celular ($\rho = 0.65 - 0.83$; $p < 0.05$). Mientras que en los sitio 1, 2 y 4 los valores positivos del coeficiente fueron para la longitud celular

con el diámetro celular ($\rho = 0.68 - 0.88; p < 0.01$ y 0.05). Finalmente las láminas de mayor grosor sitios 1 y 2 estuvo correlacionada con el número de células de grosor ($\rho = 0.79 - 0.87; p < 0.01$; Tabla 6, Láminas 3 – 5).

Las poblaciones de *P. nevadensis* presentaron diferencias entre los cuadrantes de presencia y ausencia en la velocidad de corriente ($U = 19.5; p < 0.05$), profundidad ($U = 5.0; p < 0.001$) y tipo de sustrato. No se encontraron diferencias en la RFA (Tabla 2 y 3; Fig. 9).

Para la población de *P. nevadensis* el análisis de correlación mostró valores negativos en la RFA con el diámetro celular ($\rho = -0.63; p < 0.01$; Tabla 5). Entre caracteres morfométricos los valores positivos fueron para el largo del talo con el grosor de la lámina y número de células de grosor ($\rho = 0.63 - 0.71; p < 0.05$), largo celular con el diámetro celular ($\rho = 0.93; p < 0.01$) y grosor con el número de células de grosor ($\rho = 0.89; p < 0.01$). Los valores negativos se presentaron con la longitud de talo y la rugosidad de la lámina ($\rho = -0.68; p < 0.05$; Tabla 6; Láminas 3 – 5).

Tabla 2. Localidades y características generales de los sitios de muestreo de poblaciones de *Prasiola mexicana*. Abreviaturas: R= roca. ---= Valores no registrados.

Sitios y fechas de colecta	T (°C)	Conductividad (μS cm ⁻¹)	Oxígeno disuelto (mg l ⁻¹)	pH	Substrato ¹ (%)	Profundidad (cm)	Velocidad de corriente ¹ (m s ⁻¹)	RFA ¹ (μmol fotones m ⁻² s ⁻¹)
Sitio 1								
4° Dinamo 14.I.03 Hora:11.10 am	7.2	60	10.0	7.2	R – 100	0 – 6	0 – 1.02 0.3 ± 0.1	45.0 – 387.0 227.3 ± 112.6
Sitio 2								
2° Dinamo 5.II.03 Hora:10.10 am	7.6	66	12.0	7.8	R – 100	0 – 11	0 – 0.69 0.1 ± 0.08	130.0 – 1631.0 913.8 ± 498.4
Sitio 3								
Agua de Leones 1.III.03 Hora:11.15 am	10.0	45	4.0	6.0	R – 100	0 – 4	0 – 0.53 0.1 ± 0.06	293.6 – 1341.7 762.4 ± 446.2
Sitio 4								
Molinos 12.II.05 Hora: 12:35	14.0	60	---	7.8	R – 100	0 – 15	0 – 0.50 0.2 ± 0.05	59.7 – 1607.2 588.9 ± 452.8
Sitio 5								
Malila 4.XII. 04 Hora: 1:13	16.0	262	8.8	7.5	R – 100	0 – 7	0 – 0.30 0.1 ± 0.1	17.9 – 35.5 27.6 ± 5.4

¹ Los valores representan mínimo, máximo media ± error estándar calculado a partir de los cuadrantes de presencia.

Tabla 3. Características microambientales de los cuadrantes de ausencia para los cinco sitio estudiados para las poblaciones de *Prasiola*.

Sitios	Substrato %	Profundidad cm	Velocidad de corriente ¹ (m s ⁻¹)	RFA ¹ (μmol fotones m ⁻² s ⁻¹)
Sitio 1	R 50	1.5 – 20.0	0.02 – 1.7	77.0 – 311.0
4° Dinamo	CR 40	5.7 ± 1.7	0.7 ± 0.1	183.7 ± 20.5
14.I.03	G 10			
Hora:11.10 am				
Sitio 2	G 50	8.0 – 23.5	0.25 – 1.1	195.6 – 1550.0
2° Dinamo	CR 40	15.6 ± 4.7	0.4 ± 0.08	1129.2 ± 141.7
5.II.03	R 10			
Hora:10.10 am				
Sitio 3	CR 40	4.0 – 14.0	0.04 – 0.6	52.0 – 1345.3
Agua de Leones	R 30	8.2 ± 1.05	0.2 ± 0.06	604.8 ± 142.9
1.III.03	G 20			
Hora:11.15 am	A 10			
Sitio 4	CR 60	5.0 – 17.0	0.05 – 0.74	77.9 – 1176.6
Molinos	R 30	10.0 ± 1.7	0.2 ± 0.07	465.7 ± 103.6
12.II.05	A 10			
Hora: 12:35				
Sitio 5	CR 60	3.0 – 31.0	0.13 – 1.22	14.0 – 28.0
Malila	R 40	19.2 ± 3.3	0.4 ± 0.11	21.8 ± 5.02
4.XII. 04				
Hora: 1:13				

¹ Los intervalos indican valor mínimo, máximo, media ± error estándar calculado a partir de los cuadrantes de ausencia.

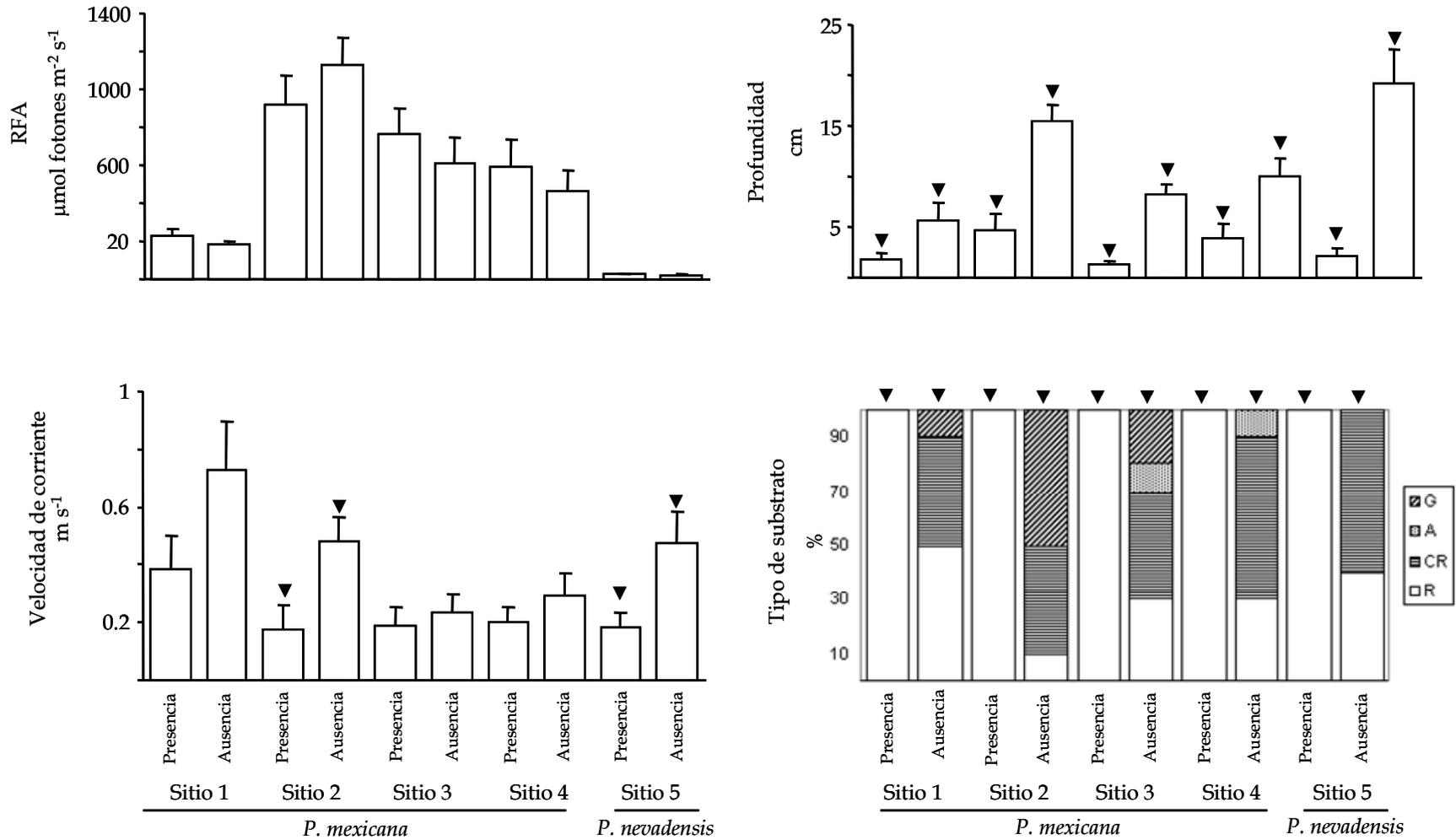


Fig. 5. Valores de RFA, profundidad, velocidad de corriente y sustrato predominante (G= grava; A= arena; CR= canto rodado y R= roca) ($n=10$; ± 1 error estándar) para las poblaciones de *Prasiola mexicana* y *P. nevadensis* dentro de los cuadrantes (presencia y control) en los cinco sitios estudiados. Las flechas señalan diferencias significativas entre los cuadrantes de presencia y ausencia de acuerdo a la prueba de Mann-Witney ($\alpha= 0.05$). Numeración de los sitios de acuerdo a la Tabla 2.

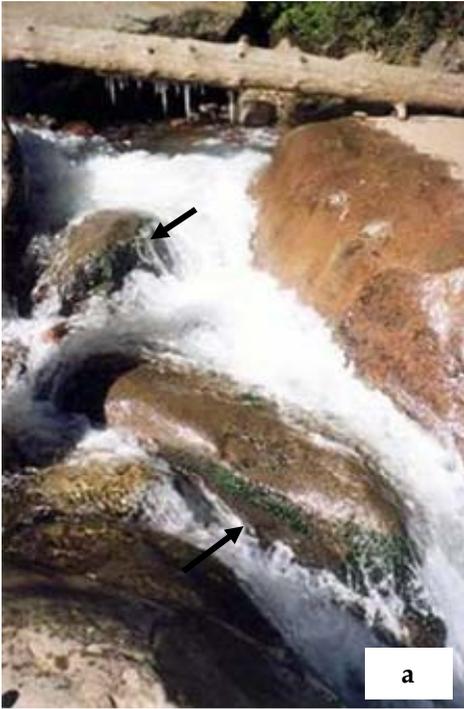


Fig. 6. Microambientes de las poblaciones de *P. mexicana*. **a).** Talos adheridos en sustrato rocoso. **b).** Zona de deslizamiento. **c).** Talos en condiciones emergentes.

Tabla 4. Valores de abundancia y caracteres morfométricos para las poblaciones de *Prasiola mexicana* y *P. nevadensis* en los cinco sitios estudiados. Los valores indican mínimo, máximo, media y error estándar.

	<i>Prasiola mexicana</i>				<i>P. nevadensis</i>
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5
Cobertura %	1 - 90 20.5 ± 26.8	2 - 50 17.4 ± 18.0	1 - 45 9.8 ± 15.2	5 - 80 31.5 ± 24.9	20 - 90 47.7 ± 22.0
Largo lámina (cm)	0.7 - 5.0 1.8 ± 0.9	0.4 - 5.9 1.9 ± 1.19	1.7 - 8.4 3.2 ± 1.9	0.9 - 6.9 2.6 ± 1.2	0.6 - 3.3 1.5 ± 0.6
Ancho lámina (cm)	0.5 - 3.0 1.8 ± 0.7	0.5 - 6.9 2.1 ± 1.1	1.5 - 9.0 4.3 ± 2.7	0.6 - 6 2.7 ± 1.3	0.4 - 3.8 1.3 ± 0.6
Largo celular (µm)	5.4 - 24.8 9.3 ± 2.7	4.8 - 15.3 8.8 ± 1.9	4.8 - 14.7 8.5 ± 2.2	4.0 - 17.5 9.1 ± 2.1	4.8 - 16.8 10.4 ± 2.4
Ancho celular (µm)	3.6 - 18.0 7.2 ± 2.0	3.6 - 11.5 6.6 ± 1.5	3.6 - 8.5 5.9 ± 1.2	4.0 - 12.0 6.6 ± 1.5	4.8 - 14.4 7.5 ± 1.8
Rugosidad (ondulaciones cm ⁻¹)	1.0 - 58.0 14.4 ± 12.2	2.7 - 24.2 9.7 ± 5.9	1.3 - 10.0 5.1 ± 2.6	2.0 - 30.0 12.5 ± 5.3	0 - 21.0 5.9 ± 4.2
Grosor (µm)	19.2 - 96.0 46.5 ± 22.1	14.4 - 45.6 30.2 ± 7.3	16.8 - 28.8 22.6 ± 3.3	15 - 57.8 33.5 ± 11.0	19.2 - 67.8 31.1 ± 10.4
Número de capas celulares	1 - 14 3.9 ± 3.0	1 - 8 2.2 ± 1.5	1 - 3 1.5 ± 0.6	1 - 6 2.8 ± 1.4	1 - 6 1.5 ± 0.9

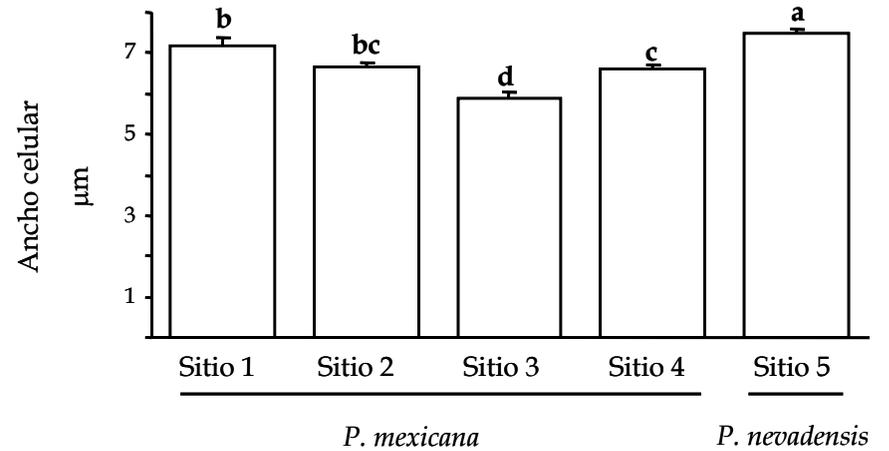
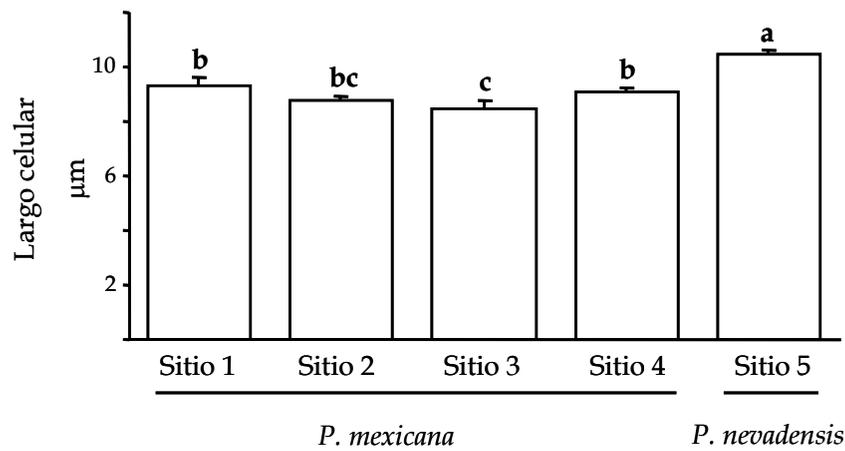
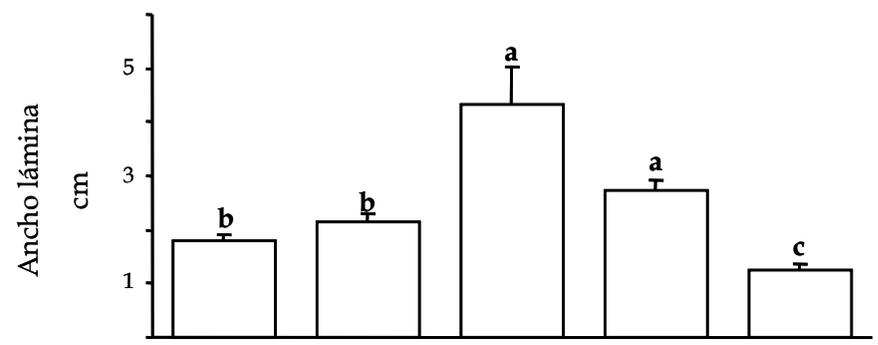
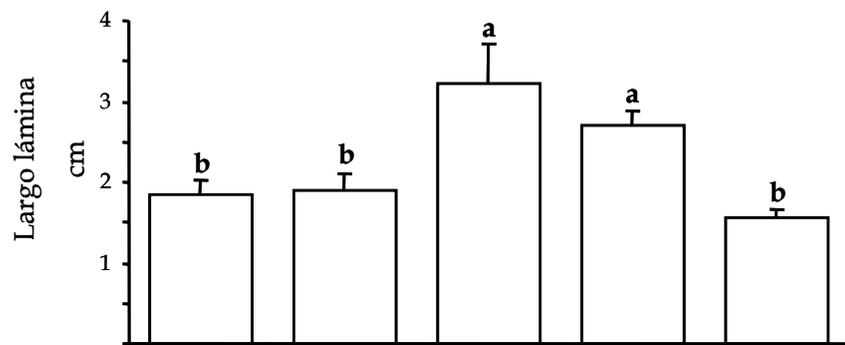


Fig. 7.- Valores morfométricos de longitud y diámetro del talo y largo y ancho celular (promedio y error estándar) para los cinco sitios estudiados para las poblaciones de *Prasiola*.

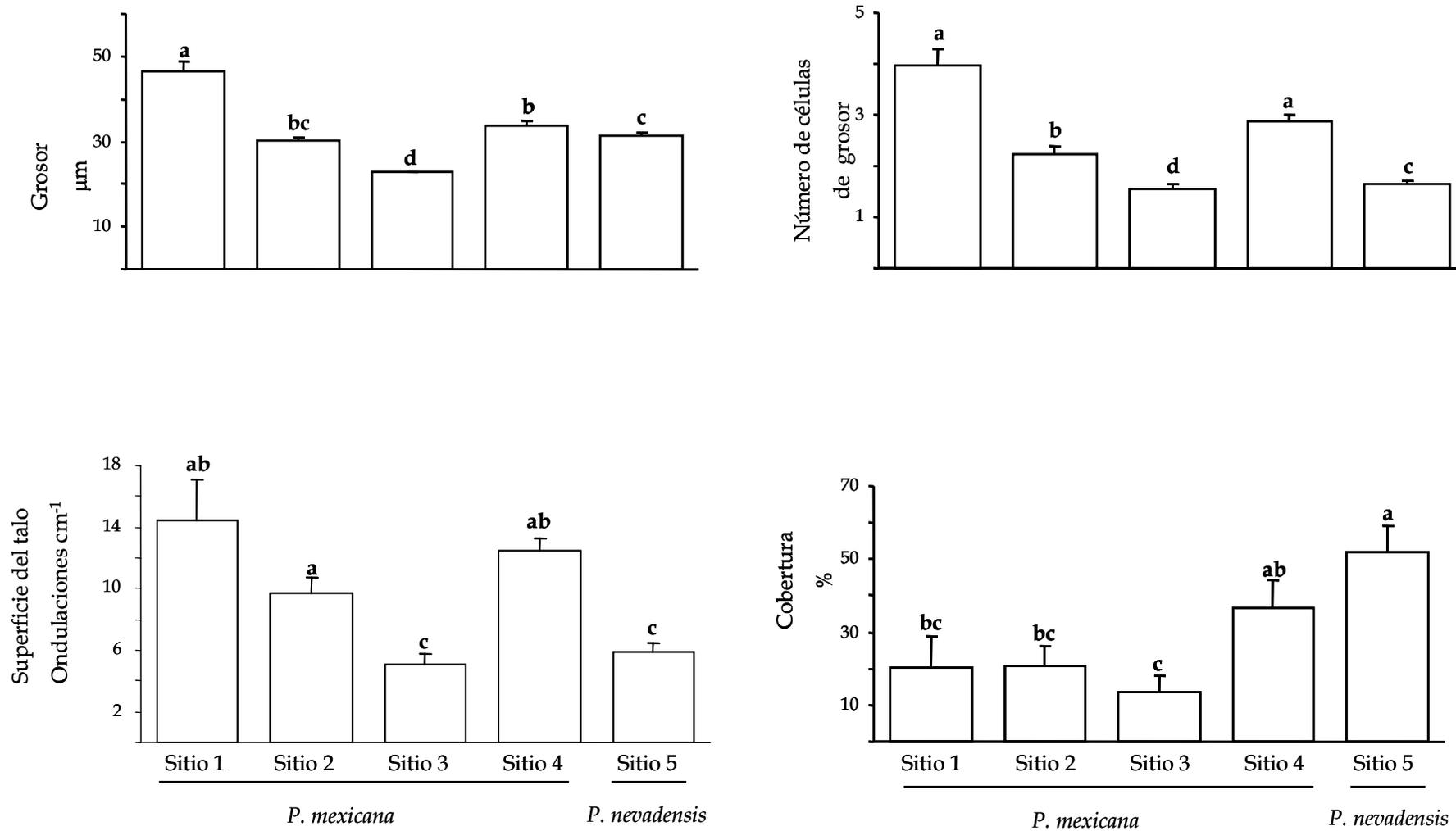


Fig. 8. Valores de grosor, numero de células de grosor, superficie de la lámina y abundancia en las poblaciones de *Prasiola* en los cuadrantes de presencia (promedio y error estándar).

