



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
ECOLOGÍA

**Relación entre la disponibilidad de recursos y el nivel de transferencia de
nutrientes entre madres y embriones en dos especies de peces vivíparos**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALEJANDRO MOLINA MOCTEZUMA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARIA DEL CARMEN URIBE ARANZÁBAL
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. CARLOS RAFAEL CORDERO MACEDO
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, D.F., ENERO, 2014



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

ECOLOGÍA

**Relación entre la disponibilidad de recursos y el nivel de transferencia de
nutrientes entre madres y embriones en dos especies de peces vivíparos**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALEJANDRO MOLINA MOCTEZUMA

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DRA. MARIA DEL CARMEN URIBE ARANZÁBAL
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DR. CARLOS RAFAEL CORDERO MACEDO
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

MÉXICO, D.F., ENERO, 2014



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/007/15

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **22 de septiembre de 2014** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Ecología** del (la) alumno (a) **MOLINA MOCTEZUMA ALEJANDRO** con número de cuenta **305693743** con la tesis titulada **"Relación entre la disponibilidad de recursos y el nivel de transferencia de nutrientes entre madres y embriones en dos especies de peces vivíparos"**, realizada bajo la dirección del (la) **DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA:**

Presidente: DRA. MARICELA VILLAGRÁN SANTA CRUZ
Vocal: DR. HIBRAIM ADÁN PÉREZ MENDOZA
Secretario: DR. CARLOS RAFAEL CORDERO MACEDO
Suplente: DRA. NORMA LETICIA MANRÍQUEZ MORÁN
Suplente: DRA. MARÍA DEL CARMEN ÚRIBE ARANZÁBAL

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 8 de enero de 2015

Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO

MCAA/MJFM/ASR/grf*

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento del proyecto No. 129675 “El significativo adaptativo de la superfetación en peces vivíparos de la familia Poeciliidae”, por la beca otorgada durante mis estudios de posgrado con número (CVU/becario) 479855/280453, y por la beca mixta otorgada para realizar una estancia de investigación en la Universidad de Oklahoma, Estados Unidos.

A la UNAM, por el apoyo financiero otorgado a través del Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP), para asistir a la reunión EURING Analytical Meeting and Workshop en Georgia, Estados Unidos, y por el apoyo financiero recibido para la impresión de esta tesis.

A mi asesor, el Dr. José Jaime Zúñiga Vega.

A los miembros de mi comité tutor, a la Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal y al Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias por todo el conocimiento recibido.

A mi asesor, el Dr. José Jaime Zúñiga Vega por su apoyo, tiempo y dedicación.

A los miembros de mi comité tutor, a la Dra. Maricarmen Uribe y al Dr. Carlos Cordero Macedo. Gracias por formar parte de este proyecto y por todos los comentarios que hicieron durante los dos años que duró. Sin sus aportaciones, esta tesis no sería lo que es.

A los miembros del jurado, al Dr. Hibraím Adán Pérez Mendoza, a la Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz y a la Dra. Norma Leticia Manríquez Morán, cuya cuidadosa revisión y comentarios mejoraron la calidad de este trabajo.

A la Dra. Edie Marsh-Matthews de la Universidad de Oklahoma por haberme recibido en su laboratorio, por todo lo aprendido y sobre todo por todas sus atenciones.

A todos los profesores y compañeros del Laboratorio Especializado de Ecología de la Facultad de Ciencias. Especialmente al grupo de trabajo Ecología Evolutiva y Demografía Animal.

A todas las personas que participaron en el trabajo de campo. A Ana Laura Hernández Rosas, Irene Zapata Morán, Karina Villa Meza, Patricia Frías Álvarez,

Nabila Saleh Subaie, Paulina García Avilés, Claudia Olivera Tlahuel, Hugo Salinas Matus, Tonantzi Sandoval Silva, Diego García Meza, Gonzalo Medina Rangel, Israel Solano Zavaleta, Pedro Eloy Mendoza Hernández, Oscar Olivares Loyola y Luis Felipe Vázquez Vega.

A Ana Laura Hernández Rosas, Nabila Saleh Subaie, Patricia Frías Álvarez, Paulina García Avilés y Claudia Olivera Tlahuel por su ayuda con el cuidado y mantenimiento de los peces en cautiverio.

A Patricia Frías Álvarez por ayudar en la disección de los peces.

Al M. en C. Ignacio Andrés Morales Salas y a la M. en C. Estela Pérez Cruz por su apoyo como técnicos en el cuidado y mantenimiento de los peces en cautiverio. Al Biól. Edgar Ávila Luna por su asesoría en el cuidado de los peces. A la M. en C. Beatriz Zúñiga Ruiz, a la M. en C. María Eugenia Muñiz de León, al M. en C. José Luis Bortolini Rosales y al Biól. Marco Antonio Romero Romero por su apoyo logístico.

A Vicky, Bartolo, Manuel y Tito por haber hecho de nuestros viajes a Tomate, Playa Vicente una gran experiencia.

A la Sra. María Guadalupe Sánchez, a sus hijos y a todos los niños de Mezquital del Oro, Zacatecas. Les deseo lo mejor.

Al Sr. Antonio Castillo de San Antonio Matute, Jalisco. Por dejarnos trabajar en su campo y por sus amenas pláticas.

A Andy, Ulrike, Carolyn, Elizabeth y Amber de la Universidad de Oklahoma por su convivencia. A Bill Matthews por las atenciones recibidas, a Ingo Schlupp por dejarme convivir con su laboratorio y a Bryan, Aaron y Zach.

A Ana por haber compartido tantas experiencias conmigo. Por todos los increíbles momentos que hemos disfrutado juntos. Por todo su cariño, amor y comprensión y por ser mi cómplice y compañera de vida.

A todos los amigos, compañeros y profesores con los que compartí momentos durante este proceso.

A mis papás y a mi hermano, por todo el apoyo recibido durante estos largos tres años.

Contenido

RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUCCIÓN.....	15
OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	22
Objetivo general	22
Particulares.....	22
Hipótesis.....	23
Predicciones	24
ANTECEDENTES.....	25
Matrotrofia en la naturaleza.....	25
Matrotrofia en vertebrados	27
Matrotrofia en peces.....	28
Transferencia de nutrientes a los embriones durante su desarrollo dentro de la familia Poeciliidae.....	30
Hipótesis que explican la aparición y mantenimiento de la matrotrofia ...	31
Hipótesis de disponibilidad de alimento y modelo Trexler-De Angelis.....	34
Evidencia que apoya la hipótesis de disponibilidad de alimento	36
Efectos de la superfecundación sobre la matrotrofia	37
MÉTODOS.....	39

Especies de estudio	39
Sitios de estudio	40
Trabajo de campo.....	41
Cuantificación de características reproductoras	42
Identificación de estadios de desarrollo embrionario.....	43
Cuantificación del nivel de matrotrofia.....	45
Cuantificación de la disponibilidad de alimento	46
Experimentos de laboratorio.....	47
RESULTADOS	51
Datos obtenidos.....	51
Relación entre el peso del embrión y el estadio de desarrollo en <i>Poeciliopsis gracilis</i>	52
Transferencia de nutrientes pre-fecundación y post-fecundación en <i>Poeciliopsis gracilis</i>	54
Disponibilidad de alimento.....	55
Relación entre el peso del embrión y el estadio de desarrollo en <i>Poeciliopsis infans</i>	57
Transferencia de nutrientes pre-fecundación y post-fecundación en <i>Poeciliopsis infans</i>	59
Disponibilidad de alimento en <i>Poeciliopsis infans</i>	60
Resultados del experimento de laboratorio	62

DISCUSIÓN.....	65
Variación inter e intraespecífica en el nivel de transferencia de nutrientes	65
Variación intraespecífica en el índice de lleno estomacal	68
Variación en el índice de matrotrofia y su relación con el índice de lleno estomacal.....	69
Evidencia experimental que apoya al modelo Trexler-DeAngelis.....	71
CONCLUSIONES	73
LITERATURA CITADA	74

Lista de cuadros y figuras

Cuadro 1. Descripción de los sitios de estudio de <i>Poeciliopsis gracilis</i>	40
Cuadro 2. Descripción de los sitios de estudio de <i>Poeciliopsis infans</i>	41
Cuadro 3. Descripción de los datos de campo obtenidos de <i>P. gracilis</i>	51
Cuadro 4. Descripción de los datos de campo obtenidos de <i>P. infans</i>	¡Error!
Marcador no definido.	
Cuadro 5. Resultados experimentales	62
Figura 1. Predicciones.....	23
Figura 2. Especies de estudio	40
Figura 3. Guía de identificación de estadios de desarrollo embrionario	44
Figura 4. Relación entre el estadio de desarrollo y el peso seco del embrión en las tres poblaciones de <i>P. gracilis</i>	¡Error! Marcador no definido.
Figura 5. Índice de matrotrofia, peso inicial del embrión e índice de lleno estomacal en <i>P. gracilis</i>	56
Figura 6. Relación entre el estadio de desarrollo y el peso seco del embrión en las tres poblaciones de <i>P. infans</i>	68
Figura 7. Índice de matrotrofia, peso inicial del embrión e índice de lleno estomacal en <i>P. infans</i>	61
Figura 8. Resultados experimentales	64

RESUMEN

La matrotrofia es un modo de transferencia de nutrientes madre-embrión, en el cual la madre transfiere todos los nutrientes a los embriones en desarrollo de manera posterior a la fecundación. Se han propuesto distintas hipótesis y modelos que intentan explicar el significado adaptativo de la matrotrofia. Uno de estos modelos es el modelo Trexler-DeAngelis. Este modelo supone que la matrotrofia tiene ventajas para la adecuación de los individuos, pero sólo puede presentarse cuando la disponibilidad de alimento es alta y constante. Si la disponibilidad de alimento es estacional, se favorece un modo de transferencia de nutrientes pre-fecundación (lecitotrofia). En este trabajo se puso a prueba el modelo Trexler-DeAngelis en dos especies de peces vivíparos de la familia Poeciliidae (*Poeciliopsis infans* y *P. gracilis*), utilizando tanto un experimento natural como un experimento de laboratorio. En el experimento natural, se compararon los niveles de matrotrofia y los niveles de disponibilidad de alimento entre tres poblaciones y dos temporadas (secas y lluvias). Se observó que en *Poeciliopsis gracilis* hay diferencias entre poblaciones y entre temporadas tanto en el nivel de matrotrofia como en el nivel de disponibilidad de alimento. Sin embargo estas diferencias no fueron consistentes con el modelo Trexler-DeAngelis. En *P. infans* igualmente se encontraron diferencias en los niveles de matrotrofia y en los niveles de disponibilidad de alimento que sí fueron consistentes con el modelo Trexler-DeAngelis. Finalmente, en el experimento de laboratorio, se aplicaron tres distintos tratamientos: alimento constante, alimento variable y alimento bajo. Los resultados de los experimentos de laboratorios fueron consistentes con el modelo Trexler-DeAngelis. En conclusión, en este trabajo se encontró evidencia de diferencias en matrotrofia entre temporadas y poblaciones de una misma especie y fuerte evidencia en general a favor del modelo Trexler-DeAngelis.

ABSTRACT

Matrotrophy is a mode of mother-to-embryo nutrient transfer in which the mother transfers all the nutrients to developing young after fertilization. Different hypothesis and models have been proposed to explain the adaptive value of matrotrophy. One of these models is the Trexler-DeAngelis food availability model. This model assumes that matrotrophy provides fitness advantages, but that it is only possible when food availability is high and constant. If food availability is either scarce or seasonal, pre-fertilization mother-to-embryo nutrient transfer (lecithotrophy) is favored. In this study we analyzed the Trexler-DeAngelis food availability model in two species of viviparous fishes from the family Poeciliidae (*Poeciliopsis gracilis* and *P. infans*) using data from a natural and a laboratory experiment. From the natural experiment we compared the degree of matrotrophy and food availability among three populations and two seasons for both species. In *P. gracilis* we found differences among populations in the degree of matrotrophy and between seasons in both matrotrophy and food-availability. However, these differences were not consistent with the Trexler-DeAngelis model. We also found differences in *P. infans* among populations and between seasons in both the degree of matrotrophy and food availability. In this case, the differences were consistent with the Trexler-DeAngelis model. Finally, in the laboratory experiment, three different food treatments were applied: constant food, seasonal food, and low food. The results from this experiment were consistent with the Trexler-DeAngelis model. In conclusion, we found differences in matrotrophy between species, among populations, and between seasons. Overall, we found evidence supporting the Trexler-DeAngelis model.

INTRODUCCIÓN

Las características de historias de vida están moldeadas por las condiciones ambientales (Sterns 1992, Roff 2002). De éstas, las características reproductoras son especialmente sensibles a las condiciones impuestas por el ambiente (debido a que las características reproductoras tienen un impacto inmediato sobre la adecuación). Respuestas adaptativas a condiciones ambientales se han observado en características como el tamaño a la madurez, el tamaño de las crías al nacer, el número de progenie por evento reproductor, el número de eventos reproductores, la cantidad de nutrientes transferidos de madres a embriones y el momento de la transferencia de nutrientes entre madre y embriones (e.g. Morita & Furukawa 2007, Loewen et al. 2010, Riesch et al. 2010a, 2010b, 2012, 2013, 2014, Marshall & Monro 2013). El efecto del ambiente sobre esta última característica (el momento en el que sucede la transferencia de nutrientes entre madre y embriones) ha sido especialmente analizada (Trexler 1997, Thompson et al. 2002, Trexler & DeAngelis 2003 Marsh-Matthews & Deaton 2006, Banet & Reznick 2008, Ostrovsky et al. 2009, 2013, Banet et al. 2010, Riesch et al. 2012). Una de las principales razones por las que ha generado tanto interés es que es una característica con una gran variación en la naturaleza (Wourms 1988, Marsh-Matthews 2011). Debido a esta gran variación, se ha intentado comprender las causas que favorecen la selección de distintos modos de transferencia maternal de nutrientes durante el desarrollo embrionario (Reznick et al. 2002, Pollux et al. 2009).

Se reconocen dos variantes principales del momento en el que sucede la transferencia de nutrientes entre madres y embriones. Una de ellas es la lecitotrofia. En esta variante la provisión maternal se suministra de forma previa a la fecundación asignando vitelo al huevo y no se presenta intercambio de nutrientes durante el desarrollo embrionario. La segunda es la matrotrofia. En ésta, la provisión maternal se suministra de manera activa a lo largo del desarrollo sin asignación de vitelo previa a la fecundación (esta es una transferencia de manera posterior a la fecundación; Wourms 1988, Meffe & Snelson 1989, Reznick & Miles 1989, Reznick et al. 2002, Trexler & DeAngelis, 2004, Pollux et al. 2009, Marsh-Matthews 2011). En una gran cantidad de especies de invertebrados y vertebrados se pueden encontrar ambas variantes (Marsh-Matthews 2011).

Se ha observado que la matrotrofia se presenta en grupos tan diversos como gasterópodos de la familia Viviparidae y Pachychilidae, escamados pertenecientes a la familia Scincidae, anfibios de la familias Salamandridae, Caeciliidae y Bufonidae, peces condriictios de la familia Carcharhinidae y en peces óseos de las familias Zenarchopteridae y Poeciliidae (Reznick & Miles 1989, Blackburn 1992, 1999, Reznick et al. 2002, 2007a, 2007b, Köhler et al. 2004). Además, es una característica que ha tenido apariciones repetidas e independientes en distintos grupos (Pollux et al. 2010, Marsh-Matthews 2010). De hecho, la matrotrofia ha evolucionado de manera independiente en al menos la mitad de los Phyla de Metazoos.

Cabe destacar que la manera y el momento en que las madres transfieren nutrientes a sus embriones en desarrollo es en realidad un continuo de estrategias

de provisión maternal. En este continuo, se encuentran especies totalmente lecitotróficas, especies totalmente matrotroóficas y especies con algún grado intermedio de matrotrofia. Las especies con grados intermedios de matrotrofia cuentan con transferencia de nutrientes previa a la fecundación, pero también cuentan con una transferencia activa de nutrientes durante el desarrollo (Wourms 1988, Marsh-Matthews 2011).

