



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

“CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE *Ilyocryptus spinifer*
ALIMENTADO CON *Chlorella vulgaris* Y SU COMBINACIÓN CON
BACTERIAS PROMOVIDAS POR TRIGO (*Triticum aestivum*)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

ANA LILIA TORRES SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. NANDINI SARMA



LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO.

2016



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.

AGRADECIMIENTOS

- A la **Dra. Nandini S.**, por dirigir este trabajo, así como por su infinita paciencia conmigo.
- A mis sinodales el **Dr. SSS Sarma**, el **Dr. Pedro Ramírez García**, la **Dra. Lucía Pavón Meza** y el **Dr. Sergio Cházaro Olvera**, por sus aportaciones y puntos de vista que ayudaron en la mejora de este trabajo.
- Al **Dr. Alexey A. Kotov**, por la ayuda prestada para la confirmación de la especie del organismo utilizado.
- A mi amiga **Aurora Vázquez Sánchez**, porque sin su ayuda y constantes regaños este trabajo no hubiese visto la luz.
- A mi familia, por el apoyo y paciencia que me brindaron durante el tiempo que llevo realizar este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	12
JUSTIFICACIÓN	17
OBJETIVOS	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	36
REFERENCIAS	38
ANEXOS	43

RESUMEN

Los cladóceros son un grupo de crustáceos que en su mayoría son descritos como parte del zooplancton pero existen otros grupos especiales que comprenden formas bentónicas. *Ilyocryptus spinifer* es la especie limícola verdadera, que pasa la mayor parte de su tiempo más o menos sumergida en el lodo suelto, sin embargo, no son carentes de natación y a veces se incorporan al plancton en un número significativo. Las redes alimentarias microbianas bentónicas detriticas y asociados son también componentes importantes en el flujo de energía a través de los ecosistemas acuáticos, dado que algunos cladóceros consumen bacterias además de las algas. A fin de conocer más sobre la biología de *I. spinifer*, el objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento poblacional y algunos parámetros de su tabla de vida expuesto a dos dietas, una utilizando exclusivamente *Chlorella vulgaris* (Chl) (0.5×10^6 cel/ml) y otra la combinación de la misma concentración de algas y adicionado con bacterias (Chl+B) (1.9×10^5 bac/ml) promovidas en un medio acuoso con trigo. Como resultado se pudo observar que *I. spinifer* tuvo una sobrevivencia máxima de 38 días con la dieta de Chl+B. Las tasas reproductivas bruta (32.15) y neta (15.66) fueron mayores para los cladóceros alimentados con Chl+B. Las tasas intrínseca de crecimiento poblacional fueron de 0.06 para Chl y de 0.15 para Chl+B. La densidades máximas fueron de 435 individuos para Chl+B y de 171 individuos para Chl. En relación a muchos cladóceros, *I. spinifer* tiene alta sobrevivencia pero bajas tasas de reproducción.

INTRODUCCIÓN

Los cladóceros son un grupo de crustáceos que han evolucionado principalmente en las aguas dulces, aunque existen algunas especies que han invadido ambientes marinos de manera secundaria. Son pequeños (0.2-3.0 mm de longitud) (Dodson & Frey, 1991), están comprimidos lateralmente y su cuerpo está encerrado en un caparazón bivalvo. La cabeza se encuentra bien definida y generalmente está cubierta por el escudo cefálico, presenta un solo ojo compuesto (Margalef, 1983). Tienen de 4 a 6 pares de apéndices cefalotorácicos adaptados para la filtración y setas filtradoras que suelen estar dispuestas sobre el apéndice donde forman un peine bien definido (Ruppert & Barnes, 1996). En su gran mayoría son partenogénicos. Dependiendo de las especies y de las condiciones ambientales, el número de huevos por camada, varía considerablemente, aunque frecuentemente oscila entre 10 y 20 (Margalef, 1983). El desarrollo de los cladóceros se lleva a cabo dentro del huevo y no se presentan etapas larvales libre-nadadoras (Elías-Gutiérrez, *et. al.*, 2008).

La importancia de los cladóceros en los cuerpos de agua radica principalmente en que forman parte importante de la cadena trófica (Zou, 1996), formando el eslabón entre los productores primarios (fitoplancton) y los consumidores secundarios (planctívoros). También son importantes porque regulan la cantidad de algas contenidas en un cuerpo de agua y además, debido a la gran eficiencia del mecanismo de filtración, algunos organismos de este grupo son capaces de alimentarse de bacterias contenidas en el agua (Dodson & Frey, 1991).

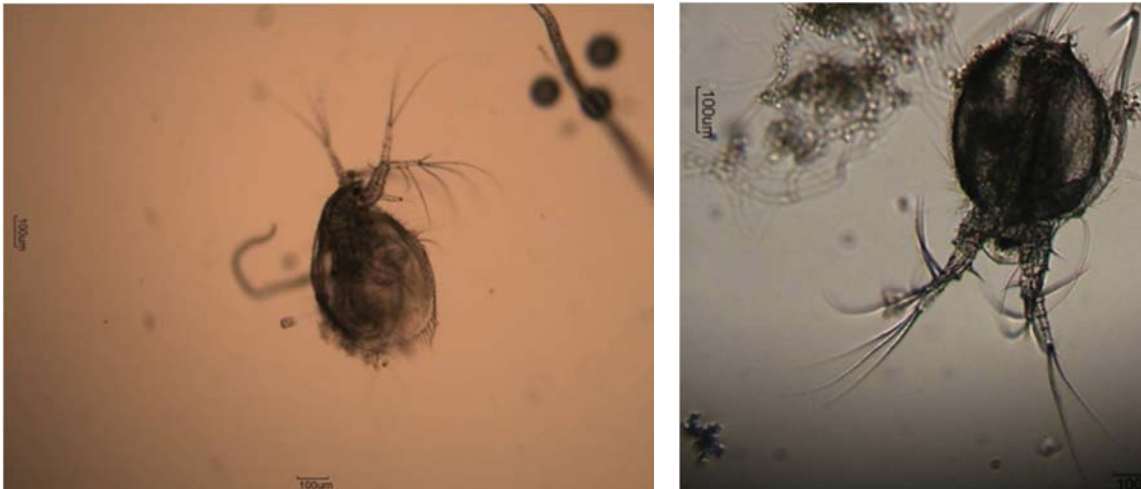
Si bien, los cladóceros son descritos como parte del zooplancton, sus formas planctónicas representan menos de la mitad de todas las especies de cladóceros. Dentro de los órdenes Ctenopoda y Anomopoda existe un grupo especial de cladóceros que comprenden formas bentónicas, es decir, que se cavan en el limo o viven directamente sobre la superficie de los sedimentos del fondo y pueden moverse dentro de la capa de limo (Kotov, 2006).

El género verdaderamente bentónico más especializado de anomopodos es *Ilyocryptus*, el único género en la familia Ilyocryptidae. Aparte de las diferencias notables de los apéndices torácicos (todos ellos muy diferentes entre sí), el postabdómen y la organización corporal. Estos cladóceros, en general, son los únicos miembros del grupo con las primeras antenas (anténulas) bisegmentadas. Actualmente se reconocen 28 especies en todo el mundo (Elías-Gutiérrez *et al.*, 2008). La morfología externa de las especies pertenecientes al género *Ilyocryptus* es única en muchos aspectos y a menudo muy especializada. Cada especie tiene su propio conjunto de caracteres; algunos de ellos son variables y dependen de la distribución geográfica, hábitat y sus propias condiciones como temperatura, contenido de oxígeno, las condiciones de los alimentos y predadores (Stifter, 1991).

Algunas especies de este género son capaces de cavar hasta una profundidad de 15 cm, lo que supera la longitud del cuerpo por un factor de más de 100. La mayoría de ilyocryptidos han perdido por completo la capacidad de nadar.

Algunas especies del género son relativamente móviles y conservan la capacidad de nadar a lo largo de su ciclo de vida (*I. agilis* y *I. spinifer*), pero incluso estos en ocasiones llegan a cavar en la capa de limo superficial (Kotov, 2006). Hasta el momento se han registrado 6 especies de *Ilyocryptus* en México (Elías-Gutiérrez *et al.*, 2008).

Ilyocryptus spinifer presenta variaciones en el tamaño máximo y mínimo según las poblaciones, sin embargo, la máxima longitud para la hembra partenogenética es de 1100 hasta 1400 μm (Kotov & Stifter, 2006). El cuerpo, visto lateralmente, presenta una forma ovoide. Visto ventral o dorsalmente, el cuerpo se observa con una anchura moderada, presentando el ancho máximo del cuerpo en la parte media debido al inflado que presenta la cámara de cría. Presentan una depresión ligera entre la cabeza y el resto del cuerpo, el margen dorsal presenta un arco bastante recto de manera uniforme (Kotov & Dumont, 2000). La porción postero-dorsal se encuentra bien desarrollada aunque redondeada; en la porción postero-ventral presenta válvulas ampliamente redondeadas. No hay cuernos, proyecciones laterales, ni pelos en las válvulas o en la cabeza. En vista anterior o posterior, aparece una sección transversal en forma de cuña que sigue el margen dorsal-ventral. El dorso presenta una quilla bien desarrollada de diferentes alturas. *I. spinifer* presenta mudas incompletas, por lo que, en organismos adultos se aprecian varias líneas concéntricas. No es transparente, ya que está densamente cubierto por partículas de detritos. Las hembras partenogenéticas presentan pocos embriones (Kotov & Williams, 2000).



