



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

EFFECTO INTERESPECÍFICO DE LOS ALELOQUÍMICOS DE CUATRO ESPECIES  
DE BRACHIONIDAE (ROTIFERA: MONOGONONTA) SOBRE LAS VARIABLES  
DEMOGRÁFICAS

TESIS

Que para obtener el título de

Biólogo

Presenta

José Antonio Guevara Franco

Director de Tesis: Dr. S.S.S. Sarma



Los Reyes, Iztacala, Tlanepantla, Edo. de Méx.

Marzo de 2017



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.

# Dedicatoria

*Con más amor que orgullo, con más alegría que dedicación  
y con más esperanza que esfuerzo, dedico este trabajo a  
quienes me lo han dado todo. Me habría encantado  
responder de la misma manera que ustedes han  
luchado por mí. Gracias por su trabajo, su  
empeño, su cansancio y cada sacrificio  
que han hecho por mí. Esta Tesis es  
suya, papás. Los ama siempre,  
y les queda eternamente  
agradecido, su Toñito.*

# Agradecimientos

A José Antonio Guevara Sánchez y Edith Franco López. Mis maestros, mis ejemplos, mis guías: mis padres. Por darme la vida y privilegiarme con su dedicación y entrega. Porque sus recursos, más allá de los económicos, siempre han sido el amor, la tolerancia y el deseo de darme las mejores enseñanzas y herramientas para desenvolverme por mí mismo a pesar de cualquier limitación. Porque siempre han sido mi fuerza, mi inspiración, mi modelo y mi hogar. Porque de ustedes aprendí que no importa de qué se dispone, sino cómo se aprovecha. Por enseñarme a trabajar y a valerme por mis propios medios. Por darme lo mejor que han podido y por cobijarme con su confianza, su apoyo y su cariño.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por facilitarme la formación académica media-superior y profesional. Por permitirme progresar y aspirar a una vida mejor.

Al Doctor Sarma por la paciencia y el gran apoyo que me ha brindado para crecer académicamente y por compartir su experiencia conmigo, así como su confianza, sus bromas y sus anécdotas.

Al resto de mis sinodales por sus aportaciones valiosas para el mejoramiento de este escrito: Dra. Nandini Sarma, Dr. Pedro Ramírez García, Dr. Gerardo García García y Dr. Jorge Jiménez Contreras.

A mis hermanos, por ayudarme de tantas maneras, cada uno a su modo y según sus posibilidades, pero siempre con la mejor disposición y ese cariño único que los distingue. A Daniel por enseñarme a reír, a seguir adelante, a sacudirme los problemas. A Rosa, por mostrarme que la vida sigue, que uno debe ser feliz para sí mismo. Que, aun muerto de miedo, no debo retirarme de la batalla. A Ceci, por esa amistad tan característica, por tu apoyo, nuestras peleas, tantas risas y un cariño tan especial, por ponerme los pies sobre la tierra. A Isaías, porque aun siendo el más pequeño (y el más grande), me has dado lecciones de vida, por tu nobleza, por tu humor, por sorprenderme con esa inteligencia que te define.

A mi Brendita, mi sueñorita, mi mujer. Por estar siempre conmigo, por todos los momentos y experiencias que hemos vivido juntos. Por crecer junto conmigo como personas y como pareja. Por tu apoyo incondicional e invaluable. Por tanta felicidad que has impreso a mi vida. Por ser mi lucecita de vida, mi ancla en este mundo. Por aceptar este corazón y cuidarlo con tanto cariño. Por confiarme tu alma, tus temores, tus alegrías y tu fragilidad. Por ser una amiga verdadera, un refugio seguro, un amor definitivo. Por fortalecerme y respaldarme. Porque

ninguna cantidad de páginas sería suficiente para describir todo lo que siento por ti. Por tu sonrisa, tu mirada, tu amor.

A mis hermanos de vida, Rodrigo Alba y Juan Carlos Chávez. Gracias por esta amistad de tanto tiempo. Porque siempre estamos ahí cuando cualquiera nos necesita. Por ser amigos genuinos. Por cada experiencia que nos ha marcado y que nos ha hecho inseparables. Porque vivimos una de las mejores etapas juntos y sigue vigente a pesar de los años.

A mi tío Saúl, por tu confianza y tu apoyo desde hace más de 10 años. Gracias por tener esos gestos tan generosos y por darme mi primera computadora para apoyarme en mis estudios y también la última, en la cual escribí parte importante de los trabajos de mi licenciatura e incluso gran parte de esta Tesis. Gracias porque sé que sin tu ayuda habría sido mucho más duro poder llegar a este punto. Porque aun siendo casi desconocidos, no dudaste en apoyarme. Porque a pesar de las distancias en tiempo y en espacio, sigues pendiente de mí.

A mi tío Paco. Por ser un objetivo a vencer y por ser un reto, un benefactor y un consultor confiable, por siempre despertar mi curiosidad por el conocimiento y por darte tiempo de mostrarme cosas nuevas.

A todo el laboratorio de Zoología Acuática I y II: Cristian, Ligia, César, Rosita, Manuel, Michael, Toño, Brenda, Aarón, Ramsés, Aldo, Saida, Beto, Gerardo, Almita, Jorge, Noelia y quien se le haya escapado a mi memoria corta. Gracias por ser buenos amigos en tan poco tiempo y por ser tan espléndidos, generosos y desinteresados. Gracias por todo lo que me han enseñado, compartido y enfiestado.

Al CONACyT por su apoyo económico (a través del apoyo como ayudante de investigador, Exp. ayte. 11661) sin el cual el reto de terminar mis estudios superiores habría sido casi infranqueable.

*"De mi cuerpo en descomposición,  
flores crecerán.  
Y yo estaré en ellas  
y eso es eternidad."*

*Edward Munch.*

# Índice

<b>1. RESUMEN</b> .....	1
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>3. ANTECEDENTES</b> .....	12
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b> .....	15
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	16
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	18
6.1 Cultivo de microalga .....	18
6.2 Cultivo de rotíferos .....	18
6.3 Medio acondicionado con aleloquímicos ( <i>B. calyciflorus</i> y <i>P. patulus</i> ) .....	19
6.4 Crecimiento poblacional .....	19
6.5 Tabla de vida .....	21
<b>7. RESULTADOS</b> .....	23
<b>7.1 Crecimiento poblacional</b> .....	23

7.1.1 Efecto de aleloquímicos de <i>B. calyciflorus</i> sobre otros brachionidos .....	23
7.1.2 Efecto de aleloquímicos de <i>P. patulus</i> sobre otros brachionidos .....	28
<b>7.2 Tabla de vida</b> .....	<b>33</b>
7.2.1 Efecto de los aleloquímicos de <i>B. calyciflorus</i> sobre otros brachionidos .....	33
7.2.2 Efecto de los aleloquímicos de <i>P. patulus</i> sobre otros brachionidos .....	39
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	<b>47</b>
8.1 Crecimiento poblacional .....	47
8.2 Tabla de vida .....	48
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	<b>53</b>
<b>10. LITERATURA CITADA</b> .....	<b>54</b>
<b>11. ANEXO</b> .....	<b>66</b>

# 1. Resumen

El zooplancton es un elemento importante de los sistemas acuáticos epicontinentales. Las interacciones entre los organismos que lo integran se dan en mayor medida por la competencia por recursos. En términos de biomasa, los rotíferos llegan a conformar más del 30% del zooplancton de un cuerpo de agua; su presencia relativa se ve afectada por su competencia interespecífica. La competencia indirecta mediante señales químicas (infoquímicos) se da sobre todo a niveles interespecíficos. Los infoquímicos son productos químicos que los organismos acuáticos liberan continuamente y pueden ser utilizados por otros como información química. Los infoquímicos interespecíficos reciben el nombre de aleloquímicos. Las interacciones interespecíficas mediadas por aleloquímicos sobre aspectos demográficos en rotíferos no se han estudiado suficientemente y siguen debatiéndose. El presente estudio evaluó los efectos interespecíficos de los aleloquímicos de *Brachionus calyciflorus* y *Plationus patulus* sobre las variables demográficas de otras cuatro especies de rotíferos monogonontos. Tanto en los experimentos de crecimiento poblacional como los de tabla de vida se observó que los aleloquímicos de *P. patulus* afectaron adversamente la mayoría de las variables demográficas de las especies sobre las cuales fueron utilizadas. Los aleloquímicos de *B. calyciflorus* no tuvieron efectos significativos en la mayoría de variables demográficas de las especies sobre las cuales fueron utilizadas.

Palabras clave:

*Aleloquímicos, demografía, competencia indirecta, interacción interespecífica, Brachionus.*

## 2. Introducción

Cualquier acumulación de agua que se encuentre en el interior del continente, ya sea de manera superficial o en el subsuelo, puede considerarse un cuerpo de agua epicontinental. Según el tiempo que el agua permanece en un determinado cuerpo de agua, estos se pueden dividir principalmente en sistemas lóticos y lénticos (Wetzel, 2001). Los sistemas en los que fluye el agua y tienen una corriente fuerte, –como los ríos– son llamados lóticos –del latín *lotus*, lavar– debido al movimiento del agua. Por otro lado los sistemas de aguas estancadas, sin corrientes considerables, se denominan lénticos –del latín *lenis* lento, quieto–. En este grupo se incluyen los estanques, lagunas, lagos, etc. (Margalef, 1983; Wetzel, 2001).

Los lagos son cuerpos de agua naturales que se depositan en alguna cuenca o depresión y no tienen comunicación directa con el mar. Son permanentes y, por lo general, con superficies relativamente extensas. En su mayoría son sistemas abiertos y presentan distintos tipos de corrientes de agua que la llevan hacia ellos, los atraviesan y posteriormente la desalojan (Margalef, 1983; Wetzel, 2001). Su presencia es sumamente importante como fuente de recursos alimenticios, agua potable, esparcimiento, paisajismo y por la diversidad biológica que albergan (Lampert y Sommer, 2007).

En los lagos la diversidad biológica se compone, en sus niveles básicos, por productores primarios (fitoplancton) y consumidores primarios (zooplancton). El

fitoplancton se conforma principalmente por un conjunto de microalgas y/o bacterias fotosintéticas con capacidades de locomoción nulas –o muy limitadas– cuya distribución se da en función de los movimientos del agua (Wetzel, 2001). Por su parte el zooplancton se compone principalmente por copépodos, cladóceros, rotíferos y protozoos. Su importancia es determinante en la eficiencia de la red trófica, ya que representan un vínculo entre los productores primarios y los consumidores secundarios. Ello se debe a que son las presas ideales de un gran número de invertebrados y algunos vertebrados durante las etapas tempranas de crecimiento (Wallace y Snell, 2001; Zingel y Haberman, 2008).

Dentro de las poblaciones que integran la comunidad del zooplancton, los rotíferos juegan un papel muy importante debido, entre otros factores, a su reproducción alta. Más allá de la talla relativamente pequeña de los individuos, en diversos casos son numéricamente más abundantes que otros grupos del zooplancton (cladóceros y copépodos). En condiciones de eutrofia, o bien cuando los cladóceros están sometidos a una depredación intensa u otros factores adversos, los rotíferos dominan el zooplancton en términos de biomasa (Margalef, 1983; García *et al.*, 2007). Por ello, suelen constituir la mayor parte del flujo de energía en el nivel trófico de los consumidores (Makarewicz y Likens, 1979).

Los rotíferos son metazoos cuyo tamaño oscila entre (50 a 2000  $\mu\text{m}$ ) (Wallace *et al.*, 2006b; Fontaneto y De Smet, 2015) e incluyen especies libres nadadoras, algunas sésiles y otras pocas coloniales (Segers, 2008). El phylum Rotifera está conformado por 120 géneros y alrededor de 2,100 especies divididas en dos clases: Pararotatoria (con el orden Seisonacea) y Eurotatoria (que incluye a las

subclases Bdelloidea y Monogononta) (Fontaneto y De Smet, 2015). Es importante señalar que sólo los rotíferos monogonontos se consideran realmente planctónicos, mientras los otros se consideran bento-litorales o epizoicos (Starkweather, 1996). Estos organismos están conformados por alrededor de 1000 células (Pourriot, 1991) y son eutélicos –el número de células que los conforman es invariable a lo largo de su vida– (Nogrady, 1993). Sus cuerpos tienen forma de sacos o bolsas ligeramente cilíndricos, en los que se pueden distinguir tres porciones o pseudosegmentos. La porción anterior –cabeza– donde se localiza la corona ciliar, el tronco –la porción más gruesa, que aloja la mayoría de órganos– y el pie, ubicado posteriormente y que puede o no incluir a los dedos (Wallace *et al.*, 2006a).

Los rotíferos poseen dos características diacríticas: un órgano faríngeo de masticación –el mástax– y una estructura ciliar anterior –conocida como corona– (Nogrady, *et al.*, 1993, Wallace *et al.*, 2006b). El mástax es una faringe muscular que se compone de 7 piezas quitinosas que, en conjunto, reciben el nombre de trophi. Exceptuando a los machos, el trophi está presente en todos los rotíferos y es de gran importancia taxonómica, ya que se utiliza para la identificación de géneros y especies. Por otro lado, la corona ciliar es responsable de la locomoción y la alimentación mediante la creación de microcorrientes que dirigen las partículas en suspensión hacia la región oral (Wallace y Snell, 2001).

Gran parte de los rotíferos tienen la capacidad de seleccionar su alimento entre las partículas que se encuentran suspendidas en el agua. Para ello, se requiere el uso de estructuras quimio y mecanoreceptoras bien desarrolladas.

Independientemente de su ubicación o su capacidad sensorial, prácticamente todas las estructuras sensoriales que se infiere que están involucradas en la alimentación de los rotíferos son cilios, ya sea que estén dispuestos individualmente o en conjuntos. Comúnmente los cirros –proyecciones inervadas de varios cilios– se consideran mecanoreceptores. Los cilios presentes en poros o canales son considerados quimiorreceptores y son los responsables de detectar e interpretar las señales químicas presentes en el ambiente.

Una parte importante de estas funciones son llevadas a cabo por uno o varios conjuntos de cilios localizados en la corona y la faringe. Estas capacidades, en conjunto con las conductas asociadas para la recolección de alimento, controlan la cantidad de alimento que ingiere cada individuo (Starkweather, 1996).

De acuerdo a su función, estos receptores se categorizan como receptores anterocoronales, receptores del tracto bucal y receptores del mástax (Clément *et al.*, 1983).

Los rotíferos son organismos ectotérmicos por lo que, evidentemente, la temperatura afecta sus procesos metabólicos (Halbach, 1973). Algunos rasgos como la eclosión de los huevos, la edad de madurez sexual y la tasa de producción de huevos se aceleran en temperaturas altas, aunque la esperanza de vida se ve disminuida. Las temperaturas bajas suelen tener el efecto opuesto en estas variables (Sarma y Rao, 1991). Incluyendo al género *Brachionus*, los rasgos de la historia de vida de muchos géneros de rotíferos son controlados por varios aspectos, tanto bióticos como abióticos. Dentro de los últimos, la temperatura, la

calidad y la cantidad de alimento son dos de los factores más importantes (Edmonson, 1965). Generalmente se considera que un incremento en la densidad del alimento disponible aumenta el número de descendientes de los rotíferos, lo que es cierto para algunas especies de Brachionidos (Sarma *et al.*, 1999).

