



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

*Dinámica poblacional de la especie
zooplanctónica *Heterocypris incongruens*
(Ramdohr, 1808) (Crustacea: Ostracoda) con
relación a la cantidad y tipo de alimento (alga
Scenedesmus acutus y materia orgánica de agua
residual)*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(Biología ambiental)

P R E S E N T A

Marissa Fernanda del Carmen Juárez Franco

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Singaraju Sri Subrahmanya Sarma

MÉXICO, D.F.

Enero, 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 26 de octubre del 2009, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** del (la) alumno (a) **JUÁREZ FRANCO MARISSA FERNANDA DEL CARMEN** con número de cuenta **89092523** con la tesis titulada **"DINÁMICA POBLACIONAL DE LA ESPECIE ZOOPLANCTÓNICA, *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) (Crustacea: Ostracoda) CON RELACIÓN A LA CANTIDAD Y TIPO DE ALIMENTO (alga *Scenedesmus acutus* Y MATERIA ORGÁNICA DE AGUA RESIDUAL)"**, realizada bajo la dirección del (la) **DR. SINGARAJU SRI SUBRAHMANYA SARMA**:

Presidente: DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA
Vocal: DRA. RUTH CECILIA VANEGAS PÉREZ
Secretario: DR. SINGARAJU SRI SUBRAHMANYA SARMA
Suplente: DR. PEDRO RAMÍREZ GARCÍA
Suplente: DRA. GLORIA VILA CLARA FATJO

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 22 de enero de 2010.

Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

Agradecimientos

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico recibido durante los estudios del posgrado (Número de becario (CVU): 225912) y a la UNAM por la beca de fomento a la graduación.

A los miembros del Comité Tutorial/ jurado del examen, por su tiempo y sus consejos para la realización de éste proyecto.

Dr. S.S.S. Sarma

Dra. Cecilia Vanegas Pérez

Dra. Nandini Sarma

Dr. Fernando Álvarez

Dr. Pedro Ramírez

Dra. Gloria Vilaclara

Agradecimientos

Antes que nada agradezco a Dios por permitirme lograr este sueño, con salud y en compañía de mi familia y de mis amigos.

Gracias:

A mi mamá Lucy, por enseñarme a ser perseverante y superarme día a día.

A mi abuela Tomy, por enseñarme a ser responsable, a mirar siempre adelante y mostrarme que no hay edad para seguir aprendiendo y avanzando en el camino que se decida seguir.

A Julio, por convencerme de que sí podía y de que no debía abandonar este sueño que hoy ya es una realidad. Gracias por brindarme tu apoyo cada vez que lo he necesitado.

A mis hermanos, a Ana por su apoyo y mi sobrino Fernando por su compañía y por su alegría.

A Beto, por su cariño, su apoyo y por mostrarme que todo es susceptible de ser reciclado y seguir siendo útil en vez de contaminar más el planeta.

A mis compañeros de laboratorio: A Carmen, gracias por tu apoyo y ser una gran amiga. A Fabiola, Gerardo, Jorge, Jesús, Diego, Rocío, Cristian y Cecilia, por sus consejos y amistad.

Robert Brotherhood por su amabilidad para revisar este escrito y mejorar su estructura y a Jorge Ciro por sus consejos y amistad.

Al personal de la planta de tratamiento del Rosario, por las facilidades brindadas para la colecta del agua para los experimentos.

Indice

1.- Resumen	5
2.- Introducción	7
3.- Antecedentes	15
4.- Justificación	19
5.- Hipótesis	20
6.- Objetivos	20
7.- Materiales y métodos	21
8.- Resultados	26
8.1.- Crecimiento poblacional	26
8.2.- Tabla de vida	32
8.2.1 Sobrevivencia	32
8.2.2 Esperanza de vida a edad específica	34
8.2.3 Fecundidad	36
8.2.4 Promedio de vida	38
8.2.5 Reproducción bruta	38
8.2.6 Reproducción neta	39
8.2.7 Esperanza de vida	39
8.2.8 Tiempo generacional	40
8.2.9 Tasa de incremento poblacional (r)	41
9.- Discusión	44
10.- Conclusiones	52
11.- Literatura citada	54
12.- Anexo 1	60

1.- Resumen

Los ostrácodos han sido empleados como una herramienta para estudios paleontológicos, pero poco se sabe sobre la biología y la ecología de las formas recientes. Por otro lado, las grandes ciudades requieren de gran cantidad de agua para su sostén y desarrollo, lo que genera enormes efluentes de aguas residuales, las cuales deben recibir un adecuado tratamiento, tanto para su reutilización como para reducir el impacto que involucra la descarga de estos efluentes a los ecosistemas acuáticos. La propuesta de este trabajo consiste en el cultivo de ostrácodos con la materia orgánica presente en estas aguas, encaminado a la generación de biomasa y a la reducción de dicha materia. El objetivo general fue evaluar la dinámica poblacional de la especie *Heterocypris incongruens* a partir de dos aspectos centrales: el crecimiento poblacional y la tabla de vida demográfica con dos diferentes tipos de alimento: la materia orgánica obtenida de aguas residuales domésticas y el alga verde *Scenedesmus acutus*. Para cada tipo de alimento se consideraron tres concentraciones experimentales, equivalentes en términos de peso seco. Los resultados denotan que tanto el tipo de dieta como la cantidad modifican sus parámetros demográficos. Los ostrácodos alimentados con bajas concentraciones de materia particulada presentaron una mayor abundancia y promedio de vida que la registrada cuando fueron alimentados con la misma cantidad de alga. Bajo niveles elevados de materia orgánica, se limitó la adquisición del alimento, así como la energía derivada de su ingesta, afectando su sobrevivencia y reproducción. Se concluyó que la especie puede ser cultivada con la materia orgánica presente en aguas residuales domésticas en bajas cantidades y obtener biomasa, susceptible de ser utilizada con otros fines (i.e. acuicultura, previo análisis de contaminantes y/o nutrientes) y disminuir la cantidad de materia orgánica de las aguas de desecho en las fases finales de su tratamiento.

Abstract

Ostracods are widely used in paleontological studies. However, much less is known about the biology and ecology of recent forms. Mega-cities require large amounts of water for sustenance and development and thus generate huge quantities of wastewaters, which should receive appropriate treatment both for reuse and to reduce the impact these effluents to aquatic ecosystems. This thesis was based on the fact that ostracods can be cultured using organic matter present in these effluents, and thus help to generate biomass and to reduce the load of such material from the domestic wastewaters. The objective was to evaluate the population dynamics of the predominantly parthenogenetic ostracod *Heterocypris incongruens* using two approaches: population growth and life table demography of the species with two different types of food: organic matter from domestic wastewater and the green alga *Scenedesmus acutus*. For each food type, the quantity offered was the same in terms of dry weight. The results indicate that both the food type and quantity had significant influence on the demographic parameters of *H. incongruens*. Ostracods fed on low concentrations of particulate organic matter from domestic wastes, had greater abundance and longer life expectancy than when were fed on the equivalent quantity of alga. Under high levels of organic matter, both the survival and reproduction of *H. incongruens* were adversely affected. It was concluded that this ostracod species can be cultured using organic matter when present in small quantities in domestic wastewaters.

2.- Introducción

Los ostrácodos (Ostracoda, del griego *óstrakon*, "concha" y *eidés*, "con aspecto de"), son crustáceos de tamaño muy pequeño, muchas veces microscópicos, su talla varía de 0.4 a 1.5 mm, algunas formas dulceacuícolas llegan a medir hasta 5 mm. Son organismos de vida libre que habitan medios salobres, dulceacuícolas y marinos. Algunas formas están adaptadas a medios terrestres y viven asociados a lugares húmedos de los bosques tropicales. No existen formas parásitas, pero se ha encontrado que algunos se alojan en las cámaras branquiales de crustáceos decápodos. La subclase Podocopa tiene un orden Podocopida, en el cual dos de sus subórdenes (Matacopina y Podocopina) contienen a todos los ostrácodos de agua dulce. (Delorme, 2001).

Poseen un caparazón bivalvo, que dependiendo de la especie puede ser blando o altamente calcificado, el cual al cerrarse cubre todas las partes blandas del animal, dándole el aspecto de una diminuta almeja. El ligamento que une las conchas tiende a separarlas mientras que el músculo interior actúa inversamente juntándolas. De esta forma no se requiere un músculo adicional para la apertura de las valvas lográndose una mayor eficiencia y un menor gasto energético (Thorp y Covich, 2001).

Son animales de cuerpo poco segmentado, normalmente no más de 8 segmentos, y pocos apéndices, que comprenden las antenas, dos apéndices bucales y dos adicionales (Fig. 1). En muchas especies de ostrácodos estos últimos han desaparecido (Pennak, 1989).

Estos animales microscópicos forman parte de la trama trófica. Son parte de la dieta de peces y de algunos crustáceos de importancia comercial. En los ambientes naturales, los ostrácodos de agua dulce son descritos como generalistas, alimentándose con algas, material orgánico en descomposición, plantas y animales (tanto vivos como muertos) (Thorp y Covich, 2001).

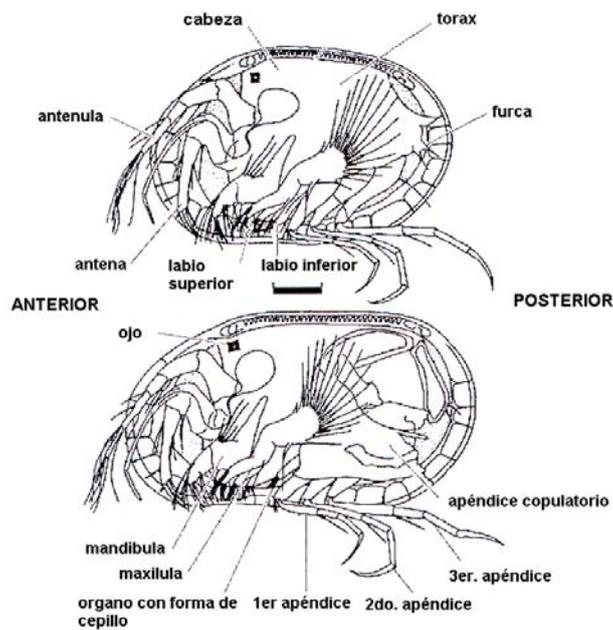


Figura 1. Descripción general de un ostrácodo. (Tomado de Athersuch *et al.*, 1989)

De los pocos estudios de laboratorio realizados con especies de ostrácodos cultivadas con algún alimento en particular y de los análisis de contenidos estomacales, parece que el ofrecer algas (vivas o secas) y el alimento de peces comerciales permite la sobrevivencia y el crecimiento de diversos ostrácodos de agua dulce. Se ha observado a *Eucypris virens* devorando crustáceos como cladóceros, anostracos, y otros ostrácodos recién muertos o moribundos (Schmit *et al.*, 2007).

Su sistema digestivo consiste de una boca, esófago, estómago, intestino, intestino grueso y ano. La boca es una gran apertura con un diente grande de los palpos mandibulares sobre cada lado. Una glándula, probablemente salival, se abre dentro de la boca. El esófago está muy muscularizado y conduce al estómago distendido. El hepatopáncreas se encuentra en las capas epidermales cercanas al caparazón y desemboca en la parte anterior del estómago. La mayor parte de la digestión tiene lugar en el estómago, donde el alimento en forma de bolas, pasa de éste al intestino delgado para la absorción de nutrientes y sale del ano en pequeñas cápsulas fecales (Delorme, 2001).

Se reproducen por medio de puestas de huevos tanto de forma sexual como asexual. Por ejemplo, la especie *Darwinula stevensoni* ha permanecido por más de 25 millones de años sin sexo y algunas otras especies pueden tener tanto poblaciones partenogénicas como singámicas con diferentes distribuciones geográficas (partenogénesis geográfica) (Gandolfi *et al.*, 2001). La fecundidad de los ostrácodos es altamente variable, ya que la cantidad de huevos que ponen y el intervalo de las puestas no es constante, además de que el tiempo que demoran los huevos en eclosionar tiene un intervalo que va de 10 a 120 días o más, por lo que se considera que presentan huevos de latencia. Al eclosionar, ya tienen el caparazón formado y presentan varias mudas sucesivas durante su vida. Generalmente se presentan en gran número, son sensibles a los cambios del medio, y han sido considerados como buenos indicadores de ambientes (Havel y Talbott, 1995).

Los ostrácodos tienen algunas ventajas importantes como organismos de estudio. Son muy numerosos en los hábitats acuáticos y semiacuáticos. Son pequeños y algunas especies pueden ser cultivadas en el laboratorio. Exhiben algunos patrones de variación entre y dentro de las especies, los cuales pueden ser empleados para probar hipótesis ecológicas y evolutivas; lo más relevante es que estas características están combinadas con un gran e inusualmente completo registro fósil (Butlin *et al.*, 2000).

Los ostrácodos han sido largamente estudiados desde el punto de vista paleontológico, debido a que su registro fósil provee una invaluable herramienta para la reconstrucción de los cambios ambientales del pasado, incluyendo cambio climático y eutrofización antropogénica. Sin embargo, relativamente poco se sabe acerca de la fisiología, comportamiento y ecología de las formas recientes (Schmit *et al.*, 2007).

La especie de ostrácodo seleccionada para ser cultivada en este proyecto es *Heterocypris incongruens* (Fig.2). Es una especie cosmopolita que se reproduce por partenogénesis (Chaplin *et al.*, 1994). Son organismos de color naranja brillante. Se ha descubierto que las hembras de esta especie pueden producir dos tipos de huevos: unos capaces de eclosionar dentro de los 10 días posteriores a su puesta y

otros latentes que son capaces de resistir condiciones ambientales extremas, como altas o bajas temperaturas y desecación. Sin embargo, se ha notado que las condiciones ambientales en que se desarrollan las hembras no son relevantes para la producción de uno u otro tipo de huevo (Walker, 1989).

Heterocypris incongruens al igual que otros miembros de la familia Cyprididae, presenta 8 estadios juveniles con aumento de tamaño del cuerpo entre cada uno. Finalizan su etapa de nauplio durante su primer estadio antes de su primera muda. En la última (el noveno estadio), inicia la producción de huevos. A partir de ahí ya no se presenta ninguna muda (Smith y Martens, 2000). Los estadios juveniles tienen una duración de 1-4 días con un periodo total entre su eclosión y su primera puesta de aproximadamente 19 días, a partir de este momento inicia su etapa reproductiva que tiene una duración de entre 14 a 37 días (Havel y Talbott, 1995).

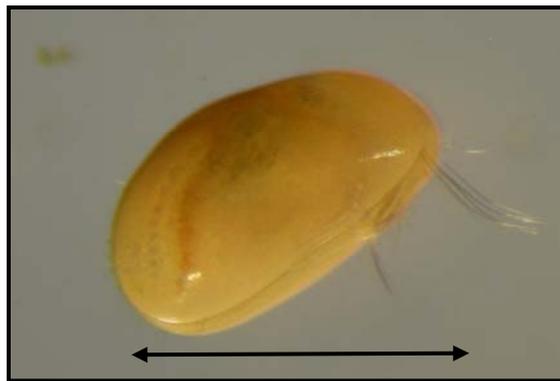


Figura 2: Imagen del ostrácodo *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) la escala indica 1200 μm . Fotografía tomada con una cámara Nikon adaptada a un microscopio estereoscópico (Nikon SMZ645, Japón) con un aumento de 20X.

En general se considera que los ostrácodos, al igual que otros organismos, consumen como alimento la materia orgánica particulada que se encuentra en suspensión o sedimentada en los cuerpos de agua, a partir de la cual obtienen los nutrientes y elementos energéticos que requieren para sus funciones vitales (Schmit *et al.*, 2007).

Los tipos de Materia Orgánica Particulada (MOP) son muy variables para ser descritos por un único *valor nutricional*. El valor nutricional de cierta clase de MOP puede ser definido sólo para un consumidor específico. Las características

nutricionales importantes incluyen: facilidad de manipulación (forma y tamaño), digestibilidad, contenido energético y contenido de nutrientes esenciales. Como la MOP es un recurso que pueden ser sustituido, una gran cantidad de ella, puede algunas veces, compensar un bajo valor nutricional. Éste no siempre es el caso y podemos asumir, por lo tanto, que la energía y el metabolismo de los animales que la consumen, puede estar limitada por la calidad, así como por la cantidad de partículas de alimento (Sterner, 1997).

La materia orgánica provee energía, así como elementos esenciales para organismos heterótrofos como los ostrácodos. Hay una fuerte correlación entre el contenido energético y el contenido de carbón orgánico de las partículas. Un contenido energético más preciso puede ser estimado si se conocen el porcentaje de carbohidratos, proteínas y grasas (lípidos). En la materia orgánica, los valores promedio son Carbohidratos 17.2 kJ g^{-1} , Proteínas 23.7 kJ g^{-1} y Lípidos 39.6 kJ g^{-1} (Lampert y Sommer, 2007):

Como los lípidos tienen un contenido de carbón relativamente alto (80%) y los carbohidratos y las proteínas tienen un bajo contenido de carbón (40%), se puede observar de los valores anteriores que el contenido de carbón y el contenido energético están altamente relacionados. Las partículas de origen animal frecuentemente tienen un relativamente alto contenido energético puesto que contienen más grasa (Lampert y Sommer, 2007).

El contenido energético es sólo un aspecto del valor nutricional de MOP. Además de la posible importancia de los ácidos grasos poli-insaturados, los aminoácidos esenciales y las vitaminas pueden ser también factores limitantes. En la naturaleza los animales usualmente comen una variedad de alimentos, por lo tanto evitan el déficit inherente a los diferentes tipos de alimentos. Los consumidores de detritos, por ejemplo, incluyen bacterias y hongos que viven sobre la materia orgánica muerta (Lampert y Sommer, 2007).

La MOP no solo se encuentra en sistemas naturales, también es parte de los desechos que son vertidos en drenajes, a las aguas conteniendo esta materia junto con otros tipos de compuestos se les denomina aguas residuales. Los materiales

derivados de residuos domésticos o de procesos industriales, por razones de salud pública y por aspectos de recreación, de estética y económicos, no pueden desecharse vertiéndolas sin tratamiento en lagos o corrientes convencionales (Guterstam *et al.*, 1998).