Uno de los grupos de vertebrados que presenta este continuo en la transferencia de nutrientes entre madres y embriones es el de los peces vivíparos de la familia Poeciliidae (Reznick et al., 2002). Algunas especies de esta familia son totalmente lecitotróficas. En este caso, el peso de los embriones disminuye durante el desarrollo por actividades metabólicas (i.e. no hay entrada de nutrientes, pero sí hay pérdida de masa debido a los costos metabólicos del desarrollo). Otras especies son totalmente matrotroóficas y en este caso el peso de los embriones incrementa durante el desarrollo (debido a que la madre provee todos los nutrientes de manera activa y posterior a la fecundación). Finalmente, hay especies de la familia Poeciliidae que pueden tener grados intermedios de matrotrofia (i.e. la provisión maternal se da asignando vitelo previo a la fecundación y también hay provisión durante el desarrollo embrionario). En este caso el peso de los embriones puede disminuir ligeramente, no cambiar durante el desarrollo o tener un incremento moderado (Meffe & Snelson 1989, Reznick & Miles 1989, Reznick et al. 2002, Trexler & DeAngelis, 2004, Pollux et al. 2009).

En la familia Poeciliidae se ha observado que los embriones de las especies totalmente lecitotróficas pueden perder hasta el 40% del peso entre el ovocito

maduro y el embrión totalmente desarrollado. Algunas de las especies que sufren esta disminución de peso son *Poeciliopsis monacha*, *P. catemaco* y *P. scarlli* (Reznick 2002). Estos valores coinciden con la pérdida de peso de embriones en especies ovíparas (Wourms et al. 1988, Wourms & Lombardi 1992). En contraste, en las especies totalmente matrotróficas se ha observado un incremento en el peso durante el desarrollo hasta de 3,900% (Thibault y Shultz 1978). Este es el caso de *Heterandria formosa*, una especie con un huevo microlécito que prácticamente no contiene vitelo (Uribe y Grier 2011) y, por lo tanto, la madre le transfiere todos los nutrientes durante el desarrollo. Finalmente los peces vivíparos de la familia Poeciliidae también pueden tener grados intermedios de matrotrofia. En este caso el peso seco de los embriones puede disminuir ligeramente, no cambiar durante el desarrollo o tener un incremento moderado. Este es el caso de especies como *Poeciliopsis baenschi*, *P. occidentalis* y *P. viriosa* (Meffe & Snelson 1989, Reznick & Miles 1989, Reznick et al. 2002, Trexler and DeAngelis, 2004, Pollux et al. 2009, Marsh-Matthews 2011).

Además de la gran variabilidad en el nivel de transferencia de nutrientes en esta familia también destaca el origen evolutivo repetido e independiente que ha tenido la matrotrofia en la familia Poeciliidae (Reznick et al. 2002, Hrbek et al. 2007, Pollux et al. 2009). *Xenodexia ctenolips* (la especie hermana de todos los demás poecílicos) es una pez vivíparo y matrotrofico (Pollux et al. 2009). Esto sugiere que el ancestro común de toda esta familia presentaba matrotrofia. Sin embargo, la distribución filogenética actual de la matrotrofia indica que esta característica se ha perdido y ha reaparecido múltiples veces de forma independiente a lo largo de la

historia evolutiva de este grupo (Pollux et al. 2009). Se calcula que en el género *Poeciliopsis* la matrotrofía pudo haber aparecido hasta en siete ocasiones de manera independiente (Pollux et al. 2009). Al analizar el índice de matrotrofía (diferencia entre el peso seco del embrión al final del desarrollo y el peso seco al inicio del desarrollo; Reznick et al. 2002, Marsh-Matthews 2010) se observa que hay una gran variación entre especies en la cantidad de nutrientes que proveen de forma previa a la fecundación y en la que proveen durante el desarrollo. Por otro lado, esta variación en el nivel de matrotrofía no solo se encuentra entre especies. Se ha observado que en esta familia distintas poblaciones de una misma especie puede presentar distintos niveles de matrotrofía (Zúñiga-Vega et al. 2007, 2011). La gran variabilidad que se observa entre especies, sus repetidos orígenes independientes y la presencia de variación intraespecífica hacen que la familia Poeciliidae sea un excelente modelo para el estudio de la matrotrofía.

Se han propuesto distintas hipótesis para explicar la variedad de formas en las que sucede la transferencia de nutrientes madre-embrión en los peces de la familia Poeciliidae. Una de las hipótesis más estudiadas es la hipótesis de disponibilidad de alimento (también conocida como modelo Trexler-DeAngelis). Este modelo predice que los individuos matrotróficos pueden tener un mayor número de progenie. Además, la hipótesis plantea que la matrotrofía es únicamente viable si hay suficientes recursos durante todo el desarrollo embrionario (Trexler 1997, Trexler & DeAngelis 2003). Esto se debe a que en hembras matrotróficas la transferencia de recursos madre-embrión es constante, por lo cual debe haber disponibilidad de alimento suficiente para mantener a la hembra y a los embriones

durante todo el desarrollo. Por lo tanto, si hay nutrientes suficientes y constantes durante todo el desarrollo embrionario, se favorecería la matrotrofia. En cambio, si no hubiera suficientes recursos para abastecer a los embriones durante el desarrollo embrionario, se favorecería la lecitotrofia. Esta hipótesis también sugiere que las hembras matrotroficas deberían tener la posibilidad de abortar y reabsorber a los embriones si los recursos se reducen drásticamente (Trexler & DeAngelis 2003, 2009). Mientras tanto, la lecitotrofia se favorecería en ambientes en los cuales los recursos para las madres gestantes son variables, ya sea que su disponibilidad sea estacional o impredecible en el tiempo (Thibault & Schultz 1978, Wourms & Lombardi 1992, Trexler & DeAngelis 2010). Según el modelo más reciente de esta hipótesis, los niveles de lecitotrofia tenderían a aumentar cuando haya una mayor variación temporal en el nivel de alimento (Trexler & DeAngelis 2010).

Se ha encontrado evidencia a favor de esta hipótesis, Marsh-Matthews y Deaton (2006) encontraron que hembras bajo un tratamiento experimental en el cual las hembras recibían una cantidad alta de alimento transfieren más nutrientes a sus embriones a lo largo del desarrollo que hembras bajo un tratamiento en el cual recibían poco alimento. Por otro lado, Riesch et al. (2013) encontraron una relación entre la cantidad de nutrientes transferidos a lo largo del desarrollo y la disponibilidad de alimento en distintas poblaciones (las poblaciones con más nutrientes disponibles tienen hembras con una mayor transferencia de nutrientes post-fecundación a los embriones durante su desarrollo). En contraste, no hay evidencia acerca de la capacidad de abortar en ambientes en los que se favorece la matrotrofia (Marsh-Matthews & Deaton 2006, Banet & Reznick 2008). Por otro lado,

no hay aún estudios que hayan analizado si la lecitotrofia se ve favorecida cuando los recursos son variables o estacionales.

En este trabajo se analizará la hipótesis de disponibilidad de alimento. La pregunta central de este proyecto es entonces: ¿hay una relación entre la disponibilidad de alimento y el nivel de transferencia de nutrientes entre madres y embriones durante su desarrollo? Para responder dicha pregunta, se trabajó tanto en el campo como de manera experimental en el laboratorio con diferentes poblaciones de dos especies de peces vivíparos de la familia Poeciliidae (*Poeciliopsis infans* y *P. gracilis*).

OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

Objetivo general

Describir la relación entre la disponibilidad de alimento y el nivel de matrotrofia en dos especies de peces vivíparos (*Poeciliopsis gracilis* y *P. infans*) y así poner a prueba el modelo Trexler-DeAngelis.

Particulares

1- Conocer si existen diferencias en el nivel de matrotrofia entre tres distintas poblaciones de dos especies de peces vivíparos de la familia Poeciliidae.

2- Definir si existen diferencias en la cantidad de recursos disponibles (alimento) en los distintos hábitats donde las poblaciones se distribuyen.

3- Identificar si en las poblaciones naturales donde la cantidad de nutrientes es alta y constante hay mayores niveles de matrotrofia en comparación con aquellas poblaciones donde los recursos son esporádicos e impredecibles.

4- Conocer si la matrotrofia, difiere entre dos temporadas dentro de una misma población y si esta diferencia se relaciona con el alimento disponible en cada temporada.

5- Definir si distintas poblaciones de *Poeciliopsis infans* en condiciones de laboratorio responden a distintos regímenes de alimentación con distintos niveles de matrotrofia.

Hipótesis

La matrotrofía como estrategia reproductora se selecciona favorablemente en poblaciones donde los recursos (alimento) son abundantes y constantes a lo largo del tiempo. En caso de que los recursos no sean abundantes y constantes a lo largo del tiempo, la estrategia que se favorece es la lecitotrofía. Por otro lado, en la estación del año en la que los recursos son altos y constantes, se ven favorecidas las hembras más matrotróficas, mientras que en la estación con pocos recursos o sin disponibilidad constante, se favorecerán las hembras lecitotróficas (Fig. 1).

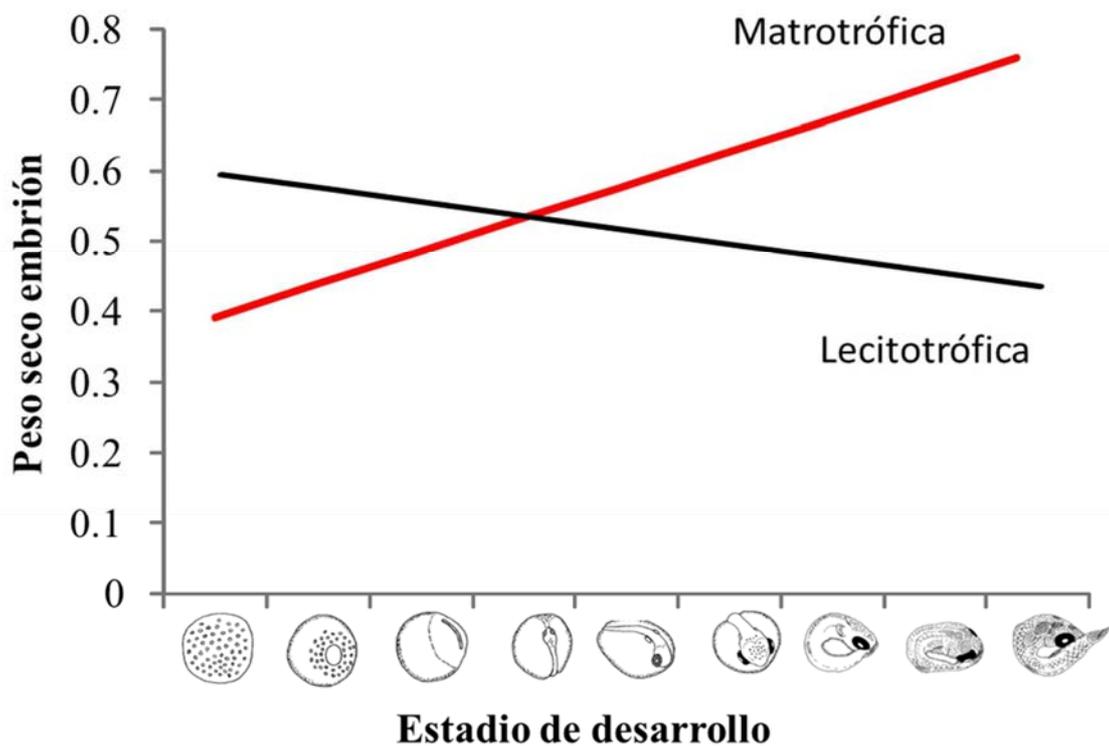


Fig 1. Predicción. En el caso de poblaciones y estaciones con disponibilidad de alimento alta y constante, se espera que haya más matrotrofía (línea roja), mientras que en poblaciones y estaciones con disponibilidad baja o no constante, se espera más lecitotrofía (línea negra)

Predicciones

1. En las poblaciones naturales se esperan diferencias en el nivel de transferencia post-fecundación que sean consistentes con la disponibilidad de alimento en estas poblaciones. Se espera mayor matrotrofia en los sitios con disponibilidad de alimento alta y constante. Por lo tanto, se espera una relación positiva entre el índice de matrotrofia y el índice de lleno estomacal.
2. Se espera que en *Poeciliopsis infans* hayan mayores diferencias en el índice de matrotrofia entre temporadas (lluvias y secas), debido a que esta especie habita una zona con temporalidad más marcada en comparación con *P. gracilis*.
3. Se espera que el índice de matrotrofia sea mayor en la temporada de secas, debido a que durante la temporada de secas hay mayor productividad primaria.
4. En los experimentos de laboratorio se espera que las hembras del tratamiento de alimento constante tengan un mayor índice de matrotrofia.

ANTECEDENTES

Matrotrofia en la naturaleza

La matrotrofia es un modo de transferencia de nutrientes madre-embrión presente en grupos con viviparidad. En este modo de transferencia las madres transfieren nutrientes de forma activa y continua durante todo el desarrollo embrionario (Wourms 1988, Marsh-Matthews 2011). En la matrotrofia, los nutrientes se transfieren de manera posterior a la fecundación. Esta estrategia se encuentra presente en un gran número de grupos de seres vivos. De hecho, la matrotrofia ha aparecido en la mayoría de los grupos en los cuales ha evolucionado la viviparidad. Inclusive, se ha propuesto que el modo primitivo de la viviparidad es la lecitotrofia (modo de transferencia, en el cual los nutrientes se transfieren de manera previa a la fecundación y no a lo largo del desarrollo embrionario), mientras que el modo derivado sería la matrotrofia (Wourms 1991).

La matrotrofia se presenta en una gran diversidad de grupos taxonómicos, es más predominante en animales y es el reino con más orígenes independientes y diversidad en matrotrofia. De hecho, la matrotrofia se presenta en tres distintos reinos: Protista, Plantae y Animalia. Algunas especies pertenecientes a las algas rojas de la clase Florideophyceae al igual que muchas familias del subreino de plantas terrestres Embryophyte presentan matrotrofia. En estos grupos, la matrotrofia se da a partir de los tejidos parentales hacia los cigotos generalmente por medio de secreción de nutrientes (Graham y Wilcox 2000). En los casos de las

plantas, se ha encontrado que la matrotrofia tuvo un gran papel en su diversificación (Graham y Wilcox 2000).

A pesar de su presencia en las plantas, la matrotrofia es más común en los animales y se presenta tanto en vertebrados como en invertebrados. De hecho, la matrotrofia ha evolucionado de manera independiente en al menos la mitad de los Phyla de Metazoos. En invertebrados, la matrotrofia ha evolucionado de manera independiente en grupos tan variados como moluscos (Schwartz & Dimock 2001; Korniuschin & Glaubrecht 2003), escorpiones (Toolson 1985), escarabajos (Dobler et al. 1996) y equinodermos (Frick 1998) entre otros. En estos invertebrados se encuentra una gran variación en el nivel de matrotrofia, desde especies con mínima matrotrofia, hasta individuos en los cuales la única forma de transferencia de nutrientes es la post-fecundación.

En vertebrados, la matrotrofia se presenta en peces condricios, peces osteíctios, anfibios, saurópsidos escamados y mamíferos. Los únicos grupos de vertebrados que no presentan matrotrofia, son aquellos grupos en los cuales no existe la viviparidad (peces agnatos, cocodrilos, tortugas y aves). Tanto los escamados, los peces condricios y peces osteíctios tienen una inmensa diversidad en el modo de transferencia de nutrientes de madres a embriones durante su desarrollo.

Matrotrofia en vertebrados

La matrotrofia se presenta en peces condricios, peces osteíctios, anfibios, saurópsidos escamados y mamíferos. De estos grupos, los mamíferos son el único en el cual la matrotrofia tuvo un origen único. Todos los mamíferos euterios son matrotróficos con un huevo alecito (i.e. un huevo sin asignación de vitelo).

En anfibios la matrotrofia ha evolucionado de manera independiente en las cecilias, las salamandras y en el género *Nectophrynoidea* (perteneciente a la familia Bufonidae). Debido a que los embriones de estos anfibios no están rodeados por membranas extraembrionarias, los embriones pueden ingerir o absorber productos directamente del tracto reproductor materno. Esta es precisamente la manera en la que sucede la transeferncia de nutrientes. De estos grupos únicamente en las cecilias de la familia Typhlonectidae la transferencia de nutrientes es placentaria (Wourms 1988).

