



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Efecto de la temperatura sobre la demografía y morfometría de distintas poblaciones de *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766.

T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

Biól. Gisela Carmen Gómez Cabral

Tutor Principal:

Dr. Singaraju Sri Subrahmanya Sarma
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

Comité Tutor:

Dra. Patricia Bonilla Lemus
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

Dra. María Del Rosario Sánchez Rodríguez
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

Dr. Marcelo Silva Briano
Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Dr. Felipe Fernando Martínez Jerónimo
Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

MÉXICO, D. F., ENERO 2015



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.

Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México



“Efecto de la temperatura sobre la demografía y morfometría de distintas poblaciones de *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766”

T e s i s

**que para obtener el grado académico de
Maestra en Ciencias del Mar y Limnología
(Limnología)**

presenta:

Biól. Gisela Carmen Gómez Cabral

Director de Tesis:

Dr. Singaraju Sri Subrahmanya Sarma

Comité Tutor:

Dra. Patricia Bonilla Lémus

Dra. María del Rosario Sánchez Rodríguez

Dr. Marcelo Silva Briano

Dr. Felipe Fernando Martínez Jerónimo

México D.F., enero 2015.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y el Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología por el aprendizaje profesional y personal.

Al CONACYT por la beca otorgada durante mis estudios (448813).

Al Dr. Sarma y la Dra. Nandini por su apoyo, consejos y toda su sabiduría que han compartido conmigo durante mi trayecto académico.

A la Dra. María del Rosario, por sus consejos académicos y de vida, al Dr. Marcelo, a la Dra. Patricia Bonilla y al Dr. Fernando Martínez por sus comentarios, sugerencias, las críticas constructivas y el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis.

Al laboratorio de Zoología Acuática (Aarón, Alberto, Aldo, Alma, Aurora Martínez, Aurora Vásquez, Brenda, Cesar, Cristian, Diego, Gerardo, Jesús, Jorge, Lety, Lígia, Lucy, Manuel, Mayra, Meetztli, Michael, Rocío, Rosa, Sergio, Toño) por su compañerismo y su apoyo, en especial a Rocío y Cristian por sus explicaciones sobre las tablas de vida y a Diego por la ayuda en los muestreos.

Agradezco a mis padres, Saúl y Carmen, a quienes les dedico éste y cada uno de mis logros, porque sin su esfuerzo y amor, yo no habría llegado hasta aquí.

A mis hermanos: Cristel, Viviana, David y Juan.

A mi sobrina Florencia.

A mis tíos y primos: Elena, Felipa, Teresa, Fausto, Eliseo, Juan, Lupis, Eva, Jazmín, Jannette, Evelyn, Juanito, Saúl, Alan, Aarón.

A Salvador Cantú, quién estuvo apoyándome y acompañándome en los muestreos, los experimentos, los congresos, los desvelos y la redacción de esta tesis; gracias por darme el aliento para seguir adelante a pesar de los tropiezos.

A Rosaura, Aurora, Brenda y Lía por las pláticas y reflexiones, por su apoyo incondicional y su amistad, mil gracias.

Índice

1.	Resumen	5
1.1	Abstract	6
2.	Introducción	7
2.1	Morfología de Rotifera	7
2.2	Taxonomía	12
2.3	<i>Brachionus calyciflorus</i>	14
2.4	Distribución de <i>Brachionus</i>	14
2.5	Revisión sobre estudios realizados con <i>Brachionus calyciflorus</i>	16
2.6	Tablas de vida	18
2.7	Efecto de Temperatura	20
3.	Antecedentes	22
4.	Justificación	24
5.	Objetivos	25
5.1	Objetivo General	25
5.2	Objetivos Particulares	25
6.	Materiales y Métodos	26
6.1	Cultivo de la microalga	26
6.2	Colecta e identificación de Rotíferos	27
6.3	Cultivo de Rotíferos	27
6.4	Experimento de Tabla de Vida	28
6.5	Análisis morfométrico	30
7.	Resultados	31
8.	Discusión de Resultados	60
9.	Conclusiones	65
10.	Referencias	66

1. Resumen

La temperatura es un factor abiótico muy importante ya que afecta el promedio de vida y la reproducción de todos los organismos a través de procesos estimulatorios del metabolismo. El zooplancton es un componente estructural y funcional de los ecosistemas acuáticos. El zooplancton de agua dulce se encuentra compuesto principalmente por Rotíferos, Cladóceros y Copépodos. Los rotíferos son, generalmente, numéricamente más abundantes que otros grupos. El género *Brachionus* es pantropical y se encuentra distribuido en la mayoría de los cuerpos de agua de México. Los rotíferos del género *Brachionus*, se utilizan para medir el efecto de diferentes factores, debido a su alta tasa de reproducción y su corto tiempo generacional, ya que son sensibles a los cambios ambientales, incluidos el pH y la temperatura.

Algunas especies de *Brachionus* se han encontrado en cuerpos de agua de gran altitud, donde la temperatura varía de 5 a 30°. El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de la temperatura en las variables de tabla de vida y morfometría utilizando tres intervalos (15, 25 y 35° C) en clones de *Brachionus calyciflorus* provenientes de una región cálida (Río la Antigua, Veracruz) y dos del Distrito Federal (Lago de Aragón, Distrito Federal, Lago Huetzalin, Xochimilco).

Los resultados mostraron una reproducción óptima a 25 ° C, ya que a esta temperatura se obtuvo la mayor tasa intrínseca de incremento poblacional (r). El valor de r varió de 0.14 a 0.90 día⁻¹ dependiendo del tratamiento de temperatura.

Respecto a la morfometría, se presentó una tendencia a la reducción de la longitud de la lóriga conforme se incrementa la temperatura, el largo de los organismos varió entre 230-160 μm , dependiendo de la cepa y la temperatura, el ancho de la loriga y la longitud de las espinas anteriores se mantuvo constante ya que no hubo diferencias significativas en cuanto a la temperatura pero sí fueron diferentes dependiendo del origen del aislamiento. Las diferencias en cuanto al lugar de procedencia, tanto en la morfometría y morfología, como en las variables de tabla de vida, nos indican un probable aislamiento evolutivo y adaptaciones a condiciones locales.

1.1 Abstract

Temperature is an important abiotic factor affecting all metabolic processes including the lifespan and reproduction of all organisms. Zooplankton are an important structural and functional component of aquatic ecosystems. Freshwater zooplankton is composed of Rotifers, cladocerans and copepods. Rotifers are generally numerically more abundant than other groups. The genus *Brachionus* is pantropical and thus is widely distributed in most freshwater ecosystems of Mexico. *Brachionus* is sensitive to changes in the environment including temperature and pH. *Brachionus* spp. are thus widely used to test the effect of different abiotic factors, including temperature because of their short generation time and high reproductive rates. Different species of *Brachionus* are found in high altitude waterbodies of Central Mexico, where water temperatures varies from 5 to 30° C. The aim of this work was to test the effect of temperature intervals (15, 25 and 35° C) on the demography of *B. calyciflorus*, a cosmopolitan species. The test showed optimal reproduction was at 25° C and below and above this temperature, the rate of reproduction (r) was lower. The r varied from 0.14 to 0.90 per day depending on temperature.

Regarding on morphometric responses, we observed a size reduction tendency with the temperature increase. The length of the organisms ranged between 230-160 μm depending on temperature treatment and place of isolation. The lorica width and the length of anterior spines remained constant. Differences in morphometry, morphology and life table variables shown between the clones, indicate a possible evolutionary isolation and adaptation to local conditions.

2. Introducción

Los cuerpos de agua epicontinentales tienen una importancia económica, social, cultural, sanitaria y biológica para el ser humano, incluso, tuvieron un papel fundamental en la fundación y desarrollo de las primeras grandes civilizaciones; desde entonces, la especie humana ha hecho uso del agua, así como de otros recursos acuáticos que proveen. Su observación y estudio han permitido darle usos eficientes como el riego, producción piscícola, transporte, generación de electricidad. Tanta es su importancia que incluso se conocen textos (códices) de limnología prehispánica (Deevey, 1957). Sin embargo, a partir de la Revolución Industrial, el rápido desarrollo económico y crecimiento demográfico acelerado; las actividades humanas han generado transformaciones en estos ecosistemas (Arriaga *et al.*, 2000).

Las alteraciones en los ecosistemas acuáticos incluyen la descarga de contaminantes y sustancias tóxicas, introducción de especies exóticas, modificación en la hidrología de las cuencas (ej: construcción de presas) y aumento en la temperatura,. Estos procesos de degradación de los ecosistemas afectan a las comunidades que habitan en ellas.

Uno de los grupos ecológicos más importantes de los sistemas de agua dulce es el zooplancton, ya que representan el eslabón entre los productores primarios y los niveles tróficos superiores. El zooplancton está constituido principalmente por protozoos, rotíferos y microcrustáceos, como los copépodos y cladóceros (Nogrady *et al.*, 1993).

2.1 Morfología de Rotifera

El phylum Rotifera Cuvier, 1817, comprende un grupo de metazoos pseudocelomados, protostomados, con simetría bilateral y un número constante de células (conocido como eutelia). Generalmente son de vida libre y su tamaño varía desde 40 μm hasta 2 mm

(Nogrady *et al.*, 1993), sin embargo, la gran mayoría de ellos se encuentran en un rango entre las 100 μm y 500 μm (Koste, 1978). Estos invertebrados, conocidos desde el s. XVII, se caracterizan por tener un órgano rotatorio en la parte anterior formado por una corona ciliada usualmente compuesta por dos anillos concéntricos (trocus y cingulum) y una faringe especializada llamada mástax que sirve como mandíbula, éstas dos últimas características son intrínsecas del Filo (Wallace y Snell, 1991). Al observar los movimientos metacrónicos de los cilios de la corona, asemejan dos ruedas moviéndose, y es por ello que el Phylum recibe el nombre de Rotifera (del latín *rota*: rueda y *ferre*: portar), la corona tiene funciones vitales para los rotíferos como la obtención de alimento y locomoción (Wallace y Snell, 1991).

El mástax posee una mandíbula rígida de quitina llamada trophi, constituida de varias partes articuladas y asociadas a la musculatura. Consisten en una parte impar: el fulcrum, con dos ramas (rami), un par de piezas móviles, cada una de las cuales consiste en un soporte (manubrio) y en la parte terminal del manubrio, un diente articulado (uncus) (Margalef, 1983). Este puede ser asimétrico al igual que otras partes corporales de los rotíferos, manifestándose en la natación con una trayectoria helicoidal. Los trophi tienen una importancia taxonómica y ecológica (Nogrady *et al.*, 1993).

De acuerdo con Pennak, 1989, en la clase Monogononta hay siete tipos de trophi, basado en el tamaño y la forma de las piezas que lo constituyen.

Maleado. Unci y mallei están bien desarrollados y funcionales. El uncus tiene de cuatro a siete dientes grandes, el ramus es grande y posee dientes a lo largo del margen interno; éste trabaja moliendo el alimento y se encuentra en representantes de la familia Brachionidae.

Maleoramado. Se encuentra sólo en el orden Flosculariacea. Es parecido al maleado, excepto porque los rami poseen dientes muy fuertes y los unci tienen una serie de dientecillos.

Virgado. Este trophi está especializado para perforar y bombear el fluido de las células vegetales o presas animales. El fulcrum es más largo y las partes del rami son placas anchas trinagulares, el uncus tiene uno o dos dientes. Se encuentran en las familias Gastropodidae, Notommatidae, Synchaetidae y Trichocercidae.

Cardado. Este tipo de trophi sirve para succionar y perforar. El fulcrum y el manubrio son largos, las partes del rami son fuertes con una proyección en la parte basal denominada álula. El uncus es conformado de dientes bastante desarrollados. Se encuentra en representantes de la familia Lindiidae.

Forcipado. Son semejantes a unas pinzas, el fulcrum y el manubrio bien desarrollados. El uncus funciona como mandíbulas y toda la estructura puede ser proyectada hacia fuera para atrapar a la presa. Familia Dicranophoridae.

Incudado. El uncus y el manubrio están muy reducidos mientras que el ramus está bien desarrollado, asemejando una pinza. Familia Asplanchnidae.

Uncinado. El uncus tiene pocos dientes, uno de ella está más desarrollado; con el fulcrum relativamente pequeño. Familia Collotheidae.

Los elementos básicos del trophi se pueden distinguir en cualquier rotífero aunque en los machos, el trophi suele estar reducido en cierto grado o completamente. Después del mástax se encuentra el esófago, estómago y, en la mayoría de las especies, intestino y ano (Wallace y Snell, 1991).

El cuerpo de los rotíferos está cubierto con una cutícula flexible que se extiende sobre la hipodermis, dependiendo del grosor de este integumento, puede formar placas rígidas y a las especies se les denomina “lorigadas” o “ilorigadas” dependiendo de si la poseen o no. La lórica es un sincitio uniforme, gruesa y endurecida en ciertos casos, que cubre el tronco, espinas, apéndices y en algunos casos, el pie. La estructura de la lórica y de sus apéndices son caracteres de importancia taxonómica, ya que es necesario conocer su estructura para la identificación, también proporciona la capacidad de flotación a las especies planctónicas o de defensa frente a sus depredadores como en el caso de *Brachionus calyciflorus* (Wallace y Snell, 1991).

La forma general de los rotíferos suele ser de sacciforme a cilíndrica, ellos están segmentados en cuatro regiones: cabeza, cuello, cuerpo y pie (ver figura 1).

La mayoría de los rotíferos tienen una reproducción rápida (tiempo de generación de 5 días aprox.) y un ciclo de vida corto (aproximadamente de 20 días) por lo cual, presentan una de las tasas intrínsecas de crecimiento más altas entre los metazoos.

El tipo de reproducción varía entre las 3 clases de rotíferos: los Seisonidea se reproducen exclusivamente de manera sexual y los bdelloideos se reproducen únicamente de manera partenogénica; jamás se han observado machos en los bdelloideos. Los monogononta tienen una fase asexual o amíctica que es predominante y una fase sexual o mítica que ocurre ocasionalmente (Welch y Meselson, 2000) (ver fig. 2).

Durante la fase amíctica, se producen únicamente hembras partenogénicas diploides ($2n$) de manera cíclica hasta que se induce la fase sexual por algún estímulo ambiental, de manera que las hembras amícticas comienzan a producir hijas amícticas ($2n$) y míticas (n), estas últimas producirán huevos haploides (n) que, en caso de no ser fertilizados producirá machos (n) y en caso de ser fertilizados por un macho formará huevos de resistencia (Wallace y Snell, 1991). Los cuales poseen paredes gruesas y pueden resistir condiciones adversas y suelen ser transportados por el viento, agua o

animales. Después del período de dormancia, el cual varía dependiendo de la especie, eclosiona una hembra amíctica diploide ($2n$) que entra en la fase asexual del ciclo. Los estímulos que inducen la eclosión de los huevo de resistencia son los cambios en la luz, temperatura, salinidad y concentración de oxígeno; mientras que, los estímulos que inducen la fase sexual es poco conocida, se sabe que en *Asplanchna*, la vitamina E controla el cambio de la reproducción amíctica a mítica (Gilbert, 1980), el fotoperíodo tiene un papel similar en el caso de *Notommata* (Pourriot, 1980), mientras que en el género *Brachionus*, lo que induce la fase sexual es la densidad poblacional (Wallace y Snell, 1991).

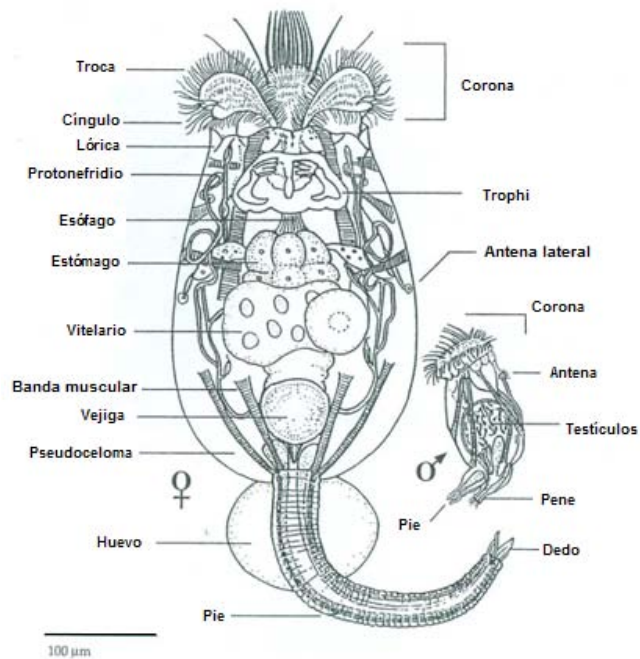


Figura 1. Hembra y macho de *Brachionus* (Wallace y Snell, 1991).

El grupo de los rotíferos se encuentra distribuido ampliamente, encontrándose en la mayoría de los cuerpos de agua dulce, algunas especies en hábitats marinos (50 especies aprox.) y algunas otras, los bdelloideos, se pueden encontrar en líquenes, musgos, hepáticas y suelos húmedos y es representado mayormente por especies

filtradoras, constituyéndose en consumidores primarios y por lo tanto, en base del sustento de otras especies. Los microcrustáceos normalmente constituyen una proporción mayor de la biomasa total del zooplancton sin embargo, los rotíferos pueden ser dominantes en cuerpos de agua urbanos eutrofizados con presencia de peces (Enríquez-García *et al.*, 2009) además, evidencias recientes indican que los rotíferos son componentes esenciales de las cadenas alimentarias planctónicas (Nogrady, 1993). A pesar de su tamaño, contribuyen substancialmente en la producción secundaria de sistemas acuáticos (Wallace y Snell, 1991).