Mediante diversos sistemas de tratamiento se remueven estos elementos de las aguas, los materiales inorgánicos como la arcilla, sedimentos y otros residuos se pueden eliminar por métodos mecánicos y químicos. Sin embargo, si el material que debe ser retirado es de naturaleza orgánica, el tratamiento implica usualmente actividades de microorganismos que oxidan y convierten la materia orgánica en CO₂. Es por esto que se ha constatado que en el tratamiento de las aguas de desecho los microorganismos desempeñan papeles cruciales (Wiesmann *et al.*, 2007).

En México, crece la necesidad de utilizar agua residual tratada y ha sido necesario incrementar y adecuar la infraestructura de este servicio permanentemente. La reutilización de las aguas tratadas también ofrece beneficios ambientales significativos debido a que esto reduce la presión sobre los recursos de aguas convencionales y, simultáneamente, reduce la contaminación de ríos, lagos y playas (Hernández-Sancho *et al.*, 2009). Desde 1956, el Distrito Federal aprovecha y reutiliza las aguas residuales tratadas en el riego de áreas verdes urbanas, algunas zonas agrícolas y llenado de lagos recreativos. La primera planta que se pone en operación es la de Chapultepec en ese mismo año (D.D.F., 2000).

El Distrito Federal cuenta con 30 plantas de tratamiento de agua residual con una capacidad instalada para tratar 6,543 l/s. Sin embargo, el caudal real tratado es de 3,525 l/s. En 2006 el país contaba con una capacidad de tratamiento instalada de 99,764.19 l/s en un total de 1,593 plantas, de las cuales el caudal real tratado es de 74,388.29 l/s. Por el tipo de proceso, el 39% de las plantas en el país trata sus aguas por medio de lagunas de estabilización; sin embargo, sólo representa el 18.56% de total de aguas tratadas mientras que, aunque instalado sólo en el 23.35% de las plantas del país, el sistema de lodos activados trata el 41.58% del caudal (CNA, 2007).

La planta de la Unidad Habitacional El Rosario, ubicada en la delegación Azcapotzalco en el Distrito Federal, funciona con el sistema de lodos activados, con una capacidad instalada de 25 l/s. Sin embargo el caudal real tratado es 15 l/s. Aunque es una de las plantas con capacidad de proporcionar al agua hasta el tratamiento terciario, esto no ocurre, por lo que una vez que el agua sale del reactor biológico pasa de inmediato al tanque de contacto con cloro y de ahí su destino es el riego de áreas verdes y llenado del lago del parque Tezozomoc (CNA, 2007).

En dicha planta el proceso que reciben las aguas para su “depuración” se divide en varias fases. La primera de ellas se denomina tratamiento primario, en el que ocurre la decantación por gravedad de una parte de la materia en suspensión y el retiro de grasas, aceites y natas sobrenadantes. El efluente del sedimentador primario se conduce por medio de canaletas hasta el siguiente estanque para iniciar el tratamiento secundario.

En el tratamiento secundario, se elimina principalmente la materia orgánica biodegradable. Para ello se emplean tratamientos biológicos en los que la materia orgánica es oxidada por distintos tipos de microorganismos reduciéndola hasta en un 90%, de manera que se disminuye la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) del efluente (Mendoza, 2004).

El método que más caudal de aguas residuales trata en el país y el más empleado en la ciudad de México es el de Lodos Activados que consiste en lodos sedimentados de las aguas residuales crudas previamente agitados en presencia de abundante oxígeno atmosférico para lo cual se emplea un tanque de aireación. (Tortajada, 1998).

Los lodos activados son diferentes de otros lodos tanto en apariencia como en características físicas y composición biológica. En este método se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica mediante el empleo de microorganismos como bacterias, protozoarios y rotíferos. Las bacterias que intervienen en el proceso de lodos activados incluyen los géneros *Pseudomonas*, *Zoogloea*, *Aclimobacter*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Bdellovibrio*, *Mycobacterium*, y las dos bacterias nitrificantes más comunes, *Nitrosomas* y *Nitrobacter* (Hodgson y Paspaliaris, 1995).

En el sistema de lodos activados, las bacterias son fundamentalmente los microorganismos que degradan el residuo orgánico del efluente, si bien, las actividades metabólicas de otros microorganismos son igualmente importantes. Por ejemplo, los protozoos, generalmente ciliados (ej. Vorticella), y los rotíferos ejercen una acción de refinamiento de los efluentes. Los protozoos consumen las bacterias dispersas que no han floculado y los rotíferos consumen cualquier partícula biológica pequeña que no haya sedimentado (Hodgson y Paspaliaris, 1995).

Una vez finalizada la fase del tratamiento secundario, el siguiente proceso al que se somete el agua consiste en pasarla por un tanque de contacto con cloro, para que se lleve a cabo la destrucción de microorganismos patógenos y materia orgánica remanente en el agua (DDF, 2000).

Este proceso puede continuarse hacia un tratamiento terciario que se aplica para eliminar una serie de compuestos, como son las sustancias nitrogenadas, los compuestos fosforados y distintos tipos de materia orgánica e inorgánica. Es una serie de procesos destinados a conseguir una calidad del efluente superior a la del tratamiento secundario. Existen diferentes tipos de tratamiento terciario, como adsorción en carbón activado (separación de compuestos orgánicos), intercambio iónico, ósmosis inversa y oxidación química, para la purificación de aguas residuales (Mendoza, 2004).

La gran cantidad de materia orgánica que se procesa en estas plantas de tratamiento puede ser empleada como alimento para zooplancton (Sarma *et al.*, 2003), además de que estos organismos son comúnmente empleados por otros grupos como los peces para su alimentación (Nandini *et al.*, 2004).

3.- Antecedentes

Havel y Talbott (1995) emplearon este grupo como un modelo para los ensayos de toxicidad en sedimentos. Examinaron las características de la historia de vida de *H. incongruens*. Sus resultados indican que tanto la fecundidad (0-64 total de huevos por hembra), como los huevos y el tiempo de desarrollo (1-157 días), fueron muy variables. En contraste, el tiempo de desarrollo presenta una menor variación (7-16 días). Indicó que *H. incongruens* tiene una mayor sensibilidad a la variación en la calidad de los sedimentos que el cladóceros *Ceriodaphnia dubia*, indicando que los ostrácodos son un buen candidato para pruebas de toxicidad subletales con sedimentos contaminados.

Rossi y Menozzi (1996) realizaron experimentos de historia de vida de la especie *Heterocypris incongruens* bajo diferentes fotoperiodos utilizando tres clones de esta especie que presentan sucesión estacional en lagos templados. El estudio con dichos organismos mostró que están adaptados al fotoperiodo prevaleciente en las estaciones en que dichos clones se presentan y cuando estos periodos de luz-oscuridad son afectados, la sobrevivencia, la fecundidad y la producción de huevos latentes también se afectan disminuyendo en los dos primeros y aumentando el último.

Sarma *et al.* (2003) compararon el crecimiento poblacional de tres especies de rotíferos *Brachionus calyciflorus*, *B. patulus* y *B. rubens* y la tabla de vida de éste último, usando aguas residuales domésticas de la ciudad de México en diferentes fases de tratamiento También evaluaron el crecimiento del rotífero depredador *Asplanchna sieboldi* alimentado con *B. rubens* cultivados en diferentes categorías del tratamiento de aguas residuales de la planta tratadora de Iztacalco: el agua residual cruda tal como llegaba a la planta, el agua tomada de los reactores biológicos y el agua del sedimentador posterior al reactor biológico antes de que se le agregara cloro: además, consideraron un grupo testigo alimentado con el alga unicelular *Chlorella vulgaris*. Los autores encontraron que la población de *B. calyciflorus* y *B. patulus* en el agua cruda perecía a los pocos días y en los otros dos tipos de agua la población se mantenía en densidades bajas, mientras que *B. rubens* en el agua cruda alcanza una gran abundancia, incluso mayor que el testigo alimentado sólo

con el alga *Chlorella*. Las presas cultivadas en aguas residuales soportaron un mayor crecimiento poblacional del depredador *A. sieboldi*. La mayor tasa de crecimiento fue observada cuando se alimentó con *B. rubens* cultivado en aguas crudas.

Mendoza (2004) probó estas mismas especies de rotíferos y cladóceros empleándolos como bacteriófagos en agua del estanque sedimentador posterior al reactor biológico en la misma planta de Iztacalco, encontrando que tanto rotíferos como cladóceros eran eficientes bacterívoros, consumiendo aproximadamente el 40% de las bacterias presentes en el medio, identificando como el más eficiente al cladóceros *C. dubia* con un 49% y al rotífero *B. havanaensis* como el organismo menos bacterívoro con el 15% de consumo.

Nandini *et al.* (2004) evaluaron el crecimiento poblacional de cuatro especies de cladóceros. Estas fueron *Alona rectangula*, *Ceriodaphnia dubia*, *Moina macrocopa* y *Daphnia pulex* en la misma planta y tipos de agua que Sarma *et al.* (2003). Observaron que las poblaciones de distintas especies de cladóceros crecieron de manera diferente en cada tipo de agua. Así, *A. rectangula* no sobrevivió en el agua cruda más de 5 días, pero en cambio mostró un crecimiento similar al testigo con el agua del reactor biológico. *C. dubia* vivió solamente 7 días en el agua cruda. *D. pulex* se afectó en este tipo de agua, pues no presenta crecimiento poblacional en ningún tipo de agua residual. Mientras que, por el contrario, *M. macrocopa* mostró un gran crecimiento en aguas crudas y del reactor biológico, aun mayor que el testigo, aunque en el agua del sedimentador secundario ya no presentó crecimiento poblacional. Los autores concluyen que se pueden obtener densidades poblacionales similares a las obtenidas cultivando a las especies con el alga *Chlorella*, lo que supone que las aguas residuales pueden permitir el cultivo de estas especies y aprovechar la gran cantidad de materia orgánica y generar biomasa para alimento de peces.

Nandini *et al.* (2005) continuando con este trabajo (en las cuatro especies de cladóceros seleccionadas), realizaron la tabla de vida, calcularon la sobrevivencia, esperanza de vida, fecundidad, promedio de tiempo de vida, tasa reproductiva bruta, tasa reproductiva neta, tiempo generacional y la tasa de crecimiento intrínseco. En

general las tendencias fueron similares que en sus experimentos anteriores. Observaron que cada especie respondía de manera diferente al crecer en aguas residuales en los diferentes niveles de tratamiento y mostrando, en los parámetros evaluados, niveles menores que en los grupos testigo. Sin embargo encontraron que el estanque donde mejor se desarrollaban fue el correspondiente al de tratamiento secundario aunque a excepción de *M. macrocopa*, los grupos testigos mostraron una tasa de incremento poblacional mayores que en los tratamientos con aguas residuales. Concluyeron que la materia orgánica en estos tanques puede ser cosechada como cladóceros los cuales pueden ser utilizados para obtener quitina con varios usos en la industria farmacéutica.

Por su parte Schmit *et al.* (2007) ofrecieron al ostrácodo *Eucypris virens* ocho tipos de alimento previamente congelados, que fueron *Artemia sp.*, *Mysis sp.*, *Chironomus sp.*, *Daphnia sp.*, espinacas y coles de bruselas (previamente descongelados), “Spirulina” (de un alimento comercial para pez conteniendo 7% de *Spirulina sp.*) y filamentos vivos de la cianobacteria dulceacuícola *Tolypothrix tenuis*. Los autores reportaron que los ostrácodos prefieren las espinacas y la cianobacteria, además de que la segunda les ofrece una opción para mudar y colocar sus huevos.

Peña-Aguado *et al.* (2007) realizaron un estudio del comportamiento alimenticio de la especie de pez *Ameioba splendens* con los tipos de presa comunes para estos organismos (rotíferos, cladóceros y ostrácodos) durante las primeras 10 semanas después del nacimiento. Encontraron que el éxito de captura de las presas pequeñas era bastante alto y constante durante el período del estudio, mientras que la captura e ingesta de las presas grandes como el cladóceros *S. vetulus* y los adultos del ostrácodo *H. incongruens* aumentó con la edad de los peces, presentando la mayor cantidad de encuentros y ataques para este último a partir de la séptima semana.

Chaparro (2007) realizó experimentos sobre la preferencia alimenticia del ajolote *Ambystoma mexicanum*; ofreciendo varias especies de zooplancton que, de manera común, se localizan en el lago de Xochimilco, hábitat de esta especie, entre ellas *H. incongruens*. Observó que las larvas de este organismo a lo largo de su desarrollo muestran una preferencia por este ostrácodo como alimento.

Oleszczuk (2008) realizó experimentos de bioensayo utilizando *Heterocypris incongruens*. Estudió varios lodos de desecho de diversas plantas de tratamiento en Polonia en cuanto a su toxicidad para este ostrácodo. El impacto potencial fue evaluado en términos de sus propiedades fisicoquímicas, contenido de metales pesados y contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos sobre la mortandad e inhibición del crecimiento de los crustáceos. Las concentraciones de lodos de desecho empleadas fueron del 6, 12 y 24% que ocasionaron mortalidades del 0 al 70%, del 4.7 al 72.1% y del 0 al 100%, respectivamente. La concentración letal media calculada para cada lodo se presentó en un intervalo de 88 a 956 g lodos de desecho/ kg PH. En promedio, la inhibición del crecimiento fue del 39.7 al 46.6% (dependiendo de la concentración de exposición).

4.- Justificación

Los ostrácodos han sido ampliamente estudiados debido a que su registro fósil provee una invaluable herramienta para la reconstrucción de los cambios ambientales del pasado, incluyendo cambio climático y eutrofización antropogénica. Sin embargo se requiere profundizar sobre la fisiología, el comportamiento y la ecología de las formas recientes (Schmit *et al.*, 2007). Los organismos seleccionados han sido poco estudiados, por lo que se podrá aportar conocimiento sobre su biología y aspectos ecológicos.

Por otro lado, las grandes ciudades como la de México, requieren de gran cantidad de agua para su sostén y desarrollo, lo que genera enormes efluentes de aguas de deshecho o residuales. Hoy en día se conoce que del 100% del agua que se encuentra en el planeta solo el 1% es agua continental y, de esta, sólo el 30% es agua disponible para los diferentes usos y aplicaciones dados por los seres vivos, incluidos los humanos (De la Lanza y García, 2002). De ahí la importancia de optimizar el uso del recurso y una de estas formas es el tratamiento adecuado de las aguas residuales tanto para su posterior reutilización como para reducir el impacto que involucra la descarga de estos efluentes a los ecosistemas acuáticos.

La propuesta de este trabajo de investigación se sustenta en el cultivo de ostrácodos con la materia orgánica presente en aguas residuales urbanas, encaminado a la generación de biomasa y, con ello, darle un uso paralelo a estos residuos. Particularmente, porque los ostrácodos son organismos fundamentalmente bentónicos y se alimentan de materia orgánica particulada. Las aguas residuales domésticas de la Ciudad de México contienen predominantemente residuos orgánicos. Si bien pueden contener muchas otras sustancias incluyendo compuestos farmacéuticos (i.e. medicamentos no usados o caducos), insecticidas, metales pesados, hidrocarburos poliaromáticos, entre otros (Droste, 1997). Estos no son evaluados en el presente trabajo puesto que el enfoque principal del proyecto es evaluar si el ostrácodo *H. incongruens* puede ser cultivado empleando residuos domésticos contribuyendo a la reducción de la carga de la materia orgánica particulada presente además de generar biomasa.

5.- Hipótesis

Si la materia orgánica obtenida de aguas residuales domésticas de una planta de tratamiento, ofrecida como único alimento, permite valores de la dinámica poblacional de la especie *Heterocypris incongruens* similares a los obtenidos al alimentar a la especie con el alga *Scenedesmus acutus*, entonces se podrá utilizar la materia orgánica de la planta de tratamiento para producir biomasa.

6.- Objetivo General

Evaluar la dinámica poblacional de la especie *Heterocypris incongruens* cultivada con dos diferentes tipos de alimento, la materia orgánica obtenida de aguas residuales domésticas y el alga verde *Scenedesmus acutus*.

.

Objetivos particulares

6.1. Evaluar el crecimiento poblacional de la especie del ostrácodo *Heterocypris incongruens* con las dos diferentes dietas (materia orgánica y alga *S. acutus*) y los tres niveles de alimento (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ peso seco).

6.2. Determinar la tabla de vida demográfica del ostrácodo *H. incongruens* con las dos diferentes dietas y los tres niveles de alimento.

6.3. Derivar la tasa de crecimiento poblacional de la especie con cada una de las dietas y concentraciones de alimento.

6.4. Determinar la abundancia máxima, sobrevivencia y fecundidad de la especie de ostrácodo seleccionada al ser alimentada con las dos diferentes dietas y los tres niveles de alimento.

6.5.- Evaluar el contenido de materia orgánica e inorgánica, cantidad de proteínas, lípidos y carbohidratos presente en ambas dietas.

7.- Materiales y métodos

El agua para los tratamientos fue proporcionada por la planta de tratamiento de aguas Residuales de la Unidad Habitacional El Rosario (Delegación Azcapotzalco). Esta planta se seleccionó por su cercanía con la F.E.S. Iztacala y porque el efluente de aguas que recibe la planta es principalmente doméstico proveniente de la unidad habitacional. Para el desarrollo del proyecto se tomaron semanalmente aproximadamente 3000 mL del agua del estanque receptor de las aguas crudas (cerca del tubo de vertido, evitando tomar fragmentos cuyo tamaño fuera visible (mayor de 5 mm). Ya en el laboratorio se realizaba un filtrado con malla de 200 μm para retirar partículas superiores a este tamaño (con base en la talla reportada para este ostrácodo se consideró que partículas de este tamaño o menores serían más fácilmente consumidas por los organismos). Se conservó esta agua en refrigeración previo a los ensayos.