En condiciones naturales los niveles de alimento y la temperatura presentan un efecto sinérgico. La energía que se destina a ser invertida en la reproducción se da en función de la cantidad de alimento disponible y el consumo del mismo. Por otro lado, la magnitud de la reproducción varía con relación a la temperatura (Sarma y Rao, 1990).

La depredación es un factor trascendental en la estructura de la comunidad del zooplancton en los sistemas acuáticos naturales, ya que estos organismos soportan niveles de estrés por depredación altos (Kerfoot y Sih, 1987; García *et al.*, 2007). En todos los ambientes, las relaciones depredador-presa constituyen un mecanismo que regula las comunidades (Dumont *et al.*, 1990). La eficiencia de los depredadores para establecer un balance entre la disminución del número de presas y su propio crecimiento poblacional obedece a diversos factores. Algunos de ellos son las propiedades de los infoquímicos liberados por los depredadores, la vulnerabilidad de la presa, su densidad poblacional y su velocidad de reposición mediante reproducción. (Sarma y Nandini, 2007; Pavón-Meza *et al.*, 2008).

En el funcionamiento y la estructura de las comunidades de los sistemas acuáticos, el flujo de energía entre diferentes niveles tróficos es tan importante como la interacción entre los organismos de tales niveles (Nandini *et al.*, 2014).

Las interacciones que se dan en mayor medida en ambientes acuáticos se deben a la competencia por recursos (Matveev, 1983).

Además de la depredación, la competencia es uno de los factores principales en la estructuración de la comunidad del zooplancton en cualquier sistema acuático (DeMott, 1989; Dumont *et al.*, 1990). Los estudios de las diferentes interacciones en el zooplancton bajo condiciones experimentales han revelado la existencia de dos tipos principales de competencia: por explotación y por interferencia. La competencia por explotación sucede cuando las demás especies agotan rápidamente el alimento en condiciones limitadas. Por otro lado, la competencia por interferencia ocurre cuando una especie de zooplancton obstaculiza mecánicamente o daña al competidor (Romanovsky y Feniova, 1985; Gilbert, 1988).

La competencia entre los grupos del zooplancton está influenciada por diversos factores como la concentración de alimento, la calidad nutricional de la dieta, las densidades iniciales relativas de las especies competidoras y la temperatura (Rothhaupt, 1988, 1990; DeMott, 1989; Sarma *et al.*, 1999, 2008).

Como respuesta a depredadores o competidores, una misma especie puede responder de diferentes maneras (Van Donk, 2007). Las diferentes respuestas de los rotíferos ante alteraciones en su medio conllevan cambios en su historia de vida y en sus patrones de reproducción y supervivencia. Un ejemplo son las respuestas morfológicas distintas que los rotíferos generan para minimizar el riesgo de ser consumidos por diferentes depredadores. Estas respuestas suelen

ser el aumento en el tamaño del cuerpo, apéndices o espinas (Weetman y Atkinson, 2002; Pavón-Meza *et al.*, 2007). Otro tipo de respuestas son los descensos de las tasas reproductivas y/o el desarrollo de neonatos de talla mayor al entrar en contacto con productos químicos de invertebrados (Verschoor, 2005). Los rotíferos son capaces de detectar mediante señales químicas tanto a los miembros de su especie como a individuos de otras especies, así como a sus presas o depredadores potenciales (Wallace y Snell, 2010).

Dado que ocurren de manera indirecta, las interacciones de competencia que se dan principalmente de manera interespecífica mediante señales químicas son menos conocidas. Éstas se ven favorecidas por la liberación de infoquímicos por parte de los organismos (Seitz, 1984; Van Donk, 2007).

Los infoquímicos son una mezcla de productos químicos que los organismos acuáticos liberan continuamente y pueden ser utilizados como información química, posibilitando interacciones entre dos organismos. Su resultado se refleja en una respuesta adaptativa en el organismo receptor (Verschoor *et al.*, 2007; Brönmark y Hansson, 2012). Debido a sus efectos en las interacciones tróficas, los infoquímicos también pueden desempeñar un papel significativo en la estructura y el funcionamiento de las redes tróficas acuáticas (Verschoor, 2007).

En la ecología acuática los infoquímicos son muy relevantes, ya que pueden afectar diversos parámetros –algunos demográficos– de diferentes organismos (Peña-Aguado *et al.*, 2008) y pueden estimular o inhibir el crecimiento de poblaciones diferentes a aquella que las produce (Mitchell y Carvalho, 2002). Esto

hace importante conocer el aporte de cada especie en la interferencia química y en otras interacciones competitivas (Rice, 1974).

Existen dos clases principales de infoquímicos: los intraespecíficos y los interespecíficos (Verschoor *et al.*, 2007). Los infoquímicos intraespecíficos como las feromonas –que facilitan la interacción entre organismos pertenecientes a la misma especie– inducen cambios en la historia de vida de la propia especie. Un ejemplo de ello pueden ser los cambios en la demografía de la especie, ya sea de manera indirecta –por ejemplo, afectando la alimentación– o directa –por ejemplo, incidiendo sobre el crecimiento poblacional– (Gilbert, 2003; Brönmark y Hansson, 2012).

Los infoquímicos interespecíficos –que posibilitan la interacción entre dos organismos de especies diferentes– reciben el nombre de aleloquímicos y también pueden presentar efectos directos –por ejemplo, retrasos en el período de fecundidad– o indirectos –como aumentos o decrementos de las tasas de alimentación–, tanto de una misma especie como de especies diferentes (Matveev, 1993; Brönmark y Hansson, 2012).

En poblaciones zooplanctónicas es predecible un cambio demográfico como consecuencia de la reducción de su fecundidad y su densidad poblacional (McCauley *et al.*, 1999). Se ha planteado la posibilidad de que los aleloquímicos tengan otros impactos demográficos sobre las dinámicas de población, la estructura de las comunidades y la coexistencia de especies (Vet, 1999). Sin embargo las interacciones interespecíficas mediadas por aleloquímicos de

especies que cohabitan en un sistema, cuyo impacto se refleja en sus aspectos demográficos, se han estudiado muy poco (Tollrian y Harvell, 1999).

La tasa de crecimiento poblacional  $r$  es uno de los factores determinantes en la superioridad competitiva de las especies de zooplancton. A pesar de ello, es claro que no ha sido suficientemente documentada (Lynch, 1978; Sarma *et al.*, 1996). En rotíferos, la  $r$  parece ser dependiente del tamaño del cuerpo; por ejemplo, bajo condiciones de cultivo óptimas las especies más grandes generalmente tienen tasas de crecimiento mayores que las especies más pequeñas (Sarma *et al.*, 2008).

Los estudios poblacionales –por ejemplo, las variaciones en las densidades poblacionales o los cambios en las variables demográficas usando tablas de vida– brindan mayor flexibilidad y sensibilidad para cuantificar las compensaciones entre la reproducción y el crecimiento corporal al presentarse fluctuaciones en las condiciones ambientales. Tales fluctuaciones incluyen la presencia de aleloquímicos de depredadores como *Asplanchna* (Wallace *et al.*, 2006a; Pavón-Meza *et al.*, 2007). Al mismo tiempo, las tablas de vida son un elemento importante para comprender diversos parámetros de las dinámicas poblacionales –tasas de crecimiento poblacional, fecundidad, supervivencia, esperanza media de vida, etc.– de aquellos rotíferos que están expuestos a cambios constantes de las condiciones ambientales (Xi *et al.*, 2009). Las tablas de vida proporcionan mucha información acerca de las mejores condiciones ambientales para el desarrollo de este grupo del zooplancton (Stearns, 1976) y son herramientas que permiten obtener información de las variables reproductivas –por ejemplo, la tasa

reproductiva neta– y de la supervivencia –esperanza media de vida– para los estudios demográficos, mientras que a través de los estudios de crecimiento poblacional se puede conseguir información complementaria como los picos máximos de abundancia (Krebs, 1985).

Se considera que existen diferencias entre los individuos con los que se inician los experimentos de crecimiento poblacional y aquellos nacidos durante el desarrollo del mismo. Los primeros nacen sin la presencia del agente extraño, por lo que su respuesta reproductiva puede ser diferente y su impacto se haría evidente sobre las tasas de crecimiento poblacional. A su vez, en la mayoría de experimentos crónicos sólo se trabaja un aspecto demográfico –tabla de vida o experimentos de crecimiento poblacional– por vez (Mangas-Ramírez *et al.*, 2004).

El enfoque de las tablas de vida es diferente al de los experimentos de crecimiento poblacional, por lo que ambos arrojan muchas características diferentes de la historia de vida, haciendo sus perspectivas complementarias (Sarma y Nandini, 2001).

### 3. Antecedentes

En su revisión de 1983, Matveev estimó teóricamente la competencia en cladóceros usando los datos de la dinámica de la talla de embrague y la densidad poblacional. Propuso que las correlaciones negativas entre la talla del embrague y la densidad poblacional deben ser consideradas como índices intra e interespecíficos de la competencia en cladóceros.

Por su parte, Burns (1995) estudió, entre otros factores, los efectos de densidades altas de daphnidos sobre su tasa de crecimiento juvenil y los comparó con el efecto de los niveles de alimento. Sus resultados mostraron que las sustancias químicas presentes en medios sobrepoblados de *Daphnia* pueden causar cambios en las características de su historia de vida, comparables a los cambios provocados por niveles bajos de alimento. Posteriormente, en el año 2000 Burns estudió los cambios inducidos por la sobrepoblación en el crecimiento, reproducción y morfología de *Daphnia*. Así, pudo dilucidar que el agua proveniente de cultivos con densidades altas ( $\geq 85$  individuos por litro) disminuyó, entre otras características, la tasa de crecimiento de seis especies de *Daphnia* de tamaño pequeño. Además, apunta que los químicos liberados por miembros de la misma especie pueden provocar un mecanismo densodependiente de regulación de la población.

Kirk (1998) estudió los efectos del enriquecimiento del medio por parte de las presas sobre las dinámicas poblacionales de los depredadores. Sus resultados señalan que los rotíferos producen compuestos autotóxicos que reducen la tasa de crecimiento poblacional y la sobrevivencia individual. Propone que, ya que los depredadores eran más abundantes en un microcosmos enriquecido, las dinámicas poblacionales podrían haber sido estabilizadas por una tasa de mortalidad densodependiente mediada por toxinas. Con la misma perspectiva, Mitchell y Carvalho (2002) realizaron experimentos con poblaciones de *Daphnia magna* para examinar el efecto de los químicos de un medio sobrepoblado en su demografía poblacional. Encontraron que la presencia de estos químicos afectaba la estructura inicial de la población al reducir las longitudes de las hembras partenogénicas, la talla de las crías y las densidades de los individuos juveniles. Sin embargo, la competencia explotativa tuvo un mayor impacto que la concentración de químicos del medio sobrepoblado en la estructura poblacional. Concluyeron que los infoquímicos de medios sobrepoblados pueden tener un papel más grande en la estructura de comunidades que en la estructura poblacional.

Desde un ángulo más enfocado hacia los rotíferos, Gilbert (2003) estudió la especificidad de la respuesta al hacinamiento que induce la sexualidad en rotíferos del género *Brachionus*. Sus resultados mostraron que existen diferencias entre tratamientos de medios ligeramente sobrepoblados (sin inducción de sexualidad) y medios con sobrepoblación alta (que inducen la reproducción sexual). Sin embargo, apunta que poblaciones con densidades bajas de una especie también

pueden inducir la reproducción sexual sobre otra especie diferente, lo que reduce su potencial de crecimiento poblacional de manera partenogenética y limita su producción de huevos de resistencia en el futuro.

A su vez, Verschoor y colaboradores (2007) estudiaron las interacciones tróficas mediadas por infoquímicos entre *B. calyciflorus* y su alimento (algas) mediante la obtención de químicos presentes en filtrados de cultivos algales y de rotíferos. Sus resultados permiten entender que los infoquímicos de los rotíferos fueron los que disminuyeron más las tasas de ingesta, a la vez que tuvieron efectos fuertes en las tasas de asimilación y eficiencia de *B. calyciflorus*, debido probablemente a la liberación de metabolitos tóxicos no específicos. Más recientemente, Xi y colaboradores (2009) estudiaron las diferencias en una tabla de vida demográfica entre ocho poblaciones geográficas de *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1776 de China. Dentro de los resultados, encontraron que la producción mayor de huevos de resistencia podría ser causada por las altas proporciones de descendencia producida por vía sexual por parte de las ocho poblaciones geográficas de rotíferos. A su vez, las diferencias en las tablas de vida demográficas pueden ser consideradas como el resultado de la adaptación a diferentes condiciones ambientales que las poblaciones soportan en sus respectivos sistemas.

## 4. Justificación

La competencia que existe entre los miembros del zooplancton es una variable fuerte que afecta la ocurrencia relativa de rotíferos (Nandini y Sarma, 2002). Los estudios con rotíferos bajo condiciones experimentales son necesarios ya que la mayoría de especies de rotíferos están presentes en densidades relativamente bajas en la naturaleza  $\leq 1 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$  hasta  $\approx 50 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$ , mientras que en laboratorio pueden alcanzar densidades de cerca de  $2,000 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$  (Dumont *et al.*, 1995; Sarma *et al.*, 2001). Diversos aspectos que influyen sobre las comunidades de rotíferos seguirían siendo ignorados en gran medida de no ser por dichos estudios. El impacto de la concentración de alimento –fitoplancton– sobre los rotíferos puede ser un ejemplo, dada la dificultad de cuantificar su disponibilidad en la naturaleza. Lo anterior supondría una ventaja competitiva para las especies de rotíferos según su talla (Tessier y Goulden, 1982; Grover, 1997; Kirk, 1997). En condiciones experimentales se pueden eliminar estos sesgos al controlar las variables que afectan las interacciones –como la talla, importante para mantener a la población– de las especies de rotíferos que compiten bajo ciertas condiciones –como la limitación de alimento– (Stemberger y Gilbert, 1985; Nandini *et al.*, 2007).

Existen muchos estudios de las interacciones depredador-presa en rotíferos. Sin embargo las interacciones interespecíficas mediadas por aleloquímicos sobre aspectos demográficos en especies que cohabitan en un sistema no se han estudiado suficientemente y sigue debatiéndose (Tollrian y Harvell, 1999). Lo

anterior se debe a la dificultad de distinguir la interferencia química de la competencia explotativa (Mitchell y Carvalho, 2002). Los aleloquímicos pueden tener efectos negativos sobre muchas especies de rotíferos después de ciertos límites de sobrepoblación (Kirk, 1998). También pueden afectar parámetros demográficos en tales poblaciones, como retrasos en los períodos de fecundidad o cambios en las tasas de ingesta de diferentes especies, provocando variaciones en su supervivencia (Matveev, 1983; 1993). Además, se ha resaltado la necesidad de más investigaciones que indaguen los efectos de los aleloquímicos de un medio sobrepoblado a nivel de población (Mitchell y Carvalho, 2002).

Ya que las interacciones mediadas por aleloquímicos no han sido bien reportadas entre especies zooplanctónicas, el presente trabajo busca contribuir al conocimiento de la interacción entre especies de rotíferos usando las herramientas de crecimiento poblacional y tabla de vida demográfica.

