



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Biología de la alimentación de *Ambystoma mexicanum*: implicaciones para su conservación

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (AMBIENTAL)
P R E S E N T A :
DIEGO DE JESUS CHAPARRO HERRERA

DIRECTOR DE TESIS
DRA. NANDINI SARMA

MÉXICO D.F.

SEPTIEMBRE 2007.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

GRACIAS

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo brindado para la culminación de este proyecto, con la beca con número 193543.

A los miembros del Comité Tutorial integrado por el Dr. Luis Zambrano Gonzáles, Dra. Guillermina Alcaraz Suveldia y Dra. Nandini Sarma que evaluaron este trabajo y dieron puntos de vista positivos para enriquecer los resultados del proyecto.

DEDICADO.

A mis padres

**Felipe Chaparro
Cristina Herrera.**

A mis hermanos

Angel, David, Efrén, Eduardo,

A ACV

***Axolotl
Ambystoma mexicanum***

;;;GRACIAS;;;

A Dios y mis Padres.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, en especial a la División de Posgrado de la FES Iztacala, por el apoyo brindado.

A la **Doctora Nandini Sarma** por todos los conocimientos que ha compartido conmigo, que me han formado aun más como profesionista y los valiosos consejos como una gran amiga.

A los Doctores **Fausto Méndez de la Cruz, Isaías Salgado Ugarte, Sergio Chazaro Olvera y S. S. S. Sarma** por la contribución de su experiencia en el tema.

Dr. S. S. S. Sarma por permitirme formar parte de su equipo de trabajo y darme la confianza y el apoyo como académico.

Al **laboratorio de Restauración Ecológica del Instituto de Biología UNAM**, por la donación de las larvas de *A. mexicanum* para los experimentos (**Dr. Luis Zambrano Gonzáles, Alma Itzel Marín Martines, Elsa Leticia Valiente Riveros, Sandra Martínez y Victoria Contreras Ruiz Esparza**).

Al **Laboratorio de Herpetología “Vivario” de la FES Iztacala** por la aportación de individuos de *A. mexicanum* para dichos experimentos, en especial al **M en C Felipe Correa Sanchez**.

En general al equipo de trabajo del **LABORATORIO DE ZOOLOGIA ACUATICA**, principalmente **Rocío Fernández, Gerardo García, Cecilia Enríquez, Jorge Jiménez, Carmen Serranía, Fabiola Peña, Gerzon García, Jonathan Sánchez y a los pequeños nauplios**

A **Juan Carlos Navarro y Sandra Fabiola** por apoyarme en las buenas y en las malas gracias amigos.

A mis compadres que están en las buenas y en las malas **Maribelle Mayen, Samia Caviedes, Gustavo Labrada y, Samantha Argote**.

*Cada día la naturaleza produce lo suficiente
para nuestras necesidades.*

*Si cada uno tomase lo que le fuera necesario,
no habría pobreza en el mundo
y nadie moriría de hambre.*

M. K. Gandhi

Índice

Portadilla.....	1
Copia de la carta del jurado de tesis designado por el Comité Académico.....	2
Agradecimientos CONACyT y Comité Tutorial.....	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimientos.....	5
Resumen.....	7
Abstract.....	8
1. INTRODUCCION	
1.1.Relación depredador-presa, en un organismo en peligro de extinción (<i>Ambystoma mexicanum</i>) en etapas juveniles	9
1.2.Ecología alimentaría de <i>Ambystoma mexicanum</i>	10
1.3. Biología y clasificación taxonómica de <i>Ambystoma mexicanum</i>	12
1.4. Características bióticas y abióticas de Xochimilco, para la sobrevivencia de <i>Ambystoma mexicanum</i>	12
2. ANTECEDENTES	18
3. HIPÓTESIS	21
4. OBJETIVOS	
4.1 Objetivo general.....	22
4.2 Objetivos particulares.....	22
5. JUSTIFICACIÓN	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS	
6.1 Huevos y larvas de <i>Ambystoma mexicanum</i>	24
6.2 Zooplancton.....	24
6.2.1 Zooplancton de campo.....	24
6.2.2 Zooplancton cultivado en laboratorio.....	24
6.3 Preferencia alimentaría de <i>A. mexicanum</i> aplicando dietas con organismos recolectados en el campo (Xochimilco)	25
6.4 Preferencia alimentaría con dietas de rotíferos, cladóceros y ostrácodos de <i>A. mexicanum</i> (solos o en varias combinaciones)	25
6.5 Respuesta Funcional de <i>A. mexicanum</i> , con zooplancton cultivado en laboratorio presente en el Lago de Xochimilco, (rotíferos, cladóceros y ostrácodos)	27
6.6 Relación entre el tamaño de boca y el cuerpo de <i>A. mexicanum</i> y la presa seleccionada.....	27
7. RESULTADOS	
7.1 Preferencias de alimento de <i>Ambystoma mexicanum</i> con zooplancton presente en el Lago de Xochimilco.....	29
7.2 Preferencias de alimento de <i>Ambystoma mexicanum</i> con zooplancton cultivado en laboratorio, presente en el lago de Xochimilco	31
7.2.1 Rotíferos.....	34
7.2.2 Cladóceros.....	36
7.2.3 Rotíferos + cladóceros.....	38
7.2.4 Cladóceros + ostrácodo.....	40
7.3 Respuesta Funcional de <i>A. mexicanum</i> , con zooplancton presente en el lago de Xochimilco, cultivado en laboratorio	43
7.3.1 Rotíferos.....	43
7.3.2 Cladóceros.....	48
7.3.3 Ostrácodos.....	51
7.3.4 Consumos máximos.....	51
7.4 Relación entre el tamaño de boca y el cuerpo de <i>A. mexicanum</i> y la presa seleccionada.....	51
8. DISCUSIÓN	54
9. CONCLUSIONES	60
10. LITERATURA CITADA	61
11. ANEXOS	
Anexo 1.....	72
Anexo 2.....	72
Anexo 3.....	73
Anexo 4.....	74
Anexo 5. Medio de Cultivo Bold Basal.....	75
Anexo 6. Ecuación Michaelis-Menten.....	76
Anexo 7. Índice de Alfa de Manly.....	77
Anexo 8. Especies identificadas del lago de Xochimilco (preferencias).....	78
Anexo 9. Artículo publicado.....	79
Anexo 10. Artículo publicado.....	85

Resumen

La relación entre el ajolote, *Ambystoma mexicanum* y sus presas se puede estudiar a través de modelos de preferencia alimentaría y las respuestas funcionales que cuantifican los efectos que tienen los depredadores sobre sus presas. Un animal presenta una preferencia por un tipo particular de alimento, cuando la proporción de dicho alimento en la dieta del animal es más elevada que su proporción en el ambiente en que vive. Cuando ocurre un aumento significativo en la densidad de la población-presa, los depredadores responden inicialmente aumentando la intensidad de su consumo, denominándolo respuesta funcional. El zooplancton, la presa natural de muchos depredadores acuáticos, es frecuentemente abundante, y disponible en diferentes tallas. Las comunidades zooplanctónicas dominantes en el Lago de Xochimilco son rotíferos y microcrustáceos, los cuales fueron colectados de los canales o cultivados en el laboratorio para los experimentos. Los rotíferos utilizados como presas fueron *Brachionus calyciflorus*, *B. patulus*, *B. rubens*, *B. havanaensis* y los microcrustáceos fueron *Macrothrix triserialis*, *Moina macrocopa*, *Alona rectangula*, *Simocephalus vetulus* y el ostrácodo *Heterocypris incongruens*. Con cada una de estas presas se analizó la respuesta funcional de *A. mexicanum*. Para corroborar los datos estudiados se realizó una relación entre el tamaño de boca y el cuerpo de *A. mexicanum*. Se observó que *A. mexicanum* consumió un mínimo de rotíferos (5 ind), mientras que consumió más cladóceros (150 ind.), mostrando un cambio ontogenético en la alimentación prefiriendo cladóceros pequeños como *A. rectángula* en las primeras semanas, luego organismos de tallas medias como *M. triserialis* y *M. macrocopa*, finalmente presas más grandes como *S. vetulus*. *A. mexicanum* mostró, una mayor preferencia sobre todas las presas, por el ostrácodo bentónico *H. incongruens*.

Abstract

The relation between the axolotl, *Ambystoma mexicanum* and its prey can be analysed using prey preference and functional response models which quantify the impact of predators on their prey. A predator demonstrates preference for a certain prey type by selecting it in higher proportions than which it is available in the medium. Increasing prey consumption with increasing availability is known as the functional response. Zooplankton, the natural prey for several aquatic predators, is often available in high densities and in a wide range of sizes. Rotifers and cladocerans are the dominant zooplankton found in Lake Xochimilco; these were collected from the canals or cultured in the laboratory for the experiments. The rotifer prey included *Brachionus calyciflorus*, *B. patulus*, *B. rubens*, *B. havanaensis* and the microcrustaceans were the cladocerans *Macrothrix triserialis*, *Moina macrocopa*, *Alona rectangula*, *Simocephalus vetulus* and the ostracod *Heterocypris incongruens*. With each of these prey types the functional response of *A. mexicanum* was analyzed. The increase in the body size and gape size in relation to age was also measured. *A. mexicanum* consumed fewer rotíferos (5 ind), in relation to the cladocerans (150 ind.), demonstrating an ontogenic shift in the feeding behaviour with a preference for small cladocerans such as *A. rectangula* during the early weeks, then for medium sized prey such as *M. triserialis* y *M. macrocopa*, and finally for large prey such as *S. vetulus*. The highest preference was observed for the benthic ostracod *H. incongruens*.

1. INTRODUCCION

1.1. Relación depredador-presa, en un organismo en peligro de extinción (*Ambystoma mexicanum*) en etapas juveniles

La alimentación es un elemento importante en cualquier especie. Para tener condiciones favorables, la calidad, cantidad y tipo de los alimentos, influye en un buen funcionamiento de la biología en las especies. La relación entre un depredador en peligro de extinción y la presa es una pieza importante en el rompecabezas de su ecología, ya que forma parte de un gran grupo de factores y conceptos que serán utilizados para salvaguardar a la especie, como es el caso de *Ambystoma mexicanum* (Jeschke *et al.*, 2002).

Las relaciones que presenta *A. mexicanum* con otras especies puede traer consigo un cambio en su adecuación biológica. Tales cambios pueden ser representados por la competencia de un mismo recurso, en este caso el alimento. Al competir por el alimento, siendo escaso este, afecta su sobrevivencia, el crecimiento y su reproducción. Un claro ejemplo de esta problemática, es la competencia diaria que presentan los ajolotes con los animales introducidos, como la Carpa y la Tilapia en el Lago de Xochimilco, los cuales han ido consumiendo el zooplancton, aplicando una gran presión depredadora y originando un mayor aumento de grupos no susceptibles como es el caso de los rotíferos, siendo mas susceptibles los cladóceros. Así mismo las especies introducidas llegan a desplazar a otras especies como el Ajolote, que al igual que ellos son animales de forrajeo constante. Esto ha originado una competencia constante por el alimento (Zares, 1980).

La sobrevivencia en las primeras etapas larvales de especies acuáticas como los *Ambystomas*, marca una futura conservación de la especie. En el caso de depredadores acuáticos el ajolote en sus primeras ocho semanas de desarrollo, consume selectivamente presas zooplanctónicas principalmente rotíferos, cladóceros y ostrácodos (Nandini *et al.*, 2005)

1.2. Ecología alimentaria de *Ambystoma mexicanum*

A. mexicanum es similar ecológicamente a los peces depredadores; constituye el tope de la cadena alimentaria en sus sistemas (Andersen y Elser, 2004) y estructura las comunidades acuáticas (Laposata y Dunson, 2000). Esta especie compete con varios grupos de vertebrados (aves, anfibios y larvas de peces) e invertebrados (rotíferos, copépodos y larvas de insectos) (Abrams *et al.*, 1996; Hubbell, 2001), que alternadamente desarrollan varias estructuras, movimientos o sustancias en defensa contra la depredación. (Putman y Wratten, 1984).

Desde el desarrollo de la teoría depredador-presa, los ecólogos han reconocido la importancia teórica de la capacidad de consumo de presas por los depredadores (*A. mexicanum*), influyendo esta, en la distribución de los depredadores, como es en el caso de los ajolotes, a través del espacio, la estabilidad de los sistemas enriquecidos del depredador-presa, las correlaciones entre el enriquecimiento nutriente y la biomasa de niveles tróficos más altos (Garrick, 2001). Entender la relación entre el ajolote y sus presas, es un tema que le compete a la ecología y un componente significativo de la relación que estos tienen entre sí como depredador-presa. La ecología con la ayuda de modelos, explica estos procesos. Los modelos que utiliza sirven para calcular los efectos que tienen los depredadores sobre sus presas y viceversa las presas sobre sus depredadores (Moss, 2001).

En aspectos ecológicos como comportamiento alimentario de adultos, reproducción, y búsqueda de refugios, hay varios estudios sobre salamandras. Sin embargo, no hay información sobre la ecología alimentaria de las crías de los Ambystomidos, particularmente en *A. mexicanum*, donde en los primeros estadios es más vulnerable. Para comprender la ecología alimentaria es necesario entender la relación entre el depredador y la presa (Skalski y William, 2001). El ajolote como depredador, elige cuando comer, donde comer, qué comer y cuánto basado en un número de compensaciones (Gerking, 1994).

A. mexicanum ingiere a su presa de uno en uno, a través de la cavidad bucal (Gerking, 1994), así mismo *A. mexicanum* selecciona su presa con base en el tamaño del cuerpo de la presa relacionándolo con la capacidad del tamaño de la boca del depredador así como la energía que se gasta y se adquiere en la captura de las presas. (Gill, 2003).

Se observan ventajas opcionales cuando los ajolotes tienen más de una presa disponible, estas permiten una extensión a la consideración de compensaciones en las decisiones de alimentación. La opción depredadora que se observa en especies acuáticas como en los *Ambystomas* depende de la relación entre el tamaño de la presa y el tamaño de la cavidad bucal del depredador. *A. mexicanum* como depredador acuático, come a su presa entera, abarcando principalmente presas pequeñas fáciles de capturar y digerir. En depredadores acuáticos, la relación entre el tamaño de su boca y el tamaño de su presa tiene implicaciones importantes para la opción de captura (Juanes, 1994). Una presa de tamaño grande tiende a ser más vulnerable y por lo tanto es la presa potencial de los depredadores que tienen mayor tamaño de boca y consecuentemente empiezan a desistir de las presas más pequeñas (Gill, 2003). El contenido estomacal de los ajolotes en las primeras semanas muestra una preferencia por presas pequeñas como el cladóceros *Alona sp*, posteriormente consume especies más grandes como *Simocephalus sp*. Las larvas grandes de *Ambystomas* son más agresivas que las pequeñas, y la presencia de larvas más grandes reduce el índice de forrajeo de las más pequeñas (Jonson, 2003).

Conforme va creciendo el depredador se observan cambios en el comportamiento alimentario, en el cual, se puede analizar con experimentos de respuesta funcional o preferencia alimentaria. Cuando ocurre un aumento significativo en la densidad de la población-presa, los depredadores responden inicialmente aumentando la intensidad de su consumo, lo que se denomina respuesta funcional. Con un modelo de respuesta funcional, se pueden predecir los efectos de cambiar las características del depredador o de la presa, observando la tendencia de la línea en las gráficas (Van der Meer y Ens, 1997). Por otro lado, se dice que un animal presenta una preferencia por un tipo particular de alimento, cuando la proporción de dicho alimento en la dieta del animal es más elevada que su proporción en el ambiente en que vive. Por consiguiente, para medir la preferencia alimentaria en el campo, no basta solo con examinar la dieta del animal

(normalmente mediante el análisis del contenido intestinal y estomacal), sino también determinar la “disponibilidad” de los diferentes tipos de alimento (Begon, 1999).

El zooplancton (microcrustáceos: cladóceros, copépodos y ostrácodos; rotífero y protozoos) es un tipo de alimento muy abundante, y disponible en diferentes tallas, es preferido durante las primeras semanas de desarrollo de las larvas de *Ambystoma*. La gran variedad del zooplancton se refiere a una amplia gama de formas y tamaños que van desde 0.2 micrómetros a 2000 micras y un intervalo de nado de 2 a 80 mm/s. Estas características hacen que el zooplancton sea un alimento natural y de fácil captura para los ajolotes (Iwasa, 1982). Para el análisis de estos procesos es necesario aplicar modelos que nos muestren las tendencias, de sus preferencias alimentarias o de sus respuestas funcionales (Vakkilainen *et al.*, 2004).

El ajolote come en las primeras semanas jóvenes, preferentemente presas de tallas entre 100 a 3000 μm , así como con niveles de nado menores a 80 mm/seg. Las presas que se adaptan a estas características son los rotíferos, cladóceros y ostrácodos. Estos grupos de zooplancton coexisten en una gran diversidad de tamaños y formas con el ajolote en condiciones naturales.

1. 3. Biología y clasificación taxonómica de *Ambystoma mexicanum*

Ambystoma mexicanum es vulnerable por sus características biológicas, demandas sociológicas y contaminación de los medios (Beebee, 1996). El ajolote de Xochimilco ha causado interés desde que fue descubierto, sin embargo la información acerca de su hábitat y de su conducta es escasa. En la actualidad la explotación irracional a la que esta sometida esta especie y la degradación de su ambiente lacustre natural, han ocasionado una problemática sobre su repoblación, que lo han puesto al borde de la extinción a pesar de la ventaja de reproducirse en forma larvaria (neotenia) (Stephan-Otto y Ensástigue, 2001).

La familia Ambystomatidae, representada por los géneros *Rhyacosiredon* y *Ambystoma*, se distribuye exclusivamente en la región neártica, que abarca desde la frontera norte entre la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental en el territorio mexicano,

hasta la Cadena Volcánica Transversal que la delimita meridionalmente. Hay 28 especies en el género *Ambystoma*, de las cuales 17 se encuentran distribuidas en nuestro territorio (Fig. 1), de las cuales las siguientes son características, en los Estados de Puebla (*A. lacustris*), México (*A. lermaense*), Distrito Federal (*A. mexicanum*) y Michoacán (*A. dumerilii*) (Smith & Smith, 1971). La distribución original de *A. mexicanum* se remonta al Pleistoceno, abarcando el lago extenso y somero que cubría el Valle de México, el cual estaba formado por las cuencas de Zumpango, Chalco y Xochimilco (Fig. 2) (Shaffer, 1989; Espinosa, 1996).

Su clasificación es:

Clase: Amphibia

Orden: Caudata o Urodelo

Familia: Ambystomidae

Especie: *A. mexicanum*

(Shaw y Nodder, 1798)



Fig1. *Ambystoma mexicanum* (sexta semana)

1.4. Características bióticas y abióticas de Xochimilco, para la sobrevivencia de *Ambystoma mexicanum*

Los factores fisicoquímicos favorables para *A. mexicanum* son 16 – 20 °C de temperatura; 7.4 – 8.2 de pH y 975 – 1650 µs/cm de conductividad. El descenso de la temperatura entre noviembre y marzo marca el inicio de la época de reproducción. El

desove se realiza entre enero y marzo, cuando la temperatura del agua es de ± 12 °C (Shaffer, 1989).

Las características físicas e hidrológicas de Xochimilco (Fig. 2) (Rojas-Rabiela, 1991), han cambiado con una reducción del 99% en la extensión total del lago. Entre 1500 y 1850 la extensión del Lago de Xochimilco junto con el Lago de Chalco era de 240 km². A mediados del siglo XX el Lgo de Chalco se secó, y el Lago de Xochimilco quedó con un área de 35 km². En el periodo de 1959 a 1989 de un total de 8 km² se redujo a 2.3 km² (Bojórquez, 1991). El cambio del paisaje así como el régimen hídrico natural fue alterado desde tiempos de los aztecas por la construcción de chinampas, dando lugar a un laberinto de canales, en lugar de un espejo de agua continuo. Posteriormente, el crecimiento de la población demandó utilizar el agua de los manantiales de Xochimilco, siendo ésta canalizada a la ciudad de México, hasta originar el agotamiento de los manantiales (Valiente, 2006).

En la actualidad el agua vertida a los canales de Xochimilco es residual, a este problema le sumamos el vertimiento de fertilizantes, plaguicidas agrícolas y materia vegetal en descomposición (Valiente, 2006). Estos factores limitan el crecimiento del zooplancton y en consecuencia de especies que se alimentan de estos como es el caso de las larvas de *A. mexicanum* en sus primeras semanas de vida (Voss y Shaffer, 2000).

Otro problema grave que afecta a *A. mexicanum* son las especies denominadas introducidas o exóticas. Las especies introducidas o exóticas son aquellas cuya área de distribución geográfica natural no corresponde al territorio nacional o local, y se encuentran como resultado de actividades humanas voluntarias. En Xochimilco los registros sobre introducción de especies comienzan en 1955, cuando se introdujo la lobina (*Micropterus salmoides*), la trucha (*Salmo gairdneri* y *Salvelinus fontinalis*) y el pez cola de espada (*Xiphophorus helleri*) (Rojas-Rabiela, 1998). La introducción de la carpa (*Cyprinus carpio*) y la tilapia (*Oreochromis niloticus*) la realizó el gobierno federal, con la finalidad de consumo popular (Valiente, 2006). La introducción de organismos exóticos origina competencia por el espacio y alimento con las especies endémicas. Por ejemplo, en Xochimilco, la carpa y la tilapia, que son especies generalistas en cuanto a sus hábitos alimenticios, llegan a desplazar a especies con

hábitos alimenticios específicos como *A. mexicanum* (especie nativa) (Brewkelaar *et al.*, 1994).

Uno de los componentes principales de las comunidades biológicas del Lago de Xochimilco es el zooplancton el cual representa el eslabón entre las bacterias, partículas detríticas, fitoplancton, y los consumidores secundarios (peces y algunas aves) (Walls, 1998). El zooplancton de agua dulce esta compuesto por animales con ciclos de vida cortos y altas tasas de crecimiento, esta es una característica que permite responder rápidamente a ambientes cambiantes (Hairston, 1996). La composición específica del zooplancton puede ser un excelente criterio para caracterizar el estado trófico de los sistemas acuáticos y para deducir la estructura de las comunidades acuáticas (Lammens *et al.*, 1990).

Las comunidades zooplanctónicas dominantes en el Lago de Xochimilco son rotíferos y microcrustáceos (Nandini *et al.*, 2005), con alrededor de 70 especies de rotíferos y 10 de cladóceros. Los géneros mas comunes entre los rotíferos son *Brachionus*, *Keratella*, *Polyarthra*, *Trichocerca*, *Filinia* y *Asplanchna* (Jiménez- Contreras, 2007). Los rotíferos presentan varias estrategias para evitar la depredación como movimientos en saltos rápidos permitiendo su escape (*Polyarthra*), también llegan a generar sustancias químicas (*Sinantherina semibullata*) e incluso hay especies (*Asplanchna*) que pueden ser depredadoras de otras especies de rotíferos (Nogrady *et al.*, 2005).

Los microcrustáceos más comunes son brachiópodos y ostrácodos, dentro de los distintos ordenes de brachiópodos los más conocidos y estudiados son los cladóceros. El tamaño de los cladóceros oscila entre 400 – 4000 μm , están equipados con estructuras de defensa para evitar la depredación como espinas dorsales, cascós largos en la cabeza, algunas especies llegan a secretar sustancias químicas, y también pueden migrar vertical u horizontal dentro de la columna de agua (Negrea *et al.*, 1999). Las especies *Alona rectangula*, *Ceriodaphnia dubia* y *Moina macrocopa* son lo más comunes en los canales de Xochimilco (Nandini *et al.*, 2005).

Los ostrácodos son crustáceos más complejos que se pueden localizar tanto en aguas continentales como en aguas marinas, siendo mucho más abundantes y diversos en

aguas marinas que los rotíferos y cladóceros (Conde-Porcuna, 2000). Son omnívoros y, al igual que en los cladóceros, se alimentan de bacterias, algas, detritus y protozoarios por medio de la filtración. Su ciclo de vida dura de uno a cinco meses dependiendo de las especie (Suárez, 2005).

El presente trabajo tiene el enfoque del conocimiento de la ecología alimentaría en el sistema de canales de Xochimilco y en particular la determinación de la ecología alimentaría del ajolote, en sus primeras semanas de vida, para entender las implicaciones que tendría en uno u otro sentido, la manipulación biótica de esta especie con fines de rehabilitación del sistema y en particular de las poblaciones del ajolote *A. mexicanum*.