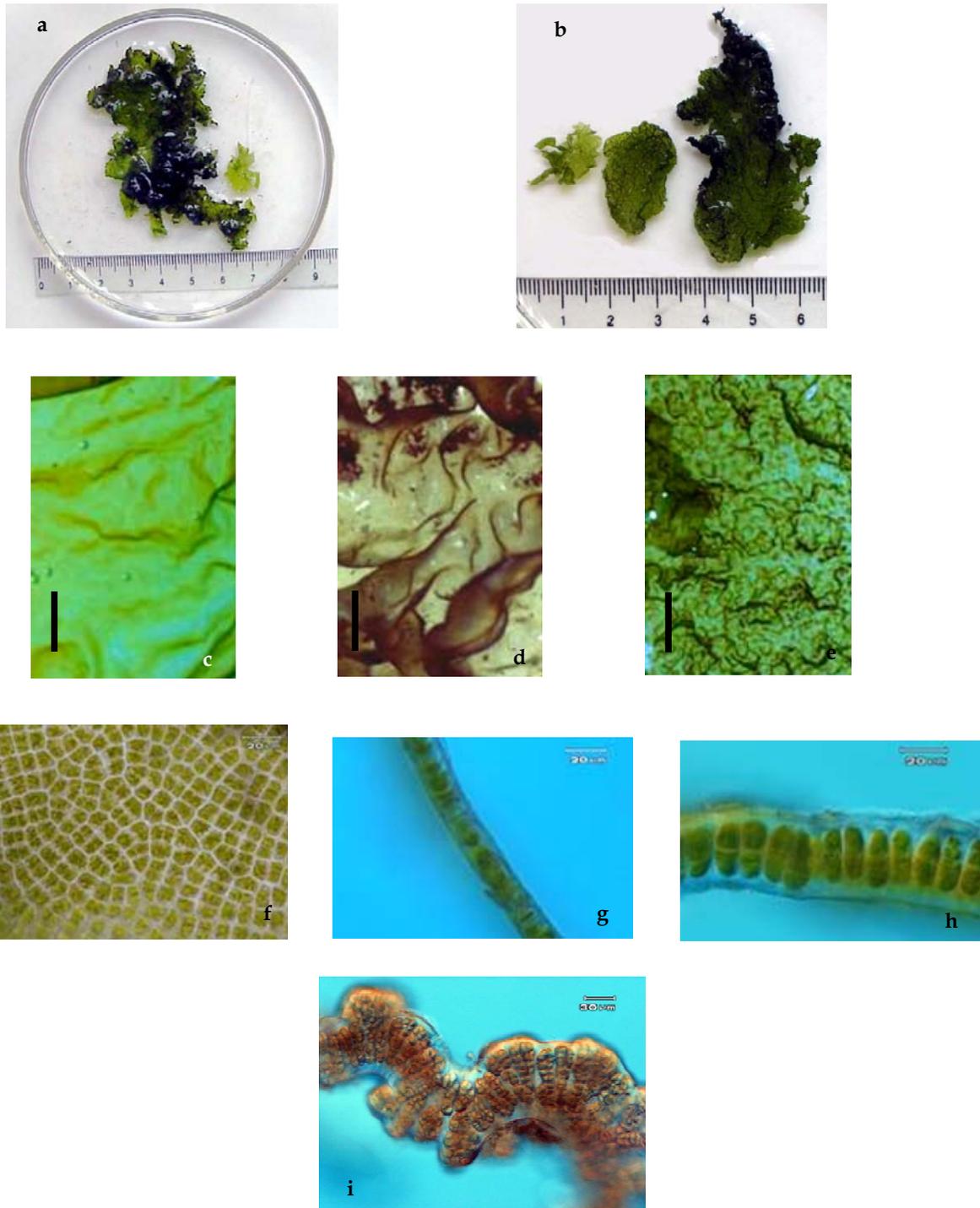


Fig. 9. Características morfológicas de las poblaciones de *P. mexicana* (sitios 1 al 4). **a)** Hábito del talo. **c – e)** Variación de la superficie de la lámina (lisa a rugosa). **f).** Vista superficial de la lámina. **g – i.)** Cortes transversales de la lámina (monostromática a pluristromático). Escala de la barra: 10 mm para las fotografías c – e.

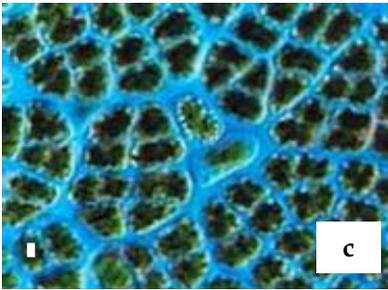


Fig. 10. Características morfológicas de *Prasiola nevadensis* del sitio 5. **a)** Hábito de *P. nevadensis*. **b)** Variación en el diámetro del talo. **c)** Vista superficial de la lámina. **d)** Vista transversal del talo pluristratómico. Escala de la barra 10 mm para la fotografía a y b; 10 μm para la fotografía c.

Tabla 5. Valores significativos del análisis de correlación de Spearman entre las variables ambientales y los caracteres morfométricos de las poblaciones de *Prasiola*. El número de los sitios corresponde a los de la tabla 1. * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; --- = valores no significativos. Las gráficas de correlación se presentan en el anexo II.

Variables	Caracteres	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5
Velocidad de corriente	Grosor	0.76**	---	---	---	---
"	Cobertura porcentual	---	---	0.71*	---	---
"	Largo lámina	---	---	---	0.66*	---
"	Número de capas celulares	---	0.63*	---	---	---
RFA	Cobertura porcentual	---	---	-0.68*	0.65**	---
"	Largo lámina	---	---	-0.65*	---	---
"	Rugosidad	0.67*	---	0.67*	---	---
"	Diámetro celular	---	---	---	---	-0.63**
Profundidad	Largo lámina	-0.65*	---	---	---	---
"	Ancho lámina	-0.72*	---	---	---	---
"	Grosor	---	0.63*	-0.65*	---	---
"	Número de células de grosor	---	0.64*	---	---	---
	Rugosidad	---	---	-0.65*	0.85**	---

Tabla 6. Valores significativos del análisis de correlación Spearman entre caracteres morfométricos para las poblaciones de *Prasiola*. Los números de los sitios corresponden a la tabla 1. *= $p < 0.05$; **= $p < 0.01$; --- = valores no significativos. Las gráficas de correlación se presentan en el anexo II.

Caracteres	Caracteres	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5
Largo lámina	Ancho lámina	0.77**	0.69*	0.94**	0.78**	---
"	Largo lámina	---	0.65*	---	0.83**	---
"	Ancho celular	---	---	---	0.69*	---
"	Rugosidad	---	---	-0.69*	---	-0.68*
	Grosor	---	---	0.75*	---	---
Ancho lámina	Grosor	---	---	0.69*	---	0.71*
"	Rugosidad	---	---	-0.68*	---	---
"	Número de células de grosor	---	---	---	---	0.63*
Largo celular	Ancho celular	0.83**	0.68*	---	0.88**	0.93**
Grosor	Número de células de grosor	0.79**	0.87**	---	---	0.89**
"	Rugosidad	---	---	-0.63*	---	---
Número de células de grosor	Rugosidad	---	---	---	-0.75*	---

5.3 Especies asociadas

Sobre las láminas de *Prasiola mexicana* y *P. nevadensis* se observó una abundante comunidad epifítica y de macroinvertebrados (tabla 7). La comunidad algal fue la más usual y abundante en todos los sitios, las especies comunes asociadas a los talos fueron: *Heteroleiblenia* sp., *Hydrococcus cesatii* (Cyanprokaryota); *Cocconeis placentula* var. *lineata*, *Melosira varians*, *Synedra ulna* y *Cymbella mexicana*. La comunidad de macroinvertebrados habitual fueron larvas de *Parochlus* sp. los cuales utilizan las láminas como refugio envolviéndose en ellas para así completar su fase larvaria (Fig. 11). Sobre los talos se observaron refugios de sedimento de larvas de Chironomidae, sin embargo, no se logró identificar a nivel genérico. De manera esporádica se observó la presencia de otras larvas como *Cnephia* sp, *Chelifera* sp, y *Baetis* sp. El efecto de la herbivoría por parte de las larvas de insectos fue evidente en ciertas zonas de los talos. En algunos casos únicamente se encontraron afectadas partes mínimas mientras que otras veces gran parte del talo estuvo dañado.

Tabla 7. Especies epífiticas de *Prasiola mexicana* y *P. nevadensis*. El número de sitios corresponde a la tabla 1. ■= taxón observado; ---= taxón no observado

Taxa	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5
ALGAS					
CYANOPROCARYOTA					
<i>Heteroleiblemia</i> sp.	■	■	■	■	■
<i>Chamaesiphon confervicolus</i> A. Braun in Rabenhorst	■	■	---	---	---
<i>Chamaesiphon</i> sp.	---	---	---	■	---
<i>Hydrococcus cesatii</i> Rabenhorst	■	■		■	---
<i>Hydrococcus</i> sp.	---	---	---	---	■
<i>Borzia</i> sp.	---	---	---	---	■
<i>Calothrix</i> sp.	---	---	---	---	■
BACILLARIOPHYCEAE					
<i>Melosira varians</i> Agardh	■	■	■	■	---
<i>Synedra ulna</i> (Nitzsche) Ehrenberg	■	■	■	■	---
<i>Achmanthes lanceolata</i> (Brébisson) Grunow in Cleve et Grunow	■	■	■	---	---
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i> (Ehrenberg) Van Heurck	■	■	■	■	■
<i>Cymbella</i> sp.	----	---	■	---	---
<i>C. mexicana</i> (Ehrenberg) Cleve	■	■	---	---	---
<i>C. silesiaca</i> Bleisch in Rabenhorst	■	■	■	---	---
<i>Gomphonema truncatum</i> Ehrenberg	---	---	---	■	---
<i>Gomphonema</i> sp.	■	■	---	■	---
<i>Navicula gregaria</i> Donkin	---	---	■	---	---
<i>Navicula</i> sp.	■	■	---	■	---
<i>Fragilaria capucchina</i>	---	---	---	■	---
<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (C. Agardh) Lange-Bertalot	■	■	■	---	---
CHLOROPHYTA					
<i>Ulothrix</i> sp.	■	■	---	■	---
PROTOZOARIOS					
CILIATA					
<i>Vorticella</i>	---	■	---	■	---
MACROINVERTEBRADOS					
DIPTERA					
Chironomidae sp.	■	---	---	---	---
<i>Parochlus</i> sp.	■	■	■	■	■

Tabla 7. Continuación

Taxa	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5
MACROINVERTEBRADOS					
DIPTERA					
<i>Cnephia</i> sp.	---	▪	---	---	---
<i>Chelifera</i> sp.	---	---	▪	---	---
EPHEMENOPTERA					
<i>Baetis</i> sp.	▪	▪	---	---	---

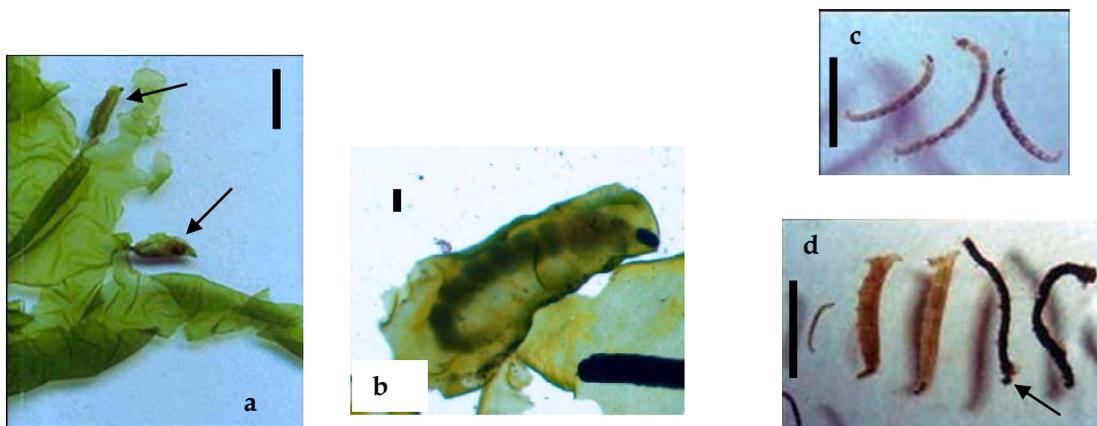


Fig. 11. Comunidad epifita de los talos de *P. mexicana* y *P. nevadensis*. **a)** Láminas con refugios de *Parochlus*. **b)** Detalle del refugio de *Parochlus*. **c)** Larvas de *Parochlus*. **d)** Larvas de *Parochlus* y Chironomidae (flecha). Escala de la barra 10 mm para las láminas a, b y d; 5 mm para la lámina d.

5.4 Influencia de la temperatura en la reproducción en condiciones de laboratorio

Todos los tratamientos de temperatura produjeron estructuras de reproducción asexual y ninguna sexual. Se registró diferencia en el tiempo de formación, germinación y desarrollo de talos juveniles. El seguimiento por semana se resume en la tabla 8 y el número de cromosomas observado por tratamiento se presenta en la tabla 9. El diagrama del ciclo para los tres tratamientos se muestra en la figura 16.

a) Tratamiento 6°C

A finales de la primera semana del tratamiento el talo comenzó a incrementar en grosor (divisiones periclinales) en ciertas zonas, sin embargo, las divisiones cesaron y las láminas permanecieron distromáticas (dos células de grosor) durante las siguientes 8 semanas (Fig. 12a). La formación y germinación de las aplanosporas se observó durante el transcurso de la semana 10. La germinación se inició con divisiones mitóticas en diferentes planos dando lugar a germinados redondos adheridos al talo parental (*in situ*; Fig. 12b). La liberación de los germinados al medio se observó durante este mismo periodo y comenzó con la desintegración de la pared interna del talo (Fig. 12c). El número de cromosomas contados en los germinados de las aplanosporas fue de $2n = ca 5$ (Fig. 12d; Tabla 8 y 9). No se observó el desarrollo de láminas adheridas *in situ*.

b) Tratamiento 10°C

El inicio de las divisiones periclinales, la formación de aplanosporas y etapas tempranas de la germinación (Fig. 12e) se observaron a partir de la semana 5. La actividad esporogénica fue escasa. La germinación comenzó con divisiones mitóticas en diferentes planos dando como resultado una estructura de apariencia voluminosa (Fig. 12f) correspondiente al tipo variegado; no se observó germinación *ex situ* de las aplanosporas. El número de cromosomas observados en los germinados adheridos a la superficie del talo fue de $2n=6$ (Tabla 8 y 9; Fig. 12g).

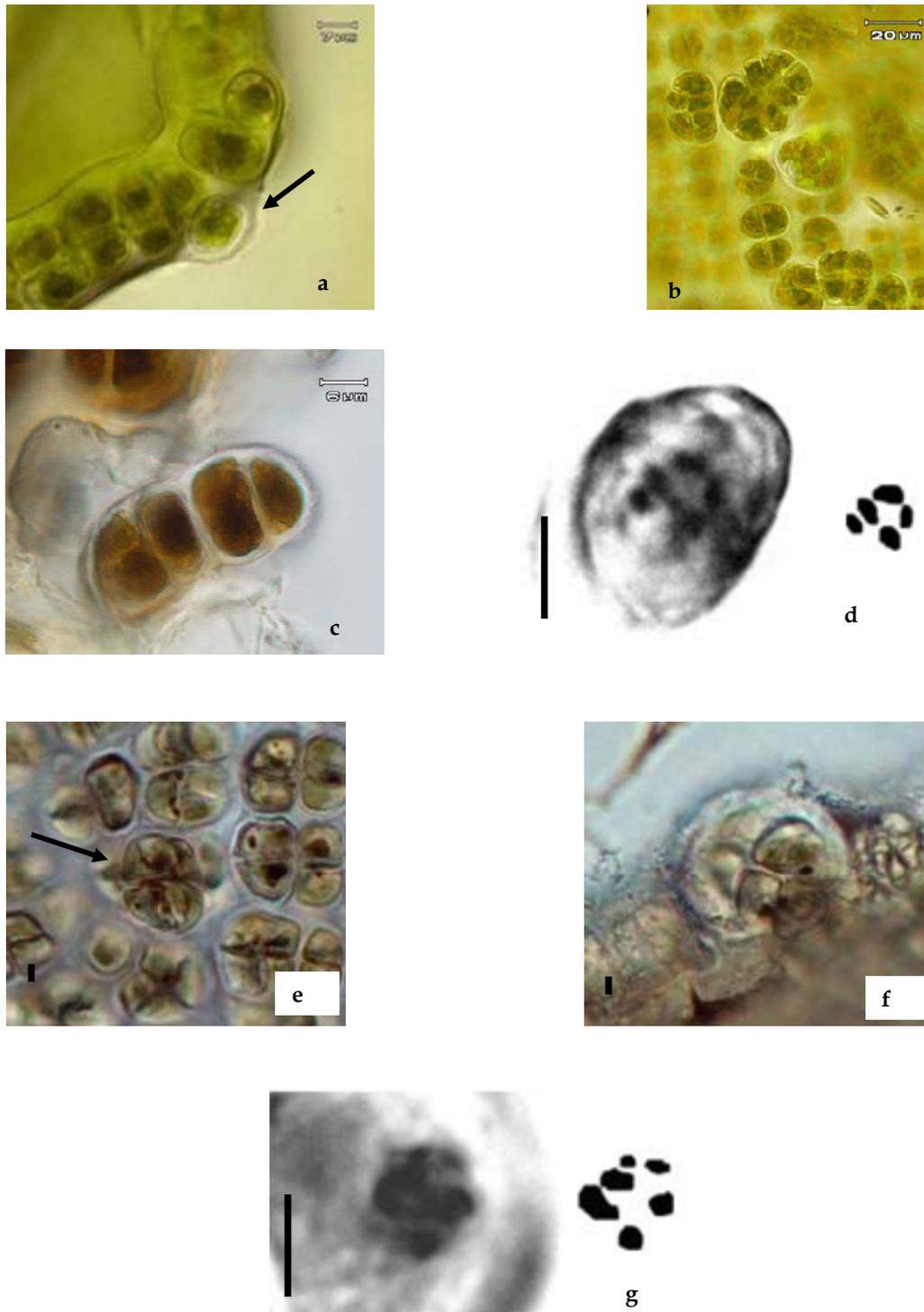


Fig. 12. Formación y germinación de aplanosporas en talos de *Prasiola mexicana* en los tratamientos 6°C y 10°C. Tratamiento 6°C: **a)** Vista transversal de la lámina distromática que muestra una aplanospora. **b)** Germinados redondos. **c)** Liberación de un germinado uniseriado. **d)** Aplanospora con número cromosómico $2n \approx ca.5$. Tratamiento 10°C: **e)** Etapa temprana de germinación. **f)** Liberación de germinado. **g)** Número cromosómico de una aplanospora $2n = 6$. Escala de la barra 5 mm para las fotografías d y g; 30 mm para las figuras e y f.

c) Tratamiento 17° C

A finales de la semana 3 los talos comenzaron a incrementar de grosor de manera simultanea iniciándose con la formación de las aplanosporas (Fig. 13a). En estas condiciones de temperatura se observaron dos tipos de germinación: *in situ* (adherido al talo parental) y *ex situ* (liberación de aplanosporas). En la semana 4 la germinación *in situ* comienza con divisiones mitóticas formando pequeños filamentos uniseriados (Fig. 13b). A finales de la semana 5 el plano de división cambió y se formaron germinados redondos (Fig. 13c). A mediados de la semana 6 el germinado adquirió aspecto de una pequeña lámina en forma de abanico (Fig. 13e). Sin embargo, la germinación permaneció estática y no se observó el incremento en talla del talo hasta la semana 29 (Fig. 13d). El número de cromosomas de las aplanosporas fue de $2n=6$ (Fig. 13d; Tabla 8 y 9). No se observó el desprendimiento de los talos juveniles ni germinados.

La germinación *ex situ* se observó a partir de la semana 8. La cual comenzó con la liberación individual de aplanosporas (Fig. 14a), la germinación comenzó en este mismo periodo y se inició con divisiones mitóticas para formar un filamento uniseriado (Fig. 14b y c), durante este mismo periodo se observaron filamentos con tendencia pluristromática (Fig. 14 d y e) y finalmente a las 28 semanas se desarrollo un talo con apariencia circular (Fig. 14 f).

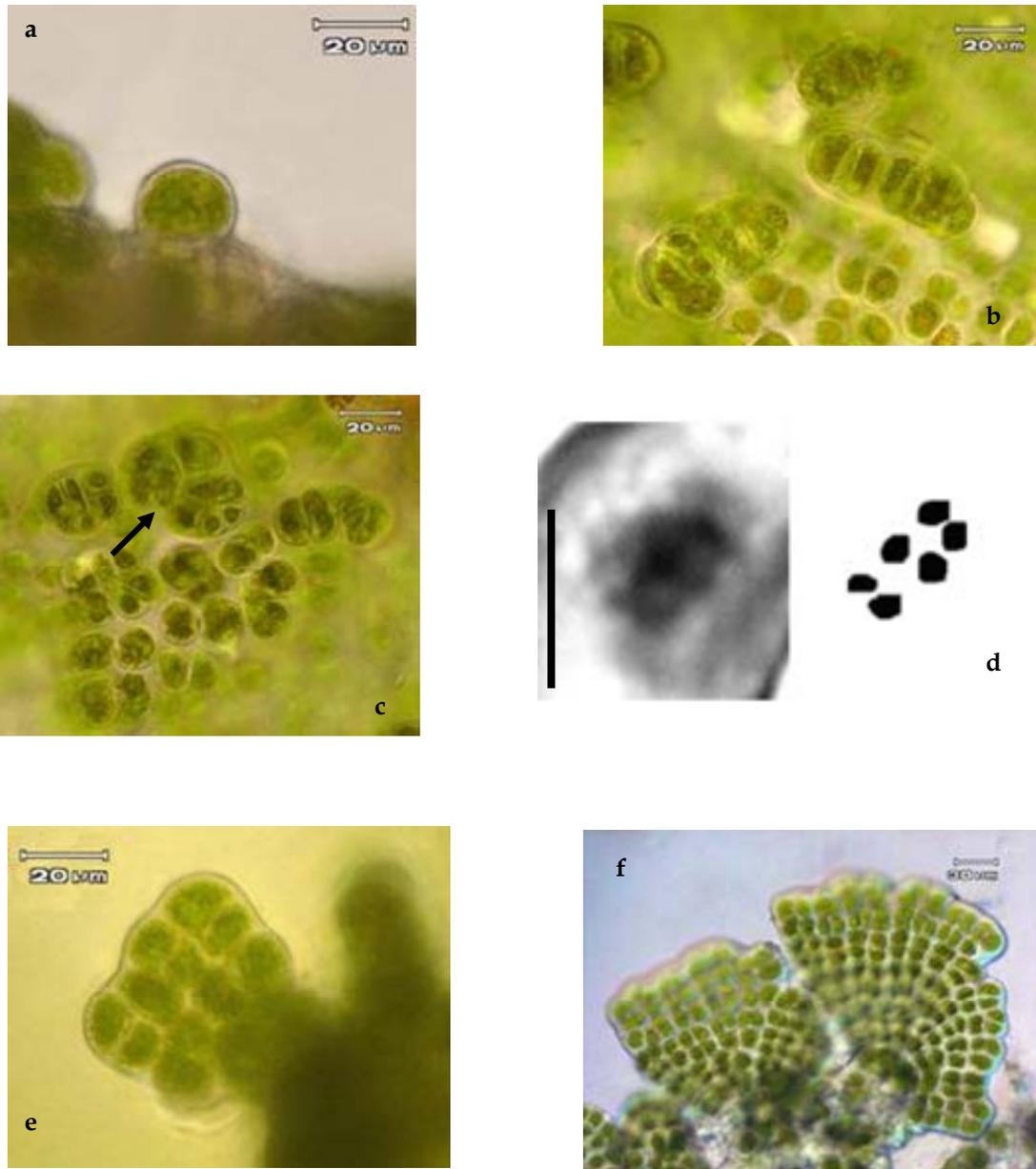


Fig.13. Reproducción asexual *in situ* en talos de *P. mexicana* obtenidos a 17°C. **a)** Formación de aplanospora. **b)** Germinación en filamentos uniseriados. **c)** Germinados redondos. **d)** Aplanospora con número cromosómico $2n= 6$. **e)** y **f)** Etapas juveniles del talo. Escala de la barra 5 μ m para la fotografía d.