En escamados hay una gran variedad en el modo de transferencia de nutrientes desde la madre hacia sus embriones en desarrollo. En ellos la matrotrofia ha evolucionado de manera repetida e independiente. La matrotrofia se encuentra en lagartijas de la familia Scincidae, en la cual hay una gran variabilidad en el nivel de provisión maternal entre distintos géneros y distintas especies de esta familia (Blackburn 1992, 1999). En ésta se encuentran especies completamente matrotróficas como *Mabuya brachypoda* o *Eumecia anchietae* (Hernández-Frayutti 2006, Blackburns & Fleming 2010) o especies con matrotrofia incipiente (donde la

mayor parte de los nutrientes se transfieren antes de la fecundación) como *Sphenomorphus fragilis* (Reznick et al. 2002).

Matrotrofia en peces

En peces existe una gran variedad en el modo de transferencia de nutrientes durante el desarrollo embrionario. La matrotrofia ha evolucionado de manera repetida e independiente en distintas familias tanto de peces cartilagosos como óseos. De hecho, en peces se presentan distintos modos de matrotrofia. La ovofagia es un modo primitivo de transferencia de nutrientes en el cual los embriones se alimentan de otros ovocitos inmaduros mientras que en la adelfofagia los embriones se alimentan de otros embriones en desarrollo. Otro modo es por medio de análogos placentales que son estructuras modificadas que realizan la transferencia de nutrientes, sin ser placentas verdaderas. El último es una transferencia placental que, como su nombre lo indica, ocurre a través de placentas verdaderas (Wourms 1981, Marsh-Matthews 2004).

Los peces cartilagosos presentan todos estos tipos de transferencia de nutrientes. Tiburones de los géneros *Lamna* y *Odontaspis* se alimentan de ovocitos generados por la madre o inclusive de sus hermanos en desarrollo. A pesar de que la ovofagia y adelfofagia se han encontrado principalmente en estas especies se cree que podría ser más común y podría haber muchas otras especies de peces cartilagosos que utilicen estas estrategias (Wourms 1981).

Otro modo de transferencia es por medio de secreción de sustancias uterinas, las cuales el embrión absorbe por medio de estructuras especializadas que se consideran análogas a las placentas. Un gran número de tiburones y rayas presentan este tipo de transferencia de nutrientes y hay una gran variabilidad entre especies en la cantidad de nutrientes que son transferidos de esta forma a los embriones en desarrollo (Wourms1981).

Finalmente, únicamente dos familias de tiburones (Carcharhinidae y Sphyrnidae) tienen una transferencia de nutrientes placentaria. Sin embargo, este tipo de transferencia placentaria ha evolucionado de manera independiente en varios géneros de estas familias. Igualmente, hay una gran variedad en la cantidad de nutrientes transferidos y en la morfología de la placenta entre distintos géneros de estas dos familias (Wourms 1981).

En los peces óseos hay también una gran variabilidad en la transferencia de nutrientes madre-embriónes de manera posterior a la fecundación. Se ha observado algún tipo de matrotrofia en las familias Latimeriidae, Zoarcidae, Goodeidae, Clinidae, Embiotocidae, Zenarchopteridae y Poeciliidae (Marsh-Matthews 2004). En todas estas familias la matrotrofia ha evolucionado de manera repetida e independiente al menos más de una vez. En estos peces óseos, la familia en la que más se ha estudiado la transferencia de nutrientes durante el desarrollo embrionario es la familia Poeciliidae.

Transferencia de nutrientes a los embriones durante su desarrollo dentro de la familia Poeciliidae

La transferencia de nutrientes en peces de la familia Poeciliidae es placentotrófica. La transferencia se da por medio de una placenta folicular (en la cual todo el desarrollo embrionario se da en el folículo maternal) con componentes embrionarios y foliculares (Wourms 1988, Greven 2012). La porción embrionaria se deriva de un saco pericárdico expandido y ampliamente vascularizado. Este saco crece en la zona anterior de la cabeza del embrión. En las etapas más tempranas del desarrollo folicular, la placenta no se ha desarrollado totalmente, por lo cual la transferencia de nutrientes se lleva a cabo en la superficie embrionaria, que está cubierta de microvellosidades. Las microvellosidades se confinan en la superficie placentaria una vez que ésta se desarrolla. El componente maternal de la placenta está formado por el epitelio folicular, el cual se vasculariza y, particularmente en el género *Poeciliopsis*, se desarrollan células secretoras (Greven 2012).

En las especies sin una placenta bien desarrollada, se encuentra un derivado del saco pericárdico llamado saco anterior (neck strap en inglés). Este saco anterior, además de tener funciones de transferencia de nutrientes (Koya et al. 2000, DeMarais & Oldis 2005) también tiene una función respiratoria para el embrión (Turner 1940).

En los peces vivíparos de la familia Poeciliidae hay una gran variación en la cantidad de nutrientes que la madre provee a los hijos durante su desarrollo embrionario (Reznick 2002, Pollux et al. 2009). Los peces vivíparos de la familia

Poeciliidae pueden ser totalmente lecitotróficos, totalmente matrotróficos o tener grados intermedios de matrotrófía (Meffe & Snelson 1989, Reznick & Miles 1989, Reznick et al. 2002, Trexler & DeAngelis, 2004, Pollux et al. 2009, Marsh-Matthews 2011). Además de la gran diversidad en el nivel de transferencia de nutrientes en esta familia también destaca el origen evolutivo repetido e independiente que ha tenido la matrotrófía en la familia Poeciliidae (Reznick et al. 2002, Hrbek et al. 2007, Pollux et al. 2009).

Esto hace suponer también que aquellas poblaciones con mayor matrotrófía habitan un ambiente donde esta característica se ve favorecida (Sterns 1992, Roff 2002). Por lo tanto, una de las principales preguntas con respecto al estudio de la matrotrófía, es ¿qué factores son los que favorecen la presencia de una mayor matrotrófía?

Hipótesis que explican la aparición y mantenimiento de la matrotrófía

Han surgido cuatro distintas hipótesis para explicar la aparición y mantenimiento de la matrotrófía en esta familia (Pollux et al. 2009). La primera es una hipótesis de conflicto y coevolución antagónica entre las madres y sus embriones (Zeh y Zeh 2000, 2008, Crespi & Semeniuk 2004). Esta hipótesis asegura que la placenta ha tenido una evolución rápida y se basa en la observación de la gran variabilidad que existe en la mayoría de las familias en que ha habido evolución repetida e independiente de la matrotrófía. La evolución de la matrotrófía

aparentemente ha sido más rápida que la esperada por una respuesta adaptativa al ambiente (Crespi & Semeniuk 2004, Rice & Holland 1997, Zeh & Zeh 2000). Esta hipótesis supone una coevolución rápida de tejidos maternos y embrionarios los cuales llevarían a una mayor complejidad placentaria. Después de la aparición de la matrotrofia, habría una evolución de adaptaciones de las crías (lo que tendría como resultado un mayor control de los recursos maternos por las crías). Como respuesta, también se seleccionaría en las hembras una mayor transferencia y control sobre esta transferencia. Esta coevolución tendría como resultado una gran complejidad placentaria. Esta complejidad placentaria permite un mayor control de la transferencia de nutrientes por parte de la madre y, por lo tanto, haría posible una mayor transferencia materna de nutrientes.

El conflicto consiste en que tanto a los embriones como a las hembras les favorece tener un mayor control de la transferencia de nutrientes. A los embriones les favorece tener mayor control para asegurarse de recibir más nutrientes que sus hermanos. Mientras tanto, a la madre le favorece que todos sus hijos reciban la misma cantidad de nutrientes o que cada hijo reciba una cantidad acorde a su calidad. Este conflicto tiene como resultado que a los embriones les favorezca la matrotrofia (los embriones pueden tener un control sobre la transferencia de nutrientes únicamente cuando ésta se lleva a cabo de manera continua durante el desarrollo). En contraste, si el vitelo se asigna de forma previa a la fecundación durante la formación del ovocito secundario, únicamente la madre tiene el control sobre la asignación de vitelo a cada uno de sus embriones (Crespi & Semeniuk 2004, Rice & Holland 1997, Zeh & Zeh 2000). Además de una mayor matrotrofia,

este conflicto tiene como resultado un aumento en la complejidad de tejidos maternos y embrionarios que facilitan tanto la transferencia de nutrientes entre madre y embriones como el posible control que tienen los embriones y la madre sobre esta transferencia (Crespi & Semeniuk 2004, Rice & Holland 1997, Zeh & Zeh 2000, Pollux et al. 2009).

Otra hipótesis se basa en la facilitación de la evolución de ciertas características de historias de vida. Esta hipótesis supone que la selección opera sobre algunos caracteres de historia de vida (e.g. el tamaño de los embriones o el número de embriones). Por lo tanto, sólo se selecciona la matrotrofia cuando ésta facilita que aparezcan los valores de características de historias de vida que otorgan una mayor adecuación. Por ejemplo, si hay una selección a favor de crías más grandes y una mayor transferencia de nutrientes favorece la aparición de estas crías más grandes, entonces la selección sobre crías más grandes tendrá como resultado un mayor nivel de matrotrofia (Pires et al. 2007, Pires et al. 2011).

Las otras dos hipótesis se refieren a respuestas adaptativas a ciertas condiciones ambientales. Estas hipótesis podrían explicar las diferencias en el nivel de matrotrofia que se han observado entre poblaciones de una misma especie que habitan distintos ambientes selectivos. Estas hipótesis se basan en diferencias ambientales que potencialmente promueven diferencias en el nivel de matrotrofia. La primera de estas dos hipótesis sugiere un costo en la locomoción. Dado que el peso húmedo y el volumen de los embriones son mayores cuando hay lecitotrofia que cuando hay matrotrofia (Thibault & Schultz 1978, Reznick & Miles 1989), se seleccionaría un mayor nivel de matrotrofia en ambientes donde se favorezca una

morfología más hidrodinámica (por ejemplo en sitios con rápido flujo de agua o con muchos depredadores). En poblaciones en las cuales no exista la necesidad de una morfología hidrodinámica no existiría esta presión selectiva.

La otra hipótesis adaptativa es la hipótesis de asignación de alimento (también conocida como modelo Trexler-DeAngelis). Esta hipótesis plantea que si hay suficientes recursos durante todo el desarrollo embrionario, entonces se favorecerá la matrotrofia (Trexler 1997, Trexler & DeAngelis 2003). Si los recursos no son constantes, la estrategia que se favorece es la lecitotrofia. Este modelo es de hecho la hipótesis central de la presente investigación y se explica con detalle en la siguiente sección.

Hipótesis de disponibilidad de alimento y modelo Trexler-De Angelis

El modelo propuesto por Trexler y DeAngelis (2003, 2010) explica la hipótesis de la relación entre la disponibilidad de alimento y la matrotrofia. Este modelo propone que para que la matrotrofia sea posible, debe haber disponibilidad de alimento en el ambiente durante todo el desarrollo embrionario. A continuación se presenta una descripción detallada del modelo.

Este modelo sugiere que hembras matrotroficas tienen la capacidad de tener más crías en comparación con hembras lecitotroficas (por lo tanto, esta estrategia significaría una ventaja selectiva). El número de crías que una hembra lecitotrofica puede tener en un momento dado ($TotalCrías_{lec}$) está dado por la energía disponible para la hembra en el momento de la asignación de vitelo ($E_{inicial}$), por la cantidad de

energía necesaria por embrión por día de gestación ($E_{necesaria}$) y por el tiempo de desarrollo de los embriones ($T_{desarrollo}$) según la siguiente fórmula:

$$TotalCrías_{lec} = \frac{E_{inicial}}{E_{necesaria} \times T_{desarrollo}}$$

Por su parte, el número de crías que una hembra matrotrófica ($TotalCrías_{mat}$) puede tener en un momento dado está dado por la siguiente fórmula:

$$TotalCrías_{mat} = \frac{E_{inicial}}{E_{necesaria} \times T_{desarrollo}} + \frac{E_{disponible}}{E_{necesaria}}$$

en donde $E_{disponible}$ es la cantidad de energía disponible por día en el ambiente.

Este modelo supone que para que las hembras matrotróficas puedan tener más crías, el número de nutrientes disponibles por día en el ambiente ($E_{disponible}$) debe ser alta y constante. En caso de que la disponibilidad de alimento no sea alta y constante, esta estrategia no se favorecerá. Por lo tanto, en ambientes en los cuales la disponibilidad de alimento sea relativamente baja y variable, la estrategia que se seleccionará será la lecitotrofia.

El modelo, también propone que hembras matrotróficas deben de tener la capacidad de realizar abortos facultativos cuando los recursos son limitados. Esto sucedería debido a que los embriones en desarrollo necesitan una transferencia continua de nutrientes para llegar a término. Si los recursos no son suficientes es

preferible abortar y reabsorber a los embriones y transferir esos mismos nutrientes reabsorbidos a otros embriones (redistribución de nutrientes).

Evidencia que apoya la hipótesis de disponibilidad de alimento

Existe evidencia que apoya a esta hipótesis en condiciones naturales. La evidencia más fuerte y más reciente se encuentra en el estudio de Riech et al. (2013) con *Gambusia hubbsi*. Estos autores encontraron que había una relación entre la disponibilidad de alimento y el índice de matrotrofia en distintas poblaciones de esta especie. Las poblaciones que habitan sitios con una mayor disponibilidad de alimento tuvieron un mayor índice de matrotrofia en comparación con poblaciones que habitan sitios con menos alimento disponible.

El modelo de la relación entre la disponibilidad de alimento y el nivel de transferencia entre hembras y embriones ha encontrado también distintas evidencias en estudios de laboratorio. La más clara proviene de un experimento llevado a cabo con *Gambusia geiseri* (Marsh-Matthews & Deaton 2006). En este trabajo se encontró que peces que estuvieron bajo distintos regímenes de alimentación (un grupo fue alimentado cada tres días y otro cada día) tuvieron diferencias en el nivel de transferencia madre-embrión. Los peces en el régimen de alimentación diaria tuvieron un mayor nivel de matrotrofia.

Por otro lado, no se han encontrado evidencias del efecto de la cantidad de alimento disponible sobre el número de abortos en distintos experimentos con distintos regímenes de alimentación (e.g. Marsh-Matthews & Deaton 2006, Banet &

Reznick 2008, Riesch et al., 2009, 2013). Sin embargo Riesch et al. (2013) encontraron una relación entre la “incidencia de abortos” y las características ambientales (en particular, alimento disponible) en las hembras de *Gambusia hubbsi*, aunque este resultado no es concluyente.

Finalmente, a pesar de haber algunos trabajos que han evaluado al modelo Trexler-DeAngelis (2003, 2009), todos éstos lo han analizado comparando sitios o tratamientos con alto y bajo nivel de alimento. Sin embargo, ninguno lo ha analizado comparando poblaciones naturales o experimentales con regímenes de alimento constante y variable (Lima 2005, Marsh- Matthews & Deaton 2006, Banet & Reznick 2008, Riesch et al., 2009, 2013). Esto se debe a que estos estudios se han concentrado únicamente en las condiciones que favorecen la matrotrofia (alimento abundante y constante; Trexler & DeAngelis 2003), pero no han analizado las condiciones que favorecen la lecitotrofia (i.e. probablemente la variabilidad en la disponibilidad de alimento; Trexler & deAngelis 2010).

Efectos de la superfetación sobre la matrotrofia

La superfetación es la capacidad de una hembra de tener distintas camadas en distinto estadio de desarrollo en un mismo momento. La relación entre la matrotrofia y la superfetación es poco conocida y estudiada. De hecho, en los pecílidos hay una fuerte asociación entre la presencia de superfetación y la presencia de matrotrofia y se ha sugerido que un mínimo de matrotrofia es necesario para la evolución de la superfetación (Constantz, 1980, Travis et al., 1987). A pesar de que existen excepciones y hay especies superfetadoras sin

matrotrofía (como por ejemplo *Poeciliopsis monacha*; Thibault & Schultz 1978), en general las especies superfetadoras son matrotróficas (Reznick y Miles 1989). Fuera de este modelo, el cual no explica estrictamente la relación entre superfetación y matrotrofía, son pocas las evidencias sobre la relación entre estas dos variables.