Los ostrácodos de la especie *Heterocypris incongruens* fueron originalmente obtenidos de un cuerpo de agua temporal en la ciudad de Guanajuato (Estado de Guanajuato, México). A partir de un solo individuo partenogénico, los cultivos se establecieron en acuarios de 10 L con un medio reconstituido moderadamente duro (medio EPA) y se suministró el alga verde *Scenedesmus acutus* como alimento (Cepa no. 72, Universidad de Texas centro de colecciones, Austin, EE.UU.). El medio EPA fue preparado por disolución de 0.9 g de NaHCO_3 , 0.6 g de CaSO_4 , 0.6 g de MgSO_4 y 0.002 g de KCl en un litro de agua destilada (Weber, 1993). *S. acutus* fue cultivada en botellas transparentes de 2L, utilizando nutrientes definidos (del medio basal Bold, Borowitzka y Borowitzka, 1998).

Durante los cultivos masivos y el periodo experimental, se mantuvieron condiciones de iluminación fluorescente difusa, y temperatura y pH del agua en 23 ± 1 ° C y , 7.1 -7.3, respectivamente. La dieta de algas se ofreció en una concentración de 0.5×10^6 a 1.0×10^6 células mL^{-1} de *S. acutus*.

Para determinar la cantidad de alga suministrada como alimento durante el cultivo principal y el periodo experimental de *Heterocypris incongruens*, se cosechó *S. acutus* durante la fase lag; se centrifugó a 2000 rpm durante 5 min., se enjuagó y

volvió a resuspender en volúmenes conocidos de agua destilada. Para contar la densidad de algas se utilizó un hemocitómetro. Para los experimentos se utilizaron tres concentraciones de algas como alimento, con base en otros experimentos demográficos con zooplancton la concentración de algas donde se obtuvieron buenas respuestas poblacionales fue de 1.0×10^6 de células de alga (Nandini y Sarma, 2003), se decidió a partir de esta cantidad considerar una concentración 50% menor y una 100% mayor así se establecieron tres concentraciones experimentales: 0.5×10^6 , 1.0×10^6 y 2.0×10^6 células mL^{-1} de *S. acutus*. Su equivalente en peso de materia seca (PS) es 5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$, respectivamente (Peña-Aguado *et al.*, 2005).

La cantidad de sólidos en suspensión presentes en las aguas residuales se estimó por cuadruplicado. El agua traída de la planta fue pasada a través de una malla de nylon de tamaño de poro de 200 μm (para eliminar las partículas grandes), y luego centrifugada a 4000 rpm durante 5 min. Cada una de las cajas Petri que se emplearon fue pesada previamente, posteriormente se colocaron los residuos sólidos precipitados y cada caja se pesó con los residuos húmedos en una balanza Cahn, Modelo C-33, a el peso obtenido se restó el peso de la caja Petri para obtener el peso de la materia particulada del agua residual. La materia particulada recogida se secó a 65 °C durante 24 h en un horno (Rhiossa SA 50-300 °C). Al día siguiente, las cajas se pesaron de nuevo. La diferencia en porcentaje entre peso húmedo y peso seco se empleó para calcular la cantidad de alimento en peso húmedo en que se ofrecieron los residuos orgánicos, con base en su equivalente al peso seco de las concentraciones de alga que se mencionaron anteriormente.

Para los diferentes experimentos, la cantidad de materia particulada de aguas residuales que se estableció para las tres concentraciones se obtuvo de la siguiente manera: diariamente se concentraba la materia particulada suspendida mediante la centrifugación del agua de la planta, la pastilla se pesaba según la proporción peso seco-peso húmedo calculada previamente para cada concentración de alimento elegida, la fracción en peso húmedo de materia particulada obtenida era entonces disuelta en 100 mL de medio EPA.

El experimento de crecimiento poblacional fue realizado en frascos de 200 ml que contenían 100 mL de medio EPA conteniendo cada uno de los dos tipos de alimentos a las concentraciones elegidas. En cada uno de los 24 frascos de prueba (2 tipos de alimentos X 3 concentraciones X 4 repeticiones) que contenían el tipo de alimento y la concentración elegida, se introdujeron 10 individuos de *H. incongruens* de diversas edades tomados al azar, usando una pipeta Pasteur observando bajo microscopio estereoscópico (Nikon SMZ645, Japón) con un aumento de 20X. Una vez iniciado el experimento de crecimiento, cada 24 horas se cuantificó la densidad de ostrácodos en cada frasco por conteo total, trasladando los huevos y los individuos sobrevivientes a un nuevo frasco que contenía medio fresco con el tipo de alimento a la concentración respectiva. Los experimentos se suspendieron después de 50 días, que fue el tiempo en que las poblaciones de *H. incongruens*, en la mayoría de repeticiones, llegaron a una fase estacionaria.

Con base en los datos obtenidos, se derivó la tasa de incremento poblacional (r). Para cada replica se derivó r por separado y la densidad máxima alcanzada por la población de ostrácodos en cada tratamiento.

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

$$r = (\ln N_t - \ln N_0)/t$$

donde:

r = tasa de crecimiento poblacional;

N_0 = densidad inicial;

N_t = densidad final (ind. ml⁻¹) (en relación con t);

t = tiempo en días.

Para estimar los parámetros de la a tabla de vida en *H. incongruens* sometidos a las diferentes dietas experimentales y los tres niveles de alimento, las pruebas se efectuaron en un medio similar al empleado en las pruebas de crecimiento poblacional. Para ello se colocaron 10 individuos de una semana de nacidos de la especie *H. incongruens* (se decidió de colocar individuos de esta edad debido a que los organismos de menor edad morían en la primera semana del experimento) con el tipo de alimento, volumen y concentración correspondiente. Fueron contados

diariamente, eliminando los individuos muertos y transfiriendo el resto a un nuevo frasco con el tratamiento indicado. Al alcanzar la edad reproductiva, los huevos y/o neonatos fueron contados y retirados del contenedor experimental para mantener sólo la población inicial hasta que el último individuo de los 10 iniciales murió.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tasa reproductiva bruta:

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

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

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

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

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

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

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

Para determinar las diferencias significativas entre los siguientes parámetros evaluados: máxima densidad poblacional, tasa de crecimiento, promedio de vida, esperanza de vida, reproducción bruta, reproducción neta, tiempo generacional y r derivada de ecuación de Euler-Lotka, se realizó un análisis estadístico de varianza (ANOVA) de dos vías. Para determinar con mayor claridad entre cuáles tratamientos se encontraban tales diferencias, se realizó como prueba post-hoc la prueba de Tukey, mediante el empleo del programa Statistica versión 5 (Statsoft Inc, Oklahoma, EE.UU). Para determinar las diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de alimento de los experimentos de crecimiento poblacional y la sobrevivencia, esperanza de vida a edad específica y fecundidad, se realizó un análisis estadístico de varianza de medidas repetidas de una vía. Este análisis, así como las gráficas obtenidas para los diferentes tratamientos, fueron elaborados con el programa Sigma Plot versión 11.

8.- Resultados

8.1.- Crecimiento poblacional

El experimento duró 50 días periodo en el que *H. incongruens* sólo se reprodujo partenogenéticamente. El color de las valvas de los ostrácodos difirió dependiendo del tratamiento. En los cultivos con alga presentaron un color naranja brillante, mientras que en los de residuos orgánicos presentaron un color amarillo pálido. Los huevos fueron depositados en agregados y también eran diferentes en color coincidiendo con el color de las hembras que los pusieron.

Las curvas de crecimiento de la población de *H. incongruens* en relación con los diferentes tipos de alimento y las concentraciones se presentan en la figura 3. Independientemente del tipo de alimento y concentración, esta especie mostró una larga fase lag de aproximadamente 3 semanas, después de la cual la fase de crecimiento poblacional se inició y continuó durante 20 a 30 días, dependiendo del tratamiento.

En general las máximas abundancias se presentaron alrededor del día 45 en los tratamientos con alga, mientras que en los que se ofreció materia orgánica, ésta se presentó hasta el día 50 aproximadamente, con excepción del tratamiento con menor concentración, donde el crecimiento poblacional fue muy veloz, alcanzando el máximo entre los 25 y 30 días, seguidos de un fuerte decaimiento de la población. Esto se observa también en la concentración intermedia aunque dicho decaimiento es más ligero, mientras que, al alimentarse con alga, la población tendió a estabilizarse una vez alcanzada su densidad máxima y decayó más lentamente.

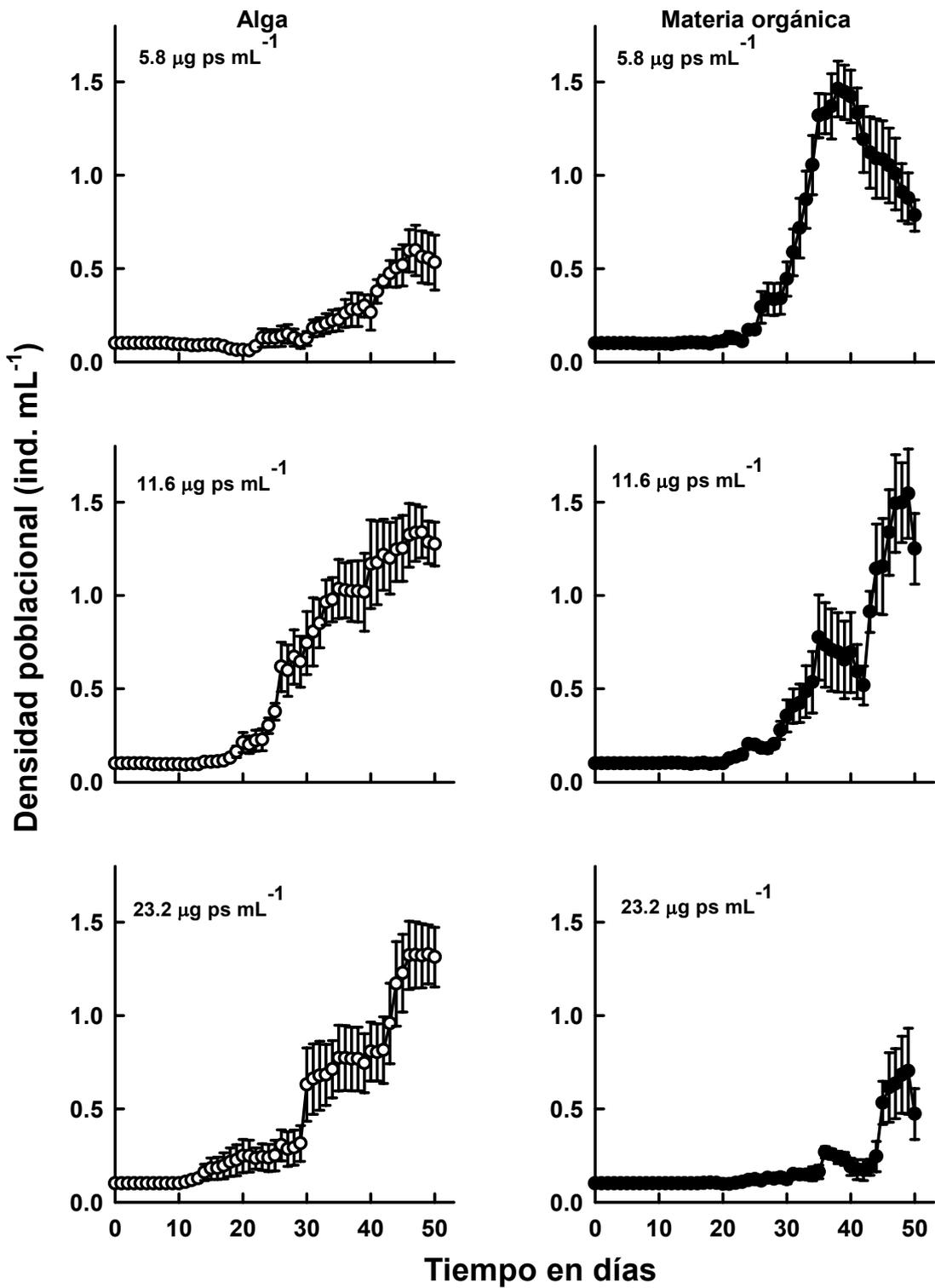


Figura 3.- Crecimiento poblacional de *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* (círculos blancos) y materia orgánica particulada (círculos negros) en tres diferentes concentraciones (5.8, 11.6 y 23.2 µg PS mL⁻¹). Se muestra el promedio ± error estándar basado en cuatro réplicas.

Cuando *Heterocypris incongruens* fue alimentado con la dieta de algas, al duplicar el nivel de alimento de 5.8 a 11.6 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$, la abundancia máxima se elevó significativamente ($p < 0.05$, Fig. 4). Sin embargo, al incrementar la densidad del alimento a 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$ no se tradujo en una mayor abundancia de la población, manteniendo una densidad poblacional muy semejante a la de los organismos alimentados con el nivel anterior de alimento ($p > 0.05$, Fig. 4). Dentro de los tratamientos que contienen residuos orgánicos, la densidad de población fue alrededor de 1.5 ind. mL^{-1} tanto para la concentración de 5.8 como para la de 11.6 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$ ($p > 0.05$, Fig. 4), pero se redujo a la mitad cuando aumentó la densidad del alimento a 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$ ($p < 0.05$, Fig. 4).

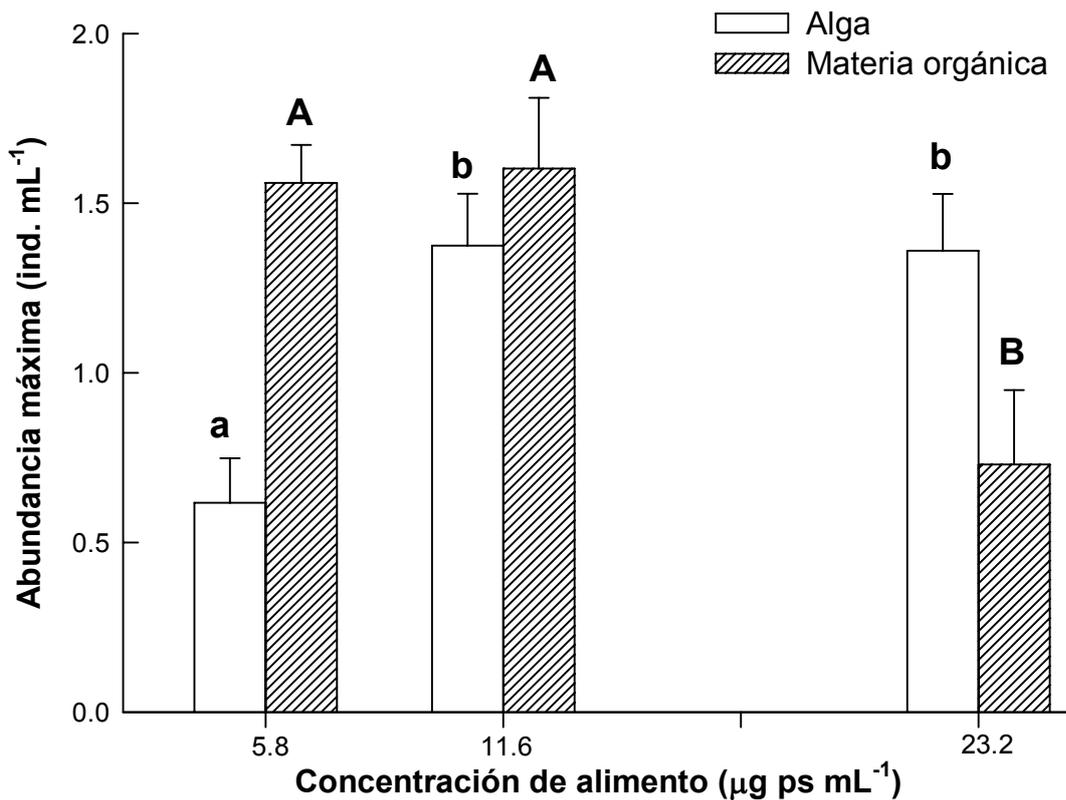


Figura 4.- Abundancia máxima de *H. incongruens* alimentado con los dos tipos de alimento, materia orgánica de agua residual y alga *S. acutus*, en tres diferentes concentraciones (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Prueba de Tukey, $p < 0.05$). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 1.- Análisis de varianza para la abundancia máxima de *H. incongruens* alimentado con ambos tipos de alimento, alga *S. acutus* y materia orgánica, en las tres diferentes concentraciones experimentales (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$)

Tratamientos	GL	SC	PSC	F	p
<i>Alga</i>					
Entre grupos	2	6.00	3.00	8.20	0.009
Dentro del grupo	9	3.29	0.36		
<i>Materia orgánica</i>					
Entre grupos	2	7.74	3.87	7.00	0.014
Dentro del grupo	9	4.97	0.55		

Significado de abreviaturas, GL: Grados de libertad, SC: Suma de cuadrados, PSC: Promedio de suma de cuadrados, F: Valor de tablas, p: Varianza

La tasa de aumento de incremento poblacional (r) fue mayor ($0.069 r d^{-1}$) para los organismos alimentados con alga en una concentración de $11.6 \mu\text{g PS mL}^{-1}$. Sin embargo, los ostracodos alimentados con materia orgánica particulada en una concentración menor ($5.8 \mu\text{g PS mL}^{-1}$), presentaron una tasa de crecimiento semejante ($0.067 r d^{-1}$) ($p < 0.05$, Fig. 5). La menor tasa de crecimiento ($0.029 r d^{-1}$) se presentó en el tratamiento con la mayor cantidad de materia orgánica (Fig. 5). La máxima densidad poblacional y la tasa de incremento de la población fueron significativamente afectados por el tipo de alimento y la concentración ($p < 0.05$, Tablas 1 y 2).