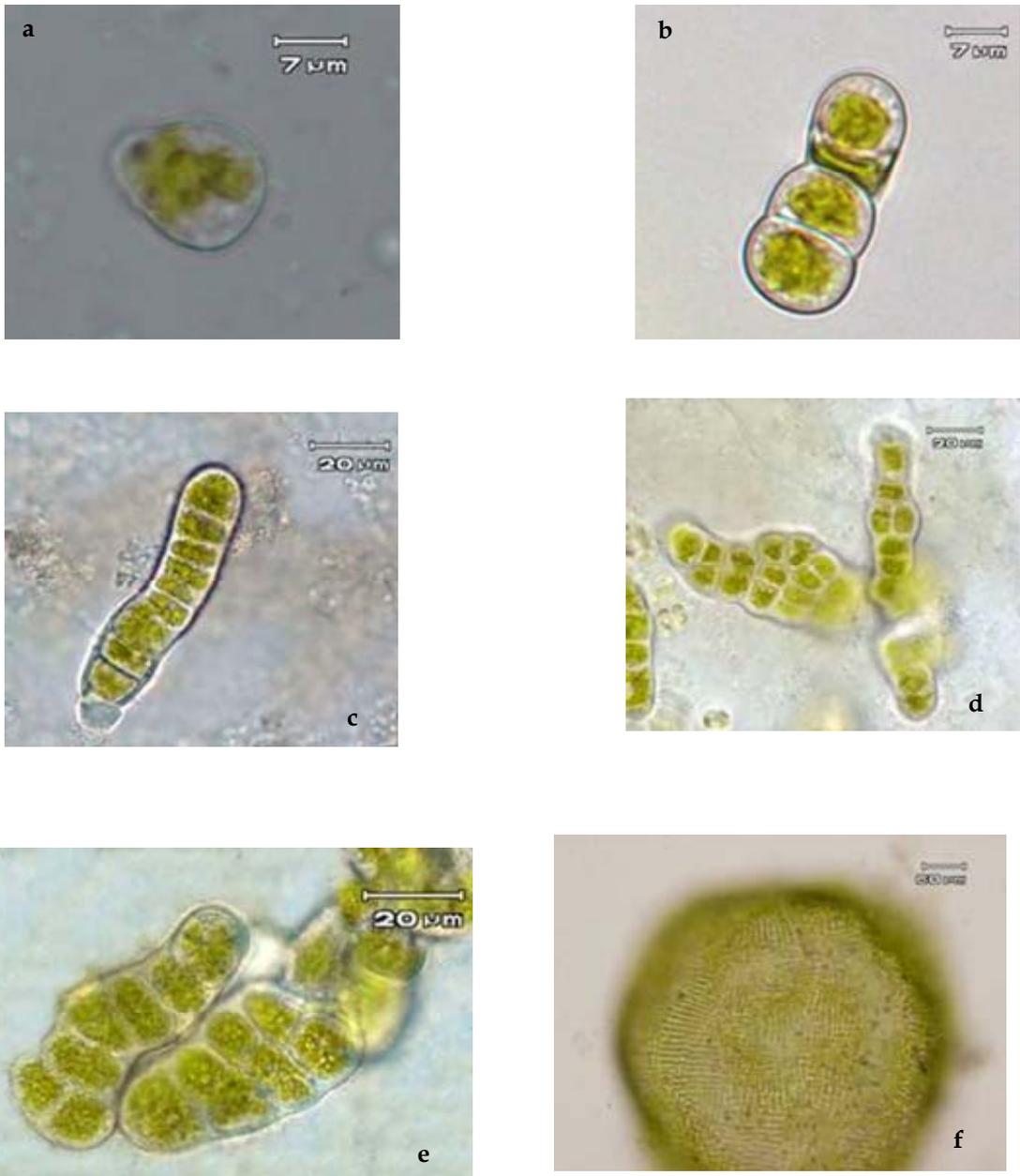


Fig. 14. Germinación *ex situ* en talos de *Prasiola mexicana* a 17°C. **a)** Liberación de aplanospora. **b y c)** Germinación en filamento uniseriado. **d y e)** Cambio del plano de división y forma filamento multiseriado. **f).** Talo juvenil de forma circular.

Tabla 8. Descripción por semanas en las tres condiciones de temperatura en poblaciones de *P. mexicana*. ▲= 6°C; ◇= 10°C; •=17°C; S= semana.

Proceso Semana	S1	S3	S4	S5	S6	S8	S10	S28	S29
Incremento de grosor	▲	▲•	▲•	◇					
Producción de aplanosporas		•	•	◇•					
Liberación individual de Aplanosporas						•			
Germinación <i>in situ</i>			•	◇•			▲		
Germinación <i>ex situ</i>						•			
Liberación de germinados							▲		
Formación de talo <i>in situ</i>					•	•	•	•	•
Formación del talo <i>ex situ</i>								•	

d) Condiciones de campo

En talos colectados del sitio 1 se observó la presencia de aplanosporas y germinados adheridos en la superficie de la lámina (*in situ*; Fig. 15a). Los germinados fueron de apariencia redondeada y a partir de ellos se desarrollaron pequeños talos juveniles (Fig 15a). La formación y germinación de las aplanosporas se restringió a la zona apical del talo. Ninguna de estas estructuras se liberó al medio.

En muestras del mismo sitio se localizó la presencia de un gametangio plurilocular situado en el margen del talo (Fig. 15b). El cual contenía numerosas células con apariencia de gametos. Debido a la escasa frecuencia de estas estructuras no se pudo identificar la sexualidad. Ni se realizaron observaciones cariológicas en estas estructuras. Dado que el

patrón de formación de gametos y la formación de las estructuras concuerda con la descripción de Friedmann (1959; 1960) se puede suponer que tales estructuras eran de origen sexual.

Las observaciones cariológicas en las células vegetativas de la parte basal del talo fue de $2n=6$ (Fig. 15 c – e; Tabla 8).

Tabla 9. Número de cromosomas de las poblaciones de *P. mexicana*. ---= no observado

Tipo celular	T°C experimental			T°C campo
	6°C	10°C	17°C	7°C
Células vegetativas	---	---	---	$2n=6$
Aplanosporas	$2n=ca. 5$	$2n=6$	$2n= ca. 6$	---
Germinados	---	---	$2n=ca. 5$	---

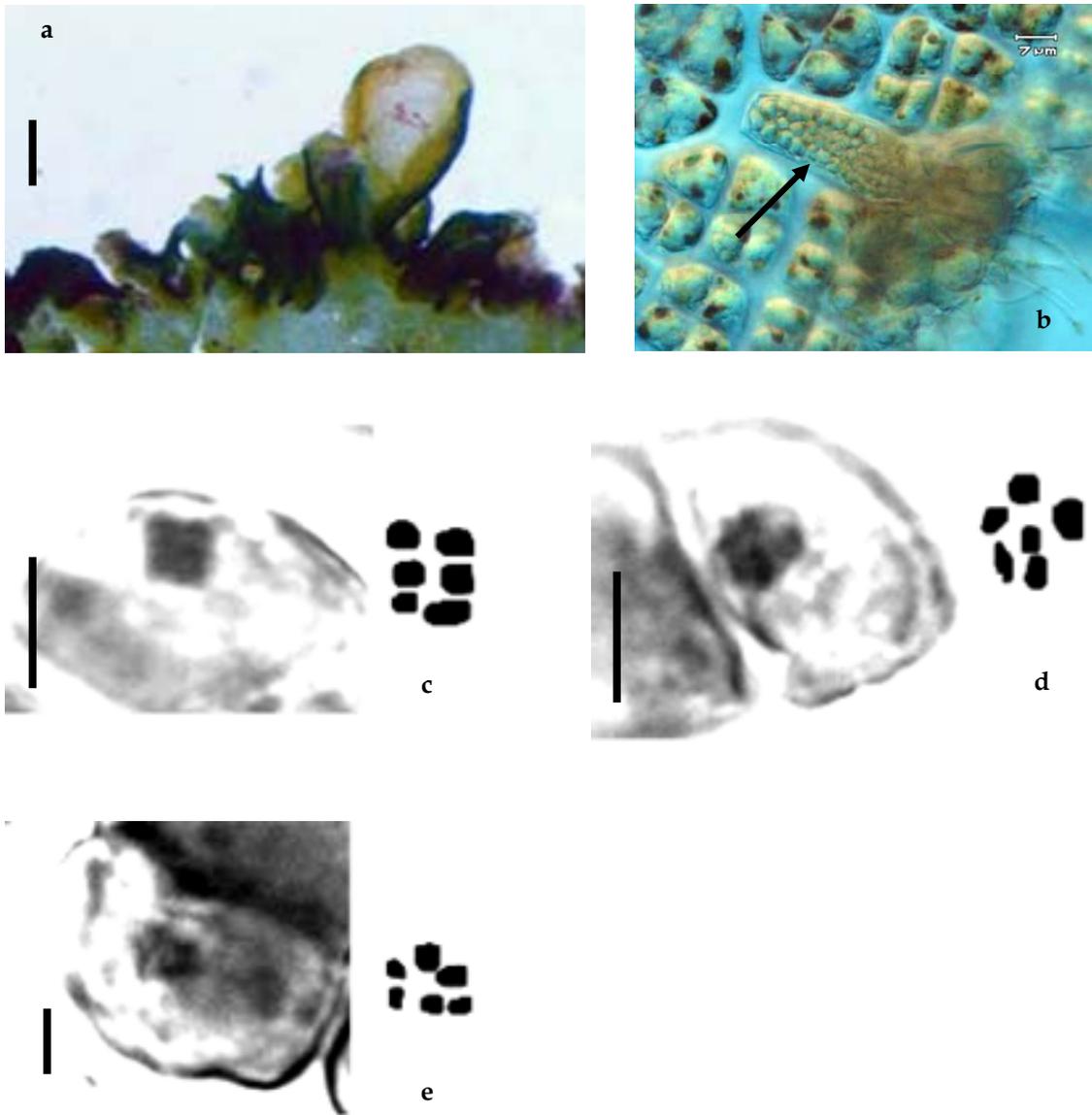


Fig. 15. Observaciones en campo en talos de *Prasiola mexicana*. **a)** Desarrollo de láminas juveniles *in situ* **b)** Posible gametangio plurilocular. **Fig. c - e.** Observaciones cariológicas de las células vegetativas de la parte basal del talo, $2n=6$. Escala de la barra 2 mm para la fotografía a; 5 μm para las figuras c - e.

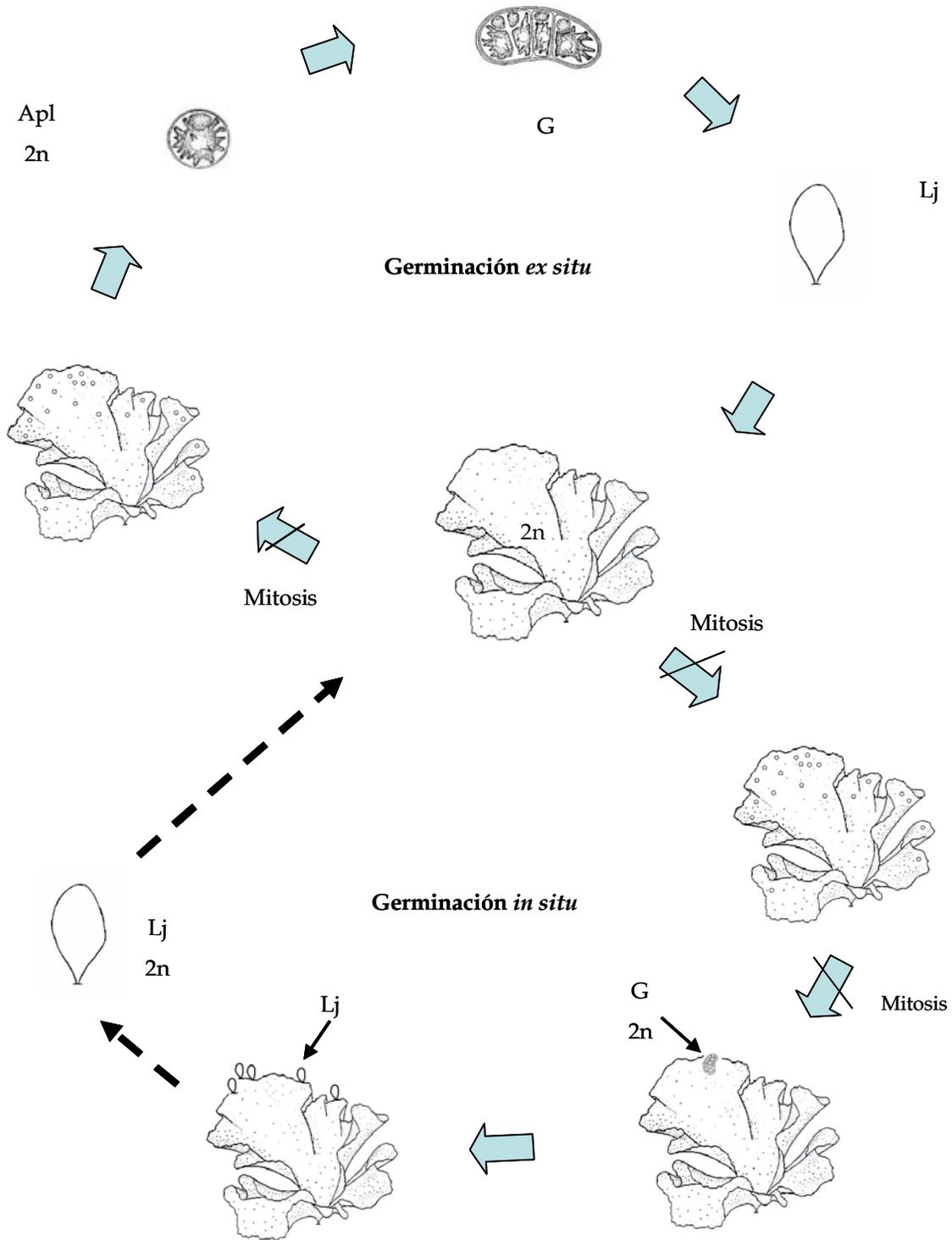


Fig. 16. Diagrama que resume el ciclo asexual observado en condiciones de cultivo en *Prasiola*. Apl= aplanosporas; G= germinado, Lj= láminas juveniles; y tipo celular donde se observó el número cromosómico.▶ = No observado en condiciones de laboratorio.

6. DISCUSIÓN

Las poblaciones de *Prasiola mexicana* se presentaron bajo un amplio rango de condiciones microambientales sugiriendo que hay una gran tolerancia en la variación de la velocidad de corriente y RFA. Los valores de velocidad de corriente registrados en este estudio están dentro del rango reportado para *P. fluviatilis* y *Prasiola* sp. ($0.05 - 2 \text{ m s}^{-1}$; Hamilton & Edlund, 1994; McClintic *et al.*, 2003). Las correlaciones positivas entre el flujo de agua y el grosor de la lámina, número de células de grosor, cobertura porcentual y longitud de la lámina, sugieren una preferencia para ocupar microambientes con flujo constante de agua ($0.05 - 1.02 \text{ m s}^{-1}$). Zimmerman, (1961 en: Stevenson, 1996b) observó que los crecimientos de *Cladophora* sp. se ven favorecidos por el incremento de la velocidad de corriente, según Stevenson (1996b) el flujo de agua estimula el metabolismo (fotosíntesis y respiración), la adquisición de nutrientes y la reproducción celular. Este mismo efecto podría estar sucediendo en los crecimientos de *P. mexicana*. Aunque estas poblaciones toleran condiciones por arriba del nivel del agua (emergentes). Por el contrario, otras especies como *P. crispa* (Lighth) Meneghini y *P. calophylla* (Carmichael) Meneghini parecen desarrollarse con mayor abundancia en rocas o en la base de paredes urbanas (Rindi & Guiry, 2004). La condición emergente registrada en nuestras poblaciones y la exposición directa a la radiación es común entre varias especies del género y sugiere una serie de adaptaciones para evitar la desecación de los talos entre las que se incluyen: i) la presencia de láminas sobrepuestas que permiten la retención de humedad, además de brindar protección a los individuos enterrados, tal como sucede en poblaciones de *P. crispa* ssp. *antartica* (Kützing) Knebel (Lud *et al.*, 2001); ii) la producción de aminoácidos semejantes a la microsporina (MAAs) que absorben la luz ultravioleta en *P. crispa* ssp. *antartica*

(Kützing) Knebel y *P. stipitata* (Lud *et al.*, 2001; Gröniger & Häder, 2002; Rozema *et al.*, 2002) y iii) la capacidad de utilizar el bicarbonato como fuente de carbono para fotosintetizar en *P. stipitata* y *P. meridionalis* en condiciones emergentes (Raven & Johnston, 1991; Anderson & Foster, 1999). La preferencia por un sustrato grande y estable (roca) es común a otras especies de *Prasiola* de ambientes lóticos, tales como: *P. japonica* Yatabe, *P. formosana* Okada, *P. sinica* Jao (Starmach, 1972), *P. fluviatilis* (Hamilton & Edlund, 1994; McClintic *et al.*, 2003) y *Prasiola* sp. (Dine & Hara, 2002). Cole & Akintobi (1962) observaron que las células basales en talos de *P. meridionalis* secretan una sustancia mucilaginosa que les permite la rápida adhesión al sustrato. Por lo que la selección del tipo de sustrato tiene una aparente relación con el establecimiento y desarrollo del rizoide. Estos resultados sugieren a *Prasiola mexicana* como una especie tolerante a un amplio rango de condiciones microambientales similar a otras poblaciones de macroalgas tales como: *Stigeoclonium helveticum* (Chlorophyceae) la cual crece en condiciones de amplia velocidad de corriente (0.47 – 0.97 m s⁻¹); *Chaetophora elegans* que se desarrolla a en condiciones variables de profundidad (6.5–13.5; Branco & Necchi, 1998) y *Batrachospermum delicatulum* (Rhodophyceae) la cual crece en un amplio rango de profundidad (5.5–20.2 cm) y velocidad de corriente (0.21 – 0.97 m s⁻¹; Necchi, 1997). La tolerancia a un amplio espectro de condiciones microambientales, la cobertura porcentual y la similitud de condiciones ambientales pueden explicar la amplia distribución espacial de *P. mexicana* en ríos tropicales de montaña en la región central de México (Ramírez *et al.*, 2001; Ramírez & Cantoral, 2003; Ramírez & Carmona, 2005).

Prasiola nevadensis al igual que *P. mexicana* crece sobre un sustrato rocoso y a bajas profundidades (0 – 7 cm). Sin embargo, *P. nevadensis* crece en un estrecho rango de

velocidad de corriente ($0 - 0.30 \text{ m s}^{-1}$), baja RFA ($17.9 - 35.5 \text{ } \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y aguas de mayor conductividad ($262 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$) en comparación con las poblaciones de *P. mexicana*. No obstante, la diferencia entre el número de sitios estudiados de *P. mexicana* y *P. nevadensis*, no nos permite caracterizar las condiciones microambientales de la segunda y de acuerdo con los resultados obtenidos sugerimos que *P. nevadensis* crece en un rango estrecho de condiciones ambientales. La correlación negativa en la RFA con el diámetro celular y el estrecho intervalo en la RFA parece indicar una limitada tolerancia a la elevada insolación, tal y como ocurre para poblaciones de *P. fluviatilis* (Hamilton & Edlund, 1994; McClintic *et al.*, 2003) y otras poblaciones de Chlorophyceae tales como: *Chara braunii* Glemin, *Ch. guairensis* R. Bicudo, *Nitella subglomerata* A. Braun y *Nitella* sp. (Vieira & Necchi, 2003). Las escasas correlaciones encontradas entre caracteres morfométricos y variables microambientales, los requerimientos particulares de baja RFA poca velocidad de corriente y conductividad nos puede explicar su limitada distribución en ríos de la región central de México (Montejano *et al.*, 2004; Ramírez & Carmona, 2005).

Ramírez & Carmona (2005) y Bojorge & Cantoral — Uriza (2006) reconocen que gran parte de la variación morfométrica observada en poblaciones de *Prasiola* se debe a la influencia del microambiente. No obstante, en el presente trabajo, los análisis de correlación entre caracteres y variables ambientales fueron escasos y cuando se presentaron fueron significativos para un solo sitio, lo cual nos sugiere que el fenotipo de cada población responde de manera diferente a su microambiente. Este mismo patrón también ha sido reportado para poblaciones de Characeae, en la que cada población presentó diferentes patrones de respuesta a las variables ambientales (Vieira & Necchi, 2002). Además de la interacción con el ambiente, existen diversas fuentes de variabilidad y una de ellas es la

genética tal y como sucede en especies de Cladophorales y Rhodophyta, en donde los eventos de poliploidía afectan la morfología de sus especies (Hawkes, 1996; Meave, 1997).

La presente información sobre la distribución y requerimientos ambientales de *P. nevadensis* es consistente con su designación taxonómica, como una especie diferente a *P. mexicana*. Las diferencias observadas en el diámetro y longitud celular en las poblaciones de *P. mexicana* con respecto a las poblaciones de *P. nevadensis* confirman la importancia de estos caracteres morfométricos para la delimitación de ambas especies de *Prasiola*, tal y como lo mencionan Ramírez & Carmona (2005). No obstante, la información obtenida en este trabajo no es suficiente para completar el conocimiento taxonómico de las dos especies.

Collado (1989) define a una especie estructural como aquella que es capaz de sostener a otras especies pequeñas. La especie estructural se caracteriza por su rigidez, grosor y/o carnosidad necesaria para soportar a la comunidad epífita. De acuerdo con este criterio *Prasiola* puede ser considerada como una especie estructural que permite el establecimiento de comunidades epifíticas. Algunos ejemplos de especies estructurales se presentan en los siguientes trabajos: Sheat & Cole (1992) en el cual reconocen al menos 182 macroalgas en ríos de Norteamérica; Necchi *et al.* (1994) reconoce 25 macroalgas distribuidas en el suroeste de Brasil. El crecimiento de comunidades sobre los talos de *Prasiola* podría ayudar a la retención de humedad y de nutrimentos que provienen del sedimento acumulado o del mucílago secretado por la comunidad epífita (mucopolisacáridos y glicocálix), tal y como se reporta en Rindi *et al.* (1999) y Rindi & Guiry (2004).

En cuanto al efecto de la temperatura en la formación de estructuras de reproducción. No se observó la formación de gametos en los tres tratamientos empleados (6, 10 y 17 °C). No obstante, en poblaciones naturales se detectó la presencia de gametangios pluriloculares ubicadas en el margen de la lámina, esto parece indicar que la reproducción sexual es un evento esporádico y puede estar controlado por la interacción de diversos factores. Tal y como se ha reportado para *P. stipitata* y *P. meridionalis* (especies marinas) en que los periodos prolongados de oscuridad (16 – 18 hr), cambio del fotoperiodo (menos horas luz) y la disminución de la temperatura (3 – 5 °C) promueven la reproducción sexual (Drew & Friedmann, 1957; Friedmann, 1959 y 1960; Cole & Akintobi, 1962). En condiciones naturales la reproducción sexual tiene un comportamiento estacional ya que la presencia de talos gametofíticos está asociada al periodo de menor temperatura (otoño – invierno) mientras que la reproducción asexual es más abundante durante las estaciones cálidas de primavera-verano (Friedmann, 1959; Bravo, 1965; Rindi *et al.*, 1999). La baja frecuencia de reproducción sexual es común en otros órdenes de Chlorophyceae de ambientes lóticos, por ejemplo Zignematales (McClintic *et al.*, 2003; Ramírez & Cantoral, 2003) y Cladophorales (Meave, 1997) por lo que este evento parece estar relacionado con condiciones espaciales y temporales específicas.