## 5. Objetivos

### Objetivo General

Evaluar el efecto de los aleloquímicos de *B. calyciflorus* sobre las variables demográficas de *Brachionus angularis* Gosse, 1851, *Brachionus havanaensis* Rousselet, 1911 y *Plationus patulus* (Muller, 1786) y el efecto de los aleloquímicos

de *P. patulus* sobre las variables demográficas de *B. angularis*, *B. calyciflorus* y *B. havanaensis*.

## Objetivos particulares

Comparar los efectos de los aleloquímicos de *B. calyciflorus* y *P. patulus* sobre las variables demográficas de *B. angularis*, *B. calyciflorus*, *B. havanaensis* y *P. patulus*.

Determinar si alguna especie compite mejor que otra contrastando las diferencias de las variables demográficas.

# 6. Materiales y métodos

## 6.1 Cultivo de microalga

En recipientes de 2 L de volumen se cultivó *Chlorella vulgaris* Beijerinck, 1890 utilizando el medio Bold Basal (Borowitzka y Borowitzka, 1988) (consultar Anexo). Los recipientes se sometieron a condiciones de aireación y luminosidad continuas. Después de una semana, el alga fue cosechada y decantada. Posteriormente se resuspendió en agua destilada. La densidad del alga utilizada fue determinada por conteo con hematocitómetro.

## 6.2 Cultivo de rotíferos

Se aislaron cuatro especies de rotíferos de diferentes cuerpos de agua: *B. angularis* (del lago de San Juan de Aragón), *B. calyciflorus* (de un cuerpo de agua efímero en Aguascalientes), y *B. havanaensis* y *P. patulus* (del canal de Cuemanco, en Xochimilco). Estas especies fueron cultivadas en condiciones de laboratorio usando *C. vulgaris* como alimento y el medio EPA (agua reconstituida moderadamente dura: USEPA, 1993) (consultar Anexo) como medio de cultivo.

### 6.3 Medio acondicionado con aleloquímicos (*B. calyciflorus* y *P. patulus*).

*B. calyciflorus* y *P. patulus* fueron mantenidos en recipientes con 400 ml de medio EPA con  $1 \times 10^6$  células·ml<sup>-1</sup> de *C. vulgaris* como alimento hasta alcanzar una densidad de 10 ind·ml<sup>-1</sup>. Una vez alcanzada esta densidad, con el fin de mantener las densidades constantes durante el “acondicionamiento” del medio, éstos se colocaron en recipientes con 400 ml de medio EPA con  $0.25 \times 10^6$  células·ml<sup>-1</sup> de *C. vulgaris* como alimento y se mantuvieron a esa densidad poblacional durante todo el tiempo de experimentación. Para exponer a las especies de prueba a los aleloquímicos de *B. calyciflorus* y *P. patulus*, se recuperó el medio acondicionado con aleloquímicos filtrándolo con una malla de 50 µm de apertura. El medio EPA fue renovado cada 24 horas.

### 6.4 Crecimiento poblacional

Se llevó a cabo el crecimiento poblacional de *B. angularis* (*B.a.*), *B. havanaensis* (*B.h.*) y *P. patulus* (*P.p.*) utilizando medio acondicionado con los aleloquímicos de *B. calyciflorus* (*B.c.*). Se realizó un segundo crecimiento poblacional (*B.a.*, *B.c.* y *B.h.*) utilizando medio acondicionado con los aleloquímicos de *P.p.*

Las especies de prueba se colocaron a una densidad inicial de  $1 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$ , con  $1 \times 10^6$  células· $\text{ml}^{-1}$  de *C. vulgaris* como alimento en recipientes con 25 ml de medio EPA acondicionado con aleloquímicos.

El diseño experimental consistió en un total de 48 unidades experimentales (tres especies de rotíferos x dos tratamientos x cuatro réplicas + grupo control).

Los individuos de cada unidad experimental fueron contados cada 24 horas durante 21 días. Al inicio se realizó un conteo total de los individuos de cada unidad experimental. Una vez que la densidad poblacional alcanzó los  $40 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$  por unidad experimental, los conteos se realizaron mediante el conteo de tres alícuotas (cada una de 1 ml) promediando el número de individuos en cada una y se extrapola la cifra al volumen total del recipiente.

Se calculó la tasa de crecimiento poblacional ( $r$ ) usando la siguiente fórmula.

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

Donde:  $N_0$  = densidad de población inicial,  $N_t$  = densidad de la población después del tiempo  $t$ , y  $t$  = tiempo en días. Según la fórmula, si existen casos en los que hayan tratamientos donde el crecimiento exponencial de la población no sea evidente, la tasa de crecimiento se calcula a partir de la pendiente entre  $\ln N$  y el tiempo (Sibly y Hone, 2002).

Los datos obtenidos fueron tratados estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANDEVA) unifactorial a través del software Sigma Plot versión 11.0.

A su vez, se realizó un ANDEVA de medidas repetidas a fin de determinar la existencia de diferencias significativas entre el tratamiento con aleloquímicos y el control de cada especie.

## 6.5 Tabla de vida

Se llevaron a cabo estudios de demografía (tabla de vida) de cuatro especies de rotíferos (*B.a.*, *B.c.*, *B.h.* y *P.p.*) usando los aleloquímicos de *B.c.* sobre *B.a.*, *B.h.* y *P.p.* y los aleloquímicos de *P.p.* sobre *B.a.*, *B.c.* y *B.h.*

Para cada especie de prueba se utilizaron 20 individuos (neonatos de  $\leq 12$  h edad) en 20 ml de medio EPA acondicionado con aleloquímicos y  $1 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  de *C. vulgaris* como alimento. Cada 12 horas se contó el número de descendientes nacidos y se registró el número de adultos muertos. Los neonatos encontrados fueron retirados. Cada 24 h los adultos supervivientes fueron transferidos a un nuevo recipiente con medio EPA fresco acondicionado con aleloquímicos y  $1 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  de *C. vulgaris* como alimento.

El diseño experimental consistió en un total de 48 unidades experimentales (tres especies de rotíferos x dos tratamientos x cuatro réplicas + grupo control). Con base en los datos obtenidos, se obtuvieron las variables relacionadas con la supervivencia y la reproducción usando las fórmulas estándar (Krebs, 1985).

Tasa reproductiva bruta =  $\sum_0^{\infty} m_x \infty$

Tasa reproductiva neta  $R_0 = \sum l_x m_x$

Tiempo generacional  $T = \frac{\sum l_x m_x x}{R_0}$

Tasa intrínseca de incremento poblacional  $r = \sum_{x=0} e^{-rx} l_x m_x = 1$

Sobrevivencia  $l_x = \frac{N_x}{N_0}$

Esperanza de vida  $e_x = \frac{T_x}{l_x}$

Los datos obtenidos fueron tratados estadísticamente mediante un ANDEVA unifactorial y una prueba post-hoc (Prueba de Tukey) a través del software Sigma Plot versión 11.0.

# 7. Resultados

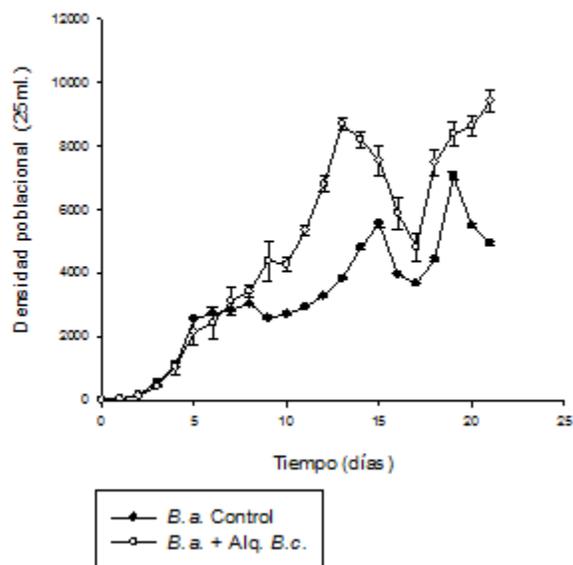
## 7.1 Crecimiento poblacional

### 7.1.1 Efecto de aleloquímicos de *B. calyciflorus* sobre otros brachionidos

La figura 1 muestra las curvas de crecimiento poblacional de *B. angularis* utilizando los aleloquímicos de *B. calyciflorus*. En términos generales, el crecimiento poblacional de los tratamientos fue mayor, a excepción de la fase de crecimiento inicial, que fue ligeramente menor que la de los controles. La fase de crecimiento exponencial fue muy larga, de casi 14 días. Aunque hubo una disminución de la población que alcanzó casi la mitad del pico poblacional, se reinició el crecimiento alcanzando un valor alto, muy semejante al primero. El pico máximo de abundancia de los tratamientos (día 21) fue 30% mayor que el del grupo control (día 19).

En la prueba de ANDEVA de medidas repetidas se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.001$ , Tabla 1) entre los grupos del control y el tratamiento. Estos resultados son congruentes con las diferencias significativas encontradas en la prueba de ANDEVA sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $p < 0.001$ ) del grupo control ( $r = 0.11$ ) y los tratamientos ( $r = 0.23$ ).

### *B. angularis*



**Figura 1.** Curvas de crecimiento poblacional de *B. angularis* control (círculos sólidos) y tratamiento con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (círculos abiertos). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

**Tabla 1. a)** Resultados del ANDEVA unifactorial sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $r$ ) y **b)** ANDEVA unifactorial de medidas repetidas sobre el crecimiento poblacional de *B. angularis* en presencia (+Alq) y ausencia de los aleloquímicos de *B. calyciflorus*. GL = grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; MS = Media de cuadrados. ( $\alpha=0.05$ ).

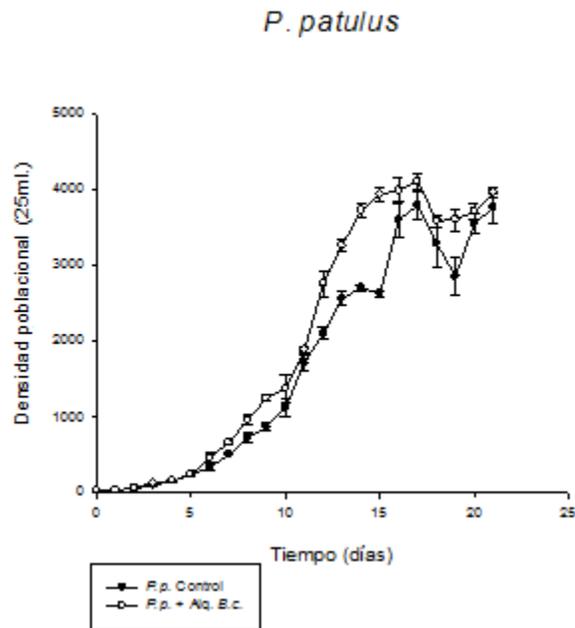
a)

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Tasa de crecimiento poblacional</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. angularis</i>	Control	0.11	1	0.0303	0.0303	52.409	<0.001
	+ Alq. B.c.	0.23					
	Error		6	0.00347	$5.7 \times 10^{-3}$		

b)

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. angularis</i>	Control vs Tratamiento	$26 \times 10^8$	$26 \times 10^8$	20081	<0.001	$26 \times 10^8$
	Error	$28 \times 10^8$	$13 \times 10^7$	$28 \times 10^8$		

En la figura 2 se observan las curvas de crecimiento poblacional de *P. patulus* utilizando los aleloquímicos de *B. calyciflorus*. Todas las fases de crecimiento fueron iguales en ambos casos, salvo un retraso en el crecimiento del control en los días 13 al 15. Los picos máximos de abundancia también fueron muy semejantes (ambos en el día 17). Las pruebas de ANDEVA mostraron diferencias significativas sólo en el análisis de medidas repetidas ( $p < 0.001$ , Tabla 2). No se encontraron diferencias significativas (ANDEVA,  $p > 0.05$ ) entre las tasas de crecimiento poblacional ( $r = 0.24$  control y  $r = 0.25$  tratamientos).



**Figura 2.** Curvas de crecimiento poblacional de *P. patulus* control (círculos sólidos) y tratamiento con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (círculos abiertos). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

**Tabla 2 a)** Resultados del ANDEVA unifactorial sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $r$ ) y **b)** ANDEVA unifactorial de medidas repetidas sobre el crecimiento poblacional de *P. patulus* en presencia (+Alq) y ausencia de los aleloquímicos de *B. calyciflorus*. GL = grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; MS = Media de cuadrados. ( $\alpha=0.05$ ).

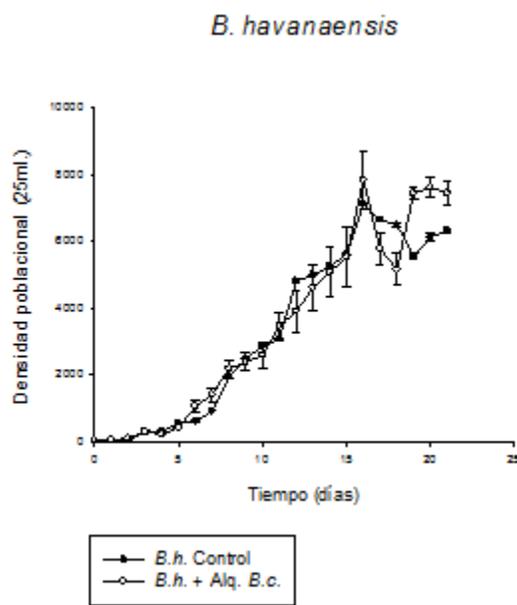
**a)**

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Tasa de crecimiento poblacional</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>P. patulus</i>	Control	0.24	1	1.6x10 <sup>-5</sup>	1.6x10 <sup>-5</sup>	0.054	0.824
	+ Alq. <i>B.c.</i>	0.25					
	Error		6	0.0018	0.0003		

**b)**

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>P. patulus</i>	Control vs Tratamiento	11x10 <sup>7</sup>	11x10 <sup>7</sup>	18,523	<0.001	11x10 <sup>7</sup>
	Error	21	13x10 <sup>7</sup>	6x10 <sup>6</sup>		

La figura 3 muestra las curvas de crecimiento poblacional de *B. havanaensis* utilizando los aleloquímicos de *B. calyciflorus*. Las tendencias de crecimiento poblacional fueron muy semejantes entre el control y los tratamientos, salvo una diferencia en los últimos cuatro días del experimento. Como se muestra en la tabla 3, las pruebas de ANDEVA de medidas repetidas ( $p = 0.478$ ) y sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $r = 0.13$  control y  $r = 0.14$  tratamientos) no mostraron diferencias significativas (ANDEVA,  $p>0.05$ ). Los picos máximos de abundancia (ambos en el día 16) también fueron muy semejantes entre sí.



**Figura 3.** Curvas de crecimiento poblacional de *B. havanaensis* control (círculos sólidos) y tratamiento con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (círculos abiertos). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

**Tabla 3. a)** Resultados del ANDEVA unifactorial sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $r$ ) y **b)** ANDEVA unifactorial de medidas repetidas sobre el crecimiento poblacional de *B. havanaensis* en presencia (+Alq) y ausencia de los aleloquímicos de *B. calyciflorus*. GL = grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; MS = Media de cuadrados. ( $\alpha=0.05$ ).