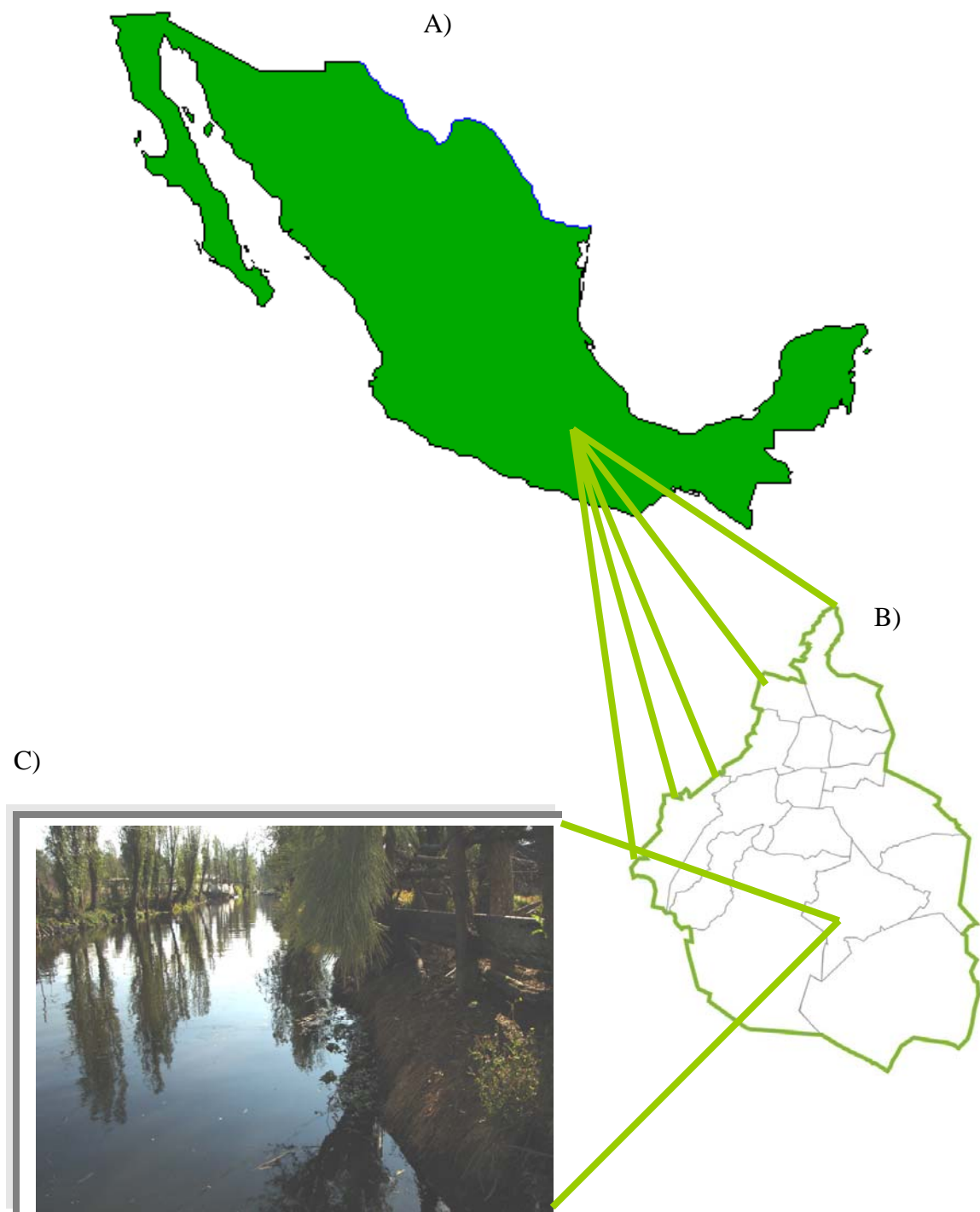


Fig. 2. Área de distribución de *Ambystoma mexicanum*; A) República Mexicana, B) Distrito Federal, C) Lago de Xochimilco

2. ANTECEDENTES

Para realizar este trabajo se consultó un total de 500 citas bibliográficas, donde solo el 1% se enfoca a la biología alimentaría, aunque esta información sólo está enfocada a adultos de *Ambystomas* (Anexo 1). Algunas de las citas consultadas, en cuanto a depredación están relacionadas con larvas de peces, ambos son depredadores y tienen un comportamiento similar en cuanto a hábitos alimenticios. Esto nos apoya sobre la información requerida ya que no hay muchos trabajos con larvas de *Ambystoma*.

Los trabajos sobre ecología alimentaría en *Ambystomas* están más enfocados a su fase como adulto, como el trabajo que se realizó con la ecología alimentaría de la larva *Ambystoma mabeei* (Urodela: Ambystomatidae), donde se observó que la destrucción del hábitat y el predominio de parásitos influye para la sobrevivencia larval y para la persistencia a largo plazo de las poblaciones de *A. mabeei* (McCoy y Savitzky, 2004). Aleatoreamente se observó en las especies *A. opacum*, *A. jeffersonianum*, *A. tigrinum* y *A. maculatum*, como la depredación afecta su tamaño, llegando a presentar una conducta agresiva entre las larvas de *Ambystoma* influyendo en su supervivencia y su dinámica poblacional (Brodman, 2004).

El tipo de presa juega un papel muy importante, estudios sobre el transporte acuático de la presa de *Ambystoma tigrinum*, muestra que los comportamientos de alimentación son un efecto de la transición ambiental metamórfica y el crecimiento somático de las larvas, dando por resultado un consumo que aumentó conforme va creciendo la larva (Gillis y Lauder, 1994). El tamaño y el tipo de presa que consumen las larvas de la salamandra tienen gran importancia, como el estudio que se realizó con *Ambystoma tigrinum nebulosum*, donde se observó que las larvas de salamandra optan por alimentarse de zooplancton de tallas grandes como los cladóceros. Conforme crecía la larva aumentaba el consumo de presas y se enfocaba en especies de mayor tamaño, como *Simocephalus vetulus* (Cladóceros) (Jonson *et al.*, 2003). Estudios con larvas de peces, han demostrado que algunos depredadores acuáticos en estado larval, están limitados de la cavidad bucal para atrapar a su presa, observando que los organismos más consumidos son los de tallas grandes como *Daphnia* (Retting, 2003).

Investigaciones realizadas con larvas de *Ambystoma* son escasas, se consultaron proyectos efectuados con larvas de peces, para apoyarnos en el tema, ya que ambas larvas son depredadoras con hábitos alimenticios similares hacia el zooplancton. Un ejemplo de esta comparación, es el estudio donde en mesocosmos se observaron las respuestas del zooplancton a la depredación. Se llegó a la conclusión de que el zooplancton como alimento es satisfactorio para las larvas de peces, además observaron que los peces cuando reducen la biomasa de crustáceos grandes facilitan un aumento complementario en la biomasa de especies crustáceas más pequeñas y de rotíferos (Vakkilainen *et al.*, 2004). Así mismo se puede hablar de un efecto cascada, donde al disminuir especies se provoca el aumento o declinación de otras especies. Este mismo concepto se analizó con varios depredadores pelágicos en un cuerpo de agua, dando por resultado que en la ausencia de peces, el zooplancton puede permanecer en su hábitat preferido, y con la presencia de peces, el zooplancton grande es forzado fuera de su hábitat, reduciendo el traslapo espacial y temporal con una presa más pequeña del zooplancton (Fiasen *et al.*, 2005). La problemática de este estudio es la que hoy en día presenta el ambiente natural de *Ambystoma mexicanum* (Lago de Xochimilco), lo que ocasiona una problemática en cuestiones del recurso alimento.

Siguiendo con el tema de efecto cascada, se observó la respuesta que tiene *Ambystoma gracile*, al retirar peces no nativos introducidos en el Lago de Mountain en Mount Rainier Nacional Park, Washington USA. Se observó que al retirar la trucha de arroyo (*Linus fontinalis*) el número de larvas de *Ambystoma* era más abundante. *A. gracile* con la presencia de peces era predominantemente nocturno y somero para su alimentación, (Hoffman *et al.*, 2004). Como conclusión a este tipo de estudios, se puede decir que especies, desplazadas por especies introducidas, podrían recuperarse después del retiro de las especies introducidas.

En cuanto a preferencias, de los trabajos consultados, se menciona que en depredadores acuáticos influye el tamaño y posición de la boca, para la captura y preferencia de sus presas. Por ejemplo, dos especies de larvas de peces, mollies "*Poecilia sphenops*" y pez ángel "*Pterophyllum scalare*", donde ambas difieren en tamaño y posición de la boca. Se observó que *P. sphenops* prefieren rotíferos y *P. scalare* cladóceros (Nandini & Sarma, 2000). Por otro lado, en la alimentación larval de peces, en las primeras 8 semanas (*Astyanax fasciatus*, *Gymnocorymbus ternetzi* y *Pterophyllum scalar*) usando

especies de zooplancton (rotíferos y cladóceros), se determinó que dependiendo de la especie y hábitos biológicos, es la preferencia, por ejemplo *A. fasciatus* comenzó a ingerir cladóceros a partir de la primera semana mientras que *G. ternetzi* no podía capturar ni ingerir cladóceros pero prefería rotíferos. *P. scalare* comenzó a ingerir cladóceros en la tercera semana, siendo su dieta en las primeras semanas rotíferos (Sarma *et al.*, 2003).

En estudios sobre dinámica de la opción de la presa, se ha observado, que el tamaño de la presa y la saciedad de las larvas es de suma importancia, se determinó que la mayoría de los depredadores acuáticos como las larvas de peces comerán su presa entera, considerando la relación entre el tamaño de la presa y la cavidad bucal (Gill, 2003). El trabajo donde se analizó la depredación selectiva con respecto a tamaño de cuerpo en una población de peces *Xenomelaniris venezuelae* (Atherinidae), demostró que los peces más pequeños seleccionan el rotífero *Brachionus calyciflorus*, mientras que peces sucesivamente más grandes seleccionan presas más grandes. Esta evidencia sugiere que la relación entre el tamaño de cuerpo y la selección de la presa origina la eficacia en la captura por tamaño, y la relación del tamaño de cuerpo a la anchura de la dieta resulta de la relación con la visión (Unger y Lewis, 1983).

3. HIPÓTESIS

A. mexicanum es un depredador que presenta un cambio ontogénico en su dieta, es decir, conforme va creciendo y aumentando de talla va ir requiriendo presas de mayor dimensión. Los rotíferos, cladóceros y ostrácodos (presas) son organismos que por su vulnerabilidad en el tamaño se adaptan a los requerimientos en los cambios de dieta del ajolote, teniendo como ventaja la disponibilidad de más de una presa a elegir (Nandini *et al.*, 2000). Por tal motivo, *A. mexicanum* en las primeras semanas preferirá rotíferos y cladóceros con cuerpos de tallas chicas y en estadios posteriores seleccionará especies de cladóceros con cuerpos de tallas grandes, así como otros tipos de zooplancton de tallas grandes como es el caso de los ostrácodos (Oriazola y Braña, 2003). Conociendo el tipo de alimentación en las primeras semanas que son más frágiles las larvas de los ajolotes, se contribuirá con datos para una conservación de la especie.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Se determinaron los consumos de alimentos de las larvas de *Ambystoma mexicanum* en las primeras ocho semanas de vida, aplicando dietas de zooplancton presentes en el Lago de Xochimilco, posteriormente se cultivó el zooplancton para realizar pruebas de preferencia alimentaría y respuestas funcionales.

4.2 Objetivos particulares

-Analizar los cambios en la preferencia alimentaría de las larvas de *A. mexicanum*, al suministrarle una mezcla de zooplancton vivo, colectado en el campo.

-Estudiar los cambios en la preferencia por la presa de la larva de *A. mexicanum* con base en dietas de rotíferos, cladóceros y ostrácodos (cultivados en condiciones de laboratorio) solos y en varias combinaciones como presas.

-Estudiar la respuesta funcional en los cambios de la conducta alimentaria de las larvas de *Ambystoma mexicanum* con zooplancton, que se sabe esta presente en el Lago de Xochimilco, y posteriormente cultivado en condiciones de laboratorio.

-Relacionar el tamaño de la cavidad bucal de *A. mexicanum*, con el tamaño de las presas ofrecidas.

5. JUSTIFICACIÓN

A. mexicanum es una especie en peligro de extinción, como resultado de la explotación indiscriminada y la destrucción de su hábitat por parte del hombre. Si bien, los esfuerzos por cultivarlo han sido constantes (Smith y Smith, 1971; Stephan-Otto y Ensástigue, 2001; Brodman, 2004; Hoffman *et al.*, 2004; McCoy y Savitzky, 2004; Valiente, 2006), se conoce poco acerca de las preferencias dietéticas de *Ambystoma* durante sus primeras semanas de desarrollo. Actualmente, nuestro conocimiento sobre la biología de *A. mexicanum* está en gran parte restringido a la taxonomía, genética, biología evolutiva y a la alimentación de los adultos. Para la conservación de la larva de *A. mexicanum*, en adición a estos temas, se requiere un buen conocimiento de las condiciones adecuadas de cultivo de las larvas, lo cual implica su biología alimentaría. En las primeras semanas de desarrollo larval de *A. mexicanum*, se presentan las mas altas tasas de mortalidad, una de las causas es la competencia por el alimento con especies introducidas en el ambiente natural de los ajolotes (Hoffman *et al.*, 2004; McCoy y Savitzky, 2004; Valiente, 2006). En el trabajo realizado se utilizaron especies zooplanctónicas que se conoce están incluidas en la dieta de los *Ambystomas* (Jiménez-Contreras, 2007), la producción de zooplancton garantiza una calidad nutrimental uniforme de la presa (Nandini y Sarma, 2000), por lo que estas dietas se cultivarán con técnicas de laboratorio comprobables que han sido implementadas en gran escala a estanques al aire libre o en cuerpos de agua naturales (Nandini y Sarma, 2000; Sarma *et al.*, 2003; Nandini *et al.*, 2005) para apoyarnos en la disponibilidad de las presas de *A. mexicanum*, y posteriormente determinar cuales son las seleccionadas y consumidas por los ajolotes. Por consiguiente, los experimentos de alimentación y crecimiento desarrollados aquí proporcionarán ciertos aspectos que podrán ser tomados en cuenta y utilizados en posteriores estudios para cultivar y aportar datos para futuras reintroducciones de los ajolotes a su ambiente natural, sí como a los trabajos de conservación de *Ambystoma mexicanum* hechos hoy en día en México.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Huevos y larvas de *Ambystoma mexicanum*

Los huevos de *A. mexicanum* se obtuvieron de dos colonias (Laboratorio de Restauración Ecológica del Instituto de Biología UNAM y del Laboratorio de Herpetología “vivario” de la FES Iztacala UNAM). Los huevos se mantuvieron en condiciones de 15 – 18 °C, en un fotoperiodo de 12 por 12 horas. La mortandad o huevos no eclosionados se registró en un promedio de % del total de la puesta. Posteriormente se utilizaron las larvas recién eclosionadas y se desarrollaron las pruebas de comportamiento alimenticio. Para cada experimento se utilizaron los organismos de la misma puesta (Anexo 2).

6.2 Zooplancton

6.2.1 Zooplancton de campo

Se realizó una revisión bibliográfica que indicó la presencia de ese zooplancton en el lugar (Bojórquez, 1991; Flores-Burgos *et al.*, 2003; Nandini *et al.*, 2005; Jiménez-Contreras, 2007). El zooplancton aplicado como dietas en los experimentos, fue filtrado del Lago de Xochimilco, 100 litros de agua con una malla zooplanctónica de 50 µm. Posteriormente se identificaron por claves especializadas (Koste, 1978; Negrea *et al.*, 1999) (Anexo 3 y 4). El filtrado se realizó una vez por semana, en 8 semanas que duró el experimento. El filtrado se realizó en la zona litoral y central de los canales.

6.2.2 Zooplancton cultivado en laboratorio

El zooplancton fue cultivado en el Laboratorio de Zoología Acuática del centro de investigación Unidad de Morfofisiología de la FES Iztacala UNAM en sepas aisladas por especies, en medio EPA (0.095g L⁻¹ de NaHCO₃, 0.06g CaSO₄, 0.06g MgSO₄, y 0.0002g de KCl para un litro (Anon, 1985), a una temperatura de 18°C, pH 7.5-8, con fotoperíodo de 12 por 12 horas, (Enríquez-García, 2002). Se alimentó el zooplancton

con algas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus ad libitum* mantenidas en medio Bold (Pavón-Meza, 1993) (Anexo 5).

6.3 Preferencia alimentaria de *A. mexicanum* aplicando dietas con organismos recolectados en el campo (Xochimilco)

Se colectó zooplancton del Lago de Xochimilco filtrando dos litros, posteriormente se concentró para repartirlo en cuatro repeticiones donde se colocaron 50 ml por recipiente. Se agregaron dos larvas de *Ambystoma* con un anterior ayuno de dos horas. Las larvas se alimentaron por un periodo de una hora, al término de la hora se realizó el conteo de los grupos de zooplancton. Simultáneamente se realizaron las filtraciones correspondientes para el control donde se identificaron las especies encontradas por claves especializadas de zooplancton (Koste, 1978; Dodson, 1991). Se analizó el consumo del zooplancton, y se delimitó el de mayor preferencia para las larvas. Los resultados obtenidos tienen un grado de selectividad por las larvas de *A. mexicanum* hacia sus presas consumidas, por lo que se aplicó el modelo del Índice de Alfa de Manly (Anexo 7), como los resultados obtenidos son proporcionales, se toma como prueba estadística este análisis por el Alfa de Manly. Lo anterior mencionado se realizó por cada semana llegando a la octava semana.

6.4 Preferencia alimentaria con dietas de rotíferos, cladóceros y ostrácodos de *A. mexicanum* (solos o en varias combinaciones)

Los experimentos de preferencias con especies cultivadas en el laboratorio fueron conducidos en las primeras 8 semanas. Los experimentos se desarrollaron semanalmente con varias combinaciones. Las larvas se colocaron en ayuno de dos horas. El número de presas ingeridas (introducción del alimento en el aparato digestivo que se realiza a través de la boca) se determinó con base en las diferencias entre la densidad de presa inicial y la final (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2002). El zooplancton ofrecido en los experimentos de preferencia fueron rotíferos, cladóceros y ostrácodos. Se estimó el consumo de cada especie con base en el zooplancton que no consumieron las larvas y se restó lo que dejaron a lo que se colocó.

Las combinaciones de presas fueron ofrecidas en recipientes de vidrio de 100 ml de capacidad, con 50 ml de medio (EPA) como a continuación se muestra:

1. Mezcla de rotíferos (*Brachionus calyciflorus* (Pallas, 1766), *B. patulus* (O. Muller, 1786), *B. rubens* (Ehrenberg, 1838), *B. havanaensis* (Rousselet, 1991)) (50 ind de *c/sp*).
2. Mezcla de cladóceros (*Macrothrix triserialis* (Brady, 1866), *Moina macrocopa* (Goulden, 1968), *Alona rectangula* (Heywood, 1967), *Simocephalus vetulus* (Schoedler, 1858)) (50 ind de *c/sp*).
3. Una mezcla de todo los rotíferos, cladóceros (50 ind de *c/sp*).
4. Una mezcla de cladóceros con el ostrácodo *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) (50 ind de *c/sp*).

Los tratamientos se realizaron colocando 4 o más réplicas dependiendo de la disponibilidad de las larvas. Como los resultados obtenidos muestran un grado de selectividad de las larvas de *A. mexicanum* hacia sus presas consumidas se aplicó el modelo del Índice de Alfa de Manly, ya que está se define como las presas que se consumen proporcionalmente más que su abundancia en el hábitat. Se calcularon las especies preferidas presentando un valor igual o mayor al Alfa de Manly estimada para cada periodo de muestreo o de tiempo establecido. Los valores proporcionados por Alfa de Manly se tomaron como unidades de individuos consumidos (Anexo 7). Como los resultados obtenidos son proporcionales, se toma como prueba estadística este análisis por el Alfa de Manly. Lo anterior mencionado se realizó por cada semana llegando a la octava semana.

6.5 Respuesta Funcional de *A. mexicanum*, con zooplancton cultivado en laboratorio presente en el Lago de Xochimilco, (rotíferos, cladóceros y ostrácodos)

Los experimentos de respuesta funcional en *Ambystoma* se realizaron en 5 densidades para las especies de rotíferos, cladóceros y ostrácodos, con 4 repeticiones cada una (rotíferos: 1, 2, 4, 6, 8 ind/ml; cladóceros: 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 ind/ml; ostrácodos 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 ind/ml) (Escalera-Vázquez *et al.*, 2004). Las larvas se colocaron en un

ayuno previo a los experimentos de dos horas. Posteriormente se agregaron dos larvas en vasos con 50 ml (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2002) del medio EPA a una temperatura de 18 ± 2 °C (Valiente, 2006; Smith y Smith, 1971) conteniendo las diferentes densidades de zooplancton. Los ajolotes se alimentaron por un periodo de una hora. Pasado el tiempo de alimentación se retiraron los organismos y se realizó el análisis de lo consumido en base en el zooplancton que no consumieron las larvas y se restó lo que dejaron a lo que se colocó para sacar la ingestión de los organismos (Nandini y Sarma, 2000). Como el consumo de *A. mexicanum* es progresivo conforme va creciendo, llegando a un punto de saciación, el mejor modelo que explica este comportamiento es la constante de Michaelis-Menten donde la recta es una hipérbola similar al consumo de *A. mexicanum* (Anexo 6), (Sarma *et al.*, 2005). Se aplicó la prueba estadística de ANDEVA de dos y tres vías para comparar las dietas y observar si hay diferencias significativas.

6.6 Relación entre el tamaño de boca y el cuerpo de *A. mexicanum* y la presa seleccionada

Se midió el cuerpo y cavidad bucal de las larvas de *A. mexicanum* alimentado con zooplancton de Xochimilco *ad libitum*, conforme iba creciendo en las primeras ocho semanas. Estas pruebas se realizaron para relacionar el tamaño de las presas con el tamaño de la boca del depredador, la cual también fue una herramienta para relacionar el tamaño de las larvas con el tamaño de la presa seleccionada. Se utilizaron herramientas de medición (regla y vernier) y para constatar que las medidas estuvieran correctas se utilizó el programa de computación Helicón filter 4.26, que consiste en un analizador de imágenes. Se observó que las tres técnicas de medición proporcionaron los mismos resultados. Los organismos se midieron colocándolos centralmente en el microscopio estereoscópico, de forma que se obtuviera la medida de la boca, y posteriormente se midió el largo de los organismos desde la parte bucal hasta la parte final de la aleta caudal. Se tomaron las mediciones semanalmente por ocho semanas (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2002; Escalera-Vázquez, *et al.*, 2004). A los resultados obtenidos se realizó una correlación (regresión lineal).

7. RESULTADOS

7.1 Preferencias de alimento de *Ambystoma mexicanum* con zooplancton presente en el Lago de Xochimilco

En el análisis de preferencias con presas extraídas del Lago de Xochimilco donde habita *A. mexicanum*, se identificaron nueve especies de zooplancton: un rotífero *Keratella cochlearis*, un copépodo cyclopoideo en sus tres etapas copepodito, nauplio y adulto, 4 cladóceros *Alona rectangula*, *Pleuroxus sp*, *Ceriodaphnia sp* y *Daphnia sp*, y un ostrácodo *Heterocypris incongruens* (ver anexo 8). Posteriormente se midieron las dimensiones de los cuerpos de los organismos identificados (Tabla 1). Los tamaños del zooplancton consumido en las preferencias oscilaron entre los 140 a 4000 μm , siendo el de mayor y menor tamaño adulto cyclopoideo y *Keratella cochlearis* respectivamente (Fig.3).

Se observó el comportamiento de *Ambystoma mexicanum* en cuanto a su preferencia de consumo por el zooplancton a lo largo de ocho semanas. En la primer semana los valores registrados muestran una mayor preferencia (< 0.11 alfa de Manly) por organismos de tallas medias (1800-2274 μm) como el ostrácodo *H. incongruens* y (750-900 μm) el cladócero *Pleuroxus sp*. Los organismos con una preferencia baja fueron los nauplios y copepoditos del cyclopoideo (Fig. 3). En la segunda semana se registró una preferencia por *Keratella*, *Pleuroxus sp*, el ostrácodo *H. incongruens* y *Ceriodaphnia sp*, organismos de tallas medias (Fig. 3, Tabla 1). A partir de la tercera semana se observa un patrón de preferencias similar que siguieron las larvas de *Ambystoma*, hasta la sexta semana, prefiriendo cladóceros como *Alona rectangula*, *Ceriodaphnia* y *Daphnia*, así mismo el ostrácodo *H. incongruens*. Para organismos de tallas chicas como los naúplios de copéodos o rotíferos las preferencias fueron muy bajas (Fig.3).

Tabla 1: Medidas en micras (μm) del zooplancton ofrecido en las pruebas de preferencia a *A. mexicanum* (organismos colectados en el Lago de Xochimilco).

<i>Keratella cochlearis</i>	140 – 166
Nauplio de Cyclopoideo	240 – 255
Copepodito Cyclopoideo	270 – 350
<i>Alona rectangularis</i>	500 – 800
<i>Pleuroxus sp</i>	750 – 900
<i>Heterocypris incongruens</i>	1800 – 2274
<i>Ceriodaphnia sp</i>	2000 – 2200
<i>Daphnia sp</i>	2500 – 2800
Cyclopoideo adulto	3500 – 4000

PREFERENCIAS CON ZOOPLANCTON DEL LAGO

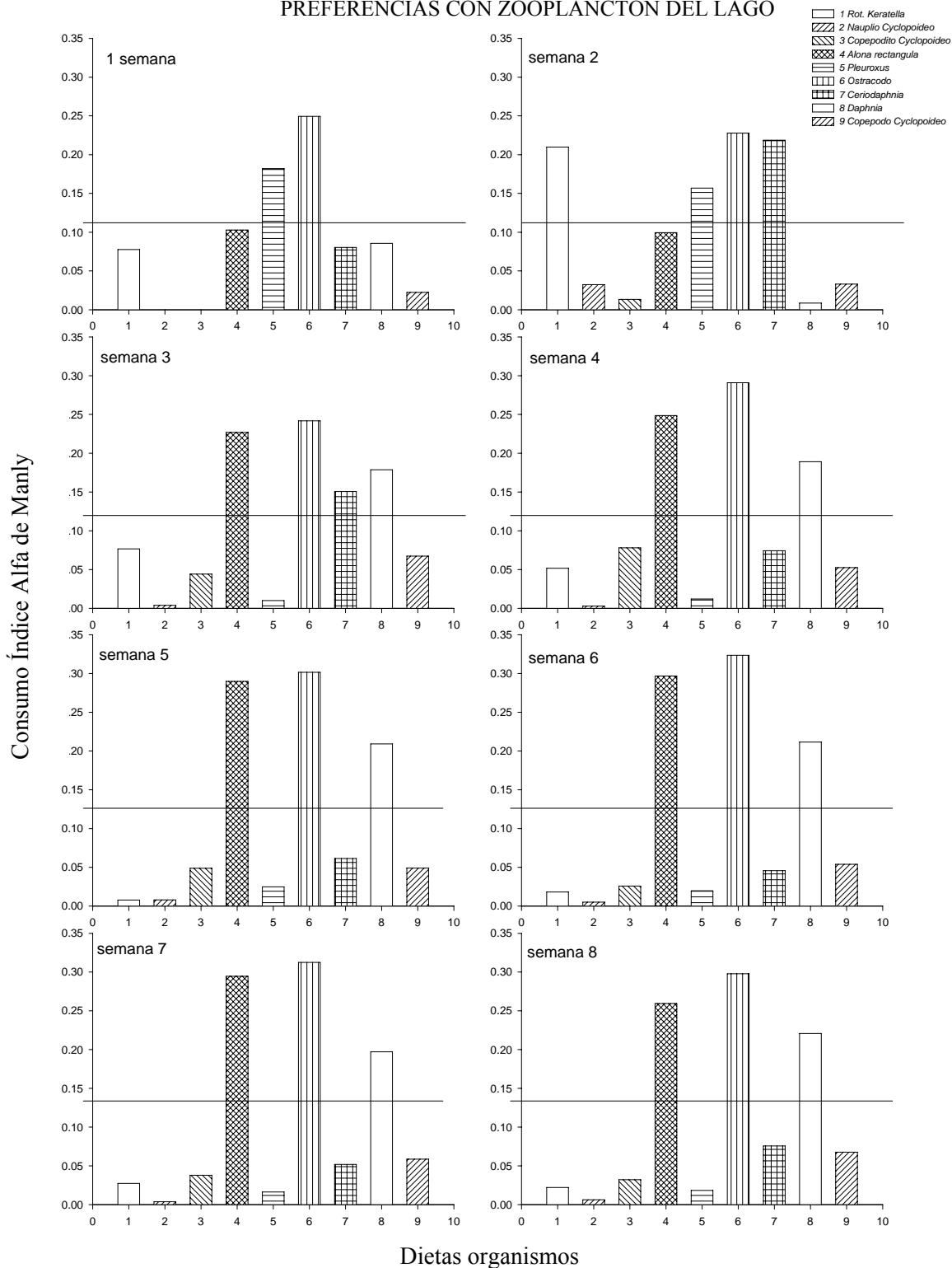


Figura 3: Preferencias por semanas de *Ambystoma mexicanum* (Organismos identificados en el Lago de Xochimilco). Por arriba de la línea recta se muestran las preferencias alimentarias.