En todos los tratamientos de temperatura se registró reproducción asexual. La mayor producción y germinación de aplanosporas se presentó a 17°C. La formación de aplanosporas se observó en la zona marginal y central de la lámina y correspondió al tipo *variegado* según Friedmann (1959 y 1960). Estas estructuras se arreglan en capas de cuatro a ocho células, lo que Setchell & Gardner (1920) y Knebel (1936) denominaron tétradas de

aplanosporas. Observaciones de Friedmann (1959) y Bravo (1965) consideran que las aplanosporas se forman a partir de una célula vegetativa la cual incrementa su tamaño hasta formar una célula redondeada. Sin embargo, Cole & Akintobi (1962) y Rindi *et al.* (2004) describen la formación aplanosporangios sobre el talo parental, las cuales pueden contener de cuatro a ocho aplanosporas. De acuerdo con lo observado en la presente investigación, las aplanosporas surgen de manera individual, cuando estas estructuras comienzan a germinar adquieren una similitud a los aplanosporangios reportados por Cole & Akintobi (1962) y Rindi *et al.* (2004), no obstante, corresponde únicamente con el inicio de la germinación y la formación del talo juvenil sobre las láminas parentales.

La posibilidad de propagarse con células vegetativas de distinta forma y tamaño puede ser considerada como una estrategia reproductiva que permite la germinación *in situ* que puede desarrollar talos juveniles a corta distancia y liberación de aplanosporas a mayor distancia.

Se han descrito otros dos mecanismos de reproducción asexual en *Prasiola*; la fragmentación del talo y la formación de acinetos como estructuras de resistencia (Knebel, 1936; Fritsch, 1961). De acuerdo con la descripción de Fritsch (1961) los acinetos son células de pared gruesa y se distinguen de las células vegetativas por su gran tamaño y su forma redondeada, en el interior se forma un número variado de aplanosporas y cada una presenta una pared propia que la distingue de las demás. En las poblaciones mexicanas no se registró este mecanismo de reproducción.

La elevada frecuencia de eventos asexuales hace sugerir que la reproducción vegetativa mantiene y permite la persistencia de las poblaciones de *Prasiola mexicana* a lo largo del año. Para poblaciones de Rhodophyta se han reportado diferencias fisiológicas y ecológicas en el gametofito y esporofito donde este último se mantiene y se multiplica durante todo el año mientras que el gametofito lo hace únicamente en temporada de secas, la diferencia ambiental de las fases asegura la multiplicación y propagación de las poblaciones (Hawkes, 1990). En base a las estructuras observadas, el cariotipo y las descripciones en previos estudios (Friedmann, 1959 y 1950) parece indicar que el ciclo de vida de *P. mexicana* es monofásico diploide con meiosis gamética, al igual que lo que ocurre en poblaciones de especies marinas (*P. stipitata* y *P. meridionalis*; Friedman, 1959; Cole & Akintobi, 1962; Bravo, 1965; Fig. 55). Sin embargo, lo anterior no se puede asegurar del todo ya que es necesario encontrar gametos.

El número cromosómico observado en células vegetativas de la zona basal en talos de *P. mexicana* en la fase diploide fue de seis, semejante a lo reportado para *P. japonica* (Yabe, 1932 en Friedmann, 1960). Cole & Akintobi (1962) reporta en número cromosómico diploide= 12 (14) la diferencia en el número cromosómico entre las especies marinas y de agua dulce pudo haberse originado por eventos de aneuploidía o poliploidia. Las series poliploides son comunes en Cladophorales (Chlorophyta) en donde el número básico es seis. Además, la gran variabilidad morfológica observada en algunas especies de *Cladophora* se atribuye a el efecto de la poliploidía (Meave, 1997).

7. CONCLUSIONES

Las poblaciones de *Prasiola mexicana* crecieron en ríos de baja temperatura (7.2 – 14.0 °C), la corriente presentó pH ligeramente ácido a circumneutral (6.0 – 7.8) y baja conductividad específica (45 – 60 $\mu\text{S cm}^{-1}$). La caracterización microambiental de las cuatro poblaciones de *P. mexicana* nos permitió reconocer que esta especie se desarrolla en condiciones de baja profundidad (0 – 15 cm), amplio rango de velocidad de corriente (0 – 1.02 m s^{-1}) e intervalos amplios de RFA (45 – 1631 $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) y sobre un sustrato rocoso. La presencia de *P. mexicana* en ríos de la región central de México depende principalmente de la baja temperatura, el flujo constante y la presencia de un sustrato rocoso.

Las poblaciones de *P. nevadensis* se desarrollaron en un río de agua fría (16°C), neutra (7.5) y conductividad específica de 262 μS . Estas poblaciones crecieron en condiciones microambientales estrechas: baja profundidad (0 – 7 cm), bajo flujo de corriente de agua (0 – 0.30 m s^{-1}) y baja RFA (17.9 – 35.5 $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) y sobre sustrato rocoso. La presencia de esta especie en esta localidad depende de la combinación de los siguientes factores: condiciones de baja temperatura, velocidad de corriente y RFA, así como una elevada conductividad específica en comparación con *P. mexicana*.

A pesar de la variabilidad observada en los caracteres morfométricos los análisis de correlación fueron escasos, lo cual nos sugiere que cada población responde de manera diferente a su ambiente.

Todos los caracteres morfométricos observados (largo y ancho de la lámina, largo y ancho celular, grosor, número de células de grosor y superficie del talo) para las poblaciones de *P. mexicana* y *P. nevadensis* mostraron diferencias significativas entre los cinco sitios. *P. nevadensis* se distinguió de *P. mexicana* por presentar láminas más estrechas y de poco grosor, células de mayor amplitud y longitud. Esta información es importante para la delimitación taxonómica.

Sobre las láminas de *P. mexicana* y *P. nevadensis* se observó una abundante comunidad epífita algal y de macroinvertebrados. La comunidad algal fue la más abundante y diversa; las especies más observadas sobre los talos fueron: *Heteroleiblenia* sp., *Hydrococcus cesatii*, *Cocconeis placentula* var. *lineata*, *Melosira varians*, *Synedra ulna*, *Cymbella mexicana*. Los macroinvertebrados habituales fueron larvas de *Parochlus* sp. el cual utiliza las láminas de *Prasiola* para el refugio y suministro de alimento.

En cuanto al efecto de la temperatura en la reproducción en talos de *P. mexicana*, no se observó la formación de estructuras de reproducción sexual en las tres condiciones de temperatura (6, 10 y 17° C), mientras que la reproducción asexual se presentó para todos los tratamientos. La mayor producción y germinación de aplanosporas se observó a los 17°C. El inicio de la reproducción asexual se inició con divisiones mitóticas en la zona marginal y central del talo para dar origen a las aplanosporas. Estas estructuras pueden ser liberadas al medio (*ex situ*) o continuar con su germinación *in situ*. La germinación *in situ* y *ex situ* comenzaron con divisiones mitóticas formando pequeños filamentos uniseriados, posteriormente la dirección de la división cambia para formar pequeñas talos.

De acuerdo con el cariotipo de las estructuras obtenidas en cultivo y de las células vegetativas del talo se puede inferir que el ciclo de vida de *P. mexicana* es monofásico diploide con meiosis gamética, semejante a lo reportado para poblaciones marinas. No obstante, es necesario la observación de gametos y el conteo de cromosomas en estas estructuras para la confirmación del ciclo de vida.

La distribución microambiental de poblaciones de *Prasiola* descrita en este trabajo complementa la información sobre la variación morfológica y sus requerimientos ambientales. Sin embargo, es necesario reconocer estrategias fisiológicas que les permite formar abundantes crecimientos y desarrollarse en condiciones emergentes, así como conocer las condiciones ambientales para el inicio de la reproducción sexual.

8. PERSPECTIVAS

En este trabajo se observó que la temperatura, bajo condiciones de laboratorio, regula la reproducción asexual en poblaciones de *P. mexicana*. Pero para determinar la dinámica reproductiva de *P. mexicana* en condiciones naturales hace falta desarrollar estudios estacionales para identificar la fenología de las fases gametofíticas y esporofíticas. Los requerimientos de temperatura pueden estar regulados a nivel fisiológico y para reconocer los óptimos fisiológicos de *P. mexicana* y *P. nevadensis* es necesario la evaluación de la tasa fotosintética, concentración de clorofila a y b en diferentes gradientes de temperatura y RFA.

El establecimiento de las comunidades epífitas podría estar asociado con la composición química de los talos de *Prasiola*, y para determinar su potencial como fuente de alimento para el desarrollo de los macroinvertebrados es necesario conocer el contenido calórico, proteico, lipídico y de carbohidratos de esta alga. Así como la revisión del contenido estomacal de las larvas de insectos con el fin de conocer si *Prasiola* es su principal fuente de alimento o si su dieta consiste de diferentes grupos algales.

BIBLIOGRAFÍA

- AGARDH, J. 1847. Nya alger fran México. Oversigt al kongl. *Vetenskaps-Akademiens förhandlingar* 4: 5 – 17.
- ALLAN, D. 1995. *Stream Ecology. Structure and function of running waters*. Champan & Hall. Great Britain. 388p.
- ANDERSON, B & FOSTER, M. 1999. The effects of insolation and grazing on populations of the splash zone alga *Prasiola meridionalis* (Chlorophyta). *Phycologia* 38: 349 – 355.
- ÁVILA, V. 2002. *La vegetación de la cuenca alta del río Magdalena: un enfoque florístico, fitosociológico y estructural*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 86p.
- ÁVILA, V. 2004. *Autenticidad de los bosques en la Cuenca Alta del río La Magdalena: diagnóstico hacia la restauración ecológica*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 112p.
- BELTRÁN-MAGOS, Y., CARMONA J & VILA CLARA, G. 2005. Microhabitat and morphological variation in freshwater *Blennothrix ganeshii* (Oscillatoriaceae, Cyanophyceae) populations in streams of central Mexico. *Algological Studies* 117: 133 – 146.
- BERGEY, E., BOETTIGER, C & RESH, V. 1995. Effects of water velocity on the architecture and epiphytes of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 31: 264 – 271.
- BIGGS, B. 1996. Patterns in Benthic Algae of Streams. Pag: 31-56. en: *Algal Ecology. Freshwater Benthic Ecosystems*. Stevenson, J., Bothwell, M & Lowe, R (Ed.). Academic Press. U.S.A.

- BIGGS, B & HICKEY, C. 1994. Periphyton response to a hydraulic gradient in a regulated river in New Zeland. *Freshwater biology* 32: 49 — 59.
- BIGGS, B & THOMSEN, H. 1995. Disturbance of stream periphyton by perturbations in shear stress: Time to structural failure and differences in community resistance. *Journal of Phycology* 31: 233 — 241.
- BOJORGE, G. 2002. *Ecología de comunidades algales en una localidad del río la Magdalena, D.F.* Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 74 p.
- BOJORGE, G & CANTORAL — URIZA, E. 2006. Estructura comunitaria de diatomeas asociadas a talos de *Prasiola mexicana* (Chlorophyta) en el río Magdalena, D.F. *Hidrobiológica* 17: en prensa.
- BRANCO, C., NECCHI, O. 1998. Microhabitat and morphometric variation of two Chaetophoracean (Chaetoporales, Chlorophyta) species in tropical streams of southeastern Brazil. *Phycological Research* 46: 169 — 174.
- BRAVO, L. 1965. Studies on the Life History of *Prasiola meridionalis*. *Phycologia* 4: 177 — 194.
- COLE, K & AKINTOBI, S. 1962. The life cycle of *Prasiola meridionalis* Setchell & Gardner. *Canadian Journal of Botany* 41: 661 — 668.
- COLLADO, L. 1989. Estudio ecológico de las algas filamentosas como un grupo funcional de la Laguna de Bojórquez, Cancún. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 102 p.
- COLLINS, F. 1909. *The green alga of North America*. Tufts College Studies Vol II N°3. 479 p.
- DINE, M & HARA, Y. 2002. Morphology and molecular phylogeny of *Prasiola* sp. (Prasiolales, Chlorophyta) from Myanmar. *Phycological Research* 50: 175 — 182.

- DREW, K & FRIEDMANN, I. 1957. Occurrence of motile gametes in *Prasiola stipitata* Suhr. *Nature* 180: 557 — 558.
- FRIEDMANN, I. 1959. Structure, Life - History and sex determination of *Prasiola stipitata* Suhr. *Annals of Botany* 23: 517 — 597.
- FRIEDMANN, I. 1960. Gametes, fertilization and zygote development in *Prasiola stipitata* Suhr. *Nova Hedwigia* 1: 333 — 350.
- FRITSCH, F. 1961. *The structure and reproduction of algae*. Vol 1. Jarrold and Sons Ltd. Norwich. 791 p.
- FUJIYAMA, T. 1949. On the sexual reproduction and life — history of *Prasiola* (Ag.) Menegh. In Japan. *Bot. Mag., Tokyo* 62: 57 — 61.
- GRAHAM, J & KRANZFELDER, J. 1985. Light and temperature as factors regulating seasonal growth and distribution of *Ulothrix zonata* (Ulvophyceae). *Journal of Phycology* 21: 228 — 234.
- GRAHAM, J., GRAHAM, L & KRANZFELDER, J. 1985. Light, temperature and photoperiod as factors controlling reproduction in *Ulothrix zonata* (Ulvophyceae). *Journal of Phycology* 21: 235 — 239.
- GRÖNIGER A. AND HÄDER D-P. 2002. Induction of the synthesis of an UV-absorbing substance in the green alga *Prasiola stipitata*. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 66: 54 — 59.
- GOFF, L & COLEMAN, A. 1990. DNA: Microspectrofluorometric studies. Pags 43 — 71 en: *Biology of the Red Algae*. Cole, K & Sheath, R (Ed). Cambridge University Press. U.S.A.
- GOTELLI, N & ELLISON, A. 2004. *A primer of Ecological Statistics*. Sinauer Associates, Inc, U.S.A. 510 p.

- HAMILTON, P & EDLUND, S. 1994. Occurrence of *Prasiola fluviatilis* (Chlorophyta) on Ellesmere Island in the Canadian Arctic. *Journal of Phycology* 30: 217 — 221.
- HANIC, L. 1979. Observations on *Prasiola meridionalis* (S. & G.) and *Rosenvingiella constricta* (S. & G.) Silva (Chlorophyta, Prasiolales) from Galiano Island, British Columbia. *Phycologia* 18: 71 — 76.
- HAWKES, M. 1996. Reproductive strategies. Pag 445 — 476 en: *Biology of the red algae*. Cole, K & Sheath, R (Ed). Cambridge University Press. U.S.A.
- HOEK, C. VAN DEN., MANN D. & JAHNS, H. 1995. *Algae. An introduction to Phycology*. Cambridge University Press. United Kingdom. 623 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA GEOGRÁFICA E INFORMÁTICA (INEGI). 1970. Carta 14Q5. Climas. Escala 1:1500. División de Planeación Cetenal. UNAM. Instituto de Geografía
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA GEOGRÁFICA E INFORMÁTICA (INEGI). 1992. *Síntesis geográfica del Estado de Hidalgo*. México. 134 p.
- KNEBEL, G. 1936. Monographie der Algereihe der Prasiolales, insbesondere von *Prasiola crispa* Hedwigia 75: 1 — 120.
- KOMAREK, J & ANAGNOSTIDIS, K. 1999. *Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales*. Gustav Fischer. Alemania. 548 p.
- LEE, E. 1989. *Phycology*. Cambridge University Press. 2nd edition. U.S.A
- LUD D., BUMA A., VAN DE POLL W., MOERDIJK T. & HUISKES A. 2001. DNA damage and photosynthetic performance in the Antarctic terrestrial alga *Prasiola crispa* ssp. *antartica* (Chlorophyta) under manipulated UV-B radiation. *Journal of Phycology* 37: 459 — 467.

- MCCLINTIC, A., CASAMATTA, D & VIS, M. 2003. A survey of algae from montane cloud forest and alpine streams in Bolivia: Macroalgae and associated microalgae. *Nova Hedwigia* 76: 363 — 379.
- MEAVE, DEL C. 1997. Taxonomía y distribución de las Cladophorales (Chlorophyta) en la región de la Huasteca Potosina. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 419 p.
- MERRIT, W & CUMMINS, K. 1996. *An introduction to the aquatic insects of North America*. Kendal/ Hunt Publishing Company. U.S.A. 861p.
- MOOSER, F. 1975. Historia geológica de la cuenca de México. En: DDF memorias del sistema del drenaje profundo del Distrito Federal. Talleres Gráficos de la Nación T.I. 738. 180. 180 p.
- MONTEJANO G., CANTORAL-URIZA E. AND CARMONA J. 2004. Algas de ambientes lóticos en la cuenca baja del río Pánuco. In: Luna I., Morrone J. and Espinoza D. (Ed.), Biodiversidad de la Sierra Madre Oriental, Las prensas de Ciencias, México, D.F, p. 111 — 126.
- MORRONE, J. 2001. *Sistemática, Biogeografía, Evolución. Los patrones de la biodiversidad en tiempo — espacio*. Las prensas de Ciencias. 124 p.
- NAVA, A. 2005. *Diagnóstico ambiental de los molinitos Villa del Carbón, Estado de México*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. 80 p.
- NAVA, M. 2003. *Los bosques de la Cuenca Alta del río Magdalena, D.F México. Un estudio de vegetación y fitodiversidad*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

- NECCHI, O. 1997. Microhabitat and plant structure of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) populations in four streams of São Paulo State, southeastern Brazil. *Phycological Research* 45: 39 — 45.
- NECCHI, O. JR., BRANCO L, H & CESAR C. 1995. Comparison of tree techniques for estimating periphyton abundance in bedrock streams. *Arch. Hydrobiol.* 134: 393 — 402.
- NECCHI, O. JR., BRANCO, C & GÓMEZ, R. 1999. Microhabitat and plant structure of *Compsopogon coeruleus* (Compsopogonaceae, Rhodophyta) populations in streams from São Paulo State, southeastern Brazil. *Cryptogamie Algologie* 20: 75 — 87.
- NECCHI, O., PASCOALOTO, D & ZANINI, L. 1994. Distribution of macroalgae in a tropical river basin from southeastern Brazil. *Archives für Hydrobiologie* 129: 459 — 471.
- ORTEGA, M. 1984. *Catálogo de algas continentales recientes de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 566 p.
- RAMÍREZ, R. 2004. *Taxonomía y distribución de Prasiola (Prasiolales, Chlorophyta) en ambientes lóticos de la región central de México*. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 90 p.
- RAMÍREZ, R. & CARMONA, J. 2005. Taxonomy and distribution of freshwater *Prasiola* (Prasiolales, Chlorophyta) in central Mexico. *Cryptogamie Algologie* 26: 177 — 188.
- RAMÍREZ, V. 2002. *Flora algal de ambientes lóticos en la zona occidental de la Cuenca del Valle de México*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 111 p.
- RAMÍREZ, V., BELTRÁN, M., BOJORGE, G., CARMONA, J., CANTORAL, U. & VALADEZ, F. 2001. Flora algal del río La Magdalena, Distrito Federal, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 68: 51 — 73.

- RAMÍREZ, V. & CANTORAL, U. 2003. Flora algal de ríos templados en la zona occidental de la cuenca del Valle de México. *Anales del Instituto de Biología* 74: 143 — 194.
- RAVEN J. & JOHNSON A. 1991. Photosynthetic inorganic carbon assimilation by *Prasiola stipitata* (Prasiolales, Chlorophyta) under emersed and sumersed conditions: relationship to the taxonomy of *Prasiola*. *British Phycological Journal* 26: 251 — 254.
- RINDI, F & GUIRY, M. D. 2004. Composition and spatial variability of terrestrial algal assemblages occurring at the base of urban walls in Europe. *Phycologia* 43: 225 — 235.
- RINDI, F., GUIRY, M.D., BARBIERO, R.P & CINELLI, F. 1999. The marine and terrestrial Prasiolales (Chlorophyta) of Galway City, Ireland: a morphological and ecological study. *Journal of Phycology* 35: 469 — 482.
- RINDI, F., MCIVOR, L & GUIRY, M. 2004. The Prasiolales (Chlorophyta) of Atlantic Europe: an assessment based on morphological, molecular, and ecological data, including the characterization of *Rosenvingiella radicans* (Kützing) Com. Nov. *Journal of Phycology* 40: 977 — 997.
- RONNBERG, O & LAX, P-E. 1980. Influence of wave action on morphology and epiphytic diatoms on *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. *Ophelia Supp.* 1: 209 — 218.
- ROZEMA J., BJÖRN O., BORNMAN J.F., GABERŠČIK A., HÄDER D-P., TROŠT T., GERM M., KLISCH M., GRÖNIGER A., SINHA R.P., LEBERT M., HE Y-Y., BUFFONI-HALL R., BAKKER N.V., VAN DE STAATT J. AND MEIJKAMP B.B. 2002. The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems-an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 66: 2 — 12.
- SETCHELL, W. & GARDNER, N. 1920. The marine algae of the Pacific Coast of North America. Part 2. Chlorophyceae. *Univ. Calif. Publ. Bot* 8: 139 — 374.

- SHEAT, R & COLE, K. 1992. Biogeography of stream macroalgae in North America. *Journal of Phycology* 28: 448 — 460.
- SHEAT, R & HAMBROOK, J. 1988. Mechanical adaptation to flow in freshwater red algae. *Journal of Phycology* 24: 107 — 111.
- SHERWOOD, A., GARBARY, D. & SHEATH, R. 2000. Assessing the phylogenetic position of the Prasiolales (Chlorophyta) using *rbcL* and 18S rRNA gene sequence data. *Phycologia* 39: 139 — 146.
- STARMACH, K. 1972. *Flora słodkowodna Polski*. Tomo 10: Chlorophyta III. Państwowe wydawnictwo.Naukowe. Warszawa — Kraków. 750 p.
- STEVENSON, J. 1996a. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. Pag: 3 — 56. In: *Algal Ecology. Freshwater Benthic Ecosystems*. Stevenson, J., Bothwell, M & Lowe, R (Ed.). Academic Press. U.S.A.
- STEVENSON, J. 1996b. The stimulation and drag of current. Pag: 321 — 340. In: *Algal Ecology. Freshwater Benthic Ecosystems*. Stevenson, J., Bothwell, M & Lowe, R (Ed.). Academic Press. U.S.A.
- UDA, S. 1948. Studies on the life history of *Prasiola japonica* Yatabe (a preliminary note). *Journal Japanese of Botany* 22: 33 — 37.
- VIEIRA J., NECCHI, O. JR. 2002. Microhabitat and plant structure of Characeae (Chlorophyta) populations in streams from São Paulo State, southeastern Brazil. *Cryptogamie Algologie* 23: 51 — 63.