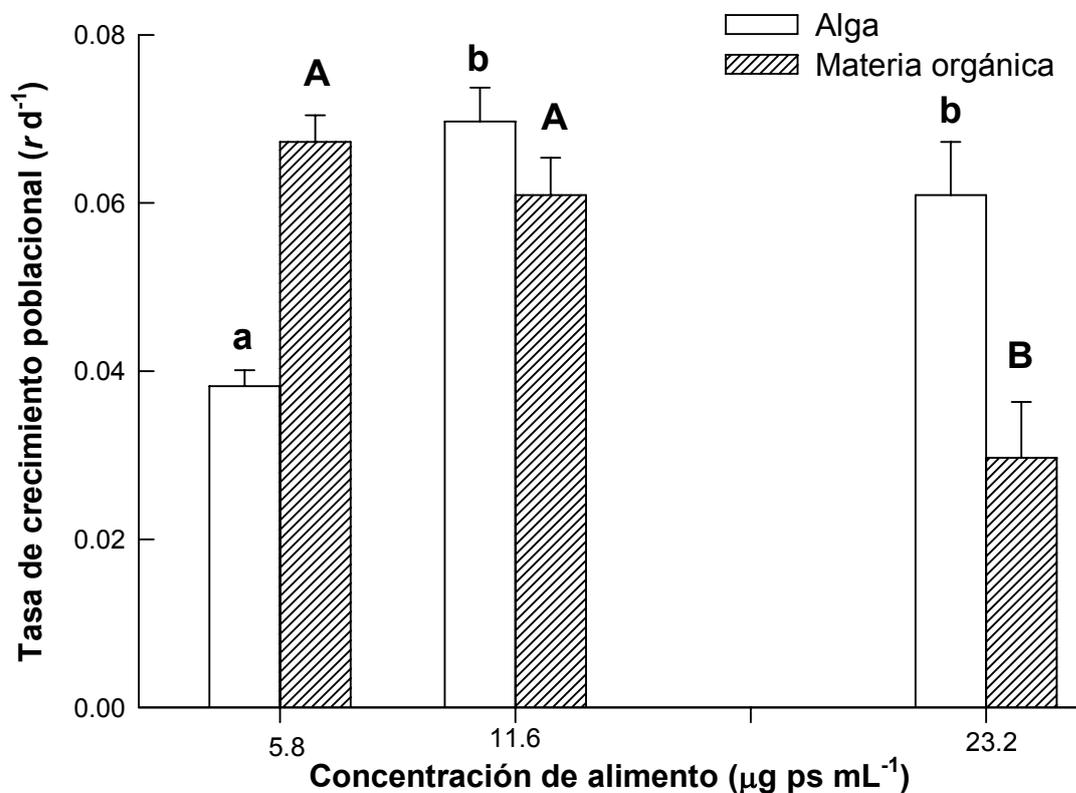


Figura 5.- Tasa de crecimiento poblacional de *H. incongruens* alimentado con el alga *S. acutus* y residuos orgánicos a diferentes concentraciones (5.8, 11.6 y 23.2 µg PS mL⁻¹). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Prueba de Tukey; $p < 0.05$). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas

Tabla 2.- Análisis de Varianza para la tasa de incremento poblacional (r) de *H. incongruens* con los dos tipos de alimento, alga *S. acutus* y residuos orgánicos, y sus diferentes concentraciones.

Tratamientos	GL	SC	PSC	F	p
Alga					
Entre grupos	2	0.002	0.001	13.27	0.002
Dentro del grupo	9	0.0007	0.0001		
Materia orgánica					
Entre grupos	2	0.0032	0.0016	16.35	0.001
Dentro del grupo	9	0.0089	0.0001		

Adicionalmente, 130 organismos de todas las edades se tomaron al azar del cultivo principal alimentados con alga. Estos fueron medidos para analizar la relación morfométrica; los datos obtenidos fueron graficados (Fig. 6) y, por medio de una regresión lineal de los tamaños de los organismos, se observó una clara relación entre la longitud y la anchura, determinando que la talla mínima para esta especie al momento de la eclosión es de alrededor de 200 μm de longitud por 150 μm de anchura y la máxima en adultos es de aproximadamente 1,300 μm . de longitud por 850 μm de ancho.

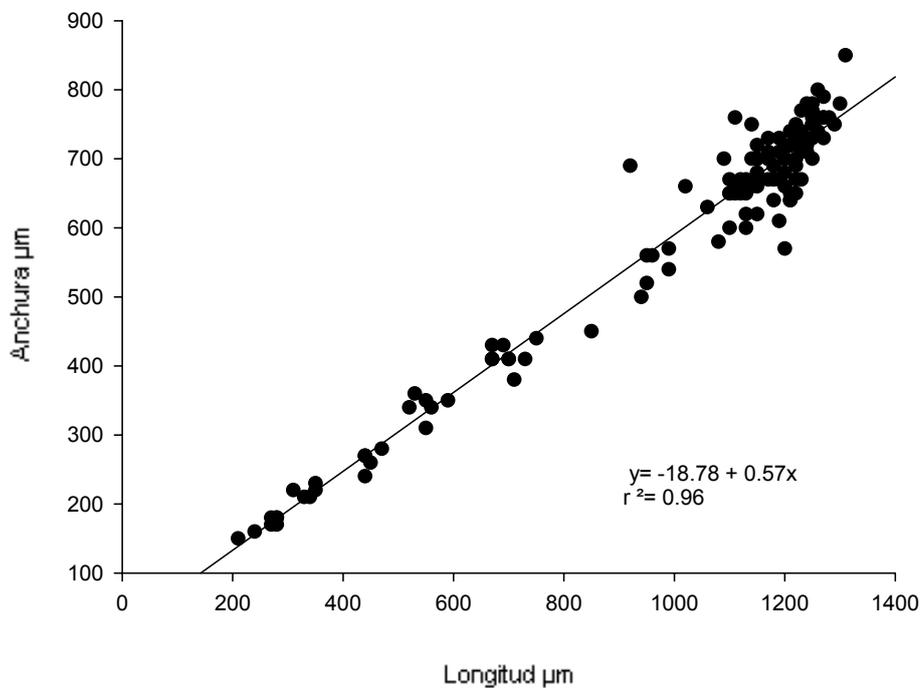


Figura 6.- Relación morfométrica (anchura y longitud) de *H. incongruens* desde el nacimiento hasta adultos en organismos cultivados con alga. Medidas dadas en micrómetros.

8.2.- Tabla de vida

8.2.1 Sobrevivencia

La sobrevivencia a edad específica (l_x) de la especie se afecta con la concentración y tipo de alimento, cuando los organismos son alimentados con alga la probabilidad de vivir más tiempo aumenta con el incremento en la disponibilidad de alimento ($p < 0.05$, Tabla 3) aunque se aprecia que la concentración de $11.6 \mu\text{g PS mL}^{-1}$ es mejor para esta especie pues al duplicar esta cantidad la sobrevivencia disminuye ($p < 0.05$, Tabla 3).

Por otro lado, al ofrecer materia particulada a los ostrácodos esta tendencia se invierte y es en la concentración más alta donde se presenta mayor mortandad ($p < 0.05$, Tabla 3), no solo comparada con las otras concentraciones de este mismo alimento que entre si no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$, Tabla 3), sino también sobreviven aproximadamente una semana menos que los organismos alimentados con la menor cantidad de alga. Conforme disminuye la cantidad de materia en el medio, la especie sobrevive aproximadamente tres semanas más, incluso sobrevive una semana y media más con respecto al tiempo que vivieron los ostrácodos alimentados con la concentración más alta de alga (Fig.8).

Cuando los organismos fueron alimentados tanto con residuos orgánicos como con alga se observa que en la menor concentración de alimento durante los primeros días de vida hay más mortandad que en las concentraciones mayores. Así, conforme se aumentó la cantidad de alimento, los individuos se mantuvieron vivos por más tiempo y no se presentaron muertes hasta alcanzar una mayor edad.

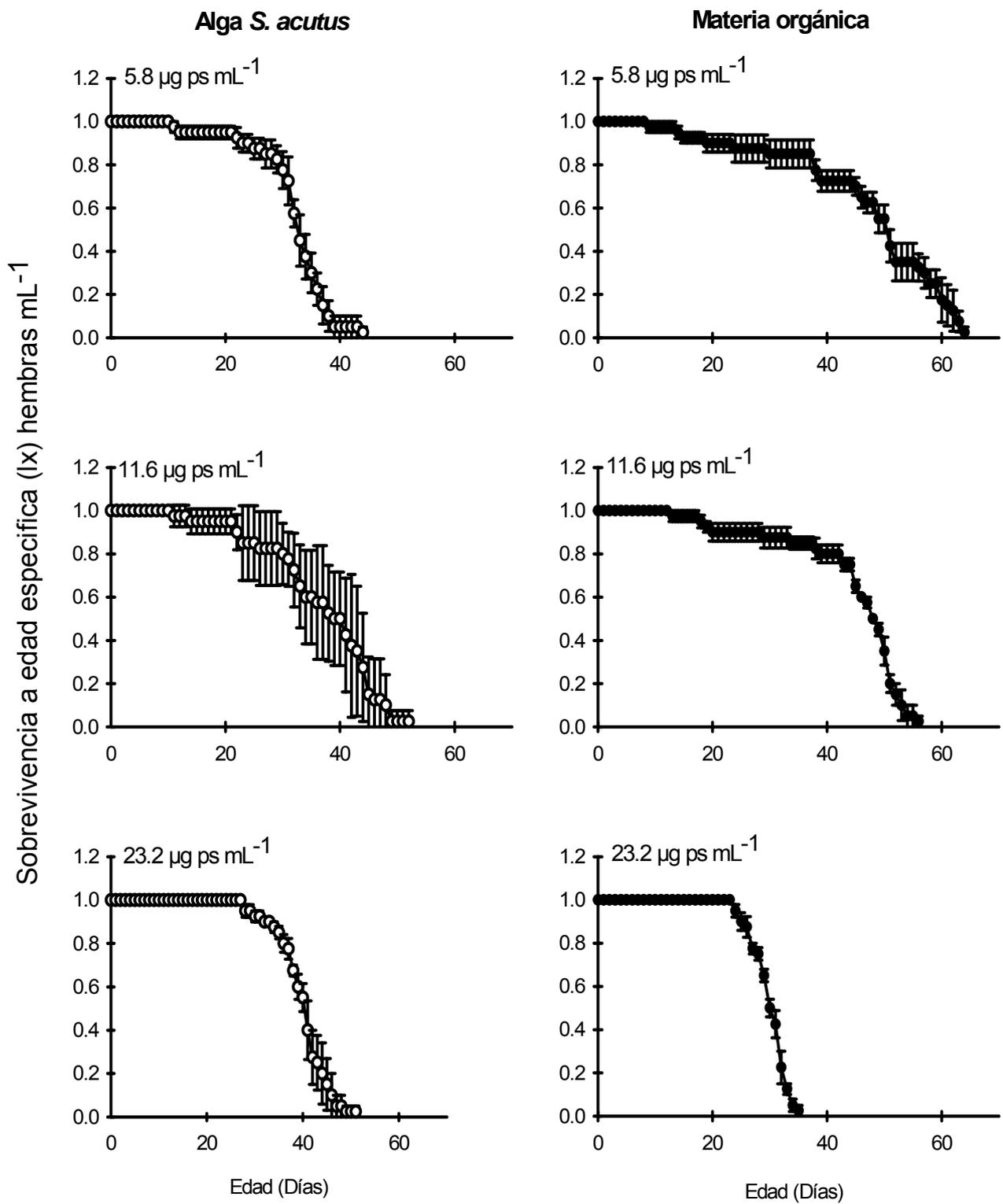


Figura 8.- Supervivencia de *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* (círculos blancos) y materia orgánica particulada (círculos negros) en tres diferentes concentraciones (5.8, 11.6 y 23.2 µg PS mL⁻¹). Se muestra el promedio ± error estándar basado en cuatro réplicas.

Tabla 3.- Análisis de varianza de medidas repetidas de una vía, para sobrevivencia a edad específica (l_x), reproducción a edad específica (m_x) y esperanza de vida a edad específica (e_x) de *H. incongruens* alimentado con dos tipos de alimento alga *S. acutus* y materia orgánica particulada en tres diferentes concentraciones experimentales (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$).) Para cada parámetro, letras diferentes denotan diferencias significativas (Prueba de Tukey, $p < 0.05$)

	p	5.8 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$	11.6 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$	23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$
Sobrevivencia (l_x) alimento alga	P = <0.001	a	b	c
Sobrevivencia (l_x) alimento M.O.P.	P = 0.002	a	a	b
Reproducción (m_x) alimento alga	P = 0.057 NS	a	a	a
Reproducción (m_x) alimento M.O.P.	P = <0.001	a	a	b
Esperanza de vida (e_x) con alga	P = <0.001	a	b	b
Esperanza de vida (e_x) con M.O.P.	P = <0.001	a	b	c

8.2.2 Esperanza de vida a edad específica

Se observa una tendencia similar a la presentada en la sobrevivencia donde *H. incongruens*, al ser alimentado con alga, incrementa su esperanza de vida al duplicar el alimento de 5.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 11.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0.05$, tabla 3). Sin embargo, como ya se ha observado, al duplicar de nuevo la concentración del alga como alimento, esto ya no influye en la esperanza de vida en los organismos ($p > 0.05$, Tabla 3).

Cuando los ostrácodos fueron alimentados con materia orgánica, se observó que existieron diferencias significativas entre los tres niveles de alimento ($p < 0.05$, Tabla 3), pues en la concentración más baja de alimento hay una mayor expectativa de vida, incluso más tiempo que la máxima esperanza de vida que alcanzaron los organismos al alimentarlos con alga, mientras que al aumentar la cantidad de materia orgánica como alimento, la esperanza de vida se reduce, por ejemplo, en la mayor concentración la esperanza de vida disminuye aproximadamente un 45% con respecto a la e_x alcanzada por los organismos alimentados con la menor concentración de residuos orgánicos (Fig. 9).

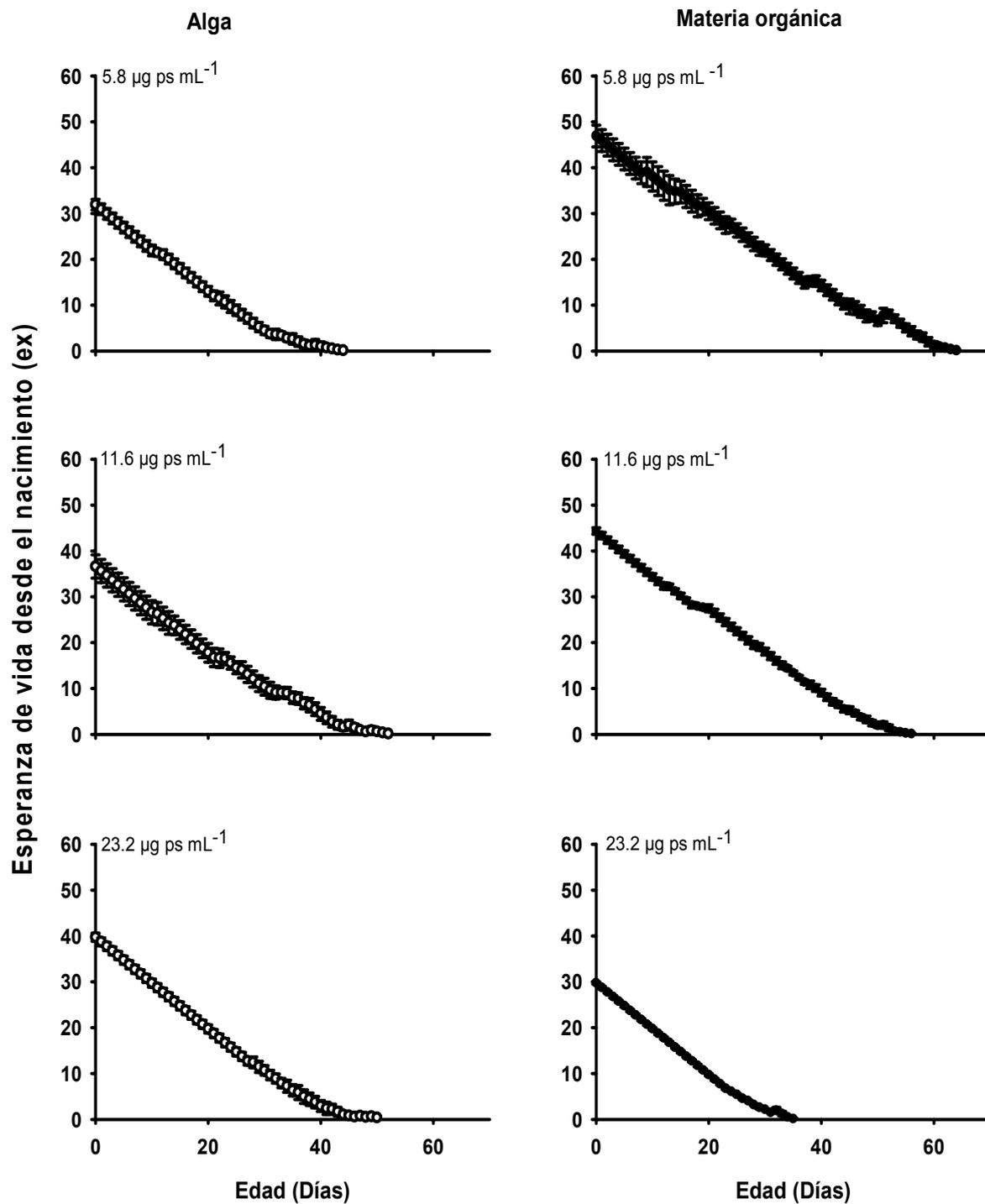


Figura 9.- Esperanza de vida a edad específica (e_x) de *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* (círculos blancos) y materia orgánica particulada (círculos negros) en tres diferentes concentraciones (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$). Se muestra el promedio \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

8.2.3 Fecundidad

En el análisis de fecundidad se aprecia que su reproducción no es continua, sino que se presenta por pulsaciones con diferencia de 2 a 3 días y la cantidad de huevos puesta por cada ocasión es altamente variable.

Al ofrecerse los dos tipos de alimento, la especie presenta comportamientos muy diferentes en cuanto a su reproducción. Durante los experimentos en que fue alimentada con alga, notamos como *H. incongruens*, cuando se alimentó con alga a $5.8 \mu\text{g PS mL}^{-1}$, inicia su reproducción entre 3 y 4 días antes con respecto a la siguiente concentración de alimento ($11.6 \mu\text{g PS mL}^{-1}$), finalizando su periodo reproductivo de igual forma aproximadamente una semana antes y produciendo una menor cantidad de huevos con respecto a la concentración mencionada.