7.2 Preferencias de alimento de *Ambystoma mexicanum* con zooplancton cultivado en laboratorio, presente en el lago de Xochimilco

7.2.1 Rotíferos

En el experimento de preferencia alimentaria de *A. mexicanum* con rotíferos cultivados en el laboratorio, consistió en aplicar las especies *Brachionus calyciflorus*, *B. patulus*, *B. rubens* y *B. havanaensis*, donde se observó mayor preferencia por *Brachionus havanaensis* durante las ocho semanas, y la menor preferencia por *B. patulus* (Fig. 4). El ajolote prefirió, entre *B. rubens* y *B. calyciflorus*, el primero durante las primeras semanas, y el último a partir de la quinta de ocho semanas de periodo experimental.

Tabla 2: Medidas en micras (μm) de las *sp* de preferencias en laboratorio (organismos localizados en el Lago de Xochimilco).

<i>Brachionus rubens</i>	108 \pm 2
<i>B. calyciflorus</i>	185 \pm 12
<i>B. havanaensis</i>	120 \pm 10
<i>B. patulus</i>	150 \pm 20
<i>Alona rectangula</i>	430 \pm 2
<i>Macrothrix triserialis</i>	1310 \pm 20
<i>Moina macrocopa</i>	1286 \pm 30
<i>Simocephalus vetulus</i>	2100 \pm 15
<i>Heterocypris incongruens</i>	1800 – 2274

PREFERENCIAS DE ROTIFEROS EN LABORATORIO

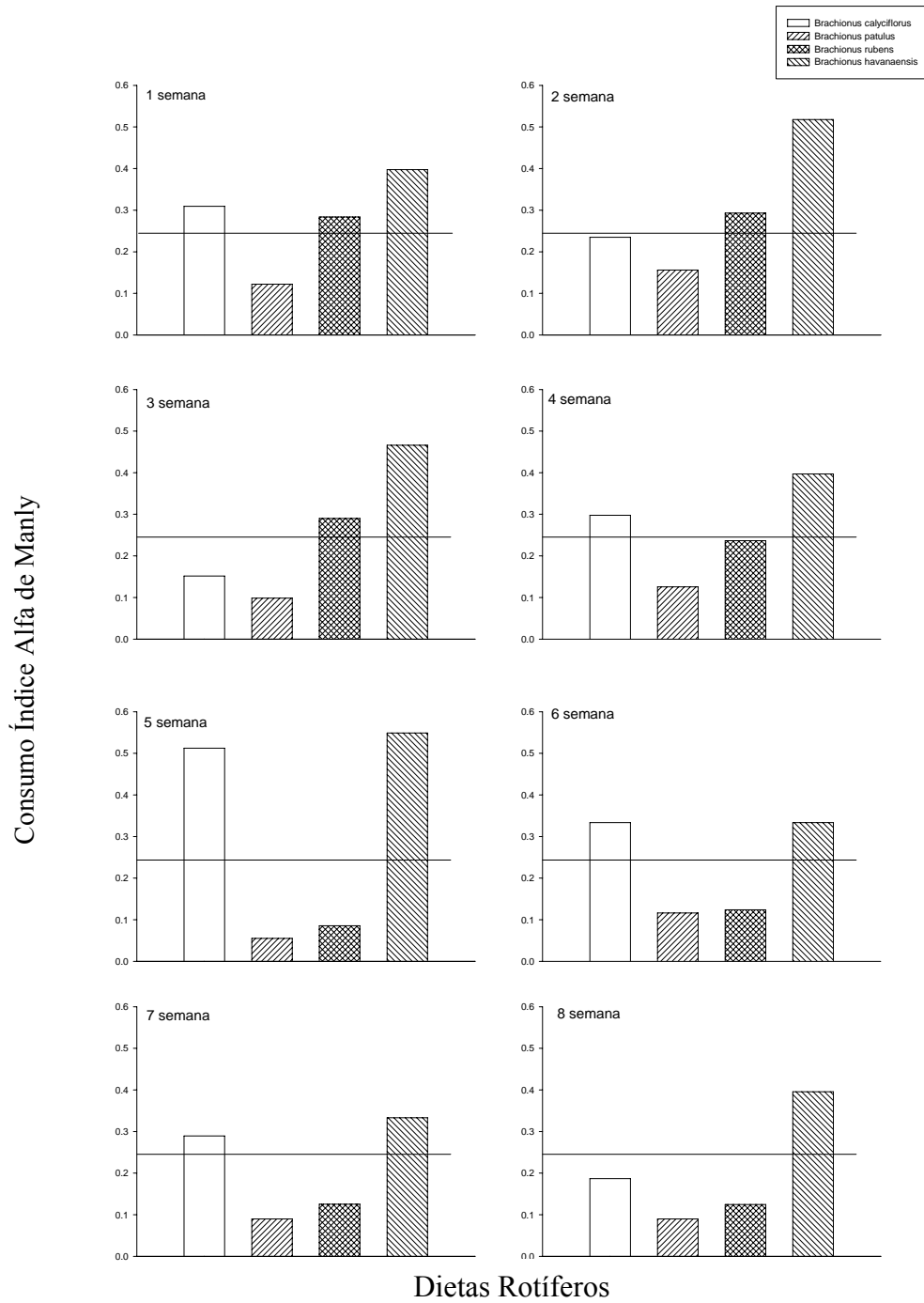


Figura 4: Preferencias por semanas de *Ambystoma mexicanum* con dietas de Rotíferos (*B. rubens*, *B. havanaensis*, *B. patulus*, *B. calyciflorus*). Por arriba de la línea recta se muestran las preferencias alimentarias.

7.2.2 Cladóceros

En el segundo experimento de preferencia se aplicaron dietas con los cladóceros *Alona rectangula*, *Macrothrix triserialis*, *Moina macrocopa* y *Simocephalus vetulus* que variaron en tamaño de 430 a 2100 μm . En las primeras semanas se observa una preferencia por el cladóceros más pequeño, *Alona rectangula*. Desde la tercera semana, hubo una preferencia por *Moina macrocopa*, *Macrothrix triserialis* y *Simocephalus vetulus*. Durante este periodo, los ajolotes evitaron a *A. rectangula* en su dieta. En general *A. mexicanum* prefirió más *Simocephalus vetulus* y *Moina macrocopa* durante la mayor parte del estudio (Fig. 5).

PREFERENCIAS DE CLADOCEROS EN LABORATORIO

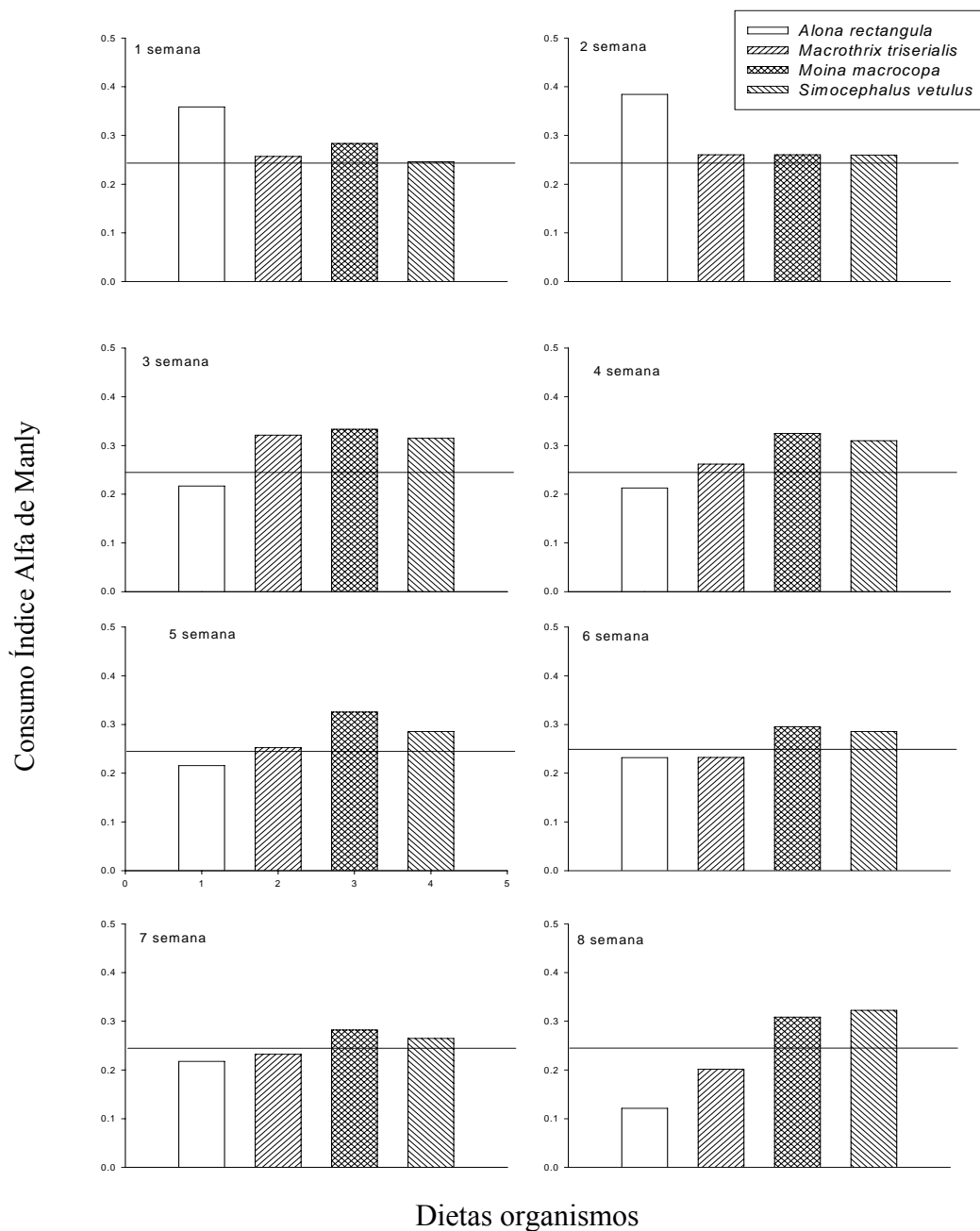


Figura 5: Preferencias por semanas de *Ambystoma mexicanum* con dietas de Cladóceros (*Alona rectangular*, *Macrothrix triserialis*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*). Por arriba de la línea recta se muestran las preferencias alimentarias.

7.2.3 Rotíferos + cladóceros

El tercer experimento consistió en aplicar dietas mezclando los rotíferos y los cladóceros utilizados en las anteriores pruebas de preferencia, por lo que se observó el comportamiento de *A. mexicanum* en cuanto a la preferencia por cladóceros y rotíferos de diferentes tamaños (108 a 2100 μm) durante ocho semanas (Fig. 6). En cuanto a rotíferos nunca hubo una preferencia por ellos durante este periodo. Entre las especies de cladóceros, el más consumido durante las primeras dos semanas fue el de menor talla *A. rectangula* ($430 \pm 10 \mu\text{m}$) y luego por *M. triserialis*, *M. macrocopa* y *Simocephalus vetulus*. Los cladóceros son mas preferidos que los rotíferos, esto se observa en las ocho semanas que duró el experimento.

PREFERENCIAS ROTIFEROS Y CLADOCEROS EN LABORATORIO

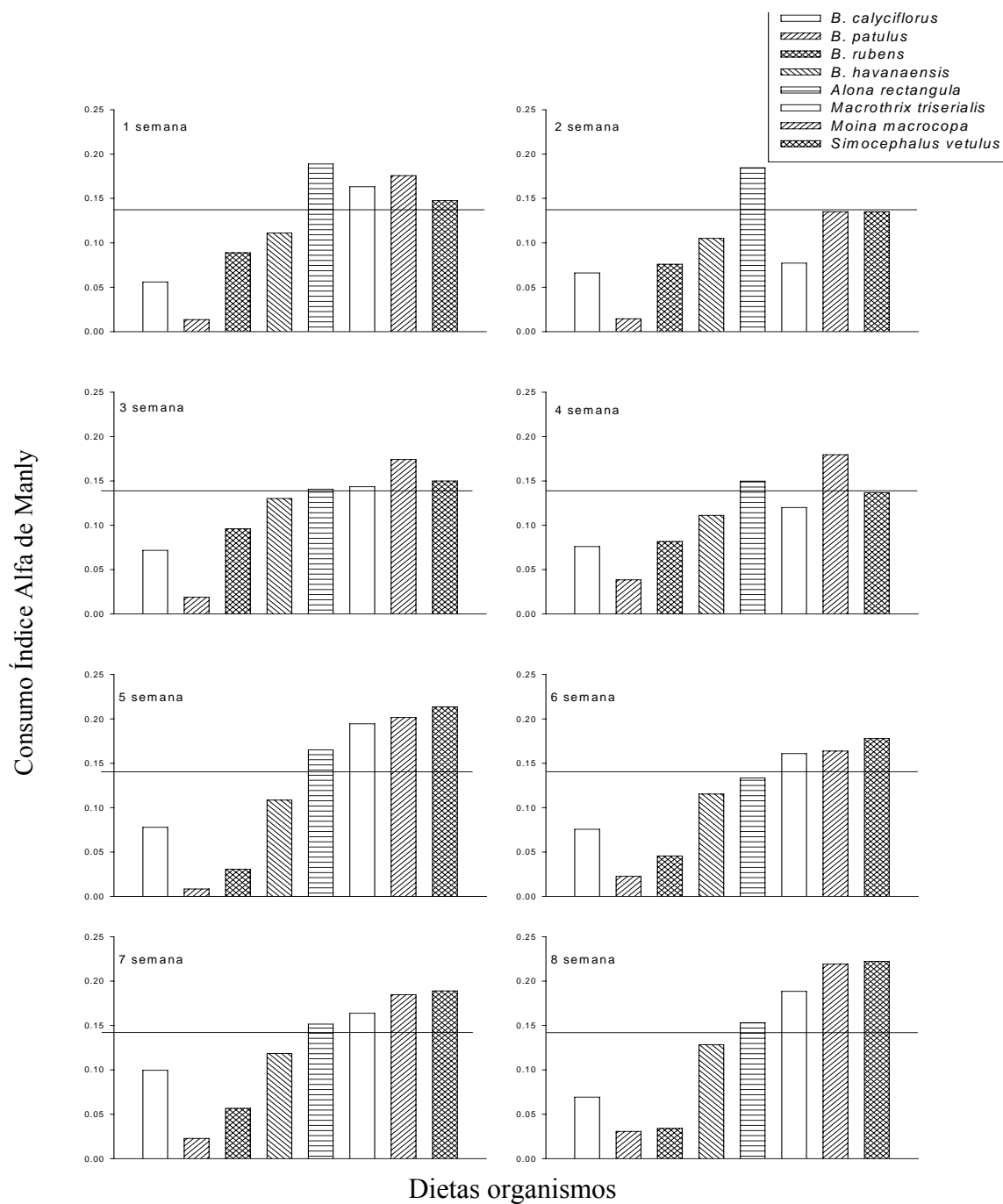


Figura 6: Preferencias por semanas de *Ambystoma mexicanum* con dietas de Cladóceros y rotíferos (*Alona rectangularis*, *Macrothrix triserialis*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*; *B. havanaensis*, *B. rubens*, *B. patulus* y *B. calyciflorus*). Por arriba de la línea recta se muestran las preferencias alimentarias.

7.2.4 Cladóceros + ostrácodo

En el último experimento de preferencia se aplicó una mezcla del ostrácodo *Heterocypris incongruens*, con las cuatro especies de cladóceros. Desde la primera hasta la octava semana, siempre hubo preferencia por el ostrácodo, *H. incongruens*. Por otro lado, entre los cladóceros en la primer semana se observa una preferencia por la especie de menor talla, que es *A. rectangula* ($430 \pm 10 \mu\text{m}$), posteriormente por especies grandes. A partir de la cuarta semana *A. mexicanum* no consume preferentemente especies de tallas pequeñas como *A. rectangula*, pero empieza a consumir especies de tallas medias, como *M. triserialis* y *M. macrocopa*. Con la opción de comer *H. incongruens* el ajolote mostró una preferencia por *S. vetulus* ($2100 \mu\text{m}$) sólo después de la sexta semana (Fig. 7).

PREFERENCIAS CON CLADOCEROS Y OSTRACODO CULTIVADOS EN EL LABORATORIO

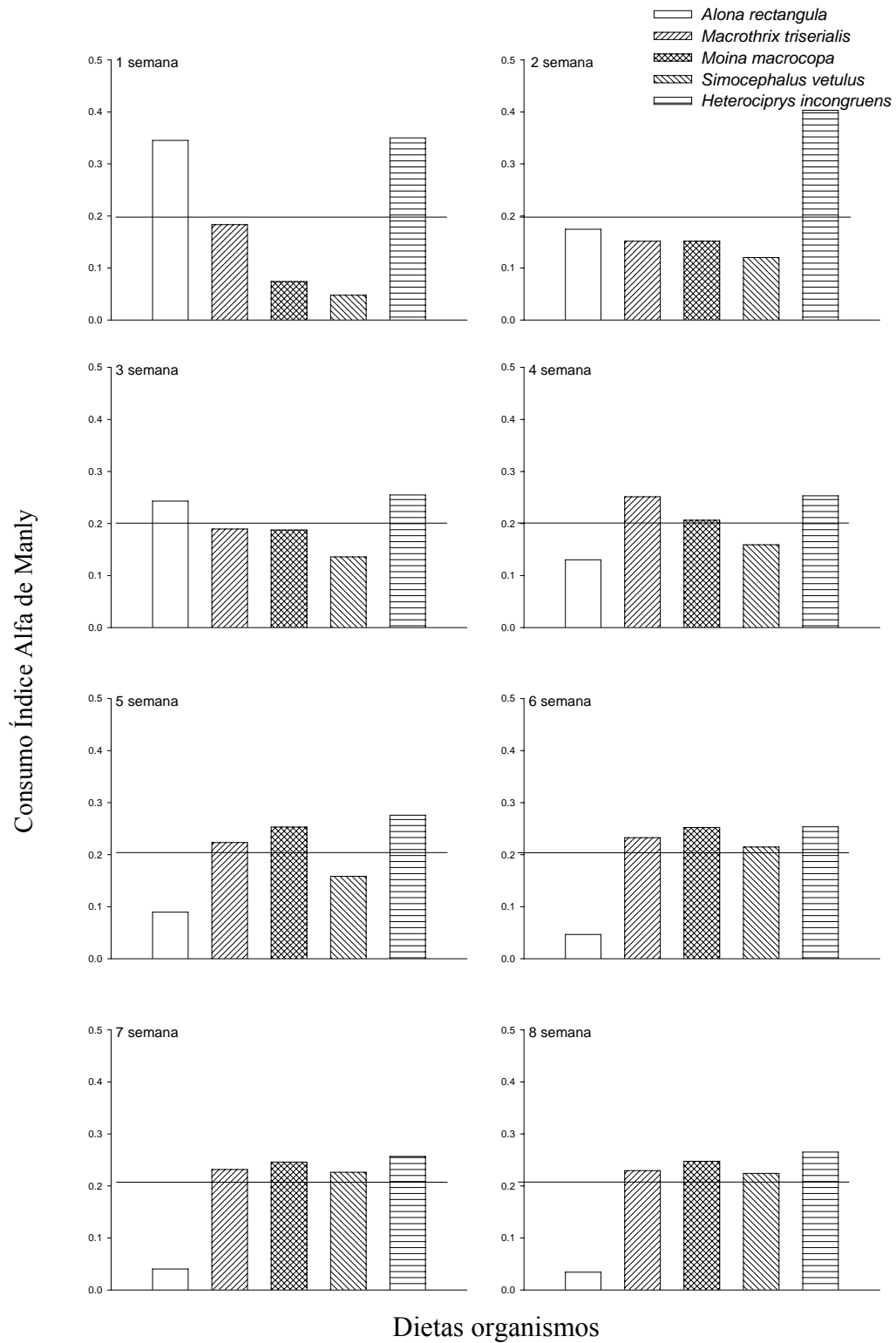


Figura 7: Preferencias por semanas de *Ambystoma mexicanum* con dietas de Cladóceros y ostracodo (*Alona rectangula*, *Macrothrix triserialis*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*; *Heterocypris incongruens*). Por arriba de la línea recta se muestran las preferencias alimentarias.

7.3 Respuesta Funcional de *A. mexicanum*, con zooplancton presente en el lago de Xochimilco, cultivado en laboratorio

7.3.1 Rotíferos

A. mexicanum mostró diferencias en el consumo de zooplancton dependiendo de la especie y edad. En las dietas aplicadas con rotíferos se observó el menor consumo en la primera semana del experimento, y el mayor consumo, con todas las especies, en la densidad 8 ind/ml de la cuarta semana. La dieta aplicada con *B. patulus* muestra un patrón donde en la primer semana registra valores más bajos en cuanto a respuestas funcionales, mientras que los más altos son en la octava semana (Fig. 8a). Los rotíferos *B. calyciflorus* y *B. patulus* (Fig. 8a) fueron los menos consumidos (<10 individuos por cada larva) y, por otro lado en las dietas de *B. rubens* y *B. havanaensis* se observa los mayores consumos (>10 individuos) (Fig. 8b) (ver estadístico ANDEVA 3 vías Tabla 3a).

RESPUESTA FUNCIONAL ROTIFEROS

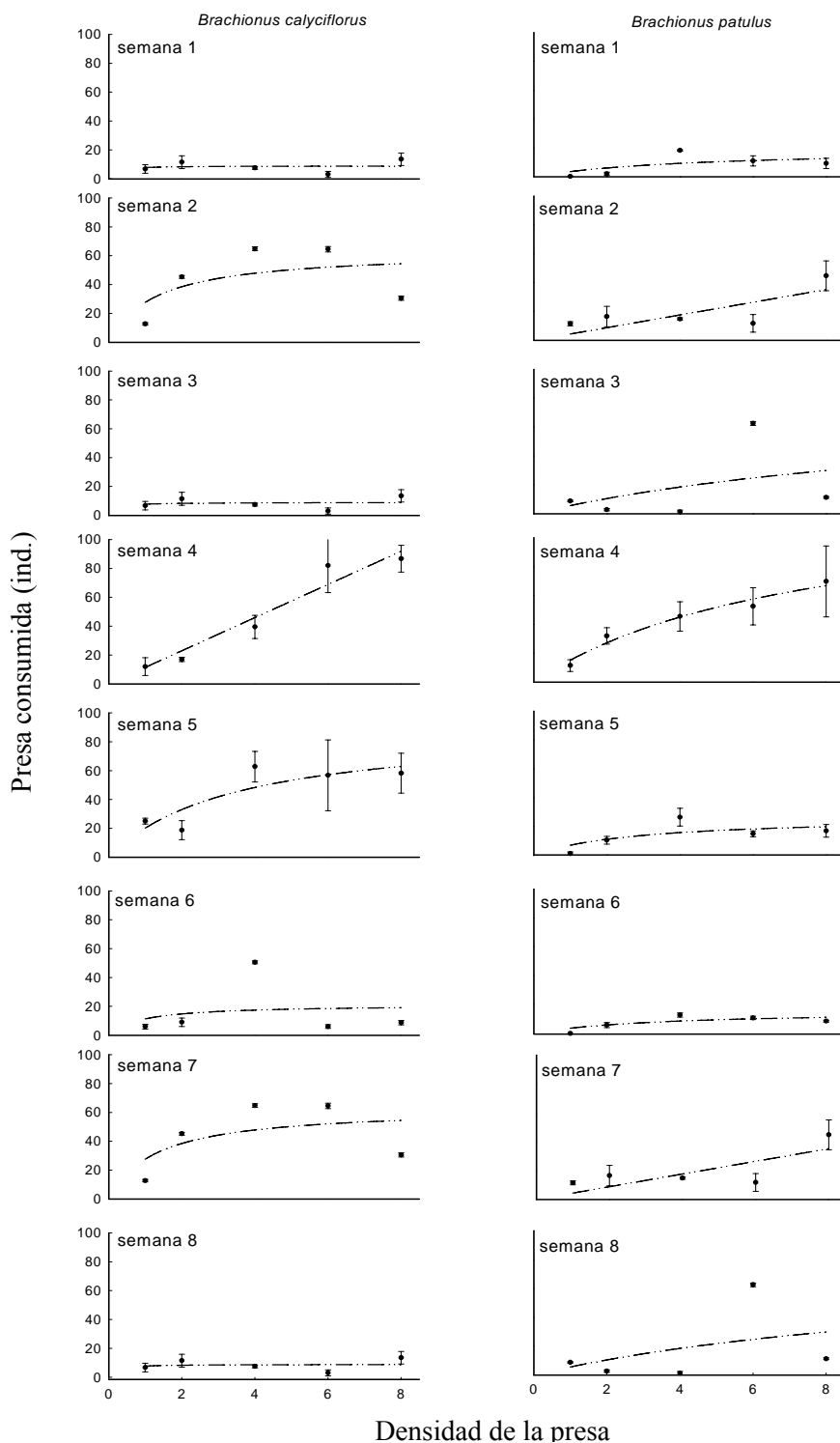


Figura 8a: Respuestas funcionales de *Ambystoma mexicanum* con dietas de rotíferos *Brachionus calyciflorus* y *B. patulus* a lo largo de las 8 semanas de experimento. (Promedios y error estándar, Constante de Michelis- Menten)