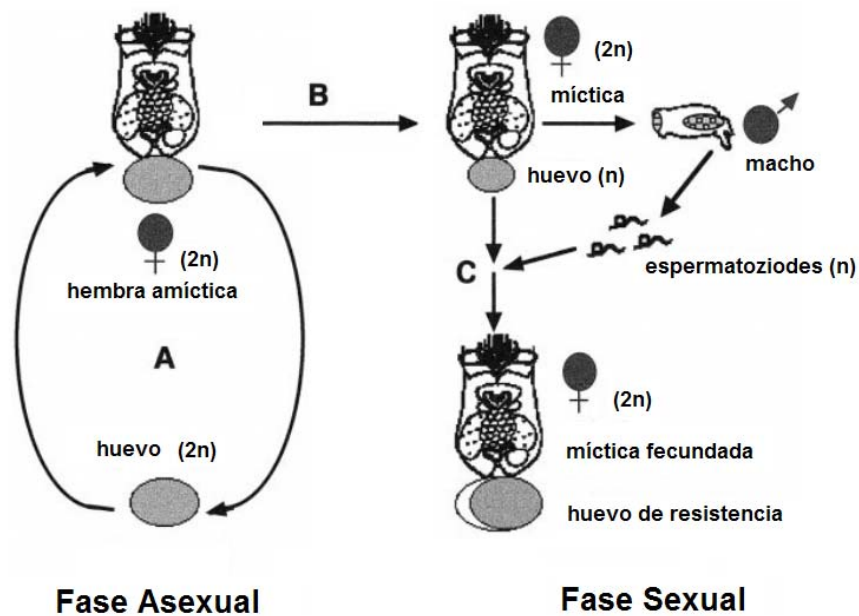


Figura 2. Ciclo de vida de *Brachionus calyciflorus* (Preston *et al.*, 2000).

2.2 Taxonomía

El Phylum está formado por aproximadamente unas 2030 especies (Segers, 2007), de las cuales, más de 300 especies están presentes en México (Sarma *et al.*, 2008). El phylum está dividido en dos órdenes, los Digononta, que comprenden la clase Seisonida (3 especies, marinas) y la Bdelloida (461 especies, exclusivamente asexuales) Segers, 2007 y los Monogononta (1570 especies) que se caracteriza por

tener un solo ovario, un mastax diferente al ramado, y por la presencia o ausencia de lórica. Se conocen a los machos de algunas especies. Se divide en tres órdenes: Ploimida, Flosculariacea y Collothecacea. La clasificación del phylum por Nogrady *et al.* (1993) es la siguiente:

Phylum Rotifera Cuvier, 1817

Clase Digononta

Orden Seisonida

Bdelloida Hudson, 1884

Clase Monogononta Plate, 1889

Orden Collothecacea Haring, 1913

Familia Atrochidae

Familia Collothecidae

Orden Flosculariacea Haring, 1913

Familia Conochilidae

Filinidae

Flosculariidae

Hexarthridae

Testudinellidae

Trochosphaeridae

Orden Ploimida Hudson y Gosse, 1886

Familia ASPLANCHNIDAE

Birgeidae

Brachionidae

Clariidae

Colurellidae

Dicranophoridae

Epiphanidae

Euchlanidae

Gastropodidae

Lecanidae

Lindiidae

Microcodonidae

Mytilinidae

Notommatidae

Proalidae

Synchaetidae

Trichocercidae

Trichotriidae

2.3 *Brachionus calyciflorus*

El rotífero *Brachionus calyciflorus* pertenece a la familia Brachionidae, posee una lóriga sacciforme, flexible, ligeramente aplanado dorsoventralmente, se caracteriza por poseer cuatro espinas anteriores de misma longitud y con bases ensanchadas, las espinas posterolaterales y posteromedias pueden estar presentes o ausentes. Presenta un trophi de tipo maleado (Koste, 1978).

En la actualidad es uno de los organismos de mayor producción en la acuicultura, así como también, extensivamente usado como organismo de bioensayo.

2.4 Distribución de *Brachionus calyciflorus*

Varios trabajos sobre taxonomía de rotíferos mencionan la importancia la familia de Brachionidae en México (Osorio-Tafall, 1942; Serranía-Soto y Sarma, 2003; Serranía-Soto, 2006).

La familia Brachionidae incluye diversos géneros de rotíferos que podemos encontrar comúnmente en los cuerpos de agua de nuestro país, como los del género *Brachionus*. *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766, es un rotífero ampliamente estudiado y con una distribución casi cosmopolita (Segers, 2007) (Fig. 3). En México, *B. calyciflorus* ha sido reportado en los estados de Aguascalientes, Michoacán, Tabasco (Rico-Martínez y Silva-Briano, 1993), Hidalgo, Veracruz (Serranía-Soto y Sarma, 2003), Estado de México (Sarma y Elías-Gutiérrez, 1999), Morelos (Muñoz-Colmenares et al. 2013) y Distrito Federal (Rico-Martínez y Silva-Briano, 1993, Serranía-Soto y Sarma, 2003) (ver Fig. 4). Esta distribución se encuentra delimitada a la región central y del sureste de México, pero el hecho de que no se hayan reportado en el resto del territorio (norte del país) probablemente se deba a que la mayoría de los cuerpos de agua del país se

encuentran en esta región (Alcocer y Bernal-Brooks, 2010) y, por otro lado, refleja que no hay taxónomos o estudios taxonómicos en esa región (Fontaneto *et al.*, 2011).

Segers (2007) menciona que la taxonomía de *B. calyciflorus* es particularmente confusa debido a las numerosas variantes morfológicas que existen, además se tienen algunas propuestas de subespecies (*B. calyciflorus gigantea* Koste y Shiel, 1987, *subespecie inquirenda*) y variantes infrasubespecíficas (*B. ampiceros* (Ehrenberg, 1838 y *B. dorcas* Gosse, 1851), así como sinonimias (*B. gillardi* Hauer, 1966, *B. pala* Ehrenberg, 1839, *B. pala anureiformis* Brehm, 1909), por otro lado, el uso de herramientas moleculares y pruebas de entrecruzamiento han mostrado que en realidad podría tratarse de un complejo de especies (Gilbert y Walsh, 2005).

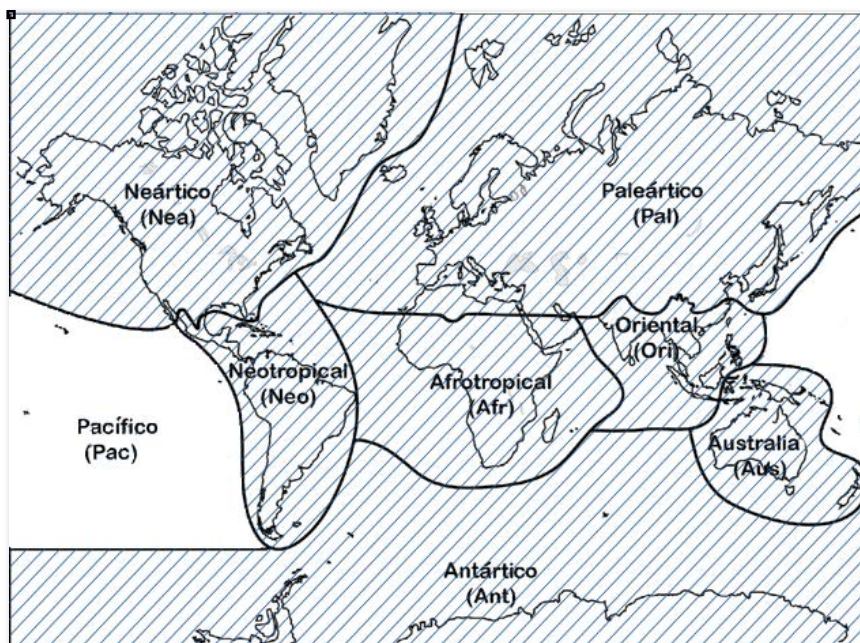


Fig. 3. Distribución mundial de *B. calyciflorus* de acuerdo a Segers (2007).



Fig. 4. Distribución de *B. calyciflorus* en México, los estados marcados hace referencia a donde se ha reportado esta especie (recopilación creada por la autora).

2.5 Revisión sobre estudios realizados con *Brachionus calyciflorus*

B. calyciflorus es uno de los tres rotíferos más usados como alimento vivo en la acuicultura (Lubzens, 1987), por lo que tiene una gran importancia en este aspecto debido a sus características (alto contenido alimenticio, alta tasa de reproducción y facilidad para cultivarlo) (Ludwig, 1994; Sarma, 1991; Awaïss *et al.*, 1996). Por otra parte, este rotífero es utilizado comúnmente como organismo de bioensayo en pruebas toxicológicas (Burbank y Snell, 1994, Sarma, 2000; Sarma *et al.* 2006; Zavala-Aguirre *et al.* 2007; García-García *et al.*, 2007; Alvarado-Flores *et al.*, 2012,) debido a que estos

rotíferos presentan una relación directa entre las condiciones del medio ambiente y su tasa de crecimiento poblacional (Fig. 5).

Sládeček (1983) menciona que los rotíferos son buenos indicadores de saprobiedad o contaminación orgánica (manifestada por DBO₅), él cataloga a *B. calyciflorus* como indicador de beta-mesosaprobiedad y alfa-mesosaprobiedad (condiciones que están relacionadas con la eutrofia).

Ya que las condiciones tróficas y saprobias están relacionadas, Sládeček propuso un índice en el que se utiliza al género *Brachionus*, que típicamente habita aguas eutróficas (con excepción de *B. sericus* que es típicamente acidofílico y *B. plicatilis* que es una especie halófila), y al género *Tricocerca*, que suele encontrarse en sistemas oligotróficos.

Por otra parte, ha sido profundamente estudiada la interacción entre *B. calyciflorus* y el depredador *Asplanchna* (Gilbert y Waage, 1967, Gilbert, 1980a).

Existen también estudios demográficos (Azuara-García *et al.*, 2006), de genética (Serra *et al.*, 2005, Snell *et al.*, 2006), evolución (Gómez *et al.*, 2002), de competencia (Nandini *et al.*, 2002) y alelopáticas (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2010).

Estudios realizados con *Brachionus calyciflorus*

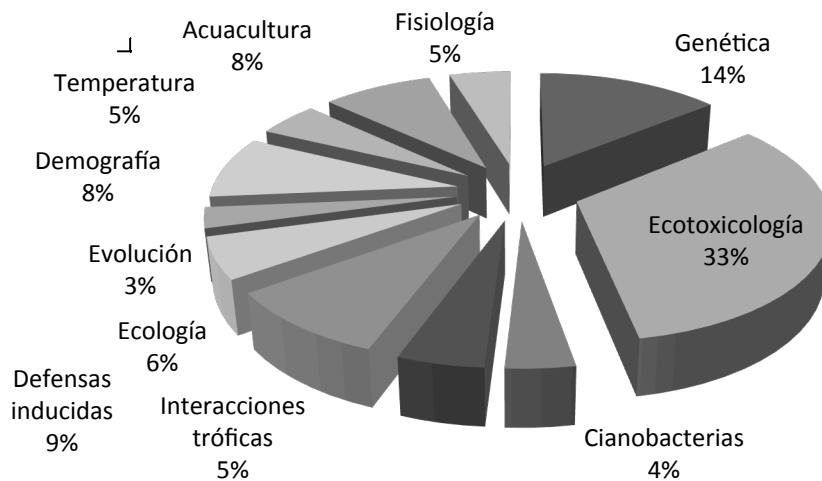


Fig. 5. Porcentaje de los temas de los trabajos publicados sobre *B. calyciflorus* de acuerdo a la Base de Datos Web of Science, de los años 2000 -2013 (recopilación creada por la autora).

2.6 Tablas de vida

Las tablas de vida son una aproximación útil para entender las estrategias de historia de vida y la dinámica poblacional del zooplancton bajo diferentes condiciones ambientales. Los estudios demográficos con tablas de vida pueden proporcionar datos específicos como edad de la primera reproducción, tiempo generacional, mortalidad y fecundidad, sobrevivencia, promedio de vida, etc., que son variables que difícilmente podrían conocerse a través de un estudio en campo y que asimismo nos proporciona una visión de la idoneidad de las condiciones del ambiente (Snell y King, 1977).

A continuación se muestran valores de ciertas variables de historia de vida de algunos rotíferos de diferentes especies y de *Brachionus calyciflorus*, a diferentes temperaturas (Tabla 1).

Tabla 1. Algunas variables demográficas de rotíferos de diferentes especies, sometidos a diferentes temperaturas y alimento (PV = promedio de vida (días), ex =esperanza de vida (días), R =Tasa de Reproducción bruta, R_0 =Tasa de Reproducción neta, T = tiempo generacional, r = tasa de crecimiento poblacional). TE = temperatura ambiental (= 20-25°C)

Especie	PV	ex	R	R_0	T	r	Temp (°C)	Alimento	Ref.
<i>Keratella cochlearis</i>	27.4	27	-	-	16.9	-	5	<i>Stichococcus</i>	Walz, 1983
	22.2	21.8	-	-	13.1	-	10	<i>Stichococcus</i>	"
	15.4	14.9	-	-	8.1	-	15	<i>Stichococcus</i>	"
	9.1	8.8	-	-	5.3	-	20	<i>Stichococcus</i>	"
	6.7	6.3	-	-	3.4	-	25	<i>Stichococcus</i>	"
<i>Brachionus calyciflorus</i>	5.6	5.4	15.6	7	4.2	0.59	23	<i>Chlorella</i>	Sarma et al. 2011
<i>Plationus macracanthus</i>	6.4	6.1	13.6	5.1	5.6	0.32	23	<i>Chlorella</i>	"
<i>Asplanchna brightwellii</i>	4.7	4.2	9.4	7.3	3	0.65	TE	<i>B. calyciflorus</i>	Sarma y Nandini, 2007
	6.8	6.3	16	16	3.7	0.92	TE	<i>P. patulus</i>	"
	6.1	5.6	8.2	6.8	3.3	0.71	TE	<i>A. fissa</i>	"
<i>Anuraeopsis fissa</i>	7.66	-	16.2	6.87	6.31	0.39	23	<i>Chlorella</i>	Azuara-García et al. 2006
<i>Brachionus rubens</i>	8.42	-	44.61	22.87	5.53	0.93	23	<i>Chlorella</i>	"
<i>B. calyciflorus</i>	7.74	-	4.68	3.88	5.58	0.24	15°C	<i>Chlorella</i> + <i>Microcystis</i>	Zhang y Geng, 2012
	8.35	-	4.43	3.67	5.9	0.22	15° C	<i>Chlorella</i> + <i>Microcystis</i>	"
	4.39	-	8.48	7.74	2.28	0.9	25°C	<i>Chlorella</i> + <i>Microcystis</i>	"
	3.64	-	7.59	6.03	2.05	0.88	25°C	<i>Chlorella</i> + <i>Microcystis</i>	"
	3.57	-	6.52	5.16	1.6	1.02	35°C	<i>Chlorella</i> + <i>Microcystis</i>	"
	3.43	-	6.91	5.3	1.54	1.08	35°C	<i>Chlorella</i> + <i>Microcystis</i>	"

Para el caso de *B. calyciflorus* existen reportadas diferentes temperaturas óptimas de crecimiento, de 30 °C (Rico-Martínez y Dodson, 1992) y en otra es de 25°C (Awaïss y Kestemont, 1992), sin embargo, Ma y colaboradores (2010) identificaron que existe una sensibilidad térmica distinta de acuerdo al lugar de origen del cual haya sido aislado el rotífero.

2.7 Efecto de Temperatura

Es conocido que la temperatura controla la velocidad de procesos bioquímicos y tasas metabólicas (Lamkemeyer *et al.*, 2003). Los organismos poiquiloterms (del griego poikilos: variante, therm-: temperatura), como los rotíferos, dependen de la temperatura ambiental en la que se encuentran y se ha visto que ésta tiene efectos en el promedio de vida y la reproducción en estos organismos (Snell y King, 1977, Enesco, 1993).

A pesar de la plasticidad fenotípica que presentan los organismos zooplanctónicos, la temperatura representa un importante factor de selección, ya que la distribución y las estrategias de historia de vida que presentan los organismos tropicales y los templados son altamente específicas (Tabla 2). En la revisión sobre las diferencias entre taxas tropicales y templadas realizada por Sarma y colaboradores (2005), mencionan que una de las estrategias de organismos planctónicos como los cladóceros, es reducir su tiempo de vida pero también su tiempo generacional en especies de aguas tropicales, sin embargo, también suelen presentar menor tamaño lo cual tiene implicaciones en el valor de la concentración umbral de alimento (éste suele ser mayor para especies de menor tamaño) y representa menor potencial reproductivo.

Lansing (1948) sugirió que la prolongación de la duración de la vida que se observaba en rotíferos a bajas temperaturas podría deberse a la baja tasa metabólica, ya que la longevidad es inversamente proporcional a la tasa de la actividad metabólica. Snell y King (1977) mostraron los trade-offs entre reproducción y sobrevivencia de *Asplanchna brightwelli* a tres temperaturas. Ellos

notaron un efecto negativo de la reproducción temprana (causado por altas temperatura) en la longevidad del rotífero.

A pesar de que no se conocen enteramente los mecanismos responsables de la senescencia prematura debido a la reproducción temprana, se sabe que el aumento de la temperatura por arriba del nivel óptimo produce en cladóceros del género *Daphnia* un incremento en la actividad del citocromo c en las mitocondrias, lo cual induce una mayor producción de ATP para satisfacer las necesidades de una elevada locomoción, respiración y actividad del sistema circulatorio, sin embargo este aumento de actividad metabólica se asocia con la disminución de talla y masa corporal de los organismos debido a la utilización de glucosa y lípidos acumulados (Lamkemeyer et al., 2003).

Tabla 2. Sensibilidad térmica del *fitness* o Eficacia biológica de varios taxa de ectotermos (Huey y Berrigan, 2001).