**a)**

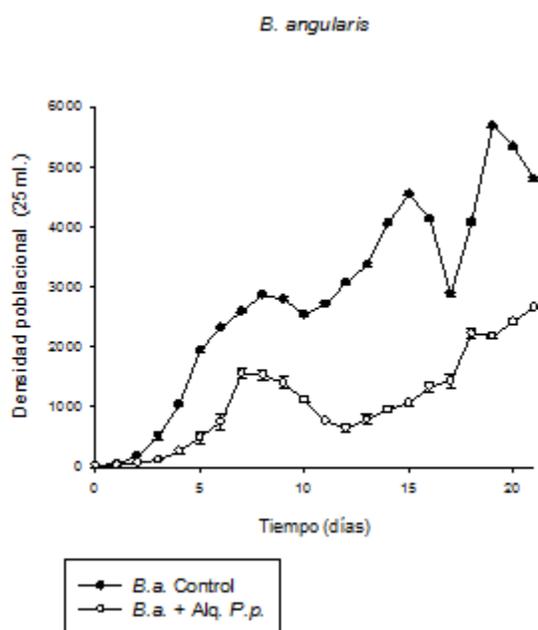
<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Tasa de crecimiento poblacional</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. havanaensis</i>	Control	0.13	1	4.0x10 <sup>-4</sup>	4.0x10 <sup>-4</sup>	2.124	0.195
	+ Alq. <i>B.c.</i>	0.14					
	Error		6	0.00115	0.000192		

**b)**

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. havanaensis</i>	Control vs Tratamiento	1	14x10 <sup>6</sup>	14x10 <sup>6</sup>	0.522	0.478
	Error	21	5.8x10 <sup>7</sup>	27x10 <sup>6</sup>		

## 7.1.2 Efecto de aleloquímicos de *P. patulus* sobre otros brachionidos

La figura 4 muestra las curvas de crecimiento poblacional de *B. angularis* utilizando los aleloquímicos de *P. patulus*. En términos generales el crecimiento poblacional del control fue mayor que el del tratamiento. El ANDEVA de medidas repetidas presentó diferencias significativas ( $p < 0.001$ , Tabla 4) al igual que el ANDEVA sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $p < 0.001$ ) entre el grupo control ( $r = 0.80$ ) y los tratamientos ( $r = 0.60$ ).



**Figura 4.** Curvas de crecimiento poblacional de *B. angularis* control (círculos sólidos) y tratamiento con el medio acondicionado de *P. patulus* (círculos abiertos). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

**Tabla 4. a)** Resultados del ANDEVA unifactorial sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $r$ ) y **b)** ANDEVA unifactorial de medidas repetidas sobre el crecimiento poblacional de *B. angularis* en presencia (+Alq) y ausencia de los aleloquímicos de *P. patulus*. GL = grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; MS = Media de cuadrados. ( $\alpha=0.05$ ).

**a)**

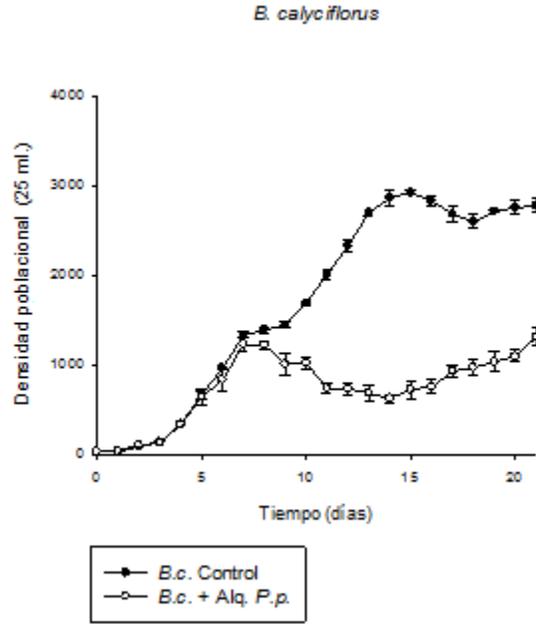
<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Tasa de crecimiento poblacional</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. angularis</i>	Control	0.80	1	0.09	0.0912	44.636	<0.001
	+ Alq. <i>P.p.</i>	0.60		12			
	Error		6	0.01	0.00204		
				23			

**b)**

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. angularis</i>	Control vs Tratamiento	32x10 <sup>8</sup>	32x10 <sup>8</sup>	55,782	<0.001	32x10 <sup>8</sup>
	Error	21	12x10 <sup>8</sup>	57x10 <sup>6</sup>		

En la figura 5 se presentan las curvas de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* utilizando los aleloquímicos de *P. patulus*. En comparación con las otras especies, esta curva mostró una fase inicial y exponencial más corta y ligera, tanto en el control como en el tratamiento. Las diferencias se observaron en las fases exponencial y estacionaria. El control tuvo densidades poblacionales mayores que los tratamientos. La abundancia máxima de la población del control (día 15) fue el doble que la del tratamiento (día 21).

Los resultados del ANDEVA de medidas repetidas mostraron diferencias significativas ( $p<0.001$ , Tabla 5) al igual que el ANDEVA sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $p<0.001$ ) entre el grupo control ( $r = 0.64$ ) y los tratamientos ( $r = 0.15$ ).



**Figura 5.** Curvas de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* control (círculos sólidos) y tratamiento con el medio acondicionado de *P. patulus* (círculos abiertos). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

**Tabla 5. a)** Resultados del ANDEVA unifactorial sobre las tasas de crecimiento poblacional (*r*) y **b)** ANDEVA unifactorial de medidas repetidas sobre el crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* en presencia (+Alq) y ausencia de los aleloquímicos de *P. patulus*. GL = grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; MS = Media de cuadrados. ( $\alpha=0.05$ ).

a)

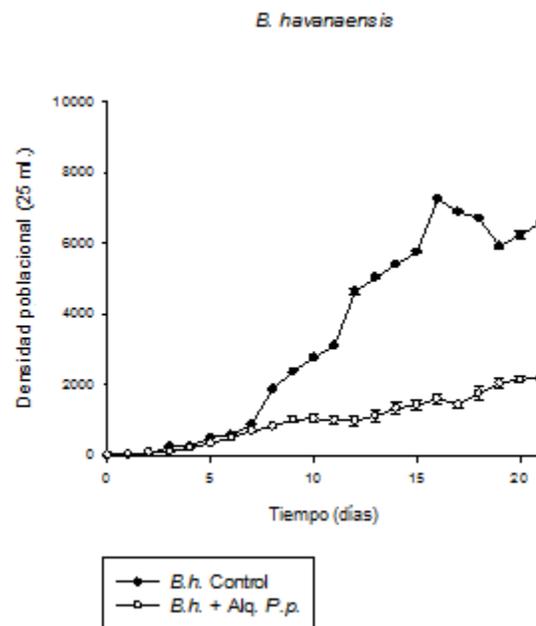
Especie	Tratamiento	Tasa de crecimiento poblacional	GL	SC	MS	F	p
<i>B. calyciflorus</i>	Control	0.64	1	0.48	0.482	2224.7	<0.001
	+ Alq. <i>P.p.</i>	0.15	2	2	3	3	
	Error		6	0.00	0.000216	13	

b)

Especie	Tratamiento	GL	SC	MS	F	p
<i>B. calyciflorus</i>	Control vs Tratamiento	1	10x10 <sup>8</sup>	10x10 <sup>8</sup>	26,167	<0.001
	Error	21	8x10 <sup>8</sup>	4x10 <sup>7</sup>		

La figura 6 muestra la curva de crecimiento poblacional de *B. havanaensis* utilizando los aleloquímicos de *P. patulus*. Durante los primeros siete días la tendencia de crecimiento poblacional fue semejante entre el control y el tratamiento. Después el control tuvo un crecimiento exponencial ausente en el tratamiento. La abundancia máxima fue 75% menor en el tratamiento (día 21) que en el control (día 16).

El ANDEVA de medidas repetidas arrojó diferencias significativas ( $p < 0.001$ , Tabla 6) al igual que el ANDEVA sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $p < 0.001$ ) entre el grupo control ( $r = 0.44$ ) y los tratamientos ( $r = 0.16$ ).



**Figura 6.** Curvas de crecimiento poblacional de *B. havanaensis* control (círculos sólidos) y tratamiento con el medio acondicionado de *P. patulus* (círculos abiertos). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

**Tabla 6. a)** Resultados del ANDEVA unifactorial sobre las tasas de crecimiento poblacional ( $r$ ) y **b)** ANDEVA unifactorial de medidas repetidas sobre el crecimiento poblacional de *B. havanaensis* en presencia (+Alq) y ausencia de los aleloquímicos de *P. patulus*. GL = grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; MS = Media de cuadrados. ( $\alpha=0.05$ ).

a)

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Tasa de crecimiento poblacional</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. havanaensis</i>	Control	0.44	1	0.16	0.161	734.88	<0.001
	+ Alq. <i>P.p.</i>	0.16		1			
	Error		6	0.00	0.000219		
				131			

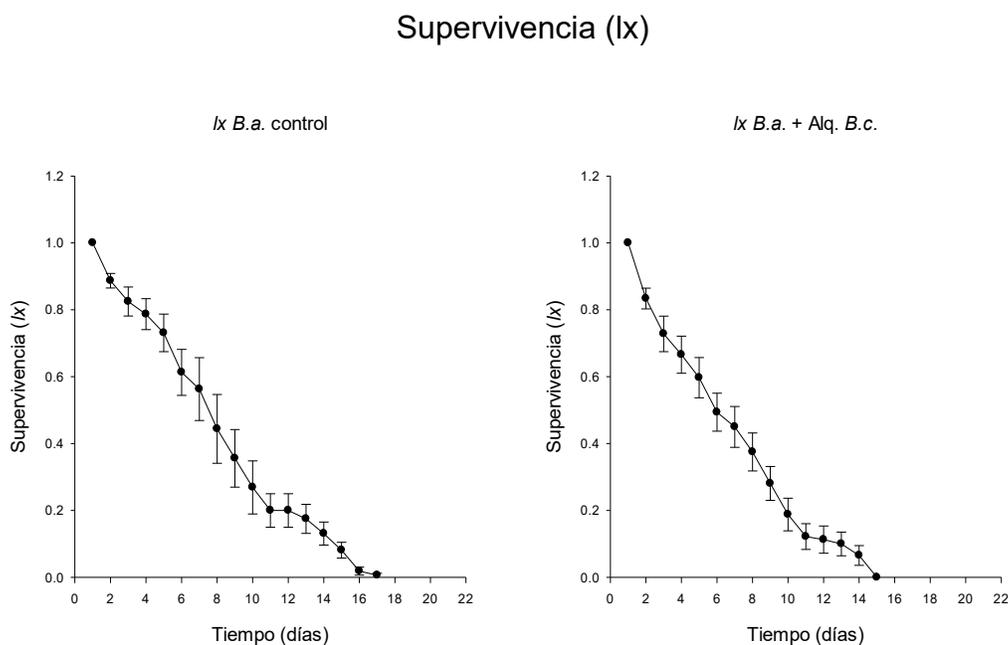
b)

<i>Especie</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>B. havanaensis</i>	Control vs Tratamiento	1	$59 \times 10^8$	$59 \times 10^8$	27,081	<0.001
	Error	21	$46 \times 10^8$	$2 \times 10^8$		

## 7.2 Tabla de vida

### 7.2.1 Efecto de los aleloquímicos de *B. calyciflorus* sobre otros brachionidos

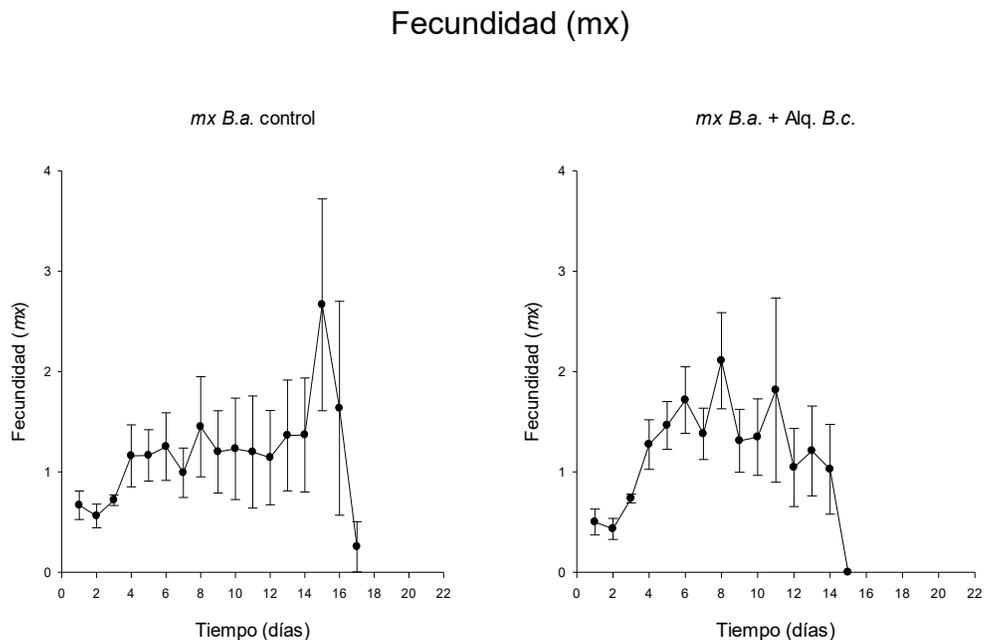
En la figura 7 se aprecian las curvas de supervivencia de *B. angularis* con aleloquímicos de *B. calyciflorus*. Tanto en el control como en el tratamiento, las poblaciones mostraron una tendencia de mortalidad de manera casi continua al incrementar la edad de la cohorte. Sin embargo, el tratamiento sobrevivió dos días menos que la población del control. La mortalidad del 50% de la población en el control se dio en el día siete, mientras que en el tratamiento esta fue alcanzada en el día seis.



**Figura 7.** Curvas de supervivencia de *B. angularis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *B.c.*) con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

La figura 8 muestra la curva de fecundidad de *B. angularis* con el medio acondicionado de *B. calyciflorus*. A partir del tercer día el control mostró un aumento en la producción de descendientes al incrementar la edad de la cohorte, alcanzando un pico (que varió entre el control y los tratamientos) para después empezar a disminuir.