Cuando los organismos son alimentados con alga en una concentración de $23.2 \mu\text{g PS mL}^{-1}$, el inicio de la reproducción es semejante a la de los organismos alimentados con la concentración más baja de alga; sin embargo, el periodo reproductivo dura aproximadamente una semana más al ser alimentados con la concentración de alimento alta; en este caso dicho periodo inicia y finaliza aproximadamente al mismo tiempo que los ostrácodos alimentados con la concentración intermedia. En estos dos últimos tratamientos, la cantidad de huevos producida es semejante. Estadísticamente no se presentan diferencias significativas entre los tres niveles de alimento al ser alimentados con alga ($p > 0.05$, Tabla 3).

En cuanto a la reproducción de los organismos alimentados con materia orgánica particulada, ésta fue afectada por el tipo de alimento puesto que disminuyó considerablemente con respecto a la de los organismos alimentados con algas. En cuanto al inicio reproductivo y al número de huevos, las dos concentraciones más bajas presentaron tendencias semejantes entre si ($p < 0.05$, Tabla 3), mientras que en la concentración mas alta ($23.2 \mu\text{g PS mL}^{-1}$), nunca se presentó reproducción durante todo el ciclo de vida de los organismos.

Adicionalmente, al observar las figuras de fecundidad notamos que la principal reproducción se presentó durante los primeros días, posteriores al inicio de la edad

adulta, presentando los valores más altos aproximadamente a la mitad de su ciclo de vida y disminuyendo conforme la edad de los organismos aumentaba, por lo que, aunque la puesta de huevos se prolongó hasta la muerte de los organismos, el número de éstos disminuye con la edad (Fig.10).

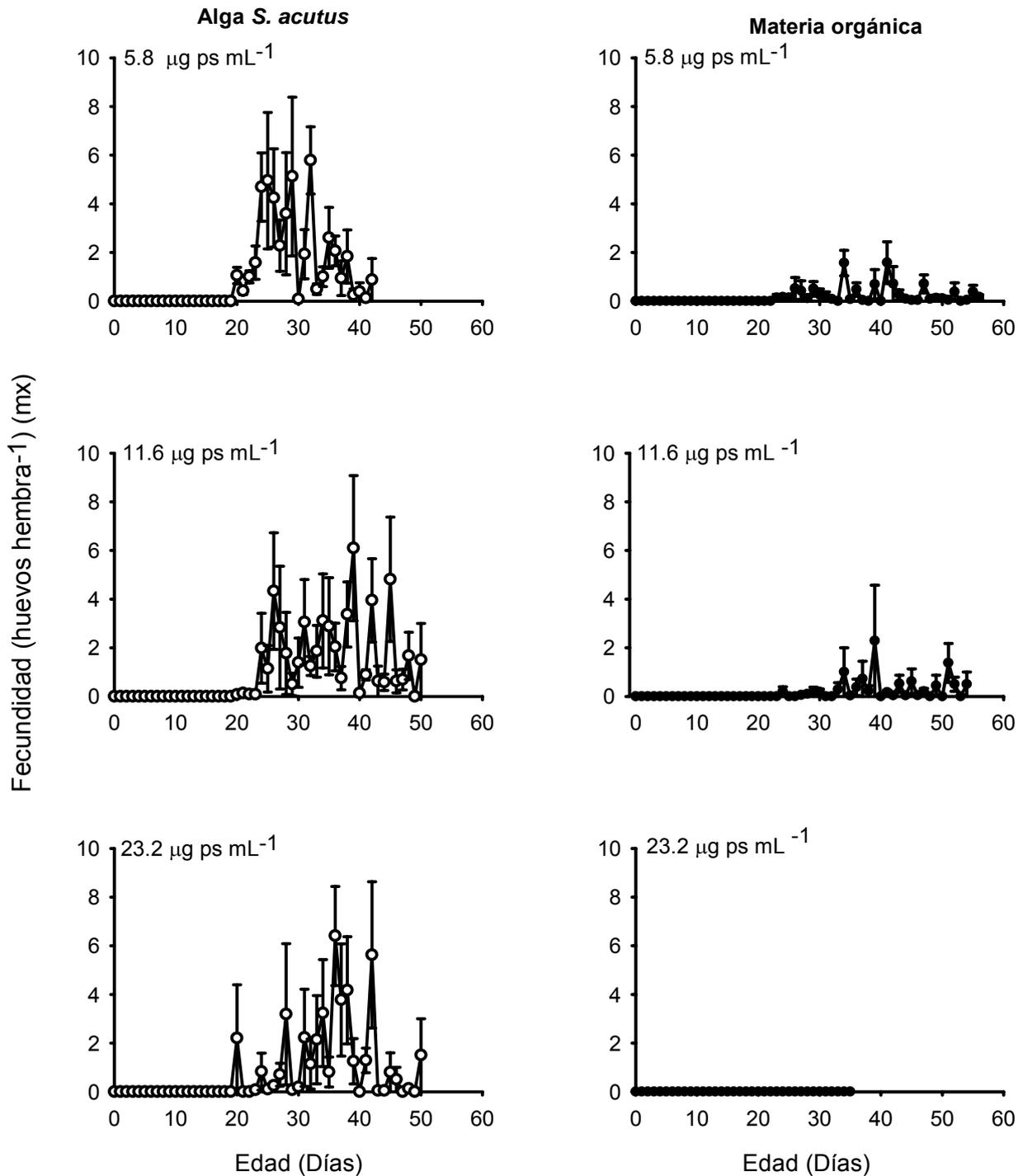


Figura 10.- Reproducción a edad específica de *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* (círculos blancos) y materia orgánica de agua residual (círculos negros) en tres diferentes concentraciones (5.8, 11.6 y 23.2 µg PS mL⁻¹). Se muestra el promedio ± error estándar basado en cuatro réplicas.

Las otras variables de tabla de vida analizadas (promedio de vida, esperanza de vida, reproducción neta y bruta, tiempo generacional y tasa de incremento poblacional (r)), mostraron la misma tendencia observada en el comportamiento poblacional, ya que al alimentarse con alga, los valores aumentan conforme la cantidad de alimento se incrementó, mientras que, al ofrecerse materia orgánica como alimento, los valores de tabla de vida disminuyeron conforme se aumentó la concentración de dicho material en el medio. Los valores promedio para cada variable con los diferentes tratamientos y el análisis estadístico (Prueba de Tukey) se muestran en las tablas 10 y 11.

8.2.4 Promedio de vida

El promedio de vida aumentó de 32 a 40 días conforme se incrementó la concentración de alga, mientras que, al incrementar la concentración de materia orgánica esta disminuyó de 47 a 30 días. Sin embargo, a diferencia de lo observado en los aspectos reproductivos, los organismos alimentados con este último tipo de alimento presentaron valores más altos con respecto al tratamiento con alga. Tanto en los diferentes tipos de alimento, como en la interacción de ambos se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$, Tabla 4).

8.2.5 Reproducción bruta

Al alimentarse con alga en la reproducción bruta la cantidad de descendientes por hembra se presentaron dentro de un intervalo entre 42 y 54, siendo en la concentración intermedia de alimento donde más descendientes se producen por hembra (54) aunque el análisis de varianza no indica diferencias significativas entre los niveles de alimento ($p > 0.05$, Tabla 5). Mientras que los organismos alimentados con residuos orgánicos solo se reprodujeron al ser alimentados con las concentraciones más bajas, sin embargo, aunque presentaron reproducción, el número de descendientes por hembra no rebasaron las 13.4, es decir, la cuarta parte de las crías por hembra cultivadas con alga. Estadísticamente, sin embargo, la interacción de ambos factores no presenta diferencias significativas ($p > 0.05$, Tabla 5).

8.2.6 Reproducción neta

En la evaluación de la reproducción neta se considera también la sobrevivencia, por lo que se presentaron valores más bajos con respecto a la reproducción bruta. Así, esta vez, el valor más bajo se observó en los organismos alimentados con algas a una concentración de $11.6 \mu\text{g PS mL}^{-1}$. Por su parte al ofrecer materia orgánica, la reproducción neta se redujo un 75% con respecto al tratamiento con alga, además de que sólo hubo reproducción al ofrecer las dos concentraciones menores de alimento. Estadísticamente ninguna de estas tasas presentaron diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de alimento ($p > 0.05$, Tablas 6, 10 y 11), ni su interacción ($p > 0.05$, Tabla 6).

8.2.7 Esperanza de vida desde el nacimiento

La esperanza de vida para esta especie fue de hasta casi 40 días con una concentración de alga de $23.2 \mu\text{g mL}^{-1}$, pero aumentó a 47 días con una cantidad de materia orgánica mucho menor ($5.8 \mu\text{g mL}^{-1}$). Estadísticamente se presentan diferencias significativas entre los diferentes niveles de alimento ($p < 0.05$, Tabla 7) y en la interacción entre ambas dietas ($p < 0.05$, Tabla 7) principalmente con respecto a las concentraciones más altas de alimento en ambas dietas (Prueba de Tukey, Tablas 10 y 11).

Tabla 4.- Análisis de varianza de dos vías para el promedio de vida del ostracodo *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* y residuos orgánicos con tres concentraciones de alimento probadas (5.8 , 11.6 y $23.2 \mu\text{g PS mL}^{-1}$).

Fuente de variación	GL	SC	PSC	F	P
Residuos Orgánicos	1	107.950	107.950	10.996	0.004
Alga	2	149.530	74.765	7.616	0.004
Residuos orgánicos x Alga	2	658.903	329.452	33.560	<0.001
Residual	18	176.703	9.817		
Total	23	1093.086	47.525		

Tabla 5.- Análisis de varianza de dos vías para la reproducción bruta del ostracodo *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* y residuos orgánicos con tres concentraciones de alimento probadas (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$).

Fuente de variación	GL	SC	PSC	F	P
Residuos Orgánicos	1	9700.548	9700.548	70.019	<0.001
Alga	2	534.028	267.014	1.927	0.174
Residuos orgánicos x Alga	2	121.528	60.764	0.439	0.652
Residual	18	2493.743	138.541		
Total	23	12849.847	558.689		

Tabla 6.- Análisis de varianza de dos vías para la reproducción neta del ostracodo *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* y residuos orgánicos con tres concentraciones de alimento probadas (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$).

Fuente de variación	G.L	S.C	MS	F	P
Residuos Orgánicos	1	4053.400	4053.400	96.374	<0.001
Alga	2	84.023	42.012	0.999	0.388
Residuos orgánicos x Alga	2	80.903	40.452	0.962	0.401
Residual	18	757.062	42.059		
Total	23	4975.390	216.321		

Tabla 7.- Análisis de varianza de dos vías para la esperanza de vida desde el nacimiento del ostracodo *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* y residuos orgánicos con tres concentraciones de alimento probadas (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$).

Fuente de variación	GL	SC	PSC	F	P
Residuos Orgánicos	1	107.950	107.950	10.996	0.004
Alga	2	149.530	74.765	7.616	0.004
Residuos orgánicos x Alga	2	658.903	329.452	33.560	<0.001
Residual	18	176.703	9.817		
Total	23	1093.086	47.525		

8.2.8 Tiempo generacional

La edad promedio a las que las hembras se reprodujeron (Tiempo generacional) varió entre 27 y 39 días para ambos tratamientos, el valor más alto se presentó en el tratamiento con materia orgánica (39 días) donde en las únicas dos concentraciones en que hubo reproducción ambos valores fueron muy semejantes ($p > 0.05$, Tabla 8). Estadísticamente la interacción de ambos tipos de alimento presentó diferencias significativas ($p < 0.05$, Tabla 8).

8.2.9 Tasa de incremento poblacional (r)

La tasa de incremento poblacional (r) mostró una tendencia contraria a lo observado en los otros parámetros del tratamiento con alga, pues la tasa mayor se presentó cuando la especie fue alimentada con la menor concentración de alga, mientras que con las otras dos concentraciones la tasa disminuyó. Estadísticamente ambos parámetros presentan diferencias significativas entre los tres niveles de alimento y su interacción ($p < 0.05$, Tablas 9, 10 y 11).

Para el caso de los tratamientos con materia orgánica estos valores fueron 50% más bajos en comparación con los de alga, estadísticamente solo se presentan diferencias significativas con la concentración mayor de alimento pues esta no presentó reproducción (Prueba de Tukey, Tabla 11).

Tabla 8.- Análisis de varianza de dos vías para el tiempo generacional del ostracodo *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* y residuos orgánicos en tres concentraciones de alimento probadas (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$).

Fuente de variación	G.L	S.C	MS	F	P
Residuos Orgánicos	1	168.456	168.456	23.193	<0.001
Alga	2	1679.854	839.927	115.642	<0.001
Residuos orgánicos x Alga	2	2355.934	1177.967	162.184	<0.001
Residual	18	130.736	7.263		
Total	23	4334.980	188.477		

Tabla 9.- Análisis de varianza de dos vías para tasa de crecimiento poblacional de la ecuación de Euler para el ostracodo *H. incongruens* alimentado con alga *S. acutus* y residuos orgánicos en tres concentraciones de alimento probadas (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$).

Fuente de variación	G.L	S.C	MS	F	P
Residuos Orgánicos	1	0.0410	0.0410	184.104	<0.001
Alga	2	0.00623	0.00311	13.978	<0.001
Residuos orgánicos x Alga	2	0.00212	0.00106	4.769	0.022
Residual	18	0.00401	0.000223		
Total	23	0.0534	0.00232		

Tabla 10.- Prueba de Tukey para las variables de tabla de vida de *H. incongruens* alimentada con tres concentraciones de alga *S. acutus* (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$). (Las letras diferentes en cada parámetro indican diferencias significativas entre niveles de la dieta).

	5.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$	11.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$	23.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$
Promedio de vida	32.4 \pm 1.17 ^a	37.13 \pm 2.53 ^{ab}	40.225 \pm 0.88 ^b
Esperanza de vida	31.9 \pm 1.17 ^a	36.63 \pm 2.53 ^{ab}	39.725 \pm 0.88 ^b
Reproducción Bruta	47.2 \pm 3.76 ^a	54.15 \pm 10.88 ^a	42.639 \pm 7.37 ^a
Reproducción Neta	32 \pm 1.07 ^a	29.2 \pm 6.41 ^a	31.175 \pm 3.32 ^a
Tiempo generacional	27.42 \pm 0.38 ^a	32.4 \pm 1.06 ^b	33.127 \pm 2.29 ^b
r de Euler	0.131 \pm 0.0014 ^a	0.108 \pm 0.004 ^b	0.109 \pm 0.004 ^b

Tabla 11.- Prueba de Tukey para las variables de Tabla de vida de *H. incongruens* alimentada con tres concentraciones de materia orgánica particulada (MOP) (5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g PS mL}^{-1}$). (Las letras diferentes en cada parámetro indican diferencias significativas entre niveles de la dieta,).

	5.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$	11.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$	23.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$
Promedio de vida	47.4 \pm 2.37 ^a	44.85 \pm 0.71 ^a	30.25 \pm 0.23 ^b
Esperanza de vida	46.9 \pm 2.37 ^a	44.35 \pm 0.71 ^a	29.75 \pm 0.23 ^b
Reproducción Bruta	13.34 \pm 1.98 ^a	10.07 \pm 4.13 ^{ab}	___ ^b
Reproducción Neta	8.33 \pm 1.14 ^a	6.08 \pm 2.93 ^{ab}	___ ^b
Tiempo generacional	38.89 \pm 1.97 ^a	38.16 \pm 0.72 ^a	___ ^b
r de Euler	0.06 \pm 0.0 ^a	0.04 \pm 0.02 ^a	___ ^b

Las muestras de materia particulada fueron analizadas en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por personal del departamento de nutrición animal y bioquímica mediante un análisis químico proximal, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 12.

Tabla 12.- Resultados de análisis químico proximal de materia particulada de aguas residuales.

Elemento	Valor en porcentaje
Materia seca	7.65%
Humedad	92.35%
Proteína cruda	1.14%
Extracto etéreo	1.36%
Cenizas	2.71%
Fibra cruda	0.98%
Carbohidratos	1.45%

Partiendo del 7.65% de materia seca como un 100%, tenemos que en la materia particulada encontramos un 35% de ceniza, es decir materia inorgánica, por lo que el restante 65% corresponde a materia orgánica; de esta se obtuvo un 14.9% proteína, 17.7% de extracto etéreo (grasas) y 18.95% de carbohidratos.

9.- Discusión

Heterocypris incongruens se reproduce fundamentalmente a través de la partenogénesis. Las poblaciones de esta especie presentan una distribución cosmopolita. Sin embargo, son pocas las poblaciones con reproducción sexual conocidas y se localizan en algunos sitios de Europa, África y América del Norte; la mayoría de las poblaciones de esta especie son asexuales (Chaplin *et al.*, 1994).

Hay algunos indicios de que el mismo individuo de *H. incongruens* produce dos diferentes tipos de huevos: los que eclosionan en menos de 10 días y los huevos latentes que toman mucho más tiempo en eclosionar (Angell y Hancock, 1989). En este estudio se encontraron ambos tipos de huevos, los que eclosionaron en un plazo de 6 a 10 días y los que demoraron un mayor tiempo en hacerlo; de acuerdo a Havel y Talbott (1995), este tiempo puede oscilar de 10 a 120 días o más. Estos huevos son considerados latentes, sin embargo, ninguno de los dos tipos de huevo son sexuales, son sólo las condiciones ambientales las que determinan la eclosión de todos los huevos o la permanencia en estado latente de éstos (Rossi y Menozzi, 1996).

En los cultivos se encontraron huevos color naranja y también masas de huevos casi de color blanco. Ambos colores de huevos presentaron los mismos patrones de eclosión (la mayoría eclosionó alrededor de 6-10 días, aunque algunos tardaron más tiempo). Los colores de los huevos, así como de los adultos, probablemente reflejan la dieta con la cual las hembras fueron cultivadas ya sea con alga o con la materia orgánica particulada. Esta conclusión se apoya en un estudio llevado a cabo casi 5 décadas atrás, lo que demuestra que cuando *H. incongruens* es cultivada con el alga verde *Chlorella vulgaris* desarrollan un color naranja brillante en las valvas de su caparazón (Green, 1959).