MÉTODOS

Especies de estudio

Ambas especies de estudio (*Poeciliopsis infans* y *P. gracilis*) son peces vivíparos pertenecientes a la familia Poeciliidae. Habitan ambientes dulciacuícolas y son especies endémicas de México. *Poeciliopsis gracilis* habita ríos en el este de México en los estados de Oaxaca, Veracruz y San Luis Potosí (zonas del país con lluvias casi todo el año, y con estacionalidad poco marcada). *Poeciliopsis infans* habita ríos al oeste de México en los estados de Jalisco, Zacatecas y Nayarit (zonas del país con estacionalidad muy marcada). La reproducción de ambas especies es constante, por lo tanto, durante todo el año se pueden encontrar hembras preñadas (Frías-Álvarez et al. 2014).

Ambas especies presentan superfetación (la capacidad de las hembras de llevar internamente dos o más camadas de embriones en distintos estadios de desarrollo; Zúñiga-Vega et al. 2010). Igualmente, ambas especies habitan ambientes relativamente diversos en su área de distribución (Miller 1998). Aparentemente, *P. gracilis* (fig. 2a) es una especie lecitotrófica (índice de matrotrofia reportado de 0.69), mientras que *P. infans* (2b) es una especie con matrotrofia incipiente (con un índice de matrotrofia reportado de 0.86; Reznick et al., 2002). Cabe destacar que 0.70 es considerado el límite entre la matrotrofia y la lecitotrofia.



Fig 2. Especies de estudio. A) Hembra de *Poeciliopsis gracilis*, B) Hembra de *Poeciliopsis infans*.

Sitios de estudio

En esta investigación se trabajó con tres poblaciones de cada especie. Para *Poeciliopsis gracilis* se eligieron tres poblaciones pertenecientes a dos cuencas hidrológicas independientes: dos poblaciones que pertenecen a la cuenca Coatzacoalcos y una que pertenece a la cuenca Papaloapan (cuadro 1). Para *P. infans* se utilizaron igualmente tres poblaciones. Dos de las poblaciones pertenecen a la misma cuenca hidrológica (Río Ameca), mientras que otra población pertenece a la cuenca del Río Grande de Santiago (cuadro 2).

Cuadro 1. Descripción de los tres sitios de estudio de *Poeciliopsis gracilis*.

Población de <i>P. gracilis</i>	Estado	Cuenca - Localidad	Coordenadas	Elevación m s.n.m
1	Oaxaca	Coatzacoalcos - Palomares	17°8'59" N 95°7'6.1" W	89.7 ± 8.4
2	Oaxaca	Coatzacoalcos - Sacrificios	17°9'8.3" N 95°10'12" W	121.8 ± 5.4
3	Veracruz	Papaloapan – Río Manso	17°43'59" N 95°52'7.6" W	57.8 ± 6.0

Cuadro 2. Descripción de los tres sitios de estudio de *Poeciliopsis infans*.

Población de <i>P. infans</i>	Estado	Cuenca - Localidad	Coordenadas		Elevación m s.n.m.
1	Zacatecas	Río Grande de Santiago – Mezquital	21°12'26" N 103°22'2.7" W		1199 ± 8.4
2	Jalisco	Río Ameca - Malpaso	20°34'30" N 104°9'4.2" W		121.8 ± 5.4
3	Jalisco	Río Ameca – Antonio Matute	20°33'3.9" N 103°25'35" W		1252 ± 4.2

Trabajo de campo

Durante el trabajo de campo se realizaron un total de 13 salidas para la recolección de peces. En cada una de estas salidas, se visitó cada una de las seis poblaciones de estudio. En cada ocasión de recolecta, se capturaron individuos utilizando una red de arrastre y se intentó obtener al menos 30 hembras que estuvieran visiblemente preñadas. Todas las hembras capturadas fueron sacrificadas y preservadas en etanol. Se mantuvieron en alcohol durante al menos dos semanas para permitir que las estructuras internas se fijaran.

Las trece salidas en las cuales se recolectaron individuos se realizaron del 2011 al 2013. En el 2011 se realizó una salida en el mes de diciembre, en el 2012 se realizaron salidas en los meses de enero, marzo, abril, mayo, junio, septiembre, octubre y noviembre y en el 2013 se realizaron salidas en los meses de enero, marzo, junio y octubre.

Durante la salida de octubre de 2013 además de recolectar y preservar peces, se colectaron peces vivos de las tres poblaciones de *P. infans* para ser criados en laboratorio y utilizados en los experimentos. Durante estas temporadas igualmente se colectaron individuos de las tres poblaciones de *P. gracilis* las cuales no sobrevivieron en cautiverio.

Cuantificación de características reproductoras

Las hembras colectadas y preservadas de cada salida fueron disecadas y analizadas. Previo a la disección de cada hembra se midió la longitud patrón de la hembra (longitud total de la boca del pez hasta la última vertebra). De cada hembra disecada se cuantificaron los siguientes atributos: número de camadas simultáneas (superfetación), número de embriones por camada y estadio de desarrollo de cada camada (según Haynes 1995). Finalmente, se retiró el tracto digestivo y el hígado. Tras esto, la hembra, el tracto digestivo y los embriones fueron introducidos a un horno de desecación a 54° durante 48 horas.

Tras las 48 horas en el horno de desecación, las hembras disecadas, los embriones y el tracto digestivo fueron pesados utilizando una balanza analítica (Sartorius LA 120 S; sensibilidad 0.0001 g). Tras haber sido pesadas, cada hembra, cada tracto y cada camada de embriones fueron almacenados de manera individual en recipientes de etanol claramente etiquetados. De esta manera, cada hembra, tracto y camada quedó disponible para volver a ser analizada en caso de necesitarse.

Identificación de estadios de desarrollo embrionario

La identificación de los estadios de desarrollo se hizo utilizando la clave estandarizada propuesta por Haynes (1995). Se realizaron disecciones preliminares para identificar correctamente a todos los estadios. Los resultados de estas disecciones preliminares y la guía de Haynes (1995) se usaron como base para la identificación de todos los estadios de desarrollo observados en las hembras que se disecaron para esta investigación. En este trabajo, no se utilizaron los estadios 1, 2 y 3 debido a que éstos representan al ovocito no fecundado. Por lo tanto, el primer estadio de desarrollo considerado en este estudio fue el 4, en el cual se observa el discoblasto (Haynes 1995).

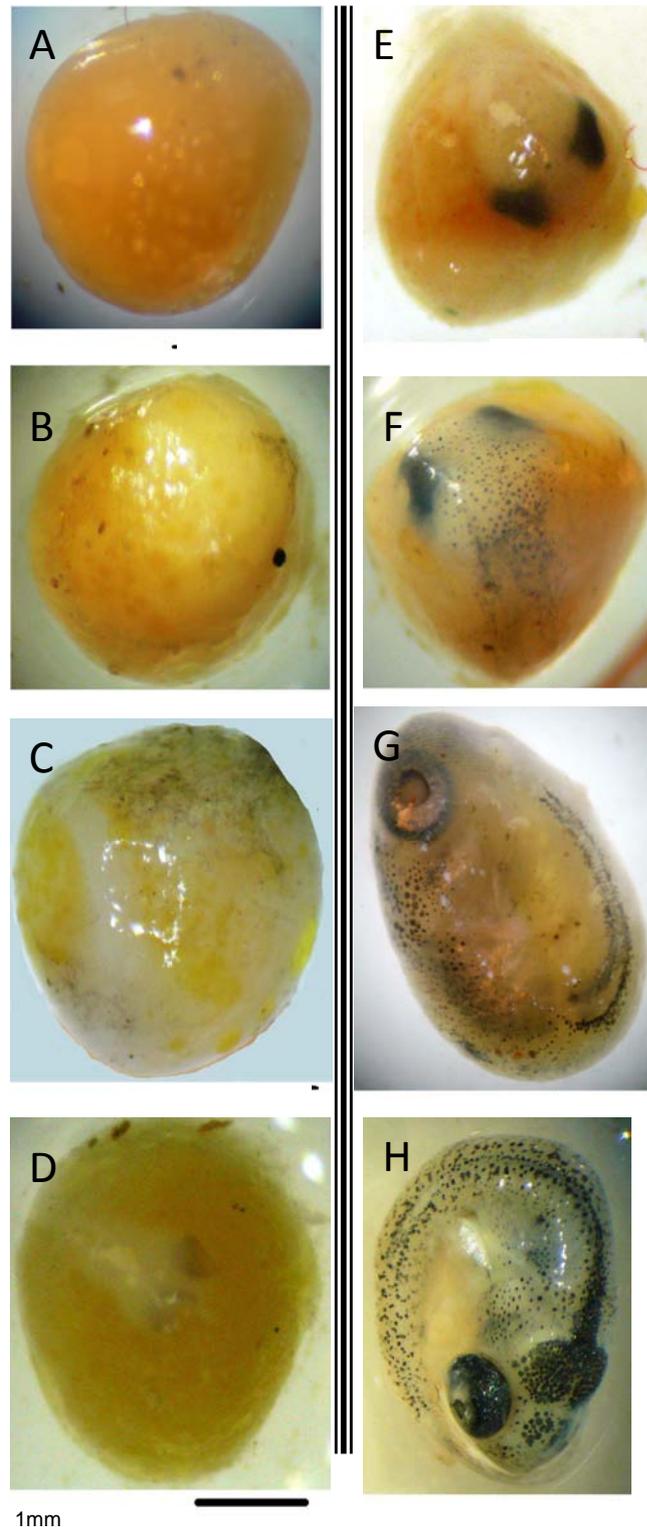


Figura 3. Guía de identificación de estadios de desarrollo embrionario en *Poeciliopsis gracilis*. Basada en la descripción de estadios de Haynes (1995). Se presenta al estadio 3, el cual es un estadio previo a la fertilización (A). Los siguientes 7 estadios (estadio 4 a 10) son estadios posteriores a la fecundación (B), (C), (D), (E), (F), (G) y (H).

Cuantificación del nivel de matrotrofia

De cada hembra se obtuvo el peso promedio por embrión de cada una de sus camadas. Si las hembras tenían más de una camada, se eligió únicamente una camada al azar para los análisis (esto permitió mantener independencia en los datos). Con los datos de las disecciones se realizaron regresiones lineales entre el peso del embrión y el estadio de desarrollo. Se realizaron dos regresiones lineales para cada población de las dos especies (una regresión para la temporada de secas y una regresión para la temporada de lluvias), por lo cual se obtuvieron doce regresiones en total. Se utilizaron estas pendientes para cuantificar el nivel de matrotrofia en las poblaciones utilizando los siguientes métodos:

- **Comparación de interceptos y pendientes:** se compararon los interceptos y las pendientes resultantes de las regresiones lineales. Los intervalos de confianza correspondientes se obtuvieron mediante métodos de remuestreo (remuestreo con reemplazo de tipo bootstrap; Manly 2006).
- **Índice de matrotrofia:** A partir de las pendientes calculadas se obtuvo el índice de matrotrofia (IM). Para calcular este índice, se calculó primero el peso predicho por la regresión para el estadio correspondiente al momento en el que ocurre la fecundación (P_i ; peso predicho para el estadio 4) y el peso predicho para el último estadio de desarrollo (P_f ; peso predicho para el estadio 11). A partir de estos pesos se calculó el índice de matrotrofia ($IM = \frac{P_f}{P_i}$; Reznick 1997). Se calcularon intervalos de confianza utilizando también remuestreo con reemplazo (bootstrap; Manly 2006).

Estos métodos se utilizaron para comparar el nivel de matrotrofia entre las distintas poblaciones de una especie. Además se utilizaron para comparar el nivel de matrotrofia entre dos épocas distintas dentro de cada población: época de lluvias y post-lluvias (julio, agosto, septiembre, octubre, noviembre) y época de secas (diciembre, enero, febrero, marzo, abril, mayo y junio).

Cuantificación de la disponibilidad de alimento

Para analizar la cantidad de alimento disponible en cada sitio se utilizó el índice de lleno del tracto digestivo (index of fullness IF; Hyslop 1980). Este método se utilizó debido a que las características ambientales como productividad primaria, abundancia de algas e insectos, cantidad de clorofila A en el agua o cantidad de nutrientes químicos no pueden predecir completamente la ingesta de alimentos promedio per cápita en cada población (i.e. gran abundancia de algas e insectos en el ambiente no significa que las hembras de las especies de estudio las estén consumiendo). Por el contrario, el índice de lleno del tracto digestivo es una medida directa de la cantidad de alimento que ha ingerido cada uno de las hembras colectadas. Este índice se calcula con base en el peso del tracto digestivo con respecto al peso del individuo:

$$IF = \frac{psT}{psH} \times 1000$$

dónde IF es el índice de lleno del tracto digestivo, psT es el peso seco del tracto y psH es el peso seco de la hembra. Debido a que este índice se obtiene por cada individuo, se calculó un promedio del IF por población y temporada, además de los intervalos de confianza correspondientes. Valores altos de este índice indican alta ingesta de alimento.

Experimentos de laboratorio

Para los experimentos de laboratorio se utilizó a los peces vivos que se obtuvieron en campo durante la salida de octubre del 2013. Estos peces pertenecen a dos poblaciones de *Poeciliopsis infans*. Las poblaciones a las cuales se les aplicaron los tratamientos de laboratorio fueron la población 1 y la población 3. La población 2 fue excluida del experimento de laboratorio debido al bajo número de individuos.

Los individuos vivos (generación F_0) fueron colocados en distintos tanques de 40 o 20 litros (cada tanque era exclusivo para alguna población, por lo cual no se mezclaron peces de distintas poblaciones), con una densidad máxima de dos peces por litro. Los tanques fueron acondicionados previamente con una bomba aireadora, sustrato, plantas artificiales y un filtro. Todas las peceras se mantuvieron a 28°C y los peces fueron alimentados *ad libitum* con una mezcla de alimento comercial (Tetramin® Tropical Flakes) y artemia (*Artemia franciscana*) viva.

Cuando alguna hembra perteneciente a la F_0 se encontraba preñada (evidenciado por el tamaño del gonoporo y del vientre), se aislaba en un tanque de

10 litros. Al ocurrir nacimientos en las peceras de hembras aisladas, los peces recién nacidos se colocaron en tanques exclusivos para su crecimiento (peceras con individuos de generación F_1), mientras que las hembras F_0 eran regresadas a sus peceras originales. Las peceras F_1 se acondicionaron de igual manera que las peceras F_0 . Asimismo, las crías fueron alimentadas *ad libitum* hasta que alcanzaron una talla de al menos 20.5 mm (talla en la cual todos los individuos de la F_1 de laboratorio alcanzan la madurez sexual). Tras alcanzar dicha talla, las hembras F_1 fueron alimentadas según los distintos tratamientos experimentales. Los machos siguieron siendo alimentados *ad libitum*.

Se aplicaron tres distintos tratamientos experimentales a cada una de las poblaciones. Los tratamientos fueron los siguientes:

Tratamiento de alimento constante: las hembras fueron alimentadas dos veces al día con 11.5 mg de alimento comercial seco (con excepción de un día a la semana, en el cual no fueron alimentadas) y dos veces a la semana con tres individuos de artemia viva. En este caso el alimento semanal total fue de 138 mg de alimento comercial y seis individuos de artemia viva para cada hembra.

Tratamiento de bajo alimento: las hembras fueron alimentadas cuatro veces a la semana (una vez cada dos días) con 11.5 mg de alimento comercial seco. En este caso el alimento semanal total fue de 46 mg de alimento comercial para cada hembra. Este alimento es considerado lo mínimo para la supervivencia y reproducción; Marsh-Matthews 2001).

Tratamiento de alimento variable: este tratamiento intentó simular condiciones en las que la disponibilidad de alimento es variable a través del tiempo. Durante una semana, las hembras fueron alimentadas cinco veces al día con 11.5 mg de alimento comercial seco (con excepción de un día a la semana, en el cual se alimentaron tres veces y un día en el cual no fueron alimentadas) y dos veces a la semana con nueve individuos de artemia viva. En este caso el alimento semanal total fue de 345 mg de alimento comercial y dieciocho individuos de artemia viva para cada hembra. En las dos siguientes semanas, las hembras fueron alimentadas cuatro veces a la semana (una vez cada dos días) con 11.5 mg de alimento comercial seco. En este caso el alimento semanal total fue de 46 mg de alimento comercial. Las hembras estuvieron bajo este tratamiento al menos 12 semanas. Por esta razón, estuvieron en al menos 4 ciclos de alimento alto y 4 ciclos de alimento bajo. Es importante señalar que en este tratamiento, el alimento semanal promedio es el mismo que en el tratamiento de alimento constante (i.e. el total de alimento suministrado tras un ciclo de una semana de alimento alto y un ciclo de dos semanas de alimento bajo es igual al total de alimento suministrado en tres semanas del tratamiento constante). Por esta razón, no hay diferencias en la cantidad de alimento total suministrado entre este tratamiento y el tratamiento de alimento constante.