Taxa	para r	para R_0
Ascomycetes	25	23
Rotifera	20	18
Nematoda	20	18.5
Gastropoda	25	25
Polychaeta	24	23.5
Crustacea	20	20
Acarina	27	27
Thysanoptera	27	27
Hemiptera	29	29
Homoptera	23	23
Coleoptera	29	29
Lepidoptera	27	27
Diptera	26	26
Hymenoptera	27	27

Algunos efectos físicos y químicos observables en los cuerpos de agua debido al aumento de la temperatura son: una elevada evaporación, altas tasas de remineralización de la materia orgánica y, por lo tanto, un aumento en la concentración de los nutrientes en el cuerpo de agua, lo cual a su vez, suele propiciar un aumento en la productividad primaria y especialmente, la aparición de

“blooms” o florecimientos cianobacteriales (Søndergaard *et al.* 2003, Mooij *et al.* 2005), los cuales resultan nocivos para algunos organismos del zooplancton; también se prolongan los períodos de estratificación, viéndose reducida la época de mezcla, y una prologada anoxia en el hipolimnion (Paerl y Huisman 2008; Jeppesen *et al.* 2009; Peeters *et al.* 2002).

Algunas consecuencias biológicas evidentes en los cuerpos de agua, han sido la aparición temprana de florecimientos algales (Müller-Navarra *et al.*, 1997), el desacoplamiento de las relaciones tróficas (de Senerpont *et al.*, 2007), los cambios en la composición de las especies, la abundancia de los organismos, así como cambios fenológicos (Woodward *et al.*, 2010), e invasión de especies tropicales en cuerpos de agua templados (Sarma *et al.*, 2005), que afectan principalmente a las poblaciones zooplanctónicas.

Debido a que la temperatura regula procesos físicos, químicos y biológicos de los cuerpos de agua, la temperatura tiene repercusiones a niveles ecológicos y fisiológicos (Pettersen *et al.*, 2003), por lo que resulta importante conocer las implicaciones que podrían tener las fluctuaciones en la temperatura sobre la biota de los cuerpos de agua dulce.

3. Antecedentes

Martínez-Jerónimo y Ventura-López (2011) reportan que, a bajas temperaturas se observan las máximas longevidades del cladóceros *Ceriodaphnia rigaudi*, no obstante, la edad de la primera reproducción y la fecundidad se ven afectadas negativamente; y que, independientemente del alimento que recibían, las mejores respuestas reproductivas se obtuvieron a altas temperaturas.

Sorin y Kyungho (2012) investigaron las condiciones óptimas de cultivo (temperatura, calidad del agua y densidad de alimento) de *Moina macrocopa* y lo evaluaron con las respuestas de historia de vida. En cuando a la temperatura, observaron que el nivel óptimo para esta población era de 25° C.

Ma *et al.*, (2010) realizaron un estudio del efecto de la temperatura en *B. calyciflorus* de 8 regiones distintas de China y observaron que la temperatura, la región geográfica y la interacción de ambas tuvieron un efecto significativo en las variables de historia de vida como esperanza de vida, tiempo generacional, tasa de reproducción neta y tasa intrínseca de crecimiento poblacional.

Sun y Niu (2012) encontraron que el tamaño de huevo y el tamaño corporal de *Brachionus calyciflorus* tenían una relación inversa con la temperatura y que los neonatos procedentes de huevos grandes (inducidos por una baja temperatura, 13°C) eran más resistentes a la inanición a tres diferentes temperaturas. La tabla de vida mostró que los rotíferos que provenían de huevos más grandes mostraron una tasa de crecimiento poblacional mayor y un periodo juvenil más corto que los que procedían de huevos pequeños, lo cual atribuyen a un efecto maternal “anticipador”, a través de una mejor calidad nutricional del huevo. Las diferencias en tasa de crecimiento se deben a una mayor fertilidad durante los primeros 2 días después de la maduración.

Kauler y Hildegard (2011) investigaron el efecto de la temperatura en la longevidad y parámetros de la historia de vida de *Brachionus calyciflorus*. Ellos observaron una prolongación de la etapa pre-reproductiva y periodos reproductivos a bajas temperaturas, y a su vez, en organismos con largos periodos reproductivos tuvieron una mayor fecundidad, sin embargo, la tasa reproductiva fue significativamente menor en estos rotíferos.

Xiang *et al.* (2010), observaron que existe una respuesta diferencial (tanto morfológica como de variables de historia de vida) entre dos morfotipos de *Brachionus calyciflorus* ante un gradiente de temperaturas.

4. Justificación

La mayoría de los trabajos están relacionados solamente con una población de una especie zooplanctónica, sin embargo, en un país tan grande y diverso como México, existen gradientes de diferentes condiciones ambientales y climáticas (ej., temperatura, precipitación, altitud) tan marcados que no es apropiado extrapolar trabajos basados únicamente en una población, ya que es sabido que incluso pueden existir grandes diferencias respecto a las poblaciones de una misma especie que habita en diferentes cuerpos de agua.

En el presente estudio se utilizó a *B. calyciflorus*, como representante de los uno de los grupos más comunes en cuerpos de agua dulce en México: Rotífera. Además, los organismos que se utilizarán para este trabajo serán organismos colectados en cuerpos de agua con diferentes condiciones ambientales, de altitud y temperatura, para comparar los efectos del aumento y disminución de la temperatura en la historia de vida de estos dos grupos de organismos. Considerando que las poblaciones utilizadas de *B. calyciflorus* viven en sitios con condiciones distintas, entonces el aumento de la temperatura producirá una respuesta común pero con diferencias entre los clones, sobre las características demográficas.

5. Objetivos

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la temperatura sobre las variables demográficas entre tres cepas diferentes de *Brachionus calyciflorus*. Provenientes del río La Antigua en Veracruz, El Lago de Aragón y el Lago Huetzalin en Xochimilco.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar una colecta de zooplancton en varios cuerpos de agua y en diferentes localidades, revisar las muestras e identificar los organismos.
- Aislar los organismos de la especie *Brachionus calyciflorus* y cultivarlos en condiciones de laboratorio.
- Sembrar *Chlorella vulgaris* en condiciones de laboratorio para su utilización como alimento de *B. calyciflorus*.
- Realizar experimentos de tabla de vida con las 3 poblaciones geográficas de *B. calyciflorus* cultivados a tres temperaturas, con la cohorte inicial y una cohorte aclimatada.
- Cuantificar las tasas de sobrevivencia y de reproducción (bruta y neta) de las 3 poblaciones geográficas de *B. calyciflorus* cultivados a 15, 25 y 35 °C.
- Calcular las variables demográficas de tiempo generacional, tasa intrínseca de incremento poblacional de *B. calyciflorus* cultivados a 15, 25 y 35 °C.
- Realizar una comparación morfométrica (largo, ancho, espinas anteriores y posteriores) de *B. calyciflorus* sometidos a las tres temperaturas.
- Realizar un mapa de distribución geográfica de *B. calyciflorus* en México, a partir de una recopilación bibliográfica.
- Realizar una recopilación de artículos publicados relacionados con *B. calyciflorus* en la base de datos *Web of Science* de los años 2000-2013.

6. Materiales y Métodos

En el presente trabajo se utilizaron tres poblaciones del rotífero *Brachionus calyciflorus* Pallas fueron aislados de tres localidades (Lago de Aragón (México, D.F.), Lago Huetzalin (México, D.F.) y Río de La Antigua (Veracruz). Para alimentar a estos rotíferos se utilizó la microalga *Chlorella vulgaris* (cepa CL-V-3, registrada en CICESE, Ensenada) con una densidad de 1.0×10^6 células por mililitro. A continuación se presenta la información detallada del cultivo de rotíferos y microalga:

6.1 Cultivo de la microalga

El alga *Chlorella vulgaris* se cultivó en lotes de botellas transparentes de dos litros con medio basal Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1988) con pH de 7.5, enriquecido cada tercer día con 0.5 g de bicarbonato de sodio, bajo iluminación fluorescente (2000 lux) y aireación continuas, a una temperatura de $21 \pm 1^\circ \text{C}$.

El inóculo inicial del alga fue entre 0.5×10^6 y 1.0×10^6 células por mililitro, los cultivos se dejaron crecer hasta que alcanzaron su fase exponencial (aproximadamente 25.0×10^6 células por mililitro) lo cual ocurrió en un intervalo de 7 y 10 días. El alga fue cosechada y se retiraron los cultivos de la iluminación y la aireación. Se colocaron en obscuridad y refrigeración a $4 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 3-5 días para permitir la sedimentación de las células. Se desechó el medio sobrenadante por decantación con el fin de eliminar los nutrimentos no utilizados del medio Bold.

Una vez cosechada y concentrada el alga, se realizó una dilución 1/ 100 v/v para contabilizar las células por medio de un hematocitómetro, bajo un microscopio óptico. Una vez determinada la concentración del alga (células/mililitro) se realizaron las diluciones pertinentes (y 1.0×10^6 células por mililitro) con medio de dureza moderada (medio EPA) con el fin de preparar el medio para alimentar a los rotíferos. Este medio de EPA (US Environmental Protection Agency) fue preparado

diariamente disolviendo 0.09 g de NaHCO₃, 0.06 g de CaSO₄, 0.06 g de MgSO₄ y 0.002 g de KCl en 1 L de agua destilada con pH 6.9.

6.2 Colecta e identificación de Rotíferos

Los rotíferos de la especie *B. calyciflorus* que fueron utilizados en este estudio, fueron obtenidos del lago Huetzalin, Xochimilco, Distrito Federal (19° 15' 47" N, 99° 06' 11" W) durante el mes de diciembre de 2012 y fueron colectado a 17° C; del lago de Aragón, Distrito Federal (19° 27' 29.21" N, 99° 4' 9.09" W), en el mes de abril de 2013 a una temperatura de 23° C y del Río la Antigua, Veracruz, en el mes de marzo de 2013 a una temperatura de 25 ° C.

Para las muestras zooplanctónicas, se filtraron 30-50 litros del agua del lago o río con una red cónica de zooplancton de 45µm de abertura de malla y se midieron algunos parámetros fisicoquímicos como temperatura y oxígeno disuelto del lugar. La muestra viva fue concentrada en un volumen de 1 L en botellas de plástico transparentes de 1.5 L de capacidad para ser transportadas al laboratorio.

Los organismos colectados en campo fueron identificados con claves taxonómicas especializadas para rotíferos (Koste, 1978) bajo un microscopio óptico y posteriormente se iniciaron los cultivos en el laboratorio a partir de una hembra partenogenética.

6.3 Cultivo de Rotíferos

Los cultivos de *B. calyciflorus* Pallas de cada localidad se iniciaron aislando un sólo individuo (hembra partenogenética) con huevos amícticos con la ayuda de un microscopio estereoscópico y una pipeta Pasteur modificada. La hembra partenogenética fue transferida inicialmente a un vaso de 50 ml de capacidad con 10 ml de medio preparado (medio EPA + *C. vulgaris* (0.5 x10⁶ células mililitro⁻¹), cada tercer día se fue renovando el medio y duplicando el volumen con la finalidad de mantener una población saludable.

Los cultivos se mantuvieron a temperatura constante de $21 \pm 1^\circ \text{C}$, una concentración de oxígeno disuelto entre 7 y 8 mg L^{-1} y un pH entre 7.0 y 7.5. Cuando se obtuvo una densidad de 2.5 individuos/ mililitro, se duplicó el alimento a 1×10^6 células mililitro⁻¹, y al llegar a una densidad poblacional de 10 individuos/ mililitro en contenedores de 1 L, se utilizaron las hembras para los experimentos de tabla de vida. El mismo procedimiento fue empleado para las tres poblaciones de *B. calyciflorus*.

6.4 Experimento de Tabla de Vida

Para llevar a cabo los experimentos de tabla de vida de *Brachionus calyciflorus*, se separaron hembras partenogénicas con huevos amícticos de los cultivos. Las hembras se colocaron al azar en incubadoras de 15, 25 y 35 ° C. Después de 10-12 horas, se colectaron únicamente los neonatos y se separaron de las hembras adultas usando una malla de 80 micrometros y bajo un microscopio estereoscópico. Se colocaron 10 de estos neonatos en un vaso de 50 ml de capacidad, con un volumen de 20 ml de medio EPA + *Chlorella vulgaris* (1.0×10^6 céls. mL^{-1}).

Se realizaron conteos individuales para cada uno de los tratamientos con intervalos de 12 horas y se cuantificó el número de individuos adultos vivos (de la cohorte inicial) y el número de neonatos. Sólo los individuos sobrevivientes contados de la cohorte inicial se regresaron a la población original, mientras que los neonatos y adultos muertos fueron fijados en formol al 4% por separado para su medición. Se utilizó la primera cohorte de neonatos para establecer el segundo experimento (la primera generación). Cada tratamiento de temperatura (15° C, 25°C y 35°C) se realizó con cuatro replicas.

El cambio del medio con el alga se realizó diariamente con el fin de renovar y mantener constante durante todo el experimento la concentración de alimento. El experimento terminó cuando murió el último individuo de la cohorte original.

Con los datos de la tabla de vida se obtuvo:

- a) Curvas de sobrevivencia (l_x)
- b) Curvas de esperanza de vida (e_x) (días)
- B. Variables reproductivas
 - a) Fecundidad (m_x) (neonatos hembra⁻¹)
 - b) Tasa reproductiva bruta (neonatos hembra⁻¹)
 - c) Tasa reproductiva neta (R_o) (neonatos hembra⁻¹)
 - d) Tiempo generacional (T) (días)
 - e) Tasa intrínseca de incremento poblacional (r)

Se usaron los métodos demográficos estandarizados de tabla de vida (Krebs, 1985). Las formulas utilizadas fueron las siguientes:

a) Sobrevivencia $l_x = \frac{N_x}{N_o}$

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

c) Tasa Reproductiva bruta $= \sum_0^{\infty} m_x$

d) Tasa Reproductiva neta $R_o = \sum l_x m_x$

e) Tiempo generacional $T = \frac{\sum l_x m_x x}{R_o}$

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

Euler).

Se graficaron las curvas sobrevivencia a edad específica, esperanza de vida a edad específica, tasa de reproducción bruta y distribución de edad estable, valor reproductivo V_x y valor reproductivo residual V_x^* .

Cada variable fue comparada con una prueba de análisis de varianza (ANDEVA) de tres vías para conocer si existen diferencias significativas entre las variables demográficas. Las comparaciones múltiples se realizarán con pruebas de post hoc (Tukey) con el software Sigma Plot 11.0.

6.5 Análisis morfométrico

Para la el análisis morfométrico se llevaron a cabo mediciones de 30 individuos de los experimentos de tabla de vida (neonatos y hembras adultas muertas que se retiraban de los experimentos). Los organismos se fijaron en una solución de formal al 4% en tubos Eppendorf, separadamente. Posteriormente se les midió con la ayuda de un microscopio óptico y cámara clara. Las mediciones que se tomaron a consideración fueron: largo de loriga, ancho de loriga, espinas anteriores y espinas posterolaterales.

Con los resultados de las mediciones se realizó un análisis de varianza de dos vías y una prueba post hoc.

7. Resultados

Respecto a la morfometría de los tres clones de *B. calyciflorus*, el largo y ancho de todos los organismos medidos presentan una correlación lineal positiva estadísticamente significativa, en los casos de los rotíferos procedentes de Aragón y Xochimilco presentaron una mayor longitud en el largo que en el ancho, mientras que en la cepa de La Antigua, la longitud mantiene un valor similar al ancho de los organismos (Figs. 6, 7).

El largo y ancho de los organismos cultivados a 15 °C varió entre 160-190 µm y 125-190 respectivamente, dependiendo de la cepa; a 25 °C el largo y ancho de los organismos se encontró entre los rangos de 125-165 µm (Fig. 8, 9).

Para las hembras adultas hubo un diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$, Tablas 3, 4, 5 y 6) entre el lugar de aislamiento de los rotíferos y la temperatura a la que fueron cultivados, así como su interacción, con respecto al largo, ancho de lóriga y espinas posterolaterales, con excepción de las espinas anteriores y la temperatura ($p > 0.05$) (tabla 5).

Para los neonatos, ancho, significativo, espinas anteriores y posteriores con respecto localidad y con la interacción entre localidad y temperatura ($P < 0.001$) (Tablas 8,9 y 10). Sin embargo, la longitud de la lóriga con respecto a la localidad y la temperatura (Tabla 7), ancho y las espinas posterolaterales de la lóriga con la temperatura no fueron significativos (Tabla 8).