En general las especies partenogenéticas tienen tasas de crecimiento más altas que las que tienen reproducción sexual. En las especies que se reproducen por partenogénesis, las pautas de aumento de la población dependen de la frecuencia con que la hembra pone los huevos y el tiempo necesarios para su eclosión (Wallace *et al.*, 2006). Los patrones de crecimiento de las poblaciones de ostrácodos varían

dependiendo de la especie. Para el caso de *H. incongruens*, esta especie presenta un crecimiento poblacional más lento, comparado con otros grupos de crustáceos de reproducción asexual como, por ejemplo, los cladóceros (Nandini y Sarma, 2003), pero comparable a copépodos (alrededor de 0.1 por día, Nandini y Sarma, 2007). La baja tasa de crecimiento de *H. incongruens* observada en este estudio (que osciló entre 0.03 a 0.07) se debe a la mayor edad en que alcanzan su madurez, la menor la producción de crías por hembra y el largo tiempo que demoran en eclosionar los huevos (Mezquita *et al.*, 2002).

Al evaluar una tabla de vida existen dos parámetros que son muy importantes, uno es la sobrevivencia y otro es la fecundidad (Krebs, 1985), cuando la población es sometida a diferentes condiciones ambientales como es en este caso el tipo y la cantidad de alimento, dichos parámetros se afectan ya sea aumentando o disminuyendo, dependiendo de las estrategias evolutivas que cada especie posea para adaptarse a las diferentes condiciones. Por eso es necesario siempre valorar ambos parámetros para conocer la respuesta de la población ante las condiciones a evaluar (Lynch, 1980).

Las tasas reproductiva neta y bruta indican como *H. incongruens* fue depositando sus huevos: normalmente esta especie tiene una larga etapa de maduración con respecto a otros grupos de zooplancton, como los cladóceros quienes generalmente alcanzan su madurez sexual a la semana de nacidos o antes (Sarma *et al.*, 2005). La mayoría de especies de crustáceos con periodos de vida largos, presentan también una mayor edad de la primera reproducción (y, por tanto, una larga fase lag). En comparación con muchos cladóceros que viven alrededor de 3 semanas (Sarma *et al.*, 2005), los ostrácodos tienen mucho más tiempo de vida (en algunas especies es de hasta 10 meses) (Mezquita *et al.*, 2002). En éste estudio, *H. incongruens* presentó un ciclo de vida de aproximadamente 60 días, presentando una larga fase lag que duró de 2 a 3 semanas, similar al periodo reportado para la especie que va de 15 a 23 días (Havel y Talbott, 1995, Rossi y Menozzi, 1996). En los experimentos realizados, esta tendencia se mantuvo para las distintas dietas y las tres concentraciones, excepto cuando se ofreció la mayor concentración de materia orgánica, pues nunca se presentó reproducción. Sin embargo, se observó que al alimentarse con materia orgánica, la reproducción inicia más tarde que con alga. La

fase más larga ocurrió cuando los organismos fueron alimentados con alga en una baja concentración y cuando se ofreció la materia orgánica con una alta concentración. Este hecho sugiere un largo periodo antes de la maduración lo que indica que, en estos dos niveles, la cantidad de alimento no permite un rápido desarrollo de los organismos y, por ejemplo, cuando se alimentó a los ostrácodos con la concentración más alta de alga, la fase lag duró tan solo dos semanas.

Se observó que al alimentar a *H. incongruens* con materia orgánica, la reproducción inicia más tarde que cuando se alimentan con alga pero el periodo reproductivo y su sobrevivencia es mayor aunque la cantidad de huevos puestos disminuye considerablemente. Esta situación puede sugerir un *trade-off* o compromiso energético de esta especie, pues podemos notar como las estrategias adaptativas de estos organismos al ser alimentados con materia orgánica, van encaminadas a invertir más energía en su sobrevivencia que en su reproducción. Bajo estas condiciones alimentarias, claramente se aprecia una disminución significativa de la cantidad de huevos puesta con respecto a los animales alimentados con alga. Aunque la reproducción es más tardía, se observó que los organismos sobrevivieron más tiempo (hasta dos semanas más que los cultivados con alga). Este costo reproductivo es un fenómeno que se presenta en varios organismos los cuales a través de su historia evolutiva, han fijado estrategias en las cuales la energía que están adquiriendo, si no es suficiente para encaminarla tanto a su sobrevivencia como a su reproducción, (considerando que ambos parámetros tienen un costo energético alto) y si la calidad o cantidad de alimento y su consiguiente aporte energético es bajo, se realiza éste intercambio, en el cual, se compromete la energía de uno de los parámetros a favor del otro (Sarma *et al.*, 2002). Otro indicio del costo reproductivo para esta especie es que una vez iniciada la edad reproductiva, la puesta de huevos se prolonga hasta la muerte de los organismos. Sin embargo, la cantidad disminuye conforme aumenta la edad, lo que indica que esta especie presenta algún tipo de senescencia (Sarma *et al.*, 2002).

La reproducción bruta siempre es mayor que la reproducción neta, pues en esta última se considera también la mortandad de los organismos en la edad reproductiva (Krebs, 1985). No obstante, en los ejemplares de *H. incongruens* alimentados con la concentración intermedia de alga ($11.6 \mu\text{g PS mL}^{-1}$) la diferencia entre ambos

parámetros se reduce en comparación con los otros tratamientos, lo cual sugiere una menor mortandad de los organismos en esta condición experimental. Esta disminución en la mortandad, se refleja en las abundancias de las poblaciones de estos organismos. Las abundancias naturales de ostrácodos varían de unos cuantos individuos por litro (Nagorskaya y Keyser 2005), hasta abundancias extremadamente altas (10 ind. ml⁻¹) (Reichholf, 1983). En el presente trabajo, el máximo de abundancia de esta especie varía de 0.5 a 1.6 ind. mL⁻¹, lo que sugiere mayor disponibilidad de alimento en el medio. Con el aumento de la densidad de algas, la abundancia de la población de *H. incongruens* aumentó, aunque ya no hubo diferencias significativas cuando se alimentó con *Scenedesmus* de 11.6 a 23.2 µg PS mL⁻¹. Esto sugiere que niveles de alimento de algas cercanos a 11.6 µg PS mL⁻¹ son suficientes para la máxima abundancia de *H. incongruens*. Mientras al alimentar a esta especie con la materia orgánica particulada con tan sólo la mitad de esta concentración, se presentan abundancias máximas semejantes.

Microalgas como *Scenedesmus* son consideradas un alimento vivo ideal para el zooplancton por su calidad nutricional y una excelente fuente proteica, pues presentan un buen balance de aminoácidos y bajos valores de ácidos nucleicos (Morris *et al.*, 1999). Se ha encontrado hasta un 36% de proteína en *Scenedesmus* (Dobberfuhr y Elser, 1999), mayor al 15% encontrado en la MOP analizada. En cuanto a los lípidos, se considera que *Scenedesmus*, contiene altos valores de ácidos grasos que son elementos importantes para la nutrición del zooplancton; alrededor del 21% en esta alga son lípidos (Dobberfuhr y Elser, 1999), valores nuevamente mayores al contenido de lípidos de la MOP dada como alimento a *H. incongruens* que fue del 17.7%. En apariencia, la diferencia en el contenido de lípidos no es muy grande entre estos dos tipos de alimento, como ocurre con la cantidad de proteína. Según Lampert y Sommer (2007), los lípidos contienen un 80% de carbono lo que proporciona un alto nivel energético; sin embargo, no se puede asegurar que los valores evaluados en la MOP suministrada en este estudio a los ostrácodos pertenezcan únicamente a lípidos, puesto que al tratarse de materia residual, puede también incluir otro tipo de grasas, como aceites u otro tipo de residuos.

A pesar de que la MOP suministrada como alimento a *H. incongruens* presentó valores nutricionales menores al alga *S. acutus*, cuando los desechos orgánicos se utilizaron como alimento, a una densidad de $5.8 \mu\text{g PS mL}^{-1}$, esta especie alcanzó densidades máximas comparables a las de los organismos alimentados con algas al doble de esta concentración. Puede haber varias razones para ello, por un lado, los sólidos orgánicos suspendidos en las aguas residuales están parcialmente digeridos generalmente por microorganismos (Laws, 2000) lo cual aumenta su digestibilidad y asimilación de sus componentes en comparación con las algas. Muchas algas Chlorococcales presentan una baja digestibilidad varios géneros de este orden incluyendo *Scenedesmus* tienen esporopolenina en su pared celular un carotenoide polímero que impermeabiliza a las enzimas digestivas aunque la cantidad varía entre especies. Las algas con esporopolenina tienen una digestibilidad de 0–10 % pero ésta se incrementa del 75 al 90% una vez que su pared celular se rompe mecánicamente. Existen organismos que no tiene la capacidad en su tracto digestivo para romper mecánicamente la pared celular de las algas (i.e. larvas de mosquitos) (Marten, 1986), para *H. incongruens* esto nos puede dar una noción del porqué en cantidades altas de alga ya no se presentan mayores valores en los parámetros demográficos analizados.

Por otro lado, muchos organismos compensan una baja calidad alimenticia simplemente comiendo más, tratando de obtener así los niveles necesarios de nutrientes que requieren para sus funciones vitales (Ahlgren *et al.*, 1997). Al parecer esto es lo que ocurrió con *H. incongruens*, puesto que en las concentraciones bajas de materia orgánica encontramos más excretas que en las mismas concentraciones de alga, indicando que los organismos estaban comiendo más materia y, con ello, tratando de compensar la baja calidad de este alimento.

No obstante al ofrecer la concentración más alta de MOP ($23.2 \mu\text{g PS mL}^{-1}$), la baja producción de excretas (aunado a la nula reproducción) de *H. incongruens* permite inferir una pobre ingesta del alimento suministrada, pues por su naturaleza se formaban aglomerados que requerían una gran manipulación por parte de los ostrácodos para poder tomar partículas de alimento adecuadas a su talla y poder retirar de sus apéndices la materia excedente. De tal manera, el gasto energético en este proceso se asume elevado y aunado al escaso alimento ingerido, se

comprometen las funciones reproductivas (Delorme, 2001) como se observó en la especie, la cual no se reprodujo bajo estas condiciones alimentarias.

Esta situación se reflejó en la disminución, no solo de la reproducción, sino de la sobrevivencia de los organismos la cual fue 50% menor a la observada en los ostrácodos alimentados la menor concentración del mismo alimento ($5.8 \mu\text{g PS MOP mL}^{-1}$), donde al presentarse menor materia orgánica no se formaron aglomerados lo que les permitió un manejo adecuado del alimento y menor inversión de energía en su manipulación e ingestión, aumentando así su sobrevivencia y su fecundidad (Downing y Rigler, 1984).

Cuando la población de *H. incongruens* fue alimentada con *Scenedesmus acutus* aún en las más altas concentraciones ($23.2 \mu\text{g PS mL}^{-1}$) esta es un alga unicelular de tamaño mediano que aunque tiende a formar colonias, no constituyen aglomerados de gran tamaño por lo que su ingesta (manipulación, consumo y limpieza de los apéndices) no representa una inversión energética adicional. De tal manera el aumento en el crecimiento poblacional, la sobrevivencia y la reproducción obedece al incremento de la concentración del alga suministrada como alimento, aunque limitado por la digestibilidad de misma como ya se mencionó (Krebs, 1985).

Si bien no se cuantificó la cantidad de alimento ingerido o remanente (no consumido) de *H. incongruens*, se observó la producción de heces fecales en los diferentes tratamientos y con base en las respuestas demográficas analizadas es factible inferir bajo que condiciones experimentales se presenta una adecuada digestión y asimilación del alimento suministrado. Durante el transcurso de los experimentos se realizaron varias observaciones como la del tránsito intestinal del alimento ingerido, el cual fue de aproximadamente de dos horas; además, se notó que el tamaño de las excretas es muy grande y aproximadamente la mitad del tubo digestivo es excretado cada vez por lo que para su total vaciado se requiere que el animal defeque dos veces lo que ocurre en aproximadamente 80 min. en ausencia de alimento, mientras que, una vez vació el tracto intestinal, le toma al individuo aproximadamente 40 minutos en llenarlo de nuevo.

En la evolución de la historia de vida, el esfuerzo reproductivo, el periodo reproductivo, el tiempo generacional y el periodo de vida son atributos sujetos a la selección natural y la relación entre ellos se cree que reflejan las estrategias óptimas de la historia de vida de una población. En relación a esto, Sarma y Rao proponen el empleo de la hipótesis de King, en la cual para organismos iteróparos, es decir aquellos con varios periodos reproductivos al año, el promedio de vida debe ser aproximadamente el doble de la duración del tiempo generacional (Sarma y Rao, 1991). Es decir que durante el promedio de vida de estos organismos se deben de producir dos generaciones. En este estudio, la relación entre ambos parámetros es directa y lineal; sin embargo, la proporción propuesta por King en su hipótesis no se cumple, pues en este trabajo va de 0.98 a 1.48 (Fig. 11), cabe resaltar que los valores más altos los encontramos en los organismos alimentados con materia orgánica, lo que refuerza lo que ya se ha discutido en el sentido de que, con este alimento los organismos comprometen su reproducción a favor de un periodo más largo de vida, produciendo una generación y media, sin olvidar que el número de individuos en dichas generaciones fue escaso. Por otro lado, al alimentar con alga a los ostrácodos, aunque la cantidad de individuos por generación fue mayor, tan sólo se presentó una generación durante el tiempo en que la cohorte sobrevivió. Sin embargo la proporción de King no siempre se cumple En otros trabajos donde se ha reportado dicha proporción; esta fue de 1.42 a 2.34 para el rotífero *Brachionus patulus*, en *Asplanchna girodi* fue de 1.6 a 3.9 y en algunas especies de bdelloideos fue >3 (Sarma y Rao, 1991).

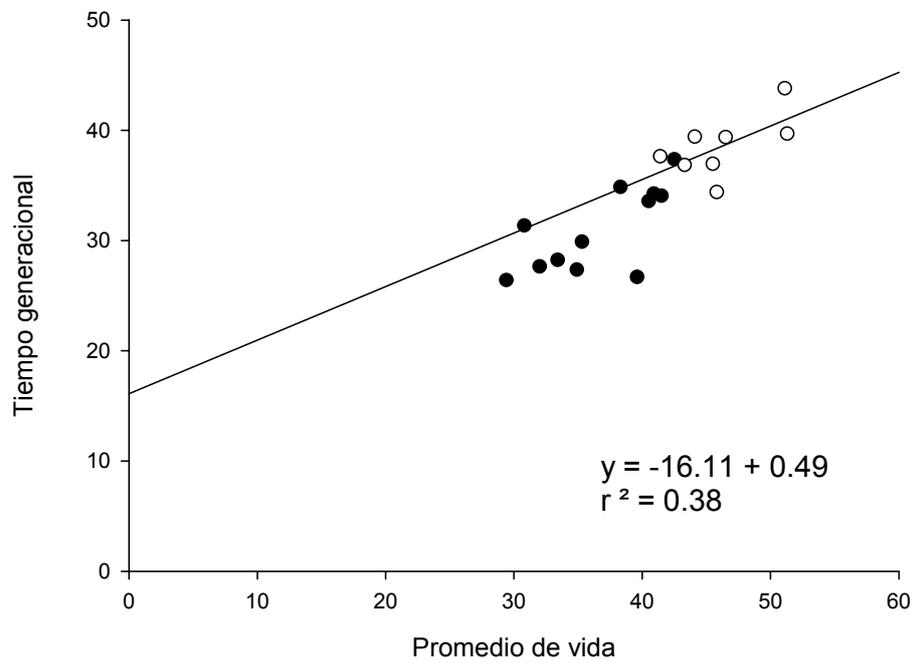


Figura 11.- Relación entre tiempo generacional y promedio de vida de los organismos alimentados con las tres concentraciones de alga (círculos negros) y las dos concentraciones de materia orgánica particulada en que se observó reproducción (círculos blancos)

10.- Conclusiones

Para concluir, las repuestas demográficas de esta especie indican que la variable de mayor sensibilidad en *H. incongruens* es la reproducción (parámetros reproductivos) mientras que de la de mayor resistencia es la sobrevivencia

Este estudio mostró que *H. incongruens* aumentó su abundancia poblacional de 0.6 ind. mL⁻¹ cuando se alimentó con *Scenedesmus* con una densidad de 11.6 µg PS mL⁻¹ a alrededor de 1.6 ind. mL⁻¹ cuando se ofrecieron desechos orgánicos a una densidad de 5.8 µg PS mL⁻¹. Mientras que, la esperanza de vida para esta especie es de hasta casi 40 días con una concentración de alga de 23.2 µg PS mL⁻¹, pero aumenta a 47 días con una concentración de 5.8 µg PS mL⁻¹ de materia orgánica.

Por su parte el promedio de vida aumentó de 32 a 40 días conforme se incrementó la concentración de alga, mientras que, al incrementar la concentración de materia orgánica esta disminuyó de 47 a 30 días.

Con el fin de aprovechar las partículas orgánicas en suspensión de aguas residuales, puede ser necesario eliminar previamente a una parte de los residuos (i.e. a través de sedimentación), ya que una mayor concentración de partículas (23.2 µg PS mL⁻¹) reduce los índices de crecimiento demográfico de la especie *H. incongruens*.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que esta especie es susceptible de ser cultivada con materia orgánica de deshecho presente en aguas residuales domésticas y con ello es factible promover el uso adicional de este material para la obtención de biomasa, susceptible de ser utilizada con otros fines (i.e. acuicultura). Además de que se comprobó que la especie puede ser empleada para disminuir la cantidad de MOP en las aguas de desecho sobre todo en las fases finales del tratamiento donde dicha materia es menos abundante.

Se sugiere que se efectúen análisis de la calidad de la biomasa generada (i.e. contaminantes, análisis químico proximal) y se realicen experimentos para ofrecer

estos organismos cultivados con materia orgánica residual al siguiente nivel trófico (i.e. peces) para evaluar su viabilidad como fuente alimentaria.

11.- Literatura citada

Ahlgren, G., Goedkoop, W., Markensten, H., Sonesten, L. and. Boberg, M. 1997. Seasonal variations in food quality for pelagic and benthic invertebrates in Lake Erken – the role of fatty acids. *Freshwater Biology* 38: 555–570.

Angell, R.W. and Hancock, J.W. 1989. Response of eggs of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda) to experimental stress. *Journal of Crustacean Biology* 9: 381-386.