PÁGINAS WEB CONSULTADAS

<http://www.sma.df.gob.mx/corenader/prpc/agualeones/arroyoleones.htm>

<http://www.sagarpa.gob.mx/dlg/hidalgo/sagarpahidalgo/acercade/zacualtipan/caracteristicas.htm>

ANEXO I

Medio de cultivo

BOURRELLY
(modificado por Hegewald *et al.*, 1994)

a) Preparación de soluciones stock

	100 ml	50 ml	25 ml
KNO ₃	10 g	5 g	2.5 g
K ₂ HPO ₄	1 g	0.5 g	0.25 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1 g	0.5 g	0.25 g
Ca(NO ₃) ₂	1 g	0.5 g	0.25 g

b) Vitaminas

	1000 ml	100 ml	50 ml
Biotina	---	3.3 mg	1.65 mg
B ₁₂	---	0.5 mg	0.25 mg
Tiamina diluida	0.5 mg		

c) FeEDTA

FeSO ₄ · 7H ₂ O	695 mg
FeEDTA	930 mg

Diluir en 80 ml de agua destilada, dejar hervir brevemente y aforar a 100 ml

d) Micronutrientes

	100 ml	50 ml	25 ml
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.99 g	495 mg	247.5 mg
CUSO ₄ · 7H ₂ O	0.28 g	140 mg	70 mg
CUSO ₄ · 5H ₂ O	0.05	25 mg	12.5 mg
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.315 g	157.5 mg	78.75 mg
H ₃ Bo ₃	0.62 g	310 mg	155 mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	0.18 g	90 mg	45 mg
NiSO ₄ · 6H ₂ O	0.263 g	131.5 mg	65.75 mg
NH ₄ VO ₃	0.146 g	73 mg	36.65 mg

Una vez elaborados las soluciones tomar:

	1000 ml	500 ml	100 ml
Agua destilada			
KNO ₃	2 ml	1 ml	0.2 ml
K ₂ HPO ₄	4 ml	2 ml	0.4 ml
MgSO ₄ · 7H ₂ O	3 ml	1.5 ml	0.3 ml
Ca(NO ₃) ₂	3 ml	1.5 ml	0.3 ml

Vitaminas

	1000 ml	500 ml	100 ml
Agua destilada			
Biotina	20 ml	10 ml	2 ml
B ₁₂	20 ml	10 ml	2 ml
Tiamina	10 ml	5 ml	1 ml

FeEDTA			
Agua destilada	1000 ml	500 ml	100 ml
FeEDTA	0.5 ml	0.25 ml	0.05 ml

Micronutrientes	
Agua destilada	100 ml
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1 ml
CUSO ₄ . 7H ₂ O	0.1 ml
CUSO ₄ . 5H ₂ O	0.1 ml
ZnSo ₄ .7H ₂ O	0.2 ml
H ₃ Bo ₃	0.5 ml
(NH ₄) 6 Mo7O ₂₄ . 4H ₂ O	0.1 ml
NiSO ₄ . 6H ₂ O	1 ml
NH ₄ VO ₃	0.1 ml

Para preparar 1000 ml de medio, tomar 0.50 ml de micronutrientes

Para prepara medio sólido:

Agua destilada	1000 ml	500 ml	300 ml
Agar	1.5 g	0.75 g	0.45 g

- 300 ml alcanza para 30 cajitas petri aproximadamente

MEDIO BOLD BASAL

a) Soluciones stock o soluciones salinas

	200 ml	50 ml	25 ml
NaNO ₃	5.0 g	1.25 g	0.625 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.5 g	0.375 g	0.1875 g
NaCl	0.5 g	0.125 g	0.0625 g
K ₂ HPO ₄	1.5 g	0.375 g	0.1875 g
KH ₂ PO ₄	3.5 g	0.875 g	0.4375 g
CaCl 2H ₂ O	0.5 g	0.125 g	0.4375 g

b) Elementos traza o solución H-H5

	1000 ml	50 ml	25 ml
Agua destilada			
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8.82 g	0.441 g	0.22 g
MnCl ₂ 4H ₂ O	1.44 g	0.072 g	0.036 g
MoO ₃	0.71 g	0.0355 g	0.0177 g
CuSO ₄ 5H ₂ O	1.57 g	0.0785 g	0.039 g
Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	0.49 g	0.024 g	0.012 g

* Se necesita de autoclave para disolver

c) Solución de Boro

	200 ml	50 ml	25 ml
H ₃ BO ₃	2.28 g	0.57 g	0.285

d) EDTA

	100 ml	50 ml	25 ml
Agua destilada			
EDTA Na ₂	5 g	2.5 g	1.25 g
KOH	3.1 g	1.55 g	0.77 g

e) Solución de hierro

	1000 ml	100 ml	50 ml
Agua destilada			
FeSO ₄ 7H ₂ O	4.98 g	0.498 g	0.249 g
H ₂ SO ₄	1 ml	0.1 g	0.05 g

Para la elaboración del medio de cultivo tomar:

	1000 ml	500 ml	250 ml
Agua destilada			
NaNO ₃	10 ml	5 ml	2.5 ml
MgSO ₄ 7H ₂ O	10 ml	5 ml	2.5 ml
NaCl	10 ml	5 ml	2.5 ml
K ₂ HPO ₄	10 ml	5 ml	2.5 ml
KH ₂ PO ₄	10 ml	5 ml	2.5 ml
CaCl 2H ₂ O	10 ml	5 ml	2.5 ml
H ₃ BO ₃	1 ml	0.5 ml	0.25 ml
Elementos traza	1 ml	0.5 ml	0.25 ml
EDTA	1 ml	0.5 ml	0.25 ml
Fe (solución)	1 ml	0.5 ml	0.25 ml

ANEXO II

Gráficas de correlación entre variables ambientales y caracteres morfológicos

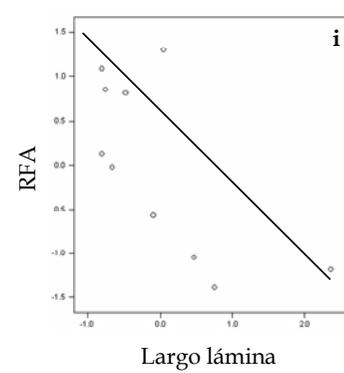
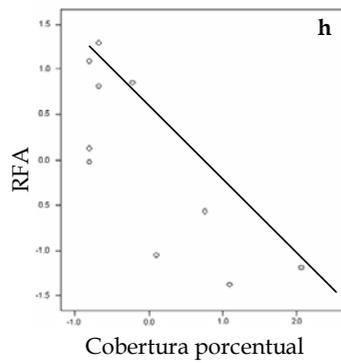
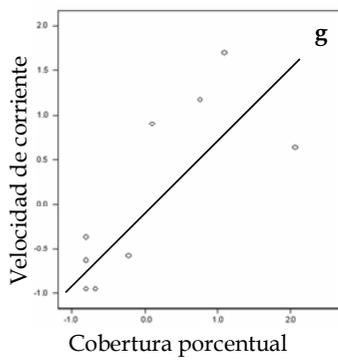
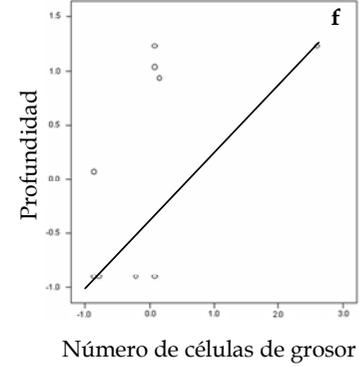
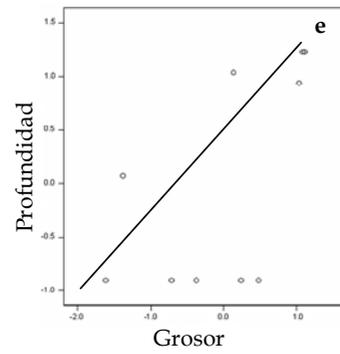
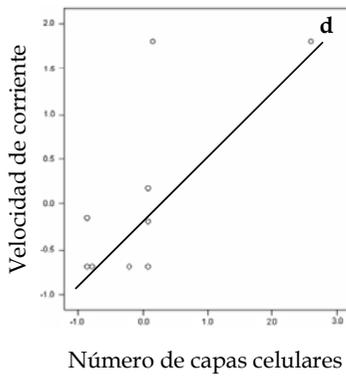
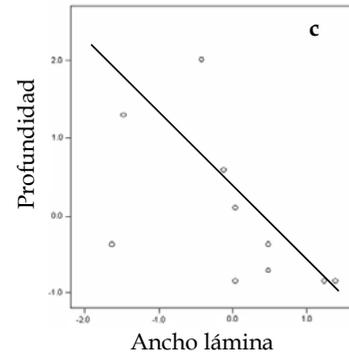
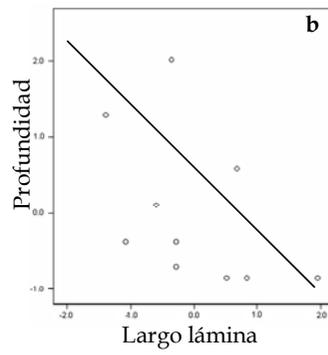
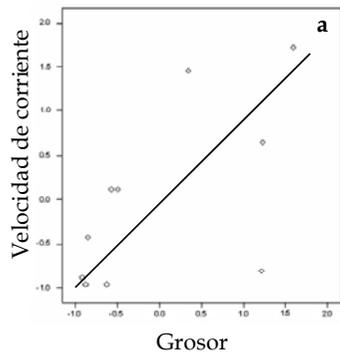


Lámina 1. Gráficas de los valores significativos del análisis de correlación de Spearman entre las variables ambientales y caracteres morfométricos. **a – d:** Sitio 1; **e – g:** Sitio 2; **h – i:** sitio 3.

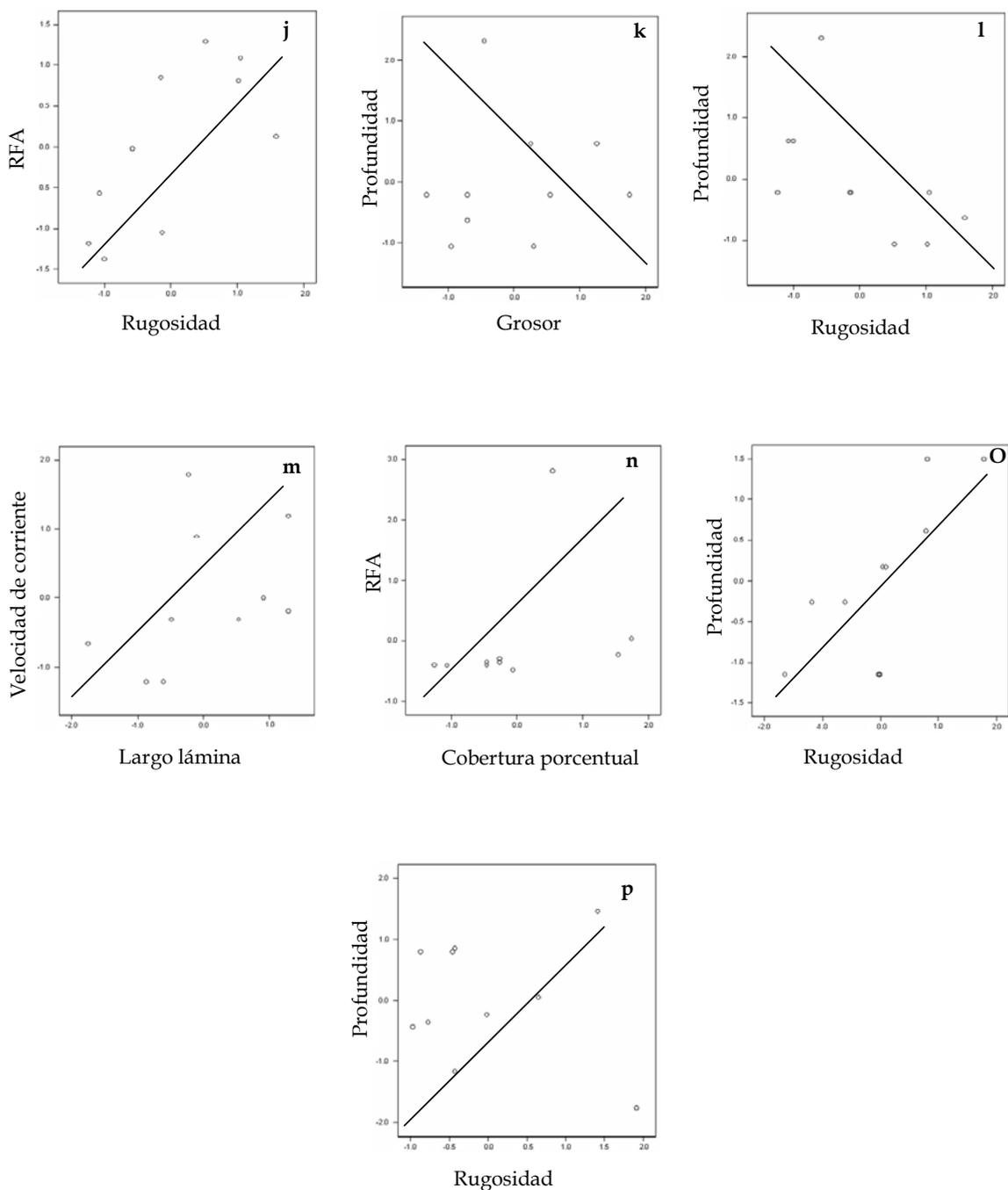


Lámina 2. Gráficas de los valores significativos del análisis de correlación de Spearman entre las variables ambientales y caracteres morfométricos. **j – m:** Sitio 3; **n – p:** Sitio 4; **q:** sitio 5.

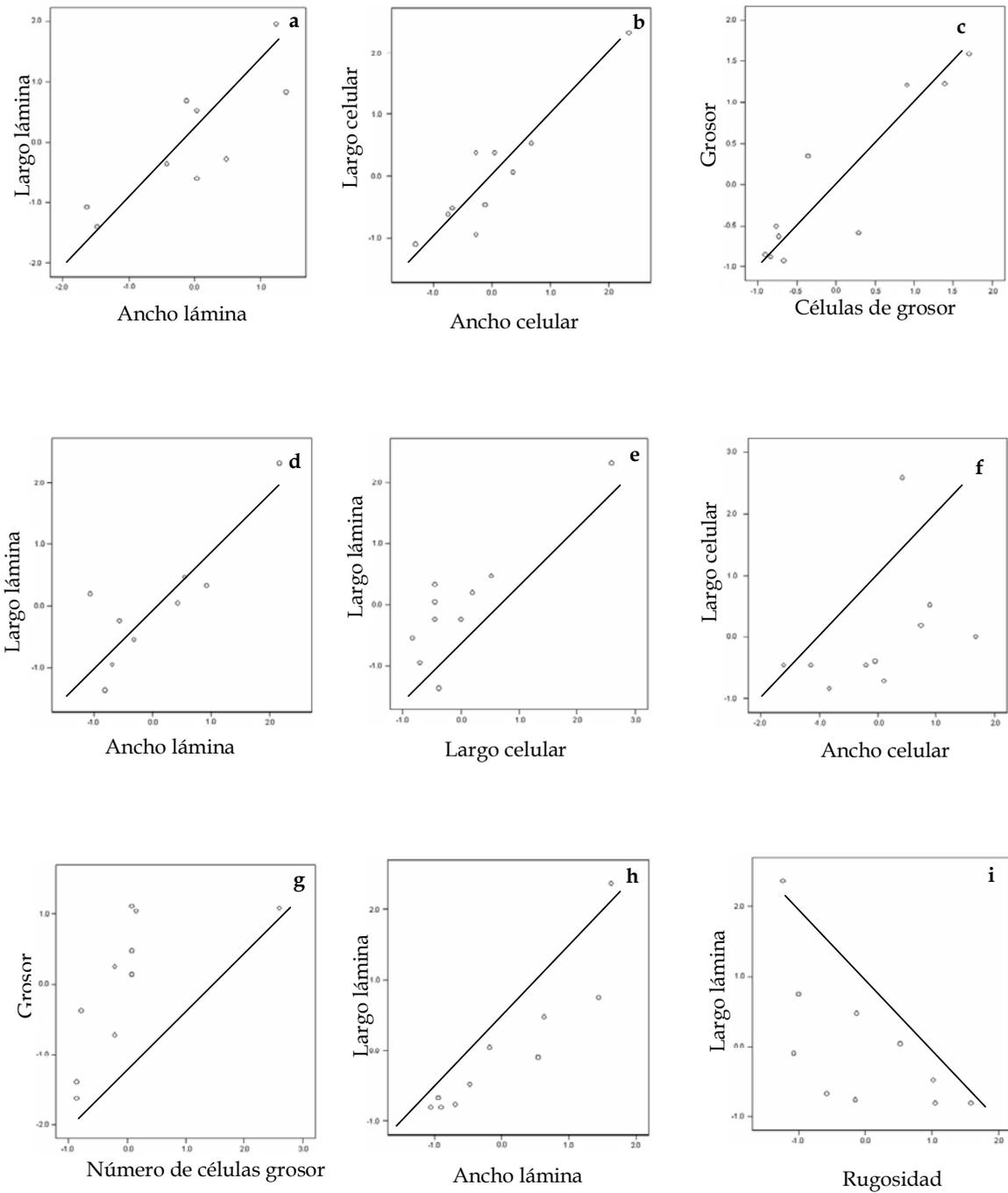


Lámina 3. Gráficas de los valores significativos del análisis de correlación de Spearman entre caracteres morfométricos. **a – c:** Sitio 1; **d – g:** Sitio 2; **h – i:** sitio 3.

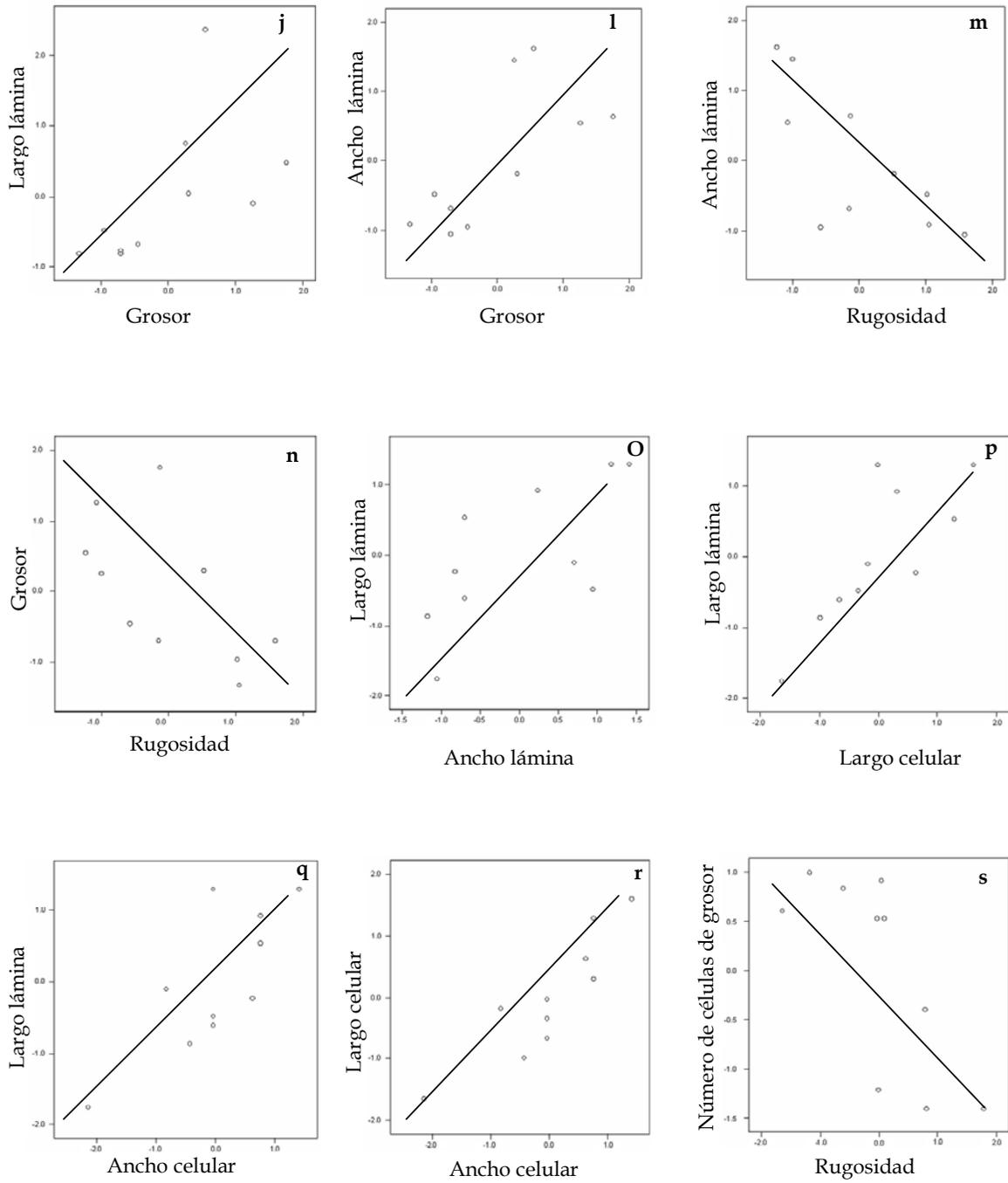


Lámina 4. Gráficas de los valores significativos del análisis de correlación de Spearman entre caracteres morfométricos. **j – n:** Sitio 3; **o – s:** Sitio 4

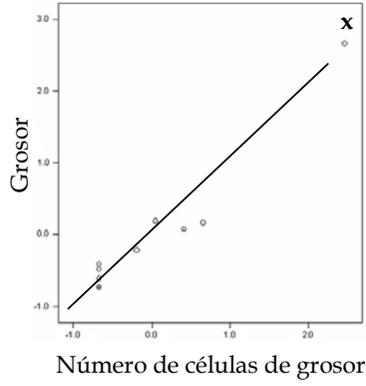
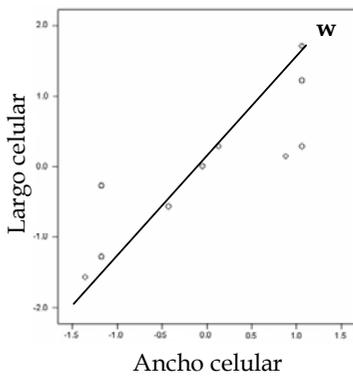
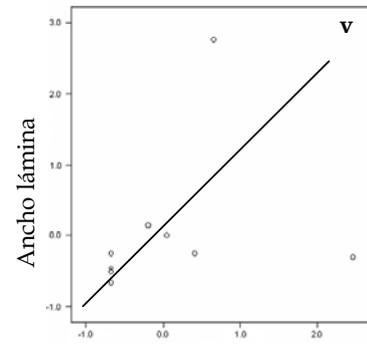
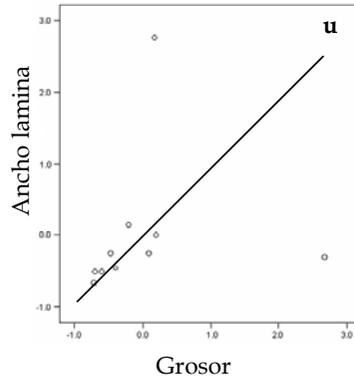
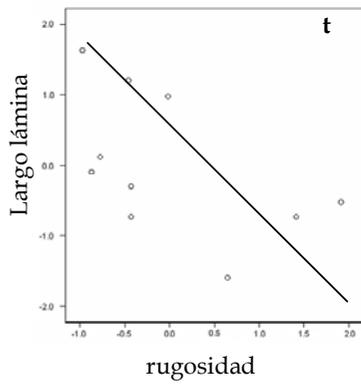


Lámina 5. Gráficas de los valores significativos del análisis de correlación de Spearman entre caracteres morfométricos. **t – x:** Sitio 5.