I. spinifer es una especie con una amplia distribución en América del Norte y del Sur, África, Asia del Sur y Australia. Es la especie dominante entre ilyocryptidos en la mayoría de los cuerpos de agua continentales de los trópicos y subtrópicos. Se trata de una especie limícola verdadera, pasando la mayor parte de su tiempo más o menos sumergida en el lodo suelto. Sin embargo, no son carentes de natación, como lo son las otras especies conocidas del género. A veces entra en el plancton en un número significativo, y es común en las asociaciones de macrófitas en la costa de grandes masas de agua tropicales (Kotov & Stifter, 2006).

Alimentación

La mayor parte de la producción primaria en sistemas acuáticos de agua dulce no es consumido por el zooplancton, sin embargo, entra a formar parte del detritus, donde es metabolizado o será microbiológicamente consumido por los heterótrofos metazoos (Wetzel 1995, 2001), jugando un papel importante en la vida de los cladóceros, a pesar de que este tipo de comida es de una naturaleza inestable (Monakov, 2003). Existen dos categorías de materia orgánica particulada

detrítica: la descomposición de fragmentos de plantas típicamente recubiertas con exopolímeros bacterianas y de microalgas, así como los microbios adheridos (bacterias, algas, y hongos) y los agregados orgánicos derivados de la materia orgánica disuelta, tales como lixiviados de macrófitos y exudados, colonizados por microbios heterótrofos y autótrofos (Lemke *et al.*, 2006). Su composición y la proporción de sus diferentes componentes constantemente cambia, y lo mismo ocurre con su valor trófico. El tamaño de estas partículas se encuentra dentro del rango de 10 a 30 μm . Los crustáceos crecen particularmente rápido cuando se alimentan de detritus fresco y en descomposición; no así cuando se alimentan de algas. El papel de las bacterias en la vida de los cladóceros también es importante. En primer lugar, las bacterias son parte de detritus de cualquier origen y edad, y participa en el proceso de descomposición de algas. Segundo, los intentos experimentales para cultivar diversos crustáceos utilizando cultivos bacterianos produjeron buenos resultados. Por último, el tamiz de la cámara de filtración de algunas especies es perfectamente capaz de atrapar las células bacterianas individuales (Monakov, 2003).

Por lo tanto, en muchas situaciones, las redes alimentarias microbianas bentónicas detríticas y asociados son también componentes importantes en el flujo de energía a través de los ecosistemas acuáticos, dado que pueden ser recursos de alimentos para crustáceos y macroinvertebrados (Lemke *et al.*, 2006) Por ejemplo, algunos cladóceros consumen bacterias además de las algas. Además, los efectos indirectos de zooplancton en microbios heterótrofos son probablemente también importantes. Por ejemplo, la reducción de la biomasa de algas por el

pastoreo del zooplancton puede reducir las cantidades de algas en el sustrato derivado a disposición de las bacterias (Vaqué & Pace, 1992).

El papel del fitoplancton en la dieta de los cladóceros ha sido ampliamente documentado. Experimentos en diferentes especies muestran que la preferencia de los cladóceros por las algas disminuye como el tamaño de estas va aumentando de 3.5 a 15-20 μm . Los cladóceros prefieren pequeñas algas con un diámetro de 3.5 μm . seguido por células de 15 μm) y, finalmente por células de 20-30 μm (Monakov, 2003).

Chlorella vulgaris es una microalga unicelular que tiene la cualidad de ser fácilmente cultivable, un tamaño adecuado (4-6 μm) para que los organismos puedan consumirla, taxonómicamente es una especie conocida y se ha utilizado como organismo para el cultivo y la evaluación de trabajos ecológicos, normalmente no presenta sistema de defensa ante sus depredadores (Flores-Burgos *et al.*, 2003; Yoshida *et al.*, 2003)

El nivel del alimento es una variable importante que incide en el gasto energético para los organismos acuáticos. En el caso de una nutrición deficiente, la energía se invierte exclusivamente en la supervivencia, con una expresión negativa en el crecimiento y reproducción (Benider *et al.*, 2002). Sin embargo altas concentraciones de alimento disminuyen la longevidad de los organismos acuáticos filtradores, como los cladóceros, este fenómeno se relaciona con una

oclusión mecánica del aparato de filtración, reduciendo la utilización del alimento presente en el medio (Martínez-Jerónimo et al., 1994).

Tablas de vida y crecimiento poblacional

Para entender el papel de los cladóceros en la cadena trófica, se evalúan sus características poblacionales, tomando en consideración diversas variables o parámetros, entre ellos, la tasa de filtración, la tasa de crecimiento poblacional y la abundancia máxima, los cuales tienen una mayor relevancia en los estudios de dinámica poblacional (Downing & Rigler, 1984). Las tablas de vida son herramientas importantes para conocer las estrategias de vida de los cladóceros. Sus parámetros son fecundidad, supervivencia, esperanza de vida, ciclo de vida promedio, tasa de reproducción bruta y tasa de reproducción neta, así como tiempo de generación, modelos o curvas de supervivencia y mortalidad en una edad específica y tasa de incremento poblacional (Krebs, 1985).

Sin embargo, estos estudios no dan información sobre la posible influencia de la descendencia en el crecimiento de la población, ni sobre la densidad máxima alcanzada por las especies cuando crecen constantemente bajo condiciones experimentales definidas. Mientras que en las investigaciones sobre tablas de vida únicamente se mantienen los organismos originales, en el crecimiento poblacional se conservan éstos y su descendencia dando como resultado la competencia por espacio y alimento (Sarma & Nandini, 2001). Es por ello que los estudios de tablas de vida y de crecimiento poblacional son complementarios y permiten tener un

panorama completo de los efectos del alimento sobre las especies de cladóceros
(Nandini & Sarma, 2000).

ANTECEDENTES

Características de *Ilyocryptus*

Los estudios demográficos de cladóceros litoral-bentónicos se realizan principalmente en los géneros de cladóceros más comunes encontrados en los cuerpos de agua mexicanos, dejando de lado los géneros poco reportados. Entre ellos se encuentra el género *Ilyocryptus*, del cual solamente se han realizado trabajos taxonómicos, en los cuales se han descrito nuevas especies, como en el caso de *I. nevadensis* (Cervantes-Martínez *et al.*, 2000) perteneciente al Nevado de Toluca o de *I. timmsi* (Kotov & Dumont, 2000) perteneciente a Australia (Anexo 3).

Asimismo se han realizado diversas re-descripciones de diferentes especies, encontrando que algunas de ellas son la misma especie, como ocurrió con *I. halyi*, *I. longiremis*, *I. immundus*, *I. verrucosus*, *I. tetraspinatus* (Kotov & Dumont, 2000; Kotov & Williams, 2000). De igual manera algunos trabajos realizados a *I. spinifer* se han enfocado en completar las especificaciones de las hembras, incluyendo la morfología de los machos y de los epipios (Kotov & Williams, 2000), así como las anomalías morfológicas encontradas en cuerpos de agua naturales (Elmoor-Loureiro, 2004) (Anexo 3).

Características demográficas de cladóceros

Acharya *et al.* (2005) compararon el crecimiento, la reproducción y las características de la historia de vida de *Bosmina* cultivados con seston del río Ohio contra un alga (*Scenedesmus acutus*), a fin de evaluar posibles limitaciones

nutricionales experimentados por las poblaciones ribereñas. *Bosmina* creció bien en ambos tratamientos durante su etapa juvenil. Tras el inicio de la reproducción *Bosmina* alimentado en *Scenedesmus* creció más rápido y exhibió mayor fecundidad que sus homólogos alimentados con seston del río. El desempeño relativamente débil por *Bosmina* alimentándose de seston del río sugirió que las limitaciones nutricionales pueden ser importantes a pesar de la alta cantidad de partículas de carbono orgánico y bajo C: N y C: P de seston del río.

Lundstedt & Brett (1991) evaluaron las tasas de crecimiento diferencial de tres especies de cladóceros (*Daphnia longispina*, *Bosmina longispina* y *Chydorus sphaericus*) en respuesta a monocultivos o mezclas de algas típicas de la floración de la primavera (*Stephanodiscus*, *Rhodomonas* y *Chlamydomonas*) y verano (*Scenedesmus*, *Chlorella* y *Microcystis*). Las algas de la floración de la primavera dieron lugar a un crecimiento óptimo de la población, mientras que las algas verdes y cianobacterias eran de menor calidad. *Daphnia* mostró las mayores tasas de crecimiento en todos los recursos probados. *Chydorus* alcanzó tasas de crecimiento positivas similares en la mayoría de los recursos. Por el contrario, *Bosmina* logró un crecimiento positivo sólo en *Stephanodiscus* y *Rhodomonas*. Para *Bosmina*, una combinación de *Stephanodiscus* y *Rhodomonas* dio lugar a un efecto sinérgico positivo para su crecimiento.