Athersuch, J., Horne, D.J. and Whittaker, J.E. 1989. Marine and brackish water ostracods. *Synopses of the British Fauna (New Series) No. 43*, 343 pp.

Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J. 1988. *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press, United Kingdom, 477 p.p.

Butlin R.K. and Menozzi, P. 2000. Open questions in evolutionary ecology: do ostracods have the answers?. *Hydrobiologia* 419: 1–14.

Chaparro - Herrera D. 2007. *Biología de la alimentación de Ambystoma mexicanum: implicaciones para su conservación*, Tesis de maestría U.N.A.M., F.E.S. Iztacala Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México.

Chaplin J.A., Havel J.E. and Hebert P.D.N. 1994. Sex and Ostracods. *Trends in Ecology and Evolution*. 9(11): 435- 439.

CNA. 2007. *Inventario Nacional de Plantas Municipales de Potabilización y Tratamiento de Aguas Residuales en Operación*. Comisión Nacional del Agua. www.cna.gob.mx

D.D.F. Secretaría General de Obras, Dirección General de Construcción y operación Hidráulica. 2000. *Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Cerro de la Estrella*, Folleto.

De la Lanza, E.G. and García, C.J.L. 2002. Lagos y presas de México. AGT Editor S.A., México D.F. 680 pp.

Delorme, L.D. 2001. Ostracoda. In: Thorp, J.H. and Covich, A. (eds). Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates (2da. Edición), Academic Press, San Diego, USA. 811-848.

Dobberfuhl, D.R. and Elser, J.J. 1999. Use of dried algae as a food source for zooplankton growth and nutrient release experiments. Journal of Plankton Research 21(5). 957-970.

Downing, J.A. and Rigler F.H. (eds), 1984. A manual for the methods of assessment of secondary productivity in fresh waters. 2nd ed. IBP Handbook 17. Blackwell Scientific Publications, London.

Droste, R.L. 1997. Theory and practice of Water and Wastewater Treatment. John Wiley and Sons, N.J., U.S.A

Gandolfi, A., Rossi, V. and Menozzi, P. 2001. Description of Some Mendelian-Inherited Rapid Markers for *Heterocypris incongruens* (Ostracoda). Journal of Crustacean Biology, 21(4): 982–990.

Green, J. 1959. Pigmentation of an ostracod, *Heterocypris incongruens*. Journal of Experimental Biology. 36: 575-582.

Guterstam, B., Forsberg, L.E., Buczynska, A., Frelek, K., Pilkaityte, R., Reczek, L. and Rucevska, I. 1998. Stensund wastewater aquaculture: Studies of key factors for its optimization. Ecological Engineering. 11: 87-100.

Havel J.E. and Talbott B.L. 1995. Life history characteristics of the freshwater ostracod *Cyprinotus incongruens* and their applications to toxicity testing. Ecotoxicology 4: 206 – 218.

Hernández-Sancho, F., Molinos, M. and Sala-Garrido, R. 2009. Environmental Benefits of Wastewater Treatment: an Economic Valuation. In *Risk Management of Water Supply and Sanitation Systems*, P. Hlavinek *et al.* (Eds.), Springer.

Hodgson, B. and Paspaliaris, P. 1995. Melbourne Water's wastewater treatment lagoons: Design modifications to reduce odors and enhance nutrient removal. *Water Science and Technology*. 33: 157-164.

Krebs, C.J. 1985. *Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance*. 3rd edition. Harper and Row, New York.

Lampert W. and Sommer U. 2007. *Limnoecology*, Oxford university press, 2nd edition, 324 pp.

Laws, E.A. 2000. *Aquatic Pollution: An Introductory Text*, 3rd edition. John Wiley and Sons, 672 pp.

Lynch, M. 1980. The evolution of cladoceran life histories. *Quarterly Reviews of Biology* 55: 23-42.

Marten, G.G. 1986. Mosquito Control by Plankton Management: The Potential of Indigestive Green Algae. *Journal of Medicine and Hygiene*. 89: 213-222

Mendoza Moreno S., 2004. Bacterivoría de Rotíferos y Cladóceros en Aguas Residuales Municipales. Tesis de Licenciatura FES- Iztacala (UNAM), Los Reyes Tlalnepantla, Estado de México.

Mezquita, F., Boronat, M.D., and Miracle M.R. 2002. The life history of *Cyclocypris ovum* (Ostracoda) in a permanent karstic lake. *Arch. Hydrobiology* 155: 687-704.

Morris, H.J., Quintana, M.M., Almarales, A. and Hernández, L. 1999. Composición Bioquímica y Evaluación de la Calidad Proteíca de la Biomasa de *Chlorella vulgaris*. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 13(2): 123 - 128

Nagorskaya, L. and Keyser D. 2005. Habitat diversity and ostracod distribution patterns in Belarus. *Hydrobiologia* 538: 167-178.

Nandini, S., and Sarma, S.S.S. 2007. Effect of algal and animal diets on life history of the freshwater copepod *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851). *Aquatic Ecology* 41: 75-84.

Nandini, S., Hernández-Valdez, M. and Sarma S.S.S. 2005. Life history characteristics of cladocerans (Cladocera) fed on wastewaters. *Acta Hydrochim. Hydrobiologia* 33(2): 133-141.

Nandini, S., Aguilera-Lara, D., Sarma, S.S.S. y Ramírez-García, P. 2004. The ability of selected cladoceran species to utilize domestic wastewaters in Mexico City. *Journal of Environmental Management* 71: 59-65.

Nandini, S. and Sarma, S.S.S. 2003. Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Hydrobiologia* 491: 211-219.

Oleszczuk, P. 2008. *Heterocypris incongruens* as a tool to estimate sewage sludge toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27 (4): 864–872.

Pennak, R.W. 1989. Fresh-water invertebrates in the United States. The Ronald-Press Co. New York.

Peña-Aguado, F., Sarma, S.S.S. and Nandini, S. 2007. Observations on feed size and capture success in the larval butterfly splitfin (*Ameca splendens* Miller and Fitzsimons, 1971, Pisces: Goodeidae) reared on zooplankton, *Journal of Applied. Ichthyology*. 23: 264-269.

Peña-Aguado, F., Nandini, S. and Sarma, S.S.S. 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. *Limnologica* 35: 298–303.

Reichholf, J. 1983. Ökologie und Verhalten des Muschelkrebses *Heterocypris incongruens* Claus, 1892. Spixiana - Zeitschrift für Zoologie 6: 205-210.

Rossi, V., Gandolfi, A. and Menozzi, P. 1996. Egg diapause and clonal structure in parthenogenetic populations of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda). Hydrobiologia 320: 45-54.

Rossi V. and Menozzi P. 1996. The clonal ecology of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda): Life-history traits and photoperiod. Functional Ecology 7: 177-182.

Sarma S.S.S. and Rao T. 1991. The combined effects of food and temperature on the life history parameters of *Brachionus patulus* (Muller) Rotifera. Int. Revue. ges. Hydrobiol. 76: 225-239.

Sarma, S.S.S, Nandini, S. and Gulati, R.D. 2002 Cost of reproduction in selected species of zooplankton (rotifers and cladocerans). Hydrobiologia 481: 89--99.

Sarma, S.S.S., Trujillo-Hernández, H.E. and Nandini, S. 2003 Population growth of herbivorous rotifers and their predator (*Asplanchna*) on urban wastewaters. Aquatic Ecology 37: 243-250.

Sarma, S.S.S., Nandini, S. and Gulati, R.D. 2005. Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. Hydrobiologia 542: 315-333.

Schmit, O., Rossetti, G., Vandekerkhove, J. and Mezquita, F. 2007. Food selection in *Eucypris virens* (Crustacea: Ostracoda) under experimental conditions. Hydrobiologia 585:135–140.

Smith, R.J. and Martens, K. 2000. The ontogeny of the cypridid ostracod *Eucypris virens* (Jurine, 1820) (Crustacea, Ostracoda) Hydrobiologia 419: 31–63.

Sterner, R.W. 1997. Modelling interactions of food quality and quantity in homeostatic consumers. *Freshwater Biology* 38: 473–481.

Thorp, J.H. and Covich, A P. (eds) 2001. *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Academic Press, 2nd edn, New York.

Tortajada, C. 1998. Water supply and wastewater management in Mexico: an analysis of the environmental policies. *International Journal of Water Resource Development* 14: 327-337.

Wallace, R.L., Snell, T.W. Ricci, C. and Nogrady, T. 2006. *Rotifera Part 1: Biology, Ecology and Systematics. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world*. Kenobi Productions Gent, Belgium / Backhuys Publishers, The Netherlands.

Walker, R.A., Hancock, J.W. 1989. Response of Eggs of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda) to Experimental Stress. *Journal of Crustacean Biology*. 9(3): 381-386.

Weber, C. I. 1993. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio (4th ed.), 293p.p.

Wiesmann, U., Choi, I.S. and Dombrowski, E.M. 2007. *Fundamentals of Biological wastewater treatment*. Wiley Interscience, New York. 391 pp.

POPULATION DYNAMICS OF *HETEROCYPRIS INCONGRUENS*
(RAMDOHR, 1808) (OSTRACODA, CYPRIDIDAE) IN RELATION TO DIET
TYPE (ALGAE AND ORGANIC WASTE) AND AMOUNT OF FOOD

BY

MARISSA F. JUÁREZ-FRANCO¹), S. S. S. SARMA^{2,4}) and S. NANDINI³)

¹) Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

²) Laboratorio de Zoología Acuática, División de Investigación y Posgrado, Edificio UMF, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala, AP 314, CP 54090, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico

³) UIICSE, División de Investigación y Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala, AP 314, CP 54090, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico

ABSTRACT

Population growth patterns of the ostracod, *Heterocypris incongruens* have been studied using the green alga, *Scenedesmus acutus* or organic waste from a water treatment plant as food, and using dry weight equivalents of 5.8, 11.6, and 23.2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ for 50 days. *H. incongruens*, in our study, reproduced only parthenogenetically. The colour of the eggs and the campae valves differed depending on the type of food. Populations cultured on the algae appeared bright orange-coloured, while those on organic waste were pale yellow. Regardless type and concentration of food, *H. incongruens* had a long lag phase of about 3 weeks, after which the exponential phase began that continued for the next 20 to 30 days. In treatments containing an algal diet, the density of *H. incongruens* increased with the increase of food level from 5.8 to 11.6 $\mu\text{g ml}^{-1}$. However, a further increase in food density did not result in a higher peak of abundance. In the treatments containing organic waste, population density was higher (about 1.6 ind. ml^{-1}) at 5.8 and 11.6 $\mu\text{g ml}^{-1}$, but it decreased to half this density with a further increase in the amount of food (23.2 $\mu\text{g ml}^{-1}$). The rate of population increase (r) of *H. incongruens* ranged from 0.03 to 0.07 per day, depending on food type and concentration.

RESUMEN

Se estudiaron los patrones de crecimiento poblacional del ostrácodo *Heterocypris incongruens* utilizando el alga verde *Scenedesmus acutus* o desechos orgánicos de una planta de tratamiento de aguas residuales como alimento bajo diferentes densidades (como los equivalentes de peso seco de 5.8, 11.6 y 23.2 $\mu\text{g ml}^{-1}$) durante 50 días. *H. incongruens* en nuestro estudio sólo se reproduce

⁴) Author for correspondence; Fax: +52.5556231256; e-mail: sarma@servidor.unam.mx

partenogenéticamente. El color de los huevos y las valvas de los ostrácodos difiere dependiendo del tipo de alimentos. Los cultivados en alga presentaron un color naranja brillante, mientras que los cultivados con residuos orgánicos mostraron un color amarillo pálido. Independientemente del tipo de alimento y la concentración, *H. incongruens* presentó una larga fase de adaptación de aproximadamente 3 semanas. Una vez que la fase exponencial se inició, esta tuvo una duración de 20 a 30 días. En los tratamientos de la dieta que contienen algas, la densidad de *H. incongruens* aumentó cuando se elevó la concentración de alimento de 5,8 a 11,6 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Sin embargo, al incrementar la densidad en los alimentos no se reflejó en las abundancias máximas de la población de *H. incongruens*. Dentro de los tratamientos que contienen residuos orgánicos, la densidad de población fue mayor (alrededor de 1,6 ind. ml^{-1}) a 5,8 y 11,6 $\mu\text{g ml}^{-1}$, pero se redujo a la mitad con mayor aumento de la densidad de los alimentos (23,2 $\mu\text{g ml}^{-1}$). La tasa de aumento de la población (r) variaron entre 0,03 a 0,07 por día, dependiendo del tipo de alimentos y la concentración.

INTRODUCTION

Freshwater genera of ostracods such as *Heterocypris* and *Darwinula* predominantly have parthenogenetically reproducing populations (Matzke-Karasz et al., 2007). In certain species, e.g., *Pseudocandona eremita* (Vejdovsky, 1882), both parthenogenetic and sexual forms are simultaneously present (Iepure et al., 2007). *Heterocypris* is a large genus with at least 15 species reported from North America (Turgeon & Hebert, 1994). *H. incongruens* (Ramdohr, 1808) is an ancient apomictic parthenogen (Chaplin & Hebert, 1997), although sexual eggs are also simultaneously produced under field conditions (Rossi et al., 2007). The species is sensitive to changes in the environment, and therefore in use as a bioassay organism for ecotoxicity tests (Chial et al., 2003).

Ostracods feed in nature on a variety of food items that include both dead (e.g., detritus) and living (e.g., algae and macrophytes) organic matter (Schmit et al., 2007). As in many other aquatic invertebrates, the population abundance of ostracods is dependent on many factors including the amount of food available in the environment (Pieri et al., 2007). However, due to their long maturation time, the population dynamics of ostracods are rarely studied under laboratory conditions.

With increasing urbanization, most cities release large quantities of organic waste as waste water. For example, Mexico City releases every second waste water containing organic waste to the tune of about 75 m^3 (Monroy et al., 2000). Though there are several water treatment plants in the city, most of these are not equipped to harvest the organic substances present in the waste water. Since ostracods are frequently found in waste water (Cierninski & Flake, 1995) it would be interesting to quantify changes in the abundance of ostracods using the organic waste as a diet.

The aim of the present study was, therefore, to study the population growth of *H. incongruens* fed different concentrations of alga and organic waste.

MATERIAL AND METHODS

Heterocypris incongruens was originally obtained from a temporary water body in Guanajuato City (Guanajuato State, Mexico). Starting from a single parthenogenetic individual, mass cultures were established in 10 L aquaria using re-constituted moderately hard water (the EPA medium) and the green alga, *Scenedesmus acutus* Meyen (Strain no. 72, University of Texas Collection Center, Austin, Texas). The EPA medium was prepared by dissolving 0.9 g of NaHCO₃, 0.6 g of CaSO₄, 0.6 g of MgSO₄, and 0.002 g of KCl in one litre of distilled water (Weber, 1993). *S. acutus* was batch-cultured in 2 L transparent bottles using defined nutrients (Bold's basal medium, Borowitzka & Borowitzka, 1998). For mass cultures as well as for the experiments, the conditions were similar (temperature 23 ± 1°C, continuous but diffused fluorescent illumination, pH 7.1-7.3, and the medium changed daily with algal diet at a concentration of 0.5 × 10⁶ to 1.0 × 10⁶ cells ml⁻¹ of *Scenedesmus acutus*). For routine feeding and for the population growth experiments, we harvested log phase *S. acutus*, centrifuged at 2000 rpm for 5 min., rinsed and re-suspended in distilled water. The algal density was estimated using a haemocytometer. For the experiments we used three algal food levels: 0.5 × 10⁶, 1.0 × 10⁶, and 2.0 × 10⁶ cells ml⁻¹, or in terms of dry weight: 5.8, 11.6, and 23.2 µg ml⁻¹, respectively (Nandini & Sama, 2003).

Organic waste was obtained from the El Rosario water treatment plant in Mexico City. Waste water from the first tank, which receives crude waste, was brought to the laboratory every alternate day during the entire duration of the experiment. The quantity of suspended solids present in the waste water was estimated as dry weight using a Cahn electrobalance (Model C-33). We offered the organic wastes (filtered through different meshes as to obtain particle sizes in the range of 20 to 50 µm) in dry weights equivalent to the algal concentrations mentioned above.

Population growth experiments were conducted in 150 ml jars containing 100 ml EPA medium with one of the two food types of a chosen concentration. Into each of the 24 test jars (2 food types × 3 concentrations × 4 replicates) containing medium with chosen food type and density, we introduced 10 individuals of *H. incongruens* using a Pasteur pipette under a stereomicroscope (Nikon SMZ645) at a magnification of 20×. Following initiation of the growth experiment, we daily quantified the density of ostracods in each jar by total count. Eggs and surviving individuals were then transferred to fresh jars containing the appropriate type and concentration of food. The experiments were discontinued after 50 days, by which time the populations of *H. incongruens* in most replicates reached a stationary phase.

Based on the data collected, we derived the rate of population increase (r) using the exponential equation (Krebs, 1985): $r = (\ln N_t - \ln N_0)/t$, where N_t and N_0 are the final and initial population densities, and t is the time.

For each replicate, we derived r separately. For each treatment, the differences in peak population densities and growth rates of *H. incongruens* were analysed using analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test (Stastica Version 5, StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma).

RESULTS

Heterocypris incongruens in our study reproduced only parthenogenetically. The colour of the carapace valves differed depending on the treatment: those cultured on algae appeared bright orange-coloured, while those on organic waste were pale yellow. The eggs, deposited as clusters, were also different in colour, but broadly reflected the colour of the females that laid them.

Population growth curves of *H. incongruens* in relation to different types and concentrations of food are presented in fig. 1. Regardless of food type and concentration, *H. incongruens* had a long lag phase of about 3 weeks after which the exponential phase began, that continued for 20 to 30 days, depending on the treatment. In treatments containing the algal diet, the density of *H. incongruens* increased with an increase in food level from 5.8 to 11.6 $\mu\text{g ml}^{-1}$. However, further increase in food density did not result in a higher peak population abundance of *H. incongruens*. In the treatments containing organic waste, the population density was higher (about 1.6 ind. ml^{-1}) at 5.8 and 11.6 $\mu\text{g ml}^{-1}$, but decreased to half this density with further increase in food density (23.2 $\mu\text{g ml}^{-1}$) (fig. 2).