ANEXO III

Taxonomy and distribution of freshwater *Prasiola* (Prasiolales, Chlorophyta) in central Mexico

Rocío RAMÍREZ Rodríguez & Javier CARMONA Jiménez*

Departamento de Ecología y Recursos Naturales, UNAM. A.P. 70-620,
Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, México, D.F.

(Received 2 September 2003, accepted 23 April 2004)

Abstract – Seventeen samples and specimens of *Prasiola* from central Mexico, representing two species, have been studied in laboratory culture. The most common species, *P. mexicana*, is characterized by large leaf-like thalli (≥ 90 mm), bifurcating branches and a smooth margin. The lamina apex has numerous aplanospores and the margin is polystromatic (≥ 8 layers). Specimens with a corrugated surface and rhizoidal cells in the middle region were also noted. The second species, *P. nevadensis*, is characterized by small, leaf-like thalli (≥ 30 mm), crenate margins, and a monostromatic lamina. Two relevant morphological features were noted in culture: multilocular gametangia with possible female gametes, and the formation of small cellular packets fixed to the apical margin of the lamina. *Prasiola nevadensis* is here reported for the first time for Mexico, which also represents only the second report for the species. *Prasiola mexicana* was found in subaerial or submerged conditions in cold rivers (2-16.4°C), neutral pH (6.4-7.6) and low specific conductivity (35.5-94.2 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). *Prasiola nevadensis* was collected submerged in a river with cold water (14°C), acidic pH (5.5), and moderate specific conductivity (192 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Both species were collected in high mountain regions (≥ 1300 masl).

Chlorophyta / distribution / México / Prasiola / Prasiolales / streams / taxonomy

Résumé – Taxinomie et distribution de *Prasiola* (Prasiolales, Chlorophyta) dulçaquicoles au Mexique central. On a observé deux espèces parmi dix-sept récoltes et spécimens de *Prasiola* du Mexique central maintenus en culture. La plus commune, *P. mexicana*, est caractérisée par de larges thalles foliacés (≥ 90 mm), des ramifications bifurquées et une marge lisse ; le sommet des thalles porte de nombreux aplanospores et montre une marge polystromatique (≥ 8 couches). On remarque aussi des spécimens avec une surface plissée et des cellules rhizoïdales dans la région médiane. La seconde espèce, *P. nevadensis*, est caractérisée par de petits thalles foliacés (≥ 30 mm), une marge crénelée et une lame monostromatique. Deux caractères morphologiques pertinents ont été notés en culture : des gamétanges multiloculaires contenant d'éventuels gamètes femelles et la formation de petits paquets cellulaires fixés à la marge apicale du thalle. *Prasiola nevadensis*, connu uniquement de son lieu d'origine, est signalé ici pour la première fois du Mexique. *Prasiola mexicana* a été trouvé en conditions subaériennes ou submergées dans des rivières froides (2-16.4 °C), à pH neutre (6.4-7.6) et à conductivité spécifique basse (35.5-94.2 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). *Prasiola nevadensis* a été récolté submergé dans une rivière à eau fraîche (14 °C), à pH acide (5.5) et à conductivité spécifique modérée (192 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Les deux espèces ont été récoltées dans des régions de haute montagne (altitude ≥ 1300 m).

Chlorophyta / distribution / México / Prasiola / Prasiolales / rivières / taxonomie

* Correspondence and reprints: rcj@hp.ciencias.unam.mx
Communicating editor : Pierre Compère

INTRODUCTION

The genus *Prasiola* is included in the class Trebouxiophyceae and is defined by the following characteristics: a monostromatic laminar thallus, vegetative cells with stellate or lobed chloroplasts containing a single pyrenoid, biflagellate male gametes with cross-type flagellar insertion and a basal body disposed in counterclockwise fashion, closed mitosis with a persistent spindle in telophase, and cytokinesis by transverse wall deposition (O'Kelly *et al.*, 1989; Sherwood *et al.*, 2000). The systematic position of the Prasiolales has been controversial due to the similarity of the type of mitosis and cytokinesis to the class Ulvophyceae. However, Friedl & O'Kelly (2002) analyzed the 18S rDNA nucleotide sequence and confirmed its placement in the Trebouxiophyceae. The family Prasiolaceae includes two genera: *Rosenvingiella* P.C. Silva, characterized by its filamentous organization, and *Prasiola* G. Meneghini, which has a monostromatic laminar thallus and oogametic reproduction (Friedmann, 1959a, 1959b; Bravo, 1965; Rindi *et al.*, 1999). The delimitation of these two genera has been debated since some species of *Prasiola* have filamentous stages similar to *Rosenvingiella* (Bravo, 1965). Recently, Sherwood *et al.* (2000) found molecular differences between the two genera based on analysis of *rbcL* and 18S rRNA nucleotide sequences.

Species of the genus *Prasiola* are common inhabitants of marine, freshwater and terrestrial environments in temperate and tropical boreal regions (Naw & Hara, 2002). There are nine currently recognized freshwater species of *Prasiola* (Starmach, 1972; Naw & Hara, 2002): five reported in Asia, one with two varieties (*P. japonica* Yatabe, *P. formosana* Okada var. *formosana*, *P. formosana* Okada var. *coreana*, *P. sinica* Jao, *P. subareolata* Skuja, *P. yunnanica* Jao) and four reported in North America and Europe (*P. fluvialilis* (Sommerfeld) Areschoug, *P. nevadensis* Setchell *et* Gardner, *P. velutina* (Lyngbye) Wille and *P. mexicana* J. Agardh). The characteristics used to differentiate species include the habit, size, and thickness of the lamina, and the disposition, length, and cell size of the foot used to attach to the substratum (Starmach, 1972). Even so, identification is often problematic due to the subjectivity of observers and variability of some characters.

One of the species of the order Prasiolales, *P. mexicana*, has been found in six waterways of the high mountains of central Mexico (Ortega, 1984; Ramírez *et al.*, 2001). However, information about its anatomical characteristics (vegetative and reproductive) and distribution is lacking. In this work, the anatomical structure, habitat, and geographic distribution of populations of *Prasiola* are presented in detail in addition to previous reports from the central region of Mexico.

MATERIALS AND METHODS

A total of 17 samples of *Prasiola* were collected from 8 localities between 19°-20° N, 98°-99° W, and at altitudes of 1,330 to 3,220 m. (Fig. 1). Samples were preserved in 3% formalin and deposited in **FCME** (Holmgren *et al.*, 1990). The physical and chemical characteristics of the water were measured with a Conductronic electro-chemical analyzer (pH \pm 0.02; conductivity \pm 0.5 %; temperature \pm 0.5).

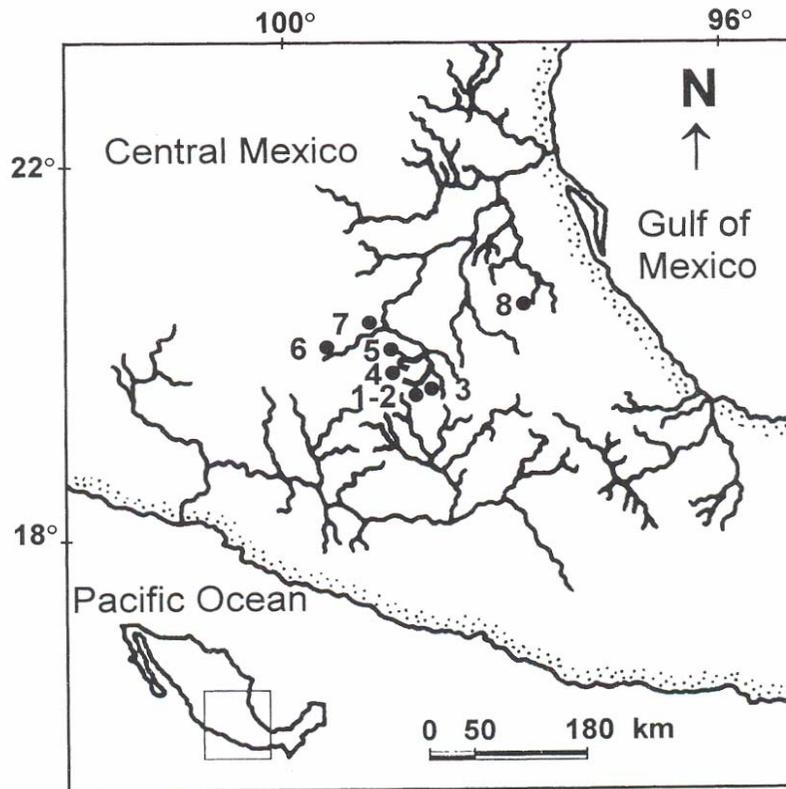


Fig. 1. Location of the study region in central Mexico with freshwater populations of *Prasiola* indicated (circles).

All of the characters considered to be of taxonomic importance in *Prasiola* were examined (Agardh, 1847; Collins 1909; Setchell & Gardner, 1920; Friedmann, 1959a, 1959b; Bravo, 1965; Starmach, 1972; Hamilton & Edlund, 1994; Van den Hoek *et al.*, 1995; Naw & Hara, 2002). Measurements were made in replicates of 20 and are represented as an interval containing a maximum, minimum, average, and standard deviation. The number of replicates was determined using the equation: $n = (S/E\bar{x})^2$, where S = standard deviation, \bar{x} = average and E = a predetermined standard error (Southwood, 1978). Each specimen was observed and measured with a Olympus BX51 contrast interference microscope, with an SC35 system of microphotography. The thickness of the lamina was examined in sections made with an ultrafreeze microtome (Sartorius-Werke Mod. 27, Germany). A Student's t-test was used to compare morphological characters (gametes, aplanospores and vegetative cells).

Reproductive structures were observed in specimens from two populations maintained in culture: Xalancocotla, *coll. R. Ramírez*, 14.i.2003 and Malila, *coll. J. Carmona*, 01.iii.2003. Cultures were initiated from 10-15 mm segments of

thallus placed in sterilized tubes with distilled water and then vigorously agitated to remove epiphytes. The segments were later rinsed three times in distilled water in Petri dishes, and placed in culture tubes with 50 ml of culture media. Three replicates were transferred from each population. Each specimen was maintained in a 20:1 water-soil culture media for 60 days in climate-controlled chambers with fluorescent lights (Phillips 15 W) under the following conditions: temperature 14°C; irradiance 98-150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and a photoperiod of 12 h. A solution of Iodine (Johansen, 1940) was used to stain the pyrenoids.

RESULTS AND DISCUSSION

Morphological Analysis

Two groups of populations were recognized in central Mexico, both with characteristics referable to the genus *Prasiola* (Table 1, Figs 2-20): a laminar monostromatic thallus with a central chloroplast with lobed margin, a central pyrenoid surrounded by plates of starch, and oval to square vegetative cells generally arranged in packets of four (Figs 2-3, 6, 11-12, 15).

The first group (Table 1, Figs 2-10) included the 14 populations from the watershed of Mexico and corresponds to the descriptions of *P. mexicana* by Agardh (1847), Collins (1909) and Setchell & Gardner (1920) (Table 2). It was characterized by large (≥ 9.0 cm long), procumbent lamina with oval to irregular shape (Fig. 2) with one or many (≥ 4) fronds originating from the same base and a smooth lamina margin (Fig. 4). Bifurcating ramifications were sometimes present in the apical part of the lamina. It attaches to the substratum with a small mass of elongated, fibrous cells that form a rhizoidal holdfast (Fig. 5). The basal and intermediate sections of the lamina were monostromatic (Fig. 6), while the apical region had abundant aplanospores (≥ 8 layers) and a tendency to become poly-stromatic (≥ 130 μm thick) (Fig. 7). Vegetative cells were oval to square, 3.1-16.0 μm in diameter (average 9.2 μm); length 6.1-19.8 μm (average 12.2 μm). Aplanospores were seen in both field and cultured specimen, were square or rounded, with a granulate cellular content, a diameter of 5.4-10.6 μm (average 7.7 μm), and a length of 4.5-10.8 μm (average 7.9 μm) (Fig. 7); these were easily distinguished superficially from the vegetative cells, and were found isolated or in groups (Figs 3, 5) in either the basal or apical region of the lamina. The aplanospores were liberated from the apical margin of the lamina upon rupture of the cell wall.

Two interesting morphological characteristics were observed in several specimens (populations 2-8). The surface of the lamina was frequently corrugated (Fig. 9) in specimens collected from terrestrial and high-velocity currents (Table 2), which seems to be related to the physical factors (current velocity or substratum), or biotic interactions (fungal or larval infections). This feature has not been described in any other freshwater species and further studies to characterize the microhabitat and morphological variation will be of interest. The second novel character was the presence of elongated and colorless cells in the folds of the corrugated specimen (Fig. 10). These cells are similar to those described by Fritsch (1961) and Naw & Hara (2002) as rhizoidal cells.

Table 1. Characteristics of freshwater populations of *Prasiola* in Mexico. Measurements are in μm and represent ranges, average and standard deviation.

Population and locality	Lamina length	Lamina diameter	LL/LD	Thickness	Vegetative cell		Aplanosporangia	
	(mm) LL	(mm) LD			Length	Diameter	Length	Diameter
1. MA87 Trout tank	7.0-10.0 8.8 \pm 1.3	5.0-9.0 6.4 \pm 1.6	1.1-1.8 1.4 \pm 0.2	24.6-32.9 28.8 \pm 2.9	8.3-16.0 11.2 \pm 2.3	6.3-16.0 8.4 \pm 1.8	4.5-8.8 6.9 \pm 1.4	5.4-10.6 8.1 \pm 2.2
2. MA1 Xalancocotla	5.0-26.0 14.4 \pm 8.4	3.0-14.0 8.4 \pm 4.7	0.7-2.6 1.8 \pm 0.7	22.3-27.5 24.9 \pm 1.8	6.1-18.5 10.7 \pm 2.7	3.1-13.5 7.1 \pm 2.4	- -	- -
3. MA9 Xalancocotla	2.0-14.0 8.3 \pm 6.0	6.0-19.0 14.3 \pm 7.2	0.7-1.5 1.1 \pm 0.3	- -	9.7-15.5 12.1 \pm 1.8	7.2-11.7 8.9 \pm 1.3	- -	- -
4. MA26 Xalancocotla	10.0-18.0 14.6 \pm 3.2	4.0-21.0 10.0 \pm 6.5	0.6-3.7 1.9 \pm 1.1	69.0-130.0 88.3 \pm 16.3	7.0-14.6 11.0 \pm 2.1	3.6-9.4 7.6 \pm 1.6	- -	- -
5. MA36 Xalancocotla	4.0-17.0 9.5 \pm 5.5	4.0-15.0 9.0 \pm 4.9	0.2-1.7 1.3 \pm 0.7	- -	7.2-18.3 12.4 \pm 2.3	7.2-10.3 9.1 \pm 0.9	- -	- -
6. MA102 Xalancocotla	5.0-6.0 5.5 \pm 0.7	4.0-5.0 4.5 \pm 0.7	1.0-1.5 1.2 \pm 0.3	- -	9.4-19.8 13.7 \pm 3.5	7.6-12.8 10.3 \pm 1.8	- -	- -
7. MA94 Purification plant	6.0-15.0 10.0 \pm 3.7	9.0-29.0 15.0 \pm 8.4	0.3-1.6 0.7 \pm 0.5	- -	9.4-15.8 11.9 \pm 1.9	8.1-11.5 9.3 \pm 0.9	- -	- -
8. MA 154 Purification plant	9.0-25.0 17.0 \pm 11.3	11.0-29.0 20.0 \pm 12.7	0.8-0.8 0.8 \pm 0.02	18.0-22.3 20.4 \pm 1.3	7.2-16.9 11.4 \pm 3.2	7.4-13.5 9.9 \pm 1.9	7.2-7.6 7.4 \pm 0.2	5.8-8.3 7.4 \pm 1.1
9. CB5 Agua de leones	12.0-90.0 29.3 \pm 29.9	7.0-41.0 34.3 \pm 29.6	0.2-2.1 1.0 \pm 0.6	21.6-29.3 25.6 \pm 2.0	9.7-16.2 12.7 \pm 1.9	7.2-13.7 9.7 \pm 1.5	- -	- -
10. CB32 Agua de leones	13.0-18.0 15.0 \pm 2.6	14.0-19.0 17.0 \pm 2.6	0.7-1.0 0.8 \pm 0.1	- -	9.9-16.7 12.7 \pm 2.0	7.4-13.5 10.2 \pm 1.9	- -	- -
11. DL18 San Borja	16.0-47.0 31.5 \pm 21.9	25.0-45.0 35.0 \pm 14.1	0.6-1.0 0.8 \pm 0.2	30.2-49.9 41.4 \pm 6.1	9.2-15.1 11.5 \pm 2.3	7.2-13.3 9.3 \pm 2.3	8.8-10.8 9.6 \pm 0.7	6.7-9.9 7.8 \pm 1.2
12. DL26 San Borja	8.0-12.0 10.0 \pm 2.8	9.0-20.0 14.5 \pm 7.7	0.6-0.8 0.7 \pm 0.1	- -	10.8-15.5 12.7 \pm 1.7	7.2-12.4 9.5 \pm 1.6	- -	- -
13. SL25 San Luis Ayucán	5.0-20.0 11.0 \pm 6.4	4.0-16.0 8.5 \pm 5.1	0.2-1.5 0.9 \pm 0.6	21.0-28.0 23.0 \pm 2.3	9.9-19.6 13.6 \pm 2.8	8.3-14.9 10.0 \pm 1.5	- -	- -
14. VC22 Villa del Carbón	8.0-29.0 15.2 \pm 8.3	4.0-29.0 14.8 \pm 10.3	0.5-2.0 1.2 \pm 0.5	16.2-19.5 18.2 \pm 1.0	9.2-17.6 13.7 \pm 2.8	7.4-12.8 10.0 \pm 1.6	- -	- -
15. PA3292 River Malila	19.0-26.0 21.4 \pm 4.4	11.0-28.0 21.0 \pm 7.1	0.6-2.3 0.7 \pm 0.3	20.7-28.0 23.9 \pm 1.9	11.8-19.8 14.5 \pm 2.7	8.6-15.5 11.7 \pm 1.8	17.2-39.5 22.9 \pm 9.2	15.0-25.8 18.0 \pm 4.4
16. PA3800 River Malila	14.0-28.0 20.2 \pm 5.5	9.0-25.0 15.6 \pm 5.8	0.6-2.2 1.4 \pm 0.6	- -	9.0-19.6 14.1 \pm 2.8	8.8-18.7 12.8 \pm 2.3	- -	- -
17. PA4097 River Malila	17.0-31.0 23.6 \pm 5.5	9.0-19.0 14.6 \pm 5.1	1.0-3.0 1.8 \pm 0.8	- -	10.8-22.3 13.9 \pm 2.8	8.3-14.6 10.6 \pm 1.6	- -	- -

The second group (Table 1, Figs 11-20) included the three populations from the Malila River, and were identified as *P. nevadensis* according to the characteristics described by Setchell & Gardner (1920), with some differences in cell size (Table 2). This group was characterized by its small lamina (≥ 3.0 cm long),

Table 2. Characteristics of freshwater populations of *Prasiola* in Mexico and species reported in the literature.

<i>Taxon</i>	<i>Size of frond</i> Width × length (cm)	<i>Thickness</i> (μ m)	<i>Cell size</i> Width × length (μ m)	<i>Reference</i>
<i>P. mexicana</i>	0.3-4.5 × 0.2-9*	16.2-130	3.1-16 × 6.1-19.8	(this work)
<i>P. nevadensis</i>	1.4-2.1 × 2-2.3	20.7-28	8.3-18.7 × 9-22.3	(this work)
<i>P. fluviatilis</i>	0.02-0.3 × 4.5-95.0	2-4	3-5.7 × 3.2-6.1	Hamilton & Edlund (1994)
<i>P. formosana</i> var. <i>coreana</i>	0.4-2.3 × 1.0-7.5	20.0-28.0	3-5 × 10-17.5	Naw & Hara (2002)
<i>P. formosana</i> var. <i>formosana</i>	0.2-2.6 × 2.0-10.7	25.0-30.0	2-5 × 3-7	Naw & Hara (2002)
<i>P. japonica</i>	0.5-4.0 × 1.0-20	19.0-25.0	7.5-10 × 17.5-22.5	Starmach (1972) Naw & Hara (2002)
<i>P. mexicana</i>	– × 10.0	24.0-52.0	6.0-16 × –	Setchell & Gardner (1920) Starmach (1972)
<i>P. nevadensis</i>	0.5-1.0 × 2.0-3.0	14.0-25.0	2.7-4.1 × 4.1-8	Setchell & Gardner (1920)
<i>P. sinica</i>	3.0 × 9.0	30.0-33.0	5-8 × 9-13	Starmach (1972)
<i>P. subareolata</i>	0.5 × 6.0	45.0-54.0	6-8 × 28-38	Starmach (1972)
<i>P. velutina</i>	0.03-0.07 (0.11) × 1-2	–	– × 4-12	Starmach (1972)
<i>P. yunnanica</i>	4.0 × 20.0	51.0-87.0	5.0-7.0 × 7.0-12.0	Starmach (1972)
<i>Prasiola</i> sp.	0.5-5.0 × 2.0-12.0	20.0-35.0	4.0-13.0 × 12.0- 20.0	Naw & Hara (2002)

– = not reported.

smooth surface, oval form, and one or two fronds that originate from the same base (Fig. 11). It attaches to the substratum with a small mass of elongated, fibrous cells that form a rhizoidal holdfast (Fig. 14). All sections of the lamina tended to be monostromatic and were at least 28 μ m thick (Fig. 15). Vegetative cells were oval to square, larger than in populations of *P. mexicana*, 8.3-18.7 μ m in diameter (average 11.7 μ m); length 9.0-22.3 μ m (average 14.1 μ m). In natural conditions round to irregular aplanospores were found with a granular cellular content and dimensions of 15.0-25.8 μ m in diameter (average 18.0 μ m) and 17.2-39.5 μ m in length (average 22.9 μ m); these were seen to be grouped or isolated at the apex and margin of the lamina surface (Figs 16-17).

Three previously unreported characteristics were observed in the three populations. The margin of the entire lamina was lobed and crenate (Fig. 13). This feature was consistent and allowed the differentiation of *P. nevadensis* from *P. mexicana*. Setchell & Gardner (1920) included figures of *P. nevadensis* where a

←
Figs 2-10. Morphological characteristics of *Prasiola mexicana*. **2.** General view of the lamina showing bifurcated branches (arrow)(CB 5). **3.** Detail of the lobed chloroplast, pyrenoid stained with iodine (arrow), and aplanospores (arrowhead) (specimens in culture). **4.** Detail of the lamina margin (specimens in culture). **5.** Detail of the rhizoidal holdfast (arrow) and a group of aplanospores (arrowhead) (MA 26). **6.** Transverse section of the monostromatic region (arrow) and formation of aplanospores (arrow) (MA 87). **7.** Transverse section of the polystromatic region (MA 87). **8.** Lamina margin with aplanospores (arrow) (specimens in culture). **9.** Surface view of the corrugated lamina (MA 87). **10.** Rhizoidal cells in the middle region of the lamina (arrow) (MA 87). Scale bars: 10 mm for Figs 2, 9; 100 μ m for Figs 4-5, 7, 10; and 10 μ m for 3, 6, 8.

and a wide range of light intensity (low-high) and water current speed (10-85 cm.s⁻¹). In populations 2 and 10, specimens were collected in the splash zone from the water to 10 cm above the maximum level of the current. The temperature data are similar to those reported by Sheath & Cole (1992) and Ramírez *et al.* (2001). The most frequent substratum was andesitic-basaltic rock. Occasionally trunks or metal tubes served as a substratum as well. *Prasiola mexicana* commonly grew with other algae such as *Placoma regulare* and *Cocconeis placentula* var. *lineata*, and was occasionally seen with *Paralemanea mexicana*. Populations of *P. nevadensis* grew in a river of humid temperate climate with cold water (14.0°C) that was acidic (pH = 5.5), had medium specific conductivity (192 µS.cm⁻¹), was shallow (0.2-20.0 cm), and had low irradiance and high water current speed (60-85 cm.s⁻¹). The predominant substratum was lime-lutite and *P. nevadensis* grew in association with other algae such as *Xenotholos huastecanus*. This is the first report of the habitat of *P. nevadensis*.