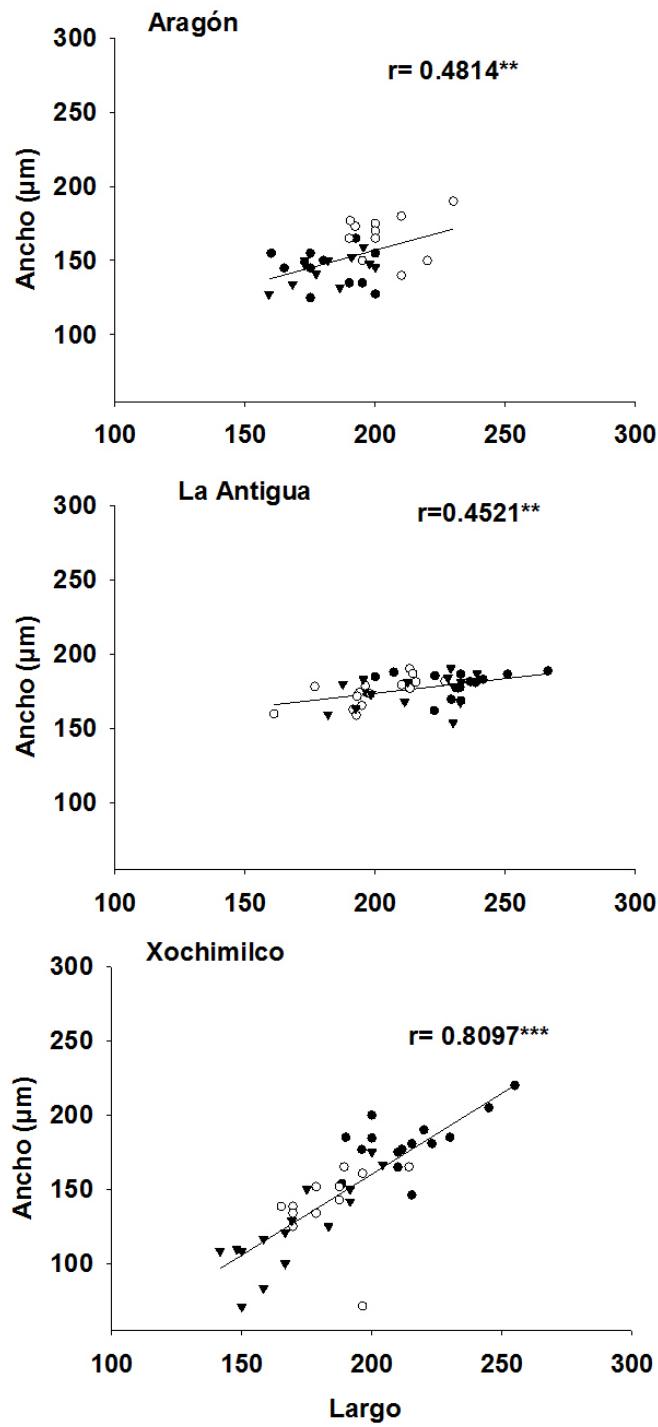


Figura 6. Relación largo-ancho de la lóriga de hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* provenientes de Aragón, Xochimilco y La Antigua cultivados a 15 °C (círculo oscuro), 25 °C (círculo claro) y 35 °C (triángulo). (** = $P \leq 0.01$, *** = $P \leq 0.001$)

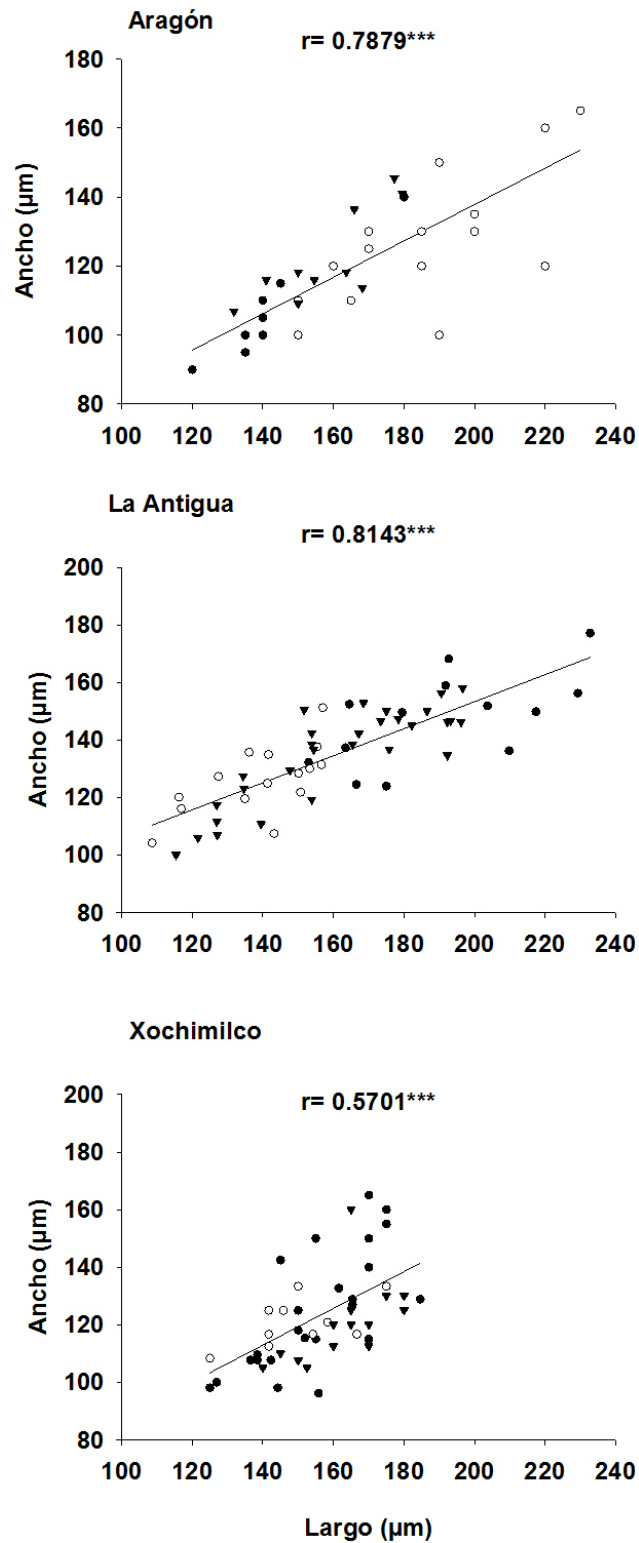


Figura 7. Relación largo-ancho de la lóriga de neonatos de *B. calyciflorus* provenientes de Aragón, Xochimilco y La Antigua cultivados a 15 °C (círculo oscuro), 25 °C (círculo claro) y 35°C (triángulo). Nótese la diferencia de escalas.

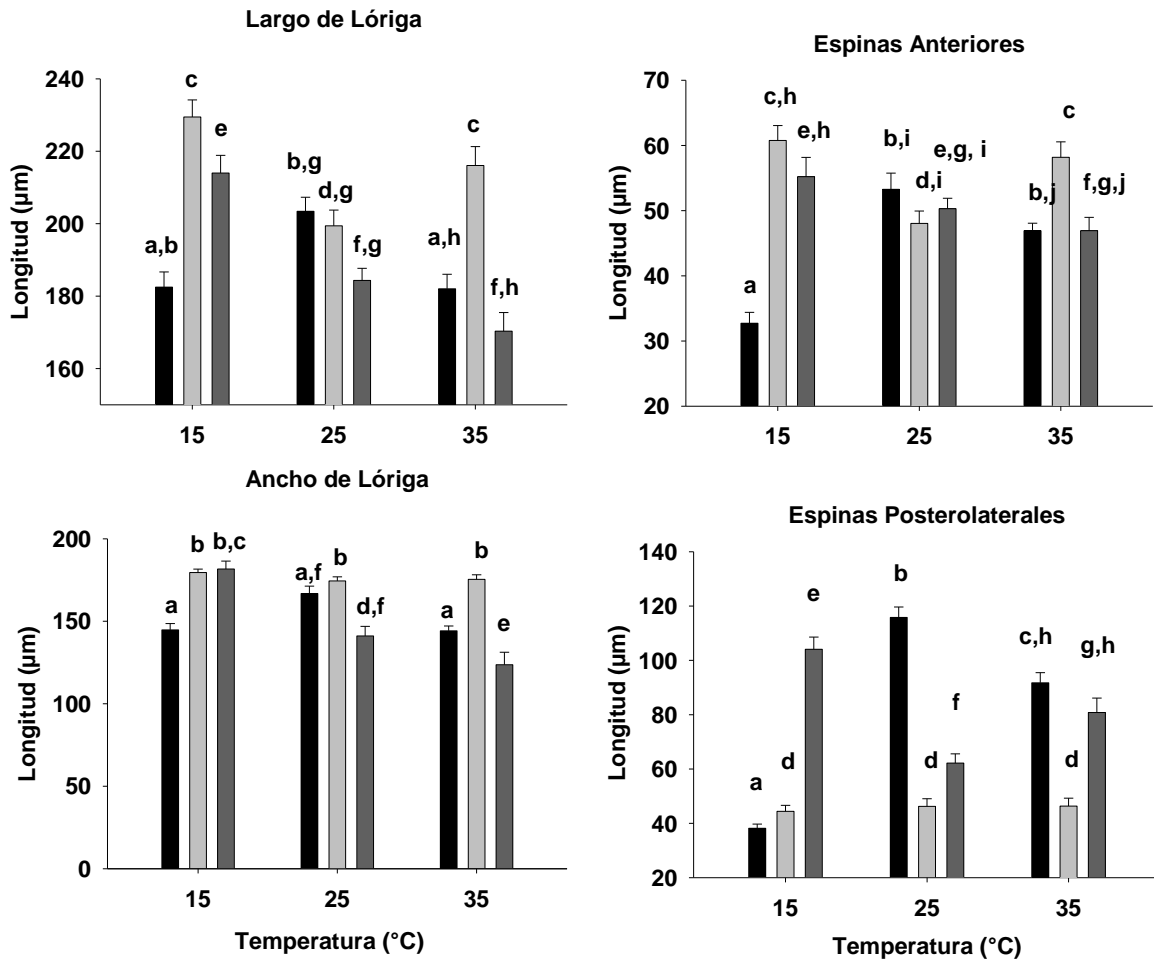


Figura 8. La gráfica muestra el promedio y \pm el error estándar de las mediciones de largo y ancho de la loriga, espinas anteriores y espinas posterolaterales de hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* provenientes de Argón, La Antigua y Xochimilco, (barras oscuras, claras e intermedias, respectivamente) cultivados a 15 °C, 25 °C y 35°C.

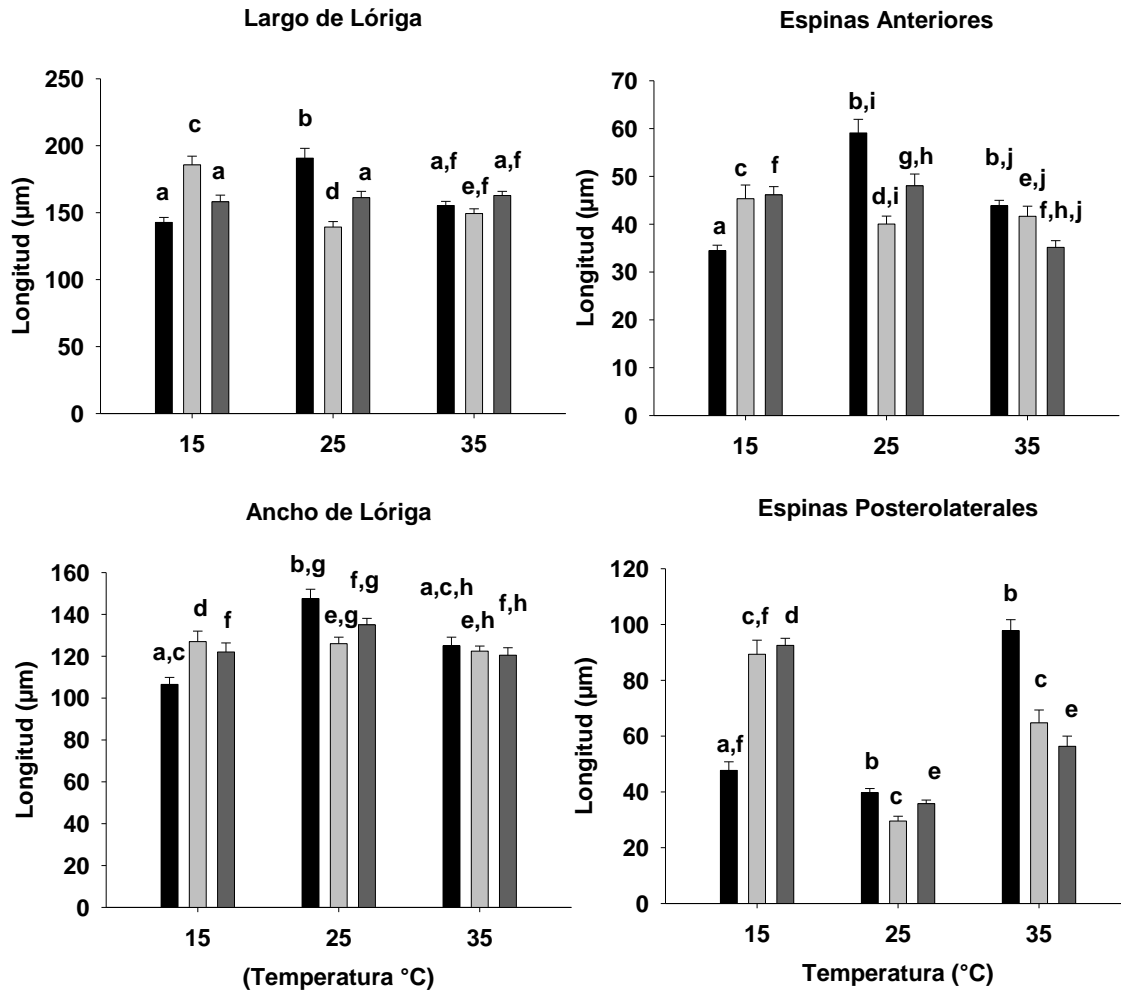


Figura 9. La gráfica muestra el promedio y \pm el error estándar de las mediciones de largo y ancho de la loriga, espinas anteriores y espinas posterolaterales de neonatos de *B. calyciflorus* provenientes de Argón, La Antigua y Xochimilco, (barras oscuras, claras e intermedias, respectivamente) cultivados a 15 °C, 25 °C y 35 °C.

Tabla 3. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado entre la longitud de lóriga de hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	20241.05	10120.52	32.69	<0.001
Temperatura (T)	2	7758.21	3879.10	12.53	<0.001
L X T	4	13835.59	3458.89	11.17	<0.001
Error	118	36524.92	309.53		

Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado entre el ancho de lóriga de hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	22297.519	11148.759	33.526	<0.001
Temperatura (T)	2	9097.649	4548.824	13.679	<0.001
L X T	4	17748.295	4437.074	13.343	<0.001
Error	118	39239.294	332.536		

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado para las espinas anteriores hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	2728.97	1364.48	19.61	<0.001
Temperatura (T)	2	24.71	12.35	0.17	0.837
L X T	4	4388.65	1097.16	15.77	<0.001
Error	118	8209.45	69.57		

Tabla 6. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado para las espinas posterolaterales de hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	36378.78	18189.39	88.60	<0.001
Temperatura (T)	2	2931.57	1465.78	7.14	0.001
L X T	4	44558.67	11139.66	54.26	<0.001
Error	118	24223.35	205.28		

Tabla 7. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado entre la longitud de lóriga de neonatos hembras de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	1710.03	855.01	2.27	0.107
Temperatura (T)	2	1232.53	616.26	1.63	0.198
L X T	4	32133.05	8033.26	21.33	<0.001
Error	140	52710.38	376.5		

Tabla 8. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado entre el ancho de lóriga de neonatos hembras de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	7835.15	3917.57	15.55	<0.001
Temperatura (T)	2	110.81	55.4	0.22	0.803
L X T	4	6385.65	1596.41	6.34	<0.001
Error	140	35249.44	251.78		

Tabla 9. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado para las espinas anteriores hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	2142.85	1071.42	13.92	<0.001
Temperatura (T)	2	870.55	435.27	5.65	0.004
L X T	4	3455.47	863.86	11.22	<0.001
Error	140	10773.11	76.95		

Tabla 10. Resultados del análisis de varianza de dos vías realizado para las espinas posterolaterales de hembras adultas amícticas de *B. calyciflorus* en relación con la localidad y temperatura. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Localidad (L)	2	49886.37	24943.18	138.96	<0.001
Temperatura (T)	2	777.23	388.61	2.16	0.119
L X T	4	34275.55	8568.88	47.73	<0.001
Error	140	25129.64	179.49		

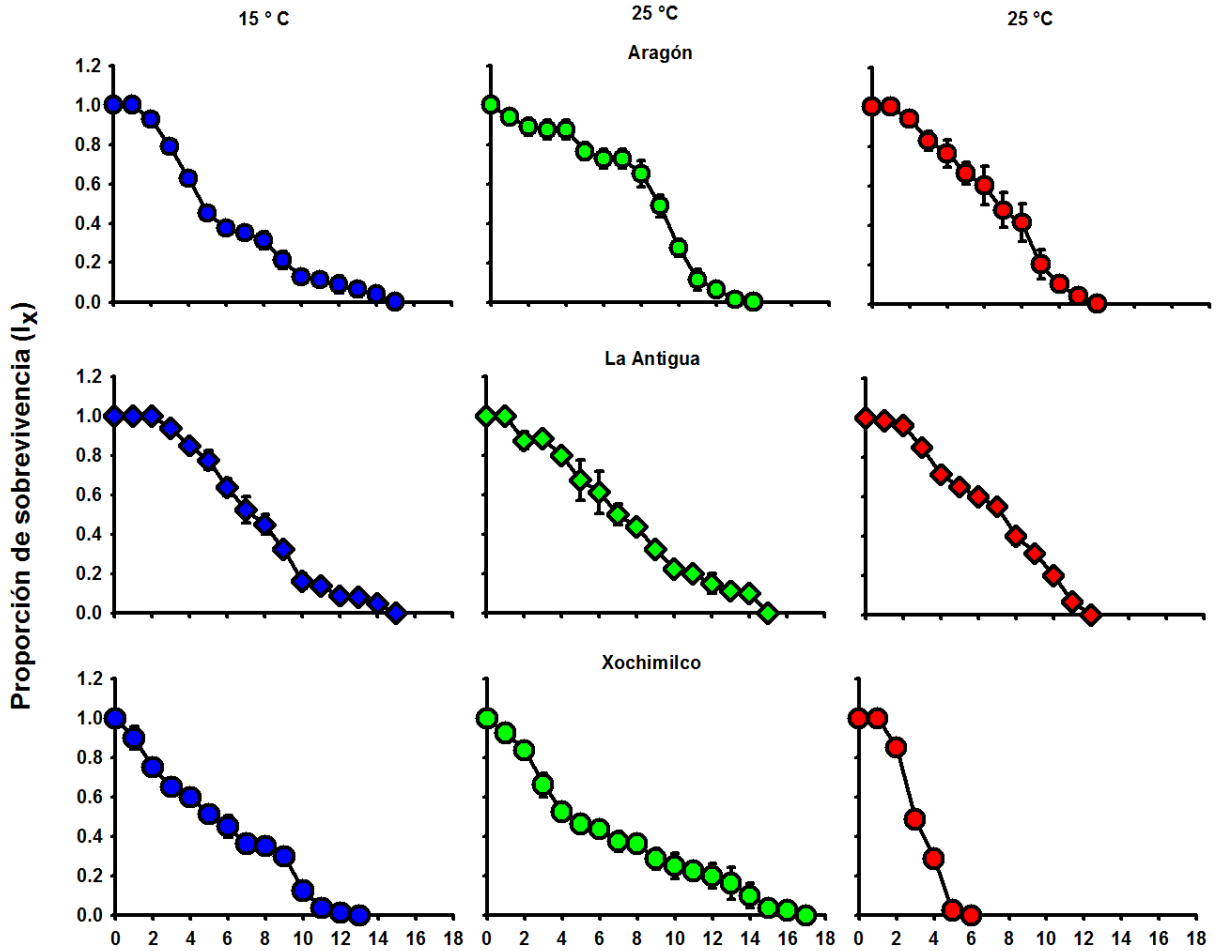


Fig. 10. Curvas de sobrevivencia de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25°C y 35°C) provenientes de Xochimilco, Lago de Aragón y La Antigua. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

Respecto a la sobrevivencia, los *B. calyciflorus* provenientes del río La Antigua, tuvieron la mayor sobrevivencia a las tres temperaturas, mientras que los rotíferos provenientes de Xochimilco (colectados a 17°C) tuvieron la menor sobrevivencia a 35°C; mientras tanto, en el tratamiento de 25°C, los tres clones presentaron una sobrevivencia alta (Fig. 10).