RESPUESTA FUNCIONAL ROTIFEROS

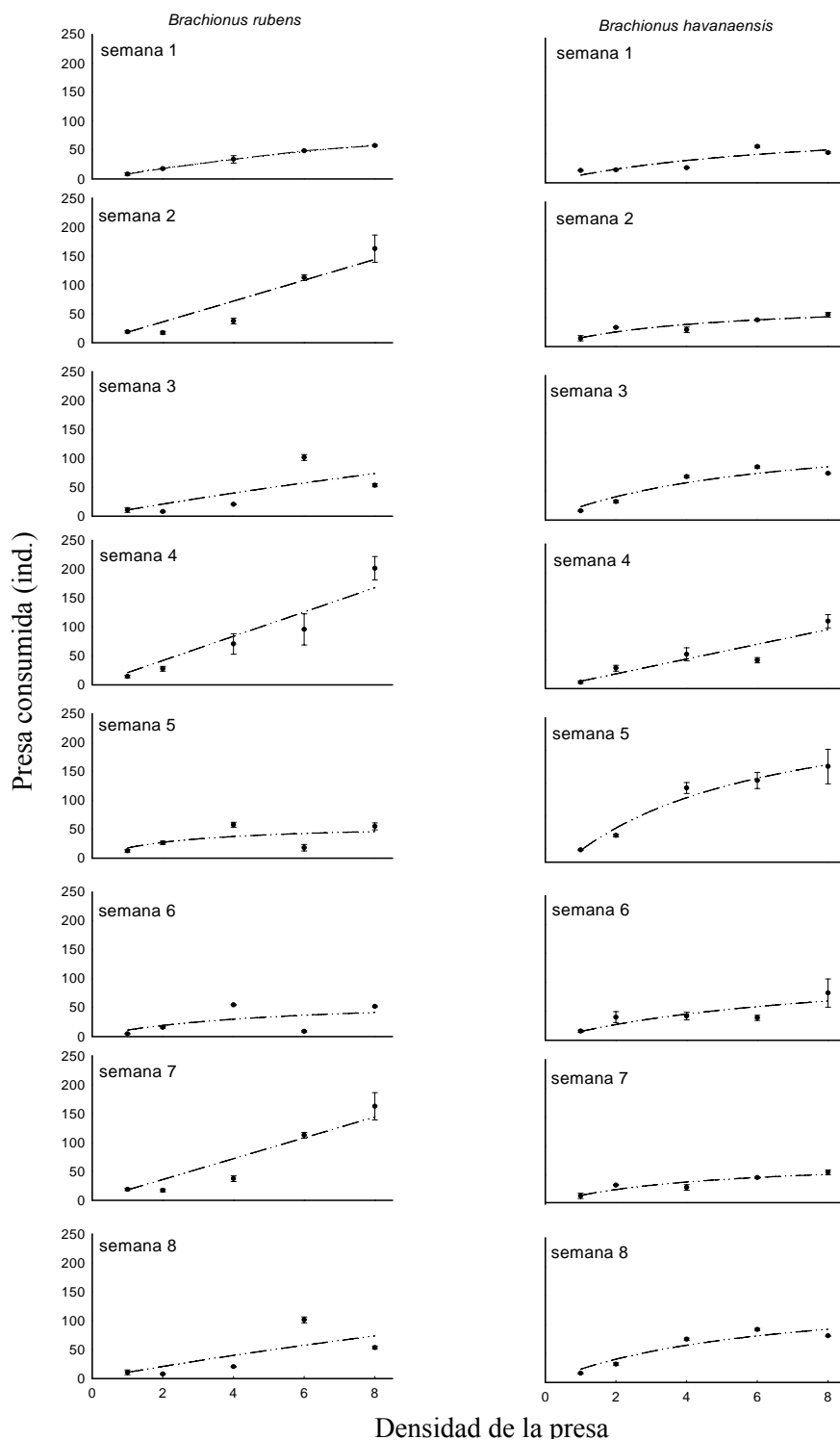


Figura 8b: Respuestas funcionales de *Ambystoma mexicanum* con dietas de rotíferos *Brachionus rubens* y *B. havanaensis*. A lo largo de las 8 semanas de experimento. (Promedios y error estándar, Constante de Michelis- Menten)

7. 3. 2 Cladóceros

En relación a las dietas de rotíferos y cladóceros las larvas de *A. mexicanum* consumieron más a los microcrustáceos (Ver Tabla 3b) (Fig. 9a y 9b) y entre los cladóceros los más consumidos fueron *M. triserialis* y *M. macrocopa* (consumo > 70 individuos por larva). En la dieta con *S. vetulus* el consumo aumentó de 7 individuos a 86 individuos durante las ocho semanas (Fig. 9a). En cuanto a los organismos más consumidos por las larvas de *A. mexicanum*, fue un 80% del total ofrecido en los experimentos de *M. triserialis* y *M. macrocopa*. En las ocho semanas mostró un mayor consumo por *M. triserialis* (Fig. 9b) (ver estadístico ANDEVA 3 vías Tabla 3b).

7. 3. 3 Ostrácodos

De todas las presas administradas en la dieta de *A. mexicanum*, se observó el mayor consumo por el ostrácodo *Heterocypris incongruens* (ver estadístico ANDEVA 3 vías Tabla 3b), particularmente durante las últimas semanas del periodo experimental (Fig. 10). En el punto en el que las gráficas muestran una estabilización en los consumos (asintote), se observa en cada semana un incremento en los valores de las asintota de las curvas de respuesta funcional de 4 a 169 individuos durante las ocho semanas.

RESPUESTA FUNCIONAL CLADOCEROS

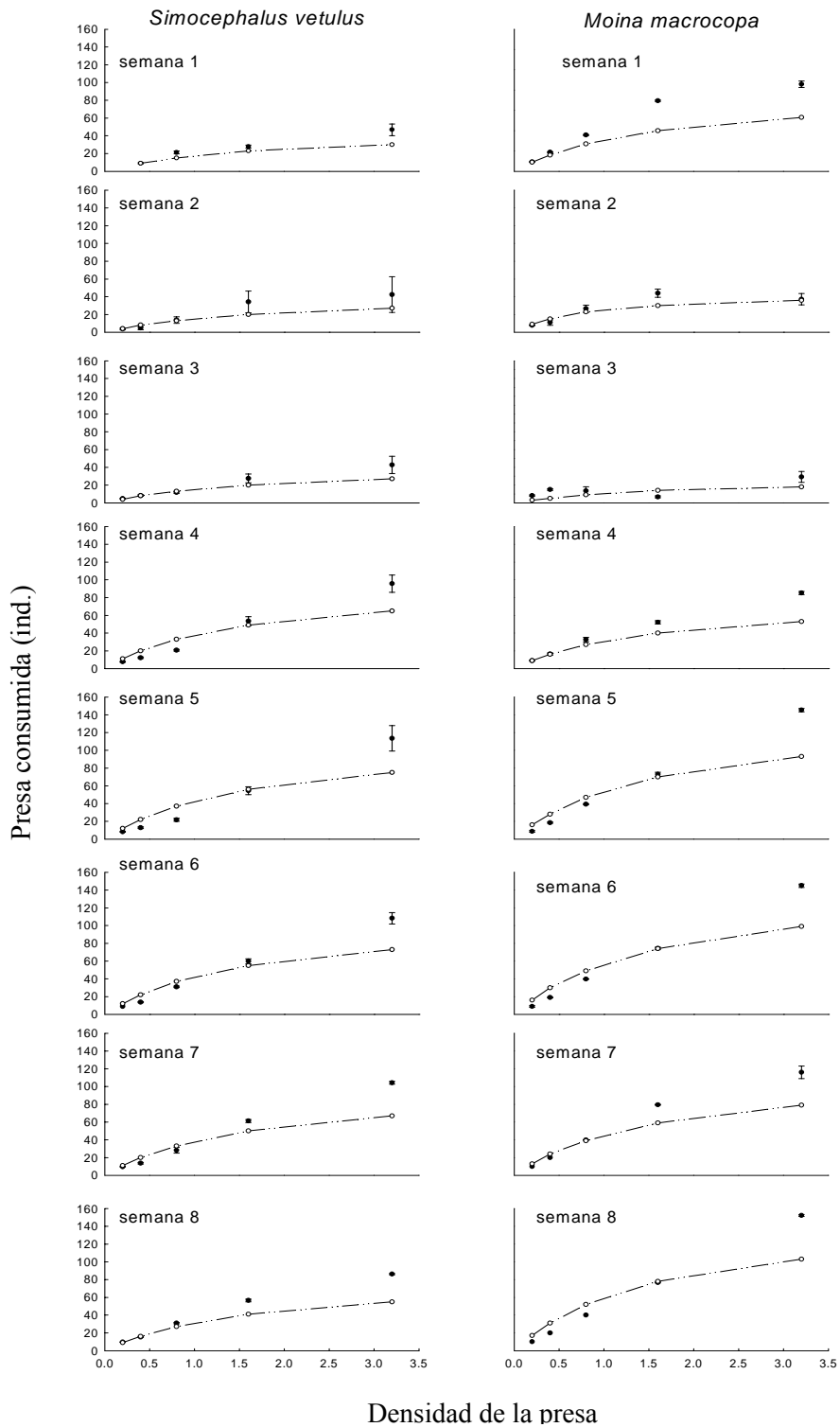


Figura 9a: Respuestas funcionales de *Ambystoma mexicanum* con dietas de cladóceros *Simocephalus vetulus* y *Moina macrocopa* a lo largo de las 8 semanas de experimento. (Promedios y error estándar, Constante de Michelis- Menten)

RESPUESTA FUNCIONAL CLADOCEROS

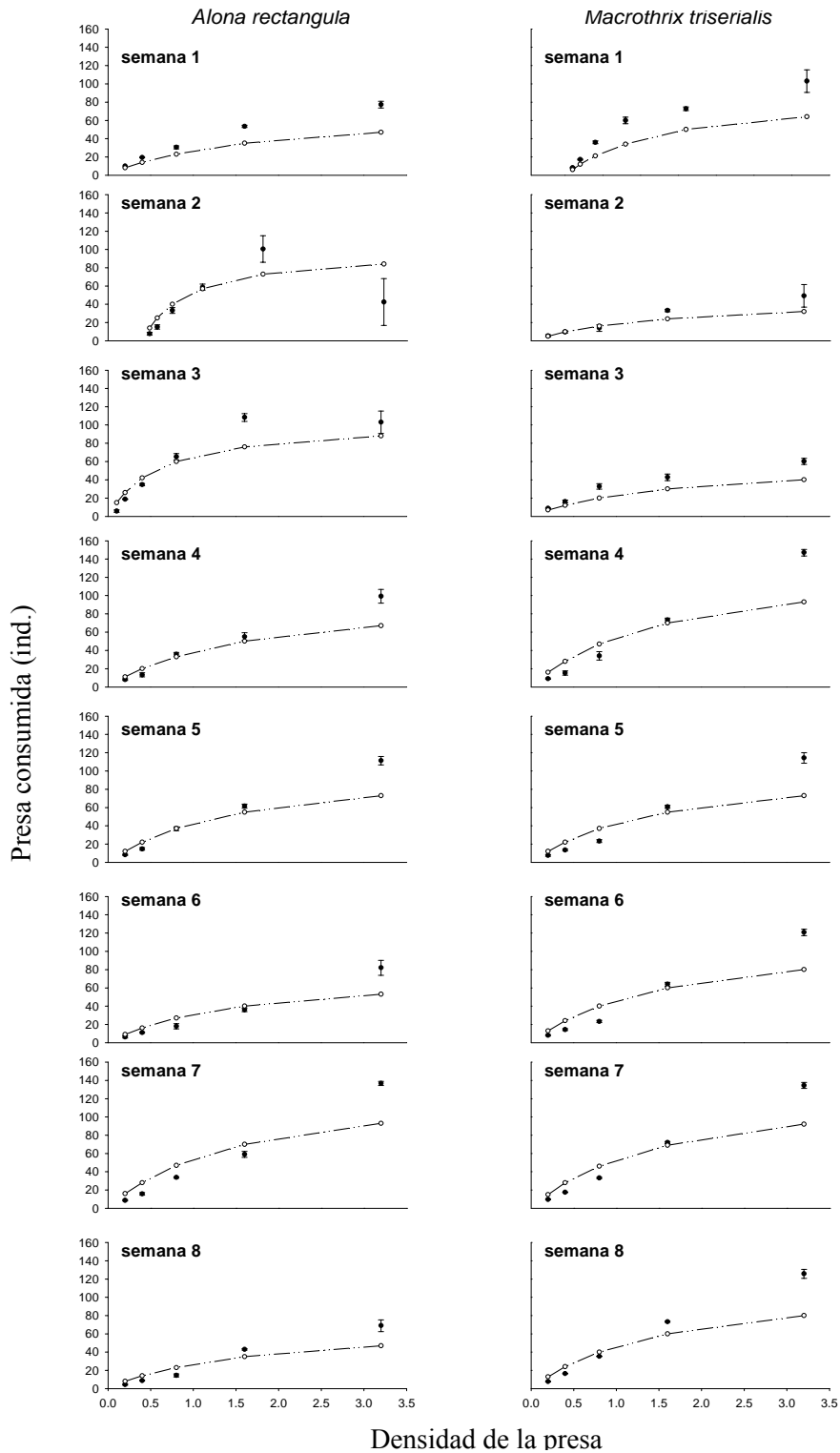


Figura 9b: Respuestas funcionales de *Ambystoma mexicanum* con dietas de cladóceros *Alona rectangula* y *Macrothrix triserialis* a lo largo de las 8 semanas de experimento. (Promedios y error estándar, Constante de Michelis- Menten)

RESPUESTA FUNCIONAL CLADOCEROS

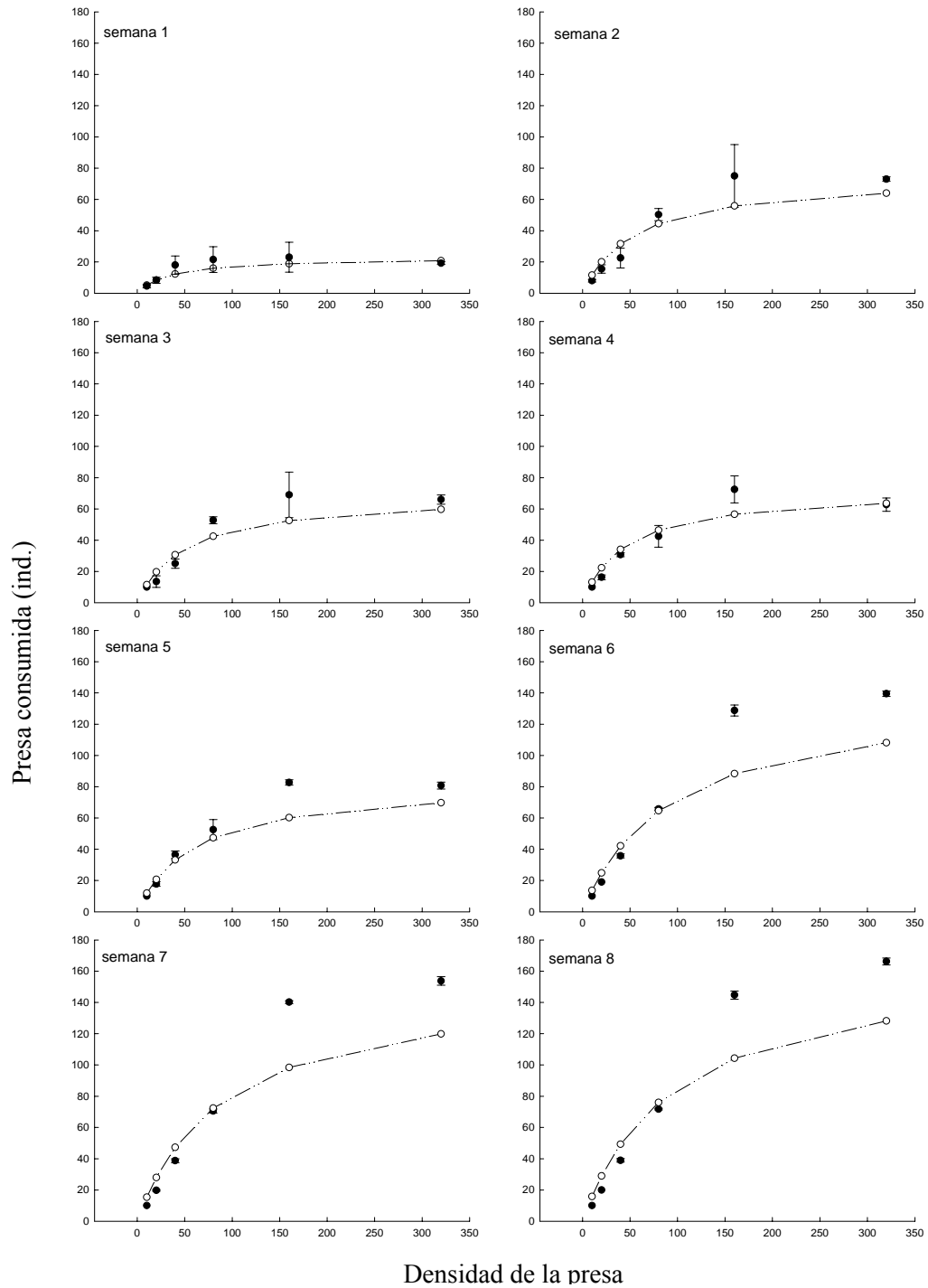


Figura 10: Respuestas funcionales de *Ambystoma mexicanum* con la dieta del ostracodo *Heterocypris incongruens*. a lo largo de las 8 semanas de experimento. (Promedios y error estándar , Constante de Michelis- Menten)

Tablas 3a y 3b. Análisis estadístico (ANDEVA de tres vías) de los consumos de *Ambystoma mexicanum* con dietas de rotíferos (3a) y microcrustáceos (3b), en las primeras ocho semanas de desarrollo larvario en 5 densidades de alimento con 4 repeticiones cada una (rotíferos: 1, 2, 4, 6, 8 ind/ml; microcrustáceos: 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 ind/ml). GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MS= media de cuadrados, F= F de tablas, se muestran los valores significativos ($p < 0.001$) en negritas.

3a) ANDEVA Rotíferos.

Efecto	SC	GL	MC	F	P
Especie	152961	3	50987	4456	0.0000
Edad	131511	7	18787	1642	0.0000
Concentración	222850	4	55712	4869	0.0000
Especie*Edad	113561	21	5407.7	472	0.0000
Especie*Concentración	90863	12	7571.0	661	0.0000
Edad*Concentración	105209	28	3757.5	328	0.0000
Especie*Edad*Concentración	117885	84	1403.4	122	0.0000
Error	5491.2	480	11.4		

3b) ANDEVA Microcrustáceos.

Efecto	SC	GL	MC	F	P
Especie	10266	4	2567	3305	0.0000
Edad	56214	7	8031	10340	0.0000
Concentración	791888	4	197972	254900	0.0000
Especie*Edad	55045	28	1966	2531	0.0000
Especie*Concentración	6713	16	420	540	0.0000
Edad*Concentración	75510	28	2697	3472	0.0000
Especie*Edad*Concentración	58101	112	519	668	0.0000
Error	466	600	0.78		

De acuerdo con la ANDEVA de tres vías realizada, para las dietas aplicadas con rotíferos y microcrustáceos se observó un efecto significativo en el consumo por parte de *A. mexicanum* de $p < 0.001$.

7.3.4 Consumos máximos

En la Figura 11 se observan los consumos máximos de *A. mexicanum* con respecto a las diferentes dietas aplicadas durante el periodo experimental. Entre los rotíferos uno de los más consumidos fue *B. havanaensis*, aunque en comparación con los cladóceros y el ostrácodo el número de presas ingeridas de este grupo son muy bajos, ya que en cuestión de biomasa se observa un consumo menor en las 4 especies de rotíferos. Con lo que respecta a los consumos por cladóceros, *A. mexicanum* consumió en orden descendente del mayor consumido al menor consumido: *M. triserialis*, *M. macrocopa*, *A. rectangula* y *S. vetulus* (***) = $p < 0.001$, ANDEVA de una vía: Tabla 4). Entre todas las dietas zooplanctónicas aplicadas al ajolote, la más consumida desde los primeros días hasta el último que se aplicó en el experimento fue el ostrácodo *H. incongruens*. Se observa que el consumo de todas las presas fue significativamente diferente en relación con la edad del ajolote ($p < 0.001$, ANDEVA de una vía por cada presa; Tabla 4). Sin embargo, no se observa un aumento en el consumo proporcional con la edad, en las dietas de rotíferos o cladóceros, pero sí se observó esta tendencia con los ostrácodos (Fig. 11).

CONSUMOS MAXIMOS DE PRESAS POR SEMANAS

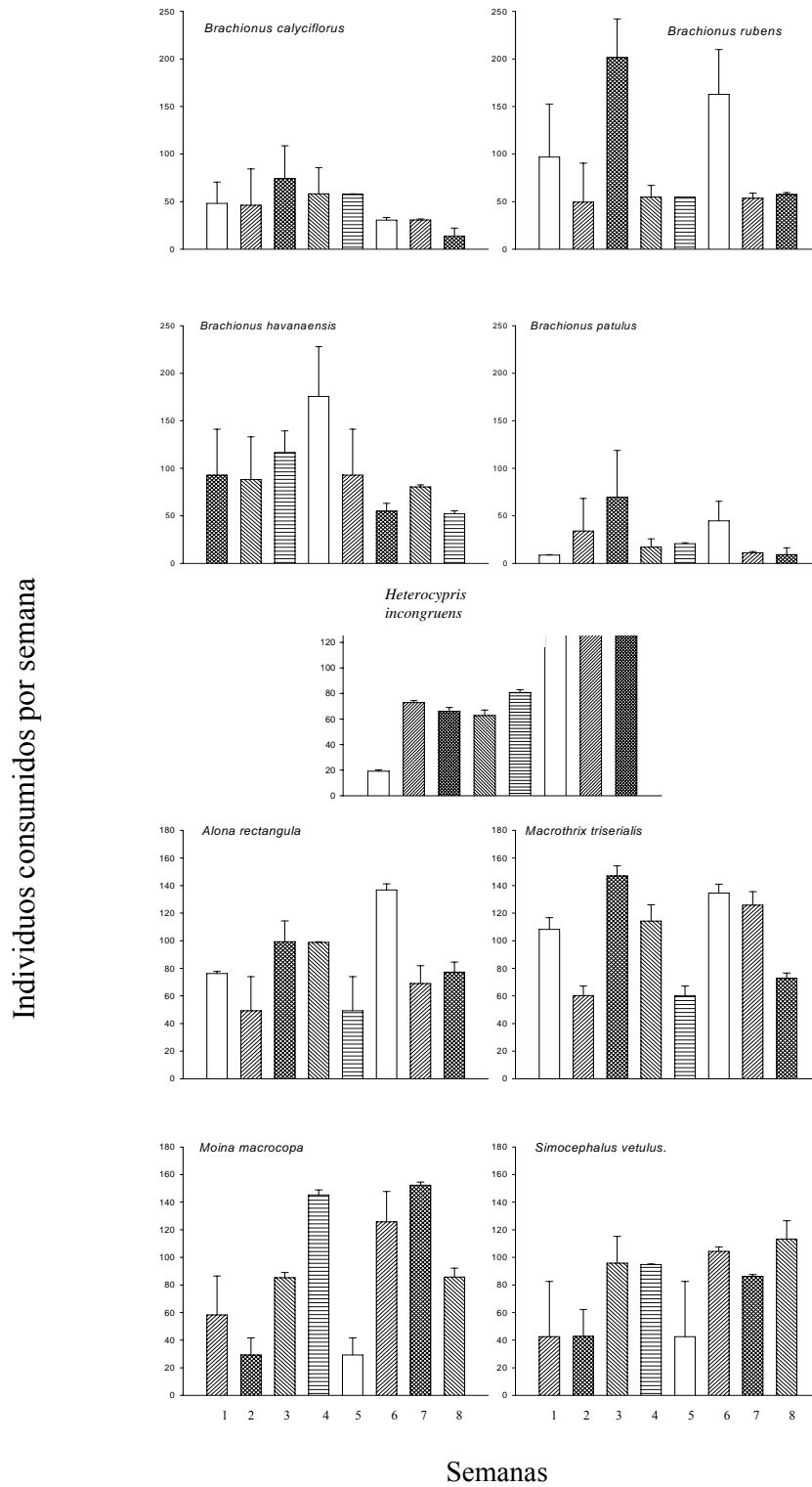


Figura 11: Consumos máximos por semanas de *A. mexicanum* por dietas (rotíferos: *Brachionus calyciflorus*, *B. rubens*, *B. havanaensis*, *B. patulus*; ostracodo: *H. Incongruens*; cladóceros: *A. rectangula*, *M. triserialis*, *M. macrocopa*, *S. vetulus*). Los valores de ind /mL, de rotíferos, cladóceros y ostracodo varían por las concentraciones aplicadas en los experimentos.

Tabla 4. Análisis estadístico de los mayores consumos de *Ambystoma mexicanum* con diferentes dietas de zooplancton GL = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media de cuadrados F = F-ratio, *** = $p < 0.001$, ** = $p < 0.01$, * = $p < 0.05$. Anovas de dos factores realizados para determinar si existen diferencias significativas entre las ocho dietas aplicadas a *A. mexicanum*.

Especies	Fuente de variación	GL	SC	MS	F	
<i>Heterocypris incongruens</i>	Consumo x semana	7	10751.1	1711.61	0.00	***
	Error	24	6.3			
<i>Simocephalus vetulus</i>	Consumo x semana	7	3633.1	6.9954	0.000137	***
	Error	24	519.4			
<i>Alona rectangular</i>	Consumo x semana	7	3397.4	16.059	0.000000	***
	Error	24	211.6			
<i>Macrothrix triserialis</i>	Consumo x semana	7	4668.6	73.352	0.000000	***
	Error	24	63.6			
<i>Moina macrocopa</i>	Consumo x semana	7	9500.2	45.913	0.000000	***
	Error	24	206.9			
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Consumo x semana	7	1492.20	2.9922	0.020920	*
	Error	24	498.69			
<i>Brachionus rubens</i>	Consumo x semana	7	13847.2	12.5696	0.000001	***
	Error	24	1101.6			
<i>Brachionus havanaensis</i>	Consumo x semana	7	6074.7	4.8394	0.001635	**
	Error	24	1255.2			
<i>Brachionus patulus</i>	Consumo x semana	7	1843.91	3.56068	0.009116	**
	Error	24	517.85			

De acuerdo con la ANDEVA de dos vías realizado, para las dietas aplicadas con *H. incongruens*, *S. vetulus*, *A. rectangular*, *M. triserialis*, *M. macrocopa* y *B. rubens* se observó un efecto significativo en el consumo por parte de *A. mexicanum* de $p < 0.001$. Por otro lado *B. havanaensis* y *B. patulus* el efecto significativo fue de $p < 0.01$. No obstante, *B. calyciflorus* ejerce un efecto significativo de $p < 0.05$.