Durante las primeras seis semanas de tratamiento, las hembras estuvieron aisladas y no tuvieron contacto con ningún macho. El periodo de cópulas inició durante la séptima semana de tratamiento. Durante esta fase de cópulas se ingresaron distintos machos a las peceras de los tratamientos (previamente a ser ingresados, los machos fueron alimentados *ad libitum*). Cada macho estuvo al

menos 48 horas en aislamiento antes de ser ingresado a la pecera de tratamiento. Tras 24 horas de ser ingresados, los machos fueron retirados de la pecera de tratamientos y reintroducidos a su pecera de origen. Finalmente, las hembras preñadas fueron sacrificadas (el tiempo para sacrificar a las hembras varió, para tener representatividad de los estadios de desarrollo) para cuantificar todos los atributos reproductores, tal como se describió previamente para las hembras preservadas en campo. De estos datos reproductivos provenientes de las hembras experimentales se calculó, para cada tratamiento, la regresión lineal entre el estadio de desarrollo y el peso seco del embrión así como el índice de matrotrofía. Se construyeron también los intervalos de confianza correspondientes a través de remuestreo con reemplazo de tipo bootstrap.

RESULTADOS

Datos obtenidos

Para *Poeciliopsis gracilis* se analizaron un total de 431 hembras (de todas las poblaciones y de ambas estaciones), de las cuales, 269 estuvieron preñadas. En el cuadro 3 se presenta una descripción de los datos obtenidos para cada población y cada temporada.

Cuadro 3. Descripción del número de datos obtenidos por población y temporada de *Poeciliopsis gracilis*.

Población	Hembras disecadas	Hembras preñadas
	Secas / Lluvias (Total)	Secas / Lluvias (Total)
1-Coatzacoalcos/Palomares	120 / 73 (193)	85 / 49 (134)
2-Coatzacoalcos/Sacrificios	44 / 56 (100)	33 / 32 (65)
3-Papaloapan/Río Manso	99 / 89 (188)	113 / 41 (154)

Para *P. infans* se analizaron un total de 489 hembras (de todas las poblaciones y de ambas estaciones), de las cuales 357 estuvieron preñadas. En el cuadro 4 se presenta una descripción acerca de los datos obtenidos para cada población y cada temporada.

Cuadro 4. Descripción del número de datos obtenidos por población de *Poeciliopsis infans*.

Población	Hembras disecadas	Hembras preñadas
	Secas / Lluvias (Total)	Secas / Lluvias (Total)
1- Río Santiago/Mezquital	103 / 94 (197)	77 / 38 (115)
2- Río Ameca/Malpaso	72/ 71 (143)	43 / 50 (97)
3- Río Ameca Principal	101/ 48 (149)	100 / 42 (142)

Relación entre el peso del embrión y el estadio de desarrollo en *Poeciliopsis gracilis*

En la primera población (cuenca Coatzacoalcos, en la localidad de Palomares), las pendientes estacionales de la relación entre el peso seco y el estadio de desarrollo tienen distintos patrones. En la temporada seca, la pendiente no es distinta a cero ($\beta_1 = 5.83 \times 10^{-6}$ $P = 0.73$), mientras que en la temporada de lluvias la pendiente es negativa y significativamente distinta de cero (-9.01×10^{-5} , $P < 0.0001$; figura 4A).

En la segunda población (cuenca Coatzacoalcos, en la localidad de Sacrificios), las pendientes estacionales de la relación entre el peso seco y el estadio de desarrollo no son distintas a cero ($P = 0.92$ en temporada de secas y $P = 0.70$ en temporada de lluvias).

En la tercera población (cuenca Papaloapan), la pendiente es prácticamente igual en ambas temporadas. En ninguna de las dos es estadísticamente distinta a cero ($P = 0.07$ en la temporada de secas y $P = 0.21$ en la temporada de lluvias).

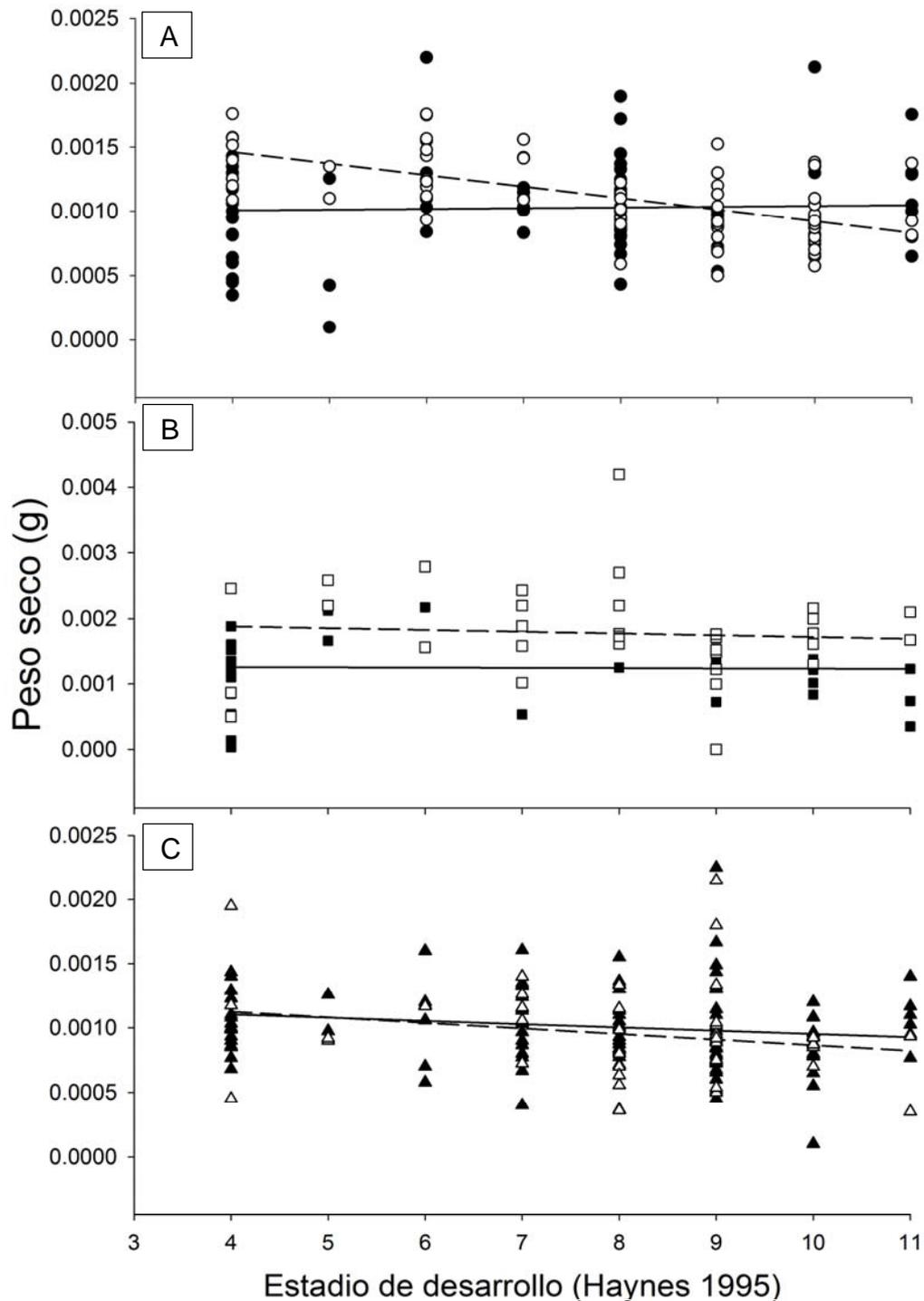


Figura 4. Relación entre el estadio de desarrollo (sensu Haynes 1995) y el peso seco del embrión para la tres poblaciones de *Poeciliopsis gracilis*. Las figuras negras y la línea continua representan a la temporada de secas. Las figuras blancas y la línea discontinua representan a la temporada de lluvias. **A) Población 1.** Fórmula regresión en secas: $\text{Peso} = 0.00098g + (5.8391 \times 10^{-6} \times \text{estadio})$ ($P = 0.73$). Fórmula regresión en lluvias: $\text{Peso} = 0.00182g - (9.01 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P < 0.0001$). **B) Población 2.** Fórmula regresión en secas: $\text{Peso} = 0.00127g - 3.83 \times 10^{-6} \times \text{estadio}$ ($P = 0.92$). Fórmula regresión en lluvias: $\text{Peso} = 0.00199g - (2.70 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.70$). **C) Población 3.** Fórmula regresión en secas: $\text{Peso} = 0.00120g - (2.52 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.07$). Fórmula regresión en lluvias: $\text{Peso} = 0.00129g - (4.33 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.21$).

Transferencia de nutrientes pre-fecundación y post-fecundación en *Poeciliopsis gracilis*

El índice de matrotrofia (IM) indica la cantidad de nutrientes transferidos de manera posterior a la fecundación. Mientras tanto, el intercepto de la relación entre estadio de desarrollo y peso del embrión indica la cantidad de nutrientes transferidos de manera previa a la fecundación.

En la población 1 de *P. gracilis*, encontré diferencias entre la temporada de lluvias y la temporada de secas en el índice de matrotrofia y en el intercepto de la regresión. En esta población hubo una mayor transferencia de nutrientes de manera previa a la fecundación en la temporada de lluvias (peso inicial del embrión en lluvias: 0.00146 ± 0.00012 g) que en la temporada de secas (peso inicial del embrión en secas: 0.00101 ± 0.00011 g; figura 5B). Sin embargo, la matrotrofia fue mayor en la temporada de secas (índice de matrotrofia en secas: 1.04 ± 0.18) que en la temporada de lluvias (índice de matrotrofia en secas: 0.57 ± 0.08 ; figura 5A). Por ésta razón, el peso final de los embriones no varió entre estas dos temporadas. No hubo diferencias entre temporadas en la población 2 ni en la población 3 ni en el índice de matrotrofia ni en el intercepto.

Cabe destacar que tanto en la temporada de secas de la población 1 y en la temporada de secas de la población 3, el IM fue significativamente mayor al valor de IM originalmente publicado para esta especie (0.7; Reznick et al. 2002).

Disponibilidad de alimento

El índice de lleno estomacal fue utilizado como un estimador de la disponibilidad de alimento per cápita. A diferencia de la transferencia de nutrientes, en éste caso, hubo diferencias entre estaciones en todas las poblaciones. En todas las poblaciones se observó el mismo patrón: hubo significativamente mayor disponibilidad de alimento en la temporada de secas en comparación con la temporada de lluvias.

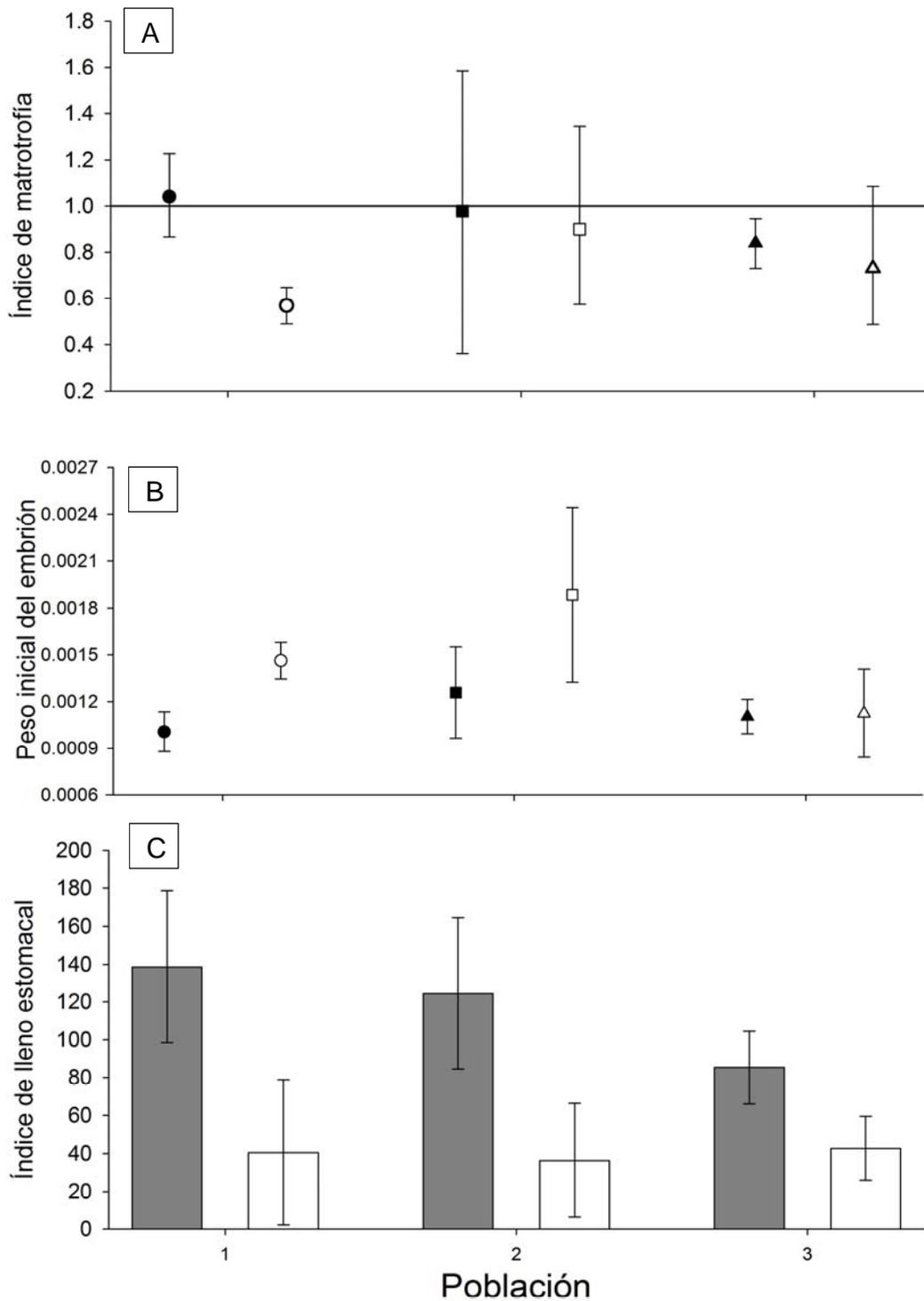


Figura 5. El índice de matrotrofia, peso inicial del embrión e índice de lleno estomacal para las tres poblaciones y dos temporadas de *Poeciliopsis gracilis*. Las figuras negras y barras grises representan a la temporada de secas. Las figuras blancas y barras blancas representan a la temporada de lluvias. **A)** Valor del índice de matrotrofia (IM) para las tres poblaciones. La línea horizontal representa un IM de 1.0 (valor de IM en el cual no hay diferencia entre el peso inicial y el peso final del embrión). **B)** El valor de peso inicial del embrión en gramos. Este peso inicial es el predicho por la regresión entre estadio de desarrollo y peso del embrión para el estadio 4 (estadio en el cual el inicia el desarrollo embrionario). **C)** Valor del índice de lleno estomacal para cada población y temporada.

Relación entre el peso del embrión y el estadio de desarrollo en *Poeciliopsis infans*

En la primera población (Río Grande de Santiago, en la localidad de Mezquital del Oro, Zacatecas), no hubo diferencias entre las temporadas seca y de lluvias en el valor de las pendientes de la regresión entre el estadio de desarrollo y el peso del embrión. De hecho, la pendiente no fue distinta de cero en ninguna de las dos temporadas ($P = 0.51$ en temporada de secas y $P = 0.87$ en la temporada de lluvias; figura 6A).