La curva de sobrevivencia a edad específica de Bc aislado de tres diferentes lugares se observa en la figura 1. Con respecto a la temperatura, independientemente del origen de la cepa, un incremento de la temperatura,

causó una disminución de la sobrevivencia. La raza de Xochimilco no sobrevivió más que una semana a 35°C, por otro lado, la misma raza sobrevivió 15 días a 15°C o 25°C. Independientemente de la raza, los rotíferos cultivados a 25°C mostraron una mejor sobrevivencia que a otras temperaturas. A 15°C de temperatura, la cepa de La Antigua muestra una mejor sobrevivencia, por otro lado, la raza de Aragón a 25°C, tenía la menor mortalidad en la primera semana. Independientemente de la raza y la temperatura, *B. calyciflorus* en este trabajo no mostró las curvas de sobrevivencia de forma rectangular. A 15°C, *B. calyciflorus* aislado de Aragón, mostró una mortalidad pronunciada (steep fall) durante la primera semana, después la mortalidad fue gradual.

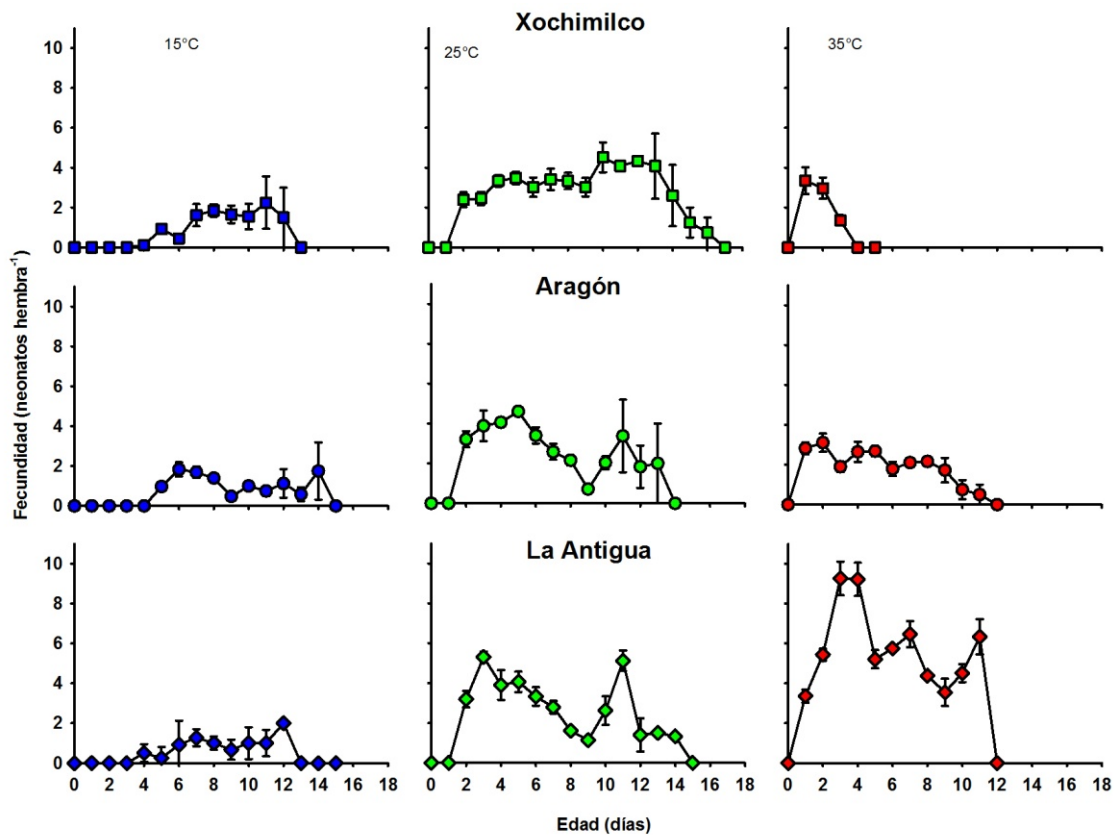


Fig. 11. Curvas de fecundidad de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25°C y 35°C) provenientes de Xochimilco, Lago de Aragón y La Antigua. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

La fecundidad fue mayor para los tres clones en el tratamiento de 25°C y menor a la temperatura de 15°C, sin embargo, a 35°C cada clon tuvo un comportamiento diferente. Los *B. calyciflorus* provenientes de Xochimilco tuvieron una fecundidad relativamente alta pero esporádica, mientras que los provenientes del lago de Aragón y el río La Antigua, tuvieron tres picos en la fecundidad, siendo esta última la que mayor fecundidad presentó (Fig. 11).

La curva de fecundidad a edad específica de *B. calyciflorus* aislados de tres cuerpos de agua, mostraron una tendencia a mayor temperatura. A 15°C, la reproducción de *B. calyciflorus* de las tres razas fue menor en los primeros 4 días (1 ind. por hembra) durante la primera semana y después fue de 2 ind. hembra⁻¹ alcanzando un pico al valor de 2 ind. hembra⁻¹.

A 25°C, la reproducción de la población de Xochimilco tuvo una curva simulando una distribución normal, mientras que los *B. calyciflorus* provenientes de Aragón y La Antigua, mostraron picos y decrementos en la reproducción.

A 35°C, el patrón de reproducción varió fuertemente entre las tres razas; la raza de Xochimilco, tuvo sólo un pico, durante los 2-3 días de edad, después comenzó a disminuir la reproducción. Por otro lado, la raza de Aragón, continuó con la reproducción de alrededor de 2 descendientes por días por 10 días. La raza de antigua tuvo alta tasa de reproducción casi 8 neonatos por hembra por día. Pero, con tres picos antes del cese de la reproducción.

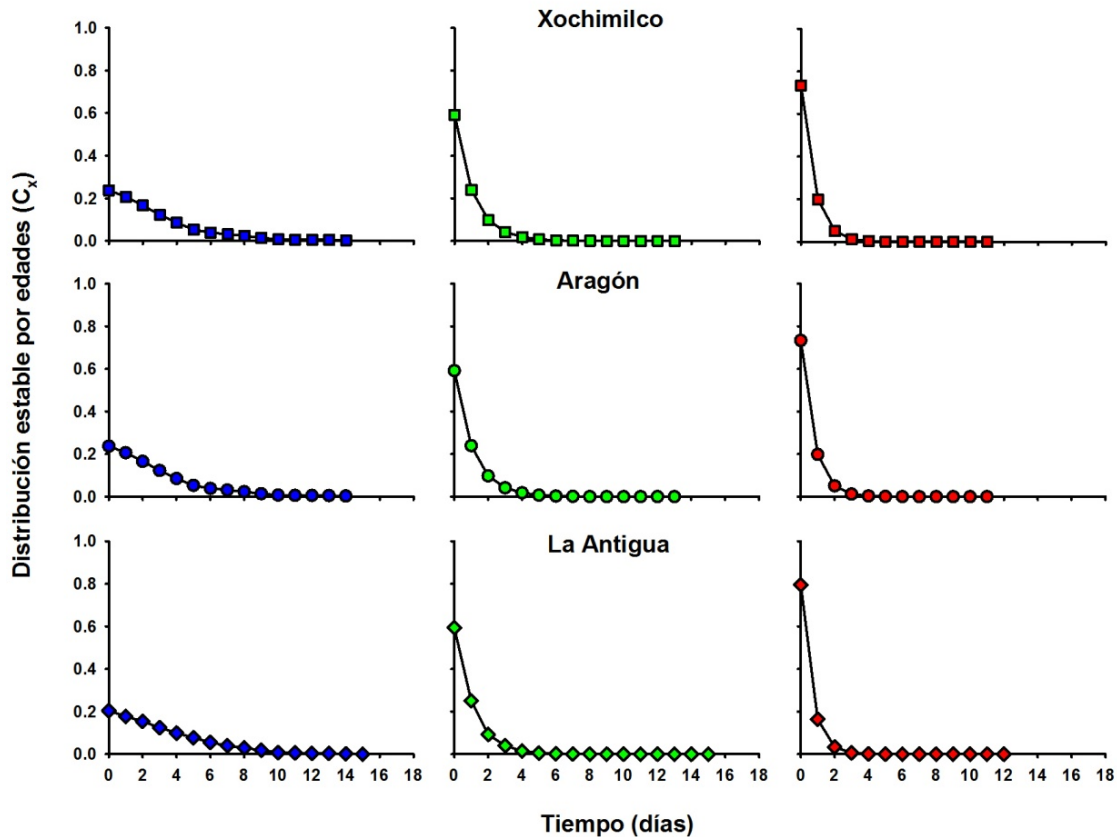


Fig. 12. Curvas de distribución estable por edades de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Xochimilco, Lago de Aragón y La Antigua. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

Los datos de la distribución estable por edades de *B. calyciflorus* aislado de tres diferentes cuerpos de agua, se muestra en la figura 4.

En cuanto a la distribución estable por edades (C_x), podemos observar que en los tratamientos de 35°C, se trata de poblaciones que se encuentran en crecimiento, debido a la alta proporción de individuos con poca edad y, que por lo tanto se encuentran en la edad reproductiva. Mientras que los *B. calyciflorus* sometidos al tratamiento de 15°C, presenta curvas poco pronunciadas, por lo que la proporción de hembras de poca edad (con alto valor reproductivo). La población de 25 y 35°C alcanzan la edad estable muy rápido (en una semana) (Fig. 12).

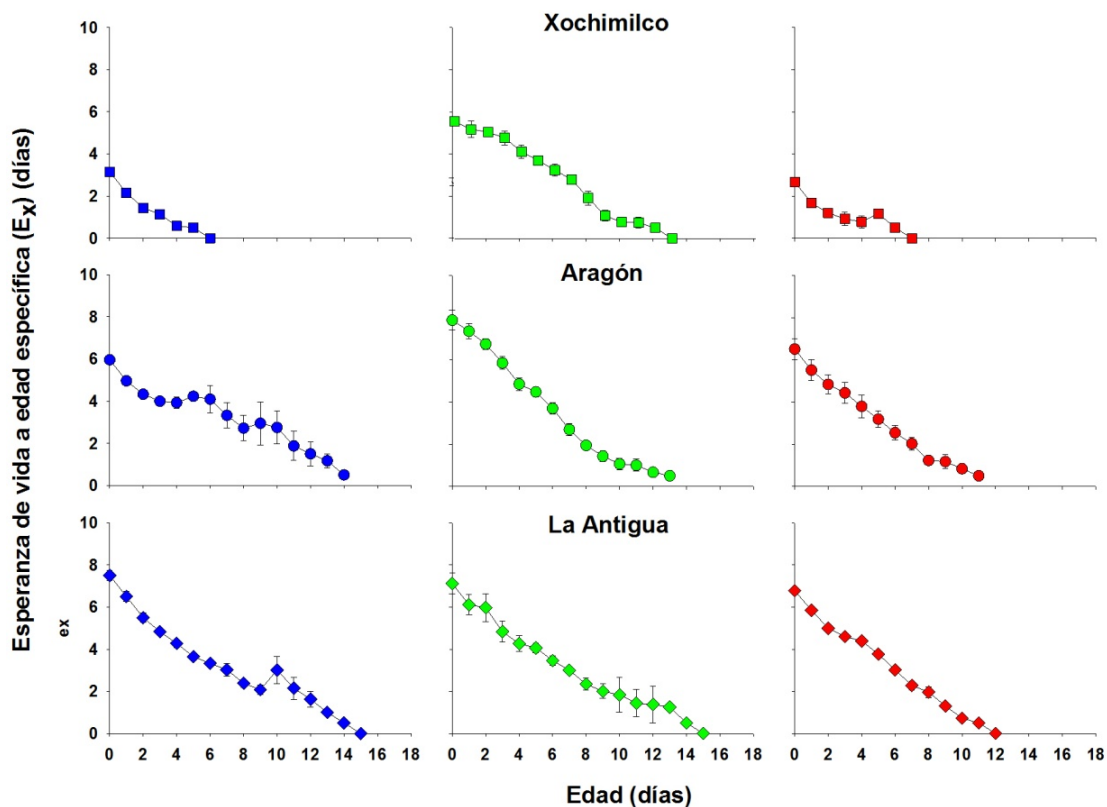


Fig. 13. Curvas de esperanza de vida de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Xochimilco, Lago de Aragón y La Antigua. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

La mayor esperanza de vida la tuvo el clon proveniente del río La Antigua, a las tres temperaturas, seguido por los tratamientos de 25°C, después los de 15°C tuvieron una esperanza de vida intermedia y para 35°C, los clones provenientes de Xochimilco y Aragón, tuvieron la más baja esperanza de vida (Fig.13). Independientemente de la temperatura y la raza, las curvas de esperanza de vida tuvieron una tendencia a disminuir conforme va aumentando la edad.

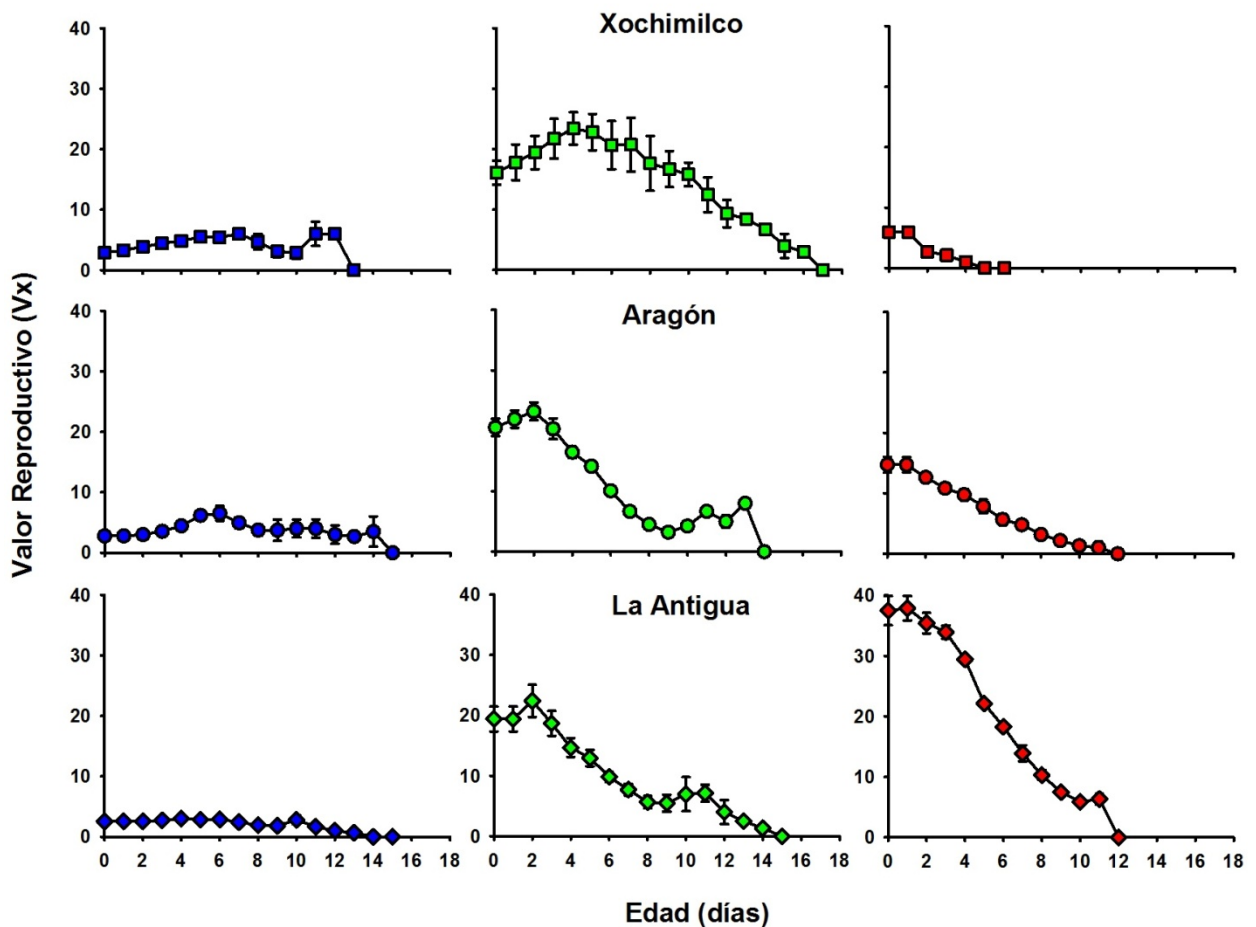


Fig. 14. Curvas de valor reproductivo de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Xochimilco, Lago de Aragón y La Antigua. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

Las curvas del valor reproductivo (V_x) de los tres clones, fue mayor en el tratamiento de 25°C, por lo que ésta sería la temperatura óptima para el cultivo de estos organismos. Mientras que el valor más bajo se presentó en los tratamientos de 15°C, y en el caso del tratamiento de 35°C, los tres clones mostraron un comportamiento diferente ante esta temperatura; en el caso de los *B. calyciflorus* provenientes de Xochimilco, su valor reproductivo fue bajo, en el caso de los rotíferos colectados en el lago Aragón, el valor reproductivo fue mayor y el valor reproductivo más alto fue en los rotíferos del río La Antigua (Figs. 14).