Muro-Cruz *et al.* (2002) llevaron a cabo estudios de supervivencia y crecimiento de la población de cladóceros litoral-bentónicos, *Alona rectangula* y *Macrothrix triserialis*, bajo los niveles bajos y altos de alimento (0.5×10^6 y 2.0×10^6 cel/ml de

Chlorella vulgaris). La tasa neta de reproducción varió de 13 a 15 crías/hembra en el caso de *A. rectangula* y entre 19 y 27 por *M. triserialis*. El tiempo de generación también fue menor (10 días) de *A. rectangula* pero más alta (16-18 días) para *M. triserialis*. Por lo tanto, las tasas de crecimiento de *M. triserialis* estaban alrededor de 0.25/día, mientras que los de *A. rectangula* alrededor de 0.32. Las tasas de crecimiento de la población a partir de los experimentos de crecimiento de la población eran más bajas que los de los estudios de demografía de tabla de vida.

Nandini & Sarma (2000) evaluaron la tabla de vida demográfica de *Ceriodaphnia cornuta*, *Moina macrocopa*, *Pleuroxus aduncus* y *Simocephalus vetulus* en relación con tres concentraciones de alimentos de algas (baja: 0.5×10^6 , media: 1.5×10^6 y alto: 4.5×10^6 cel/ml de *Chlorella vulgaris*). En general, para todas las especies de cladóceros probadas, los valores de vida media, la tasa bruta de reproducción, la tasa neta de reproducción, tiempo de generación y la tasa de crecimiento de la población fueron superiores a las concentraciones más bajas de alimento. Además, la alta concentración de los alimentos resultó en una tasa de crecimiento negativo de la población para *P. aduncus*. La tasa de crecimiento poblacional más alta se registró para *M. macrocopa* con baja densidad de alimento. *S. vetulus* tuvo la esperanza de vida media más larga, mientras que *M. macrocopa* presentó la más baja. *C. cornuta* mostró un mejor rendimiento a concentración media. Concluyendo que las concentraciones de algas (0.5×10^6 y 1.5×10^6 cel/ml) fue beneficioso no sólo para las especies planctónicas, sino también para las litorales (*P. aduncus* y *S. vetulus*), mientras que 4.5×10^6 cel/ml fue inadecuado para todos los cladóceros probados.

Nandini & Sarma (2003) estudiaron los patrones de crecimiento de la población de 7 especies de cladóceros (*Alona rectangula*, *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia laevis*, *Diaphanosoma brachyurum*, *Moina macrocopa*, *Scapholeberis kingi* y *Simocephalus vetulus*) utilizando 6 densidades de algas (0.05×10^6 , 0.1×10^6 , 0.2×10^6 , 0.4×10^6 , 0.8×10^6 y 1.6×10^6 cel/ml de *Chlorella vulgaris*) durante 18-30 días. Los cladóceros, en el intervalo ensayado, respondieron de manera similar a los niveles de algas, el aumento de las concentraciones de alimento resultó en tasas de abundancia y crecimiento demográfico más altos (r). Las densidades de población de pico fueron para *A. rectangula*, *C. dubia*, *D. laevis*, *D. brachyurum*, *M. macrocopa*, *S. kingi* y *S. vetulus*. En general, los valores de r más bajas se obtuvieron para *D. laevis* a 0.05×10^6 cel/ml de alimento, mientras que el más alto fue para *A. rectangula* a 1.6×10^6 cel/ml de *Chlorella*.

Otero *et al.* (2013) evaluaron los efectos de diferentes tipos de alimentos sobre la productividad de *Diaphanosoma* sp. y *Alona* sp. bajo condiciones de laboratorio. Juveniles de *Diaphanosoma* sp. y *Alona* sp. fueron alimentados con *Saccharomyces cerevisiae* y *Chlorella vulgaris* a concentración de 4×10^5 cel/ml cada uno, en tres combinaciones: 1. *C. vulgaris*, 2. *S. cerevisiae*, 3. *C. vulgaris* + *S. cerevisiae* en proporciones iguales. Obteniendo que la dieta mixta de levadura y microalgas produjera mayor eficiencia productiva en las dos especies estudiadas, constituyendo una alternativa de fuente de alimento vivo para la acuicultura.

Santos-Wisniewski *et al.* (2006) midieron algunos rasgos del ciclo de vida de *Chydorus pubescens* (Cladocera, Chydoridae) mantenidos bajo condiciones controladas en cultivos de laboratorio. Hembras partenogénicas se aclimataron a las condiciones de laboratorio durante diez generaciones. Los experimentos se llevaron a cabo en las incubadoras a una temperatura de $23.6 \pm 0.5^\circ\text{C}$, fotoperiodo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad y el suministro de alimentos (suspensión de algas (*Selenastrum capricornutum*) a 10^5 cel/ml y 0.02 ml de una suspensión mixta de levadura, y alimento de pescado añadido por organismo, en igual proporción que se mantuvo constante. Las observaciones se realizaron una vez o dos veces al día, se registró el crecimiento individual, la edad y el tamaño de la primípara, fecundidad y la longevidad. *Chydorus pubescens* logró un tamaño máximo de 389.12 μm , mientras que el estadio primíparas midió 339.54 μm en promedio, a una edad de 2.37 días. La fecundidad media de *Chydorus pubescens* fue de 2 huevos/hembra y el número total promedio de huevos producidos por una hembra durante su vida fue de 22.3. El tiempo de desarrollo embrionario fue de 1.96 días y la longevidad máxima encontrada fue de 31 días.

JUSTIFICACIÓN

Los cladóceros son organismos que se encuentran en todos los sistemas epicontinentales, desde las latitudes tropicales hasta las regiones boreales. Entre los muchos usos prácticos que se da a este grupo de organismos, además de alimento vivo, destacan su valor como indicadores biológicos y, en consecuencia, su utilidad en estudios de toxicidad. También han sido utilizados para la reconstrucción de ambientes en el pasado reciente. Conociendo los requerimientos ambientales de las diversas especies, se pueden establecer los cambios que han ocurrido en un lago a lo largo del tiempo. Otro uso que se le ha dado a los cladóceros es que permiten inferir los cambios del nivel de agua a lo largo del tiempo en diferentes cuerpos de agua (Elías-Gutiérrez, *et. al.*, 2008).

La mayoría de información de cladóceros está basada en experimentos basados en *Daphnia*, siendo este un género de cladóceros planctónicos, por lo que no representa a los cladóceros litoral-bentónicos como lo es *I. spinifer*.

Muy pocos estudios han sido publicados en cuanto a las variables demográficas de cladóceros litorales y bentónicos, aunque a escala mundial, más del 65% de las especies conocidas de Cladocera pertenecen a los grupos litorales y bentónicos (Smirnov, 1974 citado en Muro-Cruz, 2002). Estas especies podrían desempeñar un papel importante en los estanques poco profundos, dado que podrían ser una buena fuente de alimentos para los peces que se alimentan de los bentos (Muro-Cruz, 2002). En cuanto al cladócero *Ilyocryptus spinifer*, no se han publicado datos sobre su ciclo de vida desde las cortas publicaciones de Sars en 1901 (Kotov y

Dumont, 2000). Razón por la cual se ha decidido realizar este estudio, ya que para poder dar un uso práctico de estos cladóceros y conocer su rol en los ecosistemas acuáticos es necesario conocer su dinámica poblacional, el crecimiento de la misma y su alimentación.

OBJETIVOS

General

- Evaluar los cambios demográficos del cladócero *Ilyocryptus spinifer*, alimentado con *Chlorella vulgaris* y su combinación con bacterias promovidas en un medio acuoso con trigo.

Particulares

- Obtener la tasa de crecimiento poblacional de *I. spinifer* con cada una de las dietas.
- Analizar el efecto del tipo de alimento en el crecimiento poblacional de *Ilyocryptus spinifer*.
- Evaluar la respuesta demográfica de *I. spinifer* a través de tabla de vida en las dietas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ilyocryptus spinifer fue recolectado de la Presa Valerio Trujano, ubicada en el municipio de Tepecoacuilco de Trujano, estado de Guerrero, que se localiza en los 18°18' de latitud Norte y 99°28' de longitud Oeste a una altitud sobre el nivel del mar de 820m. Fue alimentado con *Chlorella vulgaris* y su combinación con bacterias promovidas por trigo

Las algas fueron cultivadas, en 10 botellas de 2 L, colocando en cada una 30 ml de medio Bold (Anexo 1) y aforado a 1.5 L con agua destilada, cada tercer día se les administró bicarbonato de sodio (aprox. 2g/2L) como fuente de carbono y permanecieron con iluminación constante de 24 hrs/día. Tras alcanzar su máximo crecimiento poblacional se retiraron y se colocaron en el refrigerador hasta que sedimentaron; se decantaron las botellas para concentrar las algas en una sola botella, posteriormente se realizó un conteo con una cámara de Neubauer para conocer la concentración de algas.