En la segunda población (Río Ameca, localidad de Malpaso, Jalisco) tampoco hubo diferencias entre temporadas en la pendiente de la relación entre el estadio de desarrollo y el peso del embrión. Nuevamente, ninguna de las dos pendientes fue significativamente distinta de cero ($P = 0.15$ en temporada de secas y $P = 0.77$ en temporada de lluvias; figura 6B).

En la tercera población (Río Ameca, localidad San Antonio Matute, Jalisco) sí hubo diferencias entre temporadas en el valor de la pendiente. La pendiente en la temporada de secas fue menor a cero ($\beta_1 = -2.61 \times 10^{-5}$, $P = 0.05$). Mientras tanto, la pendiente en la temporada de lluvias fue significativamente mayor a cero ($\beta_1 = 2.29 \times 10^{-5}$, $P = 0.001$).

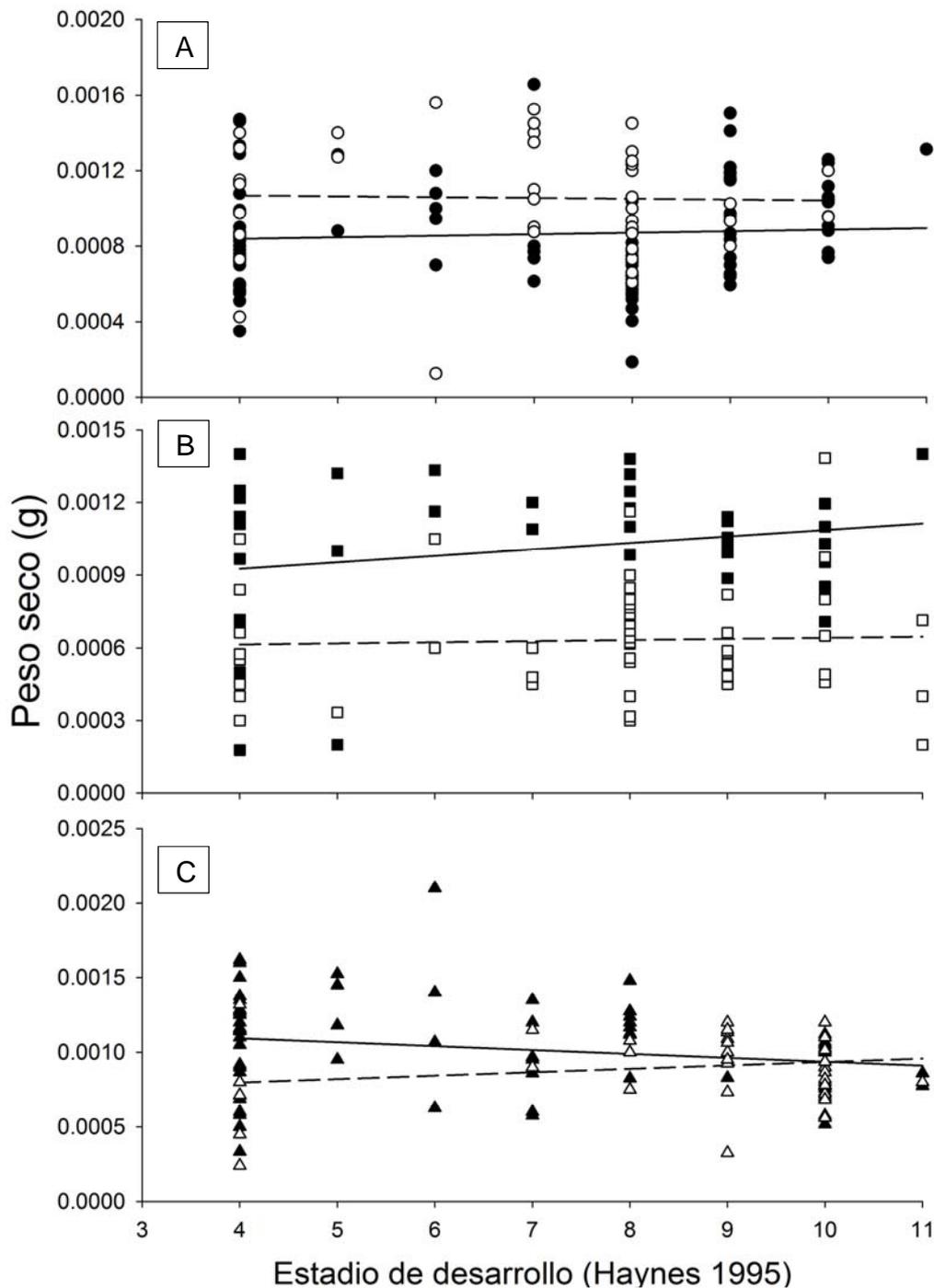


Figura 6. Relación entre el estadio de desarrollo (Haynes 1995) y el peso seco del embrión para las tres poblaciones de *Poeciliopsis infans*. Las figuras negras y la línea continua representan a la temporada de secas. Las figuras blancas y la línea discontinua, representan a la temporada de lluvias. **A) Población 1.** Fórmula regresión en secas: $\text{Peso} = 0.00081\text{g} + (8.01 \times 10^{-6} \times \text{estadio})$ ($P = 0.51$). Fórmula regresión en lluvias: $\text{Peso} = 0.00108\text{g} - (9.01 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.87$). **B) Población 2.** Fórmula regresión en secas: $\text{Peso} = 0.00082\text{g} + 2.66 \times 10^{-5} \times \text{estadio}$ ($P = 0.15$). Fórmula regresión en lluvias: $\text{Peso} = 0.00059\text{g} + 4.68 \times 10^{-6} \times \text{estadio}$ ($P = 0.77$). **C) Población 3.** Fórmula regresión en secas: $\text{Peso} = 0.00120\text{g} - (2.61 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.05$). Fórmula regresión en lluvias: $\text{Peso} = 0.00071\text{g} + (2.29 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.001$).

Transferencia de nutrientes pre-fecundación y post-fecundación en *Poeciliopsis infans*

En la población 1 de *Poeciliopsis infans* no hubo diferencias entre temporadas en la cantidad de nutrientes transferidos de manera previa a la fecundación, calculado por el peso inicial del embrión (figura 7B). Tampoco hubo diferencias en la cantidad de nutrientes transferidos durante el desarrollo (índice de matrotrofia; figura 7A).

En la población 2, no hubo diferencias entre temporadas en el nivel de matrotrofia (figura 7A). Sin embargo, sí hubo diferencias en el nivel de transferencia de nutrientes de manera previa a la fecundación. En la temporada de secas, el peso inicial del embrión fue mayor (0.00093 ± 0.00013 g) que en la temporada de lluvias (0.00061 ± 0.00013 g), lo cual indica una mayor transferencia de nutrientes de manera previa a la fecundación (figura 7B). Debido a esto, el peso de los embriones en el último estadio de desarrollo fue mayor en la temporada de secas (figura 6B).

En la población 3, hubo diferencias significativas entre temporadas tanto en la transferencia de nutrientes previa a la fecundación como en la transferencia posterior a la fecundación. La transferencia previa a la fecundación fue mayor en la temporada de secas (0.00109 ± 0.00009 g) que en la temporada de lluvias (0.00792 ± 0.00017 g; figura 7B). Mientras tanto, la transferencia posterior a la fecundación (IM) fue mayor en la temporada de lluvias (1.20 ± 0.25) que en la temporada de secas (0.83 ± 0.09 ; figura 7A). Cabe destacar que el peso final del embrión no fue distinto entre estas dos temporadas (figura 6C).

Disponibilidad de alimento en *Poeciliopsis infans*

En *Poeciliopsis infans*, únicamente hubo diferencias en el índice de lleno estomacal (utilizado como estimador de la disponibilidad de alimento per cápita) en la población 3. En esta población, la disponibilidad de alimento fue significativamente mayor en la temporada de lluvias que en la temporada de secas (figura 7C).

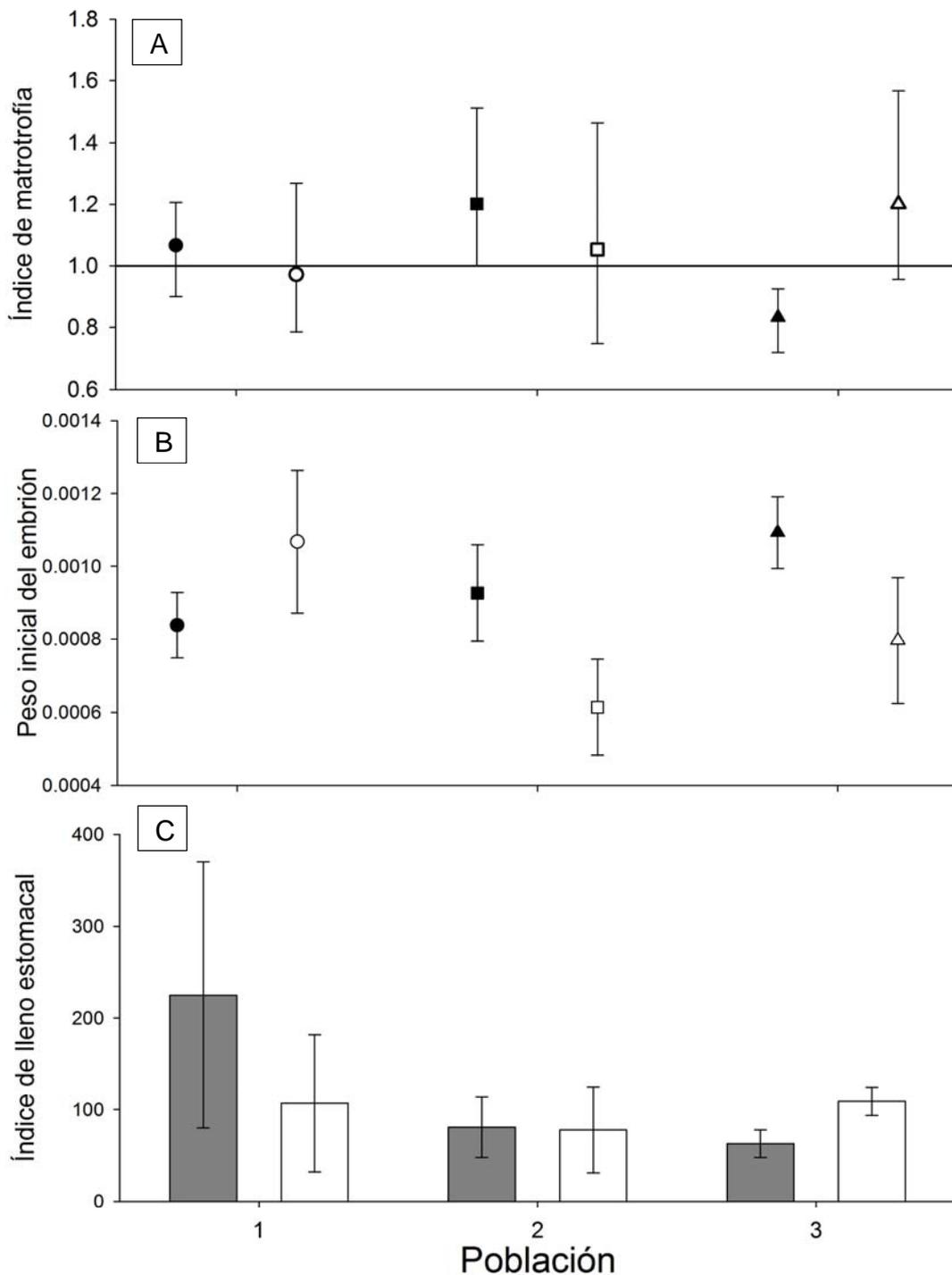


Figura 7. El índice de matrotrofia, peso inicial del embrión e índice de lleno estomacal para las tres poblaciones y dos temporadas de *Poeciliopsis infans*. Las figuras negras y barras grises representan a la temporada de secas. Las figuras blancas y barras blancas representan a la temporada de lluvias. **A)** Valor del índice de matrotrofia (IM) para las tres poblaciones. La línea horizontal representa un IM de 1.0 (valor de IM en el cual no hay diferencia entre el peso inicial y el peso final del embrión). **B)** El valor de peso inicial del embrión en gramos. Este peso inicial es el predicho por la regresión entre estadio de desarrollo y peso del embrión para el estadio 4 (estadio en el cual el embrión es fertilizado). **C)** Valor del índice de lleno estomacal para cada población y temporada (barras de error representan intervalo de confianza).

Resultados del experimento de laboratorio

Durante los experimentos de laboratorio se analizaron un total de 67 individuos de la población 1 y 70 de la población 3 de *Poeciliopsis infans* (todas las hembras analizadas, tenían aproximadamente la misma edad). Debido al bajo número de individuos de las generaciones F_0 y F_1 de la población 2, esta población no fue sometida al experimento de laboratorio. En el cuadro 4 se encuentra una relación de los individuos analizados por población y por tratamiento.

Cuadro 5. Descripción del número de datos obtenidos para cada población y tratamiento experimental en *Poeciliopsis infans*.

Población	Tratamiento	Hembras bajo tratamiento	Total de hembras preñadas
1	Constante	22	11
1	Bajo	20	0
1	Variable	25	14
3	Constante	22	15
3	Bajo	24	0
3	Variable	23	18

En el tratamiento de bajo alimento, ninguna hembra resultó preñada. Esto a pesar de que la cantidad de alimento proporcionada fue igual a la cantidad que se ha reportado como mínima para que haya crecimiento y reproducción (Marsh-

Matthews 2009). En los otros dos tratamientos (constante y variable) al menos la mitad de las hembras de cada tratamiento se preñaron y fueron analizadas (cuadro 5).

En ambas poblaciones (población 1 y población 3) encontré el mismo patrón: mayor matrotrofia en el tratamiento de alimento constante en comparación con el de alimento variable, sin diferencia entre tratamientos en la transferencia pre-fecundación. En la población 1, ninguna de las pendientes de la relación entre el estadio de desarrollo del embrión y el peso seco fue significativamente distinta de cero (tratamiento constante $P = 0.06$ y tratamiento variable = 0.15 ; figura 8A). Sin embargo, las diferencias en el índice de matrotrofia entre los dos tratamientos fueron significativas. De hecho, en el tratamiento constante el índice de matrotrofia (1.34) fue significativamente mayor a 1, mientras que el tratamiento variable (0.61) fue significativamente menor a 1 figura 8C). Finalmente, no hubo diferencias entre tratamientos en el peso inicial del embrión (figura 8D).

En la población 3 ambas pendientes de la relación entre el estadio de desarrollo del embrión y el peso seco fueron significativamente distintas de cero y con distinta tendencia (tendencia positiva en el tratamiento constante y negativa en el variable). El tratamiento constante tuvo una pendiente de 0.000056 con una $P = 0.02$ y el tratamiento variable una pendiente de -0.000061 con una $P = 0.04$ (figura 8B). Igualmente, las diferencias en el índice de matrotrofia entre los dos tratamientos fueron significativas. En el tratamiento constante el índice de matrotrofia (1.76) fue significativamente mayor a 1, mientras que en el tratamiento variable (0.60) fue significativamente menor a 1 (8C). En esta población tampoco

hubo diferencias en el peso inicial del embrión entre tratamientos (8D). Finalmente, no hubo diferencias entre poblaciones en los resultados.