Description of the Mexican material

Prasiola mexicana J. Agardh, 1847. (Figs 2-10)

Monostromatic thallus 2.0-9.0 cm long, 0.3-4.5 cm wide, length/width 0.2-3.7; with bifurcating ramifications at apex. Lamina surface smooth or corrugated and margin smooth to lobed; thickness of 16.2-130.0 µm; 1 to 4 laminae per rhizoidal holdfast. Cells oval to rectangular, 6.1-19.8 µm long, 3.1-16.0 µm in diameter. Aplanospores 4.5-10.8 µm long, 5.4-10.6 µm in diameter in the polystromatic layer (4-8 layers).

Populations examined: (Numbering corresponds to the list of Table 1). **1)** D.F., Magdalena Contreras, Trout tank, *coll. J. Carmona*, 19.xii.1998 (FCME MA87); **2)** Xalancocotla, *coll. J. Carmona*, 23.xi.1997 (FCME MA1); **3)** *coll. M. Ramírez*, 23.xi.1997 (FCME MA9); **4)** *coll. J. Carmona*, 8.ii.1998 (FCME MA26); **5)** (FCME MA36); **6)** *coll. M. Bojorge*, 4.xi.1999 (FCME MA102); **7)** Purification plant, *coll. J. Carmona*, 24.i.1999 (FCME MA94); **8)** *coll. M. Ramírez*, (FCME MA154); **9)** Cuajimalpa, Agua de Leones, *coll. J. Carmona*, 19.vi.1999 (FCME CB5); **10)** *coll. E. Cantoral*, 28.xi.1999 (FCME CB32); **11)** San Borja, *coll. J. Carmona*, 15.v.1999 (FCME DL18); **12)** *coll. G. Montejano*, 15.v.1999 (FCME DL26); **13)** Estado de México, Jilotzingo, San Luis Ayucán, *coll. M. Ramírez*, 18.vii.2001 (FCME SL25); **14)** Villa del Carbón, river Villa del Carbón, *coll. J. Carmona*, 18.vii.2001 (FCME VC22).

Prasiola nevadensis Setchell *et* Gardner, 1920. (Figs 11-20)

Monostromatic thallus, 2.2-2.3 cm long, 1.4-2.1 cm wide, length/width 0.5-2.3. Lamina surface smooth, margin lobed and crenate; lamina 20.7-28.0 µm thick. 1-2 laminae per rhizoidal holdfast. Cells oval to rectangular, 9.0-22.3 µm long, 8.3-18.7 µm diameter. Aplanospores 17.2-39.5 µm long, 15.0-25.8 µm in diameter, in the polystromatic layer (1-2 layers). Gametangia ovoid with elliptical or oval gametes, without flagella, 3.2-5.4 µm in diameter.

Population examined: (Numbering corresponds to the list of Table 1) **15)** Hidalgo, Molango, river Malila, *coll. J. Carmona*, 15.ii.1992 (FCME PA3292); **16)** *coll. G. Montejano*, 10.iii.1999 (FCME PA3800); **17)** *coll. J. Carmona*, 6.xi.2002 (FCME PA4097).

Acknowledgements. This research was supported by a CONACYT (J33930-V) Research Grant to E. Cantoral. We would like to thank Isabel Bieler Antolín and Yenny Beltrán Magos for her help in printing photographs, Laura Patricia Olgún of the controlled environment chambers for their help in maintaining cultures, Jeffrey Ross-Ibarra for reviewing the English and Pierre Compère for French translation.

Table 3. Physical and chemical characteristics of streams containing freshwater populations of *Prasiola* in Central Mexico. Number of sampling sites are those represented in Figure 1.

Sampling site	Populations	Altitude (masl)	Climate ^a	Temperature (°C)	pH	Specific conductance ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Current velocity ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$)	Shading ^b	Depth (cm)	Substratum ^c	Associated species
1. Trout tank, river La Magdalena	1	3000	C(w ₂)(w)	4	6.4	65	60	A-C	0-20	1	<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i> (Ehrenberg) Van Heurck, <i>Hydrococcus cesatii</i> , Rabenhorst, <i>Cymbella silesiaca</i> Bleisch.
2. Xalancocotla, river La Magdalena	2, 3, 4, 5, 6	3150	"	3-11	6.7-7.7	65-90	0-85	A-C	2	1-2	<i>Synedra ulna</i> (Nitzsch) Ehrenberg, <i>Melosira varians</i> J. Agardh, <i>Cymbella mexicana</i> (Ehrenberg) Cleve, <i>Gomphonema</i> sp., <i>Diploneis elliptica</i> (Kützing) Cleve, <i>Placoma regulare</i> Broady et Ingerfeld.
3. Purification plant, river La Magdalena	7, 8	2800	"	2-11	7.3-7.6	90-94	0-85	C	0-11	1-2	<i>Ulothrix</i> sp.
4. Agua de Leones	9, 10	3220	"	7-12	7.0-7.6	35-36	90	A	0-5	1	<i>C. placentula</i> var. <i>lineata</i> , <i>Xenotholos</i> sp., <i>Fragilaria</i> sp., <i>P. regulare</i>
5. San Borja	11, 12	2800	"	10-16	6.9-7.2	60-60	35-85	A	0-10	"	<i>C. placentula</i> var. <i>lineata</i> , <i>Cymbella</i> sp., <i>Navicula</i> sp.
6. San Luis Ayucán	13	2664	"	16	6.6	79	60	A	10	"	<i>Paralemanea mexicana</i> (Kützing) Vis et Sheath
7. Villa del Carbón	14	2227	"	14	7.0	76	35-85	A	0-8	"	-
8. River Malila	15, 16, 17	1300	C(fm)	14-17	5.5-7.2	192	60-85	C	0-20	"	<i>C. placentula</i> var. <i>euglypta</i> (Ehrenberg) Grunow, <i>Xenotholos huastecanus</i> Gold, Montejano et Komárek, <i>Chamaesiphon</i> sp.

^a = García (1973): C(w₂)(w) = Temperate, dry winter < 5%; C (fm) = Temperate, no dry season.

^b = A, open; B, partly shaded; C, shaded.

^c = 1, predominantly bedrock; 2, predominantly boulder.

lightly crenate margin can be seen, although it was not described in the text; this characteristic, however, is not mentioned for any other freshwater species (Starmach, 1972). The second novelty was the presence of multilocular, ovoid gametangia in the margins of the thallus; these were found to have hyaline gametes with a small pyrenoid, lacking flagella (Figs 18-19), and were from 3.2-5.4 μm in diameter (average 4.3). The gametes were significantly smaller than the aplanospores ($p < 0.0001$) and agree with the description of the female gametes described for marine populations of *P. stipitata* (3.2-5.0 μm in diameter; Friedmann, 1959a, 1959b) and *P. meridionalis* (3.0-6.0 μm in diameter; Bravo, 1965). The gametes were liberated upon rupture of the wall of the gametangium (Fig. 19). This is the first report of gametes for this species (Setchell & Gardner, 1920; Starmach, 1979). The third characteristic of the cultured specimens was the development of packets of cells fixed to the apical margin of the adult lamina (Fig. 20); these packets were probably produced by *in situ* germination of the aplanospores, as described in *P. stipitata* (Friedman, 1959). The cellular packets were found separately and showed a tendency to be filamentous. In order to identify the range of morphological plasticity in this alga, more detailed studies on its reproduction and seasonal morphological changes are needed.

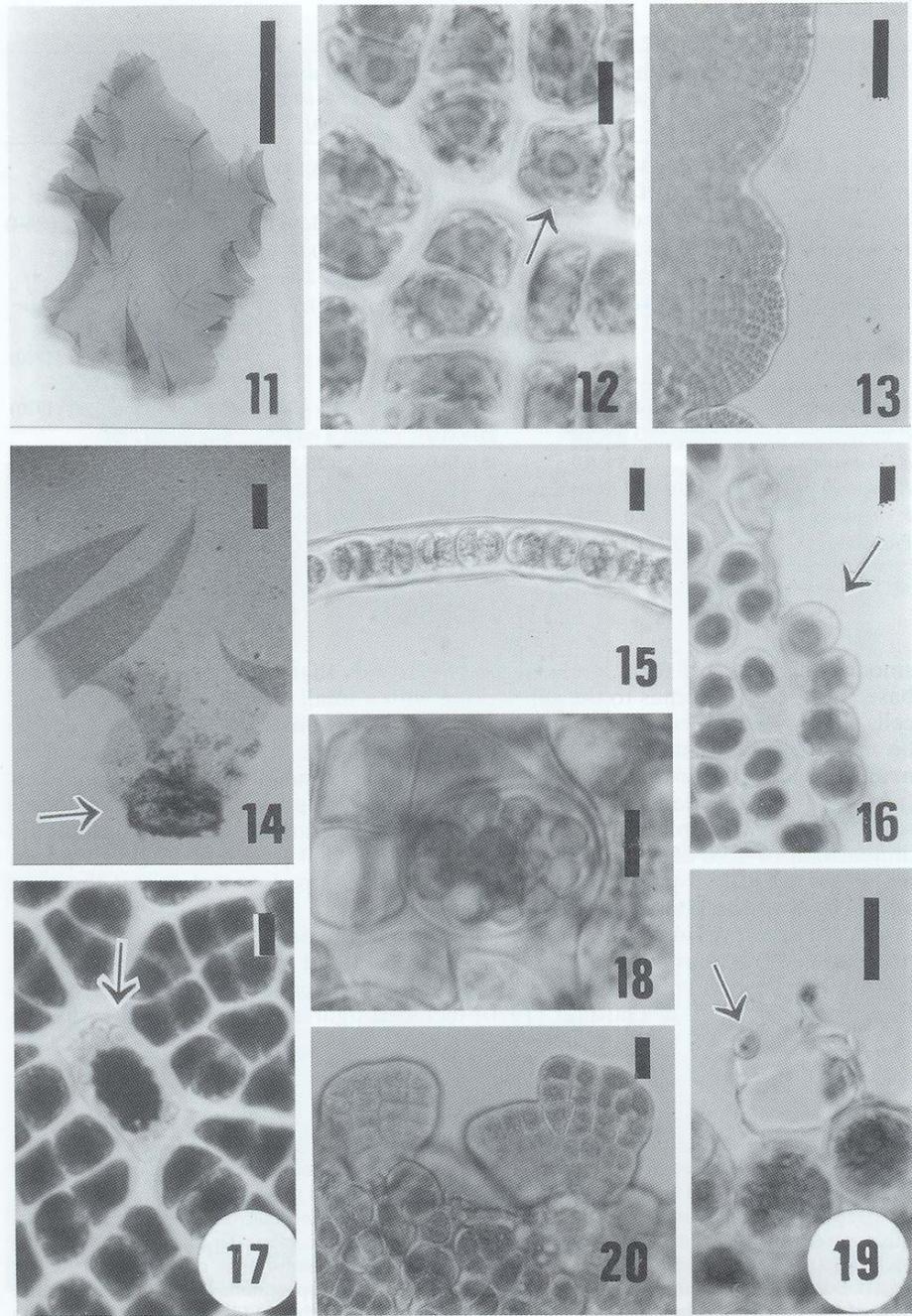
Distribution

The populations studied were found in 8 waterways of first and second order, at altitudes above 1300 m and in humid to subhumid temperate climates. *Prasiola mexicana* was collected in high montane rivers (altitude $> 2,200$ m) in areas similar or close to previous records for central Mexico (Setchell & Gardner, 1920; Ramírez *et al.*, 2001). Its distribution is reported to include the United States, Mexico and Costa Rica (Collins 1909; Sherwood *et al.*, 2000; Ramírez *et al.*, 2001). Collections of *P. nevadensis*, previously undescribed in Mexico, represent the second record of the species, and extend its range to the equator (40° N vs. 20° N). On the basis of this record, it is suggested that the distribution of this species might be much broader, as is the case for other temperate North American species found in central Mexico, *Sirodotia suecica* Kylin and *Paralemanea annulata* (Kützing) Vis et Sheath (Carmona, 1997; Carmona & Necchi, 2002). It will be necessary to explore waterways of similar characteristics (mountainous areas with cold water) in more tropical latitudes to confirm this hypothesis.

In terms of environmental characteristics (Table 3), populations of *P. mexicana* grew in seven shallow (0.1-20.0 cm) rivers with cold water (2.0°C a 16.4°C), a slightly acidic to basic pH (6.4-7.6), low conductivity (35.5 - 94.2 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$),

◀
Figs 11-20. Morphological characteristics of *Prasiola nevadensis*. **11.** General view of the lamina (PA 4092). **12.** Detail of the lobed chloroplast and pyrenoid stained with iodine (arrow) (specimens in culture). **13.** Detail of the lamina margin (PA 4092). **14.** Detail of the rhizoidal holdfast (arrow) (PA 3800). **15.** Transverse section of the monostromatic region (PA 4092). **16.** Detail of the lamina margin with a group of aplanospores (arrow) (specimens in culture). **17.** Aplanospores isolated with granular cytoplasm (arrow) (specimens in culture). **18.** Detail of the gametangium in the lamina margin (specimens in culture). **19.** Liberation of gametes (arrow) via rupture of the gametangial wall (specimens in culture). **20.** Cellular packets fixed to the apical margin of the adult lamina (specimens in culture). Scale bars: 10 mm for Figs 11, 15; 100 μm for Figs 13-14; and 10 μm for 12, 16-20.

FIG. 2. Characteristics of freshwater populations of *Hydrilla* in Mexico and species reported in



(11A-20) Scale bars: 10 mm for Fig. 2, 100 µm for Fig. 2, 10 and 10 µm for 2, 2

REFERENCES

- AGARDH J., 1847 — Nya alger fran Mexico. *Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar* 4(1): 5-17.
- BRAVO L.M., 1965 — Studies on the life history of *Prasiola meridionalis*. *Phycologia* 4: 177-194.
- CARMONA J.J., 1997 — *Estudio florístico (Taxonómico-ecológico-biogeográfico) de las rodfitas de agua dulce en la región central de México*. PhD Thesis, México, DF, Universidad Nacional Autónoma de México, 201 p.
- CARMONA J.J. & NECCHI O.Jr., 2002 — Somatic meiosis and development of the juvenile gametophyte in members of the Batrachospermales *sensu lato* (Rhodophyta). *Phycologia* 41: 340-374.
- COLLINS F.S., 1909 — The green algae of North America. *Tufts College Studies* 2: 79-490.
- FRIEDL T. & O'KELLY C.J., 2002 — Phylogenetic relationship of green algae assigned to the genus *Planophila* (Chlorophyta): evidence from 18S rDNA sequence data and ultrastructure. *European Journal of Phycology* 37: 373-384.
- FRIEDMANN I., 1959a — Structure, life-history, and sex determination of *Prasiola stipitata* Suhr. *Annals of Botany* 23: 571-594.
- FRIEDMANN I., 1959b — Gametes, fertilization and zygote development in *Prasiola stipitata* Suhr. *Nova Hedwigia* 1: 333-44.
- FRITSCH F.E., 1961 — *The structure and reproduction of the algae*. Vol I Norwich, Jarrold & Sons Ltd, 939 p.
- GARCÍA E., 1973 — *Modificaciones al sistema de clasificación de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. México, Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, 246 p.
- HAMILTON P.B. & EDLUND S.A., 1994 — Occurrence of *Prasiola fluviatilis* (Chlorophyta) on Ellesmere Island in the Canadian Arctic. *Journal of Phycology* 30: 217-221.
- HOLMGREN P.K., HOLMGREN N.H. & BARNETT L.C., 1990 — *Index Herbariorum. Part I. The herbaria of the world*. 8th edition. New York, New York Botanical Garden, 693 p.
- JOHANSEN S.A., 1940 — *Plant microtechnique*. New York, Mc Graw-Hill, 523 p.
- NAW M.W. & HARA Y., 2002 — Morphology and molecular phylogeny of *Prasiola* sp. (Prasiolales, Chlorophyta) from Myanmar. *Phycological Research* 50: 175-182.
- O'KELLY C.J., GARBARY D.J. & FLOYD G.L., 1989 — Flagellar apparatus of male gametes and other aspects of gamete and zygote ultrastructure in *Prasiola* and *Rosenviengiella* (Chlorophyta, Prasiolales) from British Columbia. *Canadian Journal of Botany* 67: 505-514.
- ORTEGA M.M., 1984 — *Catálogo de algas continentales recientes de México*. México, DF, Dirección General de Publicaciones, Universidad Nacional Autónoma de México, 566 p.
- RAMÍREZ V.M., BELTRÁN M.Y., BOJORGE G.M., CARMONA J.J., CANTORAL U.E. & VALADEZ F., 2001 — Flora algal del Río La Magdalena, Distrito Federal, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 68: 51-73.
- RINDI F., GUIRY M.D., BARBIERO R. P. & CINELLI F., 1999 — The marine and terrestrial *Prasiolales* (Chlorophyta) of Galway City, Ireland: a morphological and ecological study. *Journal of Phycology* 35: 469-82.
- SETCHELL W.A. & GARDNER N.L., 1920 — The marine algae of the Pacific Coast of North America. Part 2. Chlorophyceae. *University of California Publications in Botany* 7: 139-374.
- SHEATH R.G. & COLE K.M., 1992 — Biogeography of stream macroalgae in North America. *Journal of Phycology* 28: 448-460.
- SHERWOOD A.R., GARBARY D.J. & SHEATH R.G., 2000 — Assessing the phylogenetic position of the *Prasiolales* (Chlorophyta) using rbcL and 18S rRNA gene sequence data. *Phycologia* 39: 139-46.
- SOUTHWOOD T.R.E., 1978 — *Ecological methods with particular reference to the study of insect populations*. 2nd Ed. New York, Chapman and Hall, 524 p.
- STARMACH K., 1972 — *Flora slodkowodna Polski*. Tomo 10: Chlorophyta III. Warszawa-Kraków, Polska Akademia Nauk, 750 p.
- VAN DEN HOEK C., MANN D.G. & JAHNS H.M., 1995 — *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge, University Press, 623 p.

ANEXO IV

Microhabitat and morphometric variation in two species of *Prasiola* (Prasiolales, Chlorophyta) from streams in central Mexico

Rocío Ramírez Rodríguez · Javier Carmona Jiménez ·
Carlos Martorell Delgado

Received: 22 March 2006 / Accepted: 26 September 2006
© Springer Science+Business Media B.V. 2006

Abstract Prasiolales are characterized by high morphological plasticity. This problem in taxonomic delimitation of the species may be a result of environment heterogeneity. Habitat characteristics and morphological variation of *P. mexicana* and *P. nevadensis*, two species of freshwater leaf-like thallus green algae, were investigated in five sites in central México where the morphological traits of these species overlap. Comparisons were made between habitat characteristics among streams and transects with and without *Prasiola* samples. Although no consistent correlation was found between environmental variables and morphological traits, a significantly wider range of habitat characteristics of current velocity and irradiance and morphometric variation (lamina length, lamina diameter, cell length, surface of the thallus, thickness and number of layers) suggested that *P. mexicana* was more plastic than *P. nevadensis* in its physicochemical requirements. Our results suggest that small variation of microhabitat conditions in *P. nevadensis* (irradiance and current velocity) could explain its very

restricted geographic range in streams in central Mexico.

Keywords Ecology · Freshwater algae · Microhabitat · Morphometric variation · Temperate streams · Mexico

Introduction

Prasiolales green algae have been cited as abundant and frequent components of stream macroalgal communities, and form massive green thalli in temperate, tropical, and boreal climates throughout the world (Starmach 1972; Sheath and Cole 1992; Hamilton and Edlund 1994; Naw and Hara 2002; McClintic et al. 2003; Ramírez and Carmona 2005). The genus *Prasiola* is characterized by a monostromatic laminar thallus and vegetative cells with stellate or lobed chloroplasts containing a single pyrenoid. In Mexico it has been reported in most taxonomic studies involving stream macroalgal communities (Agardh 1847; Knebel 1936; Ortega 1984; Ramírez et al. 2001; Ramírez and Cantoral 2003; Ramírez and Carmona 2005).

The systematic position of *Prasiola* has been controversial, because of morphological similarities with marine genera such as *Ulva*, *Monostroma*, *Enteromorpha*, and *Rosenvingiella* (Smith 1950; Bravo 1965) and overlapping morphometric

R. R. Rodríguez · J. C. Jiménez (✉) ·
C. M. Delgado
Departamento de Ecología y Recursos Naturales,
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad
de Ciencias, Circuito exterior s/n, Ciudad
Universitaria, Coyoacán, A.P. 70-620, C.P. 04510
México City, D.F., México
e-mail: jrcj@hp.ciencias.unam.mx

60 variation and plasticity within *Prasiola* (Hamilton
61 and Edlund 1994; Naw and Hara 2002; Rindi et al.
62 1999; Rindi and Guiry 2004). Ramírez and Car-
63 mona (2005) analyzed taxonomic characteristics
64 of the two stream species of *Prasiola* in central
65 Mexico. They argued that morphometric varia-
66 tions (plant length and cell length and diameter)
67 and morphological characteristics (surface texture
68 of the thallus) could be explained by environ-
69 mental factors. Information about algal ecology
70 and ecophysiology in Prasiolales can be found
71 elsewhere (Friedmann 1959, 1960). Cole and
72 Akintobi (1963) noted that gametes of *P. stipitata*
73 Suhr and *P. meridionalis* Setchell & Gardner
74 were released from the thallus when it was kept at
75 low temperature and in short periods of light. In
76 the same way, Anderson and Foster (1999)
77 reported that high insolation affects the distribu-
78 tion and abundance of *P. meridionalis*. In terres-
79 trial species such as *P. calophylla* (Carmichel)
80 Meneghini and *P. crispa* (Lighth) Meneghini it
81 developed above firm substrata and its asexual
82 reproduction was related to the warmest season
83 of the year (Rindi et al. 1999).

84 Studies of *Prasiola* have been oriented toward
85 supraspecific characteristics (Rindi et al. 1999;
86 Sherwood et al. 2000; Naw and Hara 2002;
87 Ramírez and Carmona 2005), demonstrating that
88 ecological information is still lacking. The pur-
89 pose of this study was to evaluate the effect of
90 physical factors (current velocity, depth, irradi-
91 ance, and substratum type) on small-scale (micro-
92 habitat) spatial distribution, morphometric
93 adaptations, and percentage cover of *P. mexicana*
94 and *P. nevadensis* populations in five streams in
95 the central region of Mexico.