Los cladóceros se mantuvieron en medio EPA, que es una solución de agua destilada y sales disueltas (NaHCO₃ 0.095 g/Lt, CaSO₄ 0.06 g/Lt, MgSO₄ 0.06 g/Lt, KCL 0.002 g/Lt) como medio de cultivo, el cual se cambió cada 48 horas. Para aquellos que fueron alimentados con bacterias, se colocó una semilla de trigo en recipientes de plástico con 50ml de EPA, durante 48 hrs, a fin de promover el crecimiento bacteriano. Cabe aclarar que *I. spinifer* no fue alimentado exclusivamente con bacterias, dado que al intentar mantener a los organismos con

esta dieta, estos morían dentro de la primera semana. Se mantuvieron en una incubadora a 22°C.

Conteo bacteriano

Al fin de conocer el número de bacterias disponibles en la dieta combinada, se colocó una semilla de trigo en 5 recipientes de plástico con 50 ml de EPA, durante 48 hrs, a fin de promover el crecimiento bacteriano. Transcurrido ese tiempo se fijaron las bacterias con formol al 3%.

Para el conteo bacteriano se utilizara la técnica de epifluorescencia empleando el fluorocromo DAPI (4, 6 diamidino-2-fenilindol de Sigma) (Porter & Feig, 1980). Para realizar la tinción se filtró 1 ml de cada recipiente de plástico fijado, del cual se filtraron solo 0.5 ml y se detiene el vacío del equipo Millipore (1684). Se utilizarón membranas negras de policarbonato (Millipore) de 0.22 μm de tamaño de poro y 25 mm de diámetro, después se agregaron 30 μl de la solución DAPI, se dejó reposar por 15 minutos y posterior a ese tiempo se continuó filtrando los otros 0.5 ml que quedan en la membrana. En un portaobjetos se colocó la membrana entre dos gotas de aceite de inmersión no fluorescente, (arriba y debajo de ella) y finalmente el cubreobjetos. Para realizar los conteos se utilizó un microscopio de epifluorescencia (Nikon, ECLIPSE E600), a un aumento de 100x, con una rejilla en el campo formada de 100 cuadros, de los cuales solo se utilizaron 10 de forma vertical u horizontal para el conteo.

$$\text{Número de bacterias/ml} = \left[\frac{AF}{AC} (M)(1.05) \right] (D) / VF$$

Donde AF = área del filtro ($69397781.7\mu\text{m}^2$), AC = área del cuadrado (un cuadrado= $110\mu\text{m}^2$), M = bacterias de la unidad de conteo, 1.05 = factor de corrección de formalina, VF = volumen filtrado y D = número de veces que se diluyó la muestra

Tabla de vida

Se colocaron 5 neonatos de *Ilyocryptus spinifer* en recipientes de plástico con 50 ml de medio EPA a los cuales se les administró diariamente 0.5×10^6 cel/ml de *Chlorella vulgaris* para ambas dietas y una semilla de trigo la dieta en combinación (se utilizó el medio EPA con la semilla que se dejó reposar por 48 hrs). Se realizaron 5 repeticiones, siendo un total de 25 organismos para cada tipo de alimento. El conteo se efectuó cada 48 hrs en cajas de acrílico (de 5x5 cm y una profundidad de 1.5 cm aproximadamente) con ayuda de un microscopio estereoscópico y una pipeta Pasteur. En cada repetición, los individuos muertos fueron eliminados, mientras que las crías fueron contabilizadas y retiradas con el fin de mantener a población inicial. Después de cada conteo, la población inicial se transfería a un nuevo frasco con medio EPA bajo las condiciones anteriormente mencionadas. Esto fue realizado hasta que el último individuo de los 5 iniciales murió (26 días para *C. vulgaris* sola y 38 días para la combinación).

Los parámetros de tabla vida que se calcularon fueron (Krebs, 1985):

Sobrevivencia (l_x): La proporción de individuos sobrevivientes a la edad x desde el nacimiento) obtenida con la siguiente fórmula:

$$l_x = \frac{n_x}{n_0}$$

Donde n_x es el número de individuos vivos en la edad x y n_0 es el número inicial de individuos.

Fecundidad (m_x): El promedio de descendientes por hembra producidas durante la edad x , calculada con la siguiente fórmula:

$$m_x = \frac{h_x}{l_x}$$

Donde h_x es el número de huevos o crías neto a la edad x .

Promedio de vida (L_x): Número de individuos vivos en promedio durante el intervalo de edad de x a $x+1$, calculada con la siguiente fórmula:

$$L_x = \frac{n_x + n_{x+1}}{2}$$

Tiempo de vida (T_x): Tiempo que sobrevive un organismo:

$$T_x = \sum_x^{\infty} L_x$$

Esperanza de vida (e_x): Esperanza de alcanzar una edad x :

$$e_x = \frac{T_x}{n_x}$$

Tasa reproductiva bruta (número total de neonatos producidos por una hembra en ausencia de mortalidad):

$$\sum_0^{\infty} m_x$$

Tasa reproductiva neta (R_0): Número promedio de progenie que es capaz de producir cada hembra de la población en toda su vida.

$$R_0 = \sum_0^{\infty} l_x m_x$$

Tiempo Generacional (G): Tiempo que han sobrevivido los individuos hasta llegar a una edad x .

$$G = \frac{\sum l_x m_x x}{R_0}$$

Tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r): Ecuación de Euler-Lotka

$$\sum_{x=0}^{\infty} e^{-rx} l_x m_x = 1$$

Crecimiento poblacional

Se colocaron 5 individuos de *I. spinifer* en recipientes de plástico conteniendo 50ml de EPA y 0.5×10^6 cel/ml de *Chlorella vulgaris* para ambos casos y una semilla de trigo para el tratamiento en combinación (se utilizó el medio EPA con la semilla que se dejó reposar por 48 hrs). Se realizaron 5 repeticiones de cada tipo

de dieta. Se contaron los individuos (adultos y crías) presentes en los recipientes, transfiriendo los organismos a un nuevo frasco con medio EPA con la misma concentración de algas y una semilla de trigo para el tratamiento en combinación (se utilizó el medio EPA con la semilla que se dejó reposar por 48 hrs). El conteo se efectuó cada 48 hrs en cajas de acrílico (de 5x5 cm y una profundidad de 1.5 cm aproximadamente) con ayuda de un microscopio estereoscópico y una pipeta Pasteur, a partir del día cero hasta el total de días en que se observó una disminución significativa de la población de cladóceros.

La tasa de crecimiento poblacional se calculó a partir de la fórmula (Krebs, 1985):

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

Dónde r = tasa de crecimiento poblacional, N_0 = densidad inicial, N_t = densidad final y t = tiempo en días.

Para determinar las diferencias significativas entre los siguientes parámetros evaluados: máxima densidad poblacional, tasa de crecimiento, promedio de vida, esperanza de vida, reproducción bruta, reproducción neta, tiempo generacional y r derivada de ecuación de Euler-Lotka, se realizó un análisis estadístico de varianza (ANOVA). Para determinar con mayor claridad entre cuáles tratamientos se encontraban tales diferencias, se efectuó como prueba post-hoc la prueba de Bonferroni.

RESULTADOS

Conteo bacteriano

El número de bacterias/ml contabilizado (y por lo tanto disponibles en la dieta de algas con bacterias) en 5 repeticiones vario de 1.4×10^5 a 2.2×10^5 , obteniéndose un promedio de 1.9×10^5 de bacterias disponibles en la dieta en combinación con algas.

Tabla de vida

Ilyocryptus spinifer alimentado exclusivamente con *Chlorella vulgaris* presentó una mortalidad notable a partir del día 14. Por el contrario los alimentados con *C. vulgaris* en combinación con bacterias promovidas por trigo tuvo una disminución gradual en la sobrevivencia (l_x) con el paso de los días, superando a los primeros por 12 días. (Figura 1).