7.4 Relación entre el tamaño de boca y el cuerpo de *A. mexicanum* y la presa seleccionada

En las primeras ocho semanas después de la eclosión de las larvas de *A. mexicanum* se observa un aumento en la longitud de las cavidades bucales en las larvas (Fig. 12). El cuerpo de *A. mexicanum* aumentó más durante la primera semana a la segunda semana, y el segundo incremento más significativo se registró de la cuarta a la quinta semana.

La relación entre el soma y el tamaño de la boca se presenta en la Figura 13, donde hubo una correlación significativa (Cuerpo: Boca: $r^2 = 0.85$; $r = 0.92$, $p = 00.00$; $y = 0.05 + 0.06*x$), existe una relación positiva entre estas variables: conforme aumentaba el soma aumentaba la cavidad bucal.

La ecuación de regresión estimada es: $y = 0.05 + 0.06*x$

Coefficiente de correlación: $r = 0.92$

Coefficiente de determinación: $r^2 = 0.85$

El valor de $r^2 = 0.85$ indica el incremento del cuerpo de las larvas en milímetros, en promedio, por cada milímetro de aumento en el tamaño de la boca. El análisis de regresión lineal estimada para las variables tamaño de soma y tamaño de cavidad bucal muestran, de acuerdo a la prueba una relación. Esta relación se ha estimado en un $r = 0.92$, que indica una fuerte relación positiva. Además si consideramos el coeficiente de determinación $r^2 = 85$ podemos indicar que el 85% de las variaciones que ocurren en el tamaño de la boca se explicarían por las variaciones en la variable del tamaño del cuerpo.

Se comparó las preferencias alimentarias de *A. mexicanum* usando el índice de α de Manly. Siempre se observó una preferencia para los cladóceros cuales tallas variaron entre 409 a 2100 μm y nunca para los rotíferos (tamaño entre 98 ± 2 a $169 \pm 2 \mu\text{m}$). En las pruebas de preferencia con dietas de cladóceros y ostrácodos, se observó una preferencia desde la primera semana hasta la octava semana por el ostrácodo *H. incongruens* ($2114 \pm 32 \mu\text{m}$).

En cuanto a las dietas de organismos recolectados en el lago de Xochimilco se observa que en general hubo un mayor consumo de las especies con tallas mayor a 400 μm y rechazó a organismos que median menos, como los rotíferos, nauplio o copepodito de los copépodos. Dentro de los cladóceros se observó un mayor consumo de especies con tallas pequeñas como *Alona rectangula* ($409 \pm 5 \mu\text{m}$.) durante las primeras semanas e incrementando el consumo de cladóceros grandes a través de las ocho semanas.

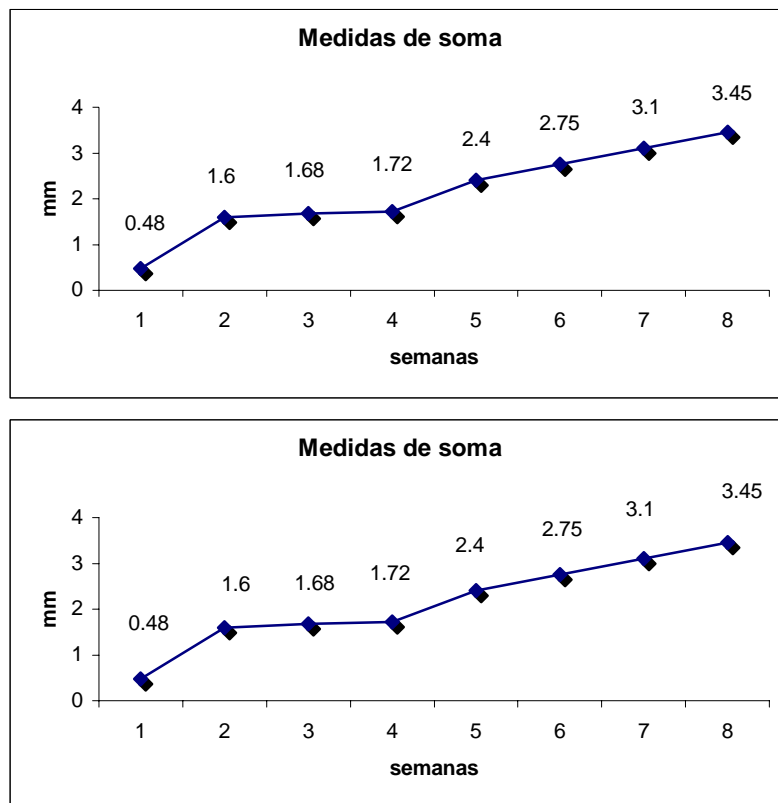


Figura 12: Medidas del crecimiento de soma y boca de *Ambystoma mexicanum* en las primeras 8 semanas de vida con alimento de zooplancton *at libitum*

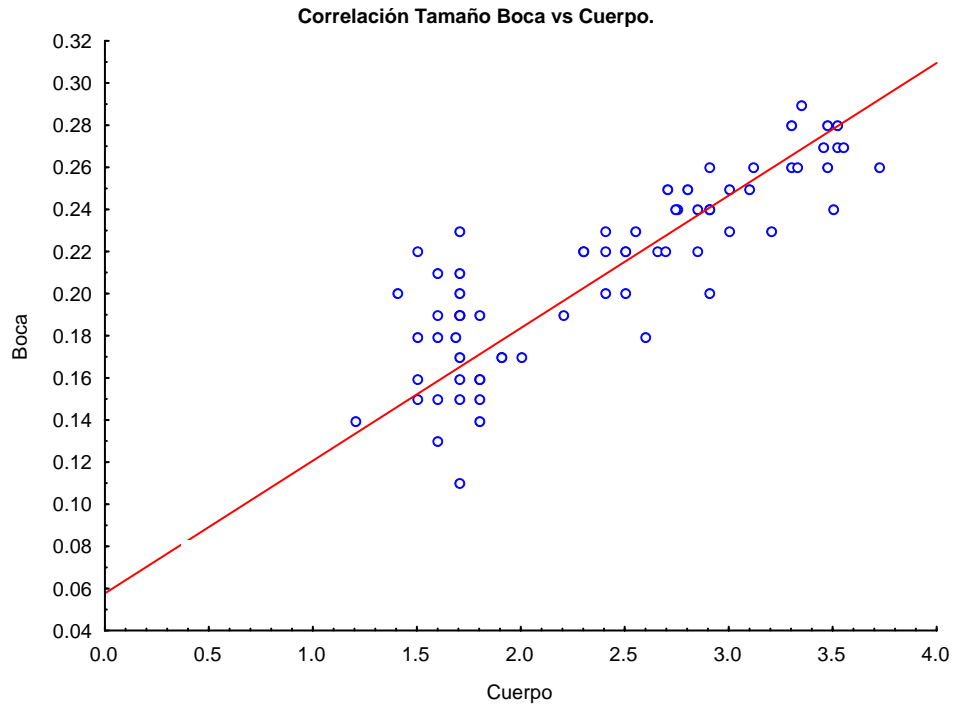


Figura 13: correlación significativa entre los parámetros, tamaños de cuerpo y bocas de *Ambystoma mexicanum* (Cuerpo:Boca: $r^2 = 0.85$; $r = 0.92$, $p = 0.0$; $y = 0.05 + 0.06 \cdot x$).

8. DISCUSIÓN

Estudiar la ecología alimentaria de *A. mexicanum* nos permitió ver el desenvolvimiento en las decisiones de alimentación, conforme fueron creciendo las larvas de *A. mexicanum* se observan cambios en el comportamiento alimentario, los cuales los analizamos con los experimentos de preferencia alimentaria y respuesta funcional (Van der Meer y Ens, 1997). Estas dos pruebas son aspectos complementarios el uno del otro y se deben estudiar idealmente juntos para entender el comportamiento del depredador con respecto a una presa particular (Krebs y Dabies, 1991). Podemos hablar de una preferencia por un tipo particular de presa de *A. mexicanum*, por que se observó que la proporción de dichas presas disminuía en el ambiente en el que se localizaban las larvas (Begon, 1999). También se observó un aumento significativo en la densidad de la población-presa, las larvas de los ajolotes respondieron aumentando su consumo en relación con su edad y especies de presa. Con el modelo de respuesta funcional pudimos predecir los efectos de cambiar las características de las larvas de *A. mexicanum* hacia sus presas zooplanctónicas (Van der Meer y Ens, 1997).

El ajolote consumió más cladóceros y ostrácodos desde la primera semana. Esta observación es semejante a algunas larvas de peces vivíparos como *Allotoca dugesi* (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2002) pero es diferente a peces ovíparos (las crías miden < 8 mm a las ocho semanas) como *Chirostoma riojai* (Sarma *et al.*, 2003), ya que estos prefieren rotíferos en las primeras semanas de su vida. La posible explicación es el tamaño grande de la boca, que tiene el pez vivíparo *Allotoca dugesi* mostrando el mismo comportamiento a *A. mexicanum*.

Gill y Hart (1994) así como Juanes (1994) coinciden que depredadores acuáticos en términos energéticos seleccionan su presa por el aporte de energía más alto. Esto se ve reflejado en las respuestas funcionales y preferencias que tuvo *A. mexicanum* sobre 3 grupos de zooplancton (rotíferos, cladóceros y ostrácodos), observándose la inclinación por un alimento que proporcionara más energía, aplicando poca energía para su captura como fue el caso de especies más grandes como cladóceros y ostrácodos. Además se pudo observar que el tamaño de la presa da una probabilidad de éxito en su captura,

reduciendo los costos en especies grandes por especies pequeñas (Gill y Hart, 1994; Juanes, 1994).

El presente trabajo muestra que existe a menudo una compensación de energía entre el tamaño de la presa ingerida y la energía aplicada en la manipulación de ella (Krebs, 1999). Las presas grandes (cladóceros) implican mayores gastos de energía en su captura para *A. mexicanum*, pues estas especies presentan movimientos más rápidos y bruscos que los rotíferos, como es el caso de *Moina macrocopa*, pero son más provechosas energéticamente (Burns y Gilbert, 1986). El movimiento de *Moina*, la hace ser más visible, resultando ser más consumida por varias especies de peces tropicales (Zaret, 1980). Entre los cladóceros, el más consumido fue *Macrothrix triserialis*, es algo raro por que esta especie tiene espinas en su caparazón que sirve como protección contra la depredación por otros organismos (Nandini *et al.*, 2003). Este acontecimiento biológico en la depredación, es debido a los hábitos bentónicos que comparten *A. mexicanum* con *M. triserialis*; este mismo suceso biológico se ha observado con especies de cladóceros como *Simocephalus* y el *Ambystoma mabeei* (McCoy, 2004; Hoffman y Brodman, 2004; Gillis y Lauder, 1994).

Entre las cuatro especies de rotíferos el más consumido fue *B. havanaensis*. Estos resultados nos muestran que el tamaño no influye en la captura de las presas, puesto que el rotífero de mayor talla es *B. calyciflorus* ($185 \pm 12 \mu\text{m}$), en comparación con *B. havanaensis* ($120 \pm 10 \mu\text{m}$), si no que está influenciado por el movimiento de nado de las especies de rotíferos, *B. havanaensis* tiene movimientos de nado más lentos que las otras especies lo que facilita su captura, aunque no hay datos publicados sobre los movimientos de nado de esta especie. *B. havanaensis* es una de las especies de rotíferos más comunes y abundantes entre los rotíferos en los canales de Xochimilco (Nandini *et al.*, 2005).

El interés para saber más sobre la biología alimentaria de la comunidad del plancton ha conducido a muchos estudios de la depredación selectiva por los depredadores acuáticos pero se han basado en encuentros artificiales simplificando la relación depredador-presa (Unger y Lewis, 1983), como en el caso de *A. mexicanum*. Un tipo común de simplificación es el uso de varias especies y tamaños de las presas. Las relaciones naturales de la presa (plancton) incluyen generalmente varias especies, que pueden

variar en un número de características importantes además de tamaño, estos incluyen el movimiento, color, contraste de la luminiscencia, migración vertical, palatable, facilidad de la dirección por los depredadores y capacidad del escape. Desafortunadamente, ninguno de éstos son tan fáciles de cuantificar como el tamaño de la presa. La probabilidad de que *A. mexicanum* en estos experimentos buscara, encontrara y atacara a su presa era muy alta debido a que eran constantes las aplicaciones de organismos como dietas. En ambos experimentos (respuesta funcional y preferencias) se pudo observar que los depredadores estuvieron limitados en espacio, esto no es una limitante para la interpretación ya que la conducta de *A. mexicanum* es de cazador pasivo, ósea que en condiciones naturales no es un cazador activo, corroborando la expectativa de que *A. mexicanum* como depredador invierte menos tiempo en el forrajeo activo del alimento (Smith y Smith, 1971). Por la misma razón, es muy congruente la alta preferencia de *A. mexicanum* para *Simocephalus* y *Heterocypris*, especies béntonicas y relativamente lentas.

El número de presas consumidas es influenciado por el tamaño de la presa, la densidad, el movimiento de nado y el nivel de hambre del depredador (Carola *et al.*, 2001). Esto se observa en las respuestas funcionales que mostró *A. mexicanum*, ya que los valores más altos, se registraron en las densidades más altas con los organismos acordes al tamaño de la boca ($> 1000 \mu\text{m}$) de *A. mexicanum*, con movimientos lentos (2 mm/seg acción de nado). Los trabajos de biología alimentaría con *Ambystoma* y especialmente con *Ambystoma mexicanum* son muy escasos. Sin embargo, las tendencias en su comportamiento alimentario son muy parecidas a los peces. Por ejemplo, Gill (2003) trabajando con peces menciona que cuando el depredador es pequeño tiene mayores preferencias por especies planctónicas pequeñas, y conforme va creciendo el organismo se observa un mayor requerimiento, donde especies más grandes como los cladóceros se lo aportarán, lo anterior mencionado se observa en el presente trabajo donde *A. mexicanum* en las primeras semanas consumió especies de tamaños pequeños ($< 500 \mu\text{m}$) como rotíferos (*Brachionus havanaensis*) y cladóceros de tallas pequeñas (*Alona rectangula*).

A. mexicanum mostró cambios en las preferencias alimentarias, con las diferentes presas zooplanctónicas, durante el periodo de estudio (8 semanas). Esto se vio influenciado principalmente por el tamaño de la boca de las larvas. Zaret (1980) menciona el término

“gape limited predator” (GLP) que es cuando los depredadores están limitados por el tamaño del diámetro de la boca, la cual esta determinada por el tamaño máximo de la presa que el depredador puede ingerir. Si la presa excede el diámetro de la boca del depredador la probabilidad de ser comido es baja. El término aplicado por Zaret se observa muy claro en el presente trabajo de *A. mexicanum*, donde, de la primera a la cuarta semana el tamaño de la boca no excede los 0.19 cm, teniendo una preferencia por especies de tallas chicas como el cladóceros *Alona rectangula* ($430 \pm 2 \mu\text{m}$) y algunos rotíferos como *Brachionus havanaensis* ($120 \pm 10 \mu\text{m}$). Posteriormente en el periodo de la cuarta a sexta semana las preferencias son inclinadas en su mayoría por especies de tallas medias como *Macrothrix triserialis*, *Moina macrocopa*, *Pleuroxus sp.*, y *Ceriodaphnia sp.*, en este periodo el tamaño de la boca de las larvas no sobrepasa los 0.23 cm, y el tamaño de las presas oscila entre 750 a 2200 μm . Walls (1998) menciona que los depredadores acuáticos en este caso *A. mexicanum* al encontrar presas de tallas grandes reduce la captura de presas más pequeñas. El nivel de saciación del depredador en lo referente al tamaño de la presa también afecta el éxito de la captura, Gill (2003) sugiere que la preferencia por presa referente al tamaño de la boca pueda ser más importante que la especie de la presa atacada (Zaret, 1980). Otras especies de *Ambystomas* también muestran mayor preferencia por especies bentónicas como el cladóceros *Simocephalus vetulus* y el ostrácodos *H. incongruens* (Conde- Porcuna *et al.*, 2002).

En la actualidad el lago de Xochimilco se encuentra en una degradación constante (Proyecto UNESCO - Xochimilco, 2005), debido a la introducción de especies exóticas así como la destrucción del hábitat para especies endémicas como el ajolote, perjudican y ponen en riesgo de desaparecer. Las especies introducidas, como la carpa y tilapia afectan a la población de los ajolotes, debido a la competencia constante por el alimento (Valiente, 2006). La revisión bibliográfica muestra que el enfoque de la alimentación y principalmente en las primeras semanas de desarrollo es muy escaso. Los pocos trabajos como el de McCoy *et al.*, en 2004 demuestra que los ajolotes tienen un mayor enfoque por el zooplancton de tallas grandes como los cladóceros principalmente *Simocephalus vetulus*. Otros estudios pero enfocados a comunidades zooplanctónicas demuestran que los rotíferos predominan en los canales de Xochimilco (Jiménez-Contreras, 2007), lo cual indica menos alimento planctónico durante las primeras semanas de vida en el hábitat natural de *A. mexicanum*. Es importante a seguir

con investigaciones sobre alimentación en los primeros estadios de *A. mexicanum* en los canales de Xochimilco, para apoyar en conceptos y datos en un mejor éxito en su futura reintroducción y conservación.

Ahora bien, si comparamos los hábitos del *A. mexicanum* con la captura de sus presas, el ajolote en cuanto a su desarrollo presenta una evolución en la metamorfosis del estado larvario (Balsai *et al.*, 1994). Curiosamente, ha desarrollado la capacidad de madurar sexualmente y reproducirse conservando el estado larvario o la mayoría de sus aspectos (Armstrong *et al.*, 1989). Uno de los aspectos que mantiene, son los tres pares de branquias laterales externas, las cuales utilizan para respirar, tomando agua por la boca y dejándola salir por las agallas moviéndolas, esto quiere decir que si el organismo no se metamorfosea, todo su ciclo de vida lo pasará debajo del agua (Enzendam, 1994). Ahora si le sumamos a las anteriores descripciones del ajolote, que generalmente camina en el fondo de la columna de agua y pocas veces nadan (Duhon, 1989), el alimento mejor adaptado a estas condiciones, fácil de localizar, así como de atrapar y tragar es el zooplancton (Watanabe *et al.*, 1978). Entre el zooplancton que comparte las mismas condiciones naturales con los ajolotes, encontramos a los protozoarios, nematodos, copépodos, rotíferos, cladóceros y ostrácodos (Jiménez-Contreras, 2007).

Entre los grupos de zooplancton los que mejor se adaptan a los requerimientos alimentarios de los ajolotes son los rotíferos, cladóceros y ostrácodos, ya que estos presentan diferentes comportamientos en cuanto a sus hábitos de nado (Nandini *et al.*, 2005; Negrea *et al.*, 1999; Suárez, 2005). Por ejemplo los Brachionidae (rotíferos) son organismos mas planctónicos (Nandini *et al.*, 2005), los cladóceros son organismos que se localizan en toda la columna de agua, pueden estar en el superficie así como en la parte bentónica (Negrea *et al.*, 1999), ahora bien los ostrácodos son mas abundantes en la parte bentónica del Lago de Xochimilco (Suárez, 2005). Por otro lado el comportamiento de las larvas de *A. mexicanum* en general es bentónico (Duhon, 1989) y en pocas ocasiones pelágico, el comportamiento pelágico lo presentan debido a que poseen sacos pulmonares, que no se han desarrollado como pulmones debido a su escaso uso, por lo cual sube, de vez en cuando, a la superficie para tomar aire atmosférico (Shaffer, 1989). Por lo antes mencionado, el zooplancton se adapta a las diferentes demandas y requerimientos de *A. mexicanum*, un claro ejemplo es que las larvas de los ajolotes no son cazadores activos si no todo lo contrario, son cazadores

pasivos (Zaret, 1980), y si a esto le sumamos su actividad bentónica, podemos relacionar que el mejor zooplancton adaptable a estas condiciones es *Heterocypris incongruens*, así como *Alona rectangula*. Pero si hablamos de nado en las larvas de ajolote encontramos que se desplazan escasamente por la columna de agua para tomar oxígeno de la superficie, en el transcurso de este desplazamiento se interponen especies como rotíferos de las especies *Brachionus*, principalmente *B. calyciflorus*, *B. havanaensis*, *B. rubens* y *B. patulus*. También en este trayecto *A. mexicanum* detecta cladóceros como *Moina macrocopa*.

A. mexicanum presenta dientes muy rudimentarios, que solo están ideados para capturar el alimento, y no para desgarrarlo o masticarlo (Fenske *et al.*, 1995) por esto su alimento es generalmente tragado entero, por lo que las tallas de rotíferos, cladóceros y ostrácodos que varían entre 108 a 4000 μm , se adaptan al diámetro de la cavidad bucal de los ajolotes en las primeras semanas. Como ya mencioné anteriormente el ajolote no es un cazador activo, por lo que su comportamiento alimentario es solo abrir su boca en ocasiones variadas, absorbiendo agua junto con el alimento que tenga alrededor, por esta otra causa el zooplancton se adapta como un buen alimento a las larvas de *A. mexicanum* en sus primeras semanas de vida.

9. CONCLUSIONES

-Se observó que *Ambystoma mexicanum* consumió un mínimo de rotíferos, mientras que consumió mas cladóceros. Tenía un cambio ontogenético en la alimentación prefiriendo cladóceros de tallas pequeñas como *Alona rectangula* en las primeras semanas, luego organismos de tallas medias como *Macrothrix triserialis* y *Moina macrocopa*, y finalmente presas mas grandes como *Simocephalus vetulus*.

-La preferencia alimentaria de *Ambystoma mexicanum* se ve influenciada por la disponibilidad del alimento y el movimiento.

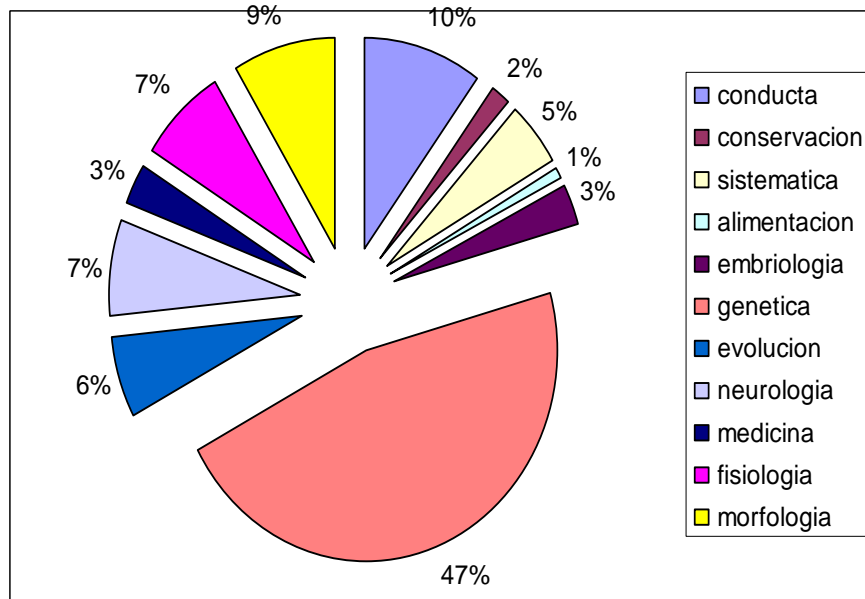
-Se registraron cambios en las preferencias conforme pasaban las semanas, prefiriendo presas pequeñas en las primera dos semanas como el rotífero *Keratella cochlearis*, y posteriormente cladóceros pequeños como *Alona rectangula* y *Pleuroxus*, y en las ultimas semanas *A. mexicanum* prefirió cladóceros de tallas mayores (>1200 μm) como *Ceriodaphnia* y *Daphnia*.

-*A. mexicanum* mostró, una mayor preferencia sobre todas las presas, por el ostrácodo bentónico *Heterocypris incongruens*.

-En cuanto a las medidas registradas del cuerpo y boca de *A. mexicanum* se observa un incremento de 14 y 25 % respectivamente, donde se relaciona el cambio de dietas (ontogenético) conforme aumenta su demanda de alimento.

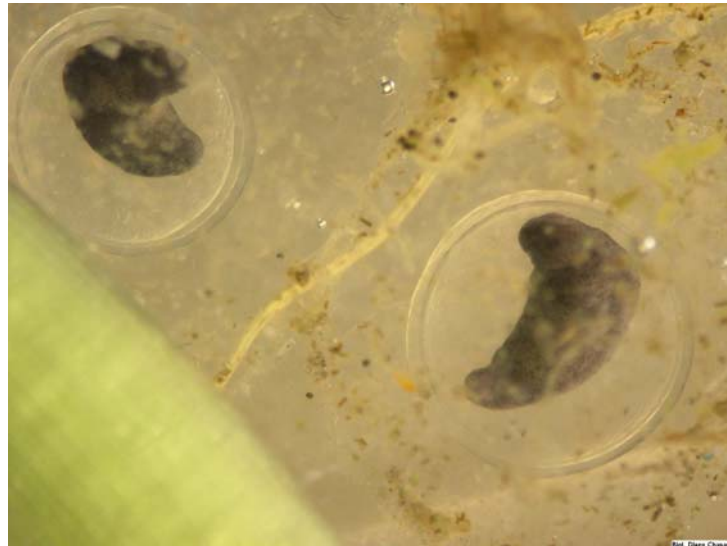
11. ANEXOS

Anexo 1



Se revisaron el total de 500 referencias bibliografiías agrupándolas en los temas más sobresalientes.