Los datos de los valores reproductivos con respecto a la edad específica de *B. calyciflorus* se ha presentado en la figura 15. Las curvas del valor reproductivo residual (V_x^*) de tres clones bajo diferentes temperaturas tienen una tendencia muy semejante al valor reproductivo en donde, la temperatura de 25°C fue óptima.

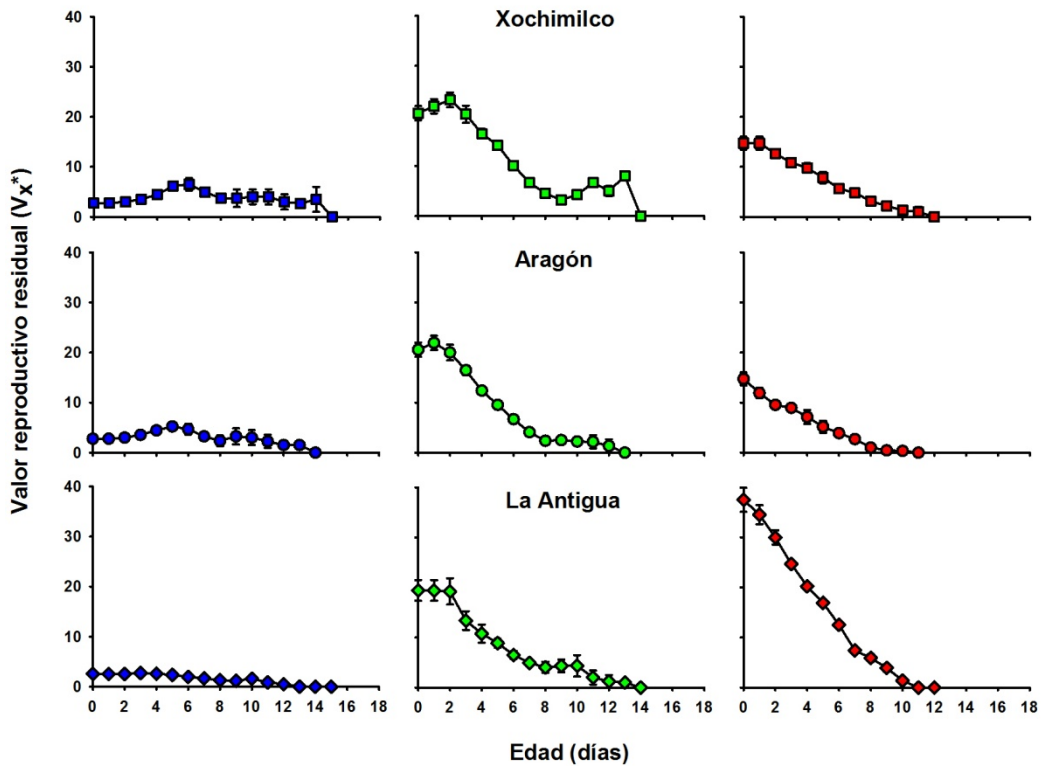
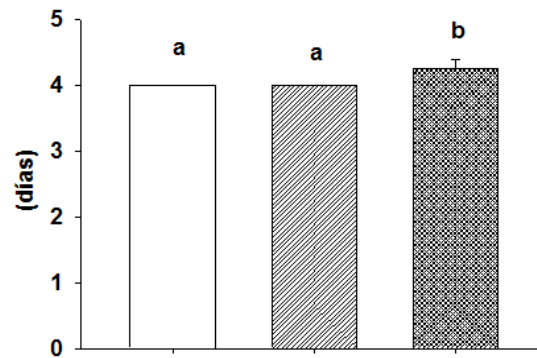


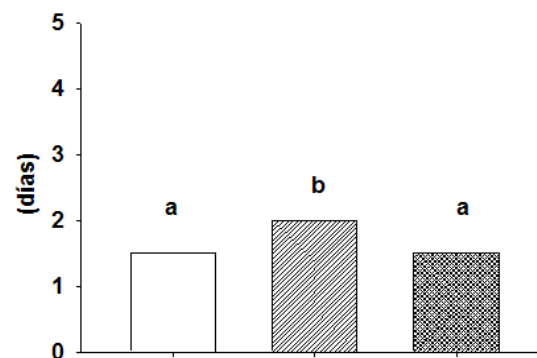
Fig. 15. Curvas de valor reproductivo residual de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25°C y 35°C) provenientes de Xochimilco, Lago de Aragón y La Antigua. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

La temperatura óptima para los tres clones fue de 25°C, teniendo el mayor promedio y esperanza de vida, así como una mayor reproducción bruta y neta en comparación con los otros tratamientos. Se observó un mismo patrón a baja temperatura en ambos clones: una larga duración de reproducción primera (Fig. 16), longevidad mayor (Fig. 17) la esperanza de vida al nacer (Fig. 18). Los rotíferos expuestos a 15°C tuvieron baja tasa bruta de reproducción (Fig. 19), neta (Fig. 20), tiempo generacional (fig. 21) y tasa intrínseca de incremento poblacional (Fig. 22) que la de los rotíferos expuestos a altas temperaturas.

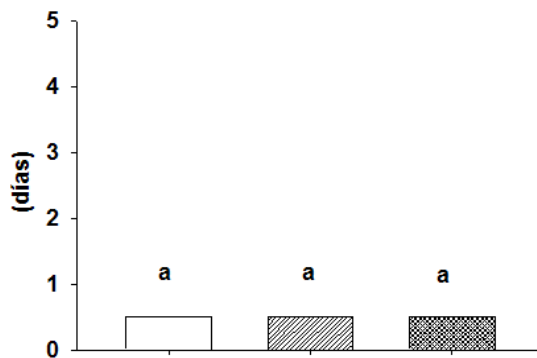
Edad de la primera reproducción de *B. calyciflorus* cultivados a 15



Edad de la primera reproducción de *B. calyciflorus* cultivado a 25° C



Edad de la primera reproducción de *B. calyciflorus* cultivado a 35° C



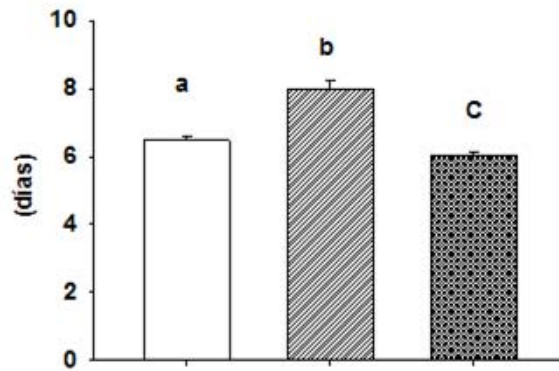
— Aragón
/ La Antigua
X Xochimilco

Fig. 16. Edad de la primera reproducción de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco, respectivamente. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

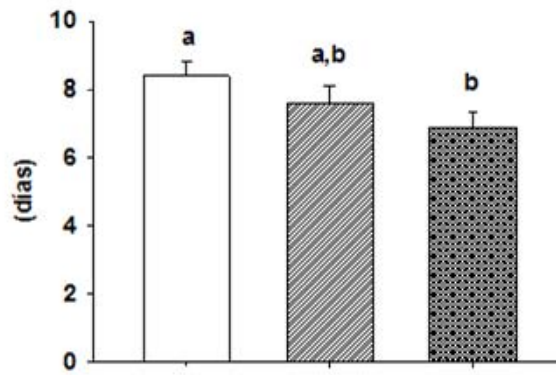
La edad de la primera reproducción de *Brachionus calyciflorus* aislado de tres diferentes lugares se observa en la figura 16. Con respecto a la temperatura, independientemente del origen de la cepa, un incremento de la temperatura, causó una disminución del periodo pre-reproductivo. La raza dela antigua tardó 12 hrs. Mas aproximadamente en la primera reproducción a 25C, por otro lado, en todas las repeticiones, las demás cepas se reprodujeron por primera vez a la misma edad a 15°C , 25°C y 35°C.

El promedio y la esperanza de vida de *Brachionus calyciflorus* aislado de tres diferentes lugares se muestran en las figuras n y n, respectivamente. En ellos se observa que, en general, las tres cepas tuvieron un promedio y esperanza de vida más alto a la temperatura de 25 °C, mientras que a 35°C, éstas se vieron negativamente afectadas, en especial, la cepa proveniente de Xochimilco.

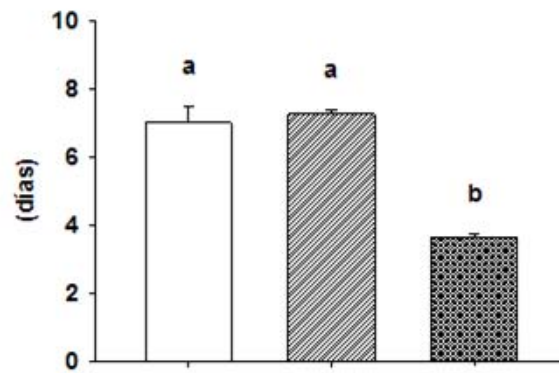
Promedio de Vida de *B. calyciflorus* cultivado a 15° C



Promedio de Vida de *B. calyciflorus* cultivado a 25° C



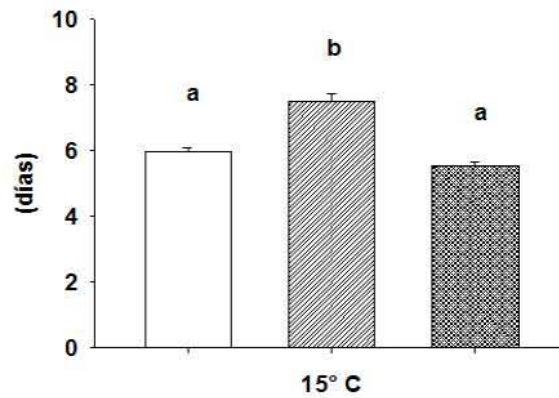
Promedio de Vida de *B. calyciflorus* cultivado a 35° C



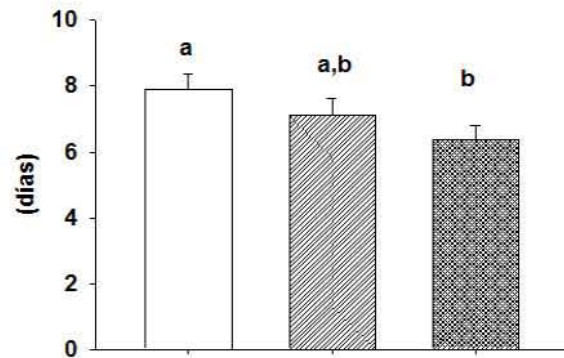
□ Aragón
▨ La Antigua
▩ Xochimilco

Fig. 17. Promedio de vida de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco, respectivamente. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

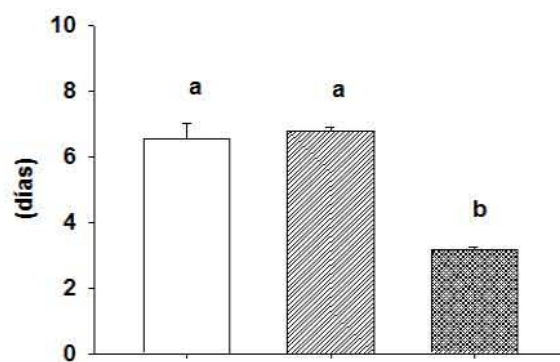
Esperanza de vida de *B. calyciflorus* cultivado a 15°C



Esperanza de vida de *B. calyciflorus* cultivado a 25°C



Esperanza de vida de *B. calyciflorus* cultivado a 35°C



— Aragón
— La Antigua
— Xochimilco

Fig. 18. Esperanza de vida de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco, respectivamente. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones

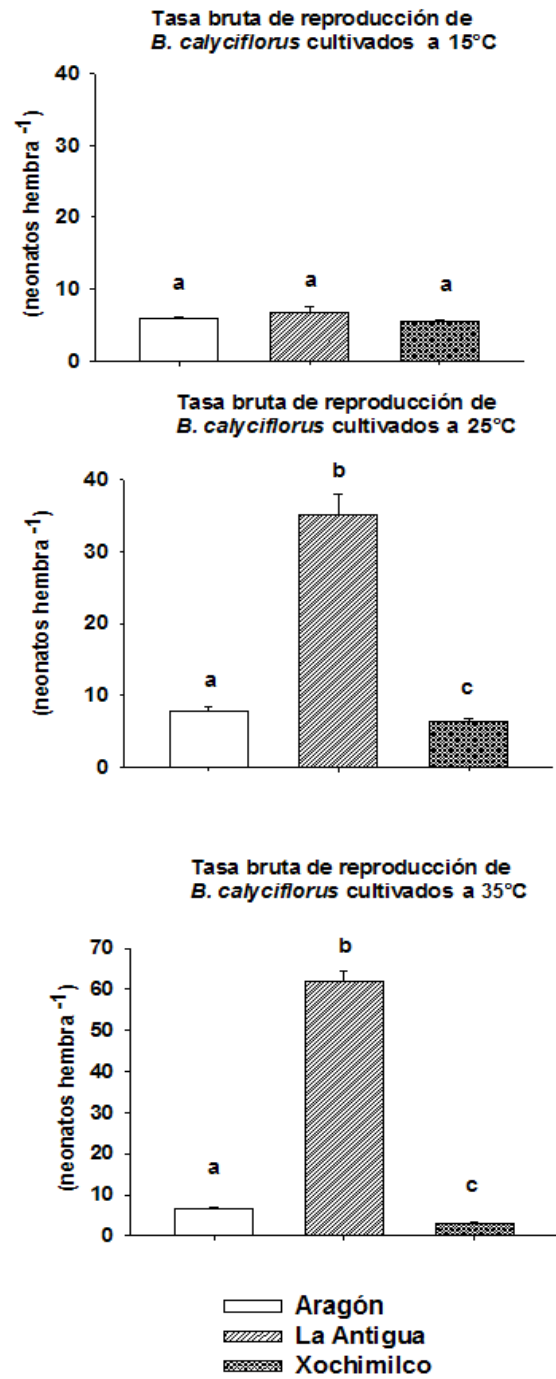


Fig. 19. Tasa de reproducción brute de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco, respectivamente. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

La tasa neta de reproducción de *Brachionus calyciflorus* aislado de tres diferentes lugares se muestra en la figura 20. En los gráficos se muestra que, Respecto a la temperatura, afecta notoriamente la tasa de reproducción, mientras que a 15°C la tasa neta no superó 2.9 neonatos hembra⁻¹, a 25°C, la tasa neta de reproducción alcanzó 20.55 neonatos hembra⁻¹ y a 35°C, éste valor casi se duplicó.

El tiempo generacional de *Brachionus calyciflorus* aislado de tres diferentes lugares se muestra en la figura 21; en cuanto a la temperatura, el aumento de ésta causó un decremento en el tiempo generacional. En el caso de la cepa de La Antigua, el tiempo generacional no mostró diferencias significativas.