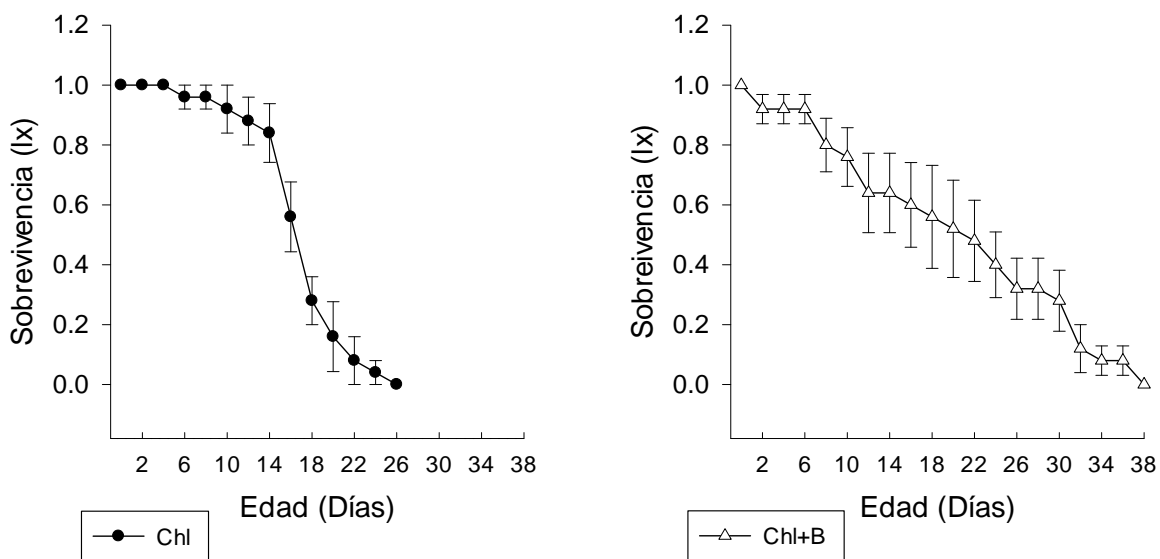


Figura 1. Sobrevivencia de *I. spinifer* alimentadas con *C. vulgaris* (Chl) y su combinación con bacterias promovidas por trigo (Chl+B). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en 5 repeticiones.

Los cladóceros que fueron alimentados solo con *Chorella* presentaron una fecundidad (m_x) máxima de 17 crías/hembra en el día 18, mientras que los alimentados en combinación con bacterias presentaron una fecundidad baja (0.2-4 crías/hembra), pero constante (Figura 2).

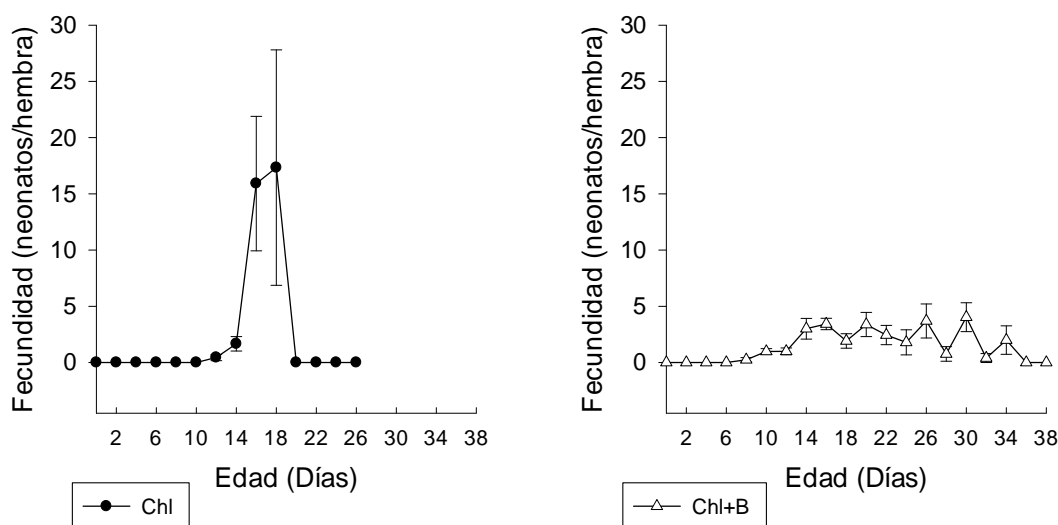


Figura 2. Fecundidad de *I. spinifer* alimentadas con *C. vulgaris* (Chl) y su combinación con bacterias promovidas por trigo (Chl+B). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en 5 repeticiones.

Los valores del promedio de vida fueron de 16.8 para los organismos alimentados exclusivamente con *Chlorella* (Chl) y de 20.22 para los individuos alimentados con el alga en combinación con bacterias (Chl+B). El tiempo generacional presentó una variación de 16.14 a 18.47 siendo mayor para Chl+B. Las tasas intrínseca de crecimiento poblacional fueron de 0.06 para Chl y de 0.158 para Chl+B y las tasas reproductivas bruta y neta fueron de 7.42 para la primera y 2.84 para la segunda en los cladóceros alimentados con *Chlorella* y de 32.15 y 15.66 respectivamente, para su combinación con bacterias. La tasa intrínseca de crecimiento poblacional y las tasas reproductivas bruta y neta presentaron una diferencia estadísticamente significativa (Figura 3).

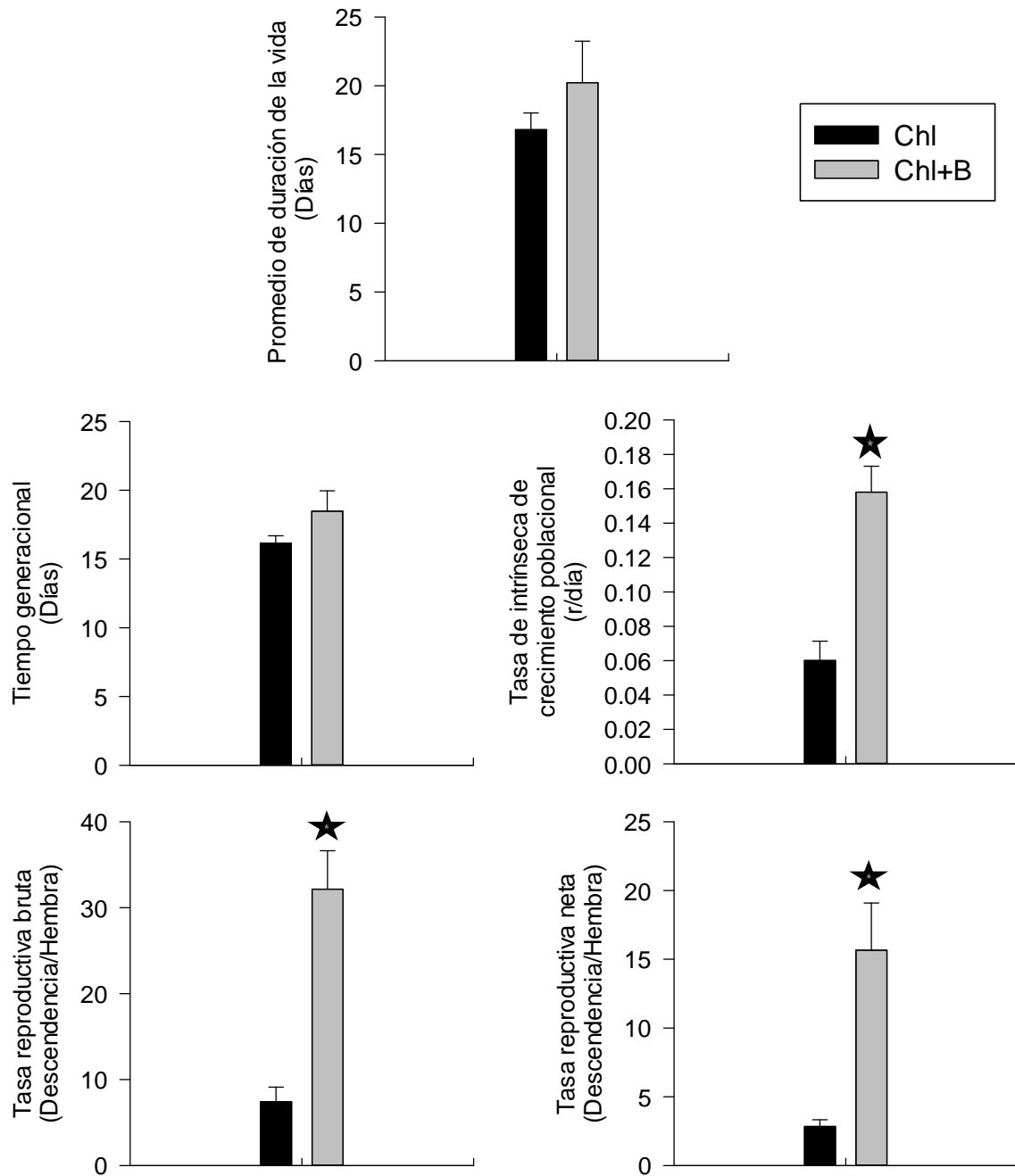


Figura 3. Variables de historia de vida (promedio de vida ($P = 0.324$), tiempo generacional ($P = 0.180$), tasa intrínseca de crecimiento poblacional ($P = <0.001$) y tasas reproductivas bruta ($P = <0.001$) y neta ($P = 0.006$)) de *I. spinifer* alimentadas con *C. vulgari* (Chl) y su combinación con bacterias promovidas por trigo (Chl+B). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en 5 repeticiones. (★) Diferencia estadísticamente significativa (prueba Bonferroni).

Crecimiento poblacional

I. spinifer alimentado con *Chlorella* y su combinación con bacterias promovidas por trigo (ChI+B) presento una densidad poblacional máxima de 435 individuos en el día 46, mientras que los que solo fueron alimentados con el alga (ChI) tuvieron una densidad máxima de 171 individuos en el día 30. Así mismo las tasas de crecimiento poblacional fueron de 0.1260 para ChI y de 0.1037 para ChI+B, no obteniéndose diferencias estadísticamente significativas (Figuras 4 y 5).