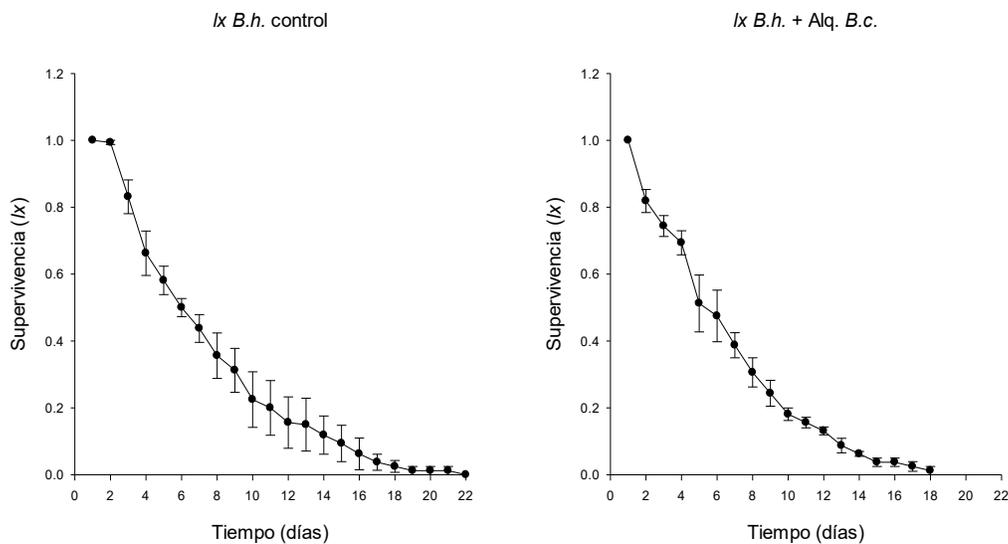
La tendencia de producción de descendientes siguió una distribución parecida a la normal en el tratamiento, sin embargo, en el control la distribución fue asimétrica ya que el pico de producción de descendientes se dio en los grupos de mayor edad.



**Figura 8.** Curvas de fecundidad de *B. angularis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *B.c.*) con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

En la figura 9 se aprecian las curvas de supervivencia de *B. havanaensis* con aleloquímicos de *B. calyciflorus*. Además de que la población del control sobrevivió cuatro días más, su tendencia de mortalidad fue menor que la del tratamiento, tanto en el inicio del experimento como a medida que la edad de la cohorte iba aumentando.

### Supervivencia (lx)

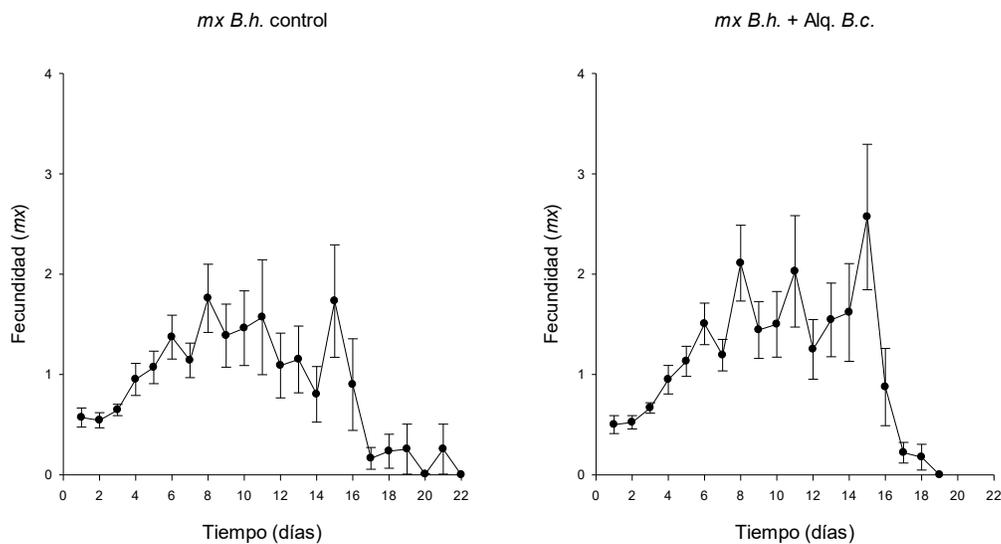


**Figura 9.** Curvas de supervivencia de *B. havanaensis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *B.c.*) con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

La figura 10 muestra la curva de fecundidad de *B. havanaensis* con el medio acondicionado de *B. calyciflorus*. Las diferencias pueden notarse a partir del día ocho; en comparación con el control, la producción de descendientes del tratamiento fue más alta y se mantuvo así hasta el día 15. Después la fecundidad disminuyó de manera drástica y continuó solo tres días más después de alcanzar su pico máximo. El control continuó produciendo descendientes seis días más después de presentar su pico máximo.

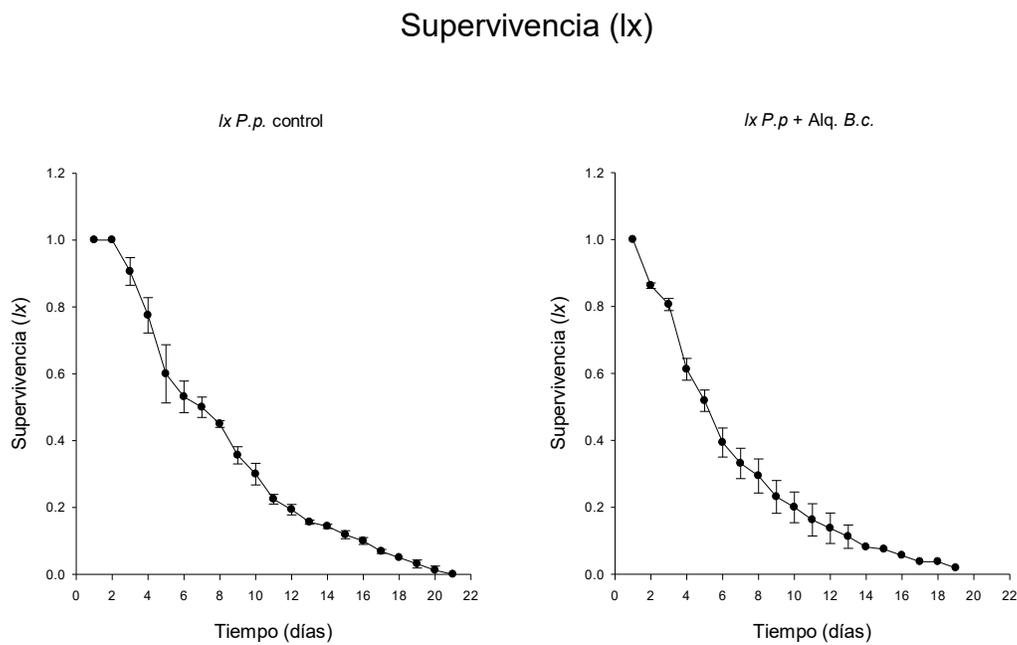
La tendencia de producción de descendientes del tratamiento fue ligeramente asimétrica, dado su aumento en el día 15. En el control la tendencia fue más parecida a la distribución normal, aunque extendida hacia el final.

### Fecundidad (mx)



**Figura 10.** Curvas de fecundidad de *B. havanaensis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *B.c.*) con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

En la figura 11 se aprecian las curvas de supervivencia de *P. patulus* con aleloquímicos de *B. calyciflorus*. La población del control sobrevivió dos días más; su tendencia de mortalidad también fue menor que la del tratamiento, tanto desde el inicio del experimento, como a medida que aumentó la edad de la cohorte.

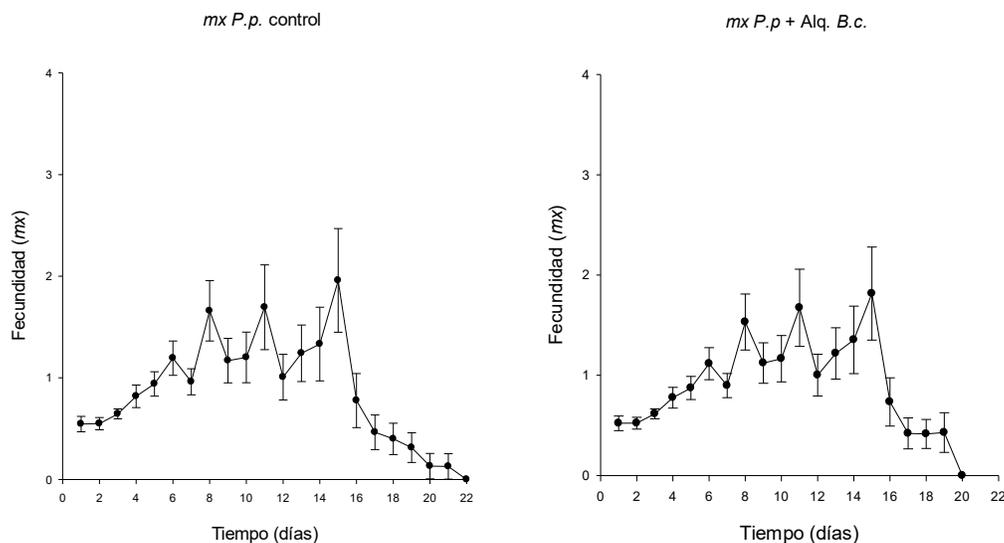


**Figura 11.** Curvas de supervivencia de *P. patulus* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *B.c.*) con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

La figura 12 muestra la curva de fecundidad de *P. patulus* con el medio acondicionado de *B. calyciflorus*. La producción de descendientes fue muy semejante entre el control y el tratamiento, apreciándose diferencias solo al final del experimento. La fecundidad del tratamiento se mantuvo durante tres días (17, 18 y 19) antes de finalizar el experimento. Durante esos mismos días y otros dos más, la fecundidad del control se redujo gradualmente.

La tendencia de producción de descendientes siguió una distribución asimétrica tanto en el tratamiento como en el control. Esta fue más fuerte durante la fase reproductiva media de los organismos (días 8 a 15).

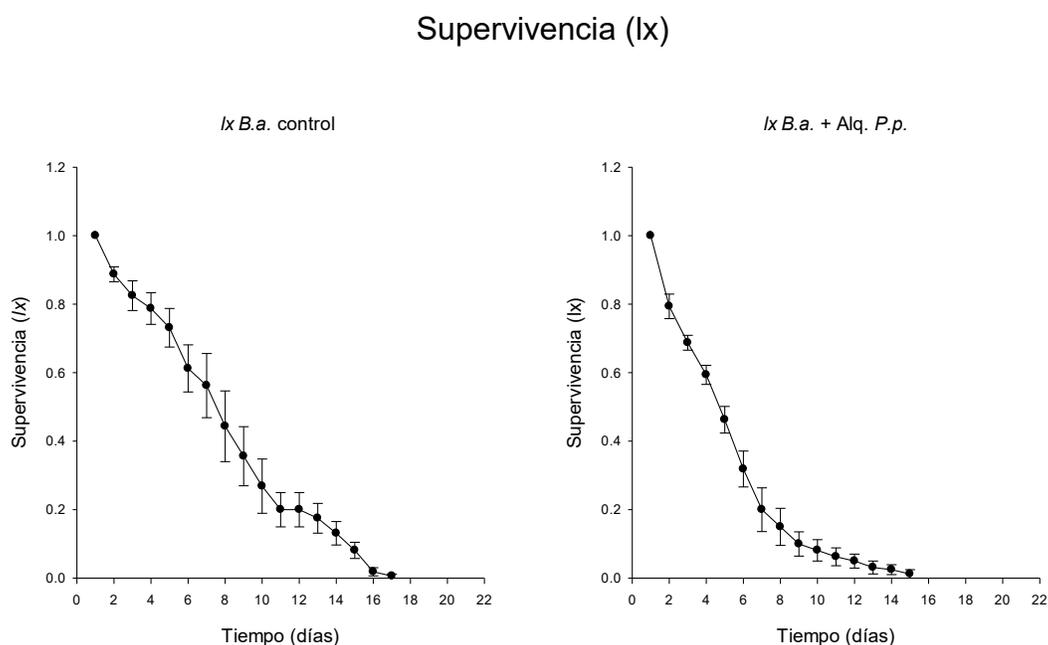
### Fecundidad (mx)



**Figura 12.** Curvas de fecundidad de *P. patulus* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *B.c.*) con el medio acondicionado de *B. calyciflorus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

## 7.2.2 Efecto de los aleloquímicos de *P. patulus* sobre otros brachionidos

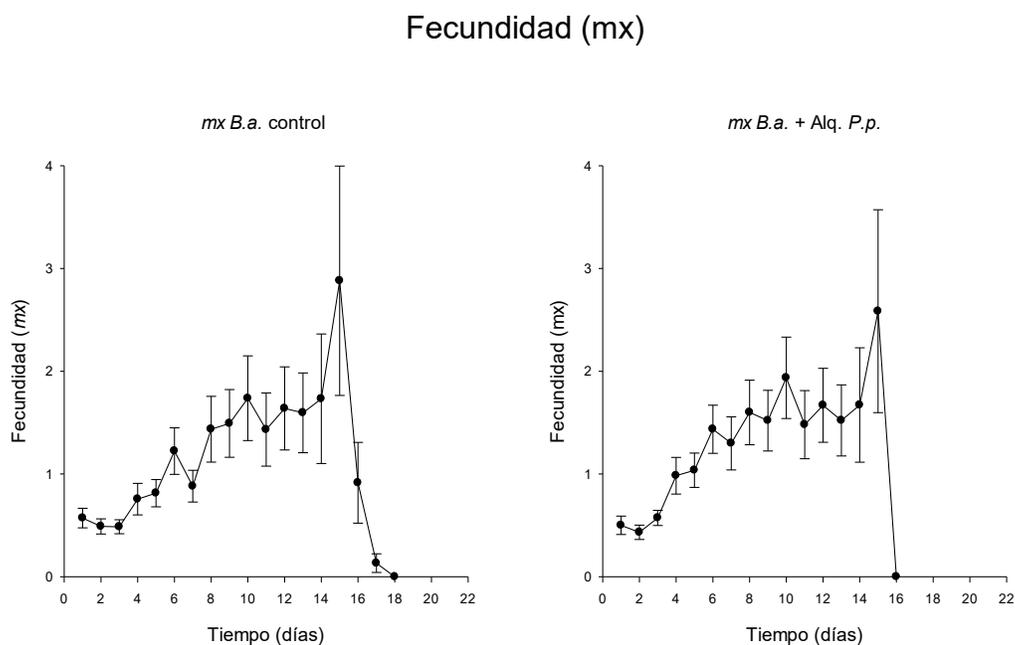
En la figura 13 se aprecian las curvas de supervivencia de *B. angularis* con aleloquímicos de *P. patulus*. El tratamiento mostró una tendencia de mortalidad más alta que el control durante todo el experimento, sin embargo, ambas poblaciones mostraron una tendencia de mortalidad casi continua mientras incrementó la edad de la cohorte. El tratamiento sobrevivió dos días menos que el control. Se aprecia que la mortalidad del 50% de la población en el control se dio en el día ocho; en el tratamiento esta fue alcanzada en el día cinco.