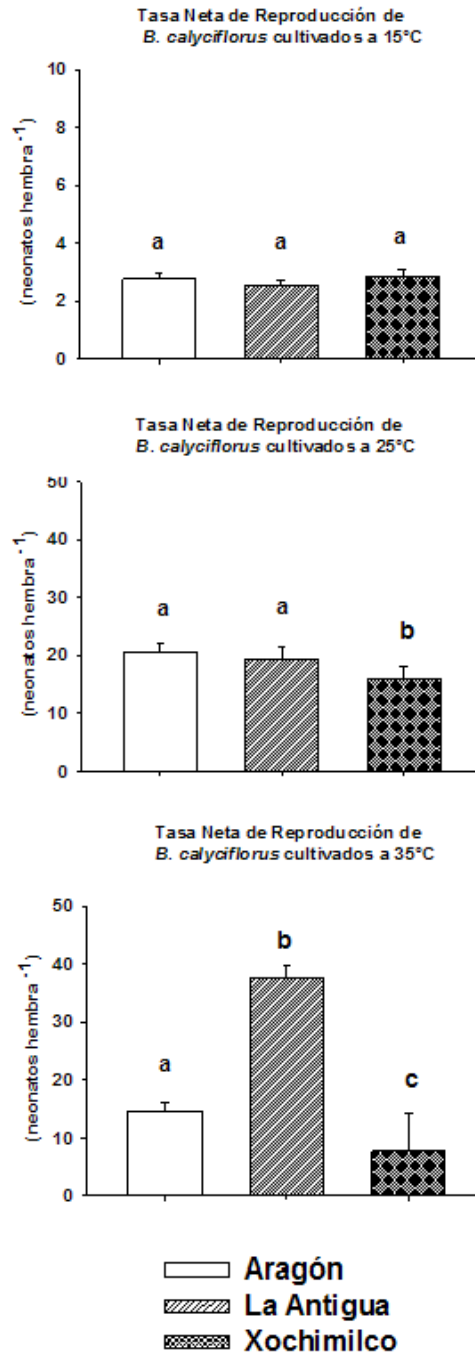
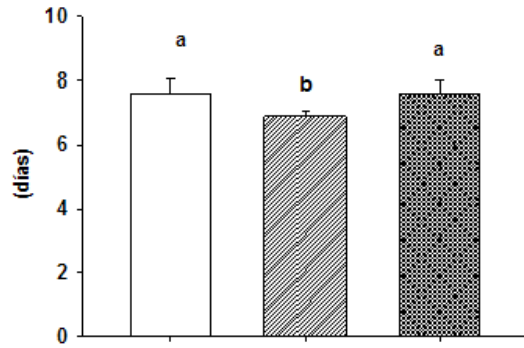
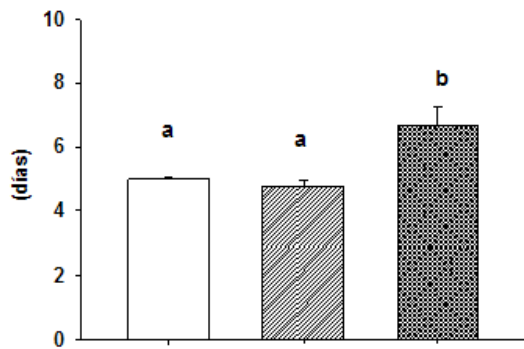


Fig. 20. Tasa de reproducción neta de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco, respectivamente. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

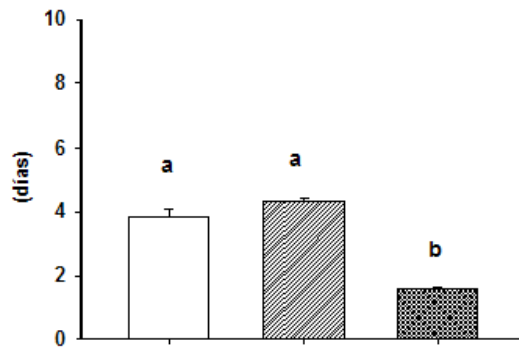
Tiempo Generacional de *B. calyciflorus* cultivado a 15° C



Tiempo Generacional de *B. calyciflorus* cultivado a 25° C



Tiempo Generacional de *B. calyciflorus* cultivado a 35° C



Legend:
Aragón (white)
La Antigua (hatched)
Xochimilco (dotted)

Fig. 21. Tiempo Generacional de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco, respectivamente. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

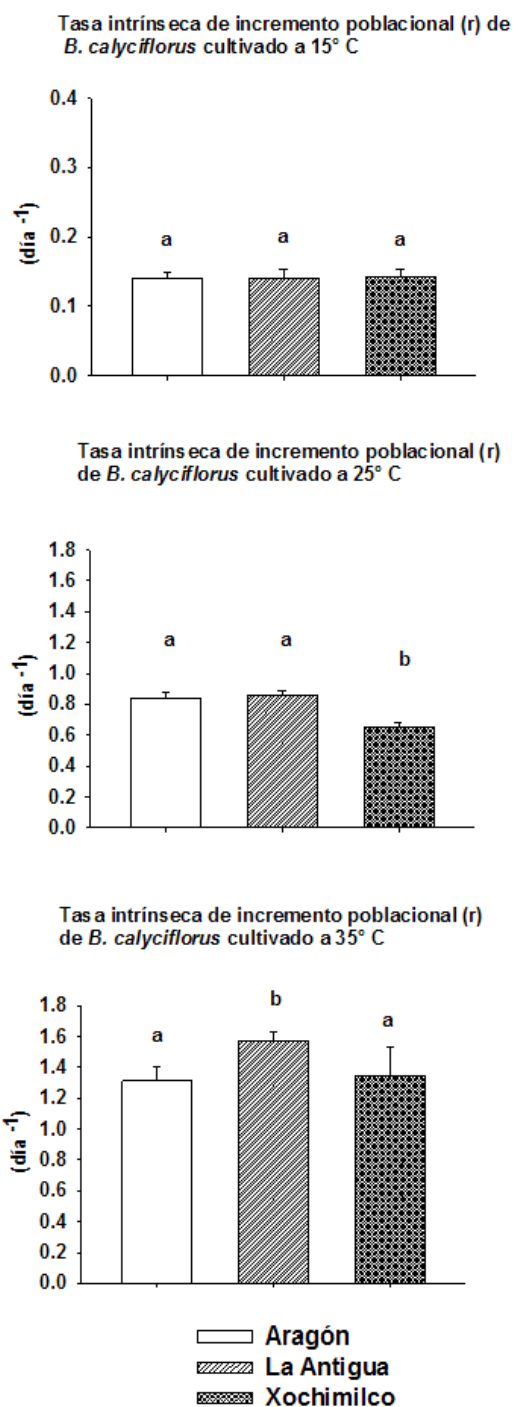


Fig. 22. Tasa intrínseca de incremento poblacional de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco, respectivamente. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

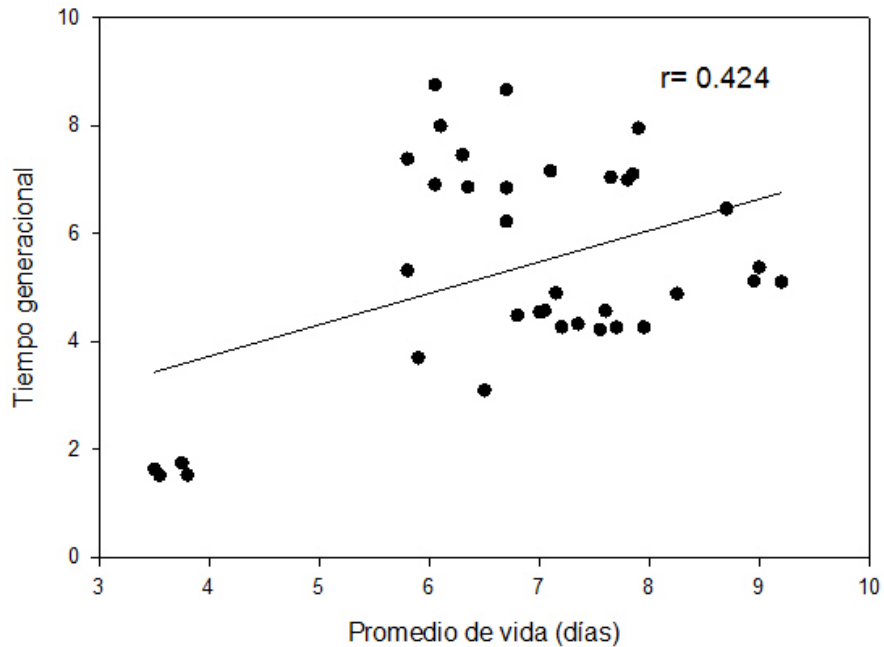


Figura 23. Relación entre el promedio de vida y tiempo generacional de ambas generaciones de *B. calyciflorus* provenientes de Aragón y Xochimilco, expuestos a 15 °C, 25 °C y 35°C.

Se observó también una relación directa estadísticamente significativa ($P < 0.001$) entre el promedio de vida y el tiempo generacional de *B. calyciflorus* (Figura 23).

Las variables de historia de vida de *Brachionus calyciflorus* mostraron diferencias significativas ($p < 0.001$) entre las respuestas de los *B. calyciflorus* provenientes de Aragón, la Antigua y Xochimilco, también hubo diferencias entre los tres tratamientos de temperatura. Promedio de vida y la esperanza de vida de

nacimiento fueron significativamente afectados por la localidad, la temperatura y la interacción de los dos (Tabla 11 y 12).

Las tasas reproductivas bruta y neta también fueron afectadas por la localidad, temperatura y la interacción (Tablas 13 y 14).

El tiempo generacional, no fue afectado significativamente por la localidad, sin embargo, tanto la temperatura y la interacción mostraron diferencias significativas ($P < 0.001$) (Tabla 15). La tasa de incremento poblacional (r) fue afectada únicamente por la temperatura; ni la localidad ni la interacción con la temperatura fueron significativos (Tabla 16).

Tabla 11. Análisis de Varianza de dos vías para el Promedio de vida de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	GL	SC	PC	F	P
Localidad (L)	2	30.60	15.30	34.85	<0.001
Temperatura (T)	2	16.26	8.13	18.52	<0.001
L x T	4	15.11	3.77	8.60	<0.001
Total	35	73.82	2.10		

Tabla 12. Análisis de Varianza de dos vías para la esperanza de vida de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	GL	SC	PC	F	P
Localidad (L)	2	30.60	15.30	34.85	<0.001
Temperatura (T)	2	16.26	8.13	18.52	<0.001
L x T	4	15.11	3.77	8.60	<0.001
Total	35	73.82	2.10		

Tabla 13. Análisis de Varianza de dos vías para la tasa de reproducción bruta de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	GL	SC	PC	F	P
Localidad (L)	2	1234.34	617.17	29.62	<0.001
Temperatura (T)	2	5119.45	2559.72	122.87	<0.001
L x T	4	5492.69	1373.17	65.91	<0.001
Total	35	12408.97	354.54		

Tabla 14. Análisis de Varianza de dos vías para la tasa de reproducción neta de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	GL	SC	PC	F	P
Localidad (L)	2	786.84	393.42	46.99	<0.001
Temperatura (T)	2	2155.35	1077.67	128.73	<0.001
L x T	4	1319.20	329.80	39.39	<0.001
Total	35	4487.42	128.2		

Tabla 15. Análisis de Varianza de dos vías para el tiempo generacional de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	GL	SC	PC	F	P
Localidad (L)	2	0.21	0.10	0.28	0.757
Temperatura (T)	2	101.81	50.90	136.21	<0.001
L x T	4	26.73	6.68	17.88	<0.001
Total	35	138.84	3.96		

Tabla 16. Análisis de Varianza de dos vías para la tasa intrínseca de incremento poblacional (r) de *B. calyciflorus* a tres temperaturas (15°C, 25° C y 35°C) provenientes de Lago de Aragón, La Antigua y Xochimilco. Los valores indican el promedio y \pm el error estándar de cuatro repeticiones. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, MC= media de cuadrados, F= proporción de F.

Fuente de Variación	GL	SC	PC	F	P
Localidad (L)	2	0.12	0.062	2.87	0.074
Temperatura (T)	2	9.66	4.83	223.64	<0.001
L x T	4	0.13	0.032	1.52	0.223
Total	35	10.50	0.3		

8. Discusión

La evaluación del efecto que tiene la temperatura sobre distintas especies animales y en los ecosistemas en general, ha tenido una gran importancia en los últimos años debido a los problemas ambientales que se presentan a nivel global (Houghton *et al.*, 2001; Jeppesen *et al.*, 2009). La temperatura es uno de los factores que afecta a todos los organismos del planeta y lo hace a través de procesos estimulatorios del metabolismo. De acuerdo a la relación Q_{10} , un aumento de 10°C en la temperatura (dentro de un rango tolerable), suele duplicar las actividades metabólicas de los organismos (Rao y Bullock, 1954; Chaui-Berlinck *et al.*, 2002). Sin embargo, las adaptaciones a las condiciones locales pueden ser un reto de esta relación. Estos aspectos se pueden observar en mi trabajo. Por ejemplo, cuando la cepa de *B. calyciflorus* de Xochimilco, fue cultivada desde 15° a 25° C, el promedio de vida no disminuyó. Por otro lado, la misma cepa al ser cultivada desde 25° y 35°C, mostró una disminución en el promedio de vida en casi la mitad, apoyando la relación de Q_{10} . Esto se debe de interpretar de acuerdo a la duración de la adaptación o a la historia de adaptación que cada población tiene en su lugar (Mooij *et al.*, 2005).

Una herramienta muy útil en ecología es la demografía y estudios de tabla de vida, en éstas se analizan principalmente dos variables: los patrones de sobrevivencia y los patrones de reproducción (Pianka, 1982). A partir de esta información podemos conocer cómo se ve afectada una población o grupo de individuos de una especie bajo un estresor ambiental (García-García *et al.*, 2007). Es por esto que en este trabajo se tomó en cuenta las variables de tabla de vida para evaluar el efecto que tiene la temperatura en el rotífero *B. calyciflorus* proveniente de cuerpos de agua de distintas regiones geográficas y climáticas de nuestro país.

En este trabajo se observaron tendencias similares para casi todas las variables demográficas; en cuanto al origen del cual fueron aislados, hubo diferencias significativas en el caso del promedio de vida, esperanza de vida, tasa bruta y neta de reproducción, no así para edad de la primera reproducción, tiempo

generacional ni la tasa intrínseca de incremento poblacional. Esto puede deberse a que la esperanza y promedio de vida están más relacionados con las condiciones naturales de la localidad a la que pertenecen y a la que ellos se encuentran adaptados (Gómez *et al.*, 2002). Los resultados encontrados en mi trabajo son comparables con lo encontrado por Ma *et al.* (2007) quienes analizaron el comportamiento demográfico de *B. calyciflorus* de acuerdo a su región de origen y se ha observado que existe una respuesta diferente a varios factores dependiendo del lugar donde provienen; observaron diferencias significativas respecto a la temperatura en la esperanza de vida, tiempo generacional, tasa de reproducción neta y tasa intrínseca de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* proveniente de 8 regiones distintas de China.

En mi trabajo, la fecundidad fue drásticamente afectada por la temperatura, siendo la cepa de La Antigua la que mayor número de neonatos produjo por hembra a 35°C, probablemente debido a que su tamaño corporal era generalmente mayor que el tamaño de las otras dos cepas. Por otro lado, independientemente del origen de los rotíferos utilizados en el experimento, la temperatura de 25°C fue óptima para las tres cepas, ya que a pesar, de que a 35°C se tuvo una alta fecundidad, a esta temperatura se encontró el máximo valor reproductivo, una mayor esperanza de vida, tasa de incremento poblacional y se alcanzaría rápidamente una distribución estable por edades, lo cual concuerda con trabajos previos sobre acuicultura (Sarma, 1991; Awaïss y Kestemont, 1992; Rico-Martínez y Dodson, 1992).

Usualmente, el género *Brachionus* es pantropical, lo cual quiere decir que las especies están adaptadas a temperaturas mayores a 15°C (Segers, 2007), por eso, la mayoría de las variables de sobrevivencia y la reproducción de las cepas seleccionadas en nuestro trabajo no mostraron los valores óptimos a esta temperatura, sin embargo, los rotíferos colectados en Xochimilco en épocas frías (diciembre) fue la cepa que mejor toleró la temperatura baja mientras que los rotíferos aislados de una región más cálida (La Antigua, Veracruz) mostraron

mayor tolerancia a una temperatura alta ya que presentaron una mayor longevidad y esperanza de vida al nacer.

Ya es bien sabido que un incremento de la temperatura produce un aumento en el metabolismo, por lo que las hembras inician su edad reproductiva sin alcanzar un tamaño adecuado para la reproducción, sin embargo, a pesar de su reducido tamaño, la fecundidad se ve compensada por el aumento metabólico (Wallace y Snell, 1991). Respecto al período pre-reproductivo que es dependiente, entre otros factores, de la temperatura, es decir, cuando los rotíferos se encuentran cultivados a temperaturas bajas, se muestra una prolongación en el periodo pre-reproductivo, mientras que a altas temperaturas, el periodo reproductivo se acelera drásticamente, en nuestro trabajo se observó que el periodo pre-reproductivo duró casi 8 veces más a temperaturas bajas que en temperaturas altas. Sin embargo, en el caso de los rotíferos provenientes de una zona tropical (La Antigua, Veracruz), los rotíferos comenzaron su edad reproductiva después de las otras cepas en el tratamiento de 15°C y 25°C, probablemente debido a que éste cepa está adaptada a temperaturas más cálidas, lo cual coincide con lo encontrado por Kauler y Hildegard (2011) y Ma *et al.* (2007).

Respecto a la morfometría, la temperatura afecta la viscosidad de los fluidos y, el caso del agua no es la excepción; por lo que, a mayor temperatura, la viscosidad disminuye, afectando así la flotabilidad de los organismos planctónicos (Margalef, 1983). Es por esto que además de las adaptaciones morfológicas del zooplancton contra la depredación, también ha sido extensamente documentado (mayormente en el fitoplancton) el desarrollo y crecimiento de espinas, flagelos, formación de colonias, etc. para aumentar su área y disminuir el hundimiento en la columna de agua (Van der Stap *et al.*, 2008; Van Donk *et al.*, 2010). En el caso de los rotíferos y otros organismos planctónicos, la elongación y desarrollo de espinas se considera como una estrategia anti-depredación pero en nuestro trabajo encontramos un aumento de las espinas posterolaterales en la progenie de las hembras cultivadas a 35°C, a pesar de presentar un tamaño (ancho y largo de lóriga) en general más reducido que los neonatos de hembras cultivadas a 15° y

25° C. Respecto a las espinas anteriores, se observó una tendencia opuesta a la observada en las espinas posterolaterales, ya que se presentó una disminución de éstas conforme aumentó la temperatura, lo cual nos indica que el crecimiento de las espinas anteriores y posteriores responden a diferentes mecanismos de crecimiento, mientras que las espinas posteriores se desarrollan de acuerdo a las estrategias o necesidades del ambiente, las espinas anteriores (Gilbert y Walsh, 2005).

En nuestro trabajo también se presentó una tendencia a la reducción de la longitud de la lóriga conforme se incrementa la temperatura, sin embargo, el ancho de la lóriga se mantuvo prácticamente constante ya que no hubo diferencias significativas en cuanto a la temperatura pero sí fueron diferentes entre las localidades de origen, lo cual nos indica que el ancho de la lóriga es una característica que define a cada cepa en cuanto a la forma.

Respecto a la morfología de las distintas cepas de *B. calyciflorus*, la relación largo-ancho de la lóriga, muestran una relación positiva a excepción de los rotíferos provenientes de la Antigua ya que, en este caso, el largo y ancho de la lóriga tienen una longitud similar, adjudicándole una forma más redondeada que la del resto, mientras que los rotíferos aislado de Xochimilco tuvieron la forma más alargada de los tres, estas diferencias morfológicas nos podría indicar que se trata de distintas poblaciones, variedades o especies, ya que se ha reportado que *Brachionus calyciflorus* se trata en realidad de un complejo de especies (Gilbert y Walsh, 2005).

Estos efectos mencionados de la temperatura en la maduración, reproducción, sobrevivencia, esperanza y promedio de vida, el tamaño corporal y de las espinas de los rotíferos puede ser utilizados mediante la manipulación en la acuicultura con la finalidad de logística en la producción masiva, tal como se menciona en otros trabajos (Awaïss y Kestemont, 1992; Rico-Martínez y Dodson, 1992).

Así como se ha observado la tolerancia de los rotíferos a ciertos niveles de tóxicos (Sarma *et al.*, 2006, García-García *et al.*, 2007) y factores ambientales como el fotoperíodo, en este trabajo se muestran la tolerancia de los rotíferos a temperaturas extremas. *Brachionus calyciflorus* es un rotífero semicosmopolita y, aunque es mayormente abundante en los trópicos, está distribuido en un rango de temperaturas que van de los 4 °C a 40 °C (Koste, 1978), lo cual puede deberse a su plasticidad fenotípica como lo es la expresión de genes de proteínas de choque térmico (Heat Shock Proteins) lo cual le permite a los rotíferos sobrevivir o incluso, colonizar ambientes con condiciones de temperaturas extremas. Este tipo de adaptaciones locales han provocado divergencia en este grupo de rotíferos, apoyada por el creciente número de complejos de especies dilucidadas en años recientes (Gómez *et al.*, 2002; Gilbert y Walsh, 2005).

9. Conclusiones

Todas las variables de tabla de vida de las tres cepas de *Brachionus calyciflorus* se vieron afectadas con la temperatura, independientemente del lugar de aislamiento.

La madurez (edad de la primera reproducción), la reproducción y el promedio de vida en *Brachionus calyciflorus* fueron las variables más afectadas por la temperatura.

El origen o lugar de aislamiento tuvo una influencia en la resistencia de los organismos a las altas o bajas temperaturas.

Las tres poblaciones de *Brachionus calyciflorus* tuvieron una respuesta diferente a las temperaturas, indicándonos adaptaciones locales a su entorno natural, a pesar de que se le considera a como una especie semicosmopolita o pantropical.

La temperatura tuvo efecto también en la morfometría; las medidas mayormente afectadas fueron la longitud de la lóriga y de espinas posterolaterales, mientras que el ancho de loriga y espinas anteriores permanecieron constantes en cierta medida, sin cambiar llegar a cambiar la morfología propia de cada cepa.

Las diferencias en la morfometría y morfología, así como en las variables de tabla de vida entre las diferentes cepas de *Brachionus calyciflorus* nos indican un probable aislamiento evolutivo el cual se podría corroborar en futuros estudios con herramientas moleculares, así como con análisis morfométricos y ecológicos más exhaustivos.

10. Referencias

- Alcocer, J. y Bernal-Brooks, F.W. 2010. Limnology in Mexico. *Hydrobiologia* 644:15–68.
- Alvarado-Flores, J., Rico-Martínez, R., Ventura-Juárez, J., Silva-Briano, M., Rubio-Franchin, I. 2012 Bioconcentration and localization of lead in the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas 1677 (Rotifera: Monogononta). *Aquatic Toxicology* 109: 127–132.
- Arriaga, C.L., Aguilar, V., Alcocer, J. 2000. Aguas continentales y diversidad biológica de México. CONABIO. México.
- Awaïss, A. y Kestemont, P. 1992. An investigation into the mass production of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. 2. Influence of temperature on the population dynamics. *Aquaculture* 105: 337–344
- Awaïss, A., Kestemont, P. y Micha, J.C. 1996. Fatty acid profiles of two freshwater fish larvae (gudgeon and perch) reared with *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifer) and/or dry diet. *Aquaculture Research* 27: 651–658.
- Azuara-García, R., Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2006. The combined effects of zinc and alga on the life table demography of *Anuraeopsis fissa* and *Brachionus rubens* (Rotifera). *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 41: 559-572
- Borowitzka, M.A. y Borowitzka, L.J. 1988. *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge. 477 pp.
- Burbank, S. y Snell, T.W. 1994. Rapid toxicity assessment using esterase biomarkers in *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Environmental Toxicology Water Quality* 9:171-178.
- Chauí-Berlinck, J.G., Alves-Monteiro, L.H., Navas, C.A., Bicudo, J.E.P.W. 2002. Temperature effects on energy metabolism: a dynamic system analysis. *Proceedings of the Royal Society of Biological Sciences* 269(1486): 15–19.
- De Senerpont Domis, L.N., Mooij, W.M., Hülsmann, S., van Nes, E.H. y Scheffer, M. 2007 Can overwintering versus diapausing strategy in *Daphnia* determine match–mismatch events in zooplankton–algae interactions? *Oecologia* 150:682–69.

- Deevey, E.S. 1957. Limnologic studies in Middle America, with a chapter on Aztec limnology. Trans. Conn. Acad. Art Sci. 39:213-328.
- Enesco, E.H. 1993. Rotifers in aging research: use of rotifers to test various theories of aging. *Hydrobiologia* 255/256: 59-70.
- Enríquez- García, C., Nandini, S., Sarma, S.S.S. 2009. Seasonal dynamics of zooplankton in Lake Huetzalin, Xochimilco (Mexico City, Mexico). *Limnologica*. 39 (4): 283-291.
- Fontaneto, D., Barbosa, A.M, Segers, H. y Pautasso, M. 2011. The 'rotiferologist' effect and other global correlates of species richness in monogonont rotifers. *Ecography* 35: 174–182, 2012
- García-García, G., Picazo-Paez, E.A., Nandini, S. y Sarma, S.S.S. 2007. Combined effects of sediment and lead (PbCl₂) on the demography of *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). *Hydrobiologia* 593: 209-218.
- Gilbert, J.J. y Waage, J.K. 1967. Asplanchna, Asplanchna-substance, and posterolateral spine length variation of the rotifer *Brachionus calyciflorus* in a natural environment. *Ecology* 48 (2):1027-1031.
- Gilbert, J.J. 1980a. Further observations on the developmental polymorphism and its evolution in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Freshwater biology* 10 (3):281-294.
- Gilbert, J.J. 1980. Female Polymorphism and Sexual Reproduction in the Rotifer *Asplanchna*: Evolution of Their Relationship and Control by Dietary Tocopherol. *The American Naturalist* 116 (3): 409-431.
- Gilbert, J.J. y Walsh, E.J. 2005. *Brachionus calyciflorus* is a species complex: Mating behavior and genetic differentiation among four geographically isolated strains. *Hydrobiologia* 546: 257-265.
- Gómez, A., Serra, M., Carvalho, G.R., Lunt, D.H. 2002. Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution*. 56 (7):1431-1444.
- Houghton, J.T., Ding, Y., Griggs, D.J., Noguier, M., van der Linden, P.J., Dai, X., Maskell, K., Johnson, C.A. 2001. *Climate Change 2001: The Scientific Basis*. Cambridge University Press. 94 pp.
- Huey, R.B. y Berrigan, D. 2001. Temperature, demography and ectotherm Fitness.

- The American Naturalist. 158 (2): 204-210.
- Jeppesen, E., Kronvang, B., Meerhoff, M., Søndergaard, M., Hansen, K.M., Andersen, H.E., Lauridsen, T.L., Beklioglu, M., Özen, A., Olesen, J.E. 2009. Climate change effects of runoff, catchment phosphorus loading and lake ecological state, and potential adaptations. *J Environ Qual* 38:1030–1041
- Kauler, P. y Hildegard, E. 2011. The effect of temperature on life history parameters and cost of reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Journal of Freshwater Ecology*. 26 (3):399-408
- Koste, W. 1978. Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Ein Bestimmungswerk begründet von Max Voigt. Bornträger, Stuttgart, Vol. 1: Textband 673 pp., Vol. 2: Tafelband 234 pp.
- Krebs, C.J. 1985. Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance. Harper and Row, New York.
- Lamkemeyer, T., Zeis, B., Rüdiger, J.P. 2003. Temperature acclimation influences temperature-related behavior as well as oxygen-transport physiology and biochemistry in the water flea *Daphnia magna*. *Canadian Journal of Zoology* 81(2):237-249.
- Lansing, A. I., 1948. The influence of parental age on longevity in rotifers. *Journal of Gerontology* 3:6.
- Lubzens, E. 1987. Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia* 147:245-255.
- Ludwig, G. 1994. Tank culture of sunshine bass *Morone chrysops* × *M. saxatilis* fry with freshwater rotifers *Brachionus calyciflorus* and Salmon Starter Meal as First Food Sources. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(2): 337–341.
- Ma, Q., Xi, Y.L., Zhang, J.Y., Wen, X.L., Xiang, X.L. 2010. Differences in the life table demography among eight populations of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) from China. *Limnologica* 40: 16-22.
- Margalef, R. 1983. Limnología. Ediciones Omega. Barcelona. 1010 pp.
- Martínez-Jerónimo, F. y Ventura-López, C. 2011. Population dynamics of the tropical cladoceran *Ceriodaphnia rigaudi* Richard, 1894 (Crustacea: Anomopoda). Effect of food type and temperature. *Journal of Environmental Biology* 32:513-521 .

- Mooij, W.M., Hülsmann, S., De Senerpont Domis L.N., Nolet, B.A., Bodelier, P.L.E., Boers, P.C.M., Dionisio Pires, L.M., Gons, H.J., Ibelings, B.W., Noordhuis, R., Portielje, R., Wolfstein, K., Lammens, H.E.R. 2005. The impact of climate change on lakes in the Netherlands: a review. *Aquat. Ecol.* 39:381–400.
- Müller-Navarra, D.C., Guss, S., Von Storch, H. 1997. Interannual variability of seasonal succession events in a temperate lake and its relation to temperature variability. *Glob. Change Biol.* 3:429–438.
- Muñoz-Colmenares, M.E, Sarma, S.S.S y Nandini, S. 2013. Rotifer diversity from the high altitude neovolcanic zone: Lake Zempoala (State of Mexico). SIL XXXII Congress.
- Nandini, S., Sarma, S. S. S y Hurtado-Bocanegra, M.D. 2002. Effect of four species of Cladocerans (Crustacea) on the population growth of *Brachionus patulus* (Rotifera). *Acta hydrochim. hydrobiol.* 30: 101–107.
- Nogrady, T., Wallace, R.L. and Snell, T.W. 1993. Rotifera. SBP Academic Publishers. The Hague, 142 pp.
- Osorio-Tafall, R.F. 1942. Rotíferos planctónicos de México I, II y III. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural.* 3(1-4): 23-79.
- Paerl, H.W. y Huisman, J. 2008. Blooms like it hot. *Science* 320: 57–58.
- Peeters, F., Livingstone, D.M., Goudsmit, G.H., Kipfer, R., Forster, R. 2002. Modelling 50 years of historical temperature profiles in a large central European lake. *Limnol. Oceanogr.* 47:186–197.
- Pennak, R.W. 1989. Fresh-water invertebrates in the United States. The Ronald-Press Co. New York. Pp. 168-187.
- Petterson, K., Grust, K., Weyhenmeyer, G., Blenckner, T. 2003. Seasonality of chlorophyll and nutrients in Lake Erken-effects of weather conditions. *Hydrobiologia* 506-509:75-81.
- Pianka, E.R. 1982. *Ecología Evolutiva*. Ediciones Omega, S. Barcelona. 365 pp.
- Pourriot, J. 1980. The effect of some biotic and abiotic factors on the fertility of planktonic rotifer species. *Hydrobiologia.* 73:59-62.
- Preston, B.L., Snell, T.W., Robertson, T.L. y Dingmann, B.J. 2000. Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (12): 2923–

2928.

- Rao, K.P. y Bullock, T. 1954. Q_{10} as a function of size and habitat temperature in poikilotherms. *The American Naturalist*. 88 (838): 33-44.
- Rico-Martínez, R. y Silva-Briano, M. 1993. Contribution to the knowledge of the rotifera of Mexico. *Hydrobiologia* 255/256:467-474.
- Rico-Martínez, R. y Dodson, S. I. 1992. Culture of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture* 105(2):191–199.
- Sánchez-Rodríguez, M.R., Nuñez-Avila L.A., Sarma, S.S.S., Nandini, S. y Lugo-Vázquez, A. 2010. Allelopathic effects of ciliate (*Paramecium caudatum*) (Ciliophora) culture filtrate on the population of brachionid rotifers (Rotifera: Brachionidae). *Allelopathy Journal*. 26 (1): 123-130.
- Sarma, S.S.S. y Elías-Gutiérrez, M. 1999. Rotifers (Rotifera) from four natural water bodies of Central Mexico. *Limnologica* 29: 475-483.
- Sarma, S.S.S., Martínez-Jerónimo, F., Ramírez-Pérez, T. y Nandini, S. 2006. Effect of the cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Journal of Environmental Science and Health Part A* 41 (4): 543-558.
- Sarma, S.S.S. 1991. Rotifers and aquaculture (Review). *Environ. Ecol.* 9:414-428.
- Sarma, S.S.S. 2000. The use of rotifers for ecotoxicological studies in Mexico. In: E. Ríos-Jara et al. (eds). *Estudios sobre plancton en México y el Caribe*. Sociedad Mexicana Planctología / Universidad de Guadalajara (México): 8- 11.
- Sarma, S.S.S., Nandini, S., Gulati, R. D. 2005. Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. *Hydrobiologia*. 542:315–333.
- Sarma, S.S.S. y Nandini, S. 2007. Small prey size offers immunity to predation: a case study on two species of *Asplanchna* and three brachionid prey (Rotifera). *Hydrobiologia* 593: 67-76
- Sarma, S.S.S., Serranía-Soto, C., Nandini, S. 2008. Diversidad de Rotíferos en el Estado de México. En: *Biodiversidad del Estado de México*. Gobierno del Estado de México, México: 1-6 pp.
- Sarma, S.S.S., Resendiz, R.A.L., Nandini, S. 2011. Morphometric and demographic responses of brachionid prey (*Brachionus calyciflorus* Pallas and

- Plationus macracanthus* (Daday)) in the presence of different densities of the predator *Asplanchna brightwellii* (Rotifera: Asplanchnidae). *Hydrobiologia*. 662 (1): 179-187.
- Segers, H. 2007. Annotated checklist of the rotifers (Phylum Rotifera), with notes on nomenclature, taxonomy and distribution. *Zootaxa* 1564: 1-104.
- Serra, M., Snell, T.W., Gilbert, J.J. 2005. Delayed mixis in rotifers: an adaptive response to the effects of density-dependent sex on population growth. *Journal of Plankton Research* 27 (1): 37-45.
- Serranía-Soto, C.R. 2006. Diversidad de Rotíferos Monogonontos de la Parte Central de México. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Serranía-Soto, C.R. y Sarma, S.S.S. 2003. Some taxonomical aspects of Rotifera from central Mexico. *Scientia Naturae*. 6(1):53-61.
- Sládeček, V. 1983. Rotifers as indicator of water quality. *Hidrobiol.* The Hague. 100, 169-201.
- Snell, T.W. y King C. E. 1977. Lifespan and Fecundity Patterns in Rotifers: The Cost of Reproduction. *Evolution*. 31 (4): 882-890.
- Snell, T.W., Kubanek, J., Carter, W., Payne, A.B., Kim, J., Hicks, M. K., Stelzer, S.P. 2006. A protein signal triggers sexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Marine Biology* 149 (4):763-773.
- Søndergaard, M., Jensen, J.P., Jeppesen, E. 2003. Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia* 506:135–145.
- Sorin, O. y Kyungho, C. 2012. Optimal conditions for three brood chronic toxicity test method using a freshwater macroinvertebrate *Moina macrocopa*. *Environmental Monitoring and Assessment*. 184 (6): 3687-3695
- Sun, D. y Niu, C. 2012. Adaptive significance of temperature-induced egg size plasticity in a planktonic rotifer, *Brachionus calyciflorus*. *Journal of Plankton Research*. Vol. 34 (10): 864-873.
- Van Donk, E., Ianora, A. y Vos, M. 2010. Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: a review. *Hydrobiologia*. Review Paper. Tribute to Stanley Dodson.
- Van der Stap, I., Vos, M., Tollrian, R. y Mooij, W.M. 2008. Inducible defenses,

- competition and shared predation in planktonic food chains. *Oecologia* 157: 697–705.
- Wallace R. y Snell. 1991. Rotifera en: Ecology and Classification of North American freshwater invertebrates. James H. Trop y Alan (Eds) Academic Press Inc.
- Walz, N. 1983. Individual culture and experimental population dynamics of *Keratella cochlearis* (Rotatoria). *Hydrobiologia*. 107 (1): 35-45.
- Welch, D.B.M. y Meselson, M. 2000. Evidence for the evolution of Bdelloid rotifers without sexual reproduction or genetic exchange. *Science* 288 (5469): 1211-1215 .
- Woodward, G., Perkins, D.M., Brown, L.E. 2010. Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Phil. Trans. R. Soc. B* 365:2093–2106.
- Xiang, X.L., Xi, Y.L., Zhang, J.Y., Ma, Q. y Wen, X.L. 2010. Effects of temperature on survival, reproduction, and morphotype in offspring of two *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) morphotypes. *Journal of Freshwater Ecology* 25 (1): 9-18.
- Zavala-Aguirre, J. L., Torres-Bugarin, O., Zamora-Pérez, A. L. 2007. Aquatic ecotoxicology approaches in Western Mexico. *Journal of Environmental Science and Health, part A: Toxic/Hazardous substances and Environmental Engineering*. 42(10): 1503-1511.
- Zheng, X. y Geng, H. 2012. Effect of *Microcystis aeruginosa* on the rotifer *Brachionus calyciflorus* at different temperatures. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*. 88:20–24.