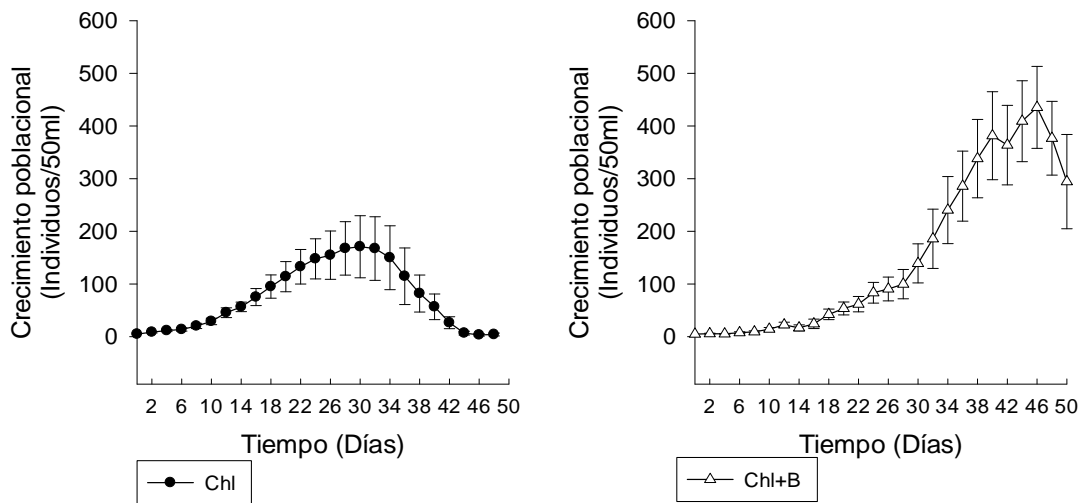


Figura 4. Crecimiento poblacional de *I. spinifer* alimentadas con *C. vulgaris* (ChI) y su combinación con bacterias promovidas por trigo (ChI+B). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en 5 repeticiones.

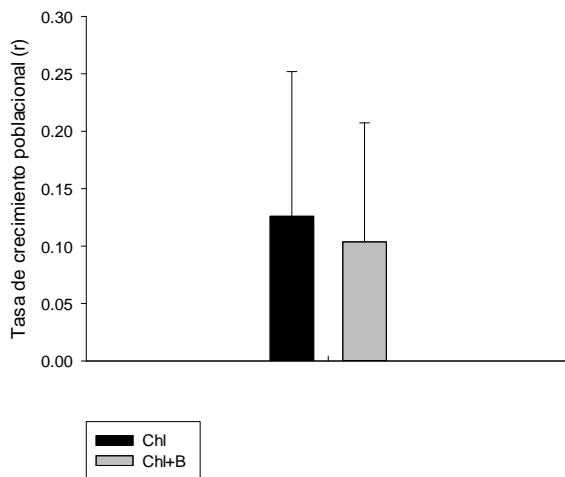


Figura 5. Tasa de crecimiento poblacional de *I. spinifer* alimentadas con *C. vulgaris* (ChI) y su combinación con bacterias promovidas por trigo (ChI+B). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en 5 repeticiones. No hay una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.092$ prueba Bonferroni).

DISCUSIÓN

Sobrevivencia (I_x)

Ilyocryptus spinifer alimentado únicamente con *Chlorella vulgaris* (0.5×10^6 cél/ml) presentó una mortalidad notable a partir del día 14, siendo este comportamiento similar al reportado en la especie *Alona rectangula*, la cual también se alimentó con la misma concentración de algas (Muro-Cruz *et al.*, 2002). Esto puede explicarse debido a que *Alona* es una especie que suele vivir asociada a macrófitas (Kotov, 2006), lo que le asegura una mayor obtención de fitoplancton. Sin embargo, *I. spinifer* cuando solo tiene disponible *Chlorella* presenta una sobrevivencia semejante al de este organismo.

Por el contrario los organismos alimentados con el alga en combinación con bacterias promovidas por trigo (Chl+B), tuvieron una disminución gradual en la sobrevivencia hasta decaer completamente en el día 38. Muro-Cruz *et al.* (2002) reportaron que la sobrevivencia de *Macrothrix triserialis* alimentado con *C. vulgaris* (0.5×10^6 cel/ml), mostró una disminución gradual parecida a la de *I. spinifer*, sin embargo la sobrevivencia de *M. triserialis* fue mayor, siendo casi el doble de la especie utilizada en el presente trabajo. Esto puede deberse a que *Macrothrix* posee un comportamiento más dinámico, similar al de *I. spinifer*, encontrándose ambas tanto en el bentos como en el plancton. Esto les permite tener una mayor opción alimenticia, al tener disponible no solo el fitoplancton presente en la columna de agua, sino también las bacterias asociadas al fondo (Kotov, 2006; Kotov & Stifter, 2006).

Fecundidad (m_x)

Los cladóceros que fueron alimentados con Chl+B presentaron una reproducción temprana (día 8) en comparación con los alimentados solo con *Chlorella*, teniendo una fecundidad baja (<5) pero constante hasta las últimas etapas del experimento (día 32). Coincidiendo con la fecundidad reportada para *M. triserialis* y *A. rectangula*, las cuales presentaron un comportamiento similar, teniendo una fecundidad menor a cinco durante su tiempo de vida, al ser alimentados con *Chlorella* (0.5×10^6 cel/ml) (Muro-Cruz, 2002). Por el contrario, los alimentados con Chl presentaron una reproducción tardía y muy corta (6 días), sin embargo, presentaron un índice de fecundidad alto (17 neonatos/hembra).

Se ha reportado que *Chlorella vulgaris* es una alga deficiente en vitamina B₁₂, la cual está asociada a la reproducción, siendo esta vitamina sintetizada solo por bacterias (Ye *et al.* 1996; Espinoza-Barrera *et al.* 2014). Así mismo, se sabe que en otros organismos, la deficiencia de vitamina B₁₂ en la dieta ocasiona que la descendencia que producen no sea reproductivamente viable (Keating, 1985). Esto explicaría porque *Ilyocryptus* en la dieta solo con Chl, haya tardado en comenzar con su reproducción y que la misma fuese durante un corto periodo de tiempo (durante 6 días). Así mismo se entendería el porqué, los organismo que consumieron Chl+B presentaron una fecundidad menor, pero constante, puesto que la cohorte obtuvo los requerimientos nutricionales necesarios para su reproducción durante todo su periodo de vida (38 días).

Promedio de vida

Los valores del promedio de vida fueron de 17 días para los organismos alimentados con Chl y de 20 días para los individuos con la dieta de Chl+B. Siendo semejantes a las especies *A. rectangula* (17-18 días) y *Pleuroxus aduncus* (8-18 días) que consumieron *Chlorella* (Nandini & Sarma, 2000; Muro-Cruz, 2002), a pesar de ser ambas especies de un tamaño menor al de *I. spinifer*. Por el contrario en especies planctónicas de tamaños pequeños presentan promedios de vida menores, como *Ceriodaphnia cornuta* (16-21 días), en comparación a especies planctónicas de mayor tamaño, tal es el caso de *Daphnia laevis* (25-33 días) (Nandini *et al.*, 2000).

Cabe destacar que si bien especies planctónicas en las que el promedio de vida y el umbral de concentración mínima de alimento se ven influenciados por el tamaño del organismo, observándose que cladóceros más grandes sobreviven mejor con concentraciones menores de alimento en comparación con especies pequeñas (Nandini & Sarma, 2000). Esto puede explicarse porque organismos pequeños al poseer una tasa metabólica más elevada, se ven obligados a consumir diariamente una cantidad de alimento mayor en relación a su peso corporal, en comparación con organismos de mayor tamaño (Curtis *et al.*, 2008).

A pesar de que no hay datos disponibles de los organismos bentónicos en cuanto a esta relación, se puede observar que el tamaño podría no influenciar en estas variables dado a que estas especies no poseen un comportamiento específico. Debido a que no solo se les encuentra en el bentos, sino que también pueden

estar asociados a macrofitas o entrar a formar parte del plancton, por lo que su disponibilidad de alimento es amplia (Nandini & Sarma, 2000; Kotov, 2006).

Tiempo generacional

El tiempo generacional, que se define como el tiempo promedio que pasa entre que nace un individuo y nace su descendencia (Valverde *et al.* 2005), fue de 16 días para los cladóceros alimentados con Chl y de 18 días para la dieta de Chl+B. Estos valores son mayores a los presentados por especies de menor tamaño como *A. rectangula* (10 días) y *P. aduncus* (7-14 días). Sin embargo fueron semejantes a los valores presentados por *M. triserialis* (17-19 días), cuyo tamaño es similar al de *I. spinifer*. Por el contrario el tiempo generacional fue menor al de *Simocephalus vetulus* (22-34 días), el cual posee un tamaño mayor al de la especie utilizada en este trabajo (Nandini & Sarma, 2000; Muro-Cruz, 2002).

Esto se ha observado en diferentes tipos de organismos, los cuales al poseer tamaños pequeños tienen un desarrollo más rápido y una reproducción más temprana, en cambio los organismos de mayor tamaño, se desarrollan más lentamente y comienzan su reproducción a edades más tardías. Ejemplo de ello son los rotíferos *Asplanchna* cuyo tiempo generacional puede ser de 48hr, mientras que para organismo más grandes como los copépodos, su tiempo generacional puede llegar a ser de una a dos semanas (Thorp & Covich, 2010).

Tasa intrínseca de crecimiento de la población y tasas reproductivas

La tasa intrínseca de crecimiento poblacional de los *I. spinifer* alimentado con Chl fue de 0.06 y de 0.158 para los alimentados con Chl+B. Estos valores son menores en comparación a especies pelágicas como *Ceriodaphnia cornuta* (0.246/día) y *Moina macrocopa* (0.602/día). En comparación con otras especies bentónicas como *P. aduncus* (0.149/día) y *S. vetulus* (0.12/día), las tasas intrínsecas de crecimiento poblacional fueron menores en la dieta exclusiva de algas pero parecidas en la de combinación con bacterias. Cabe destacar que a estas especies (*P. aduncus* y *S. vetulus*) se les administró una cantidad mayor de alimento que la proporcionada en este experimento (Nandini & Sarma, 2000). Estas diferencias entre las especies pelágicas y las litorales-bentónicas se deben a que estas últimas en general poseen menores tasas de crecimiento poblacional (Nandini *et al.* 1998). Una de las razones de esto, es que presentan una fase larga de latencia antes de llegar a la fase exponencial de su crecimiento (Smirnov, 1974 citado en Muro-Cruz, 2002).

En cuanto a la tasas reproductiva bruta y neta fueron mayores en la dieta de Chl+B. Se ha observado que en otros cladóceros, como por ejemplo *Daphnia*, la vitamina B₁₂, juega un papel importante en el número de la progenie, ya que al ser privada de dicha vitamina, los organismos no producen una descendencia reproductivamente viable (Keating, 1985).

Los valores observados en las tasas reproductivas y en el crecimiento poblacional entre ambos tipos de dieta, podría deberse al hecho de que solo las bacterias son

capaces de sintetizar la vitamina B₁₂, la cual es deficiente en *Chlorella vulgaris*. Dicha vitamina es esencial para el correcto desarrollo de un organismo dado su papel en las rutas metabólicas (Ye *et al.* 1996; Espinoza-Barrera *et al.* 2014).

CONCLUSIONES

La abundancia poblacional de *I. spinifer* fue de 171 individuos para aquellos que solo fueron alimentados con *Chlorella* (Chl), mientras que la abundancia para los que se alimentaron con el alga y su combinación con bacterias (Chl+B) fue de más del doble (435 ind). No obstante las tasas de crecimiento poblacional fueron de 0.12 ind/día para Chl y de 0.10 ind/día para Chl+B. El análisis 'post-hoc' de Bonferroni mostró que no existieron diferencias significativas en el crecimiento de los cladóceros entre las dietas.

La sobrevivencia de *I. spinifer* fue de 26 días para los que se alimentaron solo con el alga, mientras que aquellos alimentados con *Chlorella* en combinación con bacterias sobrepasaron esta cifra por 12 días (siendo un total de 38 días).

La fecundidad de los cladóceros en relación con su dieta fue muy variable; mientras que aquellos que se alimentaron con el alga en combinación con bacterias presentaron una fecundidad baja, esta fue constante, los que se alimentaron exclusivamente con *Chlorella* presentaron una fecundidad alta en un corto periodo de tiempo (6 días).

Por su parte, el promedio de vida fue de 16 días para los individuos alimentados solo con Chl y de 20 días para los alimentados con Chl+B ($P = 0.332$, ANOVA). El análisis 'post-hoc' de Bonferroni mostró que no existieron diferencias significativas entre las dietas.

En el tiempo generacional no existieron diferencias significativas entre las dietas.

La tasa intrínseca de crecimiento poblacional fue de 0.06/día para *Chlorella* y de 0.16/día para el alga en combinación con bacterias. El análisis de Bonferroni mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre las dietas.

La tasa de reproducción bruta fue mayor para los individuos alimentados con Chi+B (32 neonatos por hembra) y de 7 neonatos por hembra para aquellos alimentados solo con el alga. El análisis de Bonferroni mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre las dietas.

La tasa reproductiva neta fue de 2 neonatos por hembra para los cladóceros alimentados con *Chlorella* y de 15 para su combinación con bacterias. El análisis 'post-hoc' de Bonferroni mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre las dietas.

REFERENCIAS

- Acharya, K.; Jack, D. J. & Bukaveckas, P. 2005. Dietary effects on life history traits of riverine *Bosmina*. *Freshwater Biology* 50: 965–97
- Benider A, Tifnouti A, Pourriot R. 2002. Growth of *Moina macrocopa* (Straus 1820) (Crustacea, Cladocera): influence of trophic conditions, population density and temperature. *Hydrobiology* 468:1-11 p.
- Cervantes-Martínez, A.; Gutiérrez-Aguirre, M. & Elías-Gutiérrez, M. 2000. Description of *Ilyocryptus nevadensis* (branchiopoda, anomopoda), a newspecies from a high altitude crater lake in the volcano Nevado de Toluca, Mexico. *Crustaceana* 73 (3): 311-321
- Curtis, H.; Barnes, N. S.; Schnek, A. & Massarini, A. 2008. *Biología*. 7°. Panamericana. España. Capítulo 38: Tasa metabólica y regulación térmica, 730-739
- Dodson, S. I. & Frey, D. G. 1991. *Cladocera. Ecology and Classification and of North American Freshwater Invertebrates*. 2°. Academic Press. USA. 850-891 pp.
- Downing, J A. & Rigler, F. H. 1984. *A manual for the methods of assessment of secondary productivity in fresh waters*. 2°. IBP Handbook 17. Blackwell Scientific Publication. England. 501 pp.
- Elías-Gutiérrez, M.; Suárez-Morales, E.; Gutiérrez-Aguirre, M. A.; Silva-Briano, M.; Granados-Ramírez, J. G. & Grafías-Espejo, T. 2008. *Cladocera y Copepoda de las aguas continentales de México. Guía ilustrada*. UNAM. (FESI), CONABIO, ECOSUR, CONACyT, SEMARNAT. México. 7-127 pp.

- Espinoza-Barrera, U.; Flores-Arizmendi, A. K.; González-Pérez, A.; González-Velasco, C. J.; Castro-Mejía, J.; Castro-Mejía, G. & Castañeda-Trinidad, H. 2014. Producción controlada de *Brachionus patulus* Müller 1786, utilizando como alimento cuatro dietas a base de microalgas verdes unicelulares en laboratorio. Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente. 1 (5): 11-17
- Flores-Burgos, J.; Sarma, S. S. S. & Nandini, S. 2003. Population growth of zooplankton (rotifers and cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in different proportions. Acta Hydrochim. et Hydrobiol. 31(3): 1-9
- Keating, K. I. 1985. The Influence of Vitamin B₁₂ Deficiency on the Reproduction of *Daphnia pulex* Leydig (Cladocera). Journal of Crustacean Biology. 5(1): 130-136
- Kotov, A. A. & Dumont, H. J. 2000. Analysis of the *Ilyocryptus spinifer*-species group (Anomopoda, Branchiopoda), with description of a new species. Hydrobiologia 428: 85–113
- Kotov, A. A. & Stifter, P. 2006. Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World. Cladocera: Family Ilyocryptidae (Branchiopoda: Cladocera: Anomopoda). Backhuys Publishers & Kenobi Productions. The Netherlands & Belgium.
- Kotov, A. A. & Williams, J. L. 2000. *Ilyocryptus spinifer* Herrick 1882 (Anomopoda, Branchiopoda): a redescription based on North American material and designation of a neotype from Minnesota. *Hydrobiologia* 428: 67–84

- Kotov, A. A. 2006. Adaptations of Anomopoda Crustaceans (Cladocera) to the Benthic Mode of Life. *Entomological Review*. 86 (2): 210-225
- Krebs, C.J. 1985. *Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance*. 3°. Harper and Row, New York.
- Lemke, A. M.; Lemke, M. J. & Benke, A. C. 2006. Importance of detrital algae, bacteria, and organic matter to littoral microcrustacean growth and reproduction. *Limnol. Oceanogr.* 52 (5): 2164–2176
- Lundstedt, L. & Brett, M. T. 1991. Differential growth rates of three cladoceran species in response to mono- and mixed-algal cultures. *Limnol. Oceanogr.*, 36 (1): 159-165
- Margalef, R. 1983. *Limnología*. Omega, Barcelona. 1009 pp.
- Martínez-Jerónimo F, Villaseñor R, Ríos G y Espinosa F 1994. Effect of food type and concentration on the survival, longevity, and reproduction of *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 287:207-214 p.
- Monacov, A. B. 2003. *Feeding of Freshwater Invertebrates. Cladocera*. Kenobi. Belgica. 138-142pp.
- Muro-Cruz, G.; Nandini, S. & Sarma, S. S. S. 2002. Comparative Life Table Demography and Population Growth of *Alona rectangula* and *Macrothrix triserialis* (Cladocera: Crustacea) in Relation to Algal (*Chlorella vulgaris*) Food Density. *Journal of Freshwater Ecology*, 17 (1): 1-11
- Nandini, S. & Sarma, S. S. S. 2000. Lifetable demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia* 435: 117–126