Anexo 2



Huevos de *Ambystoma mexicanum*

Anexo 3



Moina macrocopa
1286 + - 30 μm



Alona rectangularis
430 + - 10 μm



Macrothrix triserialis
1310 + - 20 μm



Simocephalus vetulus
2100 μm

Cladóceros empleados en los experimentos de Respuesta Funcional y Preferencias

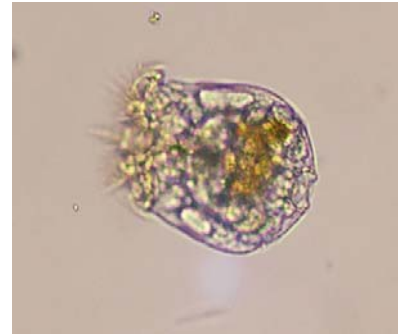
Anexo 4



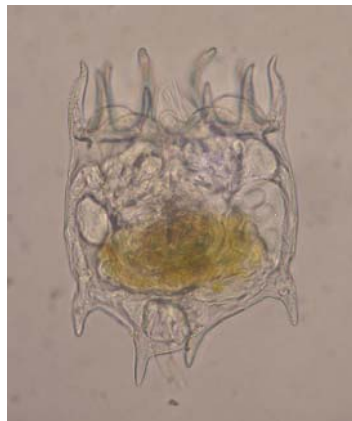
Brachionus calyciflorus
185 + -12 μm



Brachionus havanaensis
120 μm



Brachionus rubens
108+- 2 μm



Brachionus patulus
150 + - 20 μm



Heterocypris incongruens
1800 - 2274 μm

Rotíferos y ostrácodo empleado en los experimentos de Respuesta Funcional y Preferencias

Anexo 5. Medio de Cultivo Bold Basal

La preparación del medio se baso en la propuesta de

1.- NaNO ₃	250gr L ⁻¹
2.- MgSO ₄	75gr L ⁻¹
3.- K ₄ HPO ₄	75gr L ⁻¹
4.- KH ₂ PO ₄	75gr L ⁻¹
5.- NaCl	75gr L ⁻¹
6.- EDTA	50gr + 31 gr de KOH L ⁻¹
7.- FeSO ₄	4.98gr L ⁻¹ + (1ml 31 gr de H ₂ SO ₄ L ⁻¹)
8.- H ₃ BO ₃	1.42gr L ⁻¹
9.- CaCl ₂	25gr L ⁻¹
10.-Elementos traza:	
a) ZnSO ₄	8.82gr L ⁻¹
b) MnCl ₂	1.44gr L ⁻¹
c) MoO ₃	0.71gr L ⁻¹
d) CuSO ₄	1.75gr L ⁻¹
e) Co(NO ₃) ₄	0.49gr L ⁻¹

Para el cultivo de las algas en recipientes de 2L de capacidad (las tapas deben tener 2 perforaciones) es necesario preparar una solución tomando 30mL de cada uno de los nutrientes antes preparados (pasos del 1 al 10). De aquí se toman 30mL y se transfieren a cada botella.

Agregar 1.8 L de agua destilada a cada botella, posteriormente se adiciona 5 o 10mL de cultivo puro de las algas (*Chlorella vulgaris* o *Scenedesmus acutus*), previamente verificado en el microscopio para verificar la no presencia de contaminantes. Aplicado lo anterior se aplica a cada botella 0.5 mL de bicarbonato de sodio cada dos días. Finalmente se coloca un dispositivo de aireación (tubo de vidrio y manguera) manteniéndose en condiciones de luz constante.



Anexo 6. Ecuación Michaelis-Menten

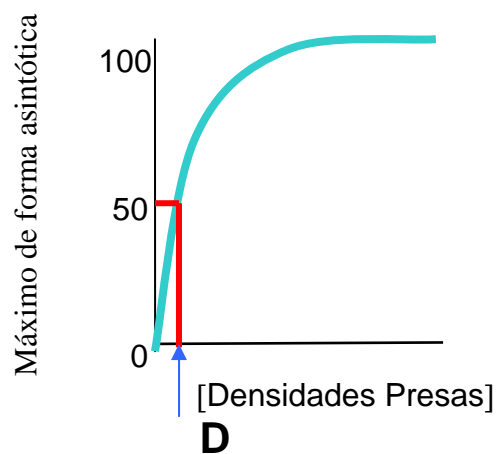
$$f(V) = \frac{kV}{D + V}$$

$f(V)$ máximo de forma asintótica.

k es el máximo número de presas que puede llegar a procesar un depredador .

D el número de presas necesario para que $f(V)$ valga $k/2$.

V densidad de la presa ofrecida



Localización de la constante de Michaelis (D)

Anexo 7. Índice de Alfa de Manly

$$\alpha_i = (r_i / n_i) * 1 / \sum (r_j / n_j), \text{ donde } \sum \alpha_i = 1.0.$$

donde:

α_i = Índice de preferencia de Alfa de Manly para el tipo de presa i

r_i r_j = proporción de la especie de presa i o j en la dieta.

n_i , n_j = proporción de la especie de presa i o j en el medio.

i y j = 1, 2, 3m

m = numero de especies de presas posibles.

Si $\alpha > 1/m$, entonces la especie de presa i es preferida en la dieta

, $\alpha < 1/m$ la especie de presa i es evitada en la

Anexo 8. Especies identificadas del lago de Xochimilco (preferencias)



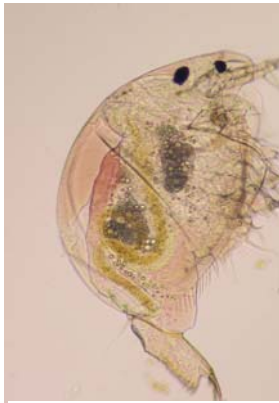
Keratella sp



Nauplio *Cyclopoideo*



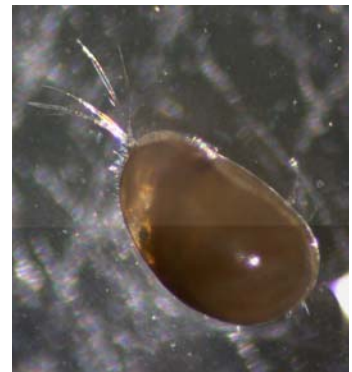
Copepodito *Cyclopoideo*



Alona rectángula



Pleuroxus sp.



Heterocypris incongruens



Ceriodaphnia dubia



Daphnia pulex



Cyclopoideo sp.

Zooplankton identificado del lago de Xochimilco, experimento de Preferencias de *Ambystoma mexicanum* en campo.

Anexo 9. Artículo publicado

Journal of Environmental Science and Health Part A (2007) 42, 1467–1472
Copyright © Taylor & Francis Group, LLC
ISSN: 1093-4529 (Print); 1532-4117 (Online)
DOI: 10.1080/10934520701480896



Population growth of *Brachionus macracanthus* (Rotifera) in relation to cadmium toxicity: Influence of algal (*Chlorella vulgaris*) density

S. NANDINI¹, DIEGO DE JESÚS CHAPARRO-HERRERA², SARA LETICIA CÁRDENAS-ARRIOLA² and S. S. S. SARMA²

¹UIICSE, Division of Research and Postgraduate Studies, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, Los Reyes, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico

²Laboratory of Aquatic Zoology, Division of Research and Postgraduate Studies, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, Los Reyes, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico. E-mail: sarma@servidor.unam.mx

In the present work, we quantified the harmful effects of Cd²⁺ to *Brachionus macracanthus* using both acute (median lethal) and chronic (population growth) toxicity tests. Chronic toxicity tests were conducted under 4 different concentrations (0.000625–0.005 mg L⁻¹) of cadmium chloride at 23°C under 3 food (*Chlorella vulgaris*) levels (0.5 × 10⁶, 1.0 × 10⁶ and 2.0 × 10⁶ cells mL⁻¹) using static renewal system for three weeks. The median lethal concentration bioassayed at 24 h (LC₅₀) for *B. macracanthus* was 0.19 mg L⁻¹ of CdCl₂. Cadmium adversely affected the population growth of *B. macracanthus* at all tested concentrations. Increase in algal food had a positive effect on the rotifer growth in controls; with increase in Cd levels, the population growth of *B. macracanthus* decreased even under the highest food level tested. The peak population abundance of *B. macracanthus* in controls at the highest food level of 2.0 × 10⁶ cells mL⁻¹ was 40 ind. mL⁻¹. Depending on the heavy metal concentration and the algal level, the population growth rate (*r*) of *B. macracanthus* varied from 0.02 to 0.28 day⁻¹. The relatively higher sensitivity of *B. macracanthus* to cadmium toxicity is discussed in relation to other species of the same genus.

Keywords: Heavy metal, population dynamics, rotifer, food density.

Introduction

Cadmium is one of the heavy metals with low levels of occurrence in nature. However, with the development of modern industry, its production and use have expanded so as to become an environmental problem.^[1] This in turn makes it an urgent necessity to control its levels in waterbodies where it has no useful role. At present, cadmium is one of the most studied heavy metals due to its toxic property, persistence, and the ability of accumulation across the food chain.^[2] In ecotoxicological studies, various zooplankton taxa are routinely used as bioassay organisms because of their sensitivity to various toxicants, ease of maintenance under laboratory conditions and important functional role in aquatic ecosystems.^[3] In freshwater ecosystems, rotifers are taxonomically more diverse and numerically

more abundant than other groups of zooplankton such as cladocerans.^[4] In Mexico, in spite of the continued use of the cladoceran *Daphnia magna* as the test organism,^[5] efforts are being made to include rotifers as a supplement, if not a substitute, for establishing water quality criteria.^[6,7]

Absence of published information often impedes inclusion of diverse species as bioassay organisms for mandatory procedures. This is particularly true of Mexico where quantitative data of the toxic effects of heavy metals are available for only a handful rotifer species in spite of the fact that Mexican rotifer diversity is relatively high.^[8] While most species of *Brachionus* are truly planktonic, i.e., occurring in water column, some are epizoic, i.e., attached to other organisms (e.g., *B. rubens*) and some are tychoplanctic, i.e., mostly occurring as periphytic, but occasionally encountered in water column (e.g., *B. patulus*).^[9] American Society of Testing and Materials and American Public Health Association have included brachionid rotifers like *B. calyciflorus*, *B. rubens* and *B. patulus* as the standard bioassay organisms due to their

Address correspondence to S. Nandini, UIICSE, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, AP 314, CP 54000, Los Reyes, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico. E-mail: nandini@servidor.unam.mx

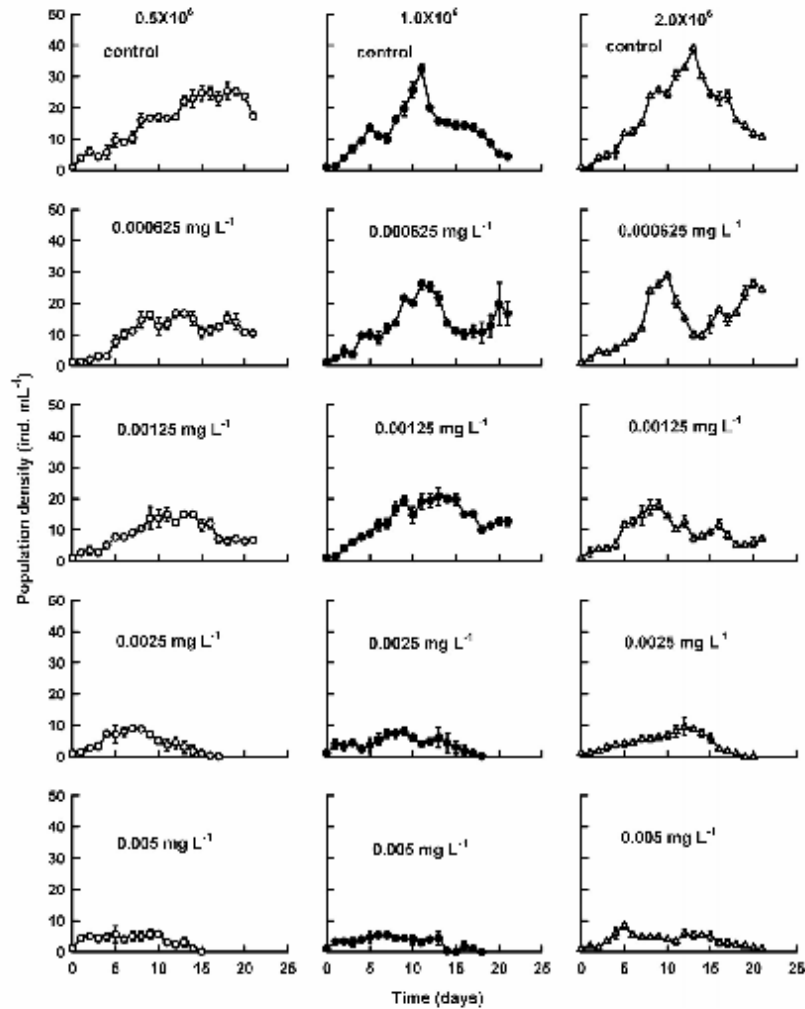


Fig. 1. Population growth curves of *B. macracanthus* cultured under different algal (*Chlorella vulgaris*) densities and under different concentrations of CdCl_2 . Values represent mean \pm standard error of 4 replicates.

smaller size, taxonomic stability, parthenogenetic mode of reproduction and high population growth rates.^[10,11]

B. patulus and *B. macracanthus* are taxonomically similar and co-occur in the American continent. However, detailed demographic studies have shown that *B. macracanthus* has relatively slower growth rates than *B. patulus*.^[12] In terms of sensitivity, it is not known if *B. macracanthus* is compa-

parable to *B. patulus*. In acute toxicity tests, the role of algal food concentration is usually not evaluated.^[13] On the other hand, in chronic toxicity tests, some quantity of food must be added to the test jars to prevent the animals die due to starvation. However, the quantity of food thus added to the test jars, may influence the toxicity of a substance, and therefore, it becomes desirable to quantify the impact of

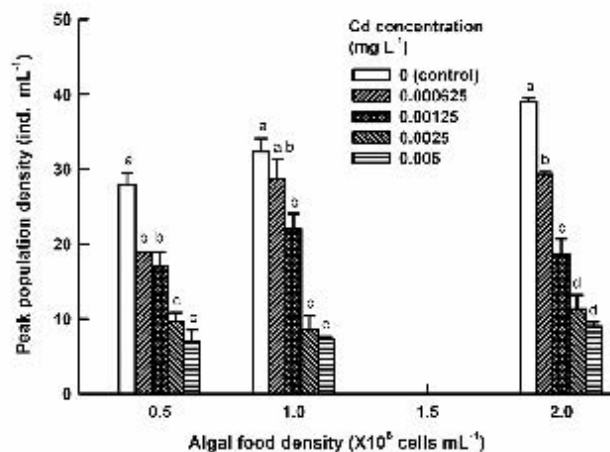


Fig. 2. Peak population densities (ind. mL⁻¹) of *B. macracanthus* cultured under different algal (*Chlorella vulgaris*) densities and under different concentrations of CdCl₂. Value represent mean ± standard error based of replicates. Data bars carrying similar alphabetical letters are not significantly different ($P > 0.05$).

food concentration on the toxicity of a given substance.^[14] The aim of the present study was therefore to quantify the toxic effects of cadmium on *B. macracanthus* under different food concentrations using acute and chronic toxicity tests.

Materials and methods

Culturing test species

Brachionus macracanthus used this study was originally isolated from a small, shallow water-body in Morelia City (Michoacan State, Mexico) and mass cultured using reconstituted moderately hardwater as the medium (EPA medium) and the green alga *Chlorella vulgaris* as the food. The EPA medium was prepared by dissolving 96 mg NaHCO₃, 60 mg CaSO₄, 60 mg MgSO₄ and 4 mg KCl in one liter of distilled water.^[15] Rotifer mass culture conditions and those used in the experiments were the same: temperature 23 ± 1°C, pH 7.0–7.5 and continuous but diffused fluorescent illumination. *C. vulgaris* was batch-cultured in 2 L transparent bottles using Bold's basal medium.^[16] Log phase alga was concentrated through centrifugation, rinsed and resuspended in distilled water. The density of the stock alga was enumerated using a haemocytometer.

Acute toxicity tests

For both acute and chronic toxicity tests, we used analytical grade CdCl₂. All concentrations unless otherwise stated are nominal. A stock solution of 1000 mg L⁻¹ of CdCl₂

was prepared in distilled water. From this solution, we obtained 5 concentrations (0 (= control), 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 mg L⁻¹) through serial dilution using EPA medium. The experiments were conducted in 50 mL transparent jars, each with 25 mL medium of specified Cd concentration. The acute toxicity tests were conducted in the absence of food. For each heavy metal concentration, we maintained 4 replicates. For each replicate we used 50 neonates (of <6 h age following hatching). Following initiation of the experiment, everyday we counted the number of dead individuals, based on immobility despite physical stimulation, from each jar. Using the probit method, we derived the median lethal concentration (LC₅₀).^[17]

Chronic toxicity tests

For chronic toxicity tests, we used the population growth method. Based on the LC₅₀, we selected 5 heavy metal concentrations (0, 0.000625, 0.00125, 0.0025 and 0.005 mg L⁻¹) and 3 algal food densities (0.5 × 10⁶, 1.0 × 10⁶ and 2.0 × 10⁶ cells mL⁻¹ of *Chlorella*). For each food level-Cd concentration, we used 4 replicates. Thus in all we used 60 test jars (5 metal concentrations × 3 algal food levels × 4 replicates) each containing 25 mL of specified algal density and Cd concentration. Into each jar we introduced 25 individuals of *B. macracanthus* (i.e., initial density of rotifers: ind. mL⁻¹) using a finely drawn Pasteur pipette under a stereomicroscope (Nikon SMZ 645). Following initiation of the growth experiment, daily we quantified the rotifer density in each jar (by total count or 2 aliquots of 1–5 mL

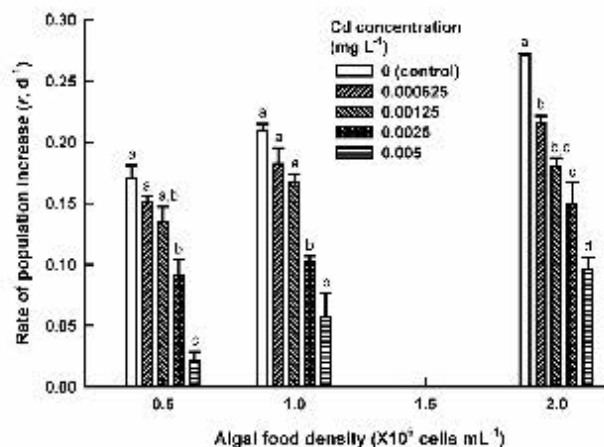


Fig. 3. Rate of population increase (day^{-1}) of *B. macracanthus* cultured under different algal (*Chlorella vulgaris*) densities and under different concentrations of CdCl_2 . Value represent mean \pm standard error based on 4 replicates. Data bars carrying similar alphabetical letters are not significantly different ($p > 0.05$).

each) and then transferred the live rotifers, by sieving, to fresh jars containing appropriate algal-heavy metal combination. The experiments were terminated after three weeks by which time test populations in most jars began to decline.

From the data collected, we obtained peak population density and the rate of population increase (r) for each replicate.^[18,19] The following formula was used to derive the population growth rate: $r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$ where N_0 and N_t are the initial and final population densities respectively, and t is time in days. Data on the peak population density and the rate of population growth were analyzed using two-way ANOVA.

Results

The median lethal concentration (LC_{50} 24 h, value \pm 95% confidence interval) of CdCl_2 for *B. macracanthus* was $0.194 \pm 0.010 \text{ mg L}^{-1}$. Data on the population growth showed that cadmium adversely affected *B. macracanthus* at all the tested concentrations. Thus, regardless of food density, increase in Cd concentrations decreased the population growth of rotifers. On the other hand, increase in algal food had a positive effect on the rotifer population growth in controls; with increase in Cd concentrations, the population of *B. macracanthus* decreased even under the highest food level (Fig. 1).

Peak population abundances of *B. macracanthus* decreased with increasing concentrations of Cd, but increased with increasing density of *Chlorella*, especially at low heavy metal levels (Fig. 2). Changes in the population growth

were also reflected in the population growth rates (r). Regardless of the heavy metal concentration and the algal levels, the growth rate of *B. macracanthus* varied from 0.02 to 0.28 day^{-1} . Statistically both peak population density and the r were significantly influenced by the food level or the heavy metal concentration ($P < 0.001$, F -test). However, the interaction of food level X cadmium concentration was significant ($P < 0.05$) only for the peak population density (2-way ANOVA, Table 1).

Discussion

B. macracanthus is morphologically similar to *B. patulus*.^[9] However, with reference to certain ecological characteristics such as rate of population growth and the peak abundances, some differences exist between these 2 species.^[12] The present study showed additional differences between these 2 species with reference to their tolerance to Cd. For example, median lethal concentration of Cd for *B. patulus*, in the presence of food is 0.41 mg L^{-1} .^[20] In this study, we derived LC_{50} for *B. macracanthus* in the absence of food and our result showed that *B. macracanthus* was more sensitive than *B. patulus* to cadmium. In addition, it is also more sensitive than other species of *Brachionus* (*B. calyciflorus*: 1.3 mg L^{-1} ; *B. plicatilis*: 39 mg L^{-1}).^[21]

Population growth curves of *B. macracanthus* in general are similar to many other brachionids (*B. calyciflorus*^[18]; *B. rotundiformis*:^[22]), where rotifers reach peak population abundances in about 10–15 days before declining, similar to the one observed here. A decrease in population growth

Table 1. Results of the 2-way ANOVA performed for the peak population density and the rate of population increase of *B. macracanthus* grown under different algal food densities and the different concentrations of the heavy metal Cd

Source	df	SS	MS	F
Peak population density				
Food level (A)	2	223.332	111.67	15.27***
Cd concentration (B)	4	4072.311	1018.08	139.25***
Interaction of A X B	8	218.223	27.28	3.73*
Error	30	219.334	7.31	
Rate of population increase				
Food level (A)	2	0.036	0.0179	56.88***
Cd concentration (B)	4	0.138	0.0344	109.48***
Interaction of A X B	8	0.004	0.0004	1.40ns
Error	30	0.009	0.0003	

df = degrees of freedom; MS = mean square; F = F-ratio; *** = $P < 0.001$; * = $P < 0.05$; ns = $P > 0.05$ (non-significant).

with increase in Cd levels has been documented in other zooplankton species.^[23] As also observed in this study, Cd is highly toxic to rotifers at concentrations lower than 0.00625 mg L⁻¹. Peak population density and the rate of population increase are some of the most sensitive variables to heavy metal toxicity.^[23,24] In the present study, both these variables were adversely affected by the presence of cadmium. In the control, an increase in the availability of food resulted in higher peak abundances, a fact also known for many other genera of rotifers such as *Euchlanis* and *Lepadella*.^[25,26] The peak population densities of *Brachionus* vary from 50 to 300 ind. mL⁻¹ when reared on *Chlorella* at a density of about 1×10^6 cells mL⁻¹.^[27] At any given food level, compared to *B. patulus*, *B. macracanthus* had much lower peak population densities in controls. This is because of the differences in the body sizes of *B. patulus* and *B. macracanthus*, the latter being larger than the former.^[9,12] There is enough evidence to suggest that smaller species are numerically more abundant than the larger species when cultured under similar conditions.^[27]

While increase in algal density has a positive effect, the increase in toxicant concentration had a negative effect on peak population density and the rate of population increase.^[14] In the case of the population growth rate (r), the interaction of both the metal concentration and *Chlorella* density was non-significant. On the other hand, for peak population density, the interaction of Cd concentration and algal density was significant. This suggests that in spite the adverse effects of Cd, *B. macracanthus* was able to withstand it and grow to some extent under higher algal food levels.

Conclusion

Cadmium at a concentration as low as 0.00625 mg L⁻¹ had an adverse impact on *B. macracanthus*. A ratio of chronic to acute Cd concentration showed that even lower than 1/100th of LC₅₀ is still toxic to *B. macracanthus*. Therefore safe concentrations derived using multiplication factors like 1/10 or 1/100 of LC₅₀ may not guarantee the survival of

this species in cadmium-contaminated waterbodies. We did not evaluate the ways (i.e., through medium or through algal diet or both^[28]) by which cadmium affected *B. macracanthus*. Further studies are however still needed to include these aspects as well as on the use of different rotifer species for comparing the toxicity of Cd to zooplankton.

Acknowledgments

We thank Gerardo Ceron and Karina Tavera for technical help during the experiments. SN and DJCH thank CONACYT (Mexico) for financial support (SNI 20520, M. Sc scholarship No. 193543). SN and SSSS are grateful to PAPIIT IN203107 and IN201907 for project.

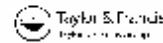
References

- [1] Nriagu, J.O.; Sprague, J.B. (Eds). *Cadmium in the Aquatic Environment*. Wiley-Interscience, New York, 1987.
- [2] Chapman, P.M.; Wang, F.Y.; Janssen, C.R.; Goulet, R.R.; Kamunde, C.N. Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: Current status. *Human Ecol. Risk Assess.* 2003, 9, 641-697.
- [3] Sarma, S.S.S.; Nandini, S. Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *J. Environ. Sci. Health, Pt. B*, 2006, 41(6), 1417-1430.
- [4] Wallace, R.L.; Snell, T.W.; Ricci, C.; Nogrady, T. *Rotifera Part 1: Biology, Ecology and Systematics. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world*. Kenobi Productions Gent, Belgium/ Backhuys Publishers, The Netherlands, 2006.
- [5] Pica-Granados, Y.; Trujillo, G.D.; Hernández, H.S. Bioassay standardization for water quality monitoring in Mexico. *Environ. Toxicol.* 2000, 15, 322-330.
- [6] Rico-Martínez, R.; Velázquez-Rojas, C.A.; Pérez-Legaspi, I. A.; Santos-Medrano, G. E. The use of aquatic invertebrate toxicity tests and invertebrate enzyme biomarkers to assess toxicity in the states of Aguascalientes and Jalisco, Mexico. In: *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change*, Butterworth, F.M.; Guatilake, A.; Gonsébat-Bonaparte, M.E., Eds.; Plenum Press, New York, 2000, 2, 427-438.

- [7] Sarma, S.S.S. The use of rotifers for ecotoxicological studies in México. In *Estudios sobre plancton en México y el Caribe*; Ríos-Jara, E.; Juárez-Carrillo, A.; Pérez-Peña, M.; López-Urriarte, E.; Robles-Jarero, E.G.; Hernández-Becerril, D.U.; Silva-Briano, M., Eds.; Sociedad Mexicana de Planctología y Universidad de Guadalajara, Mexico, 2000; 8–11.
- [8] Sarma, S.S.S. Checklist of rotifers (Rotifera) from Mexico. *Env. Ecol.* 1999, *17*, 978–983.
- [9] Koste, W. *Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas*. Ein Bestimmungswerk begründet von Max Voigt, 2 Vols. Borntäger, Stuttgart, 1978.
- [10] American Society of Testing and Materials. Standard guide for acute toxicity tests with the rotifer *Brachionus*. Annual Book of ASTM Standards, Vol. 11.04, E 1440, Philadelphia, 1991.
- [11] Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E.; Eaton, A.D. (Eds). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association. 20th Edition, New York, 1998.
- [12] Sarma, S.S.S.; Nandini, S. Comparative life table demography and population growth of *Brachionus macracanthus* Daday, 1905 and *Platyas quadricornis* Ehrenberg, 1832 (Rotifera, Brachionidae) in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) food density. *Acta Hydrochim Hydrobiol.* 2002, *30*, 128–140.
- [13] Marcial, H.S.; Hagisvara, A.; Snell, T.W. Effect of some pesticides on reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis* Müller. *Hydrobiologia*, 2005, *545*, 569–575.
- [14] Sarma, S.S.S.; Mangas-Ramírez, E.; Nandini, S. Effect of ammonia toxicity on the competition among three species of cladocerans (Crustacea: Cladocera). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2003, *55*, 227–235.
- [15] Weber, C.I. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms* 4th ed. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-90/027F, 1993.
- [16] Borowitzka, M.A.; Borowitzka, L.J. *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press, London, 1988.
- [17] Finney, D.J. *Probit analysis*. Cambridge University Press, 3rd edition, London, 1971.
- [18] Sarma, S.S.S.; Stevenson, R.A.A.; Nandini, S. Influence of food (*Chlorella vulgaris*) concentration and temperature on the population dynamics of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Ciencia Ergo Sum* 1998, *5*, 77–81.
- [19] Krebs, C.J. *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*, 3rd edition, Harper and Row, New York, 1985.
- [20] Sarma, S.S.S.; Ramírez, T.P.; Nandini, S. Comparison of the sensitivity of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) to selected heavy metals under low and high food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2000, *64*, 735–739.
- [21] Snell, T.W.; Janssen, C.R. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia* 1995, *313/314*, 231–247.
- [22] Gama-Flores, I.L.; Sarma, S.S.S.; Nandini, S. Interaction among copper toxicity, temperature and salinity on the population dynamics of *Brachionus rotundiformis* (Rotifera). *Hydrobiologia* 2005, *546*, 559–568.
- [23] Gama-Flores, I.L.; Sarma, S.S.S.; Nandini, S. Effect of cadmium level and exposure time on the competition between zooplankton species *Moina macrocopa* (Cladocera) and *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *J. Environ. Sci. Health Pt. A*, 2006, *41*, 1057–1070.
- [24] Forbes, V.E.; Calow, P. Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? *Environ. Toxicol. Chem.* 1999, *18*, 1544–1556.
- [25] Sarma, S.S.S.; Nandini, S.; Gama-Flores, I.L.; Fernandez-Araiza, M.A. Population growth of *Euchlamis dilatata* (Rotifera): combined effects of methyl parathion and food (*Chlorella vulgaris*). *J. Environ. Sci. Health Pt. B* 2001, *36*, 43–54.
- [26] Nandini, S.; Sarma, S.S.S. Population growth of *Lepadella patella* (O. F. Müller, 1786) at different algal (*Chlorella vulgaris*) densities and in association with *Philodina roseola* Ehrenberg, 1832. *Hydrobiologia* 2001, *446/447*, 63–69.
- [27] Nandini, S.; Sarma, S.S.S.; Amador-López, R.J.; Bolaños-Muñoz, S. Population growth and body size in five rotifer species in response to variable food concentration. *J. Freshwater Ecol.* 2007, *22*, 1–10.
- [28] Joaquín-Justo, C.; Thome, J.P. Quantification of the trophic pathway in the PCB contamination of two zooplanktonic species: *Daphnia magna* Straus and *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 1998, *26*, 1957–1961.

Anexo 10. Artículo publicado

Chemistry and Ecology
Vol. 23, No. 4, August 2007, 303–313



Life-history strategies of *Brachionus havanaensis* subject to kairomones of vertebrate and invertebrate predators

C. E. GARCÍA†, D. DE JESÚS CHAPARRO-HERRERA†, S. NANDINI*‡ and S. S. S. SARMA§

†Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Edificio de Posgrado, Planta baja, Costado sur de la Torre II de Humanidades Circuito Interior, Cd. Universitaria, Coyoacán 04510, Mexico City, Mexico

‡UIICSE, División de Investigación y Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala, AP 314, CP 54090, Tlalnepantla, Edo. de México, Mexico

§Laboratorio de Zoología Acuática, División de Investigación y Posgrado, Edificio UMF, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala, AP 314, CP 54090, Tlalnepantla, Edo. de México, Mexico

(Received 16 February 2007; in final form 19 June 2007)

We evaluated the different life-history strategies of the rotifer *Brachionus havanaensis* in the presence of vertebrate (salamander axolotl, *Ambystoma mexicanum*) or invertebrate (copepod *Acanthocyclops robustus*) predator using population growth and life-table demography at two algal food levels (0.5×10^6 and 1.0×10^6 cells ml^{-1} of *Chlorella vulgaris*). Generally, increased food availability resulted in higher densities of *B. havanaensis*. At any algal food level, *B. havanaensis* grown in the presence of kairomones showed higher population abundances than controls. Within the kairomone treatments, rotifers grown using *A. mexicanum*-conditioned medium showed a higher population growth than those using *A. robustus* medium. The average lifespan of *B. havanaensis* varied from 6 to 13 d, depending on the presence or absence of kairomones and the algal food density, the shortest being in treatments containing kairomones from *Ambystoma*. Gross (19–22 offspring female^{-1}) and net reproductive rates (11 offspring female^{-1}) were significantly higher in the *Ambystoma*-conditioned medium than in the other treatments including controls (9–10 and 6–7 offspring female^{-1} , respectively). Generation time (4–6 d) was influenced by algal density as well as the presence of kairomones. *B. havanaensis* had the shortest generation time in *Ambystoma*-conditioned medium. The rate of population increase of *B. havanaensis* varied from 0.34 to 0.87 d^{-1} , with higher values in treatments containing *Ambystoma*-conditioned water. The total lorica length, anterior, and posterior spine lengths of *B. havanaensis* were significantly higher in the presence of kairomones from both vertebrate and invertebrate predators than in controls. In general, there was a greater lorica and spine length of *B. havanaensis* due to *Ambystoma* infod chemicals than those from *Acanthocyclops*.

Keywords: Kairomone; Zooplankton; Demography; Predation

1. Introduction

Zooplankton communities are subject to intense predation stress. The direct influences are due to the physical interaction between two species, while the indirect impacts are generally

*Corresponding author. Email: nandini@servidor.unam.mx

via infochemicals [1]. Among freshwater zooplankton, rotifers are not only common but also at times numerically more abundant than other groups such as cladocerans and copepods. Rotifers are small metazoans, measuring 50–1500 μm , and covered by a cuticle made of sclero-proteins which in certain taxa is developed into lorica with or without anterior and posterior spines. They have a ciliated corona which helps in locomotion, and along with a modified pharynx (trophi) in feeding as well. The majority of rotifers are cyclical parthenogens [2]. Though there are about 120 genera of rotifers, most studies in relation to feeding ecology, behaviour, demography, ecotoxicology, and aquaculture have been conducted on *Brachionus*. This is because of the wide distribution of this genus, ease of culture and maintenance, and the availability of a large morphological, physiological, ecological, and genetic database. Under natural conditions, brachionids are subject to intense vertebrate (such as fish larvae) and invertebrate (such as *Asplanchna* and *Chaoborus*) predation pressure [3]. Globally, there are about 40 species of the genus *Brachionus*, of which 15 have been recorded from Mexico [4]. *Brachionus havanaensis* is a common rotifer in freshwater bodies in Mexico. This species is known to exhibit phenotypic plasticity in several traits when subject to different food levels, temperature ranges, and predation stress [5, 6].

Lake Xochimilco is a wetland with a complex system of canals and shallow lakes (maximum depth about 2 m) in Mexico City. The rotifer diversity is higher in comparison with cladocerans or copepods in this water body [7]. It is also inhabited by several species of fish and is home to the endemic salamander, *Ambystoma mexicanum*. Rotifers are thus subject to predation pressure from invertebrates (such as cyclopoid copepods) and vertebrates (such as larval fish and *Ambystoma*). Invertebrate predators generally have a stronger impact in structuring their prey community, since they show both numerical and functional responses within a short time [8]. Rotifers, common in Lake Xochimilco, form part of the diet of larval *A. mexicanum* and the adults of *Acanthocyclops robustus*. They show different morphological adaptations against predators. For example, enhanced body size and spine lengths under pressure from invertebrates helps minimize capture by predators [9]. These phenotypic responses imply shifts in life history strategies and changes in survivorship and reproduction patterns [10].

Infochemicals emerging from predators also influence life-history traits of zooplankton. A relatively large set of information is available on the demographic characters of *Daphnia* in relation to fish-conditioned medium [11]. Thus, when *Daphnia* spp. are subject to the presence of infochemicals released from fish, the cladocerans tend to produce large but few offspring, which ensures a higher probability of survival in nature [12]. For rotifer species, lower reproductive rates and a larger size at birth in the presence of invertebrate kairomones are known [13]. However, less information is available on the indirect impact of many invertebrate predators on rotifers including *Acanthocyclops robustus*, a common cyclopoid copepod in canals of Xochimilco. Although this copepod is known to feed on *Brachionus havanaensis*, the impact of its infochemicals on the life history variables for this rotifer is not known. In our field samples, we have also observed that *B. havanaensis* and the adult *A. robustus* have both a sympatric and synchronic distribution at different sites of Lake Xochimilco almost throughout the year.

In this study, we analysed the differences in the life history strategies of *B. havanaensis* subject to indirect predation stress via infochemicals from two coexisting predators *Ambystoma mexicanum* and *Acanthocyclops robustus*.

2. Materials and methods

The brachionid rotifer *Brachionus havanaensis* was originally isolated from Lake Xochimilco and maintained for more than 6 months prior to experimentation. The rotifers were fed green

alga *Chlorella vulgaris*, which was batch-cultured in 21 transparent bottles using Bold's medium [14]. For experiments we used two algal levels of 0.5×10^6 and 1.0×10^6 cells ml^{-1} , estimated using a haemocytometer. The carbon content of the food at these algal levels is similar to those found in the Mexican eutrophic waterbodies including Xochimilco lake [15]. For mass culture of rotifers and for experiments, we used reconstituted moderately hard-water (EPA medium), which was prepared by dissolving 0.9 g of NaHCO_3 , 0.6 g of CaSO_4 , 0.6 g of MgSO_4 , and 0.04 g of KCl in 1 l of distilled water [16].

The predators, also obtained from the lake Xochimilco, were grown separately using EPA medium. For *A. robustus*, we offered a mixture of *Chlorella vulgaris* and the rotifer *Brachionus calyciflorus* as the diet. Juveniles of *A. mexicanum* were reared in the laboratory using mixed zooplankton species (cladocerans, *Moina macrocopa*, *Daphnia pulex* and *Ceriodaphnia dubia* and rotifers *B. havanaensis* and *B. calyciflorus*). In order to obtain the conditioned medium, we maintained each predator species in 21 jars containing about 1.5 l of EPA medium without food for 12–24 h, depending on the predator type. The density of *A. robustus* was about 1000 ind. l^{-1} , while for *A. mexicanum* it was 10 ind. l^{-1} . Using a mesh of 20- μm pore size, we filtered the medium from the jars containing the predators, which was used in the experiments.

We conducted simultaneously population-growth and life-table demography experiments on *B. havanaensis*. The experimental design and test conditions were similar for both experiments: 50-ml transparent jars containing 20 ml of medium, two algal food densities (0.5×10^6 and 1.0×10^6 cells ml^{-1} of *Chlorella vulgaris*), three treatments (control, *A. robustus*-conditioned medium and *A. mexicanum*-conditioned medium), and four replicates for each treatment; pH: 7.0–7.5, temperature 23 ± 1 °C, continuous but diffused fluorescent illumination, and the medium and algal food in the test jars replaced 100% daily. The reason for daily 100% replacement of the medium was in order to prevent the accumulation of metabolites and to ensure a constant level of infochemicals and algal food density in the test jars.

For population-growth studies, we introduced a mixed age group of 20 individuals of *B. havanaensis* into each of the 24 test jars (three treatments \times two food levels \times four replicates) under a stereomicroscope at 20 \times using a finely drawn Pasteur pipette. Following initiation of growth experiments, we estimated daily the density of *B. havanaensis* from either the total count or two aliquots of 1–5 ml, depending on the density. After density estimation, the rotifers were transferred to fresh jars containing the appropriate test medium and the chosen algal density. Experiments continued for 3 weeks, by which time most rotifer populations in the test jars began to decline. Based on the data collected, we derived the rate of population increase (r) using the regression between log natural population density over time [17]. On the last day of the growth experiments, the rotifers from each test jar were fixed in 4% formalin. Using a calibrated ocular micrometer, we measured body length, width, anterior, and posterior spine lengths of about 20 egg-bearing individuals from each replicate under a compound microscope (Nikon Eclipse) at 400 \times .

For the life-table experiments, we introduced 20 neonates (<2 h after hatching from parthenogenetic eggs) into each of 24 test jars. Following initiation of the experiment, we counted and transferred surviving members of the original cohort every day to fresh jars containing the appropriate test medium. Neonates and dead adults, when present, were counted and discarded. Experiments continued until the last individual of each cohort died. From the survivorship and fecundity data, we calculated variables such as average lifespan (ALS), gross (GRR) and net reproductive rates (R_0), generation time (T), and the rate of population increase per day (r) using the following formulae [18]:

$$\text{Gross reproductive rate (GRR)} = \sum_0^{\infty} m_x \quad (1)$$

$$\text{Net reproductive rate } R_0 = \sum_0^{\infty} l_x \cdot m_x \quad (2)$$

$$\text{Generation time: } T = \frac{\sum_0^{\infty} l_x \cdot m_x \cdot x}{R_0} \quad (3)$$

Rate of population increase (r), Euler equation

$$\sum_{x=0}^{\infty} e^{-rx} \cdot l_x \cdot m_x = 1, \quad (4)$$

where l_x is the probability of an individual surviving to an age class, m_x is the age-specific fecundity, R_0 is the average number of offspring per female, and r is the growth rate of the population.

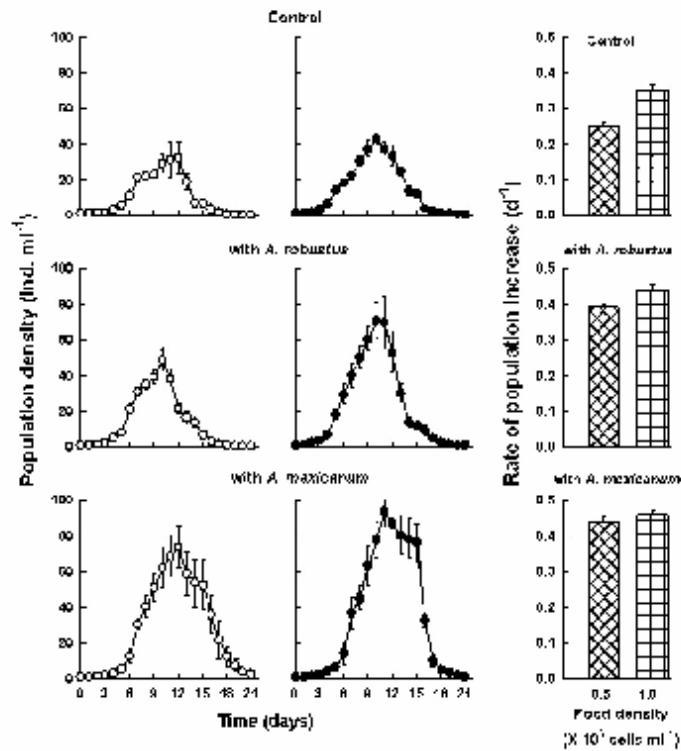


Figure 1. Population growth curves of *B. kuznizensis* grown at two algal densities (open circles, 0.5×10^6 and closed circles 1.0×10^6 cells ml^{-1} of *Chlorella vulgaris*) and in the presence or absence of predator-conditioned medium. Shown are the mean \pm standard errors based on four replicates. The rate of population increase derived from population growth is shown in bars.

An analysis of variance (ANOVA) was used to quantify the differences in the selected life-history variables and the morphometric data of *B. havanaensis* under different treatments. Post hoc (Tukey test) analysis was used for multiple comparisons utilizing the software Statistica ver. 5.

3. Results

The population growth curves and the rate of population increase (r) of *B. havanaensis* grown under different food densities and in the presence of kairomones from *A. robustus* and *A. mexicanum* are presented in figure 1. Regardless of the presence of kairomones, an increase in the availability of algal diet resulted in an increased abundance of *B. havanaensis*. Similarly, regardless of the density of algal food, *B. havanaensis* grown in the presence of kairomones showed higher population abundances than controls. Rotifers grown using *A. mexicanum*-conditioned medium showed a higher population growth than those using *A. robustus* medium. The trends in the population growth were largely reflected by the rate of population increase (r), which showed significantly higher values with increase in food level and in treatments containing kairomones from *Ambystoma* ($p < 0.05$, F test; table 1).

Data on the age-specific survivorship and fecundity curves of *B. havanaensis* grown under different algal food densities and in the presence of kairomones from the copepods and the salamanders are shown in figure 2. Regardless of *Chlorella* density, the survivorship of *B. havanaensis* was reduced in the presence of kairomones. There were no significant differences in survivorship patterns in relation to food level or the presence of kairomones. The

Table 1. Results of two-way analysis of variance (ANOVA) performed for the selected life-history variables of *Brachionus havanaensis* in relation to algal food level and the presence or absence of predators.

Variable	DF effect	MS effect	DF error	MS error	F ratio
<i>Population growth</i>					
Predator's presence (A)	2	6.37	18	1.67	3.80*
Food level (B)	1	72.25	18	1.67	43.12***
Interaction of A \times B	2	3.81	18	1.67	2.27 n.s.
<i>Life-table study</i>					
<i>Average lifespan</i>					
Predator's presence (A)	2	73.81	18	1.32	55.66***
Food level (B)	1	1.37	18	1.32	1.03 n.s.
Interaction of A \times B	2	3.41	18	1.32	2.57 n.s.
<i>Gross reproductive rate</i>					
Predator's presence (A)	2	319.97	18	3.69	86.70***
Food level (B)	1	1.65	18	3.69	0.44 n.s.
Interaction of A \times B	2	8.03	18	3.69	2.17 n.s.
<i>Net reproductive rate</i>					
Predator's presence (A)	2	40.79	18	2.41	16.92***
Food level (B)	1	7.76	18	2.41	3.22 n.s.
Interaction of A \times B	2	3.08	18	2.41	1.27 n.s.
<i>Generation time</i>					
Predator's presence (A)	2	7.51	18	0.34	21.70***
Food level (B)	1	9.56	18	0.34	27.61***
Interaction of A \times B	2	1.14	18	0.34	3.31 n.s.
<i>Rate of population increase</i>					
Predator's presence (A)	2	51.71	18	0.41	124.34***
Food level (B)	1	69.84	18	0.41	167.92***
Interaction of A \times B	2	48.37	18	0.41	116.30***

Note: *** $p < 0.001$; * $p < 0.05$; n.s.: non-significant.

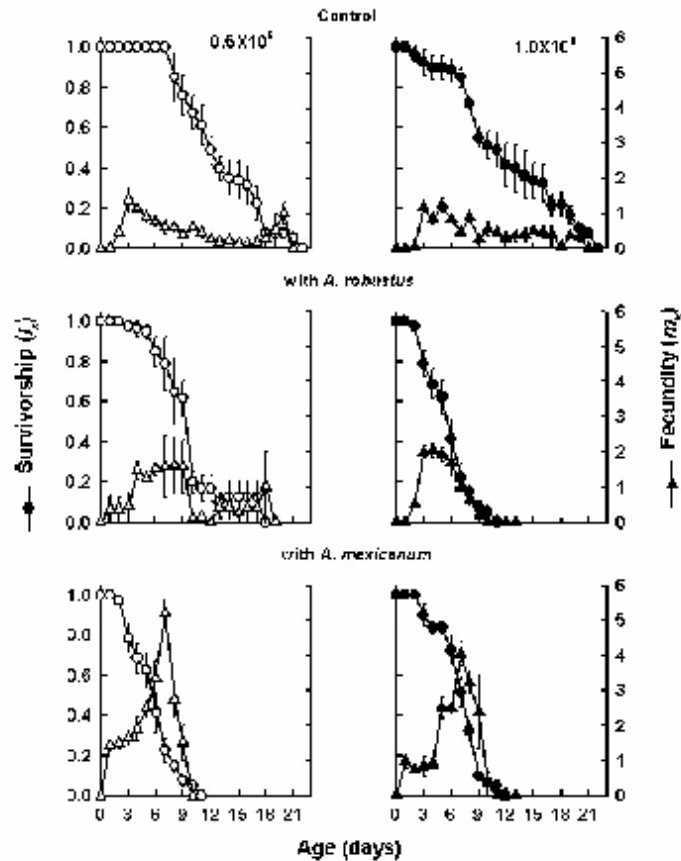


Figure 2. Age-specific survivorship and fecundity curves of *B. havanaensis* grown at two algal densities (open symbols, 0.5×10^6 and closed symbols 1.0×10^6 cells ml^{-1} of *Chlorella vulgaris*) and in the presence or absence of predator-conditioned medium. Shown are the mean \pm standard errors based on four replicates (cohorts).

age-specific offspring production (m_x) in controls was low, but extended over the entire lifespan of *B. havanaensis*. On the other hand, in treatments containing kairomones, the fecundity was high, but for a shorter duration, and peaked around an age class of 6–9 d old.

Data on the selected life history variables are presented in table 2. The average lifespan varied from 6 to 13 d, depending on algal food density and presence or absence of kairomones. There was a significant impact of kairomones ($p < 0.001$) but not of food level ($p > 0.05$) on the average lifespan of *B. havanaensis* (two-way ANOVA, table 1). The average lifespan was shortest with treatments containing kairomones from *Ambystoma*. While there were no significant differences in the gross and net reproductive rates in relation to food level ($p > 0.05$), both

Table 2. Data on the selected life-history variables of *B. havanaensis* grown at two algal food densities and with conditioned medium from *A. robustus* (*A.r.*) and *A. mexicanum* (*A.m.*).

Treatment	Life-history variable				
	ALS	GRR	R_0	T	r
Food level 0.5×10^6					
Without kairomone	13.2 ± 0.6^a	9.2 ± 1.0^a	7.1 ± 0.5^a	$6.0 \pm 0.3^{a,d}$	0.42 ± 0.02^a
With <i>A.r.</i>	$9.1 \pm 0.3^{b,c}$	9.9 ± 0.8^b	9.2 ± 0.8^b	$4.7 \pm 0.1^{e,e}$	0.54 ± 0.02^b
With <i>A.m.</i>	$7.3 \pm 0.2^{b,e}$	19.0 ± 1.2^c	$11.1 \pm 1.1^{a,b}$	$4.8 \pm 0.1^{e,c}$	0.70 ± 0.01^c
Food level 1.0×10^6					
Without kairomone	$12.2 \pm 1.1^{a,d}$	9.5 ± 0.6^a	6.3 ± 0.6^a	$6.9 \pm 0.2^{d,f}$	0.34 ± 0.02^a
With <i>A.r.</i>	10.1 ± 0.4^c	8.6 ± 0.8^b	6.7 ± 0.5^b	$5.5 \pm 0.5^{b,c,e}$	0.42 ± 0.02^c
With <i>A.m.</i>	$5.9 \pm 0.3^{d,e}$	21.6 ± 1.2^c	11.0 ± 0.9^a	3.6 ± 0.2^e	0.87 ± 0.02^d

Note: ALS: average lifespan (days); GRR: gross reproductive rate (offspring female⁻¹ lifespan⁻¹); R_0 : net reproductive rate (survival-weighted offspring female⁻¹ lifespan⁻¹); T: generation time (days); r : rate of population increase (d⁻¹). Shows are mean \pm standard error based on four replicates (cohorts). For a given variable, data containing similar alphabets are not significant ($p > 0.05$, Tukey test).

these variables were significantly higher in the *Ambystoma* conditioned medium than in the other treatments ($p < 0.001$). Generation time was influenced by algal density as well as the presence of kairomones, but their interaction was not significant ($p < 0.001$). The generation time of *B. havanaensis* was shortest at 1.0×10^6 cells ml⁻¹ of *Chlorella* and in the presence of *Ambystoma*-conditioned medium. The rate of population increase from the demography experiments was higher at lower food levels except in the presence of *Ambystoma*-conditioned medium. There was a significant impact of the treatment, food level, and interaction of both on the rate of population increase of *B. havanaensis* ($p < 0.001$).

Data on lorica morphometry showed statistically significant differences ($p < 0.001$, one-way ANOVA) in the spine or total length of *B. havanaensis* in the presence of infochemicals as compared with controls (figure 3). The total body length and anterior and posterior spine

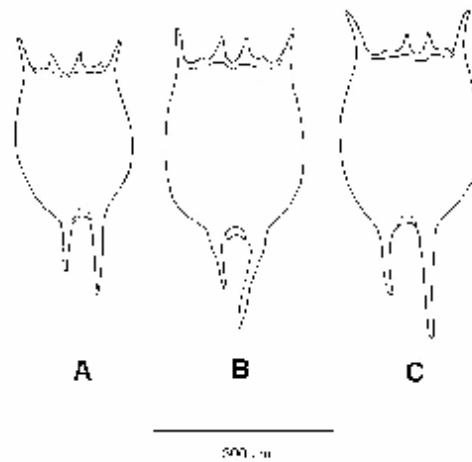


Figure 3. Lorica morphology of adult parthenogenetic female *B. havanaensis* cultured in controls (A) and in the presence of kairomones from *A. robustus* (B) or *A. mexicanum* (C). All figures were drawn on the same scale.

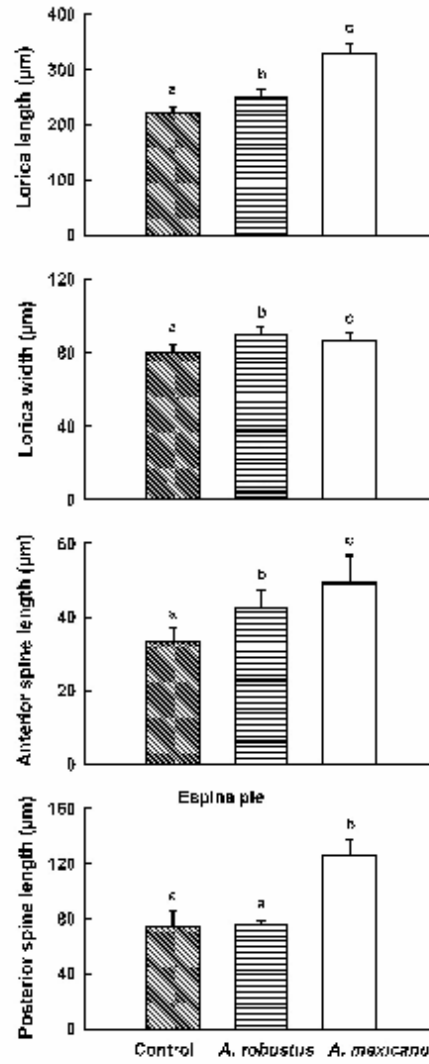


Figure 4. Morphometric data (lorica length, width, anterior spine length and posterior spine length, in μm) of adult parthenogenetic female *B. kavanaughii* cultured in controls, and in the presence of kairomones from *A. robustus* or *A. mexicanum*. Shown are the mean \pm standard errors based on 20 individuals of each treatment. For each variable, data carrying similar alphabets are not statistically significant ($p > 0.05$, Tukey test).

lengths were significantly higher in the presence of both vertebrate and invertebrate kairomones than in the controls. In general, there were greater body and spine lengths in the presence of *Ambystoma* infochemicals than those from *Acanthocyclops* (figure 4).

4. Discussion

Brachionus havanaensis showed a higher population abundance in the presence of kairomones from *A. mexicanum* than in controls or in copepod kairomone treatments. However, compared with controls, both predators caused an increased abundance of *B. havanaensis*, suggesting stimulation of rotifer population growth. Invertebrate kairomones are known to enhance offspring production in rotifers where a greater investment in reproduction as compared with controls is beneficial to offset loss from predation [19]. Normally, at higher population abundances, most rotifers produce males and resting eggs [2]. However, we did not observe the production of males or resting eggs, probably due to the fact that the peak population densities reached by *B. havanaensis* were below 100 ind. ml⁻¹. A previous study showed the production of males and resting eggs in *B. havanaensis* at densities above 200 ind. ml⁻¹ [20]. Thus, the low peak densities of this species in this study are probably due to the fact that the rotifer populations had to invest more energy for spine elongation due to the presence of infochemicals.

It is well known that rotifer density increases with increasing algal food level, a fact also observed here. Many species of *Brachionus* such as *B. calyciflorus* [21], *B. patulus* [22], and *B. rubens* [23] generally show peak population abundances around 10–15 d when raised on alga levels of 0.5×10^6 to 1.5×10^6 cells ml⁻¹ at 25 °C. In the present study, too, *B. havanaensis* reached peak abundances at about 10–12 d as was found in other studies [20]. The rate of population increase (r) (0.34–0.87 ind. d⁻¹) from the life-table study was generally higher than that obtained from the population growth experiment, which ranged from 0.25 to 0.45 ind. d⁻¹. The r derived from population growth studies is usually smaller than that derived from a demographic study, most likely due to the presence of intra-specific competition in the former and its absence in the latter [24]. Regardless of the study method used, r for most brachionid rotifers varies from 0.2 to 2.0 [25]. In this work, the r values obtained for *B. havanaensis* are thus within the range reported previously for *Brachionus* in general and *B. havanaensis* in particular [20].

Survivorship and offspring production are the two most important variables determining the fitness of a species [26]. Many herbivorous rotifers have an average lifespan of 10–25 d, and that recorded for *B. havanaensis* here agrees with previous reports [6]. A greater investment in reproductive output lowers the survivorship [27]. The life-history strategy adopted by a species also depends on the predation stress that it is subject to. *A. mexicanum* is known to feed maximally on *B. havanaensis* compared with other brachionids such as *B. calyciflorus*, *B. patulus*, and *B. rubens* [28]. We have also observed that *Acanthocyclops robustus* feeds on *B. havanaensis* but in lower numbers compared with *A. mexicanum*. This probably explains the different strategies (high reproduction and low survivorship vs. low reproduction and high survivorship) adopted by *B. havanaensis* in the presence of the vertebrate and invertebrate predator. It also explains the greater energy investment in size elongation in the presence of *Ambystoma* kairomones as compared with those from *Acanthocyclops*.

Changes in life-history variables of *Brachionus* in relation to kairomones from predators permit coexistence of prey with predators [3]. For example, elevated offspring in the presence of kairomones from vertebrate predators is expected to compensate for loss from predation [11]. On the other hand, reduced offspring production in the presence of invertebrate predation is

possibly a shift in the energy allocation from reproduction to the development of anti-predator defences. In brachionid rotifers, the development of posterior spines and enhanced body size are directly related to the kairomones from the invertebrate predators including *Asplanchna* and cyclopoid copepods [3, 29]. However, previous studies indicate that species that already have large spines, such as *Brachionus macracanthus*, do not invest further in spine elongation as a defence against predation [30]. In our experiments we observed significantly longer spines of *B. havanaensis* subjected to predator's kairomones as compared with the controls. It therefore appears that *B. havanaensis* invests in a higher population growth as well as an increase in spine length, when subject to vertebrate or invertebrate predation stress. It remains to be seen whether similar life-history strategies are observed in other long-spined *Brachionus* species such as *B. diversicornis* or *B. falcatus*.

Acknowledgements

This study was supported by research grants from CONACyT to the authors (CEG 195696, DGCH193543, SNI-20520 and SNI-18723 respectively). SN thanks PAPILT IN203 107 for additional support.

References

- [1] W.C. Kerfoot, A. Sih. *Predation: Direct and Indirect Impacts on Aquatic Communities*, University Press of New England, Hanover, NH (1987).
- [2] R.L. Wallace, T.W. Snell, C. Ricci, T. Nogrady. *Rotifera Part 1: Biology, Ecology and Systematics. Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World*, Kanobi Productions Gent/Badkhuy, The Netherlands (2006).
- [3] J.J. Gilbert. Kairomone-induced morphological defenses in rotifers. In *The Ecology and Evolution of Inducible Defense*, R. Tollrian and C.D. Harvell (Eds), pp. 127–141, Princeton University Press, Princeton, NJ (1999).
- [4] S.S.S. Sarma. Checklist of rotifers (Rotifera) from Mexico. *Environmental Ecology*, 17, pp. 978–983 (1999).
- [5] G. Garza-Mourino, M. Silva-Briano, S. Nandini, S.S.S. Sarma, M.E. Castellanos-Pérez. Morphological and morphometrical variations of selected rotifer species in response to predation: a seasonal study of selected brachionid species from Lake Xochimilco (Mexico). *Hydrobiologia*, 546, pp. 169–179 (2005).
- [6] E.L. Pavón-Meza, S.S.S. Sarma, S. Nandini. Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) food level and temperature on the demography of *Brachionus havanaensis* (Rotifera): a life table study. *Hydrobiologia*, 546, pp. 353–360 (2005).
- [7] S. Nandini, P. Ramirez-García, S.S.S. Sarma. Seasonal variation in the species diversity of planktonic rotifers from Lake Xochimilco (Mexico). *Journal of Freshwater Ecology*, 20, pp. 287–294 (2005).
- [8] W.W. Murdoch, J. Bence. General predators and unstable prey populations. In *Predation: Direct and Indirect Impacts on Aquatic Communities*, W.C. Kerfoot and A. Sih (Eds), pp. 17–30, University Press of New England, Hanover, NH (1987).
- [9] E.L. Pavón-Meza, S.S.S. Sarma, S. Nandini. Combined effects of temperature, food (*Chlorella vulgaris*) concentration and predation (*Asplanchna girodi*) on the morphology of *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *Hydrobiologia* (in press).
- [10] D. Weetman, D. Atkinson. Antipredator reaction norms for life history traits in *Daphnia pulex*: dependence on temperature and food. *Oikos*, 98, pp. 299–307 (2002).
- [11] S. Lass, P. Spaak. Chemically induced anti-predator defences in plankton: a review. *Hydrobiologia*, 491, pp. 221–239 (2003).
- [12] Z.M. Glowicz, A. Słusarczyk, M. Słusarczyk. Life history synchronization in a long-lifespan single-cohort *Daphnia* population in a fishless alpine lake. *Oecologia*, 128, pp. 368–378 (2001).
- [13] A.M. Verschoor. Hard to handle: Inducible defences in plankton. PhD thesis, Radboud University Nijmegen, The Netherlands (2005).
- [14] M.A. Borowitzka, L.J. Borowitzka. *Micro-Algal Biotechnology*, Cambridge University Press, London (1988).
- [15] S. Nandini, P. Ramirez-García, S.S.S. Sarma. Seasonal variations in the species diversity of planktonic rotifers in Lake Xochimilco, Mexico. *Journal of Freshwater Ecology*, 20, pp. 287–294 (2005).
- [16] C.J. Weber. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*, 4th ed., United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH (1993).
- [17] R.M. Sibly, J. Hone. Rate of population increase and its determinants: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London*, B357, pp. 1153–1170 (2002).
- [18] C.J. Krebs. *Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance*, 3rd ed., Harper & Row, New York (1985).

10. LITERATURA CITADA

- Abrams, P.A., Menge, B.A., Mittelbach, G.G., Spiller, D., Yodzis, P., 1996. The role of indirect effects in food webs. In: Polis, G., Winemiller, K. (Eds.), *Food Webs: Integration of Patterns and Dynamics*. Chapman & Hall, New York, pp. 371–395.
- Andersen T., Elser J., J., & Hessen D., O. 2004. Stoichiometry and population dynamics. *Ecology Letters*, (2004) 7: 884–900 doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00646.x
- Anon. (1985) Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. US Environment Protection Agency, EPA/600/4-85/013.
- Armstrong, John B., and Malacinski, George M. (1989). *Developmental Biology of the Axolotl*. Oxford University Press.
- Balsai, M., J., and Lewbart G., A. 1994. *Axolotls*. Reptile & Amphibian magazine. (March/April): 40-51.
- Beebee, T.J.C. 1996. Ecology and conservation of amphibians. Chapman and Hall, New York. 214pp.
- Begon M., Harper J., L., & Townsend C., R. 1999. ecology. Ediciones omega Barcelona España. pp. 1148.
- Bojórquez, L., 1991. Rescate de Xochimilco. Coord. Por B. Canabal. UAM Xochimilco pp 63-81.
- Brewkelaar, A., E. Lammens, J. Breteler E I. Tratai, 1994. Effects of benthivorous bream (*Abramis brama*) and carp (*Cyprinus carpio*) on sediment resuspension and concentration of nutrients and chlorophyll a. *Freshwater Biology*, 32, pp. 112-121.
- Brodman R. 2004. *Ambystoma* salamander Larvae. *Journal of Herpetology*; Mar 2004, Vol. 38 Issue 1, p 21.

-Burns, C.W. y Gilbert, J.J. 1986. Direct observations of the mechanisms of interference between *Daphnia* and *Keratella cochlearis*. *Limnology and Oceanography* 31: 859-866.

-Caiola N., Vargas M., J., & Sostoa A. 2001. Feeding ecology of the endangered Valencia toothcarp, *Valencia hispanica* (Actinopterygii: Valenciidae). *Hydrobiologia* 448: 97–105, 2001.

-Casas A., G., Cruz A., R & Aguilar M., X. 2004. Un regalo poco conocido de México al mundo: el ajolote o axolotl (*Ambystoma*: Caudata: Amphibia). Con algunas notas sobre la crítica situación de sus poblaciones. *Ciencia Ergo Sum*, Nov 2003- feb 2004, año/vol. 10, número 003, Universidad Autónoma del Estado de México Toluca México, pp 304- 308.

-Conde-Porcuna, J.M. 1998. Chemical interference by *Daphnia* on *Keratella*: a life table experiment. *Journal of Plankton Research* 20: 1637-1644.

-Conde-Porcuna, J.M. 2000. Relative importance of competition with *Daphnia* (Cladocera) and nutrient limitation on *Anuraeopsis* (Rotifera) population dynamics in a laboratory study. *Freshwater Biology* 44: 423-430.

-Conde-Porcuna, J.M., Ramos-Rodríguez, E. y Pérez-Martínez, C. 2002. Correlations between nutrient limitation and zooplankton populations in a mesotrophic reservoir. *Freshwater Biology* 47: 1463-1473.

-DeAngelis, D. L., R. A. Goldstein, and R. V. O'Neill. 1975. A model for trophic interaction. *Ecology* 56:881– 892.

-Declerck, S., Podoor, N., Geenens, V., Conde-Porcuna, J.M. y DeMeester, L. 2003. Intraspecific density dependence in the dynamics of zooplankton under hypertrophic conditions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60: 919-928.

-DeWitt T., J., & Langerhans B., R. 2003. Multiple prey traits, multiple predators: keys to understanding complex community dynamics. *Journal of Sea Research* 49 (2003) 143– 155.

-Dodson S. & D. G. Frey. 1991. Cladocera and other brachiopoda in ecology and classification of North American Freshwaters invertebrates. Edited academy press, Inc. San Diego. 786 pp

-Dominguez-Dominguez O., S . Nandini & S . S . S . Sarma. 2002. Larval feeding behaviour of the endangered fish golden bubblebee goodeid, *Allotoca dugesi*, implications for conservation of an endangered species. *Fisheries Management and Ecology*, 2002, 9, 285–291

-Duhon S., T. 1989. Disease control in a large colony of axolotls. *Herpetopathologia* 1: 105-108.

-Enriquez- Garcia C. 2002. Efecto de varias dietas sobre el crecimiento poblacional de cladóceros (*Macrothrix triserialis*, *Alona rectángula* y *Chydorus sphaericus*) y rotíferos (*Platyias quadricornis*, *Lecane quadridentata* y *Brachionus macracanthus*). Tesis para obtener título de Biólogo, FES Iztacala UNAM.

-Epperlein HH, Radomski N, Wonka F, Walther P, Wilsch M, Muller M, Schwarz H. 2000.

Evolutionary genetics of metamorphic failure using wild-caught vs. laboratory axolotls (*Ambystoma mexicanum*). *Journal of Structural Biology*, 132: 19-32.

- Escalera Vázquez L., H., Domínguez-Domínguez O., Sarma S., S., S., & Nandini S. 2004. Selective feeding on zooplankton by larval *Skiffia multipunctata* (Goodeidae). *Journal Freshwater Ecology*, Vol 19, num, 3 september 2004.

-Espinosa, P.G., 1996. El embrujo del Lago. Instituto de Investigaciones Históricas e Instituto de Investigaciones Antropológicas UNAM. México, D.F. p. 432.

- Ezendam T. 1994. *De Axolotl (Ambystoma mexicanum)(The axolotl (Ambystoma mexicanum))*. Het Terrarium. 12 (5):95-96.
- Fenske R., Köhler U., Kretzschmar K. 1995. *Haltung und aufzucht des axolotls Ambystoma mexicanum (Shaw, 1798) (Husbandry and breeding of the axolotl Ambystoma mexicanum (Shaw, 1798))*. Sauria. 17 (1):21-25.
- Fiksen Ø., Eliassen S., & Titelman J. 2005. Multiple predators in the pelagic: modelling behavioural cascades. *Journal of Animal Ecology* 2005 74 , 423–429.}
- Flores-Burgos J., Sarma S. S. S., Nandini S. 2003. Estudio preliminar sobre la fauna de Rotíferos de Xochimilco (México). Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco, A. C., Parque Ecológico de Xochimilco, UAM Xochimilco, México City, México pp.: 163- 171.
- Frey G., D. 1988. Alona weinecki Studer on the Subantarctic Islands, Not Alona rectangularis Sars (Chydoridae, Cladocera). *Limnology and Oceanography*, Vol. 33, No. 6, Part 1: W. T. Edmondson Celebratory Issue. (Nov., 1988), pp. 1386-1411.
- Garrick T., S., & James F., G. 2001. Functional responses with predator interference: viable alternatives to the holling type ii model. *Ecology*, 82(11), 2001, pp. 3083–3092 2001 by the Ecological Society of America.
- Gerking S., D. 1994. Feeding ecology of fish. Academic press. USA.
- Gill A., B. 2003. The dynamics of prey choice in fish: the importance of prey size and satiation. *Journal of Fish Biology* (2003) 63 (Supplement A), 105–116.
- Gillis G., B., Lauder G., V. 1994. Aquatic prey transport and the comparative kinematics of *Ambystoma tigrinum* feeding behaviors. [Journal of Experimental Biology](#); Feb94, Vol. 187 Issue 2, p159.

-Hairston, N.G., Jr. 1996. Zooplankton egg banks as biotic reservoirs in changing environments. *Limnology and Oceanography* 41: 1087-1092.

-Hart, P. J. B. & Gill, A. B. (1992). Constraints on prey size selection by the three-spined stickleback: energy requirements and the capacity and fullness of the gut. *Journal of Fish Biology* 40, 205–218.

-Hoffman R., L., Larson G., L., Samora B. 2004. Responses of *Ambystoma* gracile to the Removal of Introduced Nonnative Fish from a Mountain Lake. [Journal of Herpetology](#); Dec2004, Vol. 38 Issue 4, p578.

-Hubbell, S.P., 2001. The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography. Princeton University Press, Princeton, NJ.

-Jeschke J. M., Kopp M., Tollrian R. 2002. Predator functional responses: discriminating between handling and digesting prey. *Ecological Monographs*, 72(1), 2002, pp. 95–112
2002 by the Ecological Society of America.

-Iwasa Y. 1982. Vertical migration of zooplankton: a game between predator and prey. *The American Naturalist*, vol. 120, number 2, august 1982, pp 171- 180.

-Jiménez-Contreras J. 2007. Diversidad y densidad de rotíferos monogonontos en algunos canales del Lago de Xochimilco. Tesis Para obtener titulo de biólogo. UNAM FES Iztacala.

-Johnson B., E., Bierzychudek P., & Whiteman H., H. 2003. Potential of prey size and type to affect foraging asymmetries in tiger salamander (*Ambystoma tigrinum nebulosum*) larvae. *Canadian Journal of Zoology*. Ottawa: Oct 2003. Vol.81, Iss. 10; pg. 1726.

-Juanes, F. (1994). What determines prey size selectivity in piscivorous fishes? In *Theory and Application in Fish Feeding Ecology* (Stouder, D. J., Fresh, K. L. & Feller,

R. J., eds), pp. 79–100. The Belle W. Baruch library in marine science, University of South Carolina Press.

-Kerfoot C., & Sih A. 1987. predation. University Press of New England.

-Kiksen Y., Eliassen S., & Titelman J. 2005. Multiple predators in the pelagic: modelling behavioural cascades. *Journal of animal ecology* 2005 74, 423- 429.

-Koste W.1978. Rotatoria. Gebrüder Borntraeger, Berlin Stuttgart, 734 pp

-Krebs C., J. 1999. Ecological methodology. Addison Welsey Educational Publisher, New York.

-Lammens, E.H.R.R., Gulati, R.D., Meijer, M.L. y Van Donk, E. 1990. The first biomanipulation conference: a synthesis. *Hydrobiologia* 200/201: 619-627.

-Lampert W., 1997. Limnoecology. The ecology of lakes and steams. Pp 160-253.

-Laposata MM, Dunson WA. 2000. Effects of treated wastewater effluent irrigation on terrestrial salamanders. *Water-Air-and-Soil-Pollution*. 119: 45-57.

-Marcus, N.H., Lutz, R., Burnett, W. y Cable, P. 1994. Age, viability, and vertical distribution of zooplankton resting eggs from an anoxic basin: Evidence of an egg bank. *Limnology and Oceanography* 39: 154-158.

-McCoy M., W., & Savitzky A., H. 2004. Feeding Ecology of Larval *Ambystoma mabeei* (Urodela: Ambystomatidae). [Southeastern Naturalist](#); 2004, Vol. 3 Issue 3, p409.

-Miyazaki T., Masuda R., Furuta S., & Tsukamoto K. 2000. Feeding behaviour of hatchery- reared juveniles of the Japanese flounder following a period of starvation. *Aquaculture* 190 (2000) 129-138.

-Morales-Baquero, R., Conde-Porcuna, J.M. y Cruz-Pizarro, L. 1994. The zooplankton biomass and food availability in four reservoirs of contrasting trophic status. *Archive für Hydrobiologie Beihefte Ergebnisse der Limnologie* 40: 161-173.

-Moss . B. 2001. *Ecology of fresh waters*. Tercera edition. U. K. Oxford. Pp 557.

-Nandini S , Perez- Chavez R. & S. S. S. Sarma. 2003. The effect of prey morphology on the feeding behaviour and population growth of the predatory rotifer *Asplanchna sieboldi*: a case study using five species of *Brachionus* (Rotifera). *Freshwater Biology* (2003) 48, 2131–2140.

-Nandini S., Ramirez-Garcia P., Sarma S., S., S. 2005. Seasonal variation in the species diversity of planktonic rotifers, in Lake Xochimilco, Mexico. *Journal of Freshwater Ecology*, Volume 20, Numer 2, June- 2005.

-Nandini S., Sarma S., S., S. 2000. Zooplankton preference of two species of freshwater ornamental fish larvae. *J Appl Ichthyol* 16 (2000), 282- 284.

-Negrea S., N. Botnariuc y H. J. Dumont. 1999. Phylogeny, evolution and classification of the Branchiopoda (Crustacea). *Hydrobiologia*. 412: 191-212.

-Nogrady T., L. R. Wallace, & W. T. Snell. 2005. *Rotifera biology, ecology and systematics*. SPB. Academic Publishing.

-Orizaola G., & Braña F. 2003. Response of predator- naive newt larvae to food and predator presense. *Canadian Journal of Zoology*; Nov 2003; 81, 11; Academic Research Library pg. 1845.

-Pavón- Meza., E., L. 1993. Desarrollo de una técnica de cultivo para la producción masiva del rotífero *Brachionus calyciflorus*. Tesis para obtener el título de biólogo UNAM ENEP Iztacala Los reyes Iztacala Edo. Méx. Nov. 1993.

-Proyecto UNESCO-Xochimilco. 2005. “Proyecto para la identificación participativa de un plan de rehabilitación integral del patrimonio cultural de Xochimilco”.

- Putman, R. J. & S. D. Wratten, 1984. Principles of Ecology. Croom Helm, London: 388 pp.
- Rettig J., E. 2003. Zooplankton responses to predation by larval bluegill: an enclosure experiment. *Freshwater Biology* (2003) 48, 636–648.
- Rojas- Rabiela, T., 1998. La cosecha del agua en la cuenca de México. Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social. México, D.F.
- Rønnestad I., Thorsen A., Niguel F. 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture* 177 (1999) 201–216.
- Sánchez-Vázquez F.J., Yamamoto T., Akiyama T., Madrid J.A., Aranda A. & Tabata M. Macronutrient selection in fish using self-feeders. Second COST Workshop on «*The feeding behaviour of fish in culture*». Sweden.
- Sarma S., S., S., Lopez-Romulo J., A., & Nandini S. 2003. Larval feeding behaviour of blind fish *Astyanax fasciatus* (Characidae), black tetra *Gymnocorymbus ternetzi* (Characidae) and angel fish *Pterophyllum scalare* (Cichlidae) fed zooplankton. *Hydrobiologia* 510: 207–216, 2003.
- Sarma S. S. S., Lopez- Romulo A., Nandini S. 2003. Larval feeding behaviour of blind fish *Astyanax fasciatus* (Characidae), black tetra *Gymnocorymbus ternetzi* (Characidae) and angel fish *Pterophyllum scalare* (Cichlidae) fed zooplankton. *Hydrobiologia* 510: 207–216, 2003.
- Sarma S., S., S., Nandini S., Aguilar D., R., & Campos B., G. 2005. Manual del Diplomado en Tecnologías para el cultivo de alimento vivo impartido en el Acuario de Veracruz en colaboración con el Laboratorio de Zoología Acuática de la FES Iztacala UNAM. H. Ver., Ver., Octubre 29- al 07 Nov 2005. Capítulo 15.

-Shaffer, H., 1989. Natural history, ecology and evolution of the Mexican axolotls. Axolotl Newsletter, Indiana University, Indiana 18:5-11.

-Skalski & Gilliam. 2001. Functional responses with predator interference: viable alternatives to the holling type ii model. *ecology*, 82(11), 2001, pp. 3083–3092. 2001 by the ecological society of america.

-Smith J., R. 2000. The morphology of the upper lip of Cypridoidea ostracods: taxonomic and phylogenetic significance. *Hydrobiologia* **418**: 169–184, 2000.

-Smith HM, Smith RB. 1971. Synopsis of the herpetofauna of Mexico. Volume I. Analysis of the literature on the Mexican Axolotl. John Johnson Natural History Books, Bennington, VT, USA. 245pp.

-Suárez V., L. 2005. Evaluación del estrés agudo y crónico del cadmio (CdCl₂) y cobre (CuSO₄) en el ostracodo (*Heterocypris incongruens*) mediante las respuestas de tablas de vida demográficas. Tesis para obtener el título de biólogo. UNAM FES Iztacala.

-Stephan-Otto E., Ensástigue L., J. 2001. El ajolote, otro regalo de México al mundo. Biodiversitas. Año 7, núm35. 09 marzo del 2001.

-Strubbe, J. H. & van Dijk, G. (2002). The temporal organisation of ingestive behaviour and its interaction with regulation of energy balance. *Neuroscience and Behaviour Reviews* 26, 485–498.

-Unger P., A., & Lewis M., W. 1983. Selective predation with respect to body size in a population of the fish *Xenomelaniris venezuelae* (Atherinidae). *Ecology* 64(5), 1983 pp 1136-1144, 1983 by the society of America.

-Vakkilainen K., Kairesalo T., Hietala J., Balayla D., Cares E., Van de Bund W., Van Donk E., Fernandez M., Gyllstro M., Hansson L., Miracle M., Moss B., Romo S., Rueda J., & Stephen D. 2004. Response of zooplankton to nutrient enrichment and fish

in shallow lakes: a pan-European mesocosm experiment. *Freshwater Biology* (2004) 49, 1619–1632.

-Valiente R., E., L. 2006. Efecto de las especies introducidas en Xochimilco para la rehabilitación del hábitat del ajolote (*Ambystoma mexicanum*). Tesis para obtener el título de Maestra en Ciencias (Biología ambiental con orientación en restauración ecológica). UNAM Instituto de Biología México DF.

-Van der Meer, J., and B. J. Ens. 1997. Models of interference and their consequences for the spatial distribution of ideal and free predators. *Journal of Animal Ecology* 66:846–858.

-Voss SR, ShafferHB. 2000. Evolutionary genetics of metamorphic failure using wild caught vs. laboratory axolotls (*Ambystoma mexicanum*). *Molecular Ecology* 9: 1401-1407.

-Walls SC. 1998. Density dependence in a larval salamander: The effects of interference and food limitation. *Copeia*, 1998 : 926-935.

-Watanabe T., T. Arakawa K., K., & S., Fujita. 1978. Nutricional evaluation of proteins of living feeds used in seed production of fish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 44:985-988.

-Zaret T., M. 1980. *Predation and freshwater communities*. Yale University Press, new haven, Connecticut.