**Figura 13.** Curvas de supervivencia de *B. angularis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *P.p.*) con el medio acondicionado de *P. patulus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

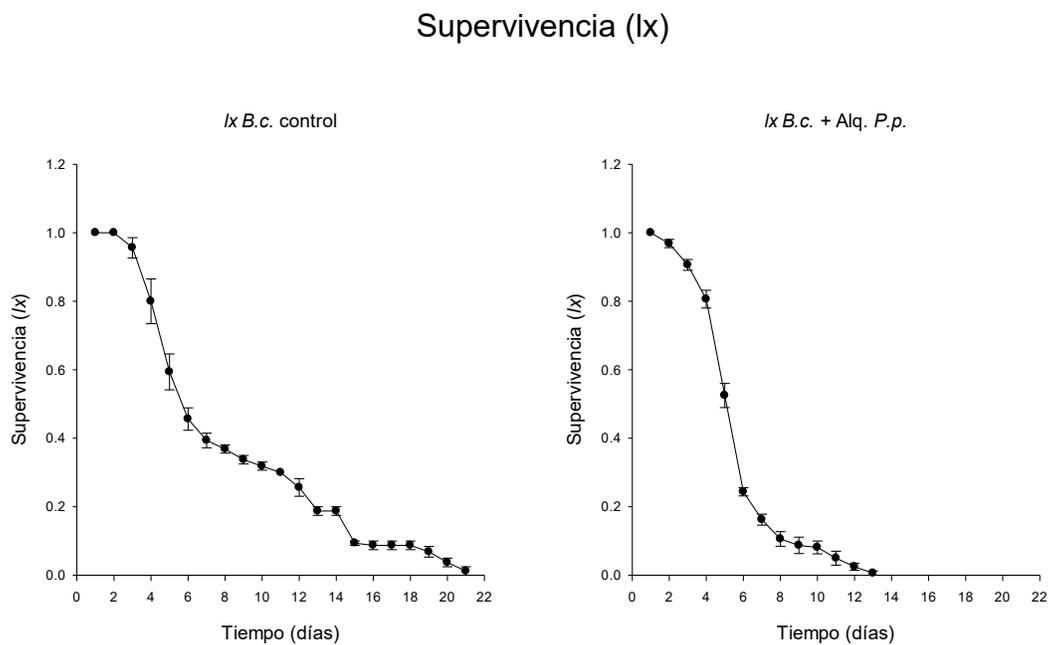
La figura 14 muestra la curva de fecundidad de *B. angularis* con el medio acondicionado de *P. patulus*. A partir del cuarto día, el tratamiento mostró un aumento en la producción de descendientes al incrementar la edad de la cohorte. La producción de descendientes del tratamiento siempre se mantuvo más elevada con respecto al control. El pico en ambas poblaciones se alcanzó el día 15.

La tendencia de producción de descendientes siguió una distribución asimétrica en ambas poblaciones. En el tratamiento, el pico de producción de descendientes se dio en los grupos de mayor edad.



**Figura 14.** Curvas de fecundidad de *B. angularis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *P.p.*) con el medio acondicionado de *P. patulus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

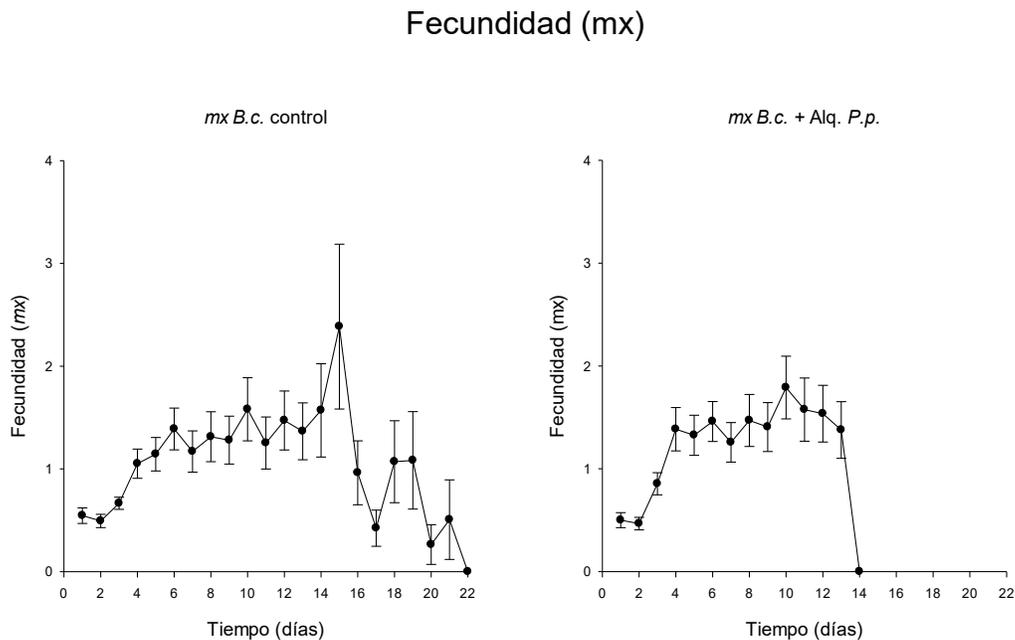
En la figura 15 se observan las curvas de supervivencia de *B. calyciflorus* con aleloquímicos de *P. patulus*. El tratamiento mostró una tendencia de mortalidad mucho más alta que el control y sobrevivió ocho días menos que el mismo. Sin embargo, ambas poblaciones alcanzaron el 50% de mortalidad en el día cinco.



**Figura 15.** Curvas de supervivencia de *B. calyciflorus* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *P.p.*) con el medio acondicionado de *P. patulus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

La figura 16 muestra la curva de fecundidad de *B. calyciflorus* con el medio acondicionado de *P. patulus*. La producción de descendientes fue muy diferente entre las poblaciones. En el control la producción fue mayor al incrementar la edad de la cohorte hasta el día 15, después esta comenzó a decaer. En el tratamiento, se mantuvo casi constante después del cuarto día sin ningún pico aparente.

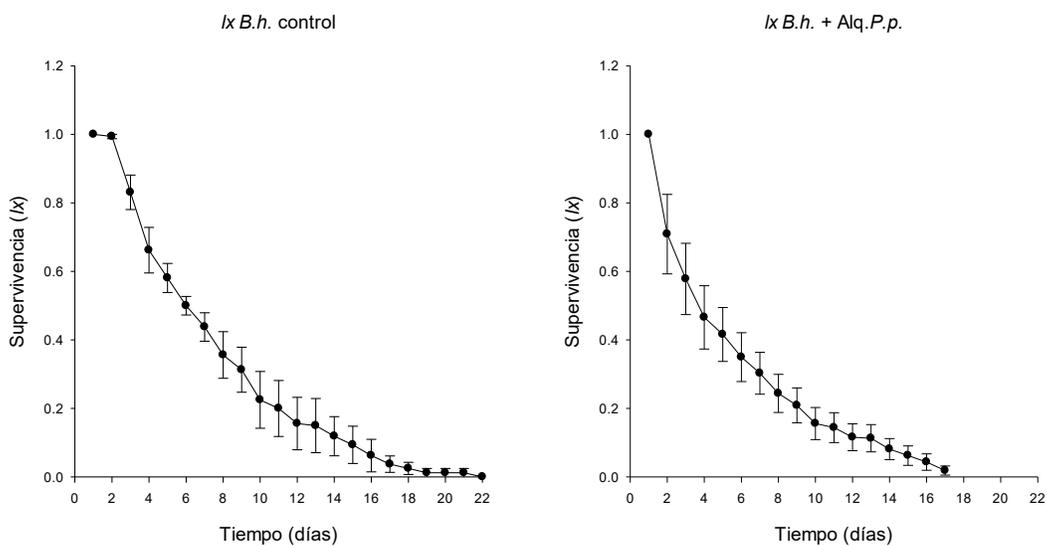
La tendencia de producción de descendientes siguió una distribución asimétrica en el control, la mayor producción se dio en las edades tempranas y medias. En el tratamiento la tendencia de producción de descendientes siguió una distribución parecida a la normal.



**Figura 16.** Curvas de fecundidad de *B. calyciflorus* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *P.p.*) con el medio acondicionado de *P. patulus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

En la figura 17 se aprecian las curvas de supervivencia de *B. havanaensis* con aleloquímicos de *P. patulus*. El tratamiento mostró una tendencia de mortalidad más alta que el control. Ambas poblaciones mostraron una tendencia de mortalidad casi continua mientras la edad de la cohorte aumentaba. La población del tratamiento sobrevivió cinco días menos que la del control. En el control, la mortalidad del 50% de la población se dio en el día seis, mientras que en el tratamiento esta fue alcanzada en el día tres.

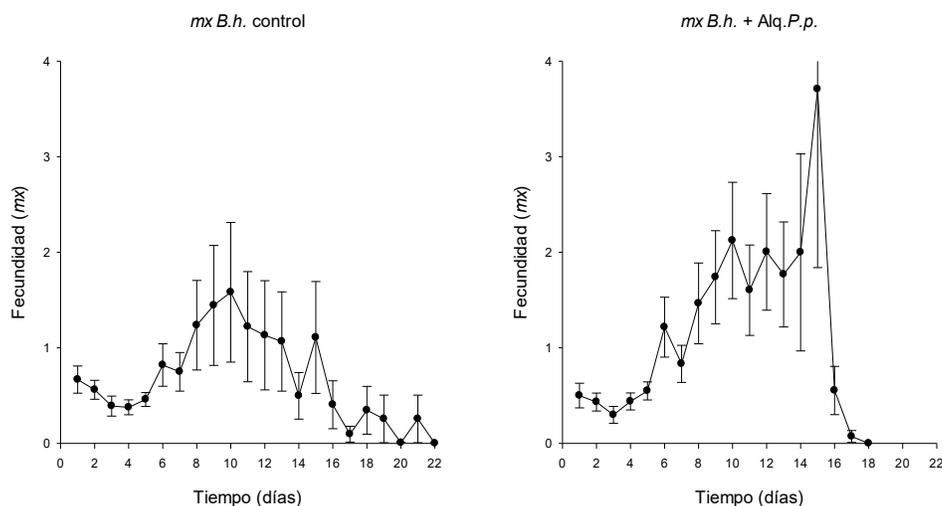
### Supervivencia (lx)



**Figura 17.** Curvas de supervivencia de *B. havanaensis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *P.p.*) con el medio acondicionado de *P. patulus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

La figura 18 muestra la curva de fecundidad de *B. havanaensis* con el medio acondicionado de *P. patulus*. Tanto en su magnitud como en su tiempo, la producción de descendientes fue muy diferente entre las poblaciones. En el control, la producción fue mayor en las fases reproductivas medias de los organismos, después esta comenzó a decaer. A pesar de que se dio en un tiempo menor, la producción de descendientes del tratamiento incrementó después del día seis y se mantuvo más elevada. El pico de producción se alcanzó en el día 15. Después tuvo un descenso drástico hasta que la población murió. La tendencia de producción de descendientes siguió una distribución similar a la normal en el control. La mayor producción se dio en las edades intermedias. En el tratamiento la tendencia de producción de descendientes siguió una distribución asimétrica; el pico de producción se dio en los grupos de mayor edad.

### Fecundidad (mx)



**Figura 18.** Curvas de fecundidad de *B. havanaensis* control (izquierda) y tratamiento (+Alq. *P.p.*) con el medio acondicionado de *P. patulus* (derecha). Los datos muestran el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones.

El promedio de vida de las especies de rotíferos seleccionadas en este trabajo se mantuvo entre tres y ocho días dependiendo de las especies y el tratamiento. El promedio de vida más bajo fue observado en *B. havanaensis* expuesto a los aleloquímicos de *P. patulus*, mientras que el más alto fue encontrado en el control de *B. calyciflorus*. La tasa reproductiva bruta varió de 11 a 44 descendientes por hembra. Los aleloquímicos de *P. patulus* afectaron negativamente solo a *B. angularis*. Para el resto de las especies, los aleloquímicos de *P. patulus* no mostraron efectos significativos. Por otro lado, los aleloquímicos de *B. calyciflorus* afectaron negativamente la tasa reproductiva bruta de *P. patulus* y *B. angularis*.

La tasa reproductiva bruta se mantuvo entre uno y 14 descendientes por hembra en términos de supervivencia ponderada. En todos los casos, los valores menores de tasas reproductivas netas fueron observados debido a la presencia de aleloquímicos de un competidor. El tiempo generacional de las especies de *Brachionus* se mantuvieron entre cuatro y 11 días. Los tiempos generacionales más bajos fueron observados en *B. calyciflorus* expuesto a los aleloquímicos de *P. patulus*.

La tasa de crecimiento poblacional se mantuvo entre 0.01 y 0.81 por día, curiosamente la tasa de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* incrementó más de 50% en presencia de aleloquímicos de *P. patulus*.

Las tablas 7 y 8 muestran los datos obtenidos sobre las variables de tabla de vida de las especies expuestas a los aleloquímicos de *B. calyciflorus* y *P. patulus*, respectivamente, así como sus controles.

**Tabla 7.** Variables de tabla de vida demográfica: promedio de vida (días), esperanza de vida (días), tasa reproductiva bruta (descendientes por hembra), tasa reproductiva neta (descendientes por hembra; supervivencia ponderada), tiempo generacional (días) y tasa de crecimiento poblacional (por día) de tres especies de *Brachionus* (*B.a.*, *B.h.* y *P.p.*) expuestos a los aleloquímicos de *B. calyciflorus*. Los valores indican el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones (cohortes). El asterisco (\*) indica las diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) en comparación con el control.

Tratamientos	Promedio de vida	Esperanza de vida	Tasa reproductiva bruta	Tasa reproductiva neta	Tiempo generacional	Tasa de crecimiento
<i>B. h.</i> Control	6.78 $\pm$ 0.87	6.28 $\pm$ 0.87	33.06 $\pm$ 2.92	8.06 $\pm$ 1.71	7.97 $\pm$ 0.65	0.29 $\pm$ 0.01
<i>B. h.</i> + Alq. <i>B.c.</i>	5.91 $\pm$ 0.09	5.41 $\pm$ 0.09	43.05 $\pm$ 4.34	8.27 $\pm$ 0.81	6.97 $\pm$ 0.17	0.43 $\pm$ 0.02*
<i>P.p.</i> Control	7.51 $\pm$ 0.28	7.01 $\pm$ 0.28	17.84 $\pm$ 1.99	2.87 $\pm$ 0.51	10.64 $\pm$ .16	0.09 $\pm$ 0.01
<i>P.p.</i> + Alq. <i>B.c.</i>	5.96 $\pm$ 0.61	5.46 $\pm$ 0.61	11.12 $\pm$ 1.07*	1.35 $\pm$ 0.27*	9.14 - 0.79	0.01 $\pm$ 0.02*
<i>B.a.</i> Control	7.28 $\pm$ 0.72	6.78 $\pm$ 0.72	43.35 $\pm$ 2.91	13.67 - 2.32	6.69 - 0.65	0.51 $\pm$ 0.05
<i>B.a.</i> + Alq. <i>B.c.</i>	4.67 $\pm$ 0.31*	4.17 $\pm$ 0.31*	23.04 $\pm$ 2.94*	6.17 $\pm$ 0.70*	5.24	0.39 $\pm$ 0.035

**Tabla 8.** Variables de tabla de vida demográfica: promedio de vida (días), esperanza de vida (días), tasa reproductiva bruta (descendientes por hembra), tasa reproductiva neta (descendientes por hembra; supervivencia ponderada), tiempo generacional (días) y tasa de crecimiento poblacional (por día) de tres especies de *Brachionus* (*B.a.*, *B.c.* y *B.h.*) expuestos a los aleloquímicos de *P. patulus*. Los valores indican el promedio  $\pm$  el error estándar basado en cuatro repeticiones (cohortes). El asterisco (\*) indica las diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) en comparación con el control.