- Nandini, S. & Sarma, S. S. S. 2003. Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Hydrobiologia* 491: 211–219
- Nandini, S.; Sarma, S. S. S. & Ramakrishna, R. T. 1998. Effects of co-existence on the population growth of rotifers and cladocerans. *Russian Journal of Aquatic Ecology*. 7: 1-10
- Nandini, S.; Sarma, S. S. S. & Ramírez-García, P. 2000. Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera, Anomopoda) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana* 73 (10): 1273-1286
- Otero, P. A.; Muñoz P. M.; Medina-Robles, V. & Cruz-Casallas, P. 2013. Efecto del alimento sobre variables productivas de dos especies de Cladóceros bajo condiciones de laboratorio. *Rev. MVZ Córdoba* 18(Supl): 3642-3647
- Porter, K.G. & Feig Y.S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* 25(5):943-948.
- Ruppert, E. E. & Barnes, R. D. 1996. *Zoología de los invertebrados*. McGraw-Hill. Interamericana. México. 854 pp.
- Santos-Wisniewski, M.J.; Rocha, O. & Matsumura-Tundisi, T. 2006. Aspects of the life cycle of *Chydorus pubescens* Sars, 1901 (Cladocera, Chydoridae). *Acta Limnol. Bras.*, 18 (3): 305-310
- Sarma, S. S. S. & Nandini, S. 2001. Life table demography and population growth of *Brachionus variabilis* Hempel, 1896 in relation to *Chlorella vulgaris* densities *Hydrobiologia* 446/447: 75-83

- Stifter, P. 1991. A review of the genus *Ilyocryptus* (Crustacea: Anomopoda) from Europe. *Hydrobiologia* 225: 1-8
- Thorp, J. H. & Covich, A. P. 2010. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. 3°. Elsevier. Canadá. Capítulo 8: Rotífera 173-234 y Capítulo 21: Copépoda 829-899
- Valverde, V. T.; Meave, C. J. A.; Carabias, L. J. & Cand-Santana, Z. 2005. Ecología y medio ambiente. Pearson Educación. México. 240
- Vaqué, D. & Pace, M. L. 1992. Grazing on bacteria by flagellates and cladocerans in lakes of contrasting food-web structure. *Journal of Plankton Research* 1 (2): 307-32
- Wetzel, R. G. 1995. Death, detritus, and energy flow in aquatic ecosystems. *Freshwater Biol.* 33: 83–89.
- Wetzel, R. G. 2001. Limnology: Lake and river ecosystems, 3°, Academic Press.
- Ye, K.; Shijo, M.; Jin, S. & Shimizu, K. 1996. Efficient production of vitamin B₁₂ from propionic acid bacteria under periodic variation of dissolved oxygen concentration. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 82 (5): 484–491
- Yoshida, T; Jones, L. E.; Ellner, S. P.; Fussmann, G. F. & Hairston, N. G. 2003. Rapid evolution drives ecological dynamics in a predator–prey system. *NATURE* 424: 303-306
- Zou, E. 1997. Effects of sublethal exposure to zinc chloride on the Reproduction of the water flea, *Moina irrasa* (Cladocera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58: 437-441

ANEXOS

Anexo 1.

Medio de Cultivo Bold Basal

1. Nitrato de Sodio (NaNO_3)	250 g/L
2. Sulfato de Magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	75 g/L
3. Fosfato de Potasio bibásico (K_2HPO_4)	75 g/L
4. Fosfato de Potasio monobásico (KHPO_4)	75 g/L
5. Cloruro de Sodio (NaCl)	25 g/L
6. EDTA	50 g + 31 g de KOH/L
7. Sulfato de fierro ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	4.98 g + 1 ml de H_2SO_4
8. Ácido Bórico (H_3BO_3)	11.42 g/L
9. Cloruro de Calcio (CaCl_2)	25 g/L

10. ELEMENTO TRAZA

• Cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.44 g/L
• Trióxido de Molibdeno (MoO_3)	0.71 g/L
• Sulfato de cobre (CuSO_4)	1.75 g/L
• Nitrato de Cobalto ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2$)	0.49 g/L
• Sulfato de Zinc (ZnSO_4)	8.82 g/L

Anexo 2.

Tabla 1. Análisis de Varianza (ANOVA) de promedio de vida ($P = 0.324$), tasa reproductiva bruta ($P = <0.001$), tasa reproductiva neta ($P = 0.006$), tiempo generacional ($P = 0.180$) y tasa intrínseca de crecimiento poblacional ($P = <0.001$).

Fuente de variación	gl	sc	cm	f
Promedio de vida				
Entre grupos	1	29.173	29.173	1.106
Dentro del grupo	8	211.000	26.375	
Total	9	240.173		
Tasa reproductiva bruta				
Entre grupos	1	1527.863	1527.863	26.693
Dentro del grupo	8	457.900	57.237	
Total	9	1985.763		
Tasa reproductiva neta				
Entre grupos	1	410.881	410.881	13.696
Dentro del grupo	8	240.004	30.001	
Total	9	650.885		
Tiempo generacional				
Entre grupos	1	13.550	13.550	2.157
Dentro del grupo	8	50.260	6.282	
Total	9	63.810		
Tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r)				
Entre grupos	1	0.0240	0.0240	27.178
Dentro del grupo	8	0.00705	0.000882	
Total	9	0.0310		

Anexo 3.

Cervantes-Martínez *et al.*, (2000) describió una nueva especie de cladóceros procedente de un lago cráter, localizado en el volcán Nevado de Toluca, México; pertenece al género *Ilyocryptus* y se distingue principalmente por una combinación de características que incluyen una muda incompleta; la abertura del ano localizada en el lado distal del postabdomen, el cual se encuentra armado con espinas móviles laterales a lo largo de la mayor parte de su longitud y sin formación de lóbulos dorsales. En la concha se presenta espinas defensivas bifurcadas. Estos organismos constituyen el primer registro de un iliocriptido en un

lago cráter de gran altitud e incrementan el número de especies conocidas para México. En el caso del nuevo mundo llegan a nueve especies, la mayoría de ellas diferentes a las europeas, por lo que se confirma una vez más el no cosmopolitanismo de la mayoría de estos cladóceros.

Kotov & Dumont (2000) estudiaron la morfología y la variabilidad de *Ilyocryptus spinifer* de diferentes partes del mundo a través de microscopía óptica y SEM. El análisis morfométrico no reveló diferencias regionales significativas entre poblaciones. Los siguientes nombres de las especies de los miembros del grupo *Ilyocryptus spinifer*, *I. halyi* Brady, 1886; *I. longiremis* de Sars, 1888; *I. immundus* F. Mueller en Ihering, 1895; *I. verrucosus* Daday, 1905; y *I. tetraspinatus* Berganim de 1939, son sinónimos menores de *I. spinifer*. Describen una nueva especie de este grupo en Queensland, Australia. *Ilyocryptus timmsi* n. sp. muestra caracteres morfológicos únicos en la armadura de las setas laterales de natación del endopodio antenal, su segmento apical y las garras postabdominal.

Kotov & Williams (2000) redescubrieron la morfología de *Ilyocryptus spinifer* basándose en material procedente de EE.UU. y Canadá. Analizaron la variabilidad morfológica, y designaron el neotipo de esta especie desde el lago Alice Bog, Minnesota, EE.UU. Describieron por primera vez los machos, hembras y efipios para las poblaciones de América del Norte. Discutieron críticamente las descripciones históricas de autores norteamericanos anteriores conocidos encontrando una sola especie de *I. spinifer* s. lat. grupo de especies está presente

en EE.UU. y Canadá, *Ilyocryptus longiremis* SARS 1888 siendo un sinónimo menor de *I. spinifer*.

Elmoor-Loureiro (2004) estudió las anomalías morfológicas del cladóceros *Ilyocryptus spinifer*. Tomó una muestra del Embalse Apipucos (Recife, PE, Brasil) para el estudio taxonómico, encontrando un alto porcentaje (40%) de individuos de *Ilyocryptus spinifer* con anomalías morfológicas en su postabdómen. No observó un patrón fijo de las malformaciones, las cuales variaron en cuanto a su gravedad, y podía afectar las espinas postanal o garras terminales. Se estableció la hipótesis de que las anomalías morfológicas podrían ser inducidas por un medio ambiente tóxico ocasional, dado que los huevos producidos por adultos anormales daban como resultado, sin excepción, individuos jóvenes con postabdómenes normales.