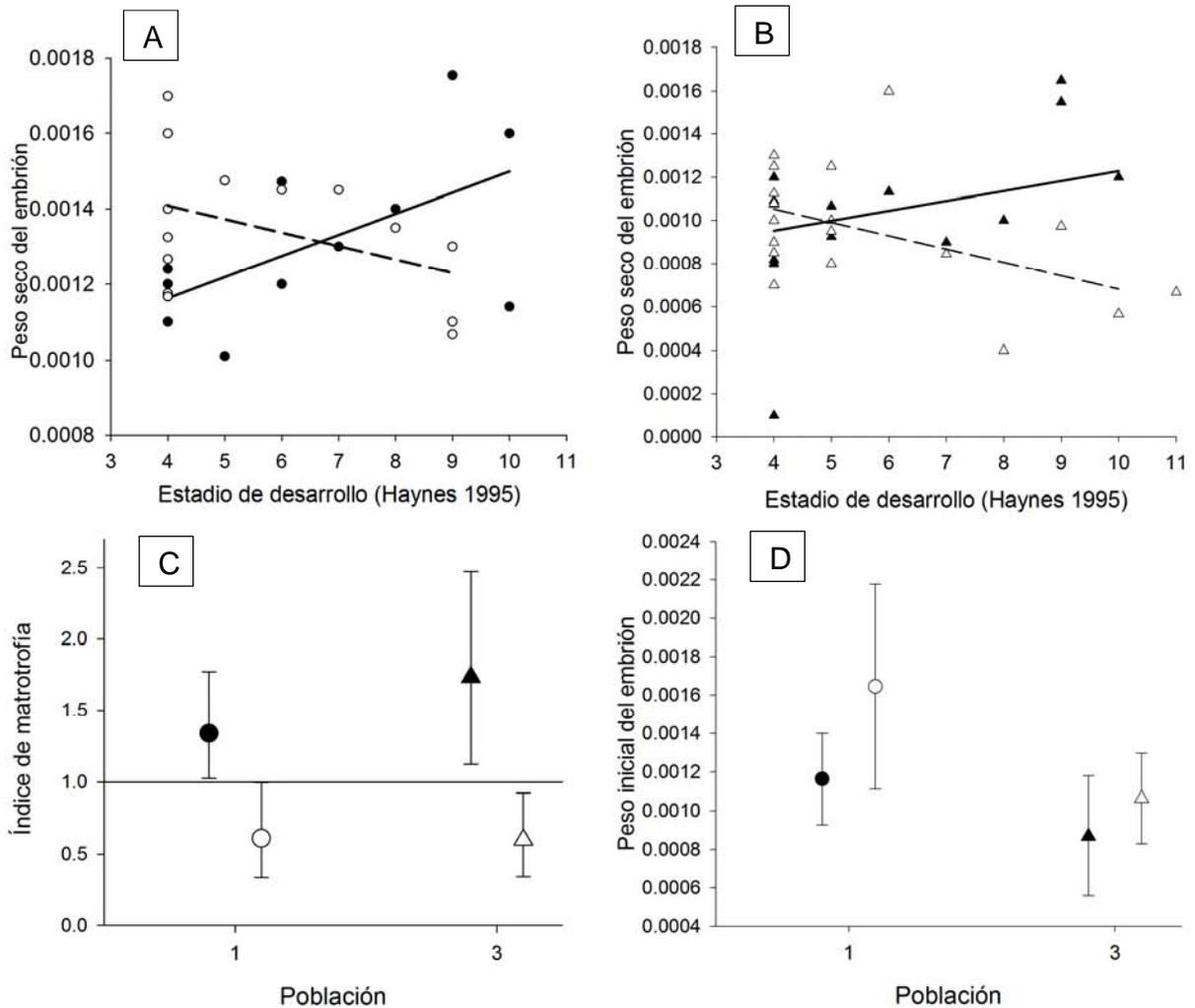


Figura 8. Resultados experimentales de las dos poblaciones (población 1 y 3 de *Poeciliopsis infans*). Los círculos representan a la población 1, los triángulos a las población 3. Las figuras negras y la línea continua representan al tratamiento constante. Las figuras blancas y la línea discontinua, representan al tratamiento variable. **A)** Relación entre el estadio de desarrollo y el peso seco del embrión en la población 1. Fórmula regresión tratamiento constante: $\text{Peso} = 0.00094\text{g} + (5.61 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.06$). Fórmula regresión tratamiento variable: $\text{Peso} = 0.00201\text{g} - (9.01 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.15$). **B)** Relación entre el estadio de desarrollo y el peso seco del embrión en la población 3. Fórmula regresión tratamiento constante: $\text{Peso} = 0.00050\text{g} + 9.12967\text{E-}05 \times \text{estadio}$ ($P = 0.02$). Fórmula regresión tratamiento variable: $\text{Peso} = 0.00131\text{g} - (6.08 \times 10^{-5} \times \text{estadio})$ ($P = 0.04$). **C)** Valor del índice de matrotrofia (IM) para las dos poblaciones y los dos tratamientos. La línea horizontal representa un IM de 1.0 (valor de IM en el cual no hay diferencia entre el peso inicial y el peso final del embrión). **D)** El valor de peso inicial del embrión en gramos. Este peso inicial es el predicho por la regresión entre estadio de desarrollo y peso del embrión para el estadio 4 (estadio en el cual el embrión es fertilizado).

DISCUSIÓN

Variación inter e intraespecífica en el nivel de transferencia de nutrientes

Se encontraron diferencias en el nivel de matrotrofia entre especies, poblaciones y estaciones. Por sí sólo, éste es un resultado sumamente importante e interesante. Pocos trabajos han encontrado diferencias en el nivel de matrotrofia entre poblaciones (e.g. Schrader y Travis 2005; Riech et al. 2012). Más aún, este trabajo representa la primera evidencia sobre diferencias en el nivel de matrotrofia entre distintas temporadas en una misma población. Esta diferencia en el nivel de matrotrofia entre temporadas en una población podría sugerir que existe plasticidad fenotípica en el nivel de nutrientes que transfieren las madres a sus embriones o que la matrotrofia podría ser facultativa, como lo ha propuesto Wourms (1986).

En ambas especies encontré diferencias entre temporadas en el nivel de matrotrofia en al menos una población. En *Poeciliopsis gracilis*, encontré variación estacional únicamente en una población. Esta población (población 1), tuvo mayor matrotrofia en la temporada de secas. Es importante destacar que en esta población no hubo diferencias en el peso final de los embriones entre temporadas. Por esta razón, se puede concluir que las hembras únicamente utilizaron distintas estrategias para llegar al mismo tamaño de cría al nacer. En un caso (lluvias) utilizaron mayor transferencia de nutrientes pre-fecundación y en el otro (secas) mayor transferencia post-fecundación (mayor matrotrofia).

Poeciliopsis infans presentó diferencias estacionales en dos poblaciones. Una de las poblaciones (población 3) tuvo mayor matrotrofia en la temporada de lluvias pero nuevamente no hubo diferencias en el peso final de los embriones. Con base en esto, se puede concluir que las hembras únicamente utilizaron distintas estrategias, en un caso utilizaron mayor transferencia de nutrientes pre-fecundación (temporada de secas) y en el otro mayor transferencia post-fecundación (temporada de lluvias), pero el peso final de los embriones fue el mismo.

En otra población (población 2) hubo únicamente diferencias estacionales en el nivel de transferencia pre-fecundación. En este caso, el nivel de transferencia pre-fecundación (el tamaño inicial del ovocito antes de ser fertilizado) fue mayor en secas y el nivel de nutrientes transferidos post-fecundación fue igual en ambas temporadas. El peso final de los embriones fue mayor en la temporada de secas, por lo cual, las hembras transfirieron más nutrientes totales a sus embriones en esta temporada. Este resultado (diferencia en el tamaño de los embriones) no es explicado por la disponibilidad de alimento, debido a que ésta es la misma en ambas temporadas (figura 7C). Sin embargo, hay distintas presiones selectivas que podrían estar afectando el tamaño final de las crías. Una posible explicación, es que al bajar el nivel del agua en esta población, la competencia intraespecífica aumenta. Se ha observado en otros pecílidos (*Poecilia reticulata*) que esta competencia intraespecífica puede tener como resultado crías de mayor tamaño que son mejores competidoras (Bashey 2008).

Los trabajos previos que habían analizado la variación en el nivel de matrotrofia entre poblaciones de una misma especie, lo han hecho con especies

altamente matrotroficas como *Heterandria formosa* (Schrader y Travis 2005) o *Gambusia affinis* (Riesch et al. 2012). Estas especies altamente matrotroficas, tienen estructuras placentarias mucho más complejas que las especies lecitotroficas (Wourms et al. 1988, 1992). Por lo cual, hay una mayor comunicación entre la madre y el embrión que en las especies con las que se trabajó en este proyecto. En estos trabajos (Schrader y Travis 2005, Riesch et al. 2012) analizaron la relación entre la disponibilidad de alimento y el estadio de desarrollo sólo entre poblaciones. Sin embargo, sería interesante analizar las diferencias entre temporadas en especies con un alto índice de matrotrofia. Finalmente, a pesar de ser una característica ampliamente estudiada, no se conocen los mecanismos morfofisiológicos por los cuales la madre podría estar controlando activamente la cantidad de nutrientes transferidos a sus crías durante el desarrollo embrionario.

También es importante destacar que en distintas publicaciones se han reportado valores particulares de matrotrofia para distintas especies (ver Reznick et al. 2002). Sin embargo, hay que ser cuidadosos al utilizar e interpretar estos valores de matrotrofia. Estos valores se obtienen tras analizar únicamente una población y una temporada de una especie. Por lo tanto, únicamente representan el valor de matrotrofia de dicha población para un momento particular del tiempo y no el de toda la especie. Un ejemplo de esto, se presenta con *Poeciliopsis gracilis*. El valor de IM reportado en la literatura (0.69; Reznick et al. 2002) es distinto a algunos valores de IM encontrados en este trabajo. En la primera población, ambas temporadas tienen un IM significativamente distinto a 0.69 (en secas es mayor, mientras en lluvias es menor). En la población 3, en temporada de secas, el IM

también es significativamente distinto a 0.69. En *P. infans*, igualmente encontré diferencias en el valor del IM entre el que está reportado en la literatura (0.86; Reznick et al. 2002) y algunos de los valores que calculé. En la temporada de secas, tanto en la población 1, como en la población 2, los valores obtenidos fueron significativamente mayores que 0.86, mientras que en la población 3, el índice de matrotrofia en la temporada de lluvias fue significativamente mayor a 0.86.

Variación intraespecífica en el índice de lleno estomacal

Encontré variación espacial y temporal en el índice de lleno estomacal. Este índice es un estimador directo de la cantidad de alimento disponible per cápita en el ambiente. Las tres poblaciones de *P. gracilis* (especie que se distribuye en el este de México), encontré en las tres poblaciones diferencias en la cantidad de alimento disponible entre la temporada de secas y la temporada de lluvias (hubo más alimento disponible en la temporada de secas). Normalmente, la producción primaria es mayor en la época de secas (Cloern 1991), lo cual explicaría por qué hay más alimento disponible en esta temporada.

Por otro lado, en el caso de *P. infans* (especie que se distribuye en la zona oeste del país), únicamente hubo diferencias en el índice de lleno estomacal en una población (población 3). En ésta la cantidad de nutrientes fue mayor en la temporada de lluvias. Esto es inconsistente con el patrón normal de disponibilidad de alimento en los cuerpos de agua. Sin embargo se podría explicar debido a que este sitio era un brazo artificial del río Ameca que transporta agua para distintos cultivos y es controlado por una presa. Debido a esto, el nivel del agua es relativamente

constante durante todo el año. Además, en la época de lluvias, los fertilizantes utilizados en los campos de cultivo se transportan al río, lo cual generaría un exceso de nutrientes y por lo tanto una gran productividad primaria.

Variación en el índice de matrotrofia y su relación con el índice de lleno estomacal

El modelo Trexler-DeAngelis (2003, 2010) supone que la transferencia de nutrientes post-fecundación (matrotrofia) sería mayor en sitios con disponibilidad de alimento alta y constante, mientras que la lecitotrofia sería mayor en sitios en los cuales la disponibilidad de alimento no es constante.

En *P. gracilis* encontré que una población tuvo diferencias en el nivel de matrotrofia entre temporadas de secas y de lluvias (población 1). Sin embargo, las tres poblaciones tuvieron diferencias en el índice de lleno estomacal. En la población 1, el índice de lleno estomacal y el índice de matrotrofia fueron mayores en la temporada de secas, lo cual es consecuente con el modelo Trexler-DeAngelis. Sin embargo, en la población 2 y 3 no hay diferencias en el índice de matrotrofia, pero sí hay diferencias en el índice de lleno estomacal (mayor disponibilidad en secas). Este resultado va en contra de lo que se esperaría bajo el modelo Trexler-DeAngelis. Por lo cual se podría suponer, que otros factores, además del alimento, tienen una importante influencia sobre la cantidad de nutrientes transferidos de las madres a los embriones (puede haber efectos de la calidad de la madre, puede que no haya plasticidad en ésta población, el flujo de agua o alguna otra característica no analizada).

En *P. infans*, únicamente una población tuvo diferencias entre estaciones en la cantidad de alimento disponible en el ambiente (población 3). Ésta también fue la única población con diferencias en el índice de matrotrofia. Este resultado coincide totalmente con lo esperado bajo el modelo Trexler-DeAngelis. En ambos casos coincidió que ambos índices fueron mayores en la temporada de lluvias, lo cuál es evidencia del posible efecto de la disponibilidad de alimento sobre la transferencia de nutrientes entre madres y embriones. Desgraciadamente, únicamente hubo una población con este patrón, por lo cual las conclusiones no pueden ser definitivas.

En conjunto, estos resultados de campo muestran evidencia contradictoria. Por un lado, en *P. gracilis* la evidencia encontrada no apoya al modelo Trexler-DeAngelis. Por otro lado, en *P. infans* sí encontré evidencia a favor del modelo Trexler-DeAngelis. Esta evidencia contradictoria podría deberse al hecho de que la disponibilidad de alimento no es la única variable que afecta a la matrotrofia. Se han propuesto otras hipótesis sobre la aparición y evolución de la matrotrofia, como el flujo de agua o el conflicto madre-embrión (Pollux et al. 2009). Además, mis resultados representan la primera evidencia sobre las diferencias temporales en matrotrofia. Esta variabilidad temporal no es tomada en cuenta de manera explícita en el modelo Trexler-DeAngelis (2003, 2009).

Otros trabajos que han puesto a prueba el modelo Trexler-DeAngelis (2003, 2009) han encontrado diferencias entre poblaciones en el nivel de transferencia post-fecundación (Marsh-Matthews 2001, Schrader y Travis 2005, Riesch et al. 2012). Sin embargo, en ningún caso han analizado las diferencias en el tamaño inicial del embrión. El modelo Trexler-DeAngelis predice un mayor tamaño inicial del

embrión en sitios donde los nutrientes no son constantes (Trexler-DeAngelis 2010). Nuestros resultados son consistentes con ésta predicción.

Evidencia experimental que apoya al modelo Trexler-DeAngelis

Los resultados del experimento de laboratorio son totalmente consistentes con lo esperado bajo el modelo Trexler-DeAngelis (2003, 2010). En ambas poblaciones, hubo una mayor transferencia de nutrientes post-fecundación en el tratamiento de alimento constante (más matrotrofía). Igualmente, no hubo diferencias en el nivel de transferencia de nutrientes pre-fecundación. Esto último se puede deber al pequeño tamaño de muestra con el que se contó. Además no hubo diferencias entre las dos poblaciones analizadas. En una de las poblaciones estudiadas (población 3) hubo diferencias en la transferencia de nutrientes entre temporadas, en condiciones naturales, mientras que en la otra población (población 1) no. Sin embargo, en ambas encontramos las mismas diferencias en los tratamientos experimentales. Esto sugiere que la población 1 sí tiene la capacidad de tener diferencias en la transferencia de nutrientes, pero éstas no se presentan en condiciones naturales debido a que no hay diferencias en la disponibilidad de alimento entre temporadas en esta población. Estos resultados representan fuerte evidencia a favor del modelo Trexler-DeAngelis (2003, 2010).

Este es la primera investigación que analizó peces en un tratamiento constante y peces en un tratamiento variable, que en promedio recibieron la misma cantidad de alimento. Otros trabajos que han analizado experimentalmente la relación entre la matrotrofía y la disponibilidad de alimento (Marsh-Matthews et al.

2002, Banet et al. 2010) únicamente utilizaron tratamientos de alto alimento y tratamientos de bajo alimento. Sin embargo, el modelo Trexler-DeAngelis (2003, 2010) indica que la temporalidad en la disponibilidad de alimento (constante o estacional) puede tener un gran efecto sobre la transferencia de nutrientes madre-embrión. Este es el primer trabajo que analiza esto de manera experimental y los resultados son totalmente consistentes con el modelo.