Tratamientos	Promedio de vida	Esperanza de vida	Tasa reproductiva bruta	Tasa reproductiva neta	Tiempo generacional	Tasa de crecimiento
<i>B.a.</i> Control	7.28 $\pm$ 0.72	6.78 $\pm$ 0.72	43.35 $\pm$ 2.91	13.67 $\pm$ 2.32	6.69 - 0.65	0.51 $\pm$ 0.05
<i>B.a.</i> + Alq. <i>P.p.</i>	4.56 $\pm$ 0.36*	4.06 $\pm$ 0.36*	27.73 $\pm$ 4.59*	6.9 $\pm$ 1.16*	4.79 - 0.50	0.47 $\pm$ 0.01
<i>B.h.</i> Control	6.78 $\pm$ 0.87	6.28 $\pm$ 0.87	33.06 $\pm$ 2.92	8.06 $\pm$ 1.71	7.97 - 0.65	0.29 $\pm$ 0.01
<i>B.h.</i> + Alq. <i>P.p.</i>	3.3 $\pm$ 0.45*	2.8 $\pm$ 0.45*	43.77 $\pm$ 6.80	3.66 $\pm$ 0.47*	9.17 - 1.0	0.16 $\pm$ 0.03*
<i>B.c.</i> Control	7.63 $\pm$ 0.23	7.13 $\pm$ 0.23	41.72 $\pm$ 6.96	11.32 $\pm$ 0.90	7.23 - 0.71	0.52 $\pm$ 0.03
<i>B.c.</i> + Alq. <i>P.p.</i>	4.96 $\pm$ 0.11*	4.46 $\pm$ 0.11*	34.95 $\pm$ 7.28	10.78 $\pm$ 1.34	3.72 - 0.17*	0.81 $\pm$ 0.03*

## 8. Discusión

### 8.1 Crecimiento poblacional

Las interacciones mediadas por infoquímicos entre rotíferos son un fenómeno ecológico conocido (Snell, 1998). Se sabe que los organismos utilizan diferentes estrategias para asignar energía para su reproducción y crecimiento, y que el éxito de tales estrategias puede ser variable (Guo *et al.*, 2011).

Las variables de crecimiento poblacional son parámetros sensibles a los cambios en el ambiente, incluyendo los aleloquímicos liberados por los competidores y/o depredadores (Sarma *et al.*, 2011). En el presente trabajo, los aleloquímicos de *B. calyciflorus* tuvieron un efecto favorable sobre el crecimiento poblacional de *P. patulus*, *B. havanaensis* y *B. angularis*, sin embargo, sólo en éste último dicho aumento fue significativo. Lo anterior puede deberse a que *B. angularis* y *B. calyciflorus* suelen tener abundancias similares en condiciones naturales, lo que puede sugerir una competencia química más fuerte entre estas especies. A su vez, experimentos de competencia previamente realizados entre *B. calyciflorus* y otras especies de la familia Brachinodae indican que *B. calyciflorus* no es el mejor competidor (Sarma *et al.*, 1999). Por otro lado, en la naturaleza, las abundancias de *B. havanaensis* son mucho mayores que las de *B. calyciflorus*, mientras que las de *P. patulus* son mucho menores (Enríquez García *et al.*, 2009; Figueroa-Sánchez, 2015), por lo cual no se espera una competencia química tan estrecha.

De las especies seleccionadas en este estudio, *P. patulus* suele ser el brachionido que presenta menores abundancias en condiciones naturales. Sin embargo, el medio acondicionado con sus aleloquímicos tuvo un efecto significativamente adverso sobre el crecimiento poblacional de *B. angularis*, *B. calyciflorus* y *B. havanaensis*. Esto puede indicar que, a pesar de sus abundancias menores, *P. patulus* podría ser un buen competidor químico debido tal vez a la eficiencia de sus aleloquímicos. Esta eficiencia depende de varios factores, como la vulnerabilidad del receptor y la naturaleza del aleloquímico, entre otros (Sarma y Nandini, 2007). Así mismo, se ha observado que al cultivar *P. patulus* en presencia de *B. calyciflorus*, el primero es un mejor competidor (Sarma *et al.*, 1999). Por otro lado, dentro de las especies seleccionadas, *P. patulus* es un organismo de talla grande y es sabido que las especies más grandes pueden mantener un tamaño poblacional menor bajo ciertas condiciones (como la limitación de alimentos), lo cual podría explicar sus bajas densidades poblacionales en el campo (Sarma *et al.*, 2007).

## 8.2 Tabla de vida

Las variables de historia de vida como la tasa reproductiva bruta, tasa reproductiva neta, esperanza media de vida, supervivencia y fecundidad son variables sensibles a los cambios en el medio, ya sea debido a la presencia de competidores, depredadores o de sus aleloquímicos (García *et al.*, 2007; Gama-Flores *et al.*, 2013).

Es interesante mencionar que, aunque los aleloquímicos de *B. calyciflorus* no afectaron la mayoría de las variables del experimento de crecimiento poblacional, en la tabla de vida demográfica diversas variables fueron afectadas adversamente. Estas diferencias podrían atribuirse al diseño experimental, ya que en la tabla de vida demográfica la densidad de la especie de prueba ( $\leq 1 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) siempre se mantuvo muy por debajo de la densidad de la especie cuyos aleloquímicos fueron probados ( $10 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Por otro lado, en los experimentos de crecimiento poblacional, la población de cada especie de prueba comenzó a crecer en los recipientes de manera intensa (entre 40 y  $400 \text{ ind}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Así, los aleloquímicos que se planeaba probar pueden haber sido superados por los químicos intraespecíficos (feromonas), y posiblemente encubrieron su efecto.

De la misma manera que en el crecimiento poblacional, *B. angularis* fue la especie que sufrió mayores efectos adversos ante los aleloquímicos de *B. calyciflorus*; todas sus variables demográficas fueron afectadas significativamente, salvo el tiempo generacional y la tasa de crecimiento (que, sin embargo, también disminuyeron). Esto refuerza la idea de una competencia química más fuerte entre estas especies.

Por otro lado, las variables demográficas de *P. patulus* también fueron afectadas adversamente, la mitad de ellas de manera significativa (la tasa reproductiva bruta, la tasa reproductiva neta y la tasa de crecimiento poblacional). Mientras tanto, *B. havanaensis* vio favorecida su tasa de crecimiento poblacional de manera significativa, con la consecuente disminución (no significativa) de su esperanza de vida, lo que indica que puede ser un mejor competidor.

Las variables demográficas de las tres especies de rotíferos cultivadas en presencia de aleloquímicos de *P. patulus*, manifestaron una tendencia negativa; algunas de ellas mostraron diferencias significativas. Aunque la tasa reproductiva bruta y el tiempo generacional de *B. havanaensis* mostraron un incremento en comparación con el control, éste no fue significativo. Sólo la tasa de crecimiento de *B. calyciflorus* se vio favorecida significativamente. Sin embargo, este cambio en la reproducción de *B. calyciflorus* fue paralelo a una reducción significativa en la esperanza de vida. Esta reducción provocó una tasa de reproducción más alta en un período de tiempo más corto (Guo *et al.*, 2011).

El medio acondicionado con aleloquímicos de un competidor puede provocar el aumento de la abundancia de otras especies, lo que sugiere que dicho medio puede estimular su crecimiento poblacional. Desde el punto de vista de la teoría del costo reproductivo cabe esperar una correlación negativa entre la energía destinada a la reproducción y la reservada para la supervivencia (Snell y King, 1977). En general, la reproducción en una clase de edad determinada puede resultar perjudicial para la supervivencia de los progenitores de clases de edades subsecuentes (Guo *et al.*, 2011).

Si bien se presentan algunas variaciones, diversas variables demográficas de las especies seleccionadas en el presente trabajo se encuentran dentro del rango reportado en la literatura. Rao y Sarma (1986), Sarma *et al.* (2006) y Zamora-Barrios *et al.* (2015) reportan un promedio de vida de *P. patulus* de ocho a 15 días. La tasa reproductiva varía de 14 a 27 descendientes por hembra. A su vez, los autores anteriormente citados describen que una tasa reproductiva neta que varía

de 9 a 12 descendientes por hembra, un tiempo generacional de 5 a 11 días y una tasa de crecimiento poblacional entre 0.4 y 0.8 por día.

Por otro lado, Sarma *et al.* (2006; 2011), García-García *et al.* (2014) y Gama-Flores *et al.* (2014) reportaron para *B. calyciflorus* un promedio de vida que varía entre 5 y 9 días; la tasa reproductiva bruta es de 16 a 30 descendientes por hembra. Estos autores también reportan una tasa reproductiva neta entre 7 y 12 descendientes por hembra. Mientras tanto, el tiempo generacional varía de 3 a 6 días y la tasa de crecimiento poblacional fue de 0.4 a 1.4 por día.

Pavón-Meza *et al.* (2008) reportó para *B. havanaensis* un promedio de vida que varió de 5 a 8 días. La tasa reproductiva bruta fue de 2 a 12 descendientes por hembra y la tasa reproductiva neta varió entre 1 y 5 descendientes por hembra. El tiempo generacional varió entre 3 y 7 días. Por último, la tasa de crecimiento poblacional varió de 0.04 a 0.49 por día.

*B. angularis* tiene reportada una tasa de crecimiento poblacional de 0.15 a 0.74 por día, mientras que su tasa reproductiva neta varía de tres a ocho descendientes por hembra. Su tiempo generacional puede variar entre tres y cinco días (Walz, 1987; Ogello *et al.*, 2016).

Es claro que algunas variables del presente trabajo se encuentran fuera de los rangos descritos anteriormente. Las diferencias pueden haber sido propiciadas por diversos factores, incluyendo la adición de los aleloquímicos de *B. calyciflorus* y *P. patulus*. Esto puede deberse a que el zooplancton adopta diferentes tácticas en las variables de su historia de vida bajo diferentes factores ambientales como la

temperatura, la cantidad y la calidad del alimento, entre otros. De manera general, los aleloquímicos de diferentes competidores pueden producir una mayor abundancia poblacional; también la tasa de crecimiento poblacional puede llegar a ser más rápida, ya que los parámetros de la historia de vida varían significativamente utilizando los medios acondicionados por aleloquímicos de especies competidoras (Guo *et al.*, 2011).

## 9. Conclusiones

Los aleloquímicos de *P. patulus* muestran efectos adversos sobre la mayoría de las variables demográficas en todas las especies sobre las cuales fueron utilizadas, sugiriendo que ésta especie compite más eficientemente.

En la mayoría de los casos, los aleloquímicos de *B. calyciflorus* no presentaron efectos sobre las variables de historia de vida de otras especies de la familia Brachionidae. Esto indica que *B. calyciflorus* tal vez no suele competir con otras especies a través de sus aleloquímicos sino, posiblemente, mediante competencia explotativa.

Los aleloquímicos de *P. patulus* y *B. calyciflorus* provocaron efectos adversos significativos sobre el 50% de las variables demográficas estudiadas. El 33% de las mismas tuvieron un efecto adverso no significativo. Por otro lado, hubo un efecto significativamente favorable sobre el 5.5% de las variables evaluadas, mientras que 11% de ellas tuvieron efectos favorables no significativos.

# 10. Literatura citada

Borowitzka, M.A. y Borowitzka, L.J. 1988. *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press, Oxford, UK.

Brönmark, C. y Hansson, L-A. 2012. *Chemical ecology in aquatic systems— an introduction*. Oxford University Press. EUA. 336p.

Burns, C.W. 1995. Effects of crowding and different food levels on growth and reproductive investment of *Daphnia*. *Oecol.* 101: 234-244.

Burns, C.W. 2000. Crowding-induced changes in growth, reproduction and morphology of *Daphnia*. *Freshwater Biol.* 43: 19-29.

Clément, P.; Wurdak, E. y Amsellem, J. 1983. Behavior and ultrastructure of sensory organs in rotifers. *Hydrobiologia* 104, 89-130.

DeMott, W.R. 1989. The role of competition in zooplankton success. En: U. Sommer (Ed.). *Plankton ecology: succession in plankton communities*. Springer-Verlag. Berlin, 195-252pp.

Dumont, H.J.; Tundisi, J.G. y Roche, K. (Eds.). (1990). *Intrazooplankton Predation*. Developments in Hydrobiology No. 60. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 256 p.

Dumont, H.J.; Sarma, S.S.S. y Ali, A.J. 1995 Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (Rotifera) in relation to food density. *Freshwater Biol.* 33:39-46.

Enríquez-García, C. 2009. *Interacciones de los copépodos dentro de la estructura de la comunidad planctónica del lago Huetzalin, Xochimilco* (Tesis de Doctorado). Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala, Universidad Autónoma de México. México.

Edmondson, W.T., 1965. Reproductive rate of planktonic rotifers as related to food and temperature. *Ecol. Monograph.* 35: 61–111.

Figuroa-Sánchez, M.A. 2015. *Determinación de la estructura de la comunidad del zooplancton en presencia de cianobacterias: impacto de peces piscívoros sobre el zooplancton como alternativa en el manejo de sistemas dulceacuícolas en México* (Tesis de Maestría). Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Fontaneto, D. y De Smet, W.H. 2015. Rotifera. En: Schmidt-Rhaesa, A. (Ed.) *Handbook of Zoology, Gastrotricha, Cycloneuralia and Gnathifera*. de Gruyter. Vol. 3. 217-300p.

Gama-Flores, J.L.; Huidobro-Salas, M.E.; Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2013. A laboratory study on the effects of allelochemicals released by vertebrates (fish, salamander and tadpole) on the life history parameters of *Moina macrocopa* (Cladocera). *Allelopathy J.* 31 (2): 415-425.

Gama-Flores, J.L.; Huidobro-Salas, M.E.; Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2014. Combined effects of temperature (level and oscillation) and cadmium concentration on the demography of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Int. Revue Hydrobiol.* 99: 173-177.

García, C.E.; Chaparro-Herrera, D. de J.; Nandini, S. y Sarma, S.S.S. 2007. Life-history strategies of *Brachionus havanaensis* subject to kairomones of vertebrate and invertebrate predators. *Chem and Ecol.* 23:303-313.

García-García, G.; Sarma, S.S.S.; Nuñez-Ortíz, A.R.; y Nandini, S. 2014. Effects of the mixture of two endocrine disruptors (ethinylestradiol and levonorgestrel) on selected ecological endpoints of *Anuraeopsis fissa* and *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Int. Revue Hydrobiol.* 99: 166-172.

Gilbert, J.J. 1988. Susceptibilities of ten rotifer species to interference from *Daphnia pulex*. *Ecology* 69: 1826-1838.

Gilbert, J.J. 2003. Specificity of crowding response that induces sexuality in the rotifer *Brachionus*. *Limnol. Oceanogr.* 48: 1297-1303.

Grover, J. P. 1997. *Resource competition*. Chapman & Hall. New York. 375 p.

Guo, R.; Snell, T.W. y Yang, J. 2011. Ecological strategy of rotifer (*Brachionus calyciflorus*) exposed to predator -and competitor- conditioned media. *Hydrobiologia* 658:163–171.

Halbach, U., 1973. Life table data and population dynamics of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas as influenced by periodically oscillating temperature. En: Wieser, W (Ed.), *Effects of Temperature on Ectothermic Organisms*. Springer Verlag, Berlin, 219–228 pp.