96 Material and methods

97 Fieldwork was performed at the end of the rainy
98 season and winter (November–February), these
99 being the most favorable growth periods for four
00 populations of *Prasiola mexicana* and one of *P.*
01 *nevadensis* in the region (Ramírez and Carmona
02 2005), in five sites located in the central region of
03 Mexico (Table 1). Each sampling location con-
04 sisted of randomly chosen stream segments, 10 m
05 long. Observations were made of natural substra-

106 tum (gravel, sand, pebbles, and boulders). Micro-
107 habitat analysis was conducted using the quadrant
108 technique (Krebs 1989; Necchi et al. 1995), which
109 evaluates the effect of microhabitat variables
110 (current velocity, depth, subaquatic irradiance,
111 and type of substratum) on scales of a few
112 centimeters over the vegetative and reproductive
113 characteristics of the lamina. Each sampling
114 quadrant was a circle of 10 cm radius (area
115 314 cm²). Type and size of sampling quadrants
116 were defined from preliminary tests and previous
117 research (Necchi et al. 1995; Ramírez and Car-
118 mona 2005). Sample size consisted of 10 quad-
119 rants, each separated by 1 m; their locations were
120 determined by random numbers between 0 and
121 180°. In one of these positions we situated a
122 sampling site with the algae (presence quadrants)
123 and also looked for a point without the algae
124 (absence quadrants) to evaluate differences be-
125 tween microhabitat characteristics. We sampled
126 20 sampling quadrants per segment (ten presence
127 quadrants and ten absence quadrants).

128 Temperature, pH and specific conductance
129 were measured for each river segment with a
130 Conductronic PC-18 conductivity meter. Micro-
131 habitat variables were measured in situ at the
132 center of each sampling quadrant. Current vel-
133 ocity and irradiance were measured as close as
134 possible to the algal growth using a Swoffer 2100
135 current velocity meter and a Li-Cor LI-1000
136 quantum meter with a flat subaquatic sensor of
137 photosynthetic active radiation (PAR), respec-
138 tively. Algal cover (%) was recorded by the same
139 person within each sampling quadrant by visual
140 estimation with a 175 cm² viewfinder. Five lam-
141 inas were collected per sampling quadrant and
142 preserved in 3% formaldehyde for subsequent
143 evaluation in the laboratory. Specimens collected
144 within quadrants were measured to determine the
145 morphometric characteristics previously believed
146 to be of taxonomic importance—diameter, length
147 and thickness of lamina, diameter and length of
148 vegetative cells, number of layers, and surface of
149 the lamina (Ramírez and Carmona 2005). Mea-
150 surements of diameter and length of lamina were
151 made in replicate for five plants and cells; number
152 of layers and surface dimensions were made in
153 replicates of 20. Means were calculated for each
154 morphometric characteristic. 154

Table 1 Location and characteristics of the sampling sites of *Prasiola mexicana* and *P. nevadensis* populations. Substratum (B = boulder)

Location, date, and hour	Temperature, °C	Conductivity, $\mu\text{S cm}^{-1}$	Dissolved oxygen mg L^{-1}	pH	Substratum ^a , %	Depth, cm	Irradiance ^a , $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Current velocity ^a , m s^{-1}	Species
<i>Site 1</i> 4° Dinamo 14.II.03 19°16' N, 99°18' O Hour: 11.10 am	7.2	60	100	7.2	B-100	0-6	45-387 227.3 ± 35.6	0-1.02 0.3 ± 0.1	<i>P. mexicana</i>
<i>Site 2</i> 2° Dinamo 5.II.03 19°29' N, 99°17' O Hour: 10.10 am	7.6	66	120	7.8	B-100	0-11	130-1631 913.8 ± 157.6	0-0.69 0.1 ± 0.08	<i>P. mexicana</i>
<i>Site 3</i> Agua de Leones 1.III.03 19°17' N, 99°19' O Hour: 11.15 am	10.0	45	4.0	6.0	B-100	0-4	294-1342 762.4 ± 141.1	0 - 0.53 0.1 ± 0.06	<i>P. mexicana</i>
<i>Site 4</i> Molinos 12.II.05 19°40' N, 99°26' O Hour: 12:35 pm	14.0	60	-	7.8	B-100	0-15	60-1607 588.9 ± 143.2	0-0.50 0.2 ± 0.05	<i>P. mexicana</i>
<i>Site 5</i> Mahila 4.XII. 03 20°45' N, 98°45' O Hour: 1:13 pm	16.0	262	8.8	7.5	B-100	0-7	18-35 27.6 ± 1.7	0-0.30 0.1 ± 0.1	<i>P. nevadensis</i>

^a Values are minimum, maximum, and averages ± standard error, calculated from measurements taken with quadrants (presence). - denotes values were not recorded

We used a Mann–Whitney test to assess environmentally significant differences between presence and absence quadrants at each site and a Kruskal–Wallis test to assess morphometric and environmental differences among five populations of *Prasiola*. When these tests were significant, the Mann–Whitney test was conducted among all pairs of sites to detect which differed significantly. The substratum preference was evaluated by use of a log–linear regression model. Associations among percentage cover and morphometric data with microhabitat variables were tested using the Spearman correlation coefficient (Gotelli and Ellison 2004). Tests were performed with the software SPSS 12 and GLIM 4.

Results

Prasiola populations occurred under very diverse environmental conditions (Table 1, Fig. 1, 2). Similarities between the two species were boulder substratum and shallow depth; differences were conductivity, irradiance, and, possibly, current velocity and temperature. Environmental conditions had particular patterns for each species studied. The Mann–Whitney test applied between presence and absence quadrants revealed significant differences for depth ($U = 1.00$ – 17.50 , $P < 0.05$) and substratum ($\chi^2 = 65.52$, $P < 0.001$) in the five sites and current velocity in sites 2 and 5 ($U = 16.00$ – 19.50 , $P < 0.05$). The Kruskal–Wallis test revealed significant differences in all the morphometric characteristics and percentage cover among the five populations (Fig. 2): percentage cover ($H = 17.34$, $P < 0.05$), lamina length ($H = 54.4$; $P < 0.001$), cell length ($H = 59.5$; $P < 0.001$), cell diameter ($H = 53.7$; $P < 0.001$), thallus undulations ($H = 26.55$; $P < 0.001$), thickness ($H = 105.4$; $P < 0.001$), and cell layers ($H = 76.9$; $P < 0.001$).

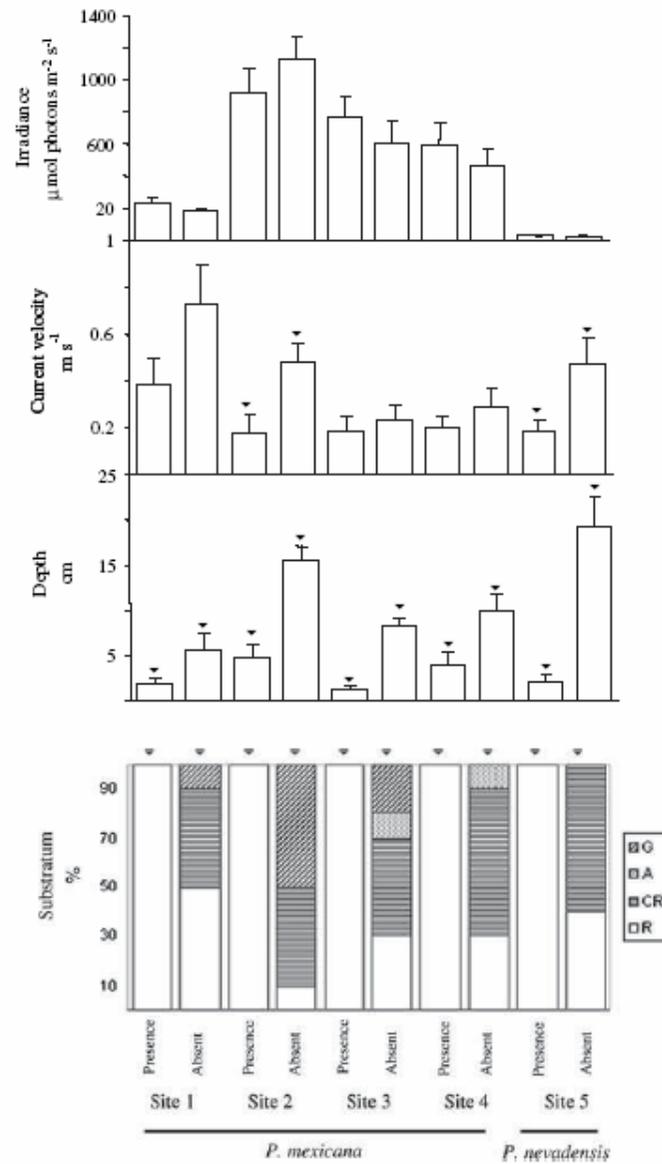
Some significant correlations were found between environmental conditions and morphometric data (Table 2). These were found to be significant at one site only, however, or when the correlation was significant at two sites it had opposite signs. Thus, there was no consistent relationship among form and environment. Positive correlations were obtained for the morpho-

metric variables lamina length and lamina diameter in four sites ($\rho = 0.69$ – 0.94 ; $P < 0.05$), lamina length and cell length in sites 2 and 4 ($\rho = 0.65$ – 0.83 ; $P < 0.05$), cell length and cell diameter in sites 1, 2, 4, and 5 ($\rho = 0.68$ – 0.93 ; $P < 0.05$), thickness and number of layers in sites 1, 2, and 5 ($\rho = 0.79$ – 0.89 ; $P < 0.01$), and lamina length and thickness ($\rho = 0.63$; $P < 0.05$) and number of layers ($\rho = 0.71$; $P < 0.05$) in site 5. The negative correlation was for lamina length and thallus undulations ($\rho = -0.68$; $P < 0.05$) in site 5.

Discussion

It has been reported that environmental heterogeneity is responsible for morphological variation in other Chlorophyta populations (Branco and Necchi 1998; Vieira and Necchi 2002). Our data show, however, that despite their large morphological variation these two *Prasiola* species have no plastic response to the conditions they experience. The same lack of pattern has been reported for Characea populations (Vieira and Necchi 2002). More studies are needed to establish whether it is common in other algae. *Prasiola mexicana* occurred under a wide range of microhabitat conditions, suggesting they tolerate substantial variations of current velocity and irradiance. In this study the current velocity was in the range 0.05 – 2 m s^{-1} reported by Hamilton and Edlund (1994) and McClintic et al. (2003) for *P. fluviatilis*, and similar to those for *Prasiola* sp. in low or zero current velocity (Naw and Hara, 2002). Rindi and Guiry (2004) proposed that emersed Prasiolales populations have evolved different mechanisms to exist in subaerial conditions. One such mechanism is a physiological adaptation for fixing bicarbonates in the photosynthetic process and Mycosporine-like amino acid (MAAs) production for ultraviolet filtration (Raven and Johnson 1991; Lud et al. 2001; Rozema et al. 2002; Gröniger and Häder 2002; Karsten et al. 2005). Another adaptation is the protection given by several lamina layers for humidity retention and assimilation of nutrients in *P. crispa* (Lud et al. 2001).

Fig. 1 Irradiance, current velocity, depth, and dominant substratum (*G* = gravel, *S* = sand, *P* = pebbles and *B* = boulders) (*n* = 10, mean \pm 1 SE) for *Prasiola mexicana* and *P. nevadensis* populations in presence and absence quadrants in the five sites studied. *Arrow heads* show differences between presence and absence quadrants for the same population according to the Mann-Whitney test (α = 0.05). Sites are numbered in accordance with Table 1



Prasiola mexicana populations in central Mexico have a preference for boulder substrata that is shared by several freshwater species in the genus; for example, *P. japonica* Yatabe, *P. formosana* Okada, *P. sinica* Jao (Starmach 1972), *P. fluvialis* (Sommerf.) Aresch (Hamilton and Edlund 1994; McClintic et al. 2003), and *Prasiola* sp.

(Naw and Hara 2002). This characteristic is apparently related to the stable substrata and the time for rhizoidal holdfast development. Greater tolerance of microhabitat conditions and high percentage cover can explain the relatively large number of temperate streams in central Mexico with *P. mexicana*, including

253
254
255
256
257
258
259

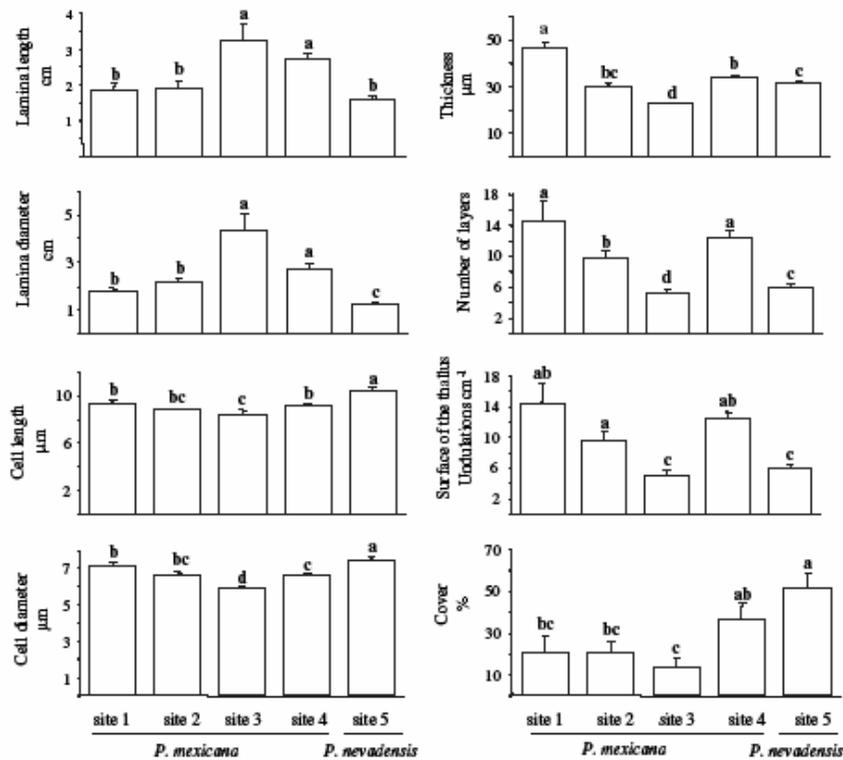


Fig. 2 Morphometric and percentage cover values (mean \pm 1 SE) for populations of *Prasiola mexicana* and *P. nevadensis* in the five sites studied. Sites with the same letter do not differ significantly (Mann–Whitney test, $\alpha = 0.05$). For morphometric variables $n = 200$

Table 2 Significant values of Spearman's ρ correlation coefficient among environmental variables and morphometric characteristics for *Prasiola* populations

Variables	Characters	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5
Current velocity	Thickness	0.76**	–	–	–	–
	Percentage cover	–	–	0.71*	–	–
	Lamina length	–	–	–	0.66*	–
	Number of layers	–	0.63*	–	–	–
Irradiance	Percentage cover	–	–	–0.68*	0.65**	–
	Lamina length	–	–	–0.65*	–	–
	Undulations	0.67*	–	0.67*	–	–
	Cell diameter	–	–	–	–	–0.63**
Depth	Lamina length	–0.65*	–	–	–	–
	Lamina diameter	–0.72*	–	–	–	–
	Thickness	–	0.63*	–0.65*	–	–
	Number of layers	–	0.64*	–	–	–
	Undulations	–	–	–0.65*	0.85**	–

Sites are numbered in accordance with Table 1 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; – = non-significant values

pristine (Ramírez and Cantoral 2003) to little-disturbed habitats (Ramírez et al. 2001). Thus, these results suggest that *P. mexicana* is a highly tolerant species similar to other Chlorophyceae populations, for example *Stigeoclonium helveticum* Vischer with tolerance of high irradiance (1010–1235 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), low depth (20.2–21.7 cm), and variable current velocity (0.47–0.97 m s^{-1}) (Branco and Necchi 1998).

Our results suggest that *P. nevadensis* grows in a narrow range of current velocity and irradiance and in higher-conductivity waters than *P. mexicana*. *P. nevadensis* also grows on boulder substrata. The significant negative correlation of irradiance with cell diameter and the narrow range of irradiance in this study indicate limited tolerance of high irradiation; this is dissimilar to the populations of *Prasiola mexicana* in this study. Similar trends of low irradiance have been observed for several stream populations of filamentous and parenchymatous Chlorophyta and Prasiolales species, for example *Rhizoclonium hieroglyphicum* (C. Ag) Kütz (105 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), *Chara* sp. (300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Necchi 2004), and *P. fluviatilis* (riparian cover 75%, McClintic et al. 2003). This suggests that *P. nevadensis* is a shade-tolerant species. This information about the ecological distribution and environmental requirements of *P. nevadensis* is consistent with its taxonomic designation (Ramírez and Carmona 2005), but the survey is not sufficient to complete our taxonomic knowledge. The significant cell length and diameter differences between *P. nevadensis* and the four populations of *P. mexicana* confirm the importance of these morphometric characteristics in distinguishing between these species, as proposed by Ramírez and Carmona (2005). The significant correlations found between morphometric and microhabitat variables also suggest that *P. nevadensis* has limited plasticity to cope with the typical spatial heterogeneity of lotic habitats (Whitton 1975). Narrow microhabitat range can explain the relatively low frequency of this species in the streams of Central Mexico (Montejano et al. 2004; Ramírez and Carmona 2005).

Acknowledgements This research was partial funded by the Program "Ecosystems management and human

development: La Magdalena basin, Mexico City"—UNAM. The authors are indebted to Professor G. Garduño, M. Ramírez, and O. Sandoval for help with fieldwork and to David Adams for the English language review.

References

- Agardh JG (1847) Nya alger fran Mexico. Oversigt af kongl. Vetenskaps-Akademiens förhandlingar 4:5–17
- Anderson BA, Foster MS (1999) The effects of insolation and grazing on populations of the splash zone alga *Prasiola meridionalis* (Chlorophyta). *Phycologia* 38:349–355
- Bravo LM (1965) Studies on the life history of *Prasiola meridionalis*. *Phycologia* 4:177–194
- Branco C, Necchi O, Jr. (1998) Microhabitat and morphometric variation of two chaetophoracean (Chaetophorales, Chlorophyta) species in tropical streams of southeastern Brazil. *Phycological Res* 46:169–174
- Cole K, Akintobi S (1963) The life cycle of *Prasiola meridionalis* Setchell & Gardner. *Can J Bot* 41:661–668
- Friedmann I (1959) Structure, Life-history and sex determination of *Prasiola stipitata* Suhr. *Ann Bot* 23:571–597
- Friedmann I (1960) Gametes, fertilization and zygote development in *Prasiola stipitata* Suhr. *Nova Hedwigia* 13:333–350
- Gotelli NJ, Ellison AM (2004) A Primer of ecological statistics. Sinauer Associates, Inc, U.S.A.
- Gröniger A, Häder D-P (2002) Induction of the synthesis of an UV-absorbing substance in the green alga *Prasiola stipitata*. *J Photochem Photobiol* 66:54–59
- Hamilton PB, Edlund SA (1994) Occurrence of *Prasiola fluviatilis* (Chlorophyta) on Ellesmere Island in the Canadian Arctic. *J Phycol* 30:217–221
- Karsten U, Friedl T, Schumann R, Hoyer K, Lembecke S (2005) Mycosporine-like amino acids and phylogenies in green algae: *Prasiola* and its relatives from the Trebouxiophyceae (Chlorophyta). *J Phycol* 41:557–566
- Knebel G (1936) Monographie der algenreihe der Prasiolales, insbesondere von *Prasiola crispa*. *Hedwigia* 75:1–120
- Krebs C (1989) Ecological methodology. Harper and Row, Publishers, U.S.A.
- Lud D, Buma AG, Van De Poll W, Moerdijk TC, Huiskes A (2001) DNA damage and photosynthetic performance in the Antarctic terrestrial alga *Prasiola crispa* ssp. *antarctica* (Chlorophyta) under manipulated UV-B radiation. *J Phycol* 37:459–467
- McClintic A, Casamatta DA, Vis ML (2003) A survey of algae from montane cloud forest and alpine streams in Bolivia: macroalgae and associated microalgae. *Nova Hedwigia* 76:363–379
- Montejano G, Cantoral-Uriza E, Carmona J (2004) Algas de ambientes lóticos en la cuenca baja del río Pánuco. In: Luna I, Morrone J, Espinoza D,

- (eds) Biodiversidad de la Sierra Madre Oriental, Las prensas de Ciencias, México, D.F, pp 111–126
- Naw MW, Hara Y (2002) Morphology and molecular phylogeny of *Prasiola* sp. (Prasiolales, Chlorophyta) from Myanmar. *Phycological Res* 50:175–182
- Necchi O, Jr. (2004) Light-related photosynthetic characteristics of lotic macroalgae. *Hydrobiologia* 525:139–155
- Necchi O, Jr., Branco L, Cesar C (1995) Comparison of three techniques for estimating periphyton abundance in bedrock streams. *Archiv für Hydrobiologie* 134:393–402
- Ortega MM (1984) Catálogo de algas continentales recientes de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México
- Ramírez RR, Carmona J (2005) Taxonomy and distribution of freshwater *Prasiola* (Prasiolales, Chlorophyta) in central Mexico. *Cryptogamie algologie* 26:177–188
- Ramírez V, Beltrán MY, Bojorge GM, Carmona J, Cantoral UE, Valadez F (2001) Flora algal del río La Magdalena, Distrito Federal, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 68:51–73
- Ramírez V, Cantoral UE (2003) Flora algal de ríos templados en la zona occidental de la cuenca del Valle de México. *Anales del Instituto de Biología* 74:143–194
- Raven JA, Johnson AM (1991) Photosynthetic inorganic carbon assimilation by *Prasiola stipitata* (Prasiolales, Chlorophyta) under emersed and submersed conditions: relationship to the taxonomy of *Prasiola*. *Brit Phycol J* 26:251–254
- Rindi F, Guiry MD (2004) Composition and spatial variability of terrestrial algae assemblages occurring at the bases of urban walls in Europe. *Phycologia* 43:225–235
- Rindi F, Guiry MD, Barbiero RP (1999) The marine and terrestrial Prasiolales (Chlorophyta) of Galway City, Ireland: a morphological and ecological study. *J Phycol* 35:469–482
- Rozema J, Björn O, Bornman JF, Gaberšček A, Häder D-P, Trost T, Germ M, Klisch M, Gröniger A, Sinha RP, Lebert M, He Y-Y, Buffoni-Hall R, Bakker NV, Van De Staatt J, Meijkamp BB (2002) The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems—an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *J Photochem Photobiol* 66:2–12
- Sheath RG, Cole KM (1992) Biogeography of stream macroalgae in North America. *J Phycol* 28:448–460
- Sherwood AR, Garbary DJ, Sheath RG (2000) Assessing the phylogenetic position of the Prasiolales (Chlorophyta) using *rbcL* and 18S rRNA gene sequence data. *Phycologia* 39:139–146
- Smith G (1950) The fresh-water algae of United States. McGraw-Hill, USA
- Starmach K (1972) Flora Słodwodna Polski. Tome 10: Chlorophyta III. Państwowe wydawnictwo Naukowe, Warszawa-Kraków
- Vieira J, Necchi O, Jr. (2002) Microhabitat and plant structure of Characeae (Chlorophyta) populations in streams from São Paulo State, southeaster Brazil. *Cryptogamie Algologie* 23:51–63
- Whitton B (1975) River ecology. Studies in ecology, vol 2. Blackwell Scientific Publications, U.S.A