CONCLUSIONES

- Hay diferencias en el índice de matrotrofia entre especies, poblaciones y temporadas.
- Hay diferencias en el índice de lleno estomacal entre especies, poblaciones y temporadas.
- En *Poeciliopsis gracilis*, las diferencias en el índice de matrotrofia no estuvieron relacionadas con la disponibilidad de alimento.
- No encontré evidencia contundente a favor del modelo Trexler-DeAngelis en *Poeciliopsis gracilis*.
- En *Poeciliopsis infans*, las diferencias en el índice de matrotrofia si están totalmente relacionadas con la disponibilidad de alimento. Sin embargo, esta evidencia no es concluyente, debido a que únicamente en una población encontré diferencias.
- Los resultados de laboratorio son consistentes con el modelo Trexler-DeAngelis. En el tratamiento de alimento constante, hubo una mayor matrotrofia.

LITERATURA CITADA

- Banet, A. I., A. G. Au, & D. N. Reznick. 2010. Is mom in charge? Implications of resource provisioning on the evolution of the placenta. *Evolution* **64**:3172-3182.
- Banet, A. I., & D. N. Reznick. 2008. Do placental species abort offspring? Testing an assumption of the Trexler-DeAngelis model. *Functional Ecology* **22**:323-331.
- Blackburn, D. G. 1992. Convergent evolution of viviparity, matrotrophy, and specializations for fetal nutrition in reptiles and other vertebrates. *American Zoologist* **32**:313-321.
- Blackburn, D. G. 1999. Are viviparity and egg-guarding evolutionarily labile in squamates? *Herpetologica* **55**:556-573.
- Blackburn, Daniel G. & A. F. Flemming. 2010. Reproductive specialization in a viviparous African skink and its implications for evolution and conservation. *Herpetological Conservation and Biology* **5**:263-270
- Cloern, D. G. 2002. Annual primary production: Patterns and mechanisms of change in a nutrient-rich tidal ecosystem. *Limnology Oceanography* **47**:698-712.
- Constantz, G. D. 1980. Energetics of viviparity in the gila topminnow (Pisces: Poeciliidae). *Copeia* **1980**:876-878.
- Constantz, G. D. 1989. Reproductive biology of poeciliid fishes.
- Crespi, B., & C. Semeniuk. 2004. Parent-offspring conflict in the evolution of vertebrate reproductive mode. *American Naturalist* **163**:635-653.
- Demarais, A., & D. Oldis. 2005. Matrotrophic transfer of fluorescent microspheres in poeciliid fishes. *Copeia* **2005**:632-636.
- Dobler, S., & M. RowellRahier. 1996. Reproductive biology of viviparous and oviparous

- species of the leaf beetle genus *Oreina*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* **80**:375-388.
- Frick, J. E. 1998. Evidence of matrotrophy in the viviparous holothuroid echinoderm *Synaptula hydriformis*. *Invertebrate Biology* **117**:169-179.
- Graham, L. K. E., & L. W. Wilcox. 2000. The origin of alternation of generations in land plants: a focus on matrotrophy and hexose transport. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **355**:757-766.
- Haynes, J. L. 1995. Standardized classification of poeciliid development for life-history studies. *Copeia*:147-154.
- Hernandez-Franyutti, A., M. C. Uribe-Aranzabal, & L. J. Guillette. 2005. Oogenesis in the viviparous matrotrophic lizard *Mabuya brachypoda*. *Journal of Morphology* **265**:152-164.
- Hyslop, E. J. 1980. Stomach contents analysis: a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology* **17**:411-429
- Hrbek, T., J. Seekinger, & A. Meyer. 2007. A phylogenetic and biogeographic perspective on the evolution of poeciliid fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **43**:986-998.
- Knapp, R., E. Marsh-Matthews, L. Vo, & S. Rosencrans. 2011. Stress hormone masculinizes female morphology and behaviour. *Biology Letters* **7**:150-152.
- Knapp, R., E. C. Marsh-Matthews, & L. Vo. 2010. Cortisol masculinizes female mosquitofish morphology and behavior. *Integrative and Comparative Biology* **50**:E91-E91.
- Kohler, F., T. von Rintelen, A. Meyer, & M. Glaubrecht. 2004. Multiple origin of viviparity in Southeast Asian gastropods (Cerithioidea : Pachychilidae) and its

- evolutionary implications. *Evolution* **58**:2215-2226.
- Korniushin, A. V., & M. Glaubrecht. 2003. Novel reproductive modes in freshwater clams: brooding and larval morphology in Southeast Asian taxa of *Corbicula* (Mollusca, Bivalvia, Corbiculidae). *Acta Zoologica* **84**:293-315.
- Koya, Y., M. Inoue, T. Naruse, & S. Sawaguchi. 2000. Dynamics of oocyte and embryonic development during ovarian cycle of the viviparous mosquitofish *Gambusia affinis*. *Fisheries Science* **66**:63-70.
- Lima, N. R. W. 2005. Variations on maternal-embryonic relationship in two natural and six laboratory made hybrids of *Poeciliopsis monacha-lucida* (Pisces, Cyprinodontiformes). *Brazilian Archives of Biology and Technology* **48**:73-79.
- Loewen, T. N., D. Gillis, & R. F. Tallman. 2010. Maturation, growth and fecundity of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), life-history variants co-existing in lake systems of Southern Baffin Island, Nunavut, Canada. *Hydrobiologia* **650**:193-202.
- Marsh-Matthews, E. 2011. Matrotrophy. En *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes*. (J. Evans, A. Pilastro and I. Schlupp, editors). University of Chicago Press.
- Marsh-Matthews, E., M. Brooks, R. Deaton, & H. Tan. 2005. Effects of maternal and embryo characteristics on post-fertilization provisioning in fishes of the genus *Gambusia*. *Oecologia* **144**:12-24.
- Marsh-Matthews, E., & R. Deaton. 2006. Resources and offspring provisioning: A test of the Trexler-DeAngelis model for matrotrophy evolution. *Ecology* **87**:3014-3020.
- Marsh-Matthews, E., W. J. Matthews, & N. R. Franssen. 2011. Can a highly invasive species re-invade its native community? The paradox of the red shiner. *Biological Invasions* **13**:2911-2924.
- Marsh-Matthews, E., P. Skierkowski, & A. DeMarais. 2001. Direct evidence for mother-to-

- embryo transfer of nutrients in the livebearing fish *Gambusia geiseri*. *Copeia* **2001**:1-6.
- Marsh-Matthews, E., J. Thompson, W. J. Matthews, A. Geheber, N. R. Franssen, & J. Barkstedt. 2013. Differential survival of two minnow species under experimental sunfish predation: implications for re-invasion of a species into its native range. *Freshwater Biology* **58**:1745-1754.
- Marshall, D. J., & K. Monro. 2013. Interspecific competition alters nonlinear selection on offspring size in the field. *Evolution* **67**:328-337.
- Matthews, W. J., & E. Marsh-Matthews. 2011. An invasive fish species within its native range: community effects and population dynamics of *Gambusia affinis* in the central United States. *Freshwater Biology* **56**:2609-2619.
- Meffe, G. K., & F. F. Snelson, Jr. 1989a. An ecological overview of poeciliid fishes. *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*.13-31.
- Meffe, G. K., & F. F. Snelson, Jr. 1989b. Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae). *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*.i-xxv, 1-453.
- Morita, K., and M.-a. Fukuwaka. 2007. Why age and size at maturity have changed in Pacific salmon. *Marine Ecology Progress Series* **335**:289-294.
- Ostrovsky, A. N. 2013. From incipient to substantial: evolution of placentotrophy in a phylum of aquatic colonial invertebrates. *Evolution* **67**:1368-1382.
- Ostrovsky, A. N., D. P. Gordon, & S. Lidgard. 2009. Independent evolution of matrotrophy in the major classes of Bryozoa: transitions among reproductive patterns and their ecological background. *Marine Ecology Progress Series* **378**:113-124.
- Pires, M. N., J. Arendt, & D. N. Reznick. 2010. The evolution of placentas and

- superfetation in the fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: subgenera *Micropoecilia* and *Acanthophaelus*). *Biological Journal of the Linnean Society* **99**:784-796.
- Pires, M. N., R. D. Bassar, K. E. McBride, J. U. Regus, T. Garland, Jr., & D. N. Reznick. 2011. Why do placentas evolve? An evaluation of the life-history facilitation hypothesis in the fish genus *Poeciliopsis*. *Functional Ecology* **25**:757-768.
- Pires, M. N., K. E. McBride, & D. N. Reznick. 2007. Interpopulation variation in life-history traits of *Poeciliopsis prolifica*: Implications for the study of placental evolution. *Journal of Experimental Zoology Part a-Ecological Genetics and Physiology* **307A**:113-125.
- Pollux, B. J. A., M. N. Pires, A. I. Banet, & D. N. Reznick. 2009. Evolution of Placentas in the Fish Family Poeciliidae: An Empirical Study of Macroevolution. Pages 271-289 *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*.
- Pollux, B. J. A., & D. N. Reznick. 2011. Matrotrophy limits a female's ability to adaptively adjust offspring size and fecundity in fluctuating environments. *Functional Ecology* **25**:747-756.
- Ramírez-Pinilla, M.P. 2006. Placental transfer of nutrients during gestation in an Andean population of the highly matrotrophic lizard genus *Mabuya* (Squamata:Scincidae). *Herpetological Monographs* **20**:194–204.
- Reznick, D., M. J. Bryant, & F. Bashey. 2002a. r- and K-selection revisited: The role of population regulation in life-history evolution. *Ecology* **83**:1509-1520.
- Reznick, D., T. Hrbek, S. Caura, J. De Greef, & D. Roff. 2007a. Life history of *Xenodexia ctenolepis*: implications for life history evolution in the family Poeciliidae. *Biological Journal of the Linnean Society* **92**:77-85.

- Reznick, D., R. Meredith, & B. B. Collette. 2007b. Independent evolution of complex life history adaptations in two families of fishes, live-bearing halfbeaks (Zenarchopteridae, Beloniformes) and poeciliidae (Cyprinodontiformes). *Evolution* **61**:2570-2583.
- Reznick, D. N., M. Mateos, & M. S. Springer. 2002b. Independent origins and rapid evolution of the placenta in the fish genus *Poeciliopsis*. *Science* **298**:1018-1020.
- Reznick, D. N., & D. B. Miles. 1989. Review of life history patterns in poeciliid fishes. *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*. 125-148.
- Reznick, D. N., D. B. Miles, & S. Winslow. 1992. Life history of *Poecilia picta* (Poeciliidae) from the island of Trinidad. *Copeia* **1992**:782-790.
- Rice, W. R., & B. Holland. 1997. The enemies within: intergenomic conflict, interlocus contest evolution (ICE), and the intraspecific Red Queen. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **41**:1-10.
- Riesch, R., R. A. Martin, & R. B. Langerhans. 2013. Predation's Role in Life-History Evolution of a Livebearing Fish and a Test of the Trexler-DeAngelis Model of Maternal Provisioning. *American Naturalist* **181**:78-93.
- Riesch, R., A. Oranth, J. Dzienko, N. Karau, A. Schiessl, S. Stadler, A. Wigh, C. Zimmer, L. Arias-Rodriguez, I. Schlupp, & M. Plath. 2010a. Extreme habitats are not refuges: poeciliids suffer from increased aerial predation risk in sulphidic southern Mexican habitats. *Biological Journal of the Linnean Society* **101**:417-426.
- Riesch, R., M. Plath, F. J. Garcia de Leon, & I. Schlupp. 2010b. Convergent life-history shifts: toxic environments result in big babies in two clades of poeciliids. *Naturwissenschaften* **97**:133-141.
- Riesch, R., M. Plath, & I. Schlupp. 2010c. Toxic hydrogen sulfide and dark caves: life-

- history adaptations in a livebearing fish (*Poecilia mexicana*, Poeciliidae). *Ecology* **91**:1494-1505.
- Riesch, R., M. Plath, & I. Schlupp. 2011. Toxic hydrogen sulphide and dark caves: pronounced male life-history divergence among locally adapted *Poecilia mexicana* (Poeciliidae). *Journal of Evolutionary Biology* **24**:596-606.
- Riesch, R., M. Plath, & I. Schlupp. 2012. The offspring size/fecundity trade-off and female fitness in the Atlantic molly (*Poecilia mexicana*, Poeciliidae). *Environmental Biology of Fishes* **94**:457-463.
- Riesch, R., M. Plath, I. Schlupp, & E. Marsh-Matthews. 2010d. Matrotrophy in the cave molly: an unexpected provisioning strategy in an extreme environment. *Evolutionary Ecology* **24**:789-801.
- Riesch, R., M. Plath, I. Schlupp, M. Tobler, & R. B. Langerhans. 2014. Colonisation of toxic environments drives predictable life-history evolution in livebearing fishes (Poeciliidae). *Ecology Letters* **17**:65-71.
- Roff, D. A. 2002. Life history evolution. *Life history evolution*:i-vii, 1-527.
- Schwartz, M. L., & R. V. Dimock. 2001. Ultrastructural evidence for nutritional exchange between brooding unionid mussels and their glochidia larvae. *Invertebrate Biology* **120**:227-236.
- Stearns, S. C. 1992. The evolution of life histories. *The evolution of life histories*:i-xii, 1-249.
- Thibault, R. E., & R. J. Schultz. 1978. Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes Poeciliidae). *Evolution* **32**:320-333.
- Thompson, M. B., J. R. Stewart, B. K. Speake, M. J. Hosie, & C. R. Murphy. 2002. Evolution of viviparity: what can Australian lizards tell us? *Comparative*

- Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology **131**:631-643.
- Toolson, E. C. 1985. Reproductive biology of scorpions. *American Arachnology*:11-11.
- Travis, J., J. A. Farr, S. Henrich, & R. T. Cheong. 1987. Testing theories of clutch overlap with the reproductive ecology of *Heterandria formosa*. *Ecology* **68**:611-623.
- Trexler, J. C. 1997. Resource availability and plasticity in offspring provisioning: Embryo nourishment in sailfin mollies. *Ecology* **78**:1370-1381.
- Trexler, J. C., & D. L. DeAngelis. 2003. Resource allocation in offspring provisioning: An evaluation of the conditions favoring the evolution of matrotrophy. *American Naturalist* **162**:574-585.
- Trexler, J. C., D. L. DeAngelis, & J. Jiang. 2011. Chapter 9. Community assembly and mode of reproduction: predicting the distribution of livebearing fishes, pp 95-108. En: Evans, J., A. Pilastro, & I. Schlupp, Eds. *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes*. University of Chicago Press.
- Turcotte, M. M., M. N. Pires, R. C. Vrijenhoek, & D. N. Reznick. 2008. Pre- and post-fertilization maternal provisioning in livebearing fish species and their hybrids (Poeciliidae: Poeciliopsis). *Functional Ecology* **22**:1118-1124.
- Turner, C. L. 1940. Pericardial sac, trophotaeniae, and alimentary tract in embryos of goodeid fishes. *Journal of Morphology* **67**:271-289.
- Uribe-Aranzábal, M. C., & H. J. Grier. 2011. Oogenesis of microlecithal oocytes in the viviparous teleost *Heterandria formosa*. *Journal of Morphology* **272**:241-257.
- Wourms, J. P., B. D. Grove, & J. Lombardi. 1988. The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. *Fish physiology*. Volume 11. The physiology of developing fish. Part B. Viviparity and posthatching juveniles.:1-134.
- Wourms, J. P., & J. Lombardi. 1992. Reflections on the evolution of piscine viviparity.

- American Zoologist **32**:276-293.
- Zeh, D. W., & J. A. Zeh. 2000. Reproductive mode and speciation: the viviparity-driven conflict hypothesis. *Bioessays* **22**:938-946.
- Zúñiga-Vega, J. J., D. N. Reznick, & J. B. Johnson. 2007. Habitat predicts reproductive superfetation and body shape in the livebearing fish *Poeciliopsis turrubarensis*. *Oikos* **116**:995-1005.
- Zúñiga-Vega, J. J., M. Suarez-Rodriguez, H. Espinosa-Perez, & J. B. Johnson. 2011. Morphological and reproductive variation among populations of the Pacific molly *Poecilia butleri*. *Journal of Fish Biology* **79**:1029-1046.
- Zúñiga-Vega, J. J., C. Macías-García, & J. B. Johnson. 2010. Hypothesis to Explain the Evolution of Superfetation in Viviparous Fishes. In *Viviparous Fishes II*. Edited by Uribe MC, Grier HJ. New Life Publications. Florida, USA. 13-30.