Kirk, K.L. 1997. Life-history responses to variable environments: Starvation and reproduction in planktonic rotifers. *Ecology* 78: 434-441.

Kirk, K.L. 1998. Enrichment can stabilize population dynamics: autotoxins and density dependence. *Ecology* 79: 2456-2462.

Krebs, C.J. 1985. *Ecology; the Experimental Analysis of Distribution and Abundance*, 3<sup>rd</sup>. Harper & Row, New York. 800pp.

Lampert, W. y Sommer, U. 2007 *Limnoecology: The ecology of lakes and streams*. 2<sup>nd</sup>. Oxford: Oxford University Press. 324pp.

Lynch, M. 1978. Complex interactions between natural co-exploiters- *Daphnia* and *Ceriodaphnia*. *Ecology* 59: 552-564.

McCauley, E.; Nisbet, R.M.; Murdoch, W.W.; de Roos, A.M. y Gurney, W.S.C. 1999. Large-amplitude cycles of *Daphnia* and its algal prey in enriched environments. *Nature* 402: 653-656.

Makarewicz, J.C. y Likens, G.E. 1979. Structure and function of the zooplankton community of Mirror Lake, New Hampshire. *Ecol. Monograph*. 49. 109-127.

Mangas-Ramírez, E.; Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2004. Recovery patterns of *Moina macrocopa* exposed previously to different concentrations of cadmium and methyl parathion: life table demography and population growth studies. *Hydrobiologia* 526: 255-265.

Margalef, R. 1983. *Limnología*. Ediciones Omega, Barcelona, España. 1010pp.

Matveev, V. 1983. Estimating competition in Cladocerans using data on dynamics of clutch size and population density. International Review ges. *Hydrobiologia* 68: 785-798.

Matveev, V. 1993. An investigation of allelopathic effects of *Daphnia*. *Freshwater Biol.* 29: 99-105.

Mitchell, S.E. y Carvalho, G.R. 2002. Comparative demographic impacts of „info-chemicals“ and exploitative competition: An empirical test using *Daphnia magna*. *Freshwat. Biol.* 47: 459-471.

Nandini, S. y Sarma, S.S.S. 2002. Competition between the Rotifers *Brachionus patulus* and *Euchlanis dilatata*: Effect of algal food level and relative initial densities of competing species. *Russ. J. Ecol.* 33: 291-295.

Nandini, S.; Sarma, S.S.S.; Amador-López, R.J. y Bolaños-Muñoz, S. 2007. Population growth and body size in five rotifer species in response to variable food concentration. *J. Fresh. Ecol.* 22: 1-10.

Nandini, S.; Zúñiga-Juárez F.S. y Sarma, S.S.S. 2014. Direct and indirect effects of invertebrate predators on population level responses of the rotifer *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *Int. Revue Hydrobiol.* 99: 107-116.

Nogrady, T.; Wallace, R.L. y Snell, T.W. 1993. Guides to the identification of the macroinvertebrates of the continental waters of the world. *Rotifera* (1). Biology, ecology and systematic. S.B.P. Academic Publishers, The Hague, The Netherlands. 142p.

Ogello, E.O; Kim, H-J.; Suga, K. y Hagiwara, A. 2016. Lifetable demography and population growth of the rotifer *Brachionus angularis* in Kenya: influence of temperature and food density. *Afr. J. Aquat. Sci.* 2016: 1-8.

Pavón-Meza, E.L.; Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2007. Combined effects of temperature, food (*Chlorella vulgaris*) concentration and predation (*Asplanchna girodi*) on the morphology of *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *Hydrobiologia* 593: 95-101.

Pavón-Meza, E.L.; Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2008. Combined effects of temperature, food availability and predator's (*Asplanchna girodi*) allelochemicals on the demography and population growth of *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *Allelopathy J.* 21: 95-106.

Peña-Aguado, F.; Morales-Ventura, J.; Nandini, S. y Sarma, S.S.S. 2008. Influence of vertebrate infochemicals on the population growth and epizoic tendency of *Brachionus rubens* (Ehrenberg) (Rotifera: Brachionidae). *Allelopathy J.* 22: 123-130.

Pourriot, R. 1991. Los rotíferos. Biología. En: Gilbert, B. *Acuicultura*. Vol. 1. Omega. Barcelona. 171-181p.

Rao, T.R. y Sarma, S.S.S. 1986. Demographic parameters of *Brachionus patulus* Müller (Rotifera) exposed to sublethal DDT concentrations at low and high food levels. *Hydrobiologia* 139: 193-200.

Rice, E.L. 1974. *Allelopathy*. Academic Press. New York, San Francisco, London. 495pp.

Romanovsky, Y. y Feniova, I. Y. 1985. Competition among Cladocera: effect of different levels of food supply. *Oikos* 44: 243-252.

Rothhaupt, K. O. 1988. Mechanistic resource competition theory applied to laboratory experiments with zooplankton. *Nature* 333: 660-662.

Rothhaupt, K. O. 1990. Resource competition of herbivorous zooplankton: A review of approaches and perspectives. *Archiv für Hydrobiol.* 118: 1-29.

Sarma, S.S.S. y Rao, T.R. 1990. The population dynamics of *Brachionus patulus* Müller in relation to food and temperature. *Proc. Ani. Sci.* 99: 335-343.

Sarma, S.S.S. y Rao, T.R. 1991. The combined effects of food and temperature on the life history parameters of *Brachionus patulus* Müller (Rotifera). *Internat. Rev. der gesamten Hydrobiol.* 76: 225-239.

Sarma, S.S.S.; Iyer, N. y Dumont, H. J. 1996. Competitive interactions between herbivorous rotifers: importance of food concentration and initial population density. *Hydrobiologia* 331: 1-7.

Sarma, S.S.S.; Fernández-Araiza, M.A. y Nandini, S. 1999. Competition between *Brachionus calyciflorus* Pallas and *Brachionus patulus* (Müller) (Rotifera) in relation to algal food concentration and initial population density. *Aquatic Ecol.* 33: 339–345.

Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2001. Life table demography and population growth of *Brachionus variabilis* Hampel, 1896 in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia* 446/447: 75–83.

Sarma, S.S.S.; Nandini, S.; Gama-Flores, J.L. y Fernandez-Araiza, M.A. 2001. Population growth of *Euchlanis dilatata* (Rotifera): combined effects of methyl parathion and food (*Chlorella vulgaris*). *J. of Env. Sci. and Health.* B 36: 43-54.

Sarma, S.S.S.; Martínez-Jerónimo, F.; Ramírez-Pérez, T. y Nandini, S. 2006. Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *J. of Env. Sci. and Health Part A* 41(4): 543-558.

Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2007. Small prey size offers immunity to predation: A case study on two species of *Asplanchna* and three brachionid prey (Rotifera). *Hydrobiologia* 593: 67-76.

Sarma, S.S.S.; Avelino-Rivera, S.; Elizalde-Hinojosa, F. y Nandini, S. 2007. Combined influence of food level and inoculation density on the competition between *Anuraeopsis fissa* and *Brachionus patulus* or *Brachionus macracanthus* (Rotifera: Brachionidae). *Russ. J. of Ecol.* 38(5):353-362.

Sarma, S.S.S.; Franco-Téllez, J.L. y Nandini, S. 2008. Effect of algal food (*Chlorella vulgaris*) concentration and inoculation density on the competition among three planktonic Brachionidae (Rotifera: Monogononta). *Hidrobiológica*. 18: 123-132.

Sarma, S.S.S.; Gómez-Cabral, G.C.; García-Arroyo, A. y Nandini, S. 2011. Effects of kairomones from predatory vertebrates on the population growth of rotifer *Platyonus patulus* (Müller). *Allelopathy J.* 27(2): 301-308.

Segers, H. 2008. Global diversity of rotifers (Rotifera) in freshwater. *Freshwat. anim. div. assessment* 595: 49-59.

Seitz, A. 1984. Are there allelopathic interactions in zooplankton? Laboratory experiments with *Daphnia*. *Oecologia*. 62: 94-96.

Snell, T.W. 1998. Chemical ecology of rotifers. *Hydrobiologia* 387/388: 267–276p.

Snell, T.W. y King, C.E. 1977. Lifespan and fecundity patterns in rotifers: the cost of reproduction. *Evolution* 31: 882–890.

Starkweather, P.L. 1996. Sensory potential and feeding in rotifers: structural and behavioral aspects of diet selection in ciliated zooplankton. En: Lenz, P.H.; Hartline, D.K.; Purcell, J.E. y Macmillan, D.L. (Eds.), *Zooplankton: sensory ecology and physiology*. Gordon and Breach. Amsterdam, The Netherlands. 591pp.

Stearns, S.C. 1976. Life history tactics: a review of ideas. *Quart. Rev. Biol.* 51: 3-47.

Stemberger, R.S. y Gilbert, J.J. 1985. Assessment of threshold food levels and populations growth in planktonic rotifers. *Ecology* 66: 1151-1159.

Tessier, A.J. y Goulden, C.E. 1982. Estimating food limitation in cladoceran populations. *Limnol. and Oceanog.* 27: 707-717.

Tollrian, R. y Harvell, C.D. 1999. *Ecology and Evolution of Inducible Defenses*. Princeton University Press, Princeton, USA. 385 pp.

USEPA. 1993. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms*. Weber, C.I. (ed.). Environmental Monitoring Systems Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio. 45268. EPA/600/4-90/027F.

Van Donk, E. 2007. Chemical information transfer in freshwater zooplankton. *Ecol. inform.* 112-120.

Verschoor, A.M. 2005. Hard to handle: Inducible defenses in plankton. PhD thesis. Radboud University Nijmegen. The Netherlands.

Verschoor, A.M.; Yegor, S.Z y Wolf, M.M. 2007. Infochemical-mediated trophic interactions between the rotifer *Brachionus calyciflorus* and its food algae. *Limnol. Oceanogr.* 52: 2109-2119.

Vet, L.E.M. 1999. From chemical to population ecology: Infochemical use in an evolutionary context. *J. of Chem. Ecol.* 25: 31-49.

Wallace, R.L. y Snell, W.T. 2001. "Rotifera", en Thorp, H. y P. Covich (Eds.), *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Colorado State University, Department of Fishery and Wildlife. Biology, Fort Collins, E.U.A.

Wallace, R.L.; Snell, W.T. y Nogrady, T. 2006a. *Rotifera biology, ecology and systematic*. S.P.B. Academic publishing.

Wallace, R.L.; Snell, W.T.; Ricci, C. y Nogrady, T. 2006b. *Rotifera*. Vol. 1: *Biology, ecology and systematics*. 2<sup>nd</sup> edn. En: Dumont, H.J.F. (ed.) *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world*. Kenobi Productions Gent. Belgium / Backhuys, The Netherlands. 299pp.

Wallace, R.L. y Snell, W.T. 2010. Rotifera. En: Thorp y J.; Covich, A. (Eds.). *Ecology and classification of north american freshwater invertebrates*. 2<sup>nd</sup> edn. Academic Press. San Diego, USA. 173-235p.

Walz, N. 1987. Comparative population dynamics of the rotifers *Brachionus angularis* and *Keratella cochlearis*. *Hydrobiologia* 147: 209-213.

Weetman, D. y Atkinson, D. 2002. Antipredator reaction norms for life history traits in *Daphnia pulex*: dependence on temperature and food. *Oikos*, 98: 299–307.

Wetzel. 2001. *Limnology: Lake and river ecosystems*. 3<sup>rd</sup>. Academic Press. San Diego, USA. 1006pp.

Xi, Y.L.; Ma, Q.; Zhang, J.Y.; Wen, X.-L.; Xiang X.-L. 2009. Differences in life table demography among eight geographic populations of *Brachinus calyciflorus* (Rotifera) from China. *Limnologica*. 40: 16-22.

Zamora-Barrios, C.A.; Nandini, S. y Sarma, S.S.S. 2015. Effect of crude extracts of *Dolichospermum planctonicum* on the demography of *Platyonus patulus* (Rotifera) and *Ceriodaphnia cornuta* (Cladocera). *Ecotoxicology* 24: 85-93.

Zingel, P. y Haberman, J. 2008. A comparison of zooplankton densities and biomass in Lakes Peipsi and Võrtsjärv (Estonia): rotifers and crustaceans versus ciliates. *Hydrobiologia*. 599: 153-159.

# 11. Anexo

## Medio de cultivo Bold Basal

Se deben preparar las siguientes soluciones:

1.- NaNO <sub>3</sub>	250 g·L <sup>-1</sup>
2.- MgSO <sub>4</sub>	75 g·L <sup>-1</sup>
3.- K <sub>4</sub> HPO <sub>4</sub>	75 g·L <sup>-1</sup>
4.- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	75 g·L <sup>-1</sup>
5.- NaCl	75 g·L <sup>-1</sup>
6.- EDTA	50 g + 31 g de KOH·L <sup>-1</sup>
7.- FeSO <sub>4</sub>	4.98 g·L <sup>-1</sup> + 1 ml de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ·L <sup>-1</sup>
8.- H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	11.42 g·L <sup>-1</sup>
9.- CaCl <sub>2</sub>	25 g·L <sup>-1</sup>
10.- Elementos traza (se deben calentar para prepararlos. No se debe agregar el siguiente elemento hasta no haber disuelto el anterior)	
a) ZnSO <sub>4</sub>	8.82 g·L <sup>-1</sup>
b) MnCl <sub>2</sub>	1.44 g·L <sup>-1</sup>
c) MoO <sub>3</sub>	0.71 g·L <sup>-1</sup>
d) CuCO <sub>4</sub>	1.57 g·L <sup>-1</sup>
e) Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.49 g·L <sup>-1</sup>

Para realizar el cultivo de microalgas se mezclaron 30 ml de cada una de las 10 soluciones antes mencionadas, obteniendo un volumen total de 300 ml. Posteriormente se tomaron 30 ml de esta mezcla y se vertieron en una botella de plástico de 2 L de capacidad. El proceso se repitió hasta completar 10 botellas.

En cada botella se agregaron 1.8 L de agua destilada y alrededor de 10 ml de *C. vulgaris* previamente revisada en un microscopio óptico para verificar que se tratara de una cepa pura.

Las botellas se conectaron a un sistema de aireación y se expusieron a la luz. Ambas condiciones (aireación y luz) se mantuvieron constantes durante una semana aproximadamente a una temperatura de  $17\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Cada tercer día se añadieron 500 mg de  $\text{NaHCO}_3$  y se recuperó el volumen de agua destilada perdida por evaporación.

## Medio EPA

Para preparar 20 L de agua reconstituida moderadamente dura se siguió el proceso descrito a continuación:

Se colocaron 16 L de agua destilada en un garrafón de plástico limpio.

En un matraz con un litro de agua destilada se añadieron por separado:

1.- $\text{MgSO}_4$	1.20 g
2.- $\text{NaHCO}_3$	1.92 g
3.- $\text{CaSO}_4$	1.20 g
4.- $\text{KCl}$	0.040 g

Cada solución se agitó hasta su completa dilución con un agitador magnético. Una vez que cada sal estuvo completamente disuelta, ésta se añadió al garrafón con 16 L de agua destilada, para completar los 20 L de medio EPA.