The rate of population increase per day (r) followed the trends observed for peak densities. The r values ranged from 0.03 to 0.07 per day, depending on food type and concentration (fig. 3). Statistically, peak population density and the rate of population increase were significantly affected by the type and concentration of food ($p < 0.05$, F-test, ANOVA, table I).

DISCUSSION

Field collections indicate that *Heterocypris incongruens* deposits clusters of orange-coloured eggs, which are considered resting eggs (Spencer & Blaustein, 2001). In our laboratory cultures, we found such orange-coloured and also pale yellow-coloured egg masses. These differently coloured eggs both hatched at the same time (about 5-7 days), suggesting that both were of the same type. Since we did not find any males, we considered that these eggs are apomictic, and the

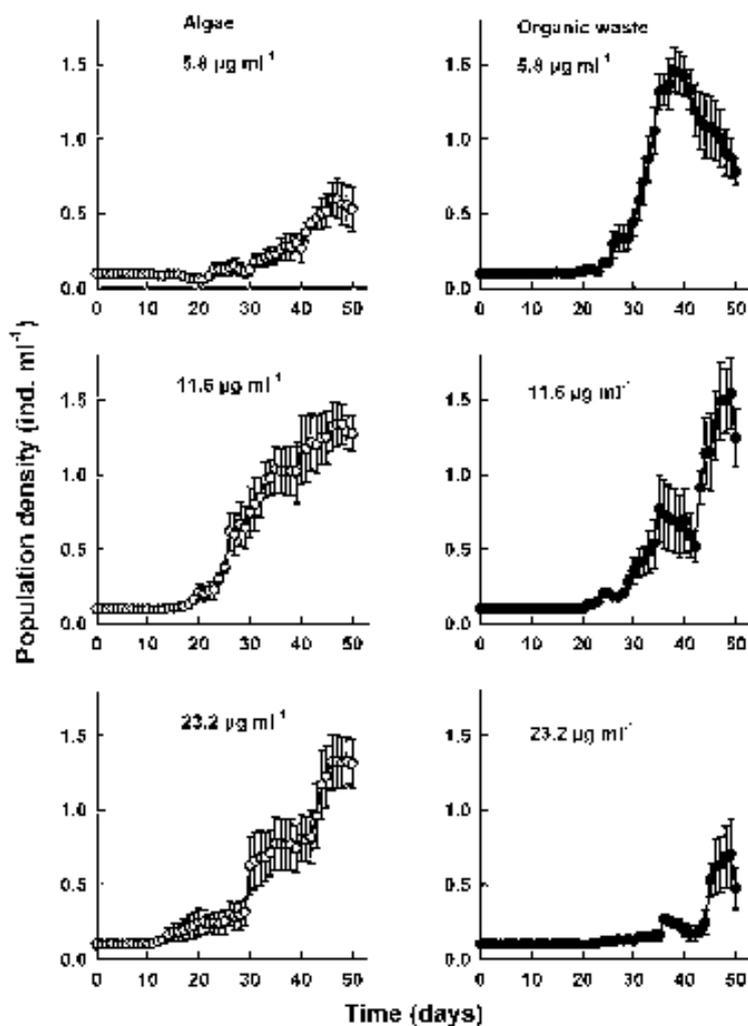


Fig. 1. Population growth of *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) in relation to food levels of algae (*Scenedesmus acutus* Meyen) (open circles), and organic waste (closed circles) (dry weight, $\mu\text{g ml}^{-1}$). Shown are the mean \pm standard error based on 4 replicates.

colours of the eggs as well as of the adults probably reflect the diet on which the individuals were reared. This is supported by a study conducted nearly 5 decades ago, which showed that *H. incongruens* grown on the green alga, *Chlorella*

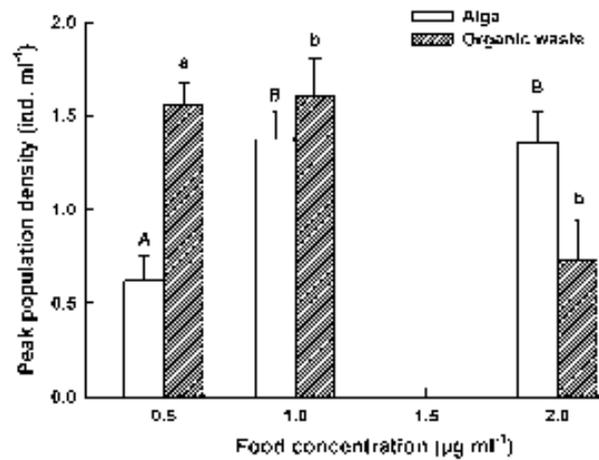


Fig. 2. Peak population abundance (ind. ml⁻¹) of *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) in relation to levels of algae (*Scenedesmus acutus* Meyen) (open bars) and organic waste (slashed bars) (dry weight, µg ml⁻¹). Shown are the mean ± standard error based on 4 replicates. For each food type, data bars carrying similar letters (upper or lower case, separately) are not statistically significantly different ($p > 0.05$, Tukey test).

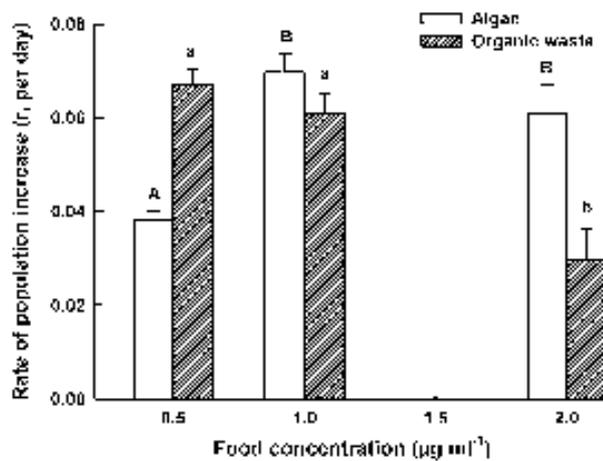


Fig. 3. Rate of population increase (day⁻¹) of *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) in relation to algal (*Scenedesmus acutus* Meyen) (open bars) and organic waste (slashed bars) levels (dry weight, µg ml⁻¹). Shown are the mean ± standard error based on 4 replicates. For each food type, data bars carrying similar letters (upper or lower case, separately) are not statistically significantly different ($p > 0.05$, Tukey test).

TABLE I

Results of the one-way analysis of variance performed on the peak population density and the rate of population increase of *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) cultured separately on different concentrations of *Scenedesmus acutus* Meyen and organic waste from water treatment plant. DF, degrees of freedom; SS, sum of squares; MS, mean square; F, F-ratio

Source of variation	DF	SS	MS	F	<i>p</i>
Peak population density					
Algal food	2	1.50	0.75	8.2	0.009
Error	9	0.82	0.09		
Organic waste	2	1.94	0.97	7.00	0.015
Error	9	1.24	0.14		
Rate of population increase					
Algal food	2	0.002	0.001	13.27	0.002
Error	9	0.0007	0.0001		
Organic waste	2	0.0032	0.0016	16.35	0.001
Error	9	0.0089	0.0001		

vulgaris Beijerinck developed bright orange coloured shell valves (Green, 1959). There is some indication that the same individual of *H. incongruens* produces two different kinds of eggs: those that hatch in less than 10 days and the dormant eggs, that take much longer to hatch (Angell & Hancock, 1989). On the other hand, in certain countries (e.g., the United Kingdom), only parthenogenetically reproducing females of *H. incongruens* are known (Fryer, 1997). We found only one type of eggs that hatched within 7 days, while the colour of the egg masses reflected the diet type of the female. There is some ambiguity with reference to the taxonomy of *H. incongruens*, especially the field-collected females, possibly due to hybridization (Rossi et al., 2004). However, our laboratory cultured populations agree well with the description of the typical apomictic female available in the literature (Rossi et al., 2003).

Population growth patterns of ostracods vary depending on the species. Generally, parthenogenetic species have higher population growth rates than those reproducing sexually (Rossi et al., 1996). In species that reproduce parthenogenetically, the patterns of population increase depend on the frequency with which the eggs are laid and the time needed to hatch (Wallace et al., 2006). Most crustaceans that live longer, also have an older age at first reproduction (and hence a long lag phase). Ostracods generally have a long lifespan (up to 10 months) (Mezquita et al., 2002) and hence have a long initial lag phase. The fact that *H. incongruens* in our study had a long lag phase suggested a more advanced age at first reproduction. Data on demographics indeed support this: the age at first reproduction is more than 2 weeks at room temperature (Latifa, 1987). This is also reflected in pulsed population growth patterns, i.e., instead of continuous growth, for short periods there

was no significant increment in population abundance, although overall population densities increased with time.

H. incongruens, though occurring in eutrophic waters, for its density is dependent on the concentration of the edible fraction of algae in ponds and lakes. The natural abundance of ostracods is usually low (a few individuals per litre, Nagorskaya & Keyser, 2005) but extremely high abundances (10 ind. ml⁻¹) have also been reported (Reichholf, 1983). In the present work, the peak abundance of this species varied from 0.5 to 1.6 ind. ml⁻¹, which suggests a high availability of food from the medium. With an increase in algal density, the population abundance of *H. incongruens* increased, although there was no significant difference when fed on *Scenedesmus* at 11.6 or 23.2 µg ml⁻¹. This suggests that for a maximal abundance of *H. incongruens*, algal food levels near 11.6 µg ml⁻¹ are sufficient. However, when organic waste was used as food, at an amount of 5.8 µg ml⁻¹ the ostracods reached peak densities comparable to those fed on algae at a double food amount. There may be many reasons for this. Firstly, there is the possibility of sedimentation of organic waste in test jars, which makes them available for the browsing ostracods. This is unlikely, however, because we used shallow jars and the ostracods not only continuously stirred the medium but also were present in the water column most of the time. Secondly, the relative digestibility of the types of food offered could be one factor. Suspended organic solids in waste water are generally partly digested by microorganisms (Laws, 2000) and this enhances the digestibility, compared to algae. We did not quantify the uneaten or undigested food in the jars. However, we did observe higher quantities of faecal pellets in jars containing 23.2 µg ml⁻¹ of organic waste. This suggests that food passed through the ostracod gut too fast to be digested completely, while at the lowest food level, proper digestion and assimilation could have occurred (Downing & Rigler, 1984).

The population growth rates of ostracods are generally much lower than in some crustaceans of comparable size (e.g., cladocerans) but are comparable to those of copepods (about 0.1 per day, Nandini & Sarma, 2007). The lower population growth rates of *H. incongruens* observed in this study are due to the time taken to reach maturity (Latifa, 1987), a lower offspring production per female, and longer egg hatching times (Mezquita et al., 2002). Within the broad range of food levels chosen here, the population growth rates of *H. incongruens* were similar, whether fed algae or organic waste. This suggests that *H. incongruens* is apparently adapted to survive and reproduce at low concentrations of food.

This study considered the two food types based on similar dry weights. Other factors that influence the population growth are the nutritional quality and the variability of this parameter in waste water. Waste water also carries toxicants and xenobiotic substances (like drugs) (Laws, 2000). These were not quantified in our study. However, since we collected only the organic fraction of the waste water,

many toxicants and other substances were possibly removed through centrifugation in the supernatant. Secondly, since *H. incongruens* is sensitive to toxicants and since in our jars it grew well, the organic waste probably was not strongly contaminated. Finally, the aim of this work was not to clean the organic waste from waste water but rather to utilize it (as available in the treatment plant) for culturing ostracods.

In conclusion, our study shows that *H. incongruens* increased its population abundance from 0.1 ind. ml⁻¹ to about 1.6 ind. ml⁻¹, whether fed *Scenedesmus* at an amount of 11.6 µg ml⁻¹, or organic waste at an amount of 5.8 µg ml⁻¹. Thus, in order to harvest suspended organic particles from waste water, it may be necessary to previously remove a part of the waste (e.g., via sedimentation) since a higher particulate concentration (23.2 µg ml⁻¹) appeared to reduce the population growth rates of *H. incongruens*.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Cecilia Vanegas Pérez for suggestions. This study was supported by CONACyT (Mexico) (210423, SNI-18723 and SNI-20520, respectively).

REFERENCES

- ANGELL, R. W. & J. W. HANCOCK, 1989. Response of eggs of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda) to experimental stress. *Journal of Crustacean Biology*, 9: 381-386.
- BOROWITZKA, M. A. & L. J. BOROWITZKA, 1988. *Micro-algal biotechnology*: 1-477. (Cambridge University Press, Cambridge, U.K.).
- CHAPLIN, J. A. & P. D. N. HEBERT, 1997. *Cyprinotus incongruens* (Ostracoda): an ancient asexual? *Mol. Ecol.*, 6: 155-168.
- CHIAL, B. Z., G. PERSOONE & C. BLAISE, 2003. Cyst-based toxicity tests. XVIII. Application of ostracodcockit microbiotest in a bioremediation project of oil-contaminated sediments: sensitivity comparison with *Hyalella azteca* solid-phase assay. *Environmental Toxicology*, 18: 279-283.
- CIEMINSKI, K. L. & L. D. FLAKE, 1995. Invertebrate fauna of wastewater ponds in southeastern Idaho. *Great Basin Naturalist*, 55: 105-116.
- DOWNING, J. A. & F. H. RIGLER (eds.), 1984. *A manual for the methods of assessment of secondary productivity in fresh waters* (2nd ed.). IBP Handbook, 17: i-xxiv, 1-501. (Blackwell Scientific Publications, London).
- FRYER, G., 1997. The horse-trough ostracod *Heterocypris incongruens*. *Naturalist*, 122: 121-135.
- GREEN, J., 1959. Pigmentation of an ostracod, *Heterocypris incongruens*. *Journ. exp. Biol.*, 36: 575-582.
- IEPURE, S., T. NAMIOTKO & D. L. DANIELOPOL, 2007. Evolutionary and taxonomic aspects within the species group *Pseudocandona eremita* (Vejdovský) (Ostracoda, Candonidae). *Hydrobiologia*, 585: 159-180.
- KREBS, C. J., 1985. *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance* (3rd ed.): 1-592. (Harper & Row, New York).

- LATIFA, G. A., 1987. Effect of temperature on the development of embryonic and postembryonic stages of *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) (Ostracoda). *Crustaceana*, 52: 95-100.
- LAWS, E. A., 2000. Aquatic pollution: an introductory text (3rd ed.): 1-672. (John Wiley & Sons, New York).
- MATZKE-KARASZ, R., M. SCHUDACK & K. MARTENS, 2007. Ostracodology in time and space: looking back on fifteen International Symposia on Ostracoda, and the times in between. *Hydrobiologia*, 585: 1-11.
- MEZQUITA, F., M. D. BORONAT & M. R. MIRACLE, 2002. The life history of *Cyclocypris ovum* (Ostracoda) in a permanent karstic lake. *Arch. Hydrobiol.*, 155: 687-704.
- MONROY, O., G. FAMA, M. MERAZ, L. MONTOYA & H. MACARIE, 2000. Anaerobic digestion for wastewater treatment in Mexico: state of the technology. *Water Research*, 34: 1803-1816.
- NAGORSKAYA, L. & D. KEYSER, 2005. Habitat diversity and ostracod distribution patterns in Belarus. *Hydrobiologia*, 538: 167-178.
- NANDINI, S. & S. S. S. SARMA, 2003. Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Hydrobiologia*, 491: 211-219.
- & —, 2007. Effect of algal and animal diets on life history of the freshwater copepod *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851). *Aquatic Ecology*, 41: 75-84.
- PIERL, V., C. CASERINI, S. GOMARASCA, K. MARTENS & G. ROSSETTI, 2007. Water quality and diversity of the recent ostracod fauna in lowland springs from Lombardy (northern Italy). *Hydrobiologia*, 585: 79-87.
- REICHHOLF, J., 1983. Ökologie und Verhalten des Muschelkrebses *Heterocypris incongruens* Claus, 1892. *Spixiana — Zeitschrift für Zoologie*, 6: 205-210.
- ROSSI, V., M. BARTOLI, C. BELLAVERE, A. GANDOLFI, E. SALVADOR & P. MENOZZI, 2004. *Heterocypris* (Crustacea: Ostracoda) from the Isole Pelagie (Sicily, Italy): hatching phenology of resting eggs. *Italian Journal of Zoology*, 71: 223-231.
- ROSSI, V., A. GANDOLFI, F. BARALDI, C. BELLAVERE & P. MENOZZI, 2007. Phylogenetic relationships of coexisting *Heterocypris* (Crustacea, Ostracoda) lineages with different reproductive modes from Lampedusa Island (Italy). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44: 1273-1283.
- ROSSI, V., A. GANDOLFI & P. MENOZZI, 1996. Egg diapause and clonal structure in parthenogenetic populations of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda). *Hydrobiologia*, 320: 45-54.
- ROSSI, V., B. TONDELLI, A. GANDOLFI, C. BELLAVERE, K. G. MCKENZIE & P. MENOZZI, 2003. *Heterocypris* (Crustacea, Ostracoda) from the Isole Pelagie (Sicily, Italy): population genetics. *Italian Journal of Zoology*, 70: 101-108.
- SCHMIT, O., G. ROSSETTI, J. VANDEKERKHOVE & F. MEZQUITA, 2007. Food selection in *Eucypris virens* (Crustacea: Ostracoda) under experimental conditions. *Hydrobiologia*, 585: 135-140.
- SPENCER, M. & L. BLAUSTEIN, 2001. Risk of predation and hatching of resting eggs in the ostracod *Heterocypris incongruens*. *Journal of Crustacean Biology*, 21: 575-581.
- TURGEON, J. & P. D. N. HEBERT, 1994. Evolutionary interactions between sexual and all-female taxa of *Cyprinotus* (Ostracoda: Cyprididae). *Evolution*, 48: 1855-1865.
- WALLACE, R. L., T. W. SNELL, C. RICCI & T. NOGRADY, 2006. Rotifera, Volume 1: Biology, ecology and systematics (2nd ed.). *Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World*, 23: 1-299. (Kenobi Productions Ghent/Backhuys Publishers, Leiden).
- WEBER, C. I., 1993. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms (4th ed.): i-xv, 1-293. (United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio).

First received 27 June 2008.

Final version accepted 10 September 2008.