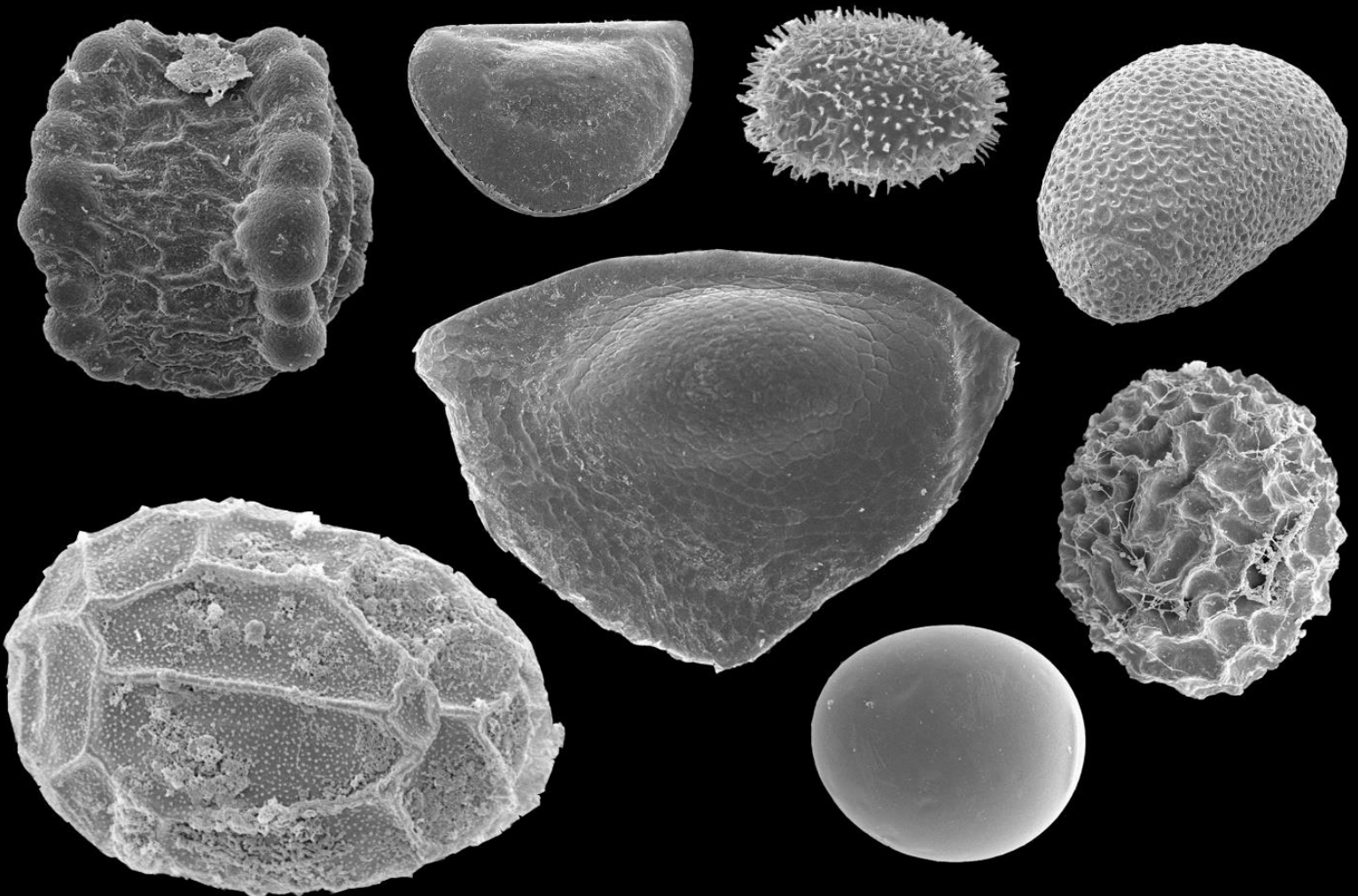


Los huevos de resistencia del zooplancton como herramienta para la evaluación de impactos del cambio global sobre la biodiversidad

Gerardo Guerrero Jiménez

Tesis Doctoral

Granada 2020



Los huevos de resistencia del zooplancton como
herramienta para la evaluación de impactos del
cambio global sobre la biodiversidad



Universidad de Granada
Departamento de Ecología

Gerardo Guerrero Jiménez

Tesis Doctoral

Mayo 2020

Biología Fundamental y de Sistemas

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Gerardo Jiménez Guerrero
ISBN: 978-84-1117-819-8
URI: <https://hdl.handle.net/10481/81465>

Los huevos de resistencia del zooplancton como herramienta para la evaluación de impactos del cambio global sobre la biodiversidad

Memoria presentada por Gerardo Guerrero Jiménez para optar al Grado de Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad de Granada. Esta memoria ha sido realizada bajo la dirección de Dr. José María Conde Porcuna y Dra. Eloísa Ramos Rodríguez, Doctores en Ciencias Biológicas por la Universidad de Granada.



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**



Fdo.: **Gerardo Guerrero Jiménez**
El doctorando

Fdo.: **José María Conde Porcuna**
Director de tesis

Fdo.: **Eloísa Ramos Rodríguez**
Co-directora de tesis



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

Dr. José María Conde Porcuna,
Profesor Titular de Ecología
Universidad de Granada

Dra. Eloísa Ramos Rodríguez,
Profesora Contratada Doctora
Universidad de Granada

Certifican que los trabajos de investigación desarrollados en la Memoria de Tesis Doctoral: **“Los huevos de resistencia del zooplancton como herramienta para la evaluación de impactos del cambio global sobre la biodiversidad”**, son aptos para ser presentados por Gerardo Guerrero Jiménez ante el Tribunal que en su día se designe, para aspirar al Grado de Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad de Granada. Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendiendo el presente certificado a 12 mayo del 2020.

Fdo.: Jose María Conde Porcuna,
Profesor Titular de Ecología, Universidad de Granada

Fdo.: Eloísa Ramos Rodríguez,
Profesora Contratada Doctora, Universidad de Granada

El doctorando:

Gerardo Guerrero Jiménez

y los directores de la tesis:

Jose María Conde Porcuna y Eloísa Ramos Rodríguez

Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Lugar y fecha: Granada a 12 de mayo del 2020



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

Fdo.: **Gerardo Guerrero Jiménez**

El doctorando

Fdo.: **José María Conde Porcuna**

Director de tesis

Fdo.: **Eloísa Ramos Rodríguez**

Co-directora de tesis

El presente trabajo se ha desarrollado en los laboratorios del Instituto Universitario del Agua y del Departamento de Ecología en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, España, mientras que para los experimentos realizados en México se contó con el apoyo del Laboratorio de Ecología y laboratorio 60 de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. La financiación del proyecto de Tesis se debe a los esfuerzos del grupo de investigación RNM-125 "Redes tróficas pelágicas continentales", ya que no se pudo contar con la financiación de un proyecto de investigación. Para el sustento mensual se contaba con una beca CONACyT en su modalidad de posgrados en el extranjero por parte de México.

A mi familia

ÍNDICE

	Pág.
1. Introducción general.....	1
1.1. Factores relevantes de cambio climático sobre la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos.....	1
1.2. El zooplancton como integrante esencial de las comunidades acuáticas	4
1.3. Importancia del banco de huevos del sedimento en los lagos someros	7
2. Objetivos.....	11
3. Lugar de estudio.....	15
3.1. Humedales no salinos	17
3.2. Lagunas de alta montaña.....	21
3.3. Lagos hipersalinos.....	25
4. Metodología general.....	30
CAPÍTULO I Análisis de la estructura morfológica de los huevos diapáusicos como herramienta para la identificación de especies de rotíferos y cladóceros.....	35
CAPÍTULO II Patrones de abundancia y diversidad de los huevos del zooplancton en relación con las características del hábitat.....	71
CAPÍTULO III Variación en las respuestas de eclosión de rotíferos y cladóceros a cambios de temperatura y salinidad.....	99
CAPÍTULO IV Variación en las respuestas de eclosión de rotíferos y cladóceros a la desecación del sedimento.....	137
CAPÍTULO V Variación inter e intraespecífica en rasgos de historia de vital de rotíferos y cladóceros eclosionados a partir de huevos de resistencia: efecto de la temperatura y salinidad.....	158
Síntesis y Conclusiones.....	192
5. Síntesis.....	193
6. Conclusiones.....	197
Apéndices.....	202
Bibliografía.....	211

Resumen

En las últimas décadas, a nivel mundial, las temperaturas y los patrones de precipitaciones han cambiado marcadamente debido al cambio climático. Previsiones para los años venideros sugieren que algunas regiones, entre ellas la Mediterránea, serán particularmente afectadas por el calentamiento global que estamos experimentando. Tales previsiones prevén un aumento de las sequías debido al decremento de las precipitaciones e incremento de la evapotranspiración, por lo tanto, este fenómeno producirá incrementos en la salinización de los cuerpos de agua. Entre los ecosistemas que se verán más afectados por estos cambios ambientales, se encuentran las lagunas someras y/o temporales que son particularmente susceptibles a los cambios estacionales e interanuales. Estos cambios constituyen una amenaza para la biodiversidad de los cuerpos de agua, afectando la riqueza de especies y la composición de las comunidades.

Entre las comunidades acuáticas más afectadas por los cambios ambientales, se encuentra el zooplancton, cuyos principales componentes son rotíferos y cladóceros, debido a su limitada capacidad de dispersión activa. A este respecto, para hacer frente a condiciones ambientales adversas, muchas especies del zooplancton han desarrollado respuestas adaptativas para garantizar su supervivencia en los cuerpos de agua, como es la producción de huevos de resistencia. Por lo tanto, la persistencia de las especies de rotíferos y cladóceros en hábitats temporales o fluctuantes, dependerá de la capacidad de sus huevos de resistencia de eclosionar y recolonizar los sistemas acuáticos una vez que desaparece la presión ambiental (resiliencia). Los huevos de resistencia no suelen eclosionar todos en la siguiente estación de crecimiento, lo que extiende así los eventos de eclosión y llevando a la formación de bancos de huevos en el sedimento (constituidos por huevos de diferentes especies). Los bancos de huevos están considerados por lo tanto como un reservorio de la diversidad de la comunidad zooplanctónica. Hasta la fecha, los estudios de diversidad y riqueza de especies de rotíferos y cladóceros planctónicos, se han basado sobre todo en el análisis de la comunidad activa en la columna de agua, o en el uso de los huevos de

resistencia mediante la identificación de las especies a partir de los huevos una vez eclosionados o a través del uso de técnicas moleculares como el DNA *barcoding*. En efecto, la identificación taxonómica a partir de los huevos de resistencia es todavía muy limitada, debido a la dificultad de encontrar caracteres morfológicos especies-específicos que permitan discriminar entre especies. Así pues, en el **Capítulo 1** analizamos huevos de resistencia de rotíferos y cladóceros colectados en los sedimentos de once lagunas someras de España y México que pertenecen a tres tipos de ecosistemas, lagunas de alta montaña, humedales no salinos y lagos hipersalinos, mediante el uso del microscopio óptico (MO) y del microscopio electrónico de barrido (MEB), con el fin de identificar caracteres diagnósticos para poder usar dichos caracteres para la identificación de especies de rotíferos y cladóceros. Mediante este análisis, fue posible observar características que permitieron identificar una gran variedad de morfotipos y posteriormente relacionarlos con su respectiva especie. En general, para rotíferos, se logró construir una descripción morfológica para la identificación a nivel de especie, mientras que, para cladóceros, no se encontraron claros caracteres morfológicos que sugieran que los morfotipos son específicos para cada especie, por lo que la identificación se realizó a nivel de género.

La identificación morfológica de los huevos de resistencia, permitió en el **Capítulo 2** realizar un análisis de comparación de la riqueza de especies en los bancos de huevos y en la columna de agua de los once cuerpos de agua, al fin de comprobar que tan efectivo es el uso de los huevos diapáusicos para los estudios de riqueza del zooplancton en los cuerpos de agua someros. También se cuantificó la abundancia de los huevos de resistencia en los sedimentos de los ecosistemas bajo estudio y se exploró la relación entre los patrones de abundancia de dichos huevos y la riqueza de especies en la columna de agua con las características del hábitat. En general, la riqueza de especies en la columna de agua fue mayor que la de los huevos diapáusicos, y en su mayoría, el número de especies observado en la comunidad activa fue mayor al de los bancos de huevos, pero solo para los rotíferos. El tipo de ecosistema resultó ser la variable explicativa de la riqueza de especies en los ecosistemas bajo estudio. En efecto, los humedales no salinos son el tipo de ecosistema con

mayor riqueza respecto a los lagos hipersalinos y a las lagunas de alta montaña. Con respecto a la relación entre la abundancia de huevos saludables en el banco activo del sedimento y las variables ambientales, el área, la conductividad, y el pH resultaron ser los tres factores relacionados con la cantidad de huevos encontrados en los diferentes lagos. La relación entre conductividad y abundancia de huevos no fue lineal, en efecto, con excepción del lago hipersalino Rincón de Parangueo que presentó los valores más altos de abundancia de huevos, los humedales no salinos que tenían valores de conductividad intermedios (836-4576 $\mu\text{S}/\text{cm}$) presentaron los mayores valores de abundancia. Valores de pH extremos, que producen estrés en la comunidad zooplanctónica, fueron relacionados con una mayor producción de huevos, y finalmente, áreas pequeñas parecen favorecer la producción de huevos, aunque son necesarios más estudios que corroboren los resultados reportados en este trabajo.

La resiliencia de las comunidades zooplanctónicas dependerá en gran medida de la viabilidad y eclosión desde el sedimento de los huevos diapáusicos, aunque para muchas especies todavía no se conocen cuáles son las condiciones ambientales que favorecen los eventos de eclosión y, por lo tanto, el grado de afectación de la comunidad debido al cambio climático. En general, la eclosión de los huevos de resistencia del zooplancton está relacionada con dos factores ecológicos principales, la temperatura, y la salinidad, que también representan dos factores que, con el cambio climático, sufrirán grandes fluctuaciones. Esto podría afectar notablemente a la tasa de eclosión y a la viabilidad de los huevos diapáusicos del zooplancton y, en consecuencia, reducir la capacidad resiliente de sus poblaciones. En el **Capítulo 3** se evaluó el efecto combinado del aumento de la salinidad y la temperatura del agua sobre la tasa de eclosión y el día de eclosión de los huevos de resistencia de especies de rotíferos y cladóceros colectados en los once ecosistemas acuáticos. Se analizaron las diferencias tanto a nivel global como específico, según el tipo de ecosistema, además de las variaciones intraespecíficas y entre especies cercanas filogenéticamente. Los resultados mostraron que los incrementos en la temperatura y la salinidad afectan negativamente la eclosión de los huevos,

independientemente del ecosistema que se trate y, un aumento en la temperatura induce las eclosiones en un menor tiempo en cualquier tipo de ecosistema. En general, las especies de los ecosistemas hipersalinos están mejor adaptadas al aumento de temperatura y salinidad, mostrando capacidad para eclosionar en todos los escenarios planteados. En el caso de los humedales no salinos, las especies mostraron capacidad de adaptarse a variaciones de salinidad dentro de los primeros 5 g/L, aunque sí mostraron una mayor adaptación a las altas temperaturas. Por su parte, la comunidad zooplanctónica presente en las lagunas de alta montaña resultó ser poco resiliente a los aumentos de salinidad y temperatura. Por lo que se refiere a diferencias inter e intraespecíficas, las especies del complejo *Brachionus plicatilis* analizadas (*B. manjavacas* y *B. paranguensis*) y los diferentes morfotipos de *B. angularis* y *B. quadridentatus*, presentaron diferentes respuestas de eclosión a aumentos de salinidad y temperatura, lo que podría representar una estrategia de las especies para sobrevivir a condiciones ambientales cambiantes y mantener así la resiliencia del ecosistema, además de indicar la presencia de posibles especies crípticas.

Otra consecuencia del cambio climático es que muchos lagos someros experimentarán sequías impredecibles y prolongadas que provocarán la desecación del banco de huevos del sedimento, y por lo tanto la capacidad de los huevos de resistencia para tolerar los episodios de desecación y altas temperaturas extremas desempeñará un papel clave en la recuperación de la comunidad zooplanctónica. No obstante, los huevos de especies que han evolucionado en ecosistemas someros temporales están más adaptados a sobrevivir a periodos de desecación y eclosionan una vez rehidratados. Sin embargo, poco se sabe sobre la termoresistencia de los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros y hasta qué punto las altas temperaturas pueden afectar a su capacidad de eclosión. En el **Capítulo 4** se analizó el efecto que tiene la desecación sobre el éxito de eclosión de los huevos de resistencia de cladóceros y rotíferos aislados de los tres diferentes tipos de ecosistemas someros, y se exploró el efecto que una alta temperatura extrema pueda tener sobre el efecto de la desecación de los huevos. Para ello, se incubaron huevos diapáusicos de

rotíferos y cladóceros durante un periodo de cuatro meses en dos combinaciones de humedad (húmedo vs. seco) y dos combinaciones de temperatura (15 y 40°C). Los resultados obtenidos sugieren que las especies de las lagunas de alta montaña de Sierra Nevada podrían ser las más afectadas debido al cambio climático, tanto por el incremento de la salinidad del agua como por la posible desecación de las lagunas, porque ninguna de las especies eclosionó, ni con el tratamiento en medio líquido salino ni en desecación. Respecto a los otros sistemas, los rotíferos mostraron mayor sensibilidad a la desecación que los cladóceros y, en concreto, las especies *B. paranguensis* y *Lecane bulla*, y en menor medida *B. calyciflorus*, se vieron afectadas por la desecación. Estos resultados indican que estas especies seguramente se verían afectadas si, como consecuencia del cambio climático, las lagunas donde habitan llegaran a secarse. Por otro lado, la especie de cladóceros *Moina salina* parece que podría no eclosionar sin antes ser expuesta a un periodo de desecación, lo que podría sugerir una adaptación a un ecosistema que siempre se seca en verano, y posiblemente los huevos necesiten un periodo de desecación como estímulo para romper la dormancia. Con respecto a la temperatura, en general todas las especies excepto *B. paranguensis*, se vieron afectadas por una temperatura tan alta como 40°C.

Las fluctuaciones de temperatura y salinidad debidas al cambio global, no afectan solo a los bancos de huevos de resistencia, sino también a los organismos de la comunidad activa. Por lo tanto, es de fundamental importancia predecir las respuestas de las especies de rotíferos y cladóceros a dichas fluctuaciones, y determinar así la afectación de los cambios ambientales en la estructura y función de las comunidades. En el **Capítulo 5** se analizó, mediante tablas de vida, el efecto combinado de diferentes temperaturas y salinidades sobre rasgos ecológicamente relevantes del ciclo vital de especies de rotíferos y cladóceros eclosionados desde huevos diapáusicos, bajo esas mismas condiciones de temperatura y salinidad, y procedentes de las once lagunas bajo estudio. También se analizaron las variaciones intraespecíficas de los rasgos de historia de vida entre morfotipos de los rotíferos *Brachionus quadridentatus* y *Lecane bulla*.

En general, el peor escenario que puede producirse ante la salinización futura de los humedales y lagunas, y el incremento de temperatura, al menos para las especies de rotíferos estudiadas en esta tesis, es el aumento de la salinidad por encima de los 5 g/L dada la ausencia de eclosiones de huevos de resistencia, y la reducción de la longevidad y la producción de descendientes viables de las especies de rotíferos de agua dulce a estos niveles de salinidad. Los rotíferos mostraron ser un grupo mejor adaptado a los cambios de temperatura y salinidad respecto a los cladóceros, debido a un posible mejor mecanismo de osmorregulación. Los resultados obtenidos, sugieren que las comunidades zooplanctónicas presentes en los ecosistemas hipersalinos se verían menos afectadas por los aumentos de temperatura y salinidad causados por el cambio global, en comparación con las comunidades de los humedales no salinos. Además, los diferentes morfotipos de las especies *B. quadridentatus* y *L. bulla* mostraron diferentes respuestas a cambios de temperatura y salinidad, sugiriendo la presencia de complejos de especies.

Introducción, objetivos, lugar de estudio,
y metodología general

1. Introducción general

1.1 Factores relevantes de cambio climático sobre la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos

La biodiversidad es uno de los componentes biológicos principales que caracteriza un ecosistema, y permite medir su calidad ambiental (Chapin et al. 2000; Downing & Leibold 2002). Una mayor diversidad, sugiere una mayor interacción entre diversos componentes estructurales del ecosistema, y por lo tanto, una mayor estabilidad del mismo para enfrentar las variaciones medioambientales a través del tiempo.

Generalmente, debido a los grandes procesos de cambio que sufre el planeta Tierra de forma natural, aproximadamente cada 26,000 años, se produce un proceso de extinción masiva (Curtis & Barnes 2000). En las últimas décadas, la Tierra ha sufrido grandes modificaciones derivadas de los impactos antropogénicos que han acelerado dramáticamente el proceso de extinción de especies que va en contra de los patrones naturales estudiados para las eras pasadas. Se estima, que en la actualidad, ha habido una tasa de extinción de las especies 1,000 veces mayor a la registrada en otros periodos de tiempo (Brooks et al. 2006). En este sentido, a todo el conjunto de los cambios ambientales que modifican la biogeoquímica de los elementos esenciales de la vida (Declerck et al. 2015), así como la composición de los sistemas en el planeta Tierra, y que son producto de las actividades antropogénicas (Duarte et al. 2006), se le ha denominado cambio global. Uno de los principales factores que abarca el cambio global, es el cambio climático.

En las últimas décadas, como resultado del cambio climático inducido por el hombre, los patrones de temperatura y precipitaciones han cambiado drásticamente y se prevé que cambiarán aún más en el futuro (Meehl et al. 2007). Las predicciones sugieren que, como consecuencia del aumento de la temperatura, el cambio climático aumentará la fusión de los hielos continentales y el nivel medio del mar. Muchos modelos indican que las regiones

con un clima semiárido, tal como el Mediterráneo, estarán entre las más impactadas por el cambio del clima (Sala et al. 2000), y en particular, los sistemas acuáticos, debido a la reducción de lluvias y el consecuente incremento de las condiciones de sequía (Fischlin et al. 2007).

En general, los ecosistemas acuáticos continentales de agua dulce y salinos, representan menos del 1% del área del planeta y son vitales para la biota acuática, para la vida terrestre y para la población humana (Thorp & Covich 2010). Son ecosistemas muy heterogéneos, debido a que diversos factores contribuyen a la regulación de la estructura, a la distribución y a la abundancia de las comunidades acuáticas. La presencia de diferentes microhábitats dentro del mismo cuerpo de agua, ha sido indicada como el principal factor que determina la biodiversidad de un sistema acuático. Sin embargo, la competencia y depredación entre especies (Dumont 1994), las variaciones estacionales (Pennak 1989), la cantidad de fósforo (Jeppesen et al. 2000), el estado trófico (Duggan et al. 2002), y la salinidad y temperatura (Kaya et al. 2010), también representan factores determinantes de la biodiversidad. En los últimos años, como consecuencia de los cambios ambientales, las variaciones drásticas de temperatura, salinidad y la desecación han generado especial atención debido a que pueden generar cambios significativos en la estructura natural de estos ecosistemas. La temperatura es uno de los factores más frecuentemente estudiado, sin embargo, también, aunque en menor frecuencia, se ha empezado a estudiar la importancia de la salinidad en los ecosistemas acuáticos en trabajos como Nielsen et al. (2003); Schallenberg et al. (2003); Jeppesen et al. (2015). De acuerdo con Williams (2002), las principales causas de la salinización en la mayoría de los ecosistemas acuáticos de agua dulce, se deben a la pérdida de cobertura vegetal, la descarga del agua residual proveniente de la agricultura, la excesiva extracción del agua de los mantos acuíferos, y por los procesos naturales de aridez.

Entre los sistemas acuáticos más afectados por el cambio global se encuentran los lagos someros (Williams 2001), mayormente expuestos a las fluctuaciones ambientales, que a causa del aumento de las temperaturas y consecuentemente de la evaporación, son más

sujetos a incrementos de la salinidad y a cambios del hidroperiodo (Fischlin et al. 2007; Nielsen & Brock 2009). Estos cambios constituyen una amenaza para la biodiversidad de los cuerpos de agua, afectando a la riqueza de especies y a la composición de las comunidades. En efecto, la salinidad representa uno de los principales factores que altera la estructura de las comunidades acuáticas, causando la desaparición de las especies que presentan una limitada tolerancia a los incrementos de salinidad (Williams et al. 1990). Sin embargo, a pesar de conocerse ya algunos de los impactos del aumento de la salinidad en los lagos y lagunas de agua dulce someras (e. g. Nielsen et al. 2003), apenas se ha investigado cómo de importante es la salinidad en comparación con otros factores de cambio climático y cómo ésta puede interactuar con ellos (Conde-Porcuna et al. 2018).

Finalmente, el factor más importante en el que interviene el cambio global, es la desecación de los ecosistemas acuáticos. Las alteraciones en el ciclo hidrológico del agua, pueden ocasionar un desequilibrio ambiental que se refleja, con mayor o menor intensidad en los ecosistemas acuáticos. Las variaciones atmosféricas inusuales, la pérdida o cambio de uso de suelo, la pérdida de cobertura vegetal, y las modificaciones del flujo natural del agua, son algunas de las causas por las que un ecosistema acuático puede llegar a la desecación (Maderrey-Rascón & Jiménez-Román 2001).

En definitiva, dada la vulnerabilidad de la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos a todos estos factores de cambio climático, la capacidad de resiliencia de cualquier especie se convierte en una característica fundamental para enfrentar las variaciones inusuales que se producen del cambio global, y que, de acuerdo con Jepessen et al. (2011), el estudio del zooplancton resulta una herramienta muy útil para medir este fenómeno. Además, el estudio del zooplancton en sus etapas de desarrollo más tempranas, podrían mostrar mayor susceptibilidad de respuesta a las variaciones de factores medio ambientales, al menos en la salinidad, de acuerdo con Skinner et al. (2001). Por otro lado, Rojo et al. (2012) también sugiere al zooplancton como una herramienta eficaz para monitorear la desecación de los

cuerpos de agua, siendo especialmente útil en aquellos en donde hay ausencia de peces (Gilbert et al. 2015).

1.2. El zooplancton como integrante esencial de las comunidades acuáticas

El zooplancton representa uno de los componentes principales de la comunidad de un ecosistema acuático, y juega un papel fundamental en la cadena trófica pelágica como nexo entre los productores primarios y los consumidores superiores (e.g. Vásquez-Yeomans 2012). Entre los principales componentes de las comunidades zooplanctónicas están los rotíferos y los cladóceros. Los rotíferos son un grupo compuesto por > 1,500 especies monogonontes (Serra et al. 2019) y 461 bdelloideos, la mayoría de las cuales son exclusivamente dulceacuícolas y solo se tiene registro de 70 especies marinas (Segers 2008). Por su parte, los cladóceros están representados por 620 especies, la mayoría de las cuales se encuentran en aguas continentales dulces y salinas, y solo algunas son marinas (Forro et al. 2008). Las comunidades de zooplancton pueden variar significativamente entre un cuerpo de agua y otro, aun cuando se encuentren a pocos metros de distancia. En realidad, en el mismo cuerpo de agua, se pueden encontrar diversos micro hábitats que determinarán la biodiversidad de las especies zooplanctónicas. Nandini et al. (2005) evidencian que la diferenciación de micro hábitats ocurre especialmente en ecosistemas acuáticos someros donde hay una clara demarcación entre la zona pelágica, litoral, y bentónica. En efecto, en estos ecosistemas, se puede observar un intercambio de especies entre la zona bentónica y la pelágica, y viceversa (Pontin 1966; Golladay & Hax 1995). Por otro lado, también se ha demostrado que la presencia de plantas en ecosistemas someros induce la formación de diferentes nichos que reducen la competencia, y consecuentemente, incrementa la coexistencia de especies (Pennak 1989). Por tanto, el incremento de vegetación en lagos someros incrementa la biodiversidad de invertebrados (Magalhaes et al. 2016).

Los rotíferos y los cladóceros son organismos que se usan como modelos experimentales en diversas ramas de la biología como son la toxicología, la ecología y la biología evolutiva, debido a que son relativamente fáciles de cultivar en condiciones de laboratorio, son de fácil manejo, tienen un tamaño accesible, y ciclos de vida cortos (Won et al. 2017). Además, geográficamente, estos organismos están ampliamente distribuidos y se pueden encontrar prácticamente en cualquier ambiente acuático (Segers H. 2008; Forro et al. 2008), por lo tanto, el uso de ellos como organismos modelo resulta muy adecuado ya que los resultados de los experimentos pueden semejar la realidad de la mayoría de los cuerpos de agua.

Los rotíferos monogonontes y la mayoría de los cladóceros son sexuales facultativos y presentan un modo de reproducción de partenogénesis cíclica (Figura 1). El ciclo partenogenético (fase asexual) empieza con la eclosión de huevos de resistencia en diapausa en el sedimento que dan lugar a hembras asexuales (amícticas) que son diploides. Estas hembras asexuales lograrán su madurez reproductiva y posteriormente darán lugar a un huevo partenogenético subitáneo (i.e. que eclosiona al poco tiempo de ser producido), este último, formado por un cigoto que proviene de un proceso de mitosis y que dará lugar a hijas genéticamente idénticas. La fase sexual se desencadena como respuesta a diversas condiciones ambientales como una alta densidad poblacional, dieta, fotoperiodo, cambios en la temperatura, y variaciones en la salinidad (Gilbert 1980; Pourriot & Snell 1983). Esta fase empieza cuando de un huevo diploide se desarrolla una hembra sexual (míctica) diploide que produce un huevo haploide. Si estos huevos haploides no son fecundados, dará cabida al nacimiento de machos haploides. Sin embargo, una vez que haya machos en la población, las hembras míticas que tiendan a producir huevos haploides pueden ser fecundadas, y producirán huevos diploides diapáusicos los cuales formarán bancos de huevos en el sedimento. Por otro lado, en algunas especies (por ejemplo, del complejo *Daphnia pulex*), se presenta la partenogénesis obligada, en donde dichas especies pueden formar estructuras de resistencia conocidas como huevo efipial apomítico o pseudoefipio (Colbourne & Hebert 1996), y también resisten condiciones de estrés (Vázquez et al. 1986).

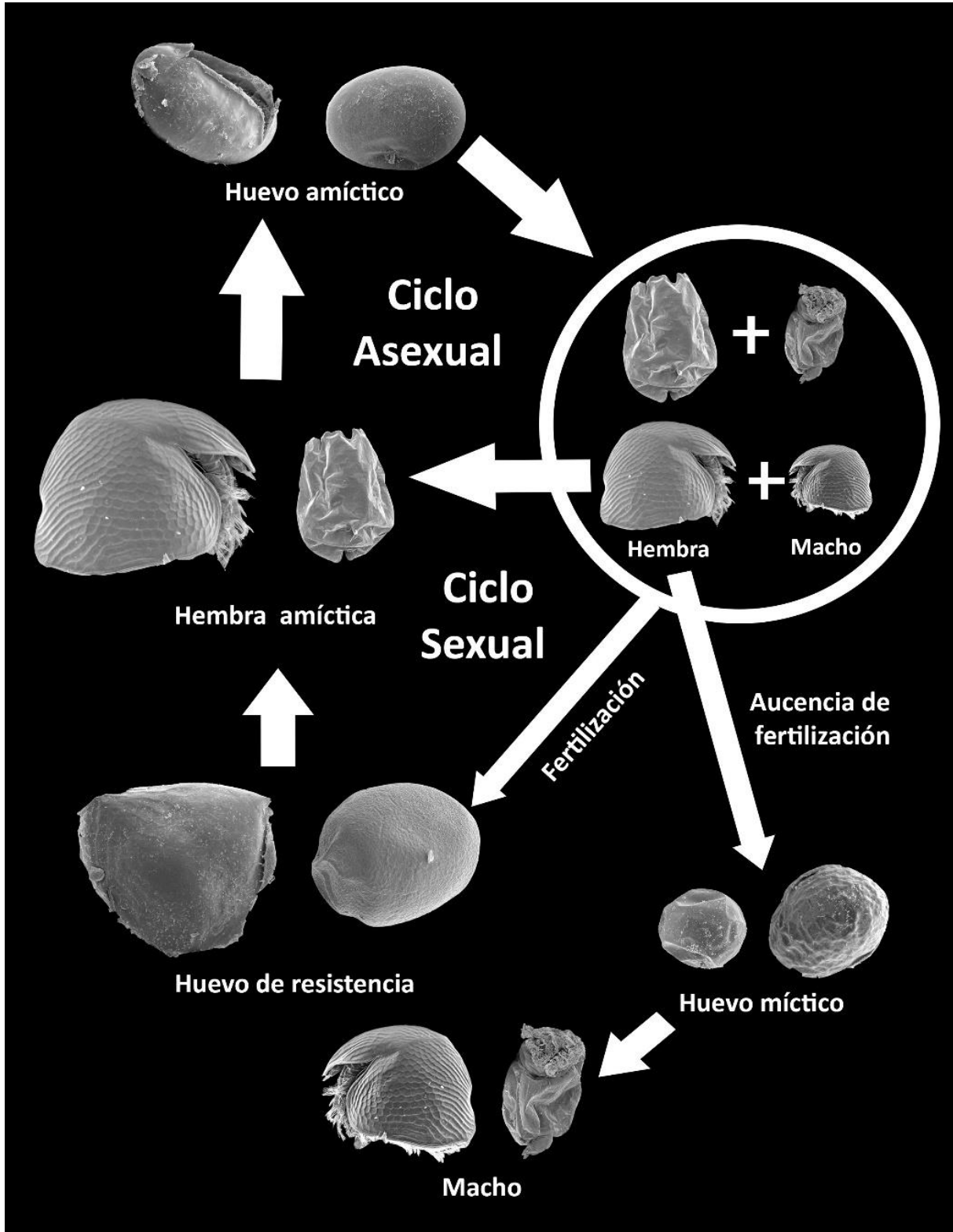


Figura 1. Ciclo de vida sexual y asexual de los rotíferos y cladóceros

1.3. Importancia del banco de huevos del sedimento en los lagos someros

La producción de huevos diapáusicos representa uno de los mecanismos evolutivos más notables en las comunidades de zooplancton, que surge en respuesta a las condiciones extremas del medio ambiente que llegarían a ser mortales para las formas activas (Fryer 1996; Ricci & Caprioli 1998; Radzikowski 2013). Los huevos diapáusicos confieren a las especies la capacidad de mantenerse en dormancia en los sedimentos por largos periodos de tiempo hasta que las condiciones sean nuevamente favorables (Gilbert 1974), entonces, estos vuelven a activar su metabolismo y desarrollo, restableciendo la comunidad en el cuerpo de agua (Pourriot & Snell 1983; Brendonck & De Meester 2003). Otra función ecológica importante de los huevos de resistencia, es la posibilidad de aumentar la dispersión de las especies, además, debido a la recombinación genética, las nuevas generaciones tienen mayor posibilidad de adaptación a los ambientes estacionales, temporales o efímeros que habitan (Brendonck & De Meester 2003).

La resiliencia es la capacidad de recuperación después de una perturbación (Brock et al. 2003) ya sea de un ecosistema, comunidad, y hasta especie, por lo tanto, representa un componente fundamental para la estabilidad ecológica (Johnson et al. 1996). En el zooplancton, los bancos de huevos son un refugio para un gran número de especies ante las condiciones desfavorables (Hairston 1996), por lo que se vuelve trascendente la cantidad de huevos viables, y muchas veces crucial, la eclosión de un solo huevo que logre la recuperación de las poblaciones de ciertas especies de zooplancton. A pesar de la importancia de los huevos diapáusicos para la recuperación de las comunidades en ambientes naturales, poco se sabe de su estructura morfológica y por tanto de sus diferentes formas de interacción con los diferentes tipos de ecosistemas.

Estudios morfológicos de los huevos de resistencia han demostrado especificidad en las estructuras de los huevos (Bogoslavsky 1967; Gilbert & Wurdak 1978), sin embargo, hasta el momento no se ha demostrado si esta especificidad se presenta en todas las especies

pertenecientes a los dos grupos de zooplancton. En efecto, existe muy poca información acerca del estudio morfológico de los huevos diapáusicos de rotíferos monogonontes y de cladóceros, además, existe mucha ambigüedad en las descripciones de las estructuras de los huevos de resistencia de ambos, rotíferos (Walsh et al. 2017) y cladóceros (Vandekerkhove et al. 2004). Esta ambigüedad se debe a la carencia de caracteres diagnósticos que permitan identificar especies por medio de los huevos de resistencia. Por ejemplo, Moreno et al. (2017) mediante análisis moleculares demostraron que algunos morfotipos de huevos diapáusicos de rotíferos no presentan características diagnósticas que permitan su diferenciación, en efecto mediante el análisis taxonómico solo identificaron 20 tipos de huevos, comparado con las 35 especies resultantes de los análisis moleculares. Además, Pourriot & Snell (1983) sugieren que, en algunos casos, pueden presentarse diferencias morfológicas entre los huevos de una misma especie, lo que podría llevar a una sobrestimación de especies. En este sentido, Duggan et al. (2002) evidencian la importancia de realizar más estudios taxonómicos mediante el análisis de microscopía electrónica de barrido que permitan reconocer las diferentes estructuras y así demostrar la posible existencia de especificidad en las estructuras de los huevos diapáusicos.

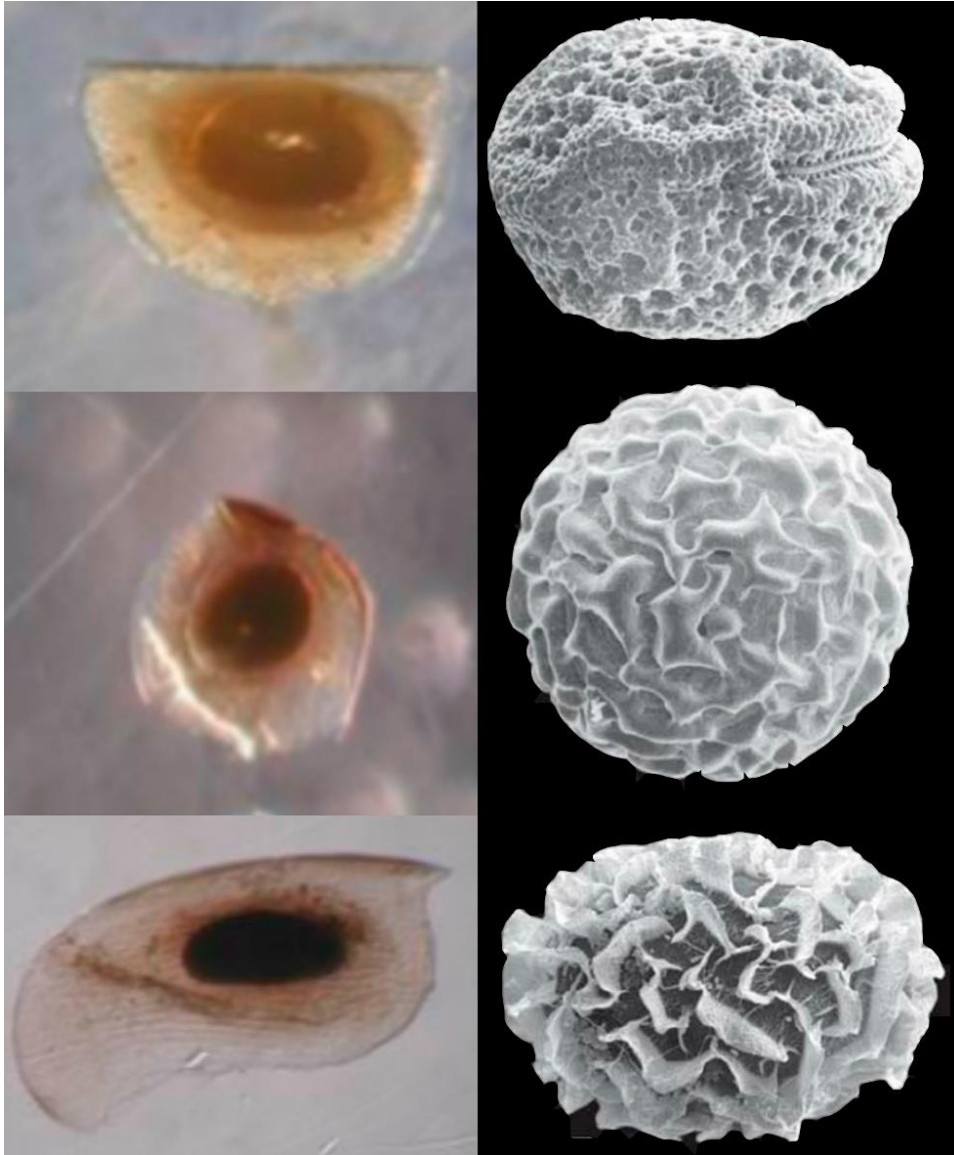


Figura 2. Diferentes tipos de ornamentaciones de huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros. Fotografías de los efiopios de cladóceros tomadas de Vandekerkhove et al. (2004) y de rotíferos tomadas de Segers (2004).

Con respecto a los patrones de eclosión de los huevos de resistencia, se ha demostrado que los principales factores que están implicados en la reducción de la viabilidad de eclosión son la exposición a eventos extremos como desecación (Vargas et al. 2019), congelamiento (Turowska 2012), presencia de sustancias tóxicas (Piscia et al. 2016), salinidad (Bailey et al.

2004), y temperatura (Minkoff et al. (1983), aunque actualmente no hay mucha información disponible al respecto. Por esta razón, el estudio de los bancos de huevos diapáusicos es muy importante debido a que representan bio-indicadores de los ecosistemas acuáticos y funcionan como reservorios de diversidad (Hairston 1996; Battauz et al. 2014), además permiten medir la productividad local y definir el funcionamiento trófico-productivo del sistema (Beers 1981; Jiang 2007). En el contexto del cambio global, la utilización del banco de huevos del zooplancton de los sedimentos lacustres proporciona una herramienta eficiente en el estudio de la biodiversidad, ya que está basada en un único muestreo y permite la detección de un mayor número de especies que las detectables en las comunidades activas presentes en la columna de agua (Vandekerkhove et al. 2005b; Santangelo 2014). Sin embargo, existen limitaciones al usar los huevos de resistencia para estudios ecológicos, por ejemplo, no todas las especies producen huevos de resistencia (King et al. 2005) y algunas especies varían su producción dependiendo de factores ambientales como la temperatura (Vanderkerhove et al. 2005a). Finalmente, esta técnica no se puede usar para estudiar los cambios durante cortos periodos de tiempo, o en cuerpos de agua formados recientemente como también lo sugiere Vanderkerhove et al. (2005b).

El estudio del cambio global mediante los huevos de resistencia del zooplancton puede ser una herramienta muy útil, ya que el zooplancton es una de las comunidades acuáticas más afectadas por los cambios ambientales debido a su limitada capacidad de dispersión activa (Nielsen & Brock 2009). A este respecto, para hacer frente a condiciones ambientales adversas, muchas especies del zooplancton han desarrollado respuestas adaptativas para garantizar su supervivencia. Una de estas estrategias es aumentar la resiliencia de las poblaciones, es decir, aumentar la capacidad de que una población de cierta especie recobre su equilibrio a pesar de los efectos y presiones de los cambios en el ecosistema donde viven. En el caso del zooplancton, la resiliencia dependerá de la capacidad de sus huevos de resistencia de eclosionar y recolonizar los sistemas acuáticos una vez que desaparece la presión ambiental.

Objetivos

El propósito general de esta tesis es analizar el uso de los huevos de resistencia del zooplacton como herramienta para la evaluación de impactos del cambio global sobre la biodiversidad. Se pretende evaluar, en un contexto global de cambio climático, la capacidad de resiliencia de las poblaciones de rotíferos y cladóceros del zooplancton de lagos y lagunas someras, con diferentes características geográficas y ecológicas, frente a incrementos esperables de temperatura, de salinidad, y de eventos extremos como la desecación de lagos y lagunas. Este objetivo se aborda tanto de una manera general como a nivel especie-específico. Para ello, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- 1) Detectar la posible presencia de caracteres diagnósticos especie-específicos en los huevos de resistencia que permitan su identificación taxonómica para su utilización en los estudios de biodiversidad de rotíferos y cladóceros.
- 2) Evaluar la eficiencia del uso del banco de huevos como herramienta complementaria para medir la biodiversidad del zooplancton en lagos someros.
- 3) Analizar los patrones de abundancia de huevos diapáusicos y riqueza de especies en el banco de huevos activo en relación con las características del hábitat en el que han sido producidos.
- 4) Analizar la variación en el éxito de eclosión de los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros frente a incrementos de temperatura y salinidad.
- 5) Analizar la respuesta de eclosión de los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros, frente a variaciones combinadas de temperatura y desecación.

6) Analizar el efecto combinado del incremento de la temperatura y la salinidad sobre rasgos ecológicamente relevantes de la historia vital de algunas especies de rotíferos y cladóceros eclosionados desde huevos diapáusicos.

Esta tesis está estructurada de la presente forma:

En el **Capítulo 1** se analiza la morfología de los huevos diapáusicos rotíferos y cladóceros mediante microscopía óptica y de barrido, para la identificación de estructuras específicas para cada especie bajo estudio. También se proporciona una descripción detallada de las varias estructuras observadas en los propágulos de las especies.

En el **Capítulo 2** se cuantifica la abundancia y riqueza de los huevos diapáusicos con aspecto saludable (como una medida del tamaño de la reserva de huevos viables), y la riqueza de especies, de cladóceros y rotíferos, en el banco de huevos activo de un conjunto de once lagunas y humedales, de distinta localización geográfica y con diferentes características limnológicas (fundamentalmente duración del hidropериodo y la salinidad). Los resultados se discuten en base a diferencias entre humedales no salinos, lagos hipersalinos y lagunas de alta montaña. Además, se compara la riqueza de morfotipos de los huevos diapáusicos de ambos grupos de zooplancton encontrada en los bancos de huevos dentro de cada ecosistema. Se explora también la relación entre los patrones de abundancia y riqueza de especies del banco de huevos y las características del hábitat en el que han sido producidos.

En el **Capítulo 3** se evalúa el efecto combinado del aumento de la salinidad y la temperatura del agua sobre la tasa de eclosión y el día de eclosión de los huevos de resistencia de especies de rotíferos y cladóceros colectados de los once ecosistemas bajo estudio en esta tesis. Las diferencias en la respuesta de estas variables se analizan a nivel global y según el tipo de ecosistema (humedales no salinos, lagos hipersalinos, y lagunas de alta montaña), y a nivel intraespecífico y entre especies cercanas filogenéticamente.

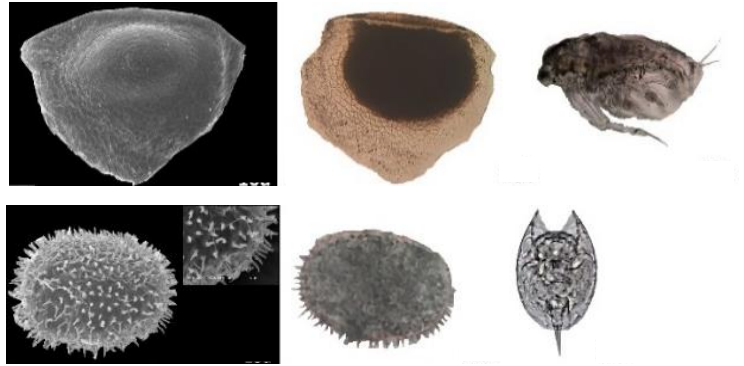
En el **Capítulo 4** se investiga qué efecto tiene la desecación del sedimento sobre el éxito de eclosión de los huevos de resistencia de cladóceros y rotíferos aislados de los diferentes tipos de ecosistemas acuáticos. Además, se explora el efecto que una alta temperatura extrema pueda tener sobre el efecto de la desecación de los huevos.

En el **Capítulo 5** se analiza, mediante experimentos de tablas de vida, el efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre rasgos ecológicamente relevantes del ciclo vital de rotíferos y cladóceros eclosionados desde huevos diapáusicos procedentes de hábitats de agua dulce y salina. La relevancia de este capítulo es que los organismos experimentales proceden de la eclosión de huevos diapáusicos bajo esas condiciones combinadas de temperatura y salinidad. Dichos huevos diapáusicos pueden presentar rasgos vitales diferentes a los de descendientes de huevos partenogenéticos subitáneos, los cuales, pueden o no, estar relacionados con las condiciones ambientales específicas en las que han eclosionado y a las que tienen que enfrentarse para una exitosa colonización del hábitat. Aquí, también se discuten los resultados tanto a nivel global como a nivel especie-específico. Así mismo, en este capítulo, se analizan las variaciones intraespecíficas de estos rasgos de historia de vida entre morfotipos de dos especies de rotíferos: *Brachionus quadridentatus* y *Lecane bulla*.

Por último, se presenta una síntesis de la tesis integrando los resultados más relevantes de cada capítulo.

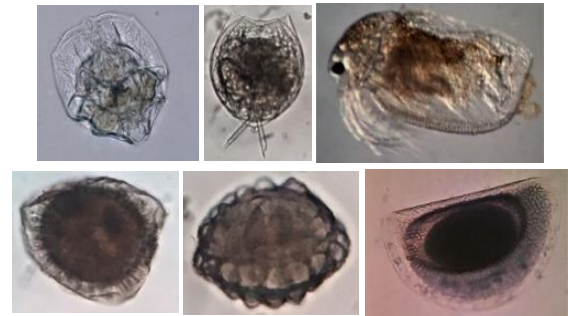
Capítulo 1

Identificación y caracterización morfológica de los huevos diapásicos.



Capítulo 2

Evaluación de la riqueza de los ecosistemas acuáticos, e identificación de algunos morfotipos de huevos diapásicos.

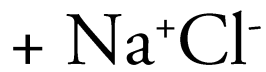
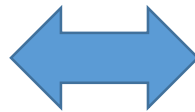


Capítulo 3

Evaluación de la respuesta de eclosión de huevos diapásicos a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad.

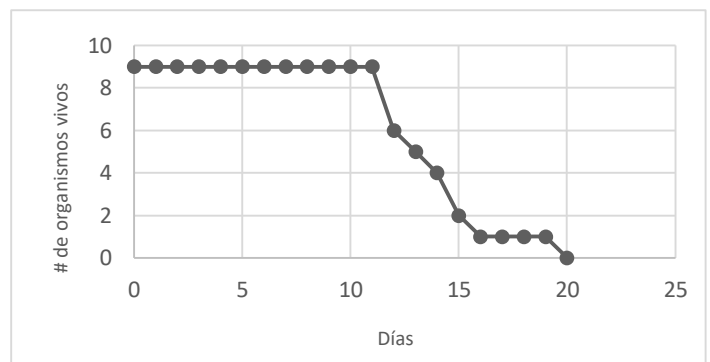
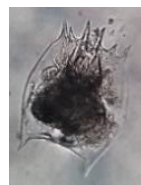
Capítulo 4

Análisis de los efectos de la desecación sobre la tasa de eclosión de los huevos diapásicos.



Capítulo 5

Realización de tablas de vida de rotíferos y cladóceros usando diferentes combinaciones de temperatura y salinidad.



3. Lugar de estudio

El estudio se realizó en once cuerpos de agua distribuidos en cinco áreas entre España y México. Se eligieron humedales no salinos, lagunas de alta montaña, y lagos hipersalinos para analizar la relación entre la variedad de características del hábitat y las propiedades de los bancos de huevos de resistencia del zooplancton. En España se muestrearon cinco humedales no salinos (Complejo Charca de Suárez: Álamo Blanco, El Taraje, El Trébol, El Lirio y Aneas), uno hipersalino (Fuente de Piedra), ubicados en regiones de climas templados (Charca de Suárez: 36° 43' 28.66"N, 3° 32' 27.34" O; Fuente de Piedra: 37° 6' N, 4° 44' O), y lagunas de alta montaña con etapas de congelamiento (Borreguil: 37° 03' 09.71"N, 3° 17' 59.11" O; Río Seco: 37° 03' 07.45" N, 3° 20' 44.31" O; Río Seco inferior: 37° 03' 06.04 "N, 3° 20' 31.10" O). En México los muestreos se realizaron en un lago volcánico con clima tropical (Rincón de Parangueo: 20° 25' 46" N, 101° 14' 48" O) y en un humedal no salino con clima semi-seco (El Cedazo: 21° 51' 32" N, 102° 15' 35" O). Las principales características morfométricas y físico-químicas de todos estos sistemas se reflejan en la Tabla 1.

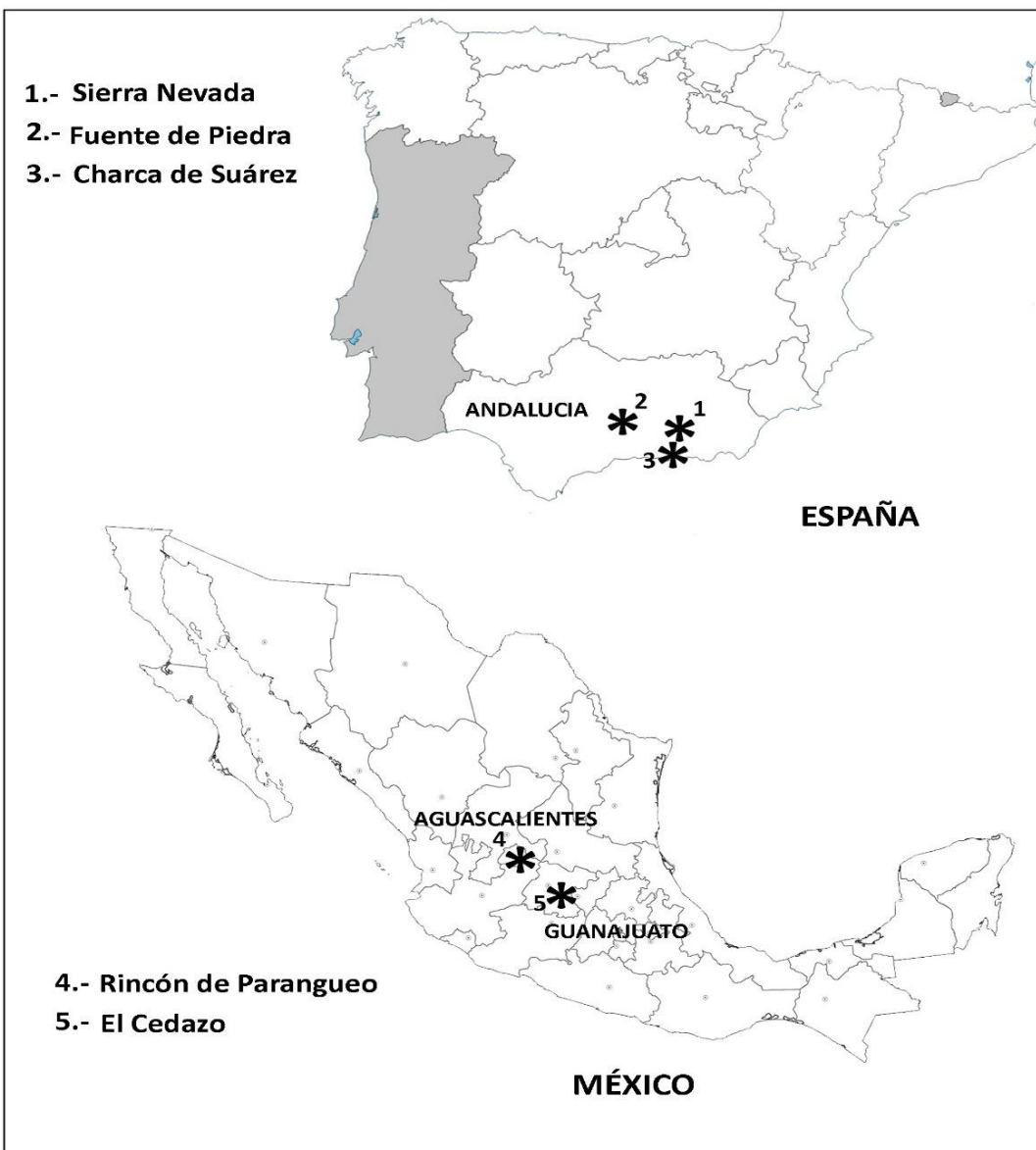


Figura 3. Mapa de España y México con las áreas de muestreo consideradas para el estudio.

3.1. Humedales no salinos

Los humedales son ambientes heterogéneos que albergan gran diversidad de especies vegetales y animales. Se ha demostrado una gran diversidad florística en más de 300 humedales (Magalhaes et al. 2016), así como diversidad en la fauna aviaria (Kantrud & Stewart 1984) y en artrópodos (Wettstein & Schmid 1999). Sin embargo, estos dos últimos estudios sugieren que la diversidad de aves y de artrópodos está relacionada con la alta riqueza de especies vegetales en los humedales. Además de constituir un reservorio de diversidad para muchas especies, los humedales también funcionan como sumideros de CO₂ (Hernández 2010).

Para este estudio se eligieron dos áreas consideradas como humedales no salinos. La primera fue un complejo de cinco humedales costeros conocido como Charca de Suárez (España) que se encuentra a unos metros de la mar y es el hogar de muchas aves migratorias, el lugar está protegido y cuidado por personal de la junta de Andalucía. Por otro lado, el parque recreativo El Cedazo (México), es un parque que también es el hogar de paso de una gran cantidad de aves migratorias, pero a diferencia de Charca de Suárez, las condiciones del cuerpo de agua no son reguladas por ningún personal, de hecho, la mayoría del tiempo el cuerpo de agua está eutrofizado y se encuentra dentro de la mancha urbana de la ciudad de Aguascalientes.

3.1.1. CHARCA DE SUÁREZ

Álamo Blanco (AB) - 1, El Taraje (TAJ) - 2, El Trébol (TRE)
- 3, Aneas (ANS) - 4, El Lirio (LR) -5



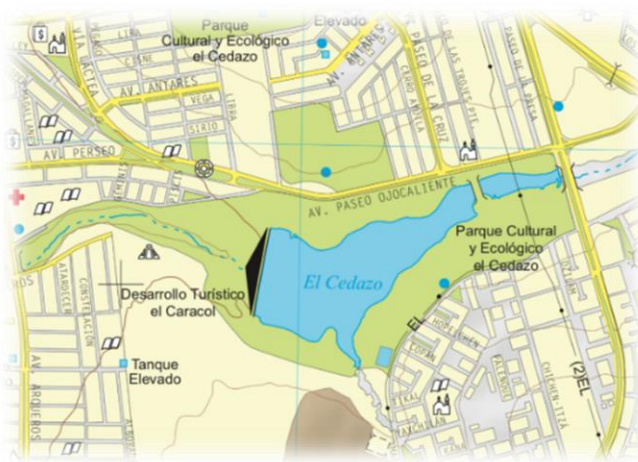
Imagen Topográfica obtenida de IGN 2019



Figura 4. Mapa y fotografías de los diferentes humedales no salinos que conforman Charca de Suárez

El complejo Charca de Suárez (Figura 4, Tabla 1) se encuentra en Motril (Granada) a 150 metros de la playa. A pesar de su cercanía con el mar, nos encontramos con humedales freáticos costeros de aguas dulces. El área está delimitada por 14.65 hectáreas y está compuesta por cinco cuerpos de agua. Con excepción de Álamo Blanco, del cual hay un manejo permanente sobre la inundación del lugar, los demás cuerpos de agua son perenes y presentan fluctuaciones por el aporte de aguas subterráneas procedentes del acuífero de Motril-Salobreña, como de las aportaciones del agua de retorno de los regadíos de la Vega. El Taraje, es un humedal somero con gran abundancia de vegetación acuática y presencia de peces. El Trébol y Aneas son los humedales con mayor profundidad y es donde se observa la mayor diversidad de aves acuáticas y migratorias, que aquí suelen anidar. Finalmente, El Lirio es un humedal somero con gran cobertura de vegetación acuática. En general, los cinco cuerpos de agua presentan aguas cristalinas y sus parámetros fisicoquímicos sugieren ecosistemas acuáticos meso-tróficos y oligotróficos (ver Tabla 1).

3.1.2. Arroyo el Cedazo



El Cedazo (CZ)

Imagen Topográfica de INEGI 2019



Foto autoría del Centro de educación ambiental, cultural y recreativo “El Cedazo”.

Figura 5. Mapa y fotografía de “El Cedazo”.

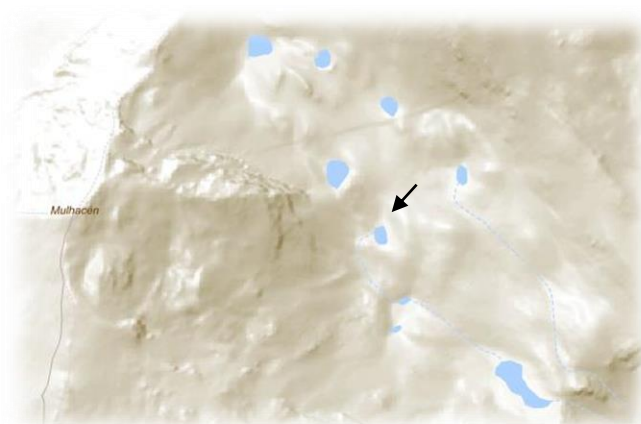
El parque recreativo y centro cultural “El Cedazo” se encuentra al oriente de la zona urbana del estado de Aguascalientes (Figura 5, Tabla 1). En el cauce de arroyo se han encontrado restos paleontológicos (Mooser 1980; Montellano 1990; Reynoso & Montellano 1994). También se caracteriza por presentar un gran flujo de diversidad de aves migratorias (CONABIO et al. 2007). El arroyo está regulado por una pequeña cortina hidráulica que permite en ese tramo el inundamiento permanente del cauce. El agua del arroyo usualmente se usa para el riego de las áreas verdes de la ciudad y generalmente contiene gran cantidad de materia orgánica, y su estado es eutrófico.

3.2. Lagunas de alta montaña

Las lagunas de alta montaña son ecosistemas acuáticos que se caracterizan por tener un periodo de congelamiento prolongado y solo un periodo estacional de deshielo. Dentro de este periodo de deshielo, el régimen hídrico puede variar de permanente a semi-permanente. Este régimen hídrico está relacionado con las dimensiones en tamaño y volumen del cuerpo de agua. Otra característica de las lagunas de alta montaña es que suelen ser ecosistemas muy hostiles para la vida, por ejemplo, las bajas temperaturas del agua, las escasas fuentes de energía, y la competencia intra e inter específica de las especies hacen que solo los organismos muy adaptados puedan sobrevivir (Battarbee et al. 2009).

Para el presente estudio se eligieron tres lagunas (Borreguil, Río Seco, Río seco Inferior) de Sierra Nevada (Granada, España). Se eligieron lagunas de tipo permanente como son Borreguil y Río Seco y semi permanentes como fue Río Seco Inferior. Las tres lagunas son oligotróficas con una limitada fuente de nutrientes para los organismos que lo habitan (Pérez-Martínez et al. 2020). De hecho, Reche et al. (2009) establece la importancia de la deposición de nitrógeno, fósforo, y calcio proveniente del polvo Sahariano y explica como ayuda este aporte de nutrientes a la dinámica de estas lagunas. En cuanto a la temperatura del agua de las lagunas oscila en su periodo más caluroso entre los 16-18°C (Pérez-Martínez et al. 2013; Morales-Baquero 1985). Sin embargo, debido al cambio global estas condiciones están variando impredeciblemente y como consecuencias el régimen hídrico de las lagunas podría variar y modificar en gran medida la estructura tan frágil y específica de estos ecosistemas acuáticos.

3.2.1. Laguna Borreguil



Borreguil (BG)

Imagen Topográfica
obtenida de ING 2019

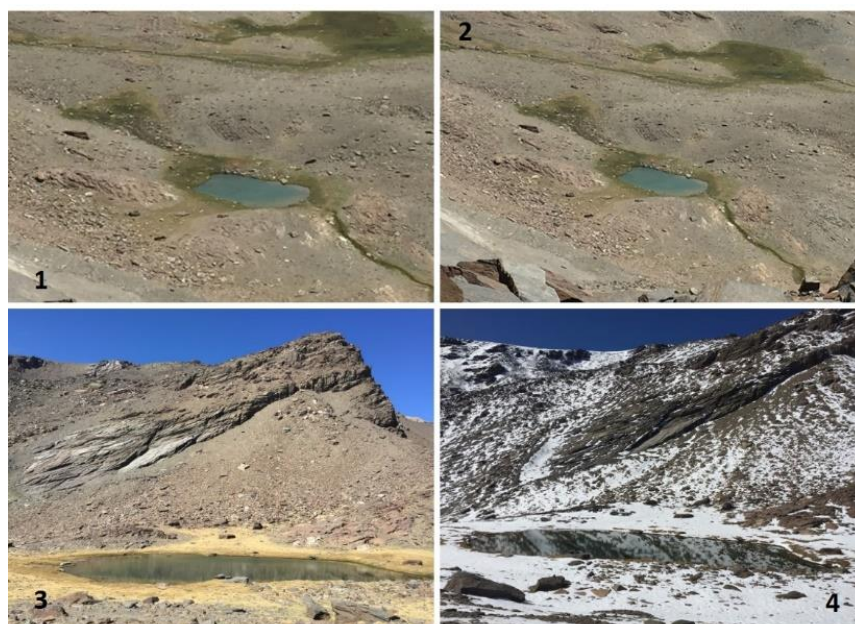


Figura 6. Mapa y fotografías del periodo completo de deshielo de la laguna de Borreguil ubicada en Sierra Nevada.

La Laguna de Borreguil (Figura 6, Tabla 1) también conocida como quinta laguna presenta un régimen hídrico permanente. La laguna se encuentra a una altura de 2978 m y sus aguas son oligotróficas. En el fondo de la laguna se observa una gran cantidad de algas filamentosas y sus dimensiones son de unos 60 m de largo por 25 de ancho.

3.2.2. Laguna de Río Seco



Río Seco (RS)

Imagen Topográfica
obtenida de ING 2019



Figura 7. Mapa y fotografías del periodo completo de deshielo de la laguna de Río Seco ubicada en Sierra Nevada.

La laguna de Río Seco (Figura 7, Tabla 1) es permanente, se ubica en el valle de Poqueira a una elevación de 2987 m. La extensión de la laguna es de aproximadamente 80 metros de largo y 20 de ancho. En el fondo de la laguna suele observarse una gran cantidad de algas filamentosas. La laguna tiene características oligotróficas y la temperatura del agua no suele sobrepasar los 18 °C aún en su época más calurosa. No hay presencia de peces y las condiciones extremas y la limitación de nutrientes en el agua, hacen de este ecosistema un lugar muy específico para la supervivencia de las especies acuáticas.

3.2.3. Laguna de Río Seco Inferior



Río Seco Inferior (RSI)

Imagen Topográfica
obtenida de ING 2019



Figura 8. Mapa y fotografías del periodo completo de deshielo de la laguna de Río Seco Inferior ubicada en Sierra Nevada.

La laguna de Río Seco Inferior (Figura 8, Tabla 1) es una laguna somera semi-permanente que puede permanecer congelada en parte de la época de deshielo. La pequeña laguna de aproximadamente unos 20 m de largo y 10 de ancho, se encuentra a una altura de 2964 m y presenta características oligotróficas que aunadas con los cambios poco predecibles en el ciclo hídrico hacen de la laguna un ecosistema acuático con condiciones muy extremas para la supervivencia.

3.3. Lagos hipersalinos

Estos, son cuerpos de agua que acumulan gran variedad de minerales en sus aguas debido a la presencia de periodos de desecación, o bien, por los escurrimientos de las lluvias que arrastran minerales de la tierra acumulándolas en los cuerpos de agua. En este estudio se consideraron dos lagos hipersalinos (Maar volcánico de Rincón de Parangueo y la laguna de Fuente de Piedra), con diferentes características. Por un lado, la laguna de Fuente de Piedra se caracteriza por ser una laguna que presenta periodos de desecación durante el año que empiezan en el verano (García et al. 1997), además es el habitat de una cantidad importante de flamencos y por ser una zona Ramsar y Reserva Natural por la Junta de Andalucía. Por otro lado, el maar volcánico de Rincón de Parangueo, generalmente se mantiene como un cuerpo de agua perene que obtuvo su hipersalinidad posterior a la fractura del cráter en los años 80's (Aranda-Gómez et al. 2013). Los maares volcánicos son cuerpos de agua que se forman por explosiones freatomagmáticas en las que persiste una intensa interacción agua/magma (Cano-Cruz & Carrasco Nuñez 2008). En la actualidad, el lugar sirve como un área de recreación y no tiene ninguna declaratoria de protección.

3.3.1. Laguna Fuente de Piedra



Fuente de Piedra (FP)

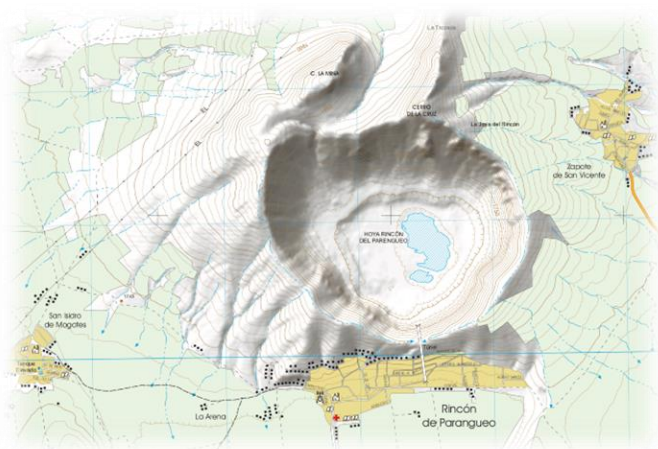
Imagen Topográfica
obtenida de ING 2019



Figura 9. Mapa y fotografía de la laguna Fuente de Piedra.

La laguna de Fuente de Piedra (Figura 9, Tabla 1) está ubicada en la provincia de Málaga, España. El área tiene un régimen de protección como Reserva Natural Laguna de Fuente de Piedra y una etiqueta Ramsar. Se encuentra situada al centro de una cuenca de drenaje cerrado y es de tipo somero. Su hidropериodo es temporal y la profundidad máxima que se ha observado es de 1.5 m. En la laguna se han registrado valores de 96 g/L de salinidad, también se sabe que presenta aguas clorurado sódicas, predominando las composiciones Cl-(SO₄)/Na-(Mg)-(Ca) que también pueden llegar a ser de Cl/Na-(Mg)-(Ca). El pH del agua suele ser superior a las 8 unidades con alcalinidad moderada (1,2 y 2,7 meq/L). En los últimos años, en condiciones de bajos niveles de inundación, se registraron elevados contenidos de amonio, fósforo total y nitrógeno total (Consejería del Medio Ambiente 2004).

3.3.2. Maar volcánico Rincón de Parangueo



Rincón de Parangueo (RP)

Imagen Topográfica
obtenida de INEGI 2019



Secuencia del hidropereodo del mar volcánico Rincón de Parangueo, ortofotos obtenidas de INEGI 2019.

Figura 10. Mapa y fotografías de la historia de la desecación del maar volcánico de Rincón de Parangueo.

El mar volcánico Rincón de Parangueo (Figura 10, Tabla 1) fue un gran lago hasta 1980, a partir de esa década, el cráter sufrió una fractura que permitió el escurrimiento del agua al subsuelo y consecuentemente la desaparición del lago en casi su totalidad como lo documenta Aranda-Gómez et al. (2013). En la actualidad, en el cráter se forman de dos a tres pequeños cuerpos de agua independientes (dependiendo de la época de lluvia) con características muy peculiares de las que no se tienen datos sobre sus componentes fisicoquímicos. Al momento, solo se ha documentado la presencia de una conductividad de hasta 165000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Armienta et al. 2008), pero estos datos se refieren a cuando solamente el cráter se componía de un solo cuerpo de agua. En este trabajo, se eligió el cuerpo de agua más grande debido a que es el único en el que se había reportado la presencia de organismos vivos de zooplancton (Guerrero-Jiménez et al. 2019). En este lugar, la mayoría de estudios se han enfocado en la geología por lo que no se tiene información al respecto de la flora y la fauna del lugar. Aunque existen relatos de algunas personas que sostienen la idea de que el agua tiene propiedades curativas mientras que otros afirman que el uso de esa agua para el riego de cualquier cultivo mata a las plantas, y hasta el momento no se había reportado presencia alguna de fauna acuática en el mar volcánico.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de los diversos cuerpos de agua estudiados

Ecosistema	Lago	T (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Sal. (g/L)	Prof. (m)	Área (ha)	Cl- <i>a</i> (µg/L)	Alcalinidad (meq/L)	Altitud (msnm)	Hidroperiodo	N
Alta montaña	BG	15	13.63	7	< 0.1	2.5	0.16	2.00	0.07	3020	permanente	N=10
	RS	14.7	22.2	7.1	< 0.1	2.4	0.46	1.94	0.16	3020	permanente	N=10
	RSI	10.8*	28.4*	6.8*	< 0.1*	0.5*	0.12*	2.76*	0.21*	3010*	temporal	N=3
Humedales no salinos	CZ	28	1043*	7.6*	0.5*	5*	23*	-	-	2000*	permanente	N=1
	AM	37.9	903*	8*	0.5*	0.30*	0.33*	34*	1.72*	6*	temporal	N=1
	TAJ	30	1573*	7.8*	0.75*	0.50*	0.44*	40.6*	5.15*	6*	permanente	N=1
	TRE	30	836*	8.8*	0.4*	3.5*	0.35*	28.3*	3.06*	6*	permanente	N=1
	ANS	30	1004*	8.7*	0.5*	1*	1.12*	6.6*	3.86*	6*	permanente	N=1
	LR	26	4376*	6.8*	2*	0.80*	0.19*	45.6*	3.53*	6*	permanente	N=1
Hipersalinos	FP	19	42000	8.15	85.78	1.5	1219	28	1.95	410	temporal	N=17
	RP	21*	100000	10.4	75	4.5*	3.69*	-	7.6	1686	temporal	N=2

Nota: Todos los datos con (*) representan los valores tomados *in-situ* para el trabajo, el resto, son los valores medios de los datos ambientales de muestras de la columna de agua en la época libre de hielo recopilados en este estudio y estudios previos de Sánchez-Castillo et al. (1989), Morales-Baquero et al. (1999, 2006 a, b), Reche et al. (2005), para Borreguil (BG) y Río Seco (RS), y Morales-Baquero et al. (2019), para Río Seco inferior (RSI). Para las restantes lagunas se han utilizado los trabajos de García & Niell (1993), Consejería de Medio Ambiente (2015) y Batanero et al. (2017) para los valores medios anuales en Fuente de Piedra (FP); y Armienta et al. (2008) para Rincón de Parangueo (RP) más los valores *in-situ* obtenidos en este estudio. El único muestreo en los humedales no salinos se realizó en los meses de agosto (lagunas de Álamo blanco (AM), Taraje (TJ), El Trébol (TRE), Aneas (ANS y Lirio (LR)) y de mayo (El Cedazo (CZ)).

T= temperatura

Prof= profundidad máxima

Sal= salinidad

Cl-*a*= clorofila

N= número total de datos obtenidos de la literatura y los tomados *in-situ* para este trabajo

4. Metodología general

En esta sección se describe la metodología general de campo llevada a cabo para el muestreo del banco de huevos diapáusicos del zooplancton y de la columna de agua en los once ecosistemas de estudio de esta tesis recogidos en la Tabla 1. Asimismo, se describe la metodología general de laboratorio para la extracción y aislamiento de los huevos de resistencia. Los métodos específicos de cada capítulo se describen en los capítulos correspondientes.

Metodología de campo

Muestreo del banco de huevos diapáusicos

El muestreo del banco de huevos diapáusicos se realizó en una sola visita a cada sistema. En España, los muestreos se hicieron durante los meses de julio (laguna hipersalina de Fuente de Piedra y lagunas de alta montaña de Sierra Nevada) y agosto (humedales no salinos de Charca Suárez) de 2017; los cuerpos de agua de México (El Cedazo y Rincón de Parangueo) se muestrearon en mayo del 2018. Todos los lagos, lagunas, y humedales, al momento de la toma de los sedimentos presentaron agua, con excepción de la laguna de Fuente de Piedra.

Se tomaron tres muestras de sedimento superficial (los primeros 3 cm) en la zona más profunda de cada sistema. Las muestras de sedimento se extrajeron con un muestreador de sedimento tipo core o cilindro (Figura 11 paso 1) que consiste en una vara de 2 m de largo y un tubo acrílico de 50 cm (diámetro: 5.2 cm), (ver Vandekerkhove et al. 2005a para más detalles). Los cores de sedimento se cortaron *in situ* (Figura 11 paso 2) y cada submuestra se guardó en una bolsa diferente de plástico resistente, debidamente etiquetada y cerrada herméticamente (Figura 11 paso 3) para minimizar las pérdidas de humedad durante el transporte al laboratorio. En el laboratorio, las muestras se

conservaron en oscuridad a 4°C hasta su posterior análisis. Solo usamos los tres centímetros superiores del sedimento porque es el que comprende el banco de huevos de zooplancton viable (también denominado sedimento activo) (Pérez- Martínez et al. 2013).



Figura 11. Procedimiento de colecta de sedimentos para el estudio del banco de huevos diapáusicos.

Toma de parámetros fisicoquímicos de la columna de agua

Se realizó un muestro básico de parámetros físico-químicos de la columna de agua de los once cuerpos de agua en estudio. El punto de muestreo se situó en la vertical de la parte más profunda de cada laguna y suficientemente separado de la zona litoral. Se midió *in situ* la temperatura, el pH, y la conductividad del agua con una sonda multiparamétrica (EUTECH PC300, Figura 12 A) previamente calibrada. Además, se tomó una muestra de agua integrada usando, cuando la profundidad del sistema lo permitía, una columna de muestreo de 1 m de longitud y 10 cm de diámetro para medir, posteriormente en laboratorio, la alcalinidad total, y en Charca Suárez, también la concentración de clorofila a (Clo-a). Las muestras de agua se recogieron en botellas de plástico (tipo PET), y una vez en el laboratorio se filtraron con filtros de microfibra de vidrio Whatman GF/F (0,7 μm de tamaño de poro) de 47 mm de diámetro (Figura 12 B). La alcalinidad total (meq/L) se midió con un tritador (Figura 12 C) mediante una titulación con ácido (APHA 1992).



Figura 12. Instrumentos usados para la medición de parámetros físicos y químicos del agua de los ecosistemas muestreados. A: Sonda paramétrica, B: Filtros de fibra de vidrio, C: Titriador para medir la alcalinidad.

Metodología de Laboratorio

Aislamiento de los huevos de resistencia

Los huevos de resistencia de rotíferos y los epiplas de cladóceros se aislaron del sedimento mediante la técnica de flotación con sacarosa (Onbe 1978), sin recurrir a la sonicación de la técnica estándar ya que se vio que no afectaba al aislamiento de dichos huevos. Para ello, de cada submuestra de cada sistema, se tomaron 20 g de sedimento (en peso húmedo) repartidos por igual en 2 tubos tipo “falcon” de polipropileno para centrifuga de 50 ml (Figura 13, paso 1). A cada tubo se añadió una cantidad de solución de sacarosa (1000 g /L) necesaria para resuspender el sedimento e igualar el peso total de cada tubo hasta 35 g (Figura 13, paso 2). Posteriormente, los tubos se centrifugaron a 20,000 rpm durante 15 minutos con una centrífuga NAHITA (Model 2655) (Figura 13, paso 3). A continuación, el sobrenadante se filtró a través de una malla de Nylon de 10 μm de tamaño de poro usando una bomba de vacío (BUCHI, B-169 *Vaccum-System*, Figura 13, paso 4). Para eliminar el

exceso de sacarosa, el filtro se lavó un par de veces con agua destilada y posteriormente se lavó el filtro en un vaso de precipitado de 50 ml que se examinaba en su totalidad para aislar todos los huevos diapáusicos.

El reconocimiento de los morfotipos de los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros se realizó en una primera fase mediante un microscopio estereoscópico OLYMPUS 3060. Posteriormente se identificaron los morfotipos con el uso de un microscopio invertido (Leitz, Fluovent Fu) en aumentos de 20x y 40x. Los huevos con características similares y con aspecto saludable se iban agrupando y contando para ser distribuidos de forma similar en todos los tratamientos usados para los diferentes experimentos.

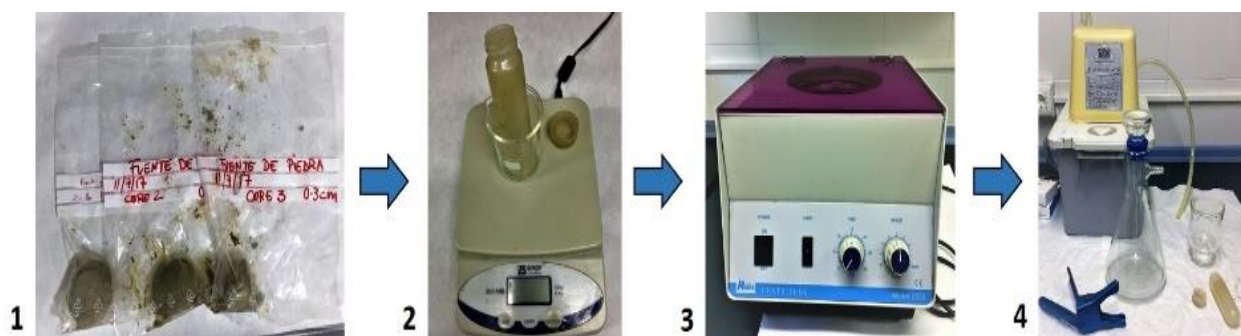


Figura 13. Método para obtener los huevos diapáusicos de los sedimentos colectados.

Una vez obtenidos todos los huevos diapáusicos posibles, para los experimentos posteriores (ver detalles en las metodologías de cada capítulo), los huevos se colocaban aleatoriamente e individualmente en cada pozo de una placa de 96 pocillos con volumen de 250 μ l y se cubrían con 200 μ l de agua con el medio salino y en la temperatura correspondiente con un fotoperiodo también seleccionado de acuerdo al experimento (Figura 14).

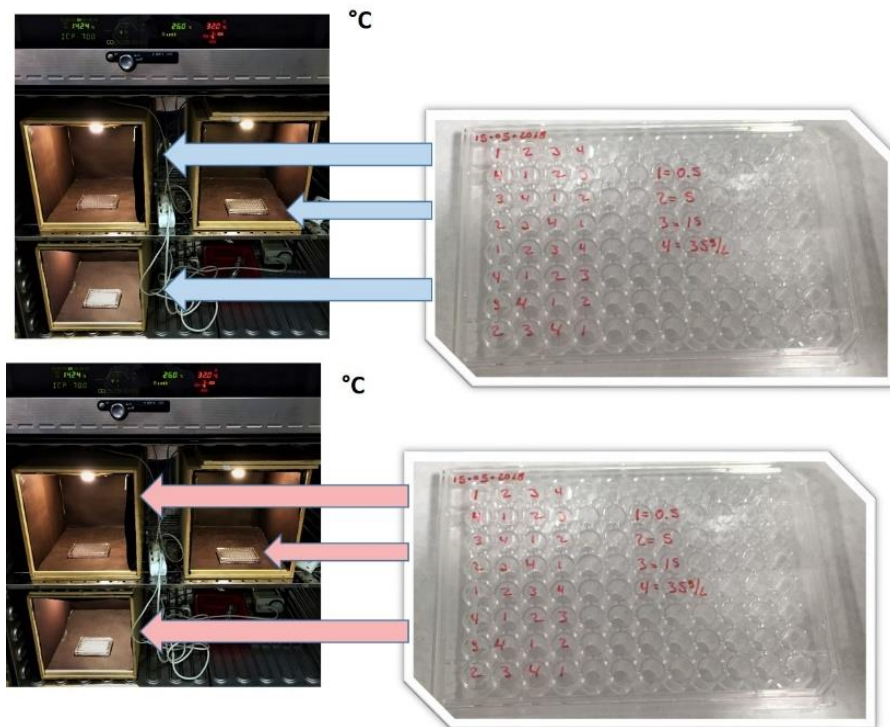


Figura 14. Cámaras bioclimáticas con cajas opacas para realizar experimentos de eclosión de quistes a diferentes temperaturas. Para los diferentes experimentos en donde se necesitaba de eclosión, se utilizaron las 6 cajas opacas aclimatadas en diferentes temperaturas y salinidades, dependiendo del experimento a realizar.

CAPÍTULO I

**ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA MORFOLÓGICA DE LOS
HUEVOS DIAPÁUSICOS COMO HERRAMIENTA PARA
LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE ROTÍFEROS Y
CLADÓCEROS**

Introducción

Los organismos con ciclos de vida cortos, como los rotíferos y los cladóceros, presentan una gran variabilidad espacial y temporal en la estructura de la comunidad del zooplancton (Arnott et al. 1998; De Meester et al. 1999; Grover 1999). Para poder representar la totalidad de la diversidad de las especies en la columna de agua, es necesario realizar múltiples muestreos a lo largo de diferentes estaciones y años (Arnott et al. 1999; Vandekerkhove et al. 2004). En este sentido, el estudio de la diversidad del banco de huevos en el sedimento de los lagos, puede representar una metodología complementaria rentable y eficiente, ya que un único muestreo permite evaluar la estructura de las comunidades y la diversidad de las especies de zooplancton (Vandekerkhove et al. 2005a). Esto es aplicable principalmente a los ecosistemas temporales y lagos pequeños y poco profundos, los cuales están más sujetos a factores de estrés ambiental repentinos que pueden inducir la producción de huevos diapáusicos (Schroeder 2001), mientras que la producción de huevos diapáusicos es muy variable en lagos más profundos bajo diferentes condiciones ambientales (Nevalainen et al. 2018).

May (1986), fue la primera en sugerir el uso de los huevos diapáusicos para el estudio de la diversidad de rotíferos mediante un único muestreo, señalando cómo los bancos de huevos colectados con un solo muestreo en diferentes puntos del mismo lago, presentaron una diversidad de especie igual a la encontrada en la columna de agua durante un periodo de seis años. Resultados similares fueron encontrados para cladóceros por Crispim & Watanabe (2001) y Vandekerkhove et al. (2005a). En el primer estudio se encontró una mayor riqueza de especies en los bancos de huevos que en la comunidad activa de un reservorio semiárido de Brasil. En el estudio de Vandekerkhove et al. (2005a) se muestra como los huevos diapáusicos de los cladóceros colectados en un único muestreo presentaron la misma riqueza de especies que las muestras de la comunidad activa colectadas durante un periodo de tiempo de cinco años. En este sentido, Vandekerkhove (2005b) afirmó que el estudio de la morfología de los efipios puede incluso ser un mejor

método para detectar especies de cladóceros que el estudio de la comunidad activa. Por lo tanto, los huevos de resistencia pueden actuar como un reservorio de la diversidad de especies de zooplancton en los lagos. Además, los huevos de resistencia pueden ser usados como indicadores de la calidad del agua en estudios de monitoreo de calidad de la misma y proveer información del estado de los ecosistemas acuáticos y sus cambios a lo largo del tiempo (Jeppessen et al. 2011).

Por lo tanto, la correcta identificación de los huevos de resistencia es fundamental para su uso en el estudio de la estructura de las comunidades. Los huevos diapáusicos pueden presentar una gran variabilidad estructural, incluso dentro de la misma especie, que puede ser inducida por diferentes condiciones ambientales, la presencia de contaminantes, la disponibilidad de alimentos y diferente densidad de población, entre otros (Piscia et al. 2012, 2016). La falta de caracteres diagnósticos claros, hasta ahora, ha impedido el uso de la morfología para la identificación de las especies mediante los huevos, especialmente en rotíferos (Brendonck & De Meester 2003). La incapacidad de distinguir los huevos de resistencia de los rotíferos de los huevos pertenecientes a otra microfauna, que también presentan ornamentación similar en la superficie, puede, por ejemplo, llevar a la sobrestimación de la riqueza de especies (Duggan et al. 2002). Además, la falta de uniformidad en las descripciones taxonómicas de las características de la superficie de los huevos y el uso de una terminología inexacta dificulta aún más la identificación morfológica de las especies (Walsh et al. 2017). Por lo tanto, es sumamente importante estandarizar la nomenclatura de las ornamentaciones presentes en la superficie de los huevos diapáusicos para usarlos como herramienta taxonómica de identificación a nivel de especie. En vista de lo anterior, hasta el momento, el uso de técnicas moleculares representa el mejor método de identificación de los huevos diapáusicos. Estas técnicas moleculares se han utilizado ampliamente debido a su gran aproximación para identificar organismos cuya identificación es difícil debido a la carencia de caracteres taxonómicos o por ser organismos crípticos (Hebert et al. 2004; Birky et al. 2005; Puillandre et al. 2012; Moreno et al. 2017). Moreno et al. (2017) sugiere que el mejor método para la identificación de especies a partir de huevos

de resistencia es el código de barras del ADN. En efecto mediante esta técnica los autores identificaron un mayor número de taxa (35), comparado con los (20) tipos de huevos de resistencia observados mediante identificación taxonómica.

Por otro lado, mediante microscopia electrónica de barrido y microscopía óptica, Gilbert & Wurdak (1978) observan una clara diferencia entre la morfología de los huevos de resistencia de cuatro especies del rotífero *Asplanchna*. Vandekerkhove et al. (2004) también encuentra una correlación positiva entre los efitios de cladóceros y la riqueza de las especies obtenida eclosionando los huevos diapáusicos. Sin embargo, los autores solo usaron microscopía óptica, por lo que se podría estar subestimando la riqueza de las especies debido a que no en todos los casos las especies presentaron especificidad en sus morfotipos. En este contexto, Duggan et al. (2002) remarca la importancia de incrementar el número de estudios taxonómicos con el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) para identificar características que puedan ayudar a identificar a las especies de rotíferos y cladóceros.

El objetivo del presente trabajo fue identificar caracteres diagnósticos en los huevos diapáusicos, mediante el uso del microscopio óptico (MO) y MEB, con el fin de poder usar dichos caracteres para la identificación de especies de rotíferos y cladóceros. Para este propósito, se analizó la morfología de 3780 huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros por medio de microscopía óptica y MEB, y se comparó la resolución de ambos microscopios.

Material y Métodos

Preparación de los huevos diapáusicos para MO

Los huevos diapáusicos colectados de los sedimentos fueron lavados y separados por similitud. Posteriormente, se colocaron aleatoriamente e individualmente en una placa de 96 pocillos de poliestileno para hacerlos eclosionar en condiciones de laboratorio (cámara

bioclimática con un fotoperiodo de 16:8 luz/oscuridad, a una temperatura de 15 °C, con una intensidad de luz blanca de $345.50 \pm 20.54 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$). Una vez eclosionados los huevos de resistencia, los organismos se identificaron mediante las claves taxonómicas para rotíferos de Koste (1978) y para cladóceros con las claves taxonómicas de Alonso (1996), usando un microscopio invertido de la marca Leitz Fluovent Fu. Cuando no se logró eclosionar a los organismos, la identificación de los huevos de resistencia se realizó mediante la descripción proporcionada en Moreno et al. 2017 para rotíferos y de los efipios mediante Vandekerkhove et al. (2004) para cladóceros. Independientemente de si los huevos diapáusicos pudieron eclosionar o no, siempre se tomó una fotografía de cada huevo diapáusico con un microscopio invertido a una magnificación de 20x y 40x para tener certeza de que organismo eclosionó de cada huevo, además de poder separar huevos similares para posteriormente tomar fotografías en el MEB.

Preparación de los huevos diapáusicos para el MEB

Para analizar las ornamentaciones de los huevos diapáusicos encontrados, cuando era posible, se separaban 30 huevos de cada morfotipo observado, tanto para rotíferos como para cladóceros. Los huevos se separaban y se fijaban en Formol al 4%, posteriormente se deshidrataron en alcoholes graduales empezando con 60% hasta llegar a 96%. Una vez deshidratados, se procedía a realizar el punto crítico, se montaban en un soporte de aluminio específico para el uso del MEB (1cm de altura x 1.2 cm de diámetro) y se cubrían con oro para finalmente ser observados en el MEB con modelo JEOL 5900 y obtener las fotografías necesarias de la ultra estructura de los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros.

Caracterización de los huevos diapáusicos

Para identificar los huevos diapáusicos a nivel especie, seis características fueron observadas y descritas mediante MO y MEB: tamaño de huevo/efipio, forma del

huevo/efipio, color del huevo/efipio, tamaño del espacio extra-embriónico, presencia de ornamentación o estructuras accesorias, y tipo de ornamentación o estructura accesoria. Para entender mejor los componentes estructurales de los efipios a nivel género, se realizaron disecciones de los efipios de los cladóceros en MEB.

Tamaño del huevo/efipio

El tamaño fue la primera característica que se usó para distinguir entre especies, de hecho, los huevos diapáusicos fueron separados por similitud de tamaño, en rotíferos y cladóceros.

Forma del huevo/efipio

Aunque se observaron en algunos casos diferentes formas en los huevos de resistencia de rotíferos, la mayoría de las veces eran de forma redonda u oval. Por lo tanto, la forma como carácter no se consideró como diagnóstico por sí solo, pero cuando el huevo presentaba irregularidades en la forma, sí se consideraban como caracteres diagnósticos (Figura 1.1: 2)

Color del huevo/efipio

En este estudio, el color se observó mediante MO y solo permitió la identificación a nivel género de los huevos de resistencia o efipios, tanto de rotíferos como cladóceros.

Espacio extra-embriónico

El espacio extra-embriónico solo se puede observar en las especies de rotíferos, aunque sí está presente en los efipios de cladóceros. El espacio-extraembriónico se define como el espacio entre la capa que envuelve al embrión y la capa consecutiva a este. Este espacio solo se observa mediante el MO y varía en tamaño dependiendo de las especies. En este trabajo, se clasificó el tamaño extra-embriónico en tres categorías: Pequeño, cuando el

espacio cubre un área $1/8$ respecto al total área del huevo (Figura 1.1: 5b), Mediano, cuando el espacio cubre un área $1/4$ respecto al total área del huevo (Figura 1.1: 3b), Grande, cuando el espacio cubre un área $1/2$ respecto al total área del huevo (Figura 1.1: 9b). La aproximación se realizó visualmente dividiendo el área del espacio extra-embriónico entre el área total del huevo.

Ornamentación y estructuras accesorias

Se consideraron como ornamentación todos los caracteres observados en la superficie de la capa más externa de los huevos diapáusicos, como lobulos, arrugas, pequeños orificios, pequeñas esferas, y surcos. Algunos huevos/efipios también presentaban estructuras accesorias adicionales como es el caso de espinas y pedúnculos (Figura 1.2 y Figura 1.3).

Lóbulos en huevos de resistencia

Se definieron a los lóbulos como protuberancias redondeadas en la superficie de los huevos de resistencia. Esta ornamentación fue observada tanto en MO como MEB (Figura 1.1: 10)

Arrugas en huevos/efipios

Se nombraron como arrugas a todos los pliegues que se podían observar en la capa externa de los huevos diapáusicos, estos difieren de los surcos debido a que son irregulares y no siguen un patrón.

Pequeños orificios en huevos /efipios

Los pequeños orificios se observaron en la superficie de la capa más externa de los huevos, variaron en cantidad y tamaño. Esta ornamentación solo se logra ver mediante el uso del MEB (ver flechas, Figura 1.1: 6a, 8a; Figura 1.2: 5b).

Pequeñas esferas en huevos/efipios

Las pequeñas esferas se pueden observar como estructuras muy redondeadas de aproximadamente 0.5 μm , se observan en la superficie del efipio (Figura 1.2: 3b). Estas estructuras solo son visibles con MEB.

Surcos en huevos/efipios

Los surcos son ornamentaciones suaves que siguen algún patrón. Estas estructuras se pueden observar apropiadamente con el MEB, aunque en algunos casos, también se pueden observar con el MO. Los surcos se clasificaron primeramente en cóncavos o convexos, posteriormente, por su forma (longitudinales, irregulares, redondeados, geométricos).

Espinas en huevos/efipios

Algunas especies presentaron espinas en la superficie de los huevos diapáusicos, esta adaptación, usualmente está relacionada con la defensa hacia los depredadores (Beauchamp 1952; Halbach 1970) y para restar movimiento (Wesenberg-Lund 1930), (Figura 1.1: 15; Figura 1.2: 8).

Pedúnculos en huevos/ efipios

En algunas especies, los pedúnculos se encontraban adheridos a la porción posterior de los efipios, los pedúnculos se formaban mediante el desprendimiento del margen ventral de la coraza del cladóceros (Figura 1.2: 6, 12).

Resultados

Un total de 3780 huevos fueron analizados. Los huevos analizados pertenecían a 12 especies de rotíferos repartidos en 5 géneros, *Brachionus*, *Filinia*, *Hexarthra*, *Lecane*, and *Lepadella*; y 11 especies de cladóceros repartidos en 8 géneros, *Alona*, *Ceriodaphnia*, *Chydorus*, *Daphnia*, *Dunhevedia*, *Moina*, *Simocephalus*, y un Chydoridae que no se identificó (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Numero de huevos diapáusicos colectados por especie de rotífero y cladocero para cada cuerpo de agua muestreado y el total de organismos eclosionados de cada especie.

		ROTÍFEROS			CLADÓCEROS			
	Especies	Lagos/huevos por lago	# de eclosiones	Especies	Lagos/ huevos por lago	# de eclosiones		
1	<i>Brachionus angularis</i> A	CZ	(304)	81	<i>Alona quadrangularis</i>	RS	(53)	2
		TAJ	(2)	0				
		TRE	(2)	1				
		ANS	(16)	5				
2	<i>B. angularis</i> B	CZ	(120)	28	<i>A. rectangula</i>	BG	(49)	0
3	<i>B. bidentatus</i>	TAJ	(44)	7	<i>Alona</i> sp.	RSI	(118)	5
		ANS	(33)	17				
		LR	(32)	3				
4	<i>B. calyciflorus</i>	AB	(35)	1	<i>Ceriodaphnia pulchella</i>	TAJ	(24)	0
		ANS	(26)	2		TRE	(4)	0
		LR	(4)	0		ANS	(24)	3
						LR	(3)	0
5	<i>B. dimidiatus</i>	RP	(430)	28	<i>Chydorus sphaericus</i>	RS	(11)	1
						RSI	(10)	0
6	<i>B. quadridentatus</i> A	AB	(5)	1	<i>Daphnia pulicaria</i>	RS	(500)	0
		TAJ	(90)	45				
		TRE	(62)	24				
		ANS	(76)	34				
		LR	(10)	2				
7	<i>B. quadridentatus</i> B	TAG	(8)	2	<i>Daphnia pulex</i>	BG	(50)	0
		TRE	(8)	1				
		ANS	(11)	4				
8	<i>B. manjavacas</i>	FP	(96)	27	<i>Daphnia</i> sp	TAJ	(28)	0
						TRE	(22)	7
						LR	(6)	1
9	<i>B. paranguensis</i>	RP	(420)	24	<i>Dunhevedia crassa</i>	LR	(25)	4
10	<i>Filinia terminalis</i>	CZ	(28)	4	<i>Moina salina</i>	FP	(94)	17
		TAJ	(6)	0				
11	<i>Hexarthra fennica</i>	FP	(74)	35	<i>Simocephalus exspinosus</i>	TRE	(34)	0
						ANS	(30)	3
						LR	(26)	0

Tabla 1.1. continuación

	Especies	Lagos/huevos por lago	# de eclosiones		Especies	Lagos/ huevos por lago	# de eclosiones	
12	<i>Hexarthra</i> sp.	RP	(110)	1	Chydoridae	AB	(4)	0
					no identificado	TAJ	(8)	0
13	<i>Lecane bulla</i>	TAJ	(144)	5				
		TRE	(186)	31				
		ANS	(128)	12				
		LR	(74)	13				
14	<i>Lecane</i> sp.	TAJ	(25)	0				
		TRE	(44)	4				
		LR	(8)	2				
15	<i>Lepadella patella</i>	RS	(6)	2				

Nota: Acrónimos de los cuerpos de agua muestreados: Álamo Blanco (AB), El Taraje (TAJ), El Trébol (TRE), Aneas (ANS), El Lirio (LR), El Cedazo (CZ), Borreguil (BG), Río Seco (RS), Río Seco Inferior (RSI), Fuente de Piedra (FP), Rincón de Parangueo (RP).

Diseño general de los huevos diapásicos de rotíferos y cladóceros

En rotíferos, el diseño general de los huevos de resistencia está representado por dos capas, una capa externa que es la que está ornamentada y una capa interna que es la que contiene al embrión. Estas dos capas, usualmente están separadas por un espacio extraembrionario (Figura 1A). En el caso de cladóceros (Anomopoda), los huevos de resistencia están envueltos por una estructura ornamentada llamada efipio. Dentro del efipio, los huevos muestran una capa externa que envuelve al huevo o huevos de resistencia y posteriormente una capa interna que envuelve a los embriones (Figura 1B).

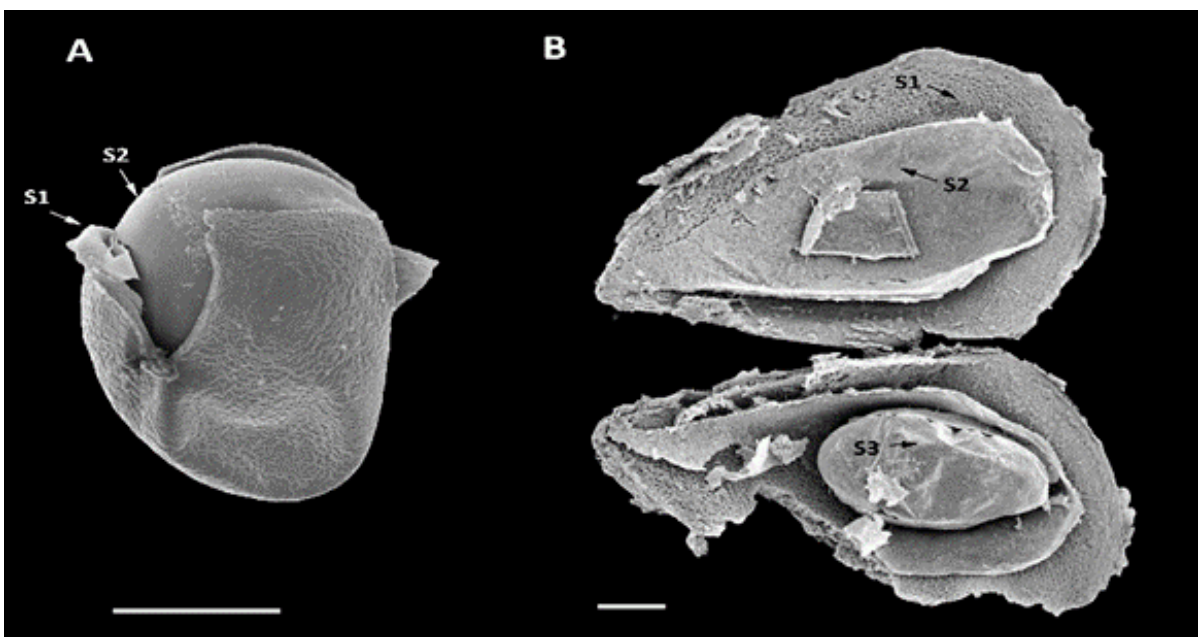


Figura 1.1. Estructura general de los huevos de resistencia de rotíferos y cladóceros en MEB. (A) huevo de resistencia de rotífero: S1 capa externa con ornamentación, S2 capa interna compuesta por una delgada membrana, barra de medición 100 μm . (B) huevo de resistencia de cladóceros: S1 capa externa con ornamentación, S2 capa media simple que contiene a los huevos, S3 capa interna compuesta por una delgada membrana, barra de medición 50 μm .

Caracterización de los huevos de resistencia y efipios

En rotíferos, los seis caracteres morfológicos que fueron considerados para este estudio y que permitieron la identificación a nivel especie se observan en la Tabla 1.2 Por otro lado, en cladóceros, los caracteres morfológicos encontrados para el estudio solo permitieron identificar los efipios hasta nivel de género usando MO y MEB.

Tabla 1.2. Caracterización de seis categorías para identificar los huevos de resistencia de rotíferos a nivel especie.

Género	Tamaño	Forma	Color	espacio extra-embionario	Ornamentación y accesorios	Tipo de ornamentación y accesorios	especies
<i>Brachionus</i>	Pequeña (<100µm)	regular	café	Pequeña (1/8 del área total)	<i>dimidiatus</i>
		regular	café	Mediano (1/4 del área total)	Ornamentación	surcos marcados (cóncavos y redondeados)	<i>angularis A</i>
		irregular	café	Grande (1/2 del área total)	ornamentación	surcos marcados (cóncavos y redondeados)	<i>quadridentatus B</i>
		irregular	café	Grande (1/2 del área total)	<i>angularis B</i>
	Mediana (100 – 200 µm)	regular	café	Mediano (1/4 del área total)	ornamentación	surcos marcados (cóncavos y redondeados)	<i>quadridentatus A</i>
	Grande (>200µm)	regular	café	Pequeña (1/8 del área total)	ornamentación	arrugas suaves y orificios pequeños	<i>manjavacas</i>
		regular		Mediano (1/4 del área total)	ornamentation	surcos marcados (cóncavos y redondeados)	<i>bidentatus</i>
		regular		Grande (1/2 del área total)	<i>calyciflorus</i>
		regular		Grande (1/2 del área total)	<i>paranguensis</i>
<i>Filinia</i>	Grande (>200µm)	irregular	Café oscuro	Pequeña (1/8 del área total)	ornamentación	lóbulos	<i>terminalis</i>
<i>Hexarthra</i>	Mediana (100 – 200 µm)	regular	Café oscuro	ausente	ornamentación	<i>fennica</i>
		regular	café	ausente	sp.

Tabla 1.2. continuación

<i>Lecane</i>	Pequeña (<100µm)	regular	naranja	ausente	ornamentación	arrugas suaves	<i>bullae</i>
		irregular	naranja	ausente	ornamentación	arrugas pronunciadas	sp.
<i>Lepadella</i>	Pequeña (<100µm)	regular	gris	ausente	accesorio	espinas	<i>patella</i>

Tamaño del huevo /efipio

Las medidas del tamaño de los huevos de resistencia y efipios variaron de acuerdo a las diferentes especies. En las especies de *Brachionus*, la diferenciación por tamaño fue un carácter muy útil para discriminar entre especies, ya que en muchos casos se observaba una gran variabilidad de tamaño entre las especies. Las especies de rotíferos fueron separadas en tres categorías: Pequeña (< 100 μm), Mediana (100 - 200 μm) y Grande (> 200 μm), ver Tabla 1.2.

En cladóceros, el tamaño de los efipios no fue tomado como un carácter diagnóstico para la identificación a nivel especie debido a la falta de diversidad de tamaños que se observó dentro de las especies estudiadas, pero el tamaño sí podía ser usado para identificar entre diferentes géneros.

Forma del huevo/efipio

La mayoría de los huevos de resistencia de rotíferos tienen forma oval, sin embargo, tres especies mostraron irregularidades en la forma como fue *B. quadridentatus* B, *B. angularis* B y *F. terminalis*. En *B. quadridentatus* B se observaron protuberancias en la porción anterior del huevo (Figura 1.2: 2a), mientras que en *B. angularis* B, el huevo tenía forma de riñón (Figura 1.2: 6a). Finalmente, *F. terminalis* presentaba varios lóbulos de diferente tamaño (Figura 1.2: 10a).

En cladóceros, la forma de los efipios era consistente entre las especies estudiadas, por lo tanto, la forma como carácter no podía ser considerado como diagnóstico para identificar a nivel especie, pero sí para nivel género.

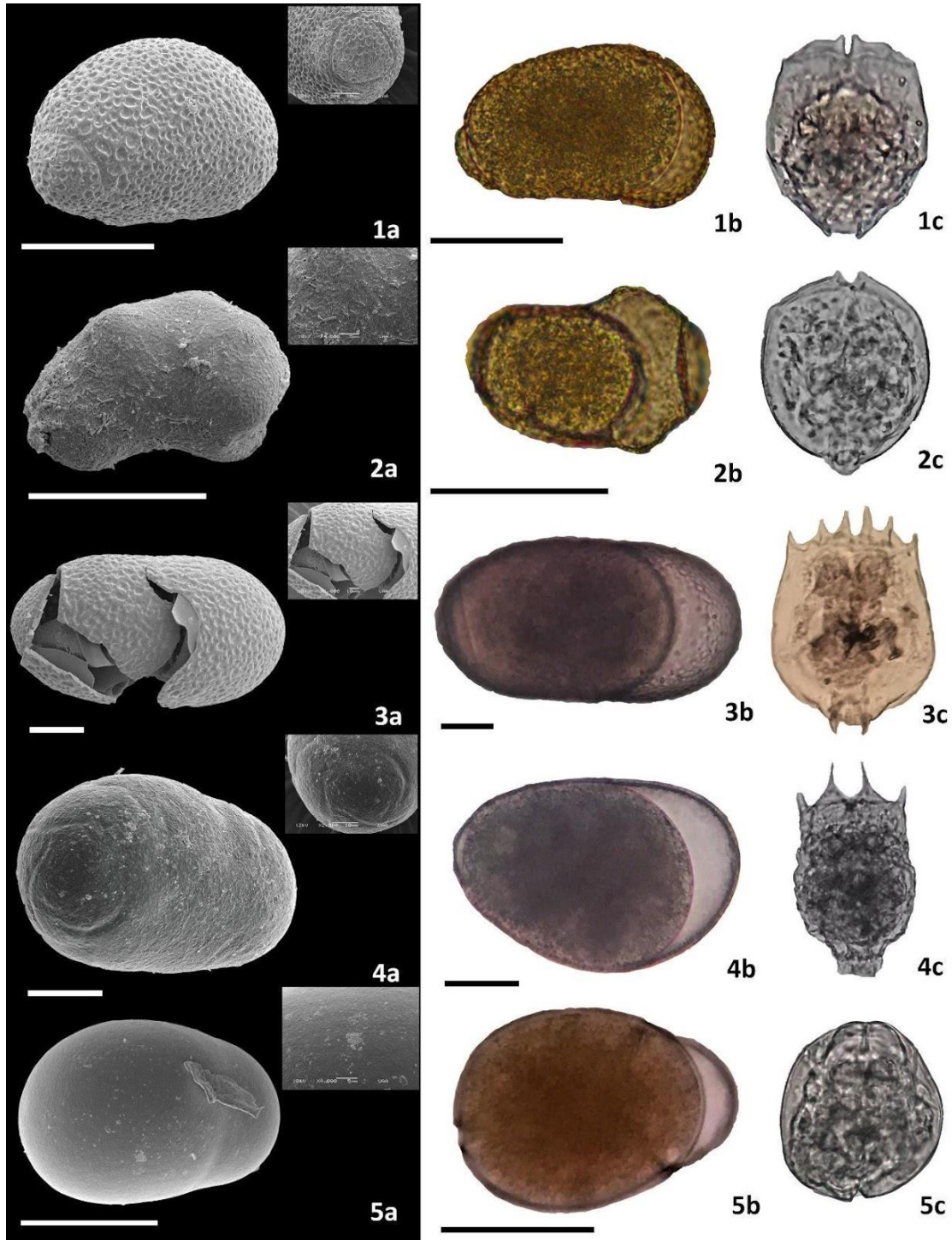


Figura 1.2. Micrografías de los huevos de resistencia y un acercamiento de la superficie del huevo mediante MEB (a), huevo de resistencia en MO (b), y organismo eclosionado del huevo mediante MEB (c). 1. *Brachionus angularis* A de “El Cedazo”, 2. *Brachionus angularis* B de “El Cedazo”, 3. *Brachionus bidentatus*, 4. *Brachionus calyciflorus*, 5. *Brachionus dimidiatus*. Barra de medición 50 µm.

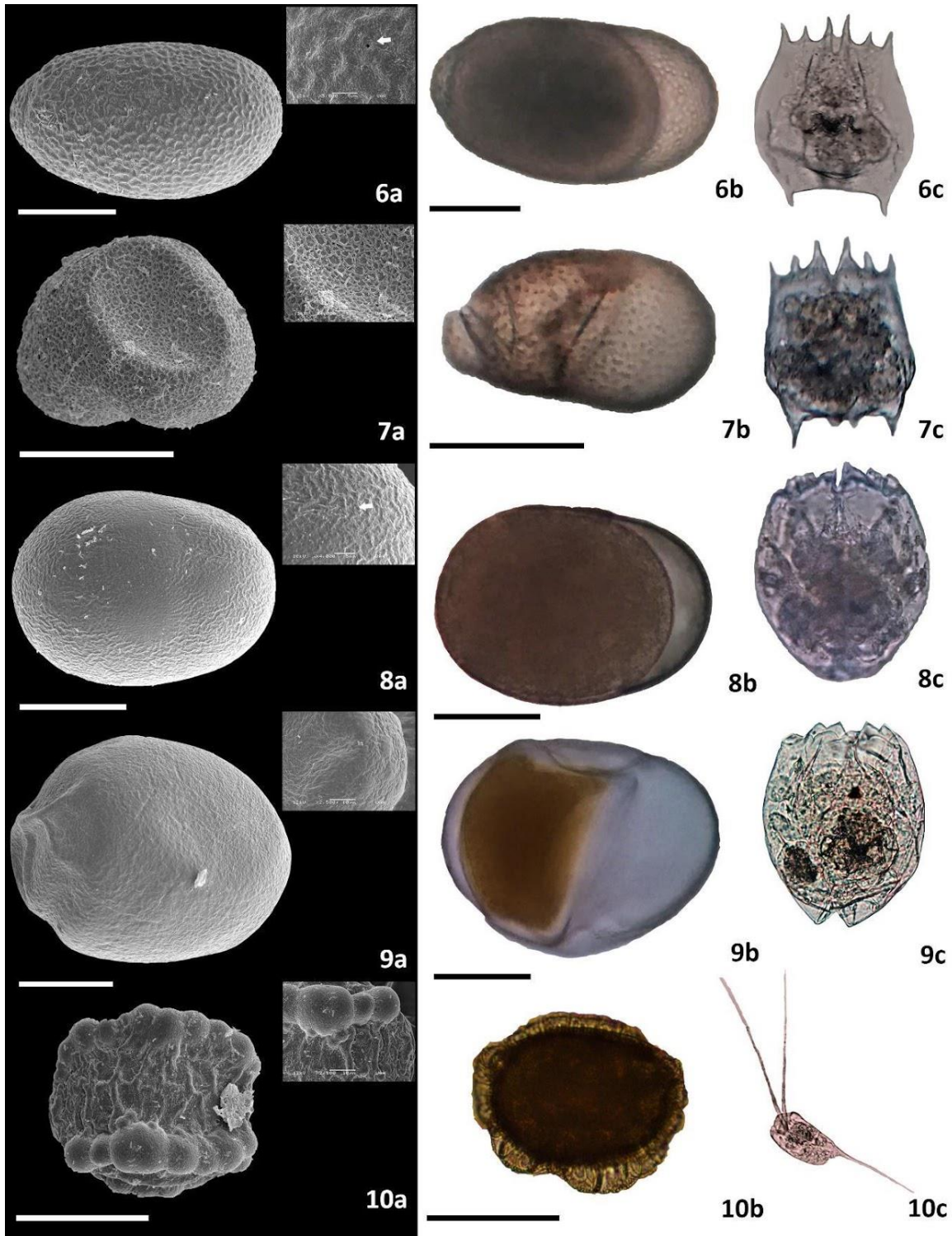


Figura 1.2. (continuación) 6. *Brachionus quadridentatus* A de “Charca de Suárez”, 7. *Brachionus quadridentatus* B de “Charca de Suárez”, 8. *Brachionus manjavacas*, 9. *Brachionus paranguensis*, 10. *Filinia terminalis*. Barra de medición 50 μm .

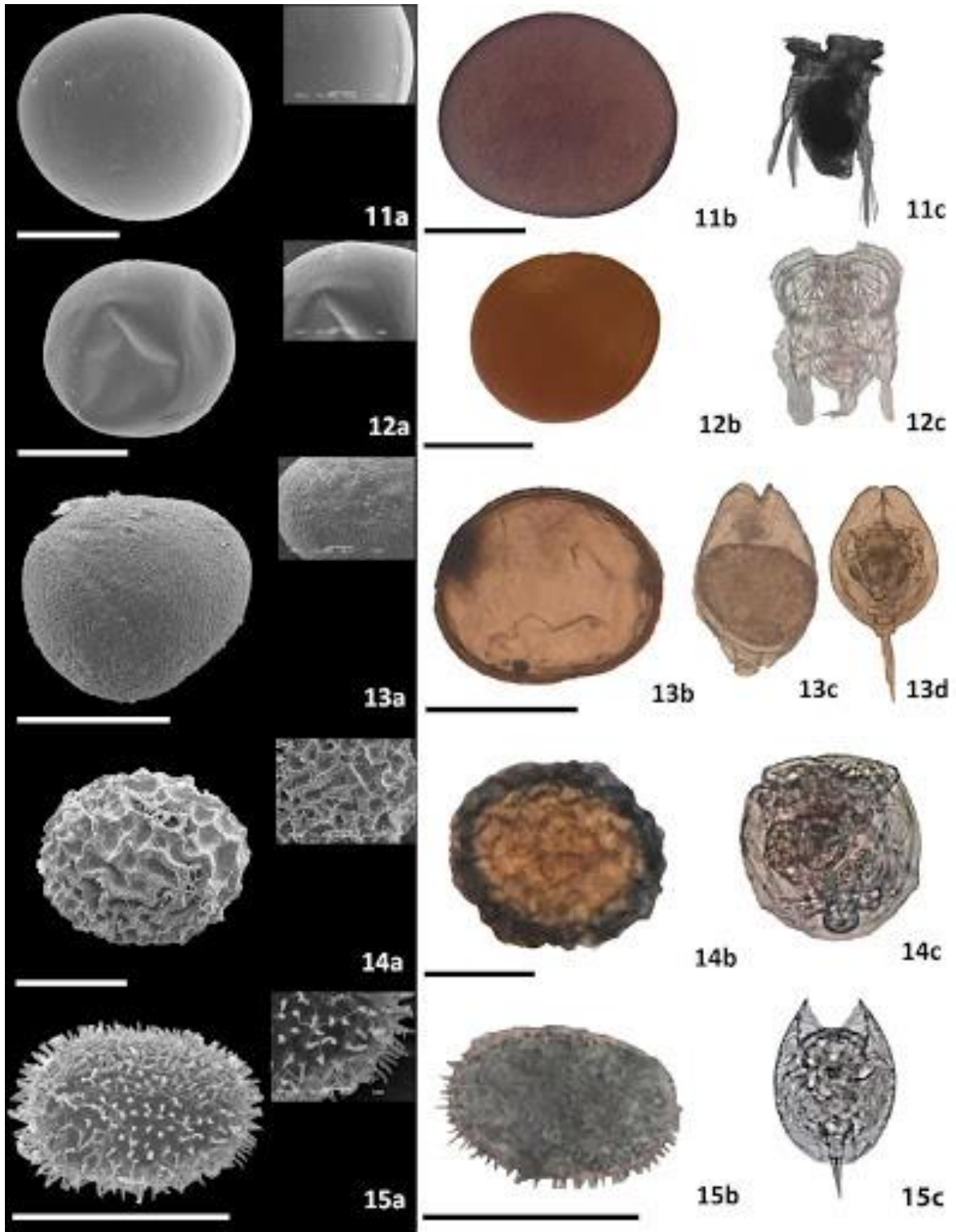


Figura 1.2. (continuación) 11. *Hexarthra fennica*, 12. *Hexarthra* sp., 13. *Lecane bulla*, 14. *Lecane* sp., 15. *Lepadella patella*. Barra de medición 50 μ m.

Color del huevo/efipio

En rotíferos, los huevos de resistencia de *Brachionus*, *Filinia* y *Hexarthra* eran de color café (Figura 1.2: 1b - 12b), mientras que en las especies de *Lecane* el color predominante fue el naranja (Figura 1.2: 13b, 14b). Finalmente, el huevo de *Lepadella patella* fue de color gris (Figura 1.2: 15b).

En cladóceros, las tres especies de *Alona* y *Chydorus sphaericus*, presentaron un color naranja trasparentado en el efipio (Figura 1.3: 1b, 2b, 3b, 5b), aunque solo *Alona* sp. de Río Seco Inferior presentó un color naranja más intenso en la capa externa del efipio (Figura 1.3: 3b). En *Ceriodaphnia pulchella* y *Moina salina*, el efipio era transparente, mientras que la capa media que envuelve a los huevos de resistencia era de color transparente y oscuro, respectivamente. (Figura 1.3: 4b, 10b). Las dos especies de *Daphnia* identificadas, *Simocephalus exspinosus*, y el *Chydoridae* no identificado presentaron una capa externa oscura (Figura 1.3: 6, 7, 8, 11, 12). Finalmente, el efipio de *Dunhevedia crassa* presentó una capa externa café transparentada (Figura 1.3: 9b).

Espacio extraembrionario del huevo/efipio

Las especies de *Brachionus*, *B. dimidiatus* y *B. manjavacas* presentaron un espacio extraembrionario de tipo pequeño, para *B. angularis* A, *B. quadridentatus* A, *B. bidentatus*, el espacio extraembrionario fue de tipo Mediano. Finalmente, *B. angularis* B, *B. quadridentatus* B, *B. calyciflorus*, y *B. paranguensis* presentaron un espacio extraembrionario grande (Tabla 1.2). En *Filinia terminalis* el espacio extraembrionario está deformado y dividido en diferentes cámaras que forman lóbulos (Figura 1.2: 10). En las especies *Hexarthra*, *Lecane* y *Lepadella* el espacio extraembrionario está ausente (Figura 1.2: 11b, 12b).

En cladóceros, el espacio extraembrionario no se pudo observar ni por MO ni MEB.

Ornamentación y estructuras accesorias

Lóbulos del huevo/efipio

Los lóbulos solo se observaron en el rotífero *Filinia terminalis* por MO and MEB. El análisis de la ultra-estructura con MEB mostró que la capa externa se pliega con la capa interna que envuelve al embrión, con la excepción de dos series de lóbulos presentes en la superficie del huevo que, como observado por MO, preservan el espacio extra-embionario (Figura 1.2: 10)

Arrugas del huevo/efipio

En rotíferos, las arrugas representan un carácter diagnóstico para la identificación de las especies de rotíferos del género *Lecane* (Figura 1.2: 13, 14). Los huevos de *L. bulla* muestran algunas arrugas no muy pronunciadas en la superficie, aunque en algunas ocasiones pueden ser ausentes. Los huevos de resistencia de *L. bulla* por lo general se observan dentro del cuerpo de la hembra, pero también, en muy pocas ocasiones, se pueden observar fuera de la lorica. En *Lecane* sp., los huevos de resistencia siempre se observaron fuera del cuerpo de la hembra; la característica particular fue la presencia de arrugas muy pronunciadas alrededor de todo el huevo que se pudieron observar fácilmente mediante el MO y el MEB. En *L. bulla*, la persistencia del huevo de resistencia dentro del cuerpo de la hembra limita el estudio de la ornamentación mediante el MEB (Figura 1.2: 13, 14).

En cladóceros como *D. crassa*, las arrugas solo se observaban en la ornamentación interna del efipio (Figura 1.4: 5c).

Pequeños orificios del huevo/efipio

En rotíferos y cladóceros los pequeños orificios solo se pudieron observar mediante el análisis del MEB. En rotíferos, *B. quadridentatus* A y *B. manjavacas* presentaron pequeños

orificios, aunque solo en *B. manjavas* se observaron dos tamaños diferentes de orificios en la superficie del huevo (ver flechas, Figura 1.2: 6a, 8a).

En cladóceros, solo *D. crassa* presentó gran cantidad de orificios en la superficie del ezipio (ver flechas, Figura 1.4: 5b).

Pequeñas esferas del huevo/efipio

Pequeñas esferas se observaron solo en el cladóceros *C. sphaericus*. La superficie presentaba gran cantidad de estas pequeñas esferas que solo se pudieron observar por MEB (ver Figura 1.4: 3b).

Surcos del huevo/efipio

En rotíferos y cladóceros, los surcos se observaron mediante el MO, no obstante, para su clasificación fueron necesarios análisis de MEB. En rotíferos, *B. angularis* A, *B. quadridentatus* A, *B. quadridentatus* B, y *B. bidentatus*, presentaron surcos prominentes que a su vez fueron clasificados como cóncavos y redondeados (ver Tabla 1.2).

En cladóceros, todas las especies pertenecientes al género *Daphnia* presentaron ezipios con surcos cóncavos, mientras que el resto de las especies fueron del tipo convexo. En cuanto a la forma de los surcos, las especies de *Alona* y el *Chydoridae* no identificado presentaron varias hileras de surcos delgados dispuestos longitudinalmente, mientras que en *Moina salina* los surcos tenían forma irregular. Las especies de *Daphnia* y *Simocephalus exspinosus* presentaron surcos con una forma ovalada, y finalmente en *Ceriodaphnia pulchella* los surcos observados tenían forma geométrica y eran poco pronunciados (ver Figura 1.3: 1a – 12a; Figura 1.4: 1b -8b).

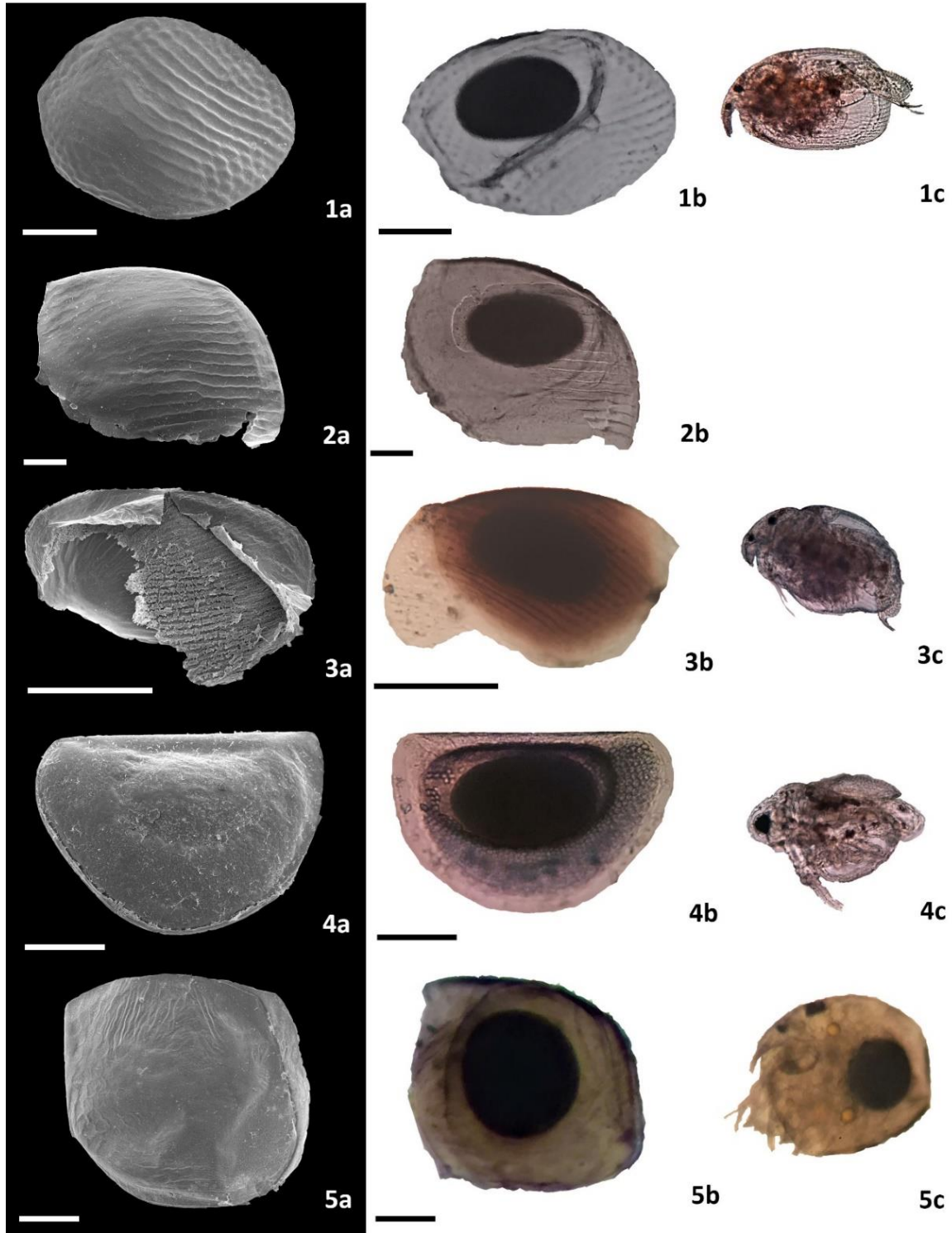


Figura 1.3. Micrograffías de algunas especies de cladóceros y sus ornamentaciones del epipio tomadas con MOB (a), epipio tomado con MO (b), y organismo eclosionado de cada huevo (c). 1. *Alona quadrangularis*, 2. *Alona rectangula*, 3. *Alona* sp. 4. *Ceriodaphnia pulchella*, 5. *Chydorus sphaericus*. Barra de medición 100 μm .

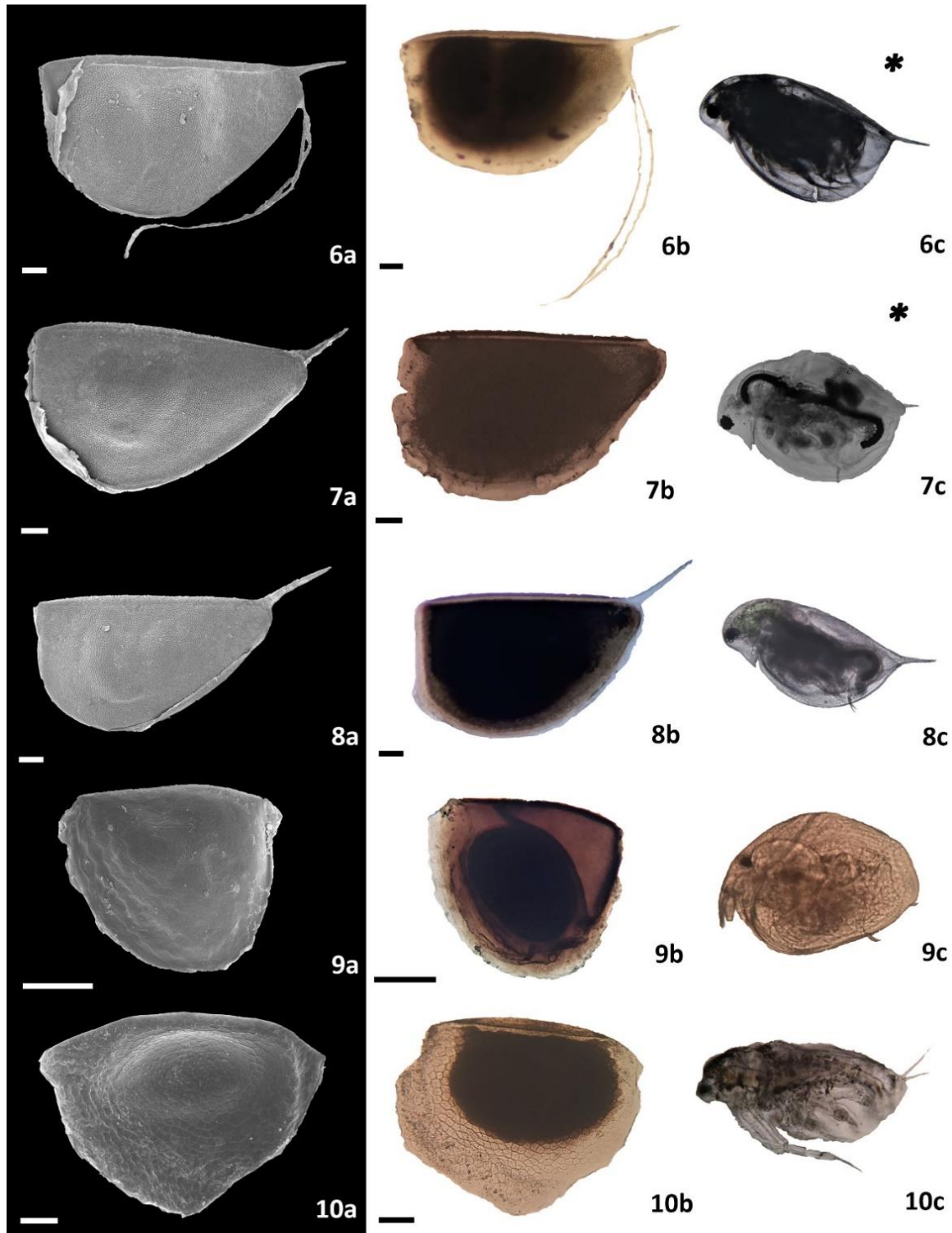


Figura 1.3. (continuación) 6. *Daphnia pulicaria* de Río Seco 7. *Daphnia pulex* de Borreguil 8. *Daphnia* sp. 9. *Dunhevedia crassa*, 10. *Moina salina*. Barra de medición 100 μm . * fotos de los organismos colectados de la columna de agua.



Figura 1.3. (continuación) 11. *Simocephalus exspinosus*, 12. *Chydoridae* no identificado. Barra de medición 100 μm .

Espinas del huevo/efipio

Las espinas en huevos diapáusicos se observaron mediante el MO y el MEB, sin embargo, el análisis con el MEB permitió más detalles de observación. En rotíferos, solo en *L. patella* se observaron una gran cantidad de espinas con punta muy aguda que recubrían el huevo de resistencia (Figura 1.2: 15).

En cladóceros, solo especies del género *Daphnia* presentaron espinas caudales en el efipio (Figura 1.3: 6 - 8).

Pedunculos del huevo/efipio

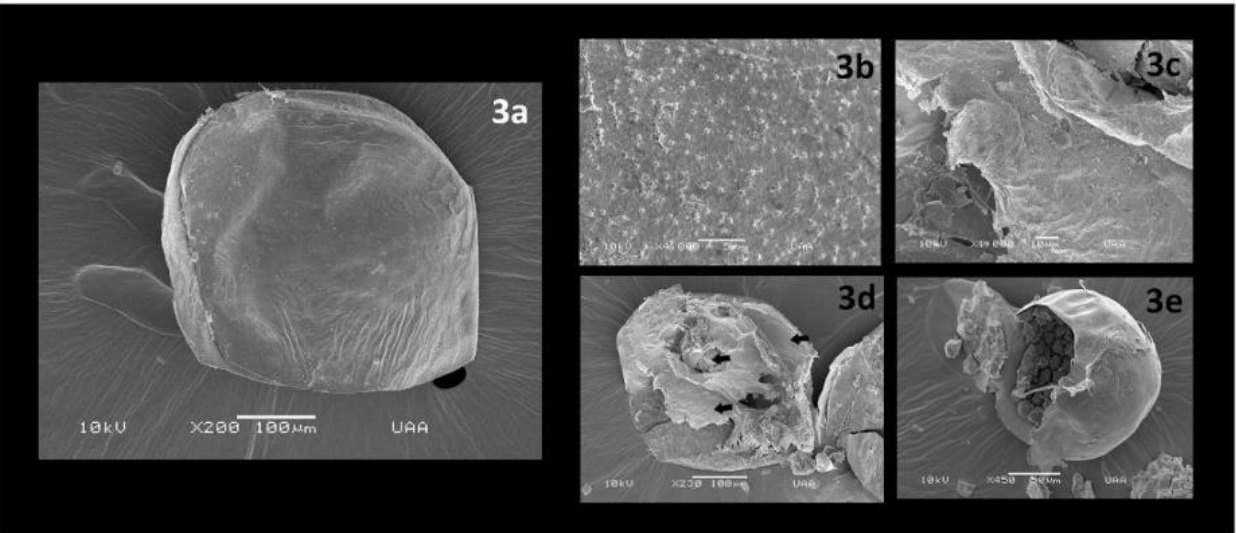
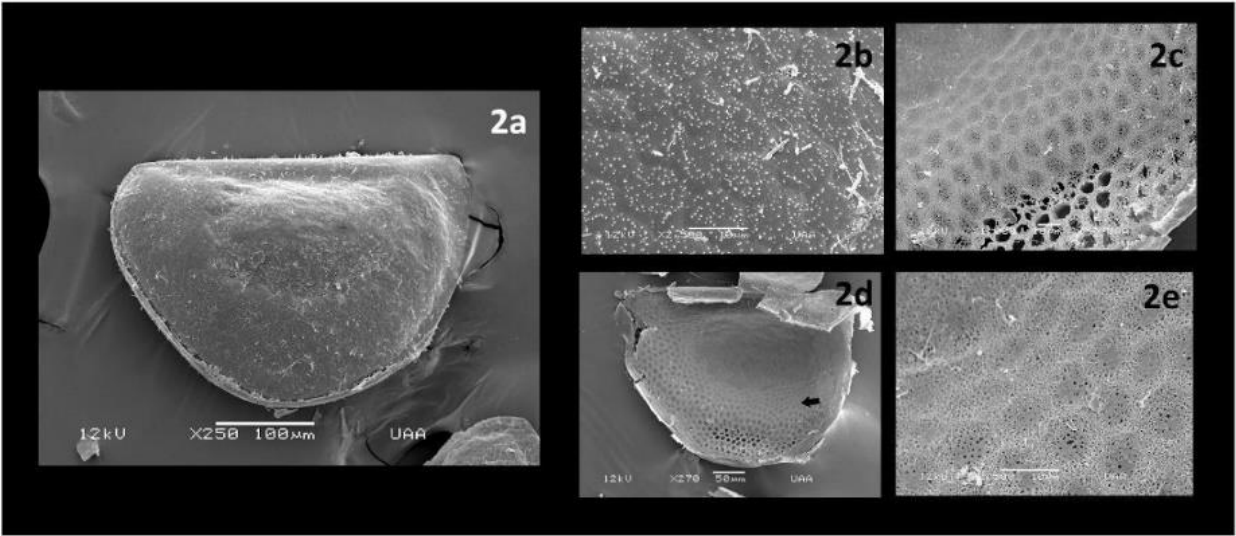
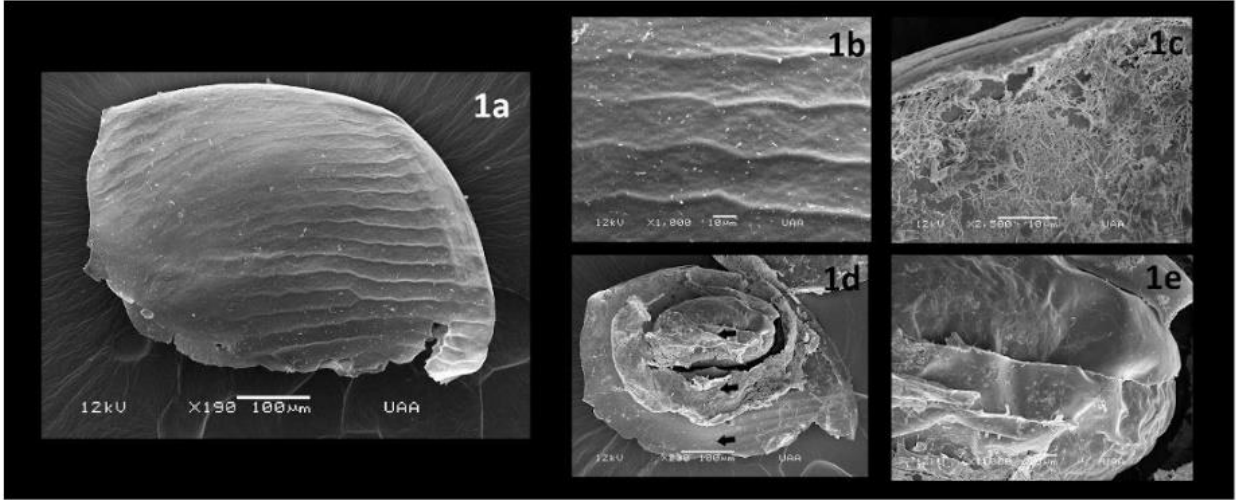
Los pedúnculos se observaron solo en dos especies de cladóceros, *D. pulicaria* de Río Seco y en el *Chydoridae* no identificado de Álamo Blanco. Los pedúnculos se observaron pegados a la porción posterior del efipio (Figura 1.3: 6,12) y se observaron fácilmente mediante el MO y el MEB.

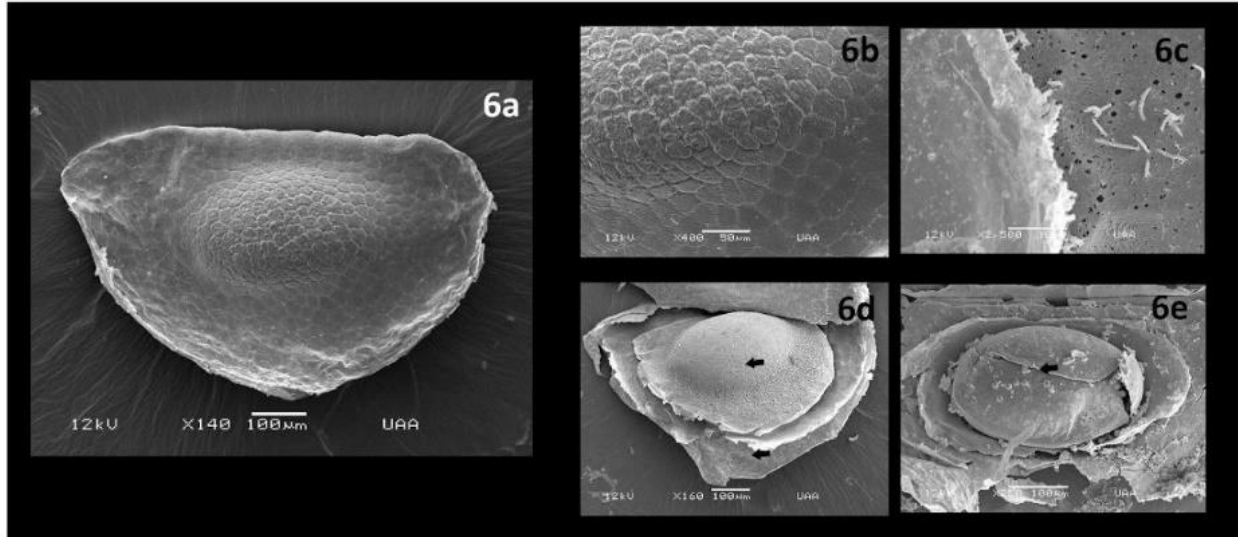
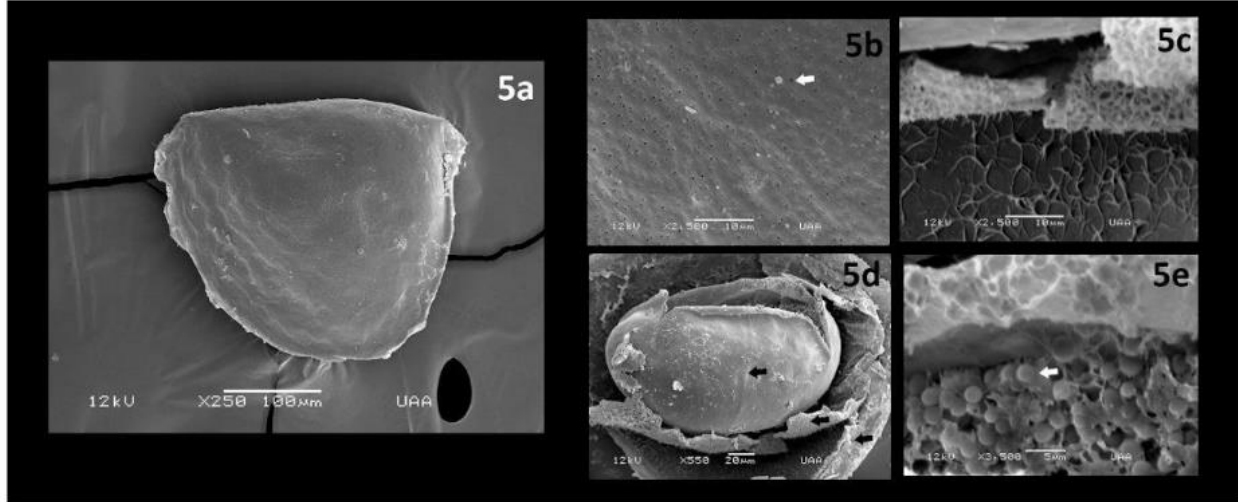
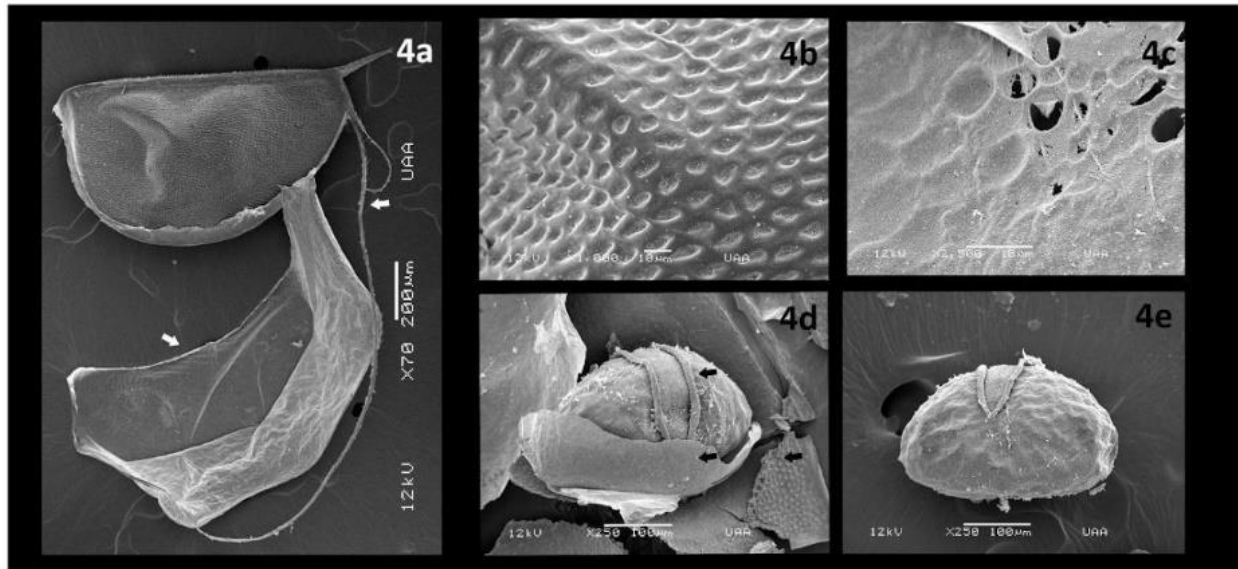
Ultra estructura de los huevos diapáusicos analizados con MEB

En rotíferos, el análisis mediante el MEB permitió una mejor resolución de la ornamentación de los huevos de resistencia comparado con el MO. En este trabajo, se realizó un zoom de la superficie de los huevos de resistencia y se observaron caracteres que mediante el uso del MO no podrían detectarse (Figura 1.2: 1a – 15 a).

En cladóceros, las fotos tomadas mediante el MEB mostraban la superficie del efipio, las diferentes capas del efipio, y el huevo de resistencia (Figura 1.4). La mayoría de los efipios analizados en cladóceros, mostraron la presencia de un solo huevo de resistencia, con excepción del género *Daphnia* que mostró la presencia de dos huevos de resistencia. En *Alona rectangula* (Figura 1.4: 1a) la superficie del efipio presentó surcos (Figura 1.4: 1b) mientras que internamente no se observó ninguna ornamentación (Figura 1.4:1c); En *Ceriodaphnia pulchella* (Figura 1.4: 2), la ornamentación presente en el efipio estaba representada por surcos poco pronunciados dispuestos geométricamente (Figura 1.4: 2b), mientras que internamente se observaron orificios cubiertos por fibras entrelazadas (Figura 1.4: 2c). En *Chydorus sphaericus* (Figura 1.4: 3), la ornamentación del efipio presentó una gran cantidad de pequeñas esferas por toda la superficie (Figura 4.4: 3b), mientras que internamente no se observó algún tipo de ornamentación (Figura 1.4: 3c). En *Daphnia pulicaria* de Río Seco (Figura 1.4: 4), el efipio estaba recubierto por una delgada membrana y en muchos casos, se observó la presencia de dos pedúnculos que se formaban por el desprendimiento del margen ventral de la coraza del cladóceros (ver flechas, Figura 1.4: 4a).

Los efipios presentaban surcos cóncavos redondeados como ornamentación (Figura 1.4: 4b), mientras que en la ornamentación interna presentaban orificios cubiertos por una membrana delgada (Figura 4.4: 4c). En *Dunhevedia crassa* (Figura 1.4: 5), la superficie del efipio presentó pequeños orificios por toda la superficie (Figura 1.4: 5b) y una ornamentación interna con arrugas (Figura 1.4: 5c). En *Moina salina* (Figura 1.4: 3) la ornamentación externa del efipio presentó surcos irregulares convexos (Figura 1.4: 6b) y su ornamentación interna presentaba fibras entrelazadas (Figura 1.4: 6c). En *Simocephalus exspinosus* (Figura 1.4: 7) la ornamentación externa del efipio presentó pequeños surcos convexos y redondeados (Figura 1.4: 7b) y su ornamentación interna tenía orificios y membranas (Figura 1.4: 7c). En el *Chydoridae* no identificado (Figura 1.3: 8), el efipio mostraba un pedúnculo largo y grueso (ver flecha, Figura 1.4: 8a), su ornamentación externa presentaba delgados surcos dispuestos longitudinalmente (Figura 1.4: 8b) y la ornamentación interna tenía orificios (Figura 1.4: 8c).





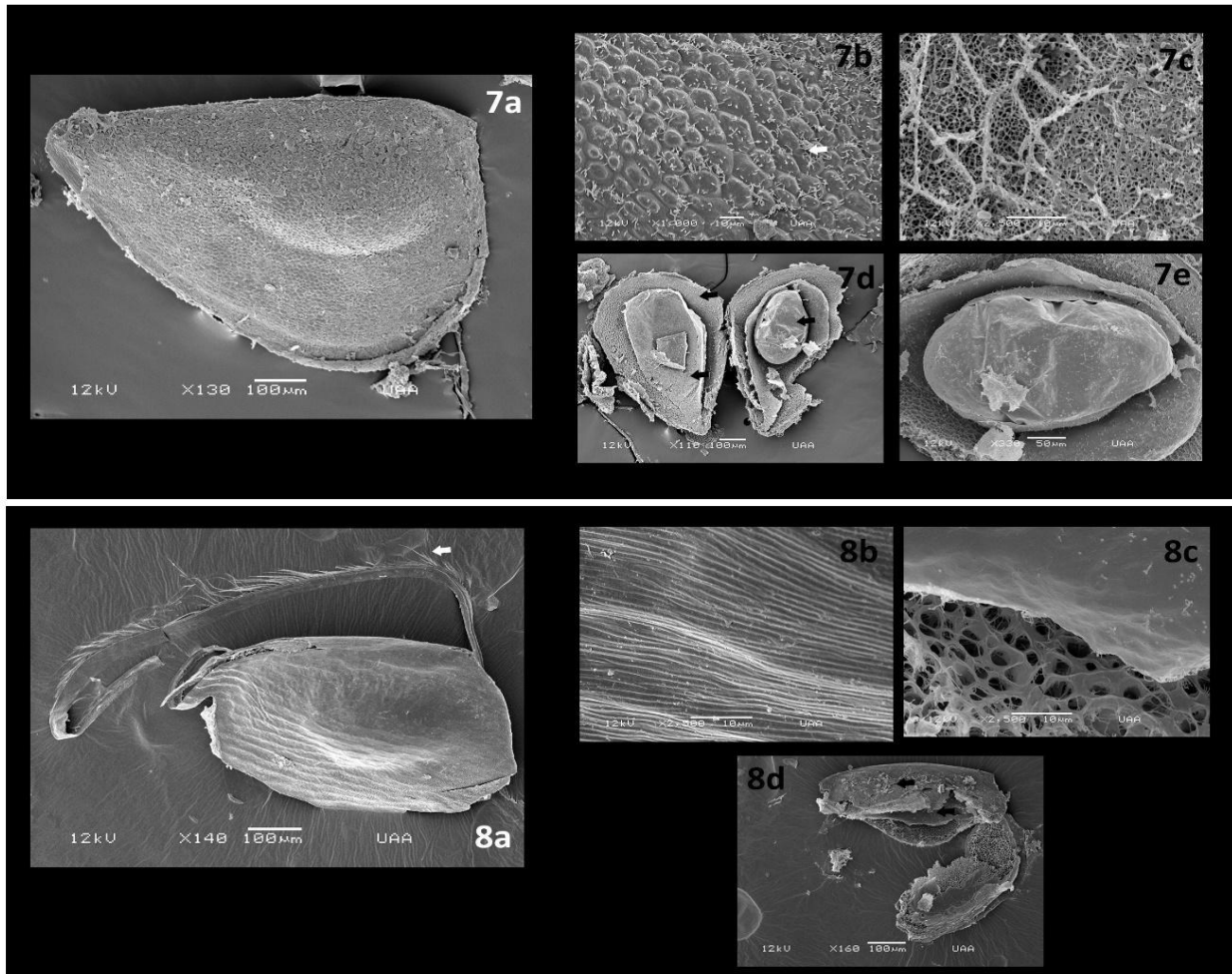


Figura 1.4. Ultra estructura de los efipios de las diferentes especies de cladóceros estudiados. 1. *Alona rectangularis*: efipio (a), superficie del efipio (b), ornamentación interna del efipio (c), diferentes capas del efipio, ver flechas (d), huevo de resistencia (e) 2. *Ceriodaphnia pulchella*: efipio (a), superficie del efipio (b), ornamentación interna del efipio con orificios cubiertos por fibras entrelazadas que forman una membrana delgada (c), estructura interna de la capa más externa del efipio, ver flecha (d), acercamiento de las fibras entrelazadas (e) 3. *Chydorus sphaericus*: efipio (a), superficie del efipio (b), ornamentación interna del efipio (c), diferentes capas del efipio, ver flechas (d), huevo de resistencia (e) 4. *Daphnia pulex*: efipio con pedúnculos y membrana, ver flechas (a), superficie del efipio (b), ornamentación interna del efipio, la ornamentación tenía pequeños orificios cubiertos por una membrana (c), diferentes capas del efipio, ver flechas (d), huevo de resistencia (e) 5. *Dunhevedia crassa*: efipio (a), superficie del efipio con orificios pequeños, ver flecha (b), ornamentación interna del efipio, ornamentación con arrugas (c), huevo de resistencia (d), células en el interior del huevo de resistencia, ver flechas (e) 6. *Moina salina*: efipio (a), superficie del efipio (b), ornamentación interna del efipio,

ornamentación con fibras entrelazadas que forman una membrana (c) diferentes capas del efipio, ver flechas (d), huevo de resistencia (e) 7. *Simocephalus exspinosus*: efipio (a), superficie del efipio (b), ornamentación interna del efipio, ornamentación con orificios y membranas gruesas (c) diferentes capas del efipio, ver flechas (d), huevo de resistencia (e) 8. *Chydoridae* unidentifiy: efipio con pedúnculos, ver flecha (a), superficie del efipio (b), ornamentación interna del efipio, ornamentación con orificios (c), diferentes capas del efipio, ver flechas (d).

Comparación entre MO y MEB

Cuando se compararon las ventajas y desventajas de cada microscopio al momento de analizar los componentes morfológicos de los huevos diapáusicos, los resultados señalan que a nivel de género el MO provee de suficiente información para diferenciar entre los diferentes géneros, tanto para rotíferos como para cladóceros, por tanto, se puede prescindir del MEB. Mas sin en cambio, cuando el análisis se hizo a nivel especie, primero se procedió a eclosionar a los embriones que estaban en los huevos, para después asociar cada especie con su respectivo huevo. Una vez dilucidado esto, los huevos diapáusicos eran fácil de reconocerse mediante el análisis del MO, con excepción de las especies del género *Brachionus*, para estas especies, los análisis mediante el MEB fueron esenciales para poder detectar algún carácter diagnóstico en la superficie de los huevos que pudiera ayudar a la identificación de las especies estudiadas.

Discusión

Este representa el primer estudio que muestra las variaciones morfológicas de los bancos de huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros usando microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido. Estudios anteriores han recomendado el uso de los bancos de huevos como alternativa efectiva y de bajo coste para estudiar la riqueza de especies en lagos someros (May 1986, Vandekerkhove et al. 2005a, b). No obstante, estos autores utilizaron el método de eclosión que presenta limitaciones, ya que requiere la incubación

de los huevos diapáusicos y condiciones adecuadas para la eclosión. Por lo tanto, la identificación directa de los huevos diapáusicos mediante su morfología podría solventar estos problemas y representar un método eficaz para evaluar la riqueza zooplanctónica presente en los lagos. Además, en este estudio mostramos la presencia de especificidad de especie en la morfología de los huevos diapáusicos de rotíferos. Anteriormente, otros estudios habían sugerido algunos caracteres morfológicos especie-específicos en los efiptos de cladóceros (Vandekerkhove et al. 2004), mientras que no habían sido identificados caracteres diagnósticos útiles que pudieran identificar las especies de rotíferos (Gilbert 1995; Brendonck & De Meester 2003). Por este motivo, hasta ahora, el estudio de código de barras del ADN representa la mejor herramienta para estudiar la diversidad del zooplancton mediante el uso de huevos diapáusicos (Moreno et al. 2017). En efecto, la taxonomía molecular podría proporcionar la identificación de especies sin la necesidad de hacer eclosionar a los huevos diapáusicos. Sin embargo, el costo elevado de esta técnica y la necesidad de una sólida base de datos, representan una limitación de la taxonomía molecular. De hecho, en rotíferos y cladóceros, las secuencias presentes en bases de datos como NCBI y BOLD representan un número limitado de especies. De acuerdo con Seggers (2008), el número de estudios moleculares en rotíferos que incluye análisis taxonómicos aún son pocos. En el caso de cladóceros las condiciones son similares, Forro et al. (2008) señala que los estudios moleculares en cladóceros se enfocan sobre todo en el género *Daphnia*. Por lo tanto, para identificar especies de zooplancton mediante análisis de ADN, la eclosión de los embriones aun es necesaria. En el presente estudio, como una alternativa de identificación de especies o género en rotíferos y cladóceros, se propone la identificación morfológica de los huevos diapáusicos mediante el análisis del MO y el MEB. También se realiza una descripción morfológica de los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros que ayudará a homogenizar la nomenclatura de los caracteres, y por lo tanto a superar las dificultades debidas a la presencia de ambigüedad en la descripción morfológica de la superficie de los huevos diapáusicos (Walsh et al. 2017) De hecho, hasta el momento, se tiene muy poca información sobre las características morfológicas del tipo de ornamentaciones de los huevos diapáusicos, además, la controversia sobre si existe una

especificidad entre la morfología de los huevos y las especies aún no está resuelta. Duggan et al. (2002) también sugiere que el uso de la morfología de los huevos diapáusicos es una herramienta más fácil y barata para la identificación de las especies y resalta la necesidad de proveer más material taxonómico que facilite la identificación de especies.

Para cladóceros, de acuerdo con Vandekerkhove et al. (2004) el uso de los huevos diapáusicos como herramienta taxonómica, presenta algunas dificultades debido a la gran variabilidad morfológica intra-específica de los efipios y las pocas diferencias morfológicas entre algunas especies. En el presente estudio, once especies de cladóceros fueron analizadas y no se encontraron caracteres diagnósticos que permitieran su identificación a nivel de especie, ni con el MO ni con el MEB. La única excepción fue *D. pulicaria* de Río Seco, para la cual se observó la presencia de un pedúnculo en los 500 efipios analizados, y miles de huevos pertenecientes a esta especie se observaron en la superficie del lago pegados a través del pedúnculo a la vegetación litoral (Apéndice 1). Sin embargo, en cultivos en laboratorio, algunos efipios de esta especie no presentaron pedúnculo (Ramos-Rodríguez, observación personal). Por el otro lado, *D. pulex* de Borreguil y *Daphnia sp.* de Charca de Suárez nunca presentaron el pedúnculo. En general, en cladóceros, el uso de la morfología de los huevos diapáusicos no permitió una identificación taxonómica a nivel de especie, incluso utilizando el MEB. Sin embargo, reportamos características, como la presencia de pequeños orificios, en la superficie de *Dunhevedia crassa*. En general, se necesitan análisis más detallados con el MEB que incluyan varias especies congénicas para poder confirmar la utilidad de los huevos diapáusicos de cladóceros como herramienta taxonómica.

Para rotíferos, evidencias de especificidad de especie han sido documentadas por primera vez por Nipkow (1961), Beauchamp (1965), Bogoslavsky (1967), y Gilbert & Wurdak (1978). Un importante aspecto que hay que tomar en consideración a la hora de analizar huevos diapáusicos de rotíferos, es la presencia de un alto nivel de especiación críptica (Fontaneto et al. 2009; García-Morales & Elías-Gutiérrez 2013). Otros autores (Schroeder & Walsh 2007; Ciro-Pérez et al. 2001; Michaloudi et al. 2017) también demostraron la presencia de

especies crípticas dentro de complejos de especies de rotíferos, tal como *Epiphanes senta*, *Brachionus plicatilis*, y *B. calyciflorus*, no obstante, aún faltan más complejos de especies por descubrir. Para poder entender si realmente existe especificidad de especie, es necesario demostrar esta propiedad también dentro de los grupos de especies crípticas, además, se debe demostrar si los rotíferos presentan variabilidad intra-específica entre los morfotipos de huevos diapáusicos como lo documentó Bogoslovsky (1963) y Pourriot & Snell (1983) en el complejo de *Brachionus plicatilis*. Este complejo de especies es uno de los estudiados y Mills et al. (2017) sugiere la presencia de 15 especies dentro del complejo. Las imágenes de los huevos de resistencia tomadas con el MEB de los tres morfotipos encontrados en este estudio fueron comparadas con las imágenes de los tres morfotipos observados por Ciro-Pérez (2001), y los resultados demostraron la presencia de especificidad de especie en todos los casos. En este contexto, para poder confirmar la presencia de especificidad de especie, se deben realizar más análisis moleculares y de MEB con el resto de las especies que conforman el grupo complejo y verificar si esta condición se cumple en todos los casos.

También se encontraron dos morfotipos en *B. angularis* y *B. quadridentatus*. Este resultado indica alta variabilidad morfológica intra-específica en ambas especies. Moreno et al. (2017) sugirió que *B. quadridentatus* podría representar un complejo de especies, así como también podría ser el caso para *B. angularis*. Aunque en el presente estudio los resultados no han sido confirmados mediante análisis moleculares, la gran diferencia observada con el MO y MEB entre los huevos diapáusicos de los dos morfotipos de *B. angularis*, así como también las diferencias morfológicas de los organismos eclosionados, sugieren la presencia de diferentes especies. Por lo tanto, este resultado respaldaría la teoría sobre la presencia de especificidad de especie. Los huevos diapáusicos pertenecientes a *B. angularis* "a" encontrados en dos lagos diferentes (El Cedazo y Charca de Suárez), fueron consistentes entre poblaciones a pesar de la amplia distribución geográfica.

Mientras que en algunas especies la especificidad de especie es fácil de detectar debido a las grandes diferencias existentes entre huevos, otras presentan altos niveles de similitud entre huevos diapáusicos, como es el caso de *Hexarthra*. Por lo tanto, es necesario encontrar caracteres diagnósticos que permitan distinguir entre dichas especies. Para el género *Hexarthra*, el carácter diagnóstico más representativo fue el color, ya que ninguna de las especies bajo estudio presentaba ornamentación en los huevos. Este resultado concordó con cuanto anteriormente observado para *Hexarthra bulgarica*, una especie de rotífero encontrada en diferentes lagos de Sierra Nevada (no incluido en el presente estudio), que no presentaba ornamentación, aunque si tenía un color oscuro (observación personal). La presencia de diferentes colores parece estar relacionada con la respuesta ecológica a la exposición a la luz, como demostrado por Minkoff et al. (1983) para *B. plicatilis* utilizando diferentes tiempos de exposición a la luz. Aunque análisis taxonómicos con huevos diapáusicos de *Hexarthra* demostraron que el color podría representar un carácter diagnóstico, para poder proporcionar ulteriores evidencias para la identificación a nivel de especie, los análisis deberían ser complementados con experimentos ecológicos. En general, para *Hexarthra*, los análisis de MO representaron la herramienta más eficaz ya que el color no puede ser identificado con el MEB.

En *Lecane*, las grandes diferencias encontradas entre las dos especies analizadas respaldan la especificidad de especie. Mientras que en *L. bulla* los huevos fueron encontrados principalmente dentro del cuerpo de la hembra, en *Lecane sp.* los huevos fueron siempre encontrados fuera de la hembra y sus ornamentaciones fueron fácil de identificar (Figura 1.2: 13, 14). Los individuos de *Lecane sp.* no pudieron ser identificados a nivel de especie ya que nunca fue posible observar la porción anterior del cuerpo de los organismos eclosionados. Sin embargo, las espinas caudales, la forma y los datos obtenidos de la comunidad activa del lago, indicaron que los huevos diapáusicos muy probablemente pertenecían a *L. luna*. Moreno et al. (2017) identificó, mediante análisis moleculares, cuatro diferentes especies de *Lecane*, aunque las imágenes de MO de los huevos diapáusicos parecían idénticos, y no se proveyeron imágenes del MEB que muestran una mejor

resolución de la superficie de los huevos. A pesar de que la identificación de las especies de *Lecane* bajo estudio se pudo obtener fácilmente con el MO, recomendamos integrar el uso del MEB, así como de análisis moleculares, debido a que el pequeño tamaño de los huevos diapáusicos podría dificultar la identificación.

Para el género *Filinia*, Bogoslavsky (1967) demostró la presencia de especificidad de especie en *Filinia longiseta*, *F. passa*, y *F. terminalis*, y Koste (1978) también proporcionó dibujos de los diferentes morfotipos. Además, Moreno et al. (2017) identificó *F. longiseta* mediante análisis moleculares y las imágenes de los huevos diapáusicos proporcionadas fueron consistentes con nuestras imágenes. En el presente estudio, identificamos *F. terminalis*, y las comparaciones entre los dibujos y las imágenes del MO de *F. longiseta* y *F. terminalis*, sugirieron que el diferente tamaño y la disposición de los lóbulos en los huevos diapáusicos, podrían representar los mejores caracteres diagnósticos para la identificación de las especies de *Filinia*. La comparación entre imágenes de MO de *F. longiseta* y *F. terminalis* mostraron que la primera especie presentaba lóbulos con tamaño relativo parecido a los observados en las imágenes de Moreno et al. (2017) y en los dibujos de Koste (1978). Por el otro lado, los lóbulos de *F. terminalis* presentaron diferentes tamaños. Aunque los lóbulos se puedan observar con el MO, su perspectiva y dimensión no se observan bien definidas, y es por lo tanto recomendable tomar imágenes con el MEB para un análisis más riguroso.

Finalmente, con respecto al género *Lepadella* solo se encontraron huevos diapáusicos pertenecientes a la especie *Lepadella patella*, por lo tanto, no se pudieron efectuar comparaciones entre huevos y la presencia de especificidad de especie no pudo ser confirmada. Sin embargo, los huevos diapáusicos de *Lepadella* se pudieron diferenciar claramente de los huevos de otros géneros de rotíferos. De todos modos, debido a que los huevos de *Lepadella* son muy pequeños, para su análisis se recomienda el uso del MEB, ya que el MO no permite una adecuada resolución de la superficie del huevo tal como reportado por Moreno et al. (2017) para las cuatro especies de *Lecane* analizadas.

CAPÍTULO II

Patrones de abundancia y diversidad de los huevos del zooplancton en relación con las características del hábitat

Introducción

La acumulación en los sedimentos de huevos diapáusicos del zooplancton de diferentes especies, generaciones y genotipos, representa una reserva potencial de biodiversidad (Hairston 1996; Brendonck & De Meester 2003). Así, por ejemplo, en el capítulo 1 de esta tesis se ha puesto de manifiesto que el uso de los huevos diapáusicos del zooplancton podría complementar las estimaciones de la biodiversidad de las comunidades zooplanctónicas realizadas exclusivamente a partir del análisis de las comunidades activas en la columna de agua. Además de representar reservorios de la diversidad de especies en los lagos, los bancos de huevos integran las variaciones estacionales y anuales de las condiciones ambientales, representando así archivos ecológicos y evolutivos del hábitat donde se encuentran (Hairston 1996; Brendonck & De Meester 2003). Esto es así, sobre todo, en ecosistemas con ambientes temporalmente variables como los lagos someros y temporales, más sujetos a condiciones ambientales desfavorables, en los que los huevos más frecuentemente retrasan su eclosión extendiendo el tiempo promedio generacional de los organismos, causando así la presencia de bancos de huevos con un fuerte solapamiento de generaciones (Ellner & Hairston 1994). En efecto, en un ambiente cambiante, esta estrategia de “dispersión en el tiempo” conocida como apuestas múltiples (*bet-hedging*) en la literatura evolutiva (e.g, Van Dooren & Brendonck 1998), y el denominado “efecto de almacenamiento” en la literatura sobre coexistencia de especies (e.g., Chesson 1983), puede llevar a la presencia de un banco de huevos con alta diversidad genética y de especies (Warner & Chesson 1985; Hedrick 1995). En este sentido, los huevos diapáusicos representan, por tanto, un stock de genes, incrementando la variación genética de la población y, consecuentemente, su potencial evolutivo. Por ende, este proceso de almacenamiento, representa un mecanismo efectivo para mantener la diversidad dentro de las comunidades, ya que especies que han desaparecido temporalmente de la comunidad activa a causa de las condiciones desfavorables, pueden seguir representadas en el hábitat por sus huevos diapáusicos. El efecto de almacenamiento ha sido constatado en varios estudios, por ejemplo, May (1986) encontró, con un único muestreo del banco de

huevos, la misma diversidad de rotíferos en el sedimento que en la comunidad activa a lo largo de seis años. También, Donald (1983), en un estudio de diversidad de braquiópodos durante diez años, observó que la presencia de las especies en la comunidad activa estaba determinada por las condiciones climáticas del año anterior, y que a menudo algunas especies desaparecían de la comunidad activa durante años consecutivos y de repente volvían a aparecer en gran abundancia.

Todos estos estudios demuestran la importancia de incluir los bancos de huevos diapáusicos en los estudios de riqueza de especies de las comunidades zooplanctónicas, principalmente en aquellos ecosistemas que, debido a sus condiciones ambientales cambiantes o sus hidroperiodos cortos, podrían favorecer la producción de huevos diapáusicos por parte de la comunidad (García-Roger 2006). Sin embargo, existen pocos estudios sobre la riqueza de los bancos de huevos, sobre todo, en rotíferos (Ito 1958; Nipkow 1961; Snell et al. 1983b; Marcus et al. 1994), ya que la escasa información que hay disponible sobre la diversidad de huevos en el sedimento proviene de otros grupos de invertebrados planctónicos, especialmente cladóceros (Yurista 1997; Hairston et al. 1999; Caceres & Tessier 2004; Kerfoot & Weider 2004; Vandenkerkhove et al. 2005b) y copépodos (Ban 1992; Hairston & Van Brunt 1994; Knapp et al. 2001). Además, la mayoría de la información disponible está sesgada hacia cuerpos de agua permanentes y relativamente profundos, y muy pocos trabajos se han centrado en cuerpos de agua someros, tanto en rotíferos (Ito 1958; Schroeder 2001) como en cladóceros (Vandenkerkhove et al. 2005a).

Los patrones de diapausa (i.e., producción, viabilidad y eclosión de los huevos diapáusicos) de diferentes especies, y de diferentes poblaciones de la misma especie del zooplancton, están correlacionados con las características de los ecosistemas en el que se encuentra cada comunidad (Pourriot & Snell 1983; Liu & Niu 2010; Walczyńska & Serra 2014). Esto hace muy difícil prever cuáles son los estímulos ambientales que inducen las respuestas de eclosión de los huevos diapáusicos, especialmente cuando se trata de huevos que proceden de lagunas someras y temporales ya que en los experimentos de eclosión suelen tomarse

como referencia los estímulos que favorecen la eclosión de los huevos procedentes de cuerpos de agua con gran volumen y de régimen hídrico permanente. Por ejemplo, ha sido demostrado que, en lagos permanentes, el fotoperiodo y la temperatura, representan dos factores muy importantes que influyen la eclosión de los huevos diapáusicos (Fryer 1996; Brendonck & De Meester 2003), aunque todavía no se conoce con exactitud cuáles son las condiciones ambientales que favorecen o afectan la viabilidad y eclosión de los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros en lagunas someras.

La escasez de trabajos sobre diversidad del banco de huevos del zooplancton, sobre todo de rotíferos, se debe principalmente a la dificultad en la identificación morfológica de los huevos a nivel de especie. De hecho, aún no está claro si existe especificidad en los morfotipos de las especies. Mientras que en algunos casos se ha demostrado una clara especificidad de las especies (Nipkow 1961; Beauchamp 1965; Gilbert & Wurdak 1978; véase también el capítulo 1 de esta tesis), en otros, en cambio, se ha observado que una sola especie puede producir diferentes morfotipos de huevos diapáusicos (Bogoslovsky 1963; Pourriot & Snell 1983) o, incluso, morfotipos de huevos similares entre especies diferentes (Vandekerkhove et al. 2004; Moreno et al. 2017). Por tanto, mientras exista esta limitación en la identificación taxonómica, el estudio de la diversidad del zooplancton a partir del muestreo de las comunidades activas, parece ser todavía el medio más preciso.

Los principales objetivos de este estudio fueron: i) Cuantificar la abundancia de huevos diapáusicos con aspecto saludable (como una medida del tamaño de la reserva de huevos viables), y la riqueza de especies de cladóceros y rotíferos, en el banco de huevos activo de un conjunto de lagunas y humedales que representan un amplio rango geográfico y ecológico; ii) Comparar la riqueza de especies de ambos grupos de zooplancton encontrada en la comunidad activa y en los bancos de huevos dentro de cada ecosistema; y, iii) Explorar la relación entre los patrones de abundancia y riqueza de especies del banco de huevos y las características del hábitat en el que han sido producidos.

Metodología

Los once ecosistemas de estudio y la caracterización ecológica de sus hábitats se han descrito con detalle en la introducción general de esta tesis (véase la sección Ecosistemas de estudio, Tabla 1).

Para determinar la riqueza total de especies de rotíferos y cladóceros en cada sistema, se realizaron colectas tanto del zooplancton activo de la columna de agua como del banco de huevos del sedimento.

Muestreo de la comunidad zooplanctónica activa

En cada sistema, se colectó una sola muestra cualitativa de zooplancton durante los veranos de 2017 y 2018, con excepción de las tres lagunas de alta montaña de Sierra Nevada en las que se tomaron cuatro muestras aproximadamente en un intervalo de 20 días para tratar de cubrir todo el periodo de deshielo de las lagunas y poder así disponer de muestras representativas de la comunidad activa de rotíferos y cladóceros pelágicos, ya que no se tenía conocimiento sobre en qué momento del deshielo las especies salen de su estadio de dormancia. Las muestras se tomaron con una red de zooplancton con apertura de malla de 50 μm y se fijaron con etanol al 70%. Las especies de rotíferos y cladóceros se identificaron usando las claves taxonómicas de Koste (1978) y Alonso (1996), respectivamente, bajo un microscopio invertido (Leitz, Fluovert Fu) con los objetivos 20x y 40x. La identificación taxonómica de las especies de rotíferos, fue revisada por el Dr. H. Segers (Universidad de Gante), y la de las especies de cladóceros fue revisada por el Dr. M. Silva-Briano (Universidad Autónoma de Aguascalientes) (Tabla 2.1).

Colecta, extracción e identificación de los huevos diapáusicos

Los huevos diapáusicos de rotíferos y efipios de cladóceros fueron aislados de las mismas muestras de los cores de sedimento utilizadas en el capítulo 1 y cuya metodología de extracción se detalla en la metodología general de esta tesis (Páginas 44-45). Para este estudio se utilizaron sólo los huevos que presentaban un aspecto saludable, es decir, aquellos que mostraban su cubierta externa intacta para poder asumir que eran viables (García-Roger et al. 2005).

Los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros se identificaron de acuerdo al capítulo 1 y con la bibliografía de Koste (1978), Moreno et al. (2017), Gilbert & Wurdak (1978) para rotíferos, y Vandekerkhove et al. (2004) para cladóceros.

Estimación de la densidad de huevos diapáusicos

La densidad de propágulos (i. e., huevos y efipios) de resistencia se estimó a partir una muestra compuesta por las tres muestras de sedimento de cada laguna. Inicialmente, en cada sistema, se contaron los huevos saludables extraídos desde 100 g (peso húmedo) de sedimento, a excepción de la charca El Lirio de dónde se extrajeron los huevos de 50 g de sedimento. Para referir los resultados de abundancia de huevos por gramo de peso seco de sedimento, se estimó el peso seco del sedimento por diferencia de pesadas de una muestra de 1 g de sedimento húmedo antes y después de desecarlo en una estufa a 40°C durante 24 horas.

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico R 3.0.1 (R Foundation for Statistical Computing). La descripción de dichos análisis se divide en diversos apartados según su enfoque.

Rarefacción de la riqueza de especies en el banco de huevos

Para poder comparar el número de morfotipos de huevos diapáusicos detectados en el sedimento entre lagos teniendo en cuenta el esfuerzo de muestreo en cada lago, se aplicó el método de rarefacción (Gotelli & Colwell 2011). Para ello, la riqueza de especies se estandarizó al mismo tamaño de muestra con la función *rarefy* del paquete R *vegan*.

Relación de las características del hábitat con la riqueza y la abundancia de los bancos de huevos.

Para analizar la relación de la riqueza de los morfotipos y de la abundancia de huevos diapáusicos saludables con las variables ambientales de cada sistema se realizó una selección de modelos lineales basada en el criterio de información de Akaike corregido (AICc) con vistas a una reducción del sesgo del AIC debido a los pequeños tamaños de muestra (Burnham & Anderson 2002). Para ello se usaron los paquetes “MuMIn” (Barton 2012), “lmtree” (Zeileis & Hothorn 2002), y “car” (Fox & Weisberg 2011) de R.

Como variables independientes se consideraron la conductividad, el pH, la temperatura, la profundidad máxima, el área superficial, la altitud, el tipo de ecosistema (alta montaña, humedal no salino, e hipersalinos) y el hidroperiodo (permanente vs. temporal).

Se realizaron todas las interacciones posibles entre las variables independientes y para la selección del modelo correcto se compararon los valores de AICc siguiendo la convención estadística según la cual, si $\Delta AICc$ (diferencias en AICc entre cada modelo y el modelo con el AICc mínimo) es menor de 2, los dos modelos candidatos son adecuados. La normalidad de los residuales del modelo seleccionado se analizó mediante el test de Shapiro-Wilk, la homogeneidad de varianzas con el test de Breusch-Pagan y para detectar la posible presencia de puntos fuera de rango (outliers) se usó el test de Bonferroni. En caso de que el mejor modelo sugiriera utilizar más de dos variables independientes, se verificó la

multicolinealidad entre las variables con la función “vif” del paquete “car” en R 3.0.1; en donde si el valor del VIF (Factor de Inflación de la Varianza) es inferior a 5, se confirma que no hay multicolinealidad entre las variables y se puede aceptar el modelo.

En el caso de la riqueza de huevos diapáusicos, para corroborar la significancia del modelo seleccionado, se usó la función “Anova” del paquete “car”, y el paquete “multcomp” (Hothorn et al. 2008) para hacer una prueba de Tukey entre categorías de las variables.

Tabla 2.1. Lista de especies de cladóceros y rotíferos reportadas en este y otros estudios en las comunidades activas de los once cuerpos de agua analizados (humedales no salinos, lagos hipersalinos, lagunas de alta montaña).

Especie	Ecosistema Acuático									
	Humedales no salinos					Hipersalinos		Alta Montaña		
	Charca de Suárez							Sierra Nevada		
	AB	TAJ	TRE	ANS	LR	CZ	FP	RP	BG	RS
Rotíferos										
<i>Anuraeopsis fissa</i>				X						
<i>Asplanchna</i> sp.			X	X						
<i>Brachionus angularis</i>		X								
<i>B. calyciflorus</i>		X				X				
<i>B. caudatus</i>						X				
<i>B. manjavacas</i>							X			
<i>B. paranguensis</i>								X		
<i>B. quadridentatus</i> A	X	X	X	X	X					
<i>B. quadridentatus</i> B		X		X	X					
<i>B. quadridentatus</i> C				X						
<i>B. urceolaris</i>						X				
<i>Cephalodella gibba</i>										X
<i>Cephalodella</i> sp.				X						
<i>Collotheca ornata</i>		X								
<i>Euchlanis dilatata</i>	X		X	X					X	X
<i>Filinia terminalis</i>						X				
<i>Hexarthra fennica</i>							X			
<i>Hexarthra bulgarica</i>									X	X
<i>Keratella cochlearis</i>						X				
<i>Lecane bulla</i>	X	X	X	X	X					
<i>L. closteroerca</i> A	X		X	X	X					
<i>L. closteroerca</i> B			X		X					
<i>L. flexilis</i>									X	X
<i>L. furcata</i> A				X						X
<i>L. furcata</i> B										X
<i>L. hamata</i>		X			X					
<i>L. inopinata</i>			X							
<i>L. luna</i>	X	X	X							
<i>L. pomiformis</i>		X								
<i>L. quadridentata</i>		X	X	X	X					
<i>L. stenrosi</i>	X									
<i>Lecane</i> sp1.				X						
<i>Lecane</i> sp2.				X						
<i>Lecane</i> sp3.		X								
<i>Lecane</i> sp4.		X								
<i>Lepadella apsidea</i>				X						
<i>L. imbricata</i>	X									

Tabla 2.1. continuación

Especie	Ecosistema Acuático									
	Humedales no salinos					Hipersalinos		Alta Montaña		
	Charca de Suárez							Sierra Nevada		
	AB	TAJ	TRE	ANS	LR	CZ	FP	RP	BG	RS
<i>L. patella</i>		X		X	X				X ¹	X
<i>L. romboides</i>		X		X						
<i>L. triptera</i>			X							
<i>Lepadella</i> sp1.			X							
<i>Mytilina biscalata</i>				X						
<i>M. ventralis</i>				X						
<i>Polyarthra vulgaris</i>	X	X								
<i>Platyas quadricornis</i>				X						
<i>Testudinella patina</i>			X	X						
<i>Trichocerca bicristata</i>									X ¹	
<i>T. relictta</i>									X ¹	X ¹
<i>T. tenuior</i>			X	X					X ¹	X ¹
<i>Trichotria tetractis</i>									X	
No identificado sp1.		X								
No identificado sp2.									X	
Cladóceros										
<i>Alona quadrangularis</i>								X ³	X	
<i>A. elegans</i>										X ³
<i>A. rustica</i>									X ³	X ³
<i>Alona</i> sp1.									X	
<i>Alona</i> sp2.										
<i>Alona</i> sp3.										
<i>Bosmina longispina</i>										X ³
<i>Chydorus sphaericus</i>									X	X
<i>Chydorus</i> sp1.										X
<i>Daphnia mediterranea</i>								X ²		
<i>D. pulex</i>									X	
<i>D. pulicaria</i>										X
<i>Daphnia</i> sp1.						X				
<i>Ilyocryptus</i> sp.						X				
<i>Macrothrix groenlandica</i>										
<i>Macrothrix</i> sp.								X ²		X
<i>Moina salina</i>								X ²		

Nota: Especies descritas por otros autores: ¹Tesis Doctoral de Rafael Morales Baquero (1985); ²García et al. (1997); ³Pérez-Martínez et al. (2020). El significado de los acrónimos se puede encontrar en el apartado de área de estudio general, páginas 32-44.

Resultados

Abundancia de huevos con aspecto saludable en el sedimento

Las abundancias de los huevos diapáusicos del sedimento con aspecto saludable están reportadas en la Tabla 2.1. El lago volcánico Rincón de Parangueo presentó el valor máximo de abundancia de huevos diapáusicos con aspecto saludable. De los 142.28 huevos/g de peso seco en el banco de huevos activo de esta laguna, un 70 % pertenecían a la especie *B. dimidiatus*, un 20% a *B. paranguensis* y un 10% a *Hexarthra* sp. La mínima abundancia se encontró en Álamo Blanco (0.45 huevos/g) y pertenecían en su mayoría a los rotíferos del género *Brachionus* (70%), y los restantes a los cladóceros de la familia Chydoridae (20%) y a *Ceriodaphnia pulchella* (10%).

Tabla 2.2. Abundancia de huevos diapáusicos (g/peso seco) en el sedimento de los diferentes lagos muestreados.

Ecosistema	Lago	huevos/g (peso seco)	Ecosistema	Lago	huevos/g (peso seco)
Humedales no salinos	AB	0.45	Hipersalino	FP	2.79
	TAJ	10.18		RP	142.28
	TRE	22.03	Alta Montaña	BG	2.32
	ANS	21.52		RS	2.23
	LR	16.08		RSI	2.50
	CZ	6.18			

Nota: Los cuerpos de agua marcados en gris representan los que obtuvieron la menor y mayor abundancia de huevos de resistencia. El significado de los acrónimos se puede encontrar en el apartado de área de estudio general, páginas 32-44.

Riqueza de especies en el banco de huevos del sedimento

En el caso de los rotíferos, la riqueza estandarizada en el banco de huevos osciló entre 1 en Río Seco Inferior y 1.9 en Álamo Blanco, obteniendo, en general, los valores más altos de riqueza en

los humedales no salinos (Tabla 2.3.). Con respecto a los cladóceros, la riqueza osciló entre 0 en el lago hipersalino Rincón de Parangueo a 2.3 en El Taraje, con valores similares de riqueza entre humedales no salinos y lagunas de alta montaña (Tabla 2.3). Las diferencias en la riqueza de especies detectada entre lagunas según el tamaño de muestra observado pueden observarse gráficamente en las curvas de rarefacción (Figura 2.1). En la curva de rarefacción incluyendo tanto los morfotipos de huevos de rotíferos como los efipios de cladóceros (Figura 2.1 C) se puede observar que, en varios lagos (Fuente de Piedra, Rincón de Parangueo, El Taraje, El Cedazo, El Lirio), se llegó a alcanzar una asíntota en la riqueza. Esta misma tendencia se observa en las curvas de los huevos diapáusicos de rotíferos (Figura 2.1 A). Con respecto a los cladóceros, con excepción de El Trébol, sí se consiguió determinar la riqueza total de los morfotipos de efipios en cada laguna (Figura 2.1 B).

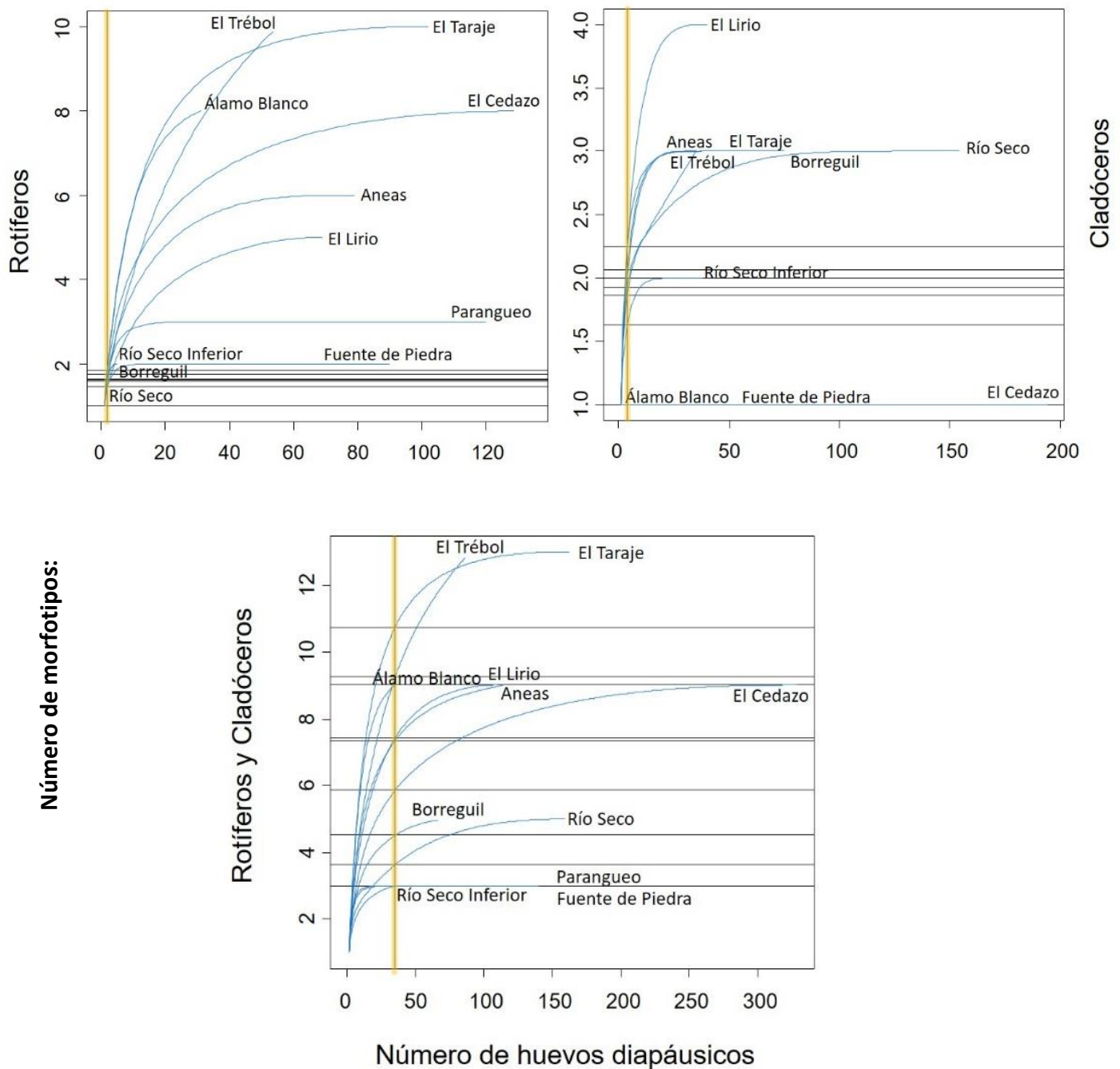


Figura 2.1. Curvas de rarefacción de la riqueza de morfotipos encontrados en los once cuerpos de agua analizados. La línea naranja representa la intercepción del esfuerzo de muestreo con la riqueza obtenida para ese esfuerzo, para cada lago. A) rarefacción de la riqueza de huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros, B) rarefacción de la riqueza de huevos diapáusicos de rotíferos, C) rarefacción de la riqueza de los huevos diapáusicos de cladóceros.

Comparación de la riqueza de especies en la columna de agua y en el banco de huevos

De manera global, considerando todos los ecosistemas, el número total de especies registrado tiende a ser mayor en la comunidad activa del zooplancton que en el banco de huevos del sedimento (Figura 2.2). En total, en la columna de agua, se identificaron 50 especies de rotíferos (Tabla 2.1 y Apéndice 2.1) y 18 especies de cladóceros (Tabla 2.1 y Apéndice 2.3). En cambio, en el banco de huevos se diferenciaron 41 morfotipos de huevos de resistencia de rotíferos (Apéndice 2.2) y 12 morfotipos de epipios de cladóceros (Apéndice 2.4).

Tabla 2.3. Riquezas de especies de rotíferos y cladóceros en la columna de agua y de morfotipos en los bancos de huevos.

Ecosistema	Lugar	Cladóceros		Rotíferos	
		Ra	Rb	Ra	Rb
Alta montaña	BG	6	2 (3)	8	1.6 (2)
	RS	8	1.9 (3)	10	1.6 (2)
	RSI	3	1.6 (2)	6	1 (1)
Humedales no salinos	CZ	2	1 (1)	5	1.7 (8)
	AB	0	1 (1)	9	1.9 (8)
	TAJ	0	2.3 (3)	16	1.8 (10)
	TRE	0	2 (3)	13	1.6 (10)
	ANS	0	1.9 (3)	21	1.6 (7)
	LR	0	2.2 (4)	8	1.4 (6)
Hipersalinos	FP	3	1 (1)	2	1.4 (2)
	RP	0	0	1	1.6 (3)

Nota: Acrónimos de la tabla: **Ra:** riqueza de columna de agua, **Rb:** riqueza estandarizada del banco de huevos. Entre paréntesis, el número de morfotipos encontrados de huevos diapáusicos. En color gris se señala los lagos en donde el número de morfotipos de huevos diapáusicos fue mayor al número de especies observadas en la columna de agua. El significado de los acrónimos se puede encontrar en el apartado de área de estudio general, páginas 32-44.

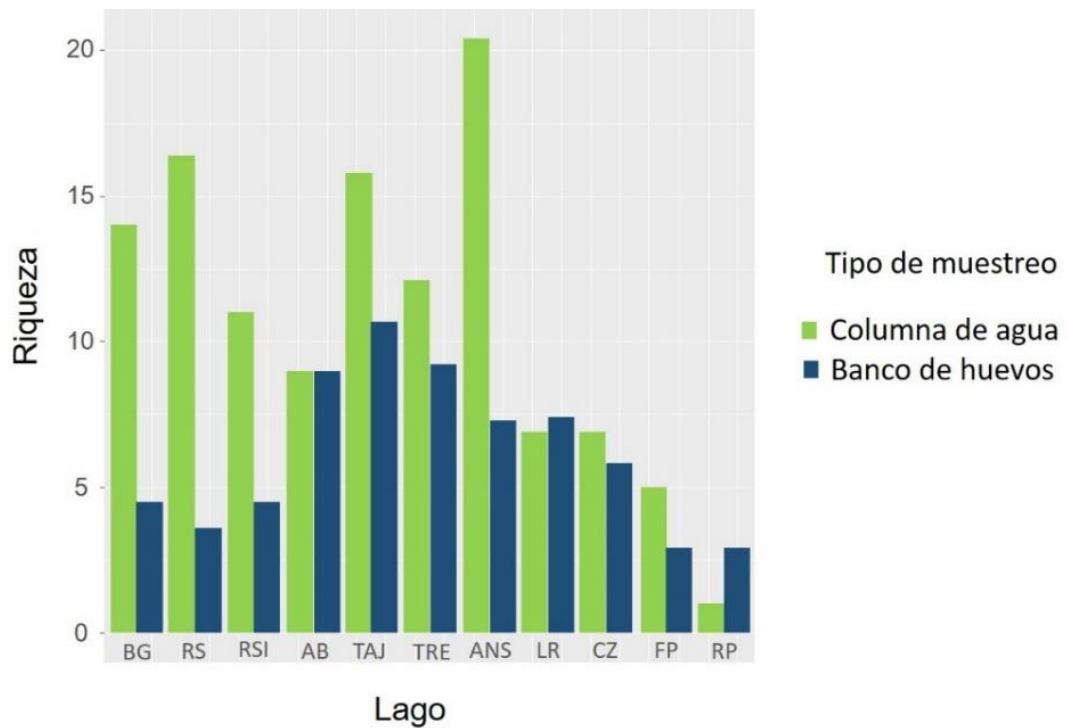


Figura 2.2. Comparación de la riqueza total (i. e., rotíferos y cladóceros) de zooplancton de la columna de agua con la riqueza obtenida de los bancos de huevos del sedimento. El significado de los acrónimos se puede encontrar en el apartado de área de estudio general, páginas 32-44.

En el caso particular de los rotíferos, para la mayoría de los lagos, la riqueza en la columna de agua fue mayor que en el banco de huevos correspondiente (Tabla 2.2). Las únicas excepciones están representadas por el lago hipersalino Rincón de Paranguero donde se encontró mayor riqueza de especies en los huevos diapáusicos (3) que en la comunidad activa (*B. paranguensis* fue la única especie), y por el humedal El Cedazo donde se encontraron 8 morfotipos de huevos diapáusicos y solo 5 especies en la columna de agua. En general, los valores de riqueza de rotíferos más altos, tanto para organismos activos como para el banco de huevos, se registraron en los humedales no salinos (Tabla 2.3).

Con respecto a los cladóceros, los resultados mostraron una tendencia opuesta de manera que, para la mayoría de los lagos, la riqueza de especies fue mayor en el banco de huevos (Tabla 2.3). Sólo se encontraron especies de cladóceros en la comunidad activa en el humedal El Cedazo, en el de Fuente de Piedra y en las tres lagunas de alta montaña, con una riqueza mayor en la columna de agua que en el banco de huevos.

Relación de la abundancia de huevos diapáusicos saludables con las características del hábitat

Los análisis estadísticos mostraron un menor AICc para dos modelos relacionados con la abundancia de los huevos diapáusicos (Tabla 2.6). El primero tomó en cuenta “área” y “conductividad”, mientras que el segundo modelo consideró “área”, “conductividad”, y “pH”. Las tres variables seleccionadas por el modelo resultaron significativas y los valores de multicolinealidad (vif) fueron inferiores a 5 en los dos modelos, demostrando que las variables no están relacionadas entre ellas. De manera general y quitando al maar volcánico de Rincón de Parangueo, los humedales no salinos fueron los ecosistemas con mayor abundancia de huevos, seguidos por los lagos hipersalinos y posteriormente las lagunas de alta montaña.

Tabla 2.4. Mejores modelos seleccionados de la abundancia de los huevos diapáusicos de especies de cladóceros y rotíferos con las variables ambientales medidas. Solo se presentan aquellos modelos con una diferencia en AICc (criterio de información de Akaike corregido) con el modelo con el AICc mínimo ($\Delta AICc$) < 2.

	Estima	SE	t - valor	P	AICc
Área + Conductividad					87.8
Intercepto	7.93	2.66	2.97	0.017 *	
Área	-0.05	0.00	-7.10	0.0001 ***	
Conductividad	0.00	0.00	16.03	0.000002 ***	
Área + Conductividad + pH					88.03
Intercepto	-45.50	21.24	-2.14	0.069	
Área	-0.04	0.00	-8.27	0.00007 ***	
Conductividad	0.00	0.00	11.36	0.00009 ***	
pH	7.03	2.78	2.52	0.039 *	

Nota: Las variables usadas fueron: conductividad, pH, temperatura, área, altitud, profundidad máxima, hidroperiodo y tipo de ecosistema. Los valores de multicolinealidad para las variables usadas en el modelo (Modelo 1: área: 1.09; conductividad: 1.09 y Modelos 2: área: 1.17; conductividad: 2.67; pH: 2.44). En negritas se observan los valores de significancia.

Relación de la riqueza de especies del banco de huevos con las características del hábitat

Los análisis estadísticos mostraron un menor AICc para el modelo que seleccionó de forma independiente la variable “tipo de ecosistema” (Tabla 2.5), mostrando el análisis de varianza la significancia de dicha variable (F valor= 15.98; gl =2.8; p= 0.001 **). Los humedales no salinos presentaron una riqueza significativamente mayor que la de las lagunas de alta montaña y los lagos hipersalinos (ver Tabla 2.6 y Figura 2.4).

Tabla 2.5. Mejor modelo seleccionado de la riqueza total de morfotipos de huevos diapáusicos de cladóceros y rotíferos del banco de huevos del sedimento con las variables ambientales medidas. Los restantes modelos presentaron una diferencia en AICc (criterio de información de Akaike corregido) con el modelo con el AICc mínimo ($\Delta AICc$) > 2.

	Estima	SE	t - valor	P	AICc
Ecosistema					50.2
Intercepto	3.66	0.82	4.43	0.002 **	
Ecosistema (Humedal no salino)	4.56	1.01	4.51	0.001 **	
Ecosistema (Hipersalino)	-0.76	1.30	-0.58	0.573	

Nota: Las variables usadas fueron: conductividad, pH, temperatura, área, altitud, profundidad, hidroperiodo y ecosistema. En negritas se observan los valores de significancia.

Tabla 2.6. Análisis Post hoc para comparar el contraste de pares de los tres tipos de ecosistemas estudiados sobre la riqueza de los morfotipos de huevos diapáusicos.

Contraste de pares	Riqueza de huevos diapáusicos – AIC= 50.2			
	Estimado	Error típico	Valor t	P
Humedales no salinos – alta montaña	4.56	1.01	4.51	0.004 **
Hipersalinos – alta montaña	-0.76	1.30	-0.58	0.829
Hipersalinos – Humedales no salinos	-5.33	1.16	-4.56	0.004 **

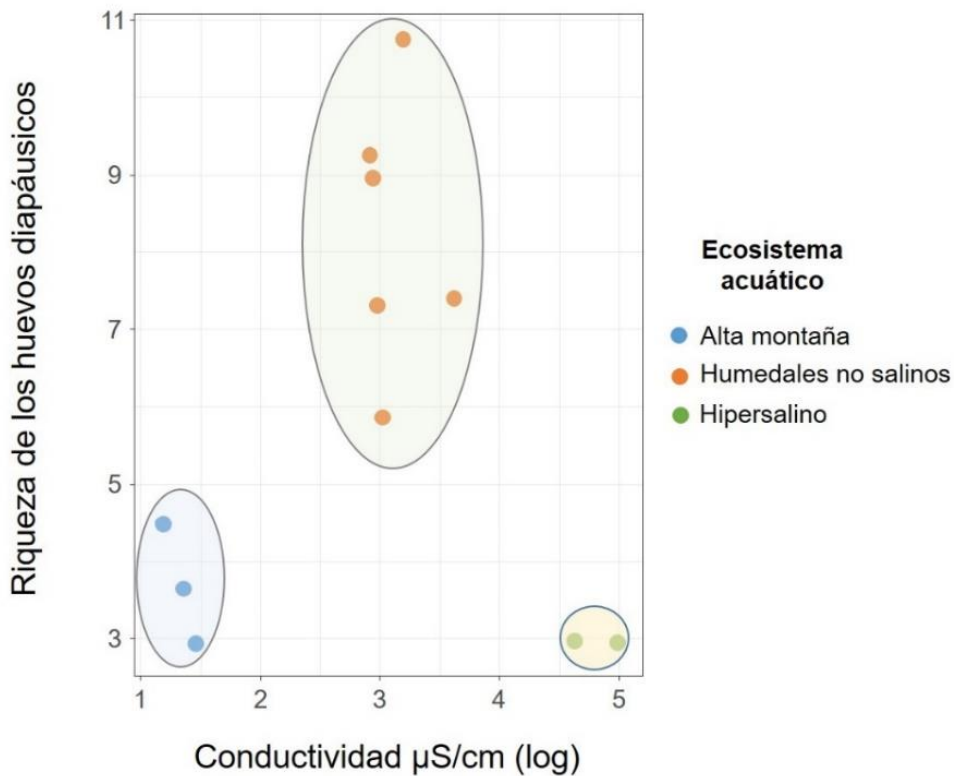


Figura 2.4. Relación entre la conductividad del agua y la riqueza de morfotipos del banco de huevos de los sedimentos obtenida en los tres diferentes tipos de ecosistemas acuáticos (Lagunas de alta montaña, Humedales no salinos, y Lagos hipersalinos).

Discusión

Abundancia de huevos saludables en el sedimento

Los análisis de estimación de la abundancia de huevos diapáusicos mostraron una mayor abundancia de huevos en el lago hipersalino Rincón de Parangueo (142.28 huevos/g de sedimento). La alta abundancia registrada en esta laguna, probablemente se deba a la presencia en el fondo de una capa de sal que recubre el sedimento (2 cm aprox.), debajo de la cual se encontró una gran cantidad de huevos de resistencia de especies que no se han

observado en la columna de agua por años (Guerrero-Jiménez et al. 2019). La eclosión de estos huevos podría verse inhibida por la presencia de la capa de sal que tienen encima, lo cual provoca un “efecto de almacenamiento”, y por tanto, la acumulación de huevos de varias generaciones pertenecientes a especies que temporalmente han desaparecido de la columna de agua. Una alta densidad de huevos fue encontrada también en los humedales no salinos, y esto puede deberse a diferentes factores o a un efecto conjunto de ellos. De acuerdo con Ricci (2001), la activación de la dormancia se debe a las variaciones temporales en los ambientes acuáticos. Una de las variaciones más importantes y más estudiadas es el efecto de la temperatura, ya que, en rotíferos, el aumento de la temperatura acelera el crecimiento de los individuos (Lemus et al. 1993), así como aumenta la producción de prole (Miracle & Serra 1989), e incrementa la tasa de fecundidad de las hembras fertilizadas (Pourriot & Snell 1983). Por lo tanto, en ecosistemas con elevadas temperaturas, como es el caso de los humedales estudiados donde se registraron temperaturas de entre 26 y 30°C, las hembras tenderán a poner una mayor cantidad de huevos diapáusicos. Además, la alta riqueza de especies de rotíferos y cladóceros reportadas en los humedales en este estudio y la alta densidad de organismos favorecida por las altas temperaturas, seguramente llevará a un aumento de la competencia y depredación, dos factores que han sido asociados a una mayor producción de huevos diapáusicos (Gliwicz & J. Pijanowska 1989; Brendonck et al. 1998).

La abundancia de los bancos de huevos analizados mostró valores muy por encima de los valores de abundancia mostrados por Bailey et al. (2004, 2006) en donde lagos de gran profundidad (> 100 m) mostraron abundancias de entre 100 y 300 huevos en 40 g de sedimento. Valores parecidos, en nuestro trabajo, se obtuvieron en los lagos de alta montaña, que fueron los que presentaron los valores más bajos de abundancia. Por otro lado, los valores de abundancia obtenidos por Marcus et al. (1994), que encontró hasta 25 huevos de una especie perteneciente al género *Brachionus* por gramo de sedimento, fueron mayores de los obtenidos en este trabajo.

Riqueza especies en los bancos de huevos y en la columna de agua

Hasta la fecha, se han realizado muy pocos estudios sobre la riqueza de la comunidad zooplanctónica utilizando el análisis morfológico de los bancos de huevos (May 1986; Vandekerkhove et al. 2005a). En este estudio, los resultados de riqueza de especies encontrados en la columna de agua y en los huevos diapáusicos no siempre coincidieron, de hecho, en su mayoría, el número de especies observado en la comunidad activa fue mayor al de los bancos de huevos. Estos resultados difieren con lo sustentado por May (1986), Crispim & Watanabe (2001) y Vandekerkhove et al. (2005a), que sugieren que el estudio de la riqueza mediante los bancos de huevos es igual de efectivo que el estudio de las comunidades activas de rotíferos y cladóceros. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la producción de huevos diapáusicos no es la misma en todos los ecosistemas y difiere según el tipo de ecosistema acuático (Schroeder 2001; Nevalainen et al. 2018), las condiciones climáticas (Donald 1983) y hasta en presencia de contaminantes en el cuerpo de agua (Piscia et al. 2016).

En el caso de los rotíferos, el número de especies encontrado en la comunidad activa fue mayor en todos los ecosistemas estudiados, a excepción del humedal El Cedazo y el lago hipersalino Rincón de Parangueo (ver Tabla 2.3). Los humedales no salinos representaron el tipo de ecosistema con mayor riqueza de especies para ambos grupos. Esta mayor riqueza ha sido también observada para otros grupos, como artrópodos (Wettstein & Schmid 1999), plantas (Magalhaes et al. 2016), y aves (Hamza & Selmi 2018), de hecho, los humedales se reconocen como ecosistemas con alta biodiversidad debido a que representan una transición entre ecosistemas acuáticos y ecosistemas terrestres (Baptista et al. 2012). La alta riqueza encontrada en este tipo de ecosistema, se observó tanto en la comunidad activa, como en los morfotipos de huevos diapáusicos. En El Taraje se llegó a identificar hasta el doble de las especies de rotíferos en las comunidades activas. Además, en esta charca algunos huevos de resistencia no se pudieron identificar morfológicamente debido a que eran morfotipos de los que se obtuvo un único huevo y no se pudieron observar

caracteres taxonómicos que llevaran a su identificación, por lo tanto, es muy probable que la riqueza de especies fuera aún mayor a la que reportamos aquí. Además, en el mismo Taraje se observaron especies en la comunidad activa cuyos huevos de resistencia no se encontraron en los bancos de huevos, como por ejemplo en el caso del rotífero sésil *Collotheca ornata*. Esto se explica debido a que este rotífero sésil mantiene el huevo de resistencia adherido a su mucílago que sirve como casa, pegado en alguna hoja o planta (observación personal), por lo tanto, el huevo difícilmente se podría observar en las muestras de sedimento.

Con respecto a los cladóceros, en los humedales no salinos, con excepción de El Cedazo donde solo se encontraron especies activas, la riqueza encontrada en los bancos de huevos fue mayor que en la columna de agua. Habiendo efectuado una única toma de muestra de agua, es muy probable que en el periodo de la colecta no existieran las condiciones favorables para la eclosión de los huevos de las especies de cladóceros presentes. En efecto, muchos autores (Sullivan & McManus 1986; Hansen & Jeppesen 1992; López-González et al. 1998; Hairston et al. 2000) han evidenciado que las comunidades de zooplancton presentan una variación estacional en la riqueza de especies en la columna de agua, especialmente en los lagos temporales y someros, relacionada con la variabilidad temporal de factores abióticos, como por ejemplo la temperatura del agua (Cáceres 1998). Para este estudio, el muestreo se realizó a principios de agosto y aunque se encontró un buen nivel de agua, las temperaturas registradas fueron por encima de los 25°C, y de acuerdo con los resultados de eclosión que se verán en el capítulo 3 y Vanderkerhove et al. (2005a) los aumentos de temperatura reducen drásticamente la eclosión en cladóceros. Además, los resultados de tabla de vida del capítulo 5, muestran que las altas temperaturas también tienen un efecto negativo sobre los rasgos de vida de los cladóceros en la columna de agua. Sin embargo, también, una de las características de los humedales de Charca de Suárez es que requieren la intervención humana para mantener un nivel de agua adecuado para la sustentabilidad del ecosistema acuático, y por lo tanto las condiciones del agua son extremadamente variables y cambian repentinamente independientemente de las

condiciones climáticas (Blanco-Coronas et al. 2020). Desafortunadamente no hay estudios previos que hayan cuantificado la biodiversidad de zooplancton en estos sistemas que nos permitan completar y comparar la lista de especies presentes en la comunidad activa.

En el caso particular de los lagos de alta montaña, a pesar de ser hábitats con condiciones muy extremas, representaron el segundo tipo de ecosistema acuático con mayor riqueza de especies (Figura 2.2). Todos los lagos de alta montaña bajo estudio tuvieron un mayor número de especies en la columna de agua que en los bancos de huevos, y esto fue así para ambos grupos de zooplancton (Tabla 2.3). Para los rotíferos, dentro de cada laguna, los morfotipos encontrados de los huevos de resistencia no correspondieron con las especies observadas en la comunidad activa. Por ejemplo, *Hexarthra bulgarica*, una especie que se puede observar frecuentemente en el plancton de la laguna de Río Seco, no mostró evidencia de huevos de resistencia en los bancos de huevos. Recientemente, Piscia et al. (2020) en un estudio sobre las características de los bancos de huevos de zooplancton en dos pequeños lagos en el Himalaya, observaron que los huevos diapáusicos de *Hexarthra bulgarica* eclosionan en gran cantidad cada año, lo que podría causar la presencia de un bajo número de huevos de esta especie en el banco de huevos, como observado en nuestro estudio. Asimismo, para *Euchlanis dilatata*, un rotífero que se encuentra con frecuencia en la mayoría de las lagunas de Sierra Nevada (Morales-Baquero 1988), tampoco se pudo observar el huevo de resistencia, pero si la presencia de la especie en la columna de agua. Los valores de riqueza de especies de rotíferos obtenidos para las tres lagunas fueron más bajos respecto a los reportados para otras lagunas de Sierra Nevada por Morales-Baquero (1985), quien reporta 17 especies para la laguna Virgen Inferior, y 14 especies para Virgen Superior y Gemelas. Por otro lado, con respecto a los cladóceros, Pérez-Martínez et al. (2020) reportan valores similares a los aquí reportados, de tres a seis especies, en varias lagunas de Sierra Nevada.

Finalmente, los lagos hipersalinos en este estudio representaron los ecosistemas con la menor riqueza de especies de todos los ecosistemas analizados. Estos resultados están en

consonancia con las observaciones de otros estudios previos que han mostrado que niveles altos de salinidad disminuyen la diversidad de especies de rotíferos (e.g., De Paggi 1989). En rotíferos, se han reportado pocas especies capaces de tolerar altos niveles de salinidad (de hasta 32 g/L), y éstas pertenecen a los géneros *Brachionus*, *Hexarthra* y *Keratella* (Koste 1978; Egborge 1994; Mills et al. 2017). En este trabajo, en la laguna de Fuente de Piedra, las dos especies *Brachionus manjavacas* y *Hexarthra fennica*, se observaron coexistiendo en una salinidad de entre 20 y 30 g/L (Tabla 2.1.). La coexistencia de especies pertenecientes a estos dos géneros en ecosistemas salinos ya había sido reportada previamente en lagunas del Mediterráneo (Antón-Pardo & Armengol 2011), así como en África (Egborge 1994), o en Canadá (Hammer 1993) en donde una especie perteneciente al complejo *B. plicatilis* identificada en su momento como *B. plicatilis s.s.*, se encontró a salinidades de hasta 45 g/L, y de hasta 35 g/L para *H. fennica*. En el caso de los cladóceros, en Fuente de Piedra solo se observó la presencia de los huevos diapáusicos de *Moina salina*, aunque García et al. (1997) si reporta a esta especie y dos especies más de cladóceros (*Daphnia mediterranea* y *Macrothrix sp.*) en la columna de agua. Con respecto a los rotíferos, en esta misma laguna, el número de especies observadas en la columna de agua y bancos de huevos coincidió. Por otro lado, en Rincón de Parangueo, los resultados mostraron mayor número de especies de rotíferos en el banco de huevos (*Hexarthra sp.*, *B. dimidiatus*, *B. paranguensis*), mientras que solo observó a *B. paranguensis* en la comunidad activa durante un largo periodo de tiempo (Guerrero-Jiménez et al. 2019). Probablemente, cuando el lago sufrió la ruptura en el cráter del volcán en 1980 (Aranda-Gómez et al. 2013), y el agua del lago empezó a filtrarse hasta convertirse en un lago somero hipersalino, las especies activas presentes en la columna de agua, entraron en dormancia para hacer frente a las nuevas condiciones de salinidad no favorables. Sin embargo, la alta concentración de salinidad llevó a la formación de una capa de sal por encima del banco de huevos, impidiendo la eclosión de los mismos. No se observó evidencia de ninguna especie de cladóceros ni en la columna de agua ni en los bancos de huevos, y desafortunadamente la falta de estudios del zooplancton en este cuerpo de agua, no permite estimar si la riqueza es mayor a la reportada en este trabajo.

La discordancia entre la riqueza de especies observada en las comunidades activas y los bancos de huevos diapáusicos, puede deberse a varios factores, entre ellos, la variabilidad inter-específica presente en la comunidad, las características del ecosistema acuático y la falta de información que se tiene sobre la morfología de los huevos de resistencia de rotíferos y cladóceros. Con respecto a la variabilidad de especies, es importante destacar que no todas las especies de zooplancton producen huevos diapáusicos (Hairston 1996), además según la especie y la estructura de los huevos, estos no siempre se encuentran en el sedimento de los cuerpos de agua. Se ha reportado, por ejemplo, que los efipios de algunas especies de *Daphnia* se quedan pegados a restos orgánicos que flotan o de vegetación (Carvalho & Wolf 1989). De manera similar, los efipios de otras especies como *Polyphemus pediculus*, *Pseudosida variabilis* o *Sida crystallina* han sido encontrados pegados a la vegetación gracias a la presencia de una película pegajosa alrededor del huevo (Fryer 1996; Korovchinsky & Boikova 1996). En este estudio, como anteriormente se ha comentado, se observó lo mismo con dos especies de rotíferos, *H. bulgarica* y *C. ornata*, cuyos huevos diapáusicos se pudieron observar flotando en el agua o dentro de un mucílago. Por lo tanto, puede ocurrir que los huevos de algunas especies no sean detectados colectando muestras de sedimento, subestimando así la riqueza de los morfotipos de huevos diapáusicos presentes en el lago.

En segundo lugar, es esperable que las características del hábitat según el tipo de ecosistema acuático influyan sobre las tasas de producción de huevos diapáusicos. Así pues, en los ecosistemas temporales, con elevada variabilidad ambiental, la comunidad zooplanctónica estará sujeta a un mayor estrés ambiental y la producción de huevos diapáusicos se verá favorecida (de Stasio 1989; Brendonck & De Meester 2003). Además, la estructura y la dinámica de los bancos de huevos de resistencia, está determinada también por otros factores presentes en el lago, como la dispersión de los huevos mismos, el nivel de depredación o el nivel de perturbación en el sedimento causado principalmente por bioturbación y excavación por parte de otros animales, y por actividades antropogénicas (de Stasio 1989; Cáceres & Hairston 1998; Brendonck & De Meester 2003). Todos estos

factores influyen altamente la presencia y la viabilidad de huevos en el sedimento, y por lo tanto, la riqueza de la comunidad, tanto en los bancos de huevos como en la comunidad activa.

Finalmente, y no por ello menos importante, la correcta identificación morfológica de los huevos de rotíferos y cladóceros también representa un factor determinante para la estimación de la riqueza en un sistema acuático, evitando así subestimar o sobrestimar la cantidad de especies en los bancos de huevos. En este sentido, aunque hasta el momento ha sido necesario recurrir siempre a la técnica de la eclosión de los huevos diapáusicos y a la posterior identificación de las especies, y/o al uso de herramientas moleculares (Moreno et al. 2017), los resultados obtenidos en el capítulo 1 de esta tesis sobre identificación de huevos de resistencia y efipios, nos ha permitido identificar taxonómicamente la mayoría de los morfotipos de huevos y efipios a nivel de especie, especialmente de rotíferos.

Relación de la abundancia de huevos diapáusicos con las variables ambientales

Hasta la fecha la relación que existe entre la abundancia de huevos diapáusicos y las variables ambientales ha sido poco estudiada. Sí se ha demostrado que incrementos de temperatura favorecen la fertilidad de las hembras y por tanto la producción de huevos diapáusicos (King 1978), además Bailey et al. (2004) reportan que en lagos con alta salinidad se observa un mayor número de huevos diapáusicos. Sin embargo, la relación entre abundancia de huevos y alta salinidad todavía no es clara, en efecto Bailey et al. (2006) encuentran un número más elevado de huevos de resistencia en un lago con poca salinidad. En este trabajo, la conductividad fue uno de los factores significativos relacionados con la abundancia de los huevos de resistencia, aunque no se observó una relación lineal entre la salinidad y el número de huevos. En efecto, con excepción del lago hipersalino Rincón de Parangueo que presentó los valores más altos de abundancia de huevos, los humedales no salinos que presentaron valores de conductividad intermedios comparados con las lagunas

de alta montaña y las hipersalinas, registraron una alta abundancia de huevos de resistencia.

Otro factor de estrés para la comunidad de zooplancton puede estar relacionado con el área del lago, ya que como indicado por los resultados de este estudio, el área representó un factor relacionado con la abundancia de huevos de resistencia. Como de Stasio (1989) indica, los bancos de huevos de zooplancton se encuentran, en su mayoría, en lagos pequeños o efímeros. Seguramente, un hábitat más pequeño favorecerá un mayor estrés en la comunidad, debido a la concentración de los organismos en un espacio más reducido, y aumentando así la competencia y la depredación (Santer & Lampert, 1995; Slusarczyk, 1995; Piercey & Maly, 2000). No obstante, las lagunas estudiadas en la presente tesis, con excepción de El Cedazo y Fuente de Piedra, presentan áreas muy similares y, por lo tanto, es difícil observar patrones marcados que relacionen el área con las abundancias de los huevos.

Finalmente, los resultados indican el pH como factor significativo relacionado con la abundancia de los huevos de resistencia. Como sugieren Radwan (1984), Berzins & Pejler (1987) y Wang et al. (2008), el zooplancton parece tolerar un amplio rango de pH, entre 4.5 y 8.5, de manera que valores extremos de pH producen un estrés en la comunidad que causa cambios y diferencias en la composición y abundancia de especies. Como ya es sabido, la producción de huevos resistencia está fuertemente relacionada con las condiciones ambientales del ecosistema, y condiciones cambiantes o factores de estrés favorecen la producción de dichos huevos (Cáceres, 1997; Brendonck et al. 1998; Brendonck & De Meester 2003). Chan et al. 2008, en un estudio de la variación de la abundancia de huevos de resistencia de copépodos en lagos con diferentes valores de pH, encontraron una mayor abundancia de huevos en un lago con problemas de acidificación comparados con los otros lagos que tenían condiciones muy estables. Por lo tanto, la presencia de un pH muy ácido o muy básico, seguramente llevará a una mayor producción de huevos de resistencia por parte de las especies de rotíferos y cladóceros, lo que también podría

explicar el elevado número de huevos en Rincón de Parangueo que presentó un valor de pH (10.4) que supera el rango de tolerancia.

Relación de la riqueza de especies del banco de huevos con las variables ambientales

En este estudio también se analizó el efecto que tuvieron las variables ambientales (conductividad, pH, temperatura, área, altitud, profundidad, hidroperiodo y tipo de ecosistema) sobre la riqueza de especies en los bancos de huevos. Del total de las variables analizadas, el tipo de ecosistema mostró significancia como variable explicativa de la variabilidad en la riqueza de huevos de rotíferos y cladóceros. Esto muy probablemente se debe a las diferentes características ambientales que caracterizan los tres diferentes tipos de ecosistemas, ya que es bien conocido que las variables fisicoquímicas del agua afectan a la riqueza de especies en diferentes ecosistemas (i.e. Nandini et al. 2005). Entre estas variables abióticas, temperatura, salinidad y conductividad han demostrado ser importantes reguladores del número de especies de zooplancton (Williams 1998; Kaya et al. 2010). En efecto, los humedales no salinos, que fueron los ecosistemas que presentaron la mayor riqueza de huevos de resistencia para ambos grupos, presentaron valores de conductividad intermedia, a diferencia de las lagunas de alta montaña o los lagos hipersalinos que registraron valores de conductividad muy bajos o muy altos, respectivamente.

CAPÍTULO III

Variación en las respuestas de eclosión
de rotíferos y cladóceros a cambios de
temperatura y salinidad

Introducción

Debido a los efectos producidos por el cambio climático, la estructura y función de un número cada vez mayor de ecosistemas acuáticos se encuentran negativamente afectadas (Jeppesen et al. 2007a, 2015a). En este sentido, es importante identificar el grado de resiliencia de los ecosistemas y de las comunidades que los habitan, para entender hasta qué punto un ecosistema se puede recuperar después de un periodo de perturbación o frente al inevitable cambio de las condiciones ambientales que se están produciendo. Dentro de un mismo ecosistema, las especies pueden tener diferentes respuestas frente a las adversidades que se presentan (Connell & Sousa 1983), y estas respuestas dependen del grado de adaptación de las especies y de las estrategias evolutivas de los ciclos vitales de los organismos para poder superar tales condiciones adversas. En el caso del zooplancton que habita en ambientes temporalmente variables, esta estrategia de adaptación está representada principalmente por la producción de huevos de resistencia (Brock et al. 2003; Datry et al. 2017; Vargas et al. 2019). Por tanto, la resiliencia de las comunidades zooplanctónicas dependerá en gran medida de la viabilidad y eclosión desde el sedimento de estos huevos diapáusicos. Varios estudios han mostrado que, para hacer frente a la impredecibilidad ambiental, el zooplancton a menudo adopta la estrategia de *bet-hedging* (estrategia de minimización de riesgos), extendiendo los eventos de eclosión de los huevos por períodos más o menos largos, maximizando así las posibilidades de persistencia de las poblaciones (De Meester & de Jaeger 1993; Simovich & Hathaway 1997; Brendonck et al. 1998; Brendonck & de Meester 2003; Tarazona et al. 2017).

La tasa de eclosión de los huevos diapáusicos del sedimento es muy variable y depende de las diferentes condiciones ambientales propias de cada hábitat (Serra & King 1999; Schroeder 2005). En general, la eclosión de los huevos de resistencia del zooplancton está relacionada con tres factores ecológicos principales: la temperatura, la luz, y la salinidad (Minkoff et al. 1983; Pourriot & Snell 1983; Han et al. 2018). También se ha demostrado que la presencia de metales pesados (Aránguiz-Acuña 2018) y de pesticidas (Navis et al. 2013)

afecta a la viabilidad de los huevos de rotíferos y cladóceros, disminuyendo la capacidad de eclosión. Más específicamente, la temperatura y la salinidad han sido identificados como los principales factores ecológicos que influyen y caracterizan la ecología de las especies de zooplancton (Snell et al. 1983a; Miracle & Sierra 1989; Gómez et al. 1997), y su influencia varía notablemente entre los cuerpos de agua en función de su geografía, profundidad, y cobertura vegetal (Pennak 1966; Dodson et al. 2005; Nielsen & Brock 2009). En el caso particular de los ecosistemas acuáticos someros, la temperatura y la salinidad son factores especialmente relevantes por estar éstos sometidos a fluctuaciones muy marcadas en el nivel del agua. En las últimas décadas, como consecuencia del cambio climático inducido por el hombre, la temperatura y el régimen de precipitaciones han cambiado notablemente, y se estima que seguirán cambiando aún más en el futuro (Meehl et al. 2007). Además, con la disminución de las precipitaciones y el incremento de la evaporación del agua debido al aumento de temperatura, se producirá una concentración de la sal, y por ende un aumento de la conductividad y la salinidad del agua (Jeppesen et al. 2011, 2015). Por tanto, estas alteraciones debidas al cambio climático podrían afectar notablemente a la tasa de eclosión y a la viabilidad de los huevos diapáusicos del zooplancton y, en consecuencia, reducir la capacidad resiliente de sus poblaciones.

Hasta ahora, la mayoría de los estudios que han explorado el efecto de la salinidad sobre el zooplancton se han centrado en estadios adultos de las especies presentes en la columna de agua. Sin embargo, los huevos diapáusicos podrían representar los estadios más susceptibles a los cambios que se están produciendo (Choudhuri 1968; Skinner et al. 2001; Nielsen et al. 2003). Debido a esta falta de información, poco se sabe sobre el efecto de la salinidad y temperatura sobre la tasa de eclosión de los huevos de resistencia del sedimento (Santangelo et al. 2014, Conde-Porcuna et al. 2018), y por lo tanto cómo variará la estructura de las comunidades zooplanctónicas en los ecosistemas acuáticos frente al cambio climático (Tuytens et al. 2014). En general, se ha observado que aumentos en la salinidad pueden disminuir la tasa de eclosión de los huevos de resistencia (Skinner et al. 2001), aunque no todas las especies responden de la misma forma (Santangelo et al. 2014;

Conde-Porcuna et al. 2018). En efecto, diferentes especies tienen diferentes respuestas al incremento de salinidad y, mientras algunas son particularmente sensibles incluso a pequeños aumentos de salinidad, otras, en cambio, son más tolerantes, con lo que se beneficiarán y podrán colonizar nuevos sistemas acuáticos (Jeppensen et al. 2015). Así, por ejemplo, Minkoff et al. (1983) observaron que la eclosión de los huevos diapáusicos del rotífero *B. plicatilis sensu stricto* era afectada por los incrementos de salinidad, y lo mismo se observó para los huevos de algunas especies del cladóceros *Daphniopsis pusilla* (Geddes 1976). Conde-Porcuna et al. (2018) han mostrado cómo la resiliencia de las poblaciones de rotíferos en lagos temporales puede decrecer de forma dramática a niveles de salinidad superiores a 8 g/L. Por otro lado, Mabidi et al. (2018) demostró que la tasa de eclosión de los huevos de resistencia de cladóceros, en cuatro humedales de Sudáfrica, disminuyó con salinidades iguales o superiores a 2.5 g/L. Sin embargo, poco se sabe sobre las respuestas de eclosión de los huevos pertenecientes a diferentes morfotipos de una misma especie ni dentro de complejos de especies filogenéticamente cercanas. Hasta ahora, sólo los estudios de Walczynska & Serra (2014) y Gabaldón et al. (2015) han analizado las diferencias en los patrones de eclosión de huevos de resistencia pertenecientes a dos especies del complejo *Brachionus plicatilis*, *B. plicatilis s. s.* y *B. manjavacas*, bajo diferentes condiciones de temperatura y salinidad respectivamente. Además, hasta la fecha, no hay estudios que hayan analizado los posibles efectos de interacción entre la temperatura y la salinidad en un diseño cruzado, ni tampoco comparando la eclosión de huevos de resistencia procedentes de sistemas acuáticos de diferentes ambientes y tipologías.

En definitiva, la adaptación de las especies a diferentes combinaciones de salinidad y temperatura y, por tanto, su caracterización ecológica, definirá la capacidad de las poblaciones para permanecer viables durante un periodo de condiciones adversas. Por lo tanto, para tener un entendimiento más profundo sobre los patrones y los procesos que influyen la biodiversidad y la resiliencia de la comunidad zooplanctónica en los ecosistemas acuáticos, el estudio de las respuestas de eclosión de rotíferos y cladóceros a los cambios ambientales derivados por el cambio climático es de fundamental importancia.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto combinado del aumento de la salinidad y la temperatura del agua sobre la tasa de eclosión y el día de eclosión de los huevos de resistencia de especies de rotíferos y cladóceros colectados en once ecosistemas acuáticos someros de distinta localización geográfica y con diferentes características limnológicas (fundamentalmente duración del hidropериodo y salinidad). Se analizaron las diferencias tanto a nivel global como específico, según el tipo de ecosistema (humedales no salinos, lagos hipersalinos y lagunas de alta montaña), además de las variaciones intraespecíficas y entre especies cercanas filogenéticamente. La hipótesis de partida es que la respuesta de eclosión de los huevos diapáusicos de las poblaciones de rotíferos y cladóceros variará según las características ambientales en que habitan. Cabe esperar que las especies de humedales temporales, las cuales se han adaptado para vivir en hábitats con una mayor variación temporal en el sistema hídrico, tengan una mayor tasa de eclosión de los huevos de diapausa del sedimento ante ligeras variaciones de salinidad y aumentos de las temperaturas. Por el contrario, los organismos de lagos oligotróficos de alta montaña, que se han adaptado para vivir en condiciones de baja temperatura y baja salinidad, responderán de una forma negativa incluso a pequeños incrementos de salinidad y temperatura. Además, cabe esperar que las poblaciones de los ecosistemas hipersalinos sean las que presenten mayores tasas de eclosión de huevos diapáusicos por ser éstos los mejor adaptados a las variaciones de temperatura y salinidad. Mediante el análisis de la variabilidad en las respuestas de eclosión del banco de huevos de rotíferos y cladóceros de cada uno de estos tipos de ecosistemas podremos evaluar el papel de la capacidad resiliente del zooplancton y su contribución para el mantenimiento de la diversidad de las comunidades acuáticas en ecosistemas temporales ante perturbaciones de calentamiento climático y salinización de las aguas.

Material y Métodos

Recolección y aislamiento de los huevos diapáusicos

Este estudio se realizó a partir de las mismas muestras de cores de sedimento utilizadas en los capítulos 1 y 2. Para la metodología de aislamiento de los huevos diapáusicos de rotíferos y efipios de cladóceros véase la metodología general de esta tesis (Figura 12). Para los experimentos de este capítulo, se utilizaron sólo los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros que presentaban un aspecto saludable, es decir, aquellos que mostraban su cubierta externa intacta para poder asumir que eran viables (García-Roger et al. 2005).

Experimentos de eclosión

Los efectos principales de la salinidad y la temperatura, y su posible efecto de interacción, se examinaron sobre la tasa de eclosión y el tiempo de eclosión de los huevos de resistencia del sedimento mediante un diseño factorial 4 X 2 combinando cuatro niveles de salinidad (0.5, 5, 15 y 35 g/L) y dos niveles de temperatura (15 y 30°C). Se realizaron cinco experimentos en diferentes momentos, pero bajo las mismas condiciones. Para seleccionar los niveles experimentales de salinidad y temperatura se tuvieron en cuenta los rangos que se han observado *in situ* de estas variables en los diferentes ecosistemas acuáticos (véase la Tabla 1). De esta manera, se cubrieron todos los escenarios posibles que ocurren de forma natural en los hábitats de estas especies. Además, en un análisis preliminar de todos los cuerpos de agua bajo estudio pudimos observar que las salinidades y temperaturas seleccionadas eran adecuadas para la inducción de la eclosión de los huevos diapáusicos de las especies de rotíferos y cladóceros identificadas en el capítulo 1. Los medios artificiales se estandarizaron disolviendo diferentes cantidades de sal de mar comercial ("Aquavitro", Madison, GA, U.S.A) en agua destilada. El pH de las cuatro soluciones salinas fue prácticamente similar (7.52 ± 0.36 , media \pm SD). La salinidad era estimada midiendo la conductividad con una sonda EUTECH PC300 y usando la tabla de

conversión de los valores de conductividad a salinidad propuesta por Bodelón et al. (1994). Para poder analizar el efecto de la temperatura de forma independiente y evitar la pseudoreplicación, las unidades experimentales se colocaron aleatoriamente en seis cajas de madera (tres en cada temperatura) de las mismas dimensiones (30 cm³) con luz cenital. Las cajas eran opacas y eran provistas de una luz LED con una irradiancia PAR de $345.50 \pm 20.54 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ y un fotoperiodo 16:8 h luz:oscuridad. Esta intensidad de luz no cambia la temperatura de las cámaras (Pérez-Martínez et al. 2013). Se usaron dos modelos de cámaras de incubación Memmert: el modelo ICP 700, diseñado específicamente para bajas temperaturas, para el tratamiento de 15°C y el modelo ICP 600 para el tratamiento de 30°C.

En total se utilizaron 3690 huevos de rotíferos y cladóceros, de los cuales se reconocieron 27 morfotipos diferentes de huevos de resistencia de rotíferos y 13 de cladóceros pertenecientes a diferentes especies (Tabla 3.2). Los huevos fueron colocados individualmente y de manera aleatoria en placas de poliestireno de 96 pocillos, con un volumen final de 250 μl por cada pocillo. Para minimizar las varianzas, los diferentes morfotipos de huevos fueron repartidos equitativamente entre los ocho tratamientos experimentales. Posteriormente, las placas de pocillos fueron repartidas de forma aleatoria en las seis cajas y se mantuvieron en incubación durante 25 días. Cada día se anotaba, aproximadamente a la misma hora, el número de eclosiones. Con el fin de mantener las concentraciones de salinidad constantes durante todo el periodo experimental, el volumen de medio en los pocillos se controló diariamente. Solamente en el tratamiento de mayor temperatura (30°C) fue necesario renovar el medio cada dos días debido a la evaporación que producía esta temperatura.

Análisis Estadísticos

Análisis global

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa R. 3.3.3 (R fundación para análisis estadísticos). Para analizar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de eclosión y el día de eclosión de los huevos de resistencia, se usaron modelos generalizados lineales mixtos con el método de Montecarlo con cadenas de Markov (MCMC). Para este análisis se usó la aproximación bayesiana del paquete de R “MCMCglmm” (Hadfield 2010). Se usó el modelo MCMC porque este modelo permite la lectura de modelos complejos que tienen múltiples efectos aleatorios cuando se tienen bases de datos muy extensas (Bolker et al. 2008, Hamra et al. 2013) y, además, suelen ser más eficaces que otros métodos alternativos (Hadfiel 2010).

Para el análisis sobre la tasa de eclosión, se asumió una distribución binomial para los errores en los datos y todos los efectos se tuvieron en cuenta independientemente de su significancia estadística (Bolker et al. 2008). La eclosión de los huevos de resistencia se evaluó mediante una variable binaria, en donde “1” correspondió a huevos eclosionados y “0” a huevos que no eclosionaron durante el periodo de observación. Las variables predictoras fueron: concentración de salinidad (variable continua) y temperatura (variable categórica). También se analizó la interacción entre la concentración de salinidad y la temperatura, no obstante, si ésta no era significativa, se eliminó del modelo para eliminar su posible efecto r sobre el efecto de los factores principales (Bolker et al. 2008). Los factores aleatorios analizados fueron especie (especies de cladóceros y rotíferos), experimento (número de experimento realizado), caja (donde se incubaron las microplacas), y lago. La estimación de los predictores se consideró estadísticamente significativa sí el 95% de los intervalos creíbles no sobrepasaba el cero y si los valores del pMCMC en el modelo MCMCglmm eran <0.05 (Fisher et al. 2013). Para evaluar la significancia estadística de los efectos aleatorios se usó el criterio de desviación de

información (DIC, *deviation information criterion*) (Bolker et al. 2008; Wilson et al. 2010). El DIC es similar al criterio de información Akaike (AIC, *Akaike information criterion*) y es usado para aproximaciones Bayesianas (Bolker et al. 2008). Una diferencia de 5 puntos en el DIC entre el modelo completo y el modelo sin factor aleatorio indica una contribución alta de dicho factor aleatorio (Spiegelhalter et al. 2007; Barnett et al. 2010).

Para medir la significancia del día de eclosión, también se usó un modelo MCMCglmm, pero asumiendo una distribución de Poisson para esta variable. Los modelos MCMCglmm incluyen niveles individuales de efectos aleatorios, que resuelven el problema de sobredispersión.

Análisis según el tipo de ecosistema acuático

Para analizar el efecto de la salinidad y la temperatura sobre la tasa de eclosión en los tres tipos de ecosistemas acuáticos por separado (humedales no salinos, lagunas de alta montaña y lagos hipersalinos) se utilizó también un modelo MCMCglmm. Sin embargo, para los dos lagos hipersalinos (Fuente de Piedra y Rincón de Parangueo) y los tres lagos de alta montaña (Borreguil, Río Seco, y Río Seco Inferior), el factor “lago” se consideró como factor fijo, debido a que este factor no tenía los niveles necesarios para poder considerarse como aleatorio. Esta estrategia ha sido ya realizada por otros autores como una herramienta viable cuando el número de grupos es bajo en efectos anidados (e.g., Schielzeth & Nakagawa 2013). En estos dos tipos de ecosistemas, los factores aleatorios fueron especie, experimento, y caja. En el caso de los lagos hipersalinos, además, se comparó la tendencia lineal y cuadrática entre la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos y la salinidad mediante el DIC, según la misma regla que la especificada para los efectos aleatorios.

Los análisis sobre el efecto de la temperatura y la salinidad sobre el día de eclosión se realizaron de la misma manera que se ha descrito anteriormente para los análisis globales.

Análisis entre especies y morfotipos

Para el análisis del efecto de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de eclosión entre diferentes especies y morfotipos de especies se realizaron modelos lineales mixtos generalizados considerando “especie” o “morfotipo” como factor fijo. Para estos modelos simples, con menos de tres factores aleatorios, se adoptó un enfoque frecuentista, usando la función `glmer` del paquete “`lme4`” de R (Bates et al. 2015). También se evaluaron las interacciones entre la temperatura, la salinidad, y la especie, sin embargo, si la interacción entre factores no era significativa se eliminó del modelo como se ha descrito anteriormente.

Para las especies salinas, además, se comparó la tendencia lineal y cuadrática entre la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos y la salinidad usando el AIC. El modelo seleccionado fue el de menor valor en el AIC. Si el valor del AIC entre modelos es < 2 , cualquier modelo explica de igual forma la variabilidad de la variable dependiente (Burnham & Anderson 2002).

La influencia de los efectos aleatorios se evaluó usando la prueba de razón de probabilidad (LRT) (Pinheiro & Bates 2000). Los análisis de post hoc para el contraste de pares en los efectos principales con más de dos categorías (especies de rotíferos), se realizó mediante la función `glht` del paquete de R “`multcomp`” (Hothorn et al. 2008). Además, se realizó una prueba para medir el efecto principal de la interacción (especies de rotíferos x temperatura; especies de rotíferos x salinidad) que evalúa el contraste a través de los niveles de un factor, cuando los valores de los otros factores están fijados a un valor asignado. Esto se realizó usando la función de prueba de interacción del paquete R “`phia`” (De Rosario-Martinez 2015a, 2015b).

También se realizaron los análisis para el día de eclosión de las diferentes especies y morfotipos estudiados. La sobredispersión de los datos se probó con el modelo `glmer`

usando `overdisp_fun` (Bolker et al. 2008). Sin embargo, solo se mostraron resultados para la comparación entre las especies hipersalinas (*B. dimidiatus*, *B. manjavacas* y *B. paranguensis*), ya que para los morfotipos de especies *B. angularis* y *B. quadridentatus* no se obtuvieron resultados significativos.

Tabla 3.1. Número de huevos diapáusicos utilizados para los análisis de las diferentes especies de rotíferos y cladóceros.

	Ecosistemas acuáticos										
	Humedales no salinos					Hipersalinos			Lagos de alta montaña		
	Charca de Suárez					El Cedazo	Fuente de Piedra	Rincón de Parangueo	Sierra Nevada		
	AB	TAG	TRE	ANS	LR	CZ	FP	RP	BG	RS	RSI
Rotíferos											
<i>Asplanchna</i> spp.			7 (1)	13 (1)							
<i>Asplanchna</i> spp.			4								
<i>Brachionus angularis</i> A		2	1 (1)	17 (5)		304 (78)					
<i>B. angularis</i> B						120 (28)					
<i>B. bidentatus</i>	3	45 (7)	16 (4)	34 (13)	11 (3)	56 (10)					
<i>B. calyciflorus</i>	6 (1)			2 (2)	1						
<i>B. dimidiatus</i>								430 (77)			
<i>B. quadridentatus</i> A	3 (1)	84 (36)	62 (24)	86 (30)	8 (2)						
<i>B. quadridentatus</i> B		5 (2)	1 (1)	21 (4)							
<i>B. manjavacas</i>							96 (31)				
<i>B. paranguensis</i>								420 (32)			
<i>Brachionus</i> sp.					1						
<i>Filinia terminalis</i>		2				34 (4)					
<i>Hexarthra fennica</i>							74 (23)				
<i>Hexarthra</i> sp.								110			
<i>Lecane bulla</i>		80 (5)	212 (32)	93 (12)	147 (14)						
<i>Lecane</i> spp1.		3	30 (4)	3	41 (1)						
<i>Lecane</i> spp2.			16		8						
<i>Lepadella patella</i>										6 (1)	
<i>Polyarthra</i> sp.	2	19		24		6			24		
Rotífero 1											13
Rotífero 2									38		
Rotífero 3	1										
Rotífero 4	3				1						
Rotífero 5	2										
Rotífero 6						5					
Rotífero 7						14					

Tabla 3.1. continuación

	Ecosistemas acuáticos										
	Humedales no salinos					Hipersalinos			Lagos de alta montaña		
	Charca de Suárez					El Cedazo	Fuente de Piedra	Rincón de parangueo	Sierra Nevada		
	AB	TAG	TRE	ANS	LR	CZ	FP	RP	BG	RS	RSI
Cladóceros											
<i>Alona quadrangularis</i>										47 (2)	
<i>A. rectangula</i>									49		
<i>Alona</i> sp.											118 (5)
<i>Ceriodaphnia pulchella</i>	1	13	1	39 (5)	1						
<i>Chydorus sphaericus</i>										1	10
<i>Daphnia pulex</i>										85	
<i>D. pulex</i>									31		
<i>Daphnia</i> sp.		15	129 (9)	30	13 (1)						
<i>Dunhevedia crassa</i>					25 (5)						
<i>Moina salina</i>							97 (12)				
<i>Simocephalus exspinosus</i>	1	6	30	31 (4)	22						
<i>Chydoridae</i> 1	3	1		3							
Cladóceros 1						18 (1)					
Total	25	275	509	396	279	557	267	960	142	139	141

Nota: El número de individuos eclosionados por lago se muestra entre paréntesis. El significado de los acrónimos se puede encontrar en el apartado de área de estudio general, páginas 32-44.

Resultados

Efecto global de la salinidad y la temperatura sobre las respuestas de eclosión de los huevos diapáusicos

De los 3960 huevos de resistencia colectados de los diferentes lagos, eclosionaron un total de 534. De los cuales solo 44 fueron de cladóceros y 490 de rotíferos.

El mejor modelo MCMC aplicado a la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos mostró efectos significativos tanto de la temperatura como de la salinidad (Tabla 3.2). De manera general, la proporción de eclosiones fue más baja tanto al aumentar la temperatura como la salinidad (Figura 3.1 A). Los análisis estadísticos indicaron que a 15°C la eclosión fue significativamente mayor que a 30°C (Tabla 3.2 y Figura 3.1 A). La interacción entre ambos factores no fue significativa, no obstante, en la mayor salinidad experimental (35 g/L) no se observó una reducción de la tasa de eclosión al aumentar la temperatura (Figura 3.1 A).

El modelo MCMC aplicado al día de eclosión reveló un efecto significativo sólo de la temperatura (Tabla 3.2 B). La tendencia observada fue que, al aumentar la temperatura de 15 a 30°C, el momento de eclosión de los huevos de resistencia de rotíferos y cladóceros se redujo a la mitad desde aproximadamente seis días a tres días (Figura 3.1 B). Además, aunque la respuesta del momento de eclosión mostró una respuesta similar al aumentar la salinidad cuando la temperatura fue de 30°C (Figura 3.1 B), a menor temperatura, la eclosión se retrasó desde una media de 3 días a 9 días al aumentar la salinidad por encima de 15 g/L. Sin embargo, el valor significativo obtenido para el factor aleatorio “especie” (Tabla 3.2) mostró que estos patrones sobre el día de eclosión variaron dependiendo de la especie.

Tabla 3.2. Análisis global con modelos mixtos (MCMCglmm) para evaluar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de eclosión y el día de eclosión de los huevos diapáusicos.

Tasa de eclosión - Global DIC= 2368.9				
	Media Posterior	Mínimo CI 95%	Máximo CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	-2.70	-3.71	-1.82	< 0.005**
Temperatura (15 °C)	0.62	0.24	0.92	<0.0208*
Salinidad	-0.10	-0.11	-0.08	< 0.005**
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	1.04	0.00	3.25	-4.3
Experimento	0.19	0.00	0.41	-2.9
Especie	2.04	0.62	3.97	-208.3
Caja	0.03	0.00	0.17	2

Día de eclosión - Global DIC= 2126.5				
	Media Posterior	Mínimo CI 95%	Máximo CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	0.92	0.61	1.21	<0.002**
Temperatura (15 °C)	0.81	0.68	0.99	<0.002**
Salinidad	0.00	-0.00	0.00	0.2083
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	0.04	0.00	0.16	-1
Experimento	0.00	0.00	0.01	2.8
Especie	0.24	0.08	0.46	-151.5
Caja	0.00	0.00	0.01	1.22

Nota: Los valores estadísticamente significativos (efectos principales) se indican en negrita. CI = intervalos de confianza; pMCMC = dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC = DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

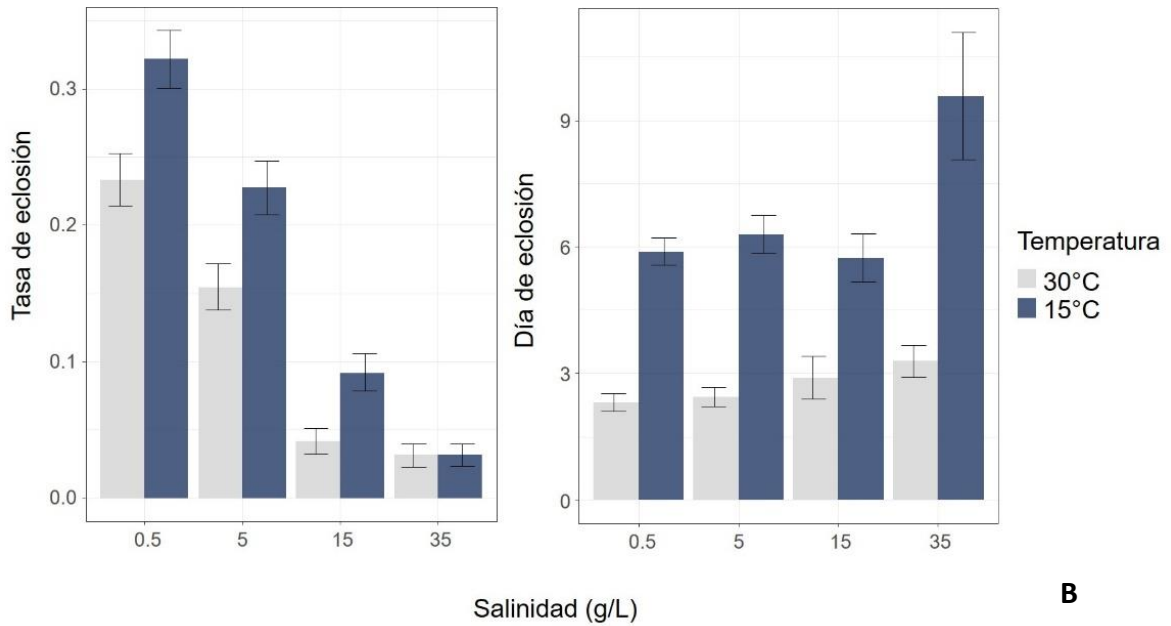


Figura 3. 1. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la tasa de eclosión (A) y el día de eclosión (B) de los huevos de resistencia. Las barras de error representan el Error Típico (ET); (N=3690).

Efecto de la salinidad y la temperatura por tipo de ecosistema

Lagos hipersalinos

Los análisis estadísticos mostraron efectos significativos de la temperatura y de la interacción entre la temperatura y la salinidad con distribución cuadrática (Tabla 3.4). Como puede observarse en la Figura 3.2 A, un incremento de temperatura disminuye la eclosión de los huevos de las especies hipersalinas en el rango de 0.5-15 g/L. En cambio, a salinidades de 35 g/L, la temperatura no tuvo efecto sobre la tasa de eclosión.

Con respecto al día de eclosión de los ecosistemas hipersalinos, el mejor modelo reveló que sólo la temperatura fue significativa (Tabla 3.4). El incremento de la temperatura aceleró la eclosión de los huevos diapáusicos en todos los niveles de salinidad a los primeros tres días (Figura 3.2 B).

Tabla 3.3. Análisis con modelos mixtos (MCMCglmm) para evaluar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de eclosión y el día de eclosión de los huevos diapáusicos aislados de los lagos hipersalinos Fuente de Piedra y Rincón de Paranguo.

Tasa de eclosión – Hipersalinos DIC=868.5				
	Media	Mínimo	Máximo	pMCMC
	Posterior	CI 95%	CI 95%	
Efecto principal				
Intercepto	-4.22	-6.24	-2.17	<0.005 **
Temperatura (15°C)	1.67	0.99	2.65	<0.005 **
Salinidad	0.01	-0.00	0.03	0.146
Salinidad ²	0.00	-0.00	0.00	0.3958
Temperatura (15°C) x Salinidad ²	-0.00	-0.00	-0.00	<0.005 **
Lago (Fuente de Piedra)	1.76	-0.33	4.13	0.0833
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Experimento	2.75	0.00	0.92	2.8
Especie	2.14	0.12	5.11	-53.3
Caja	0.14	0.00	0.69	0.1

Día de eclosión – Hipersalinos DIC=738				
	Media	Mínimo	Máximo	pMCMC
	Posterior	CI 95%	CI 95%	
Efecto principal				
Intercepto	0.75	0.16	1.51	0.0521
Temperatura (15°C)	0.74	0.47	0.94	<0.005 **
Salinidad	0.00	-0.00	0.00	0.2188
Salinidad ²	0.00	-0.00	0.00	0.2917
Lago (Fuente de Piedra)	0.89	0.29	1.62	0.417
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Experimento	0.00	0.00	0.02	2.5
Especie	0.25	0.02	0.83	40.8
Caja	0.00	0.00	0.02	0.2

Nota: El mejor modelo presentó una distribución cuadrática para la tasa de eclosión y lineal para el día de eclosión. Los valores estadísticamente significativos (efectos principales) se indican en negrita. CI = intervalos de confianza; pMCMC = dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC = DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

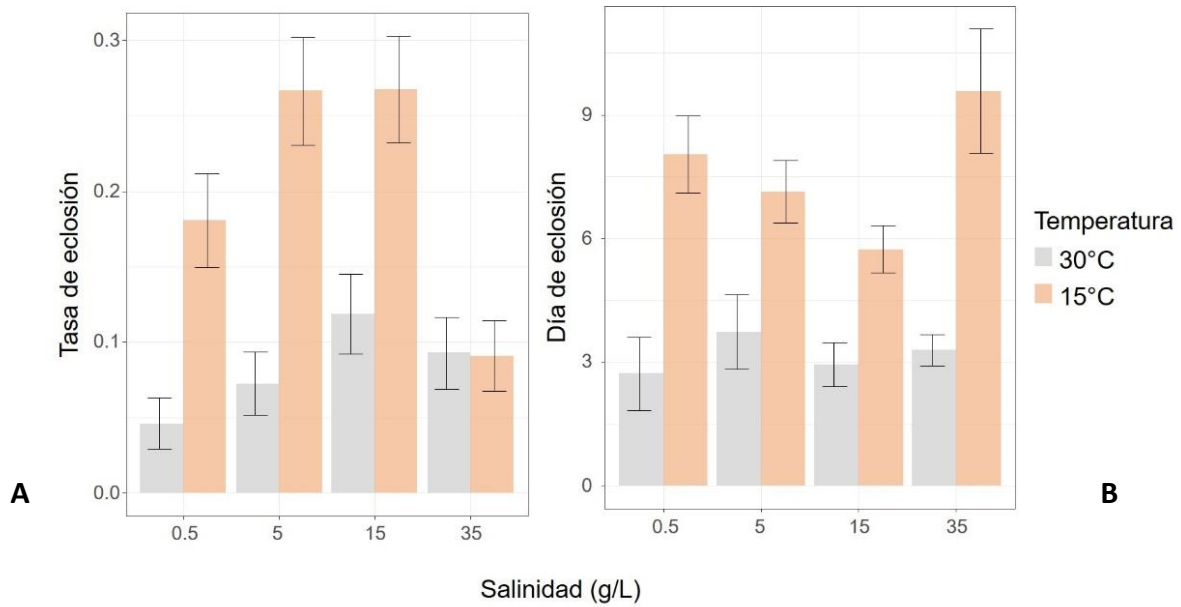


Figura 3.2. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la tasa de eclosión (A) y el día de eclosión (B) de los huevos de resistencia en cuerpos de agua hipersalinos (Fuente de Piedra y Rincón de Parangueo). Las barras de error representan el Error Típico (ET); (N= 1227).

Humedales no salinos

El modelo lineal generalizado mixto sobre la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos aislados de los humedales no salinos mostró un efecto significativo de la salinidad (Tabla 3.4) con menor proporción de huevos eclosionados al aumentar la salinidad (Figura 3.3 A). En efecto, en este tipo de ecosistemas no se observaron eclosiones de huevos diapáusicos a concentraciones salinas mayores de 5 g/L (Figura 3.3 A). La variación de la temperatura fue irrelevante para la tasa de eclosión de las especies que habitan estos humedales. En este modelo los factores aleatorios “especie” y “experimento” fueron significativos.

En relación con el día de eclosión, la temperatura mostró un efecto significativo (Tabla 3.4). El aumento de temperatura de 15 a 30°C adelantó el momento de eclosión, en promedio, desde el quinto día a los dos primeros días (Figura 3.3 B). La salinidad, en cambio, no tuvo efecto significativo sobre el momento de eclosión de los huevos diapáusicos de estas poblaciones (Tabla 3.4).

Tabla 3.4. Análisis con modelos mixtos (MCMCglmm) para evaluar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de eclosión y el día de eclosión de los huevos diapáusicos aislados de los humedales de Charcas de Suárez y El Cedazo.

Tasa de eclosión – Humedales DIC= 1101.5				
	Media Posterior	Mínimo CI 95%	Máximo CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	-1.18	-2.28	-0.04	0.0312*
Temperatura (15°C)	0.28	-0.19	0.71	0.1979
Salinidad	-0.38	-0.44	-0.32	<0.005**
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	0.45	0.00	1.66	-2.6
Experimento	0.30	0.00	0.94	-8.7
Especie	2.46	0.94	4.61	-197.1
Caja	0.06	0.00	0.27	1.1

Día de eclosión – Humedales DIC= 1351.1				
	Media Posterior	Mínimo CI 95%	Máximo CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	-0.01	0.51	1.04	<0.005**
Temperatura (15°C)	0.86	0.68	1.00	<0.005**
Salinidad	-0.01	-0.03	0.00	0.375
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	0.02	0.00	0.07	-1.5
Experimento	0.01	0.00	0.04	-2.9
Especie	0.18	0.08	0.33	-97.7
Caja	0.00	0.00	0.02	2.8

Nota: Los valores estadísticamente significativos (efectos principales) se indican en negrita. CI = intervalos de confianza; pMCMC = dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC = DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

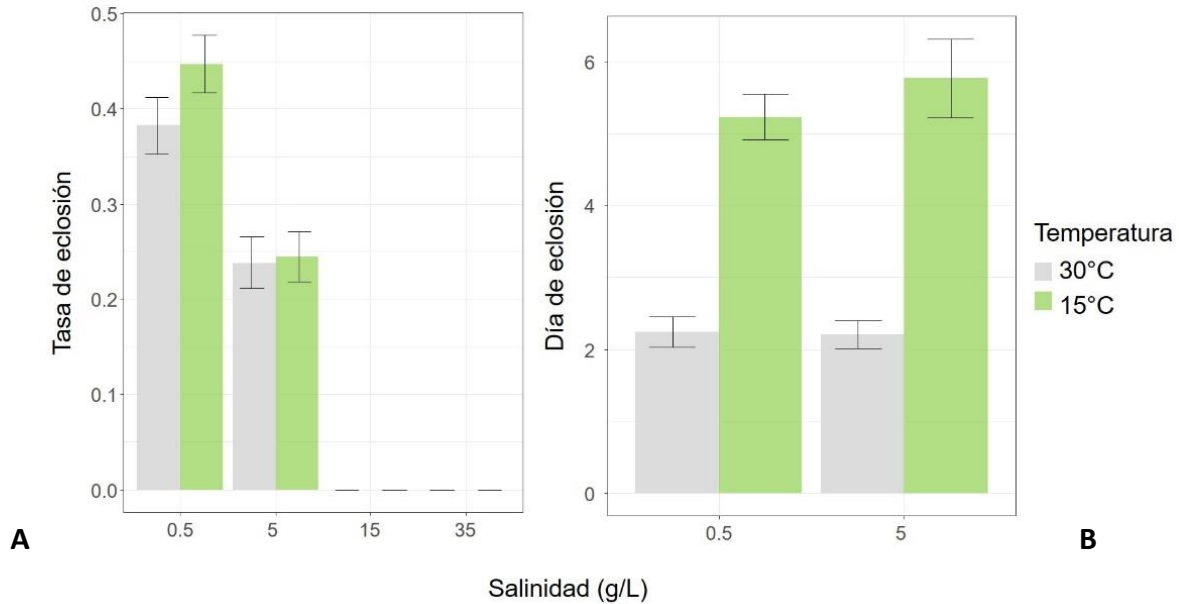


Figura 3.3. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la tasa de eclosión (A) y el día de eclosión (B) de los huevos de resistencia en humedales (Charca de Suárez y El Cedazo). Las barras de error representan el Error Típico (ET); (N=2041).

Lagunas de alta montaña

Para las tres lagunas de alta montaña de Sierra Nevada, la proporción de huevos eclosionados se redujo significativamente al aumentar la salinidad (Tabla 3.5, Figura 3.4). De hecho, los huevos diapáusicos sólo eclosionaron a la salinidad experimental más baja ensayada de 0.5 g/L. Además, el modelo reveló un efecto significativo de “lago” siendo los huevos procedentes de las lagunas de Río Seco y Río Seco Inferior los que presentaron una mayor tasa de eclosión que los de Borreguil, en donde no eclosionó ningún huevo (Tabla 3.1). Para el día de eclosión, los análisis no mostraron efectos significativos de ninguno de los factores. Eclosionaron un total de 8 huevos, de los cuales 7 fueron de cladóceros y uno solo de rotífero, presentando un valor medio de días de eclosión igual a 8 (ET \pm 3.6).

Tabla 3.5. Análisis con modelos mixtos (MCMCglmm) para evaluar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos aislados de las lagunas de alta montaña del Parque Nacional de Sierra Nevada.

Tasa de eclosión – Alta montaña DIC= 50.7				
	Media Posterior	Mínimo CI 95%	Máximo CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	-18.78	-31.57	-5.34	<0.005**
Temperatura (15°C)	2.79	-0.01	6.13	0.0312
Salinidad	-0.76	-1.12	-0.16	<0.005**
Lago (Río Seco)	13.77	0.55	26.71	0.0104*
Lago (Río Seco Inferior)	13.85	0.33	26.16	<0.005**
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Experimento	0.67	0.00	2.21	0.06
Especie	1.59	0.00	5.39	-4.4
Caja	0.76	0.00	2.39	0.0

Nota: Los valores estadísticamente significativos (efectos principales) se indican en negrita. CI = intervalos de confianza; pMCMC = dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC = DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

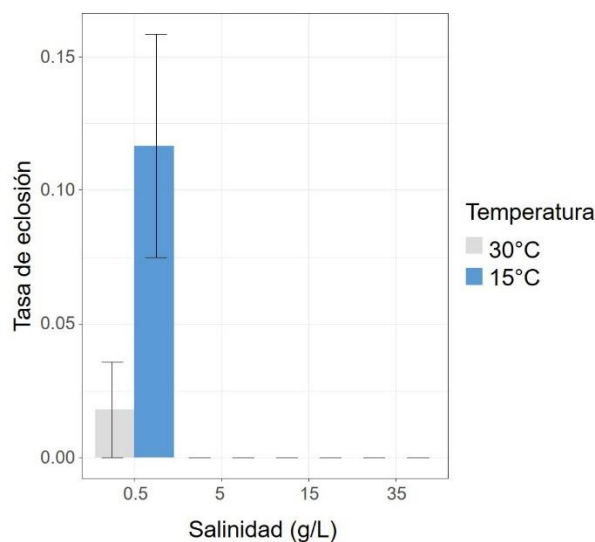


Figura 3.4. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la tasa de eclosión de los huevos de resistencia en lagos de alta montaña (Borreguil, Río Seco, y Río Seco Inferior). Las barras de error representan el error típico de la media (N= 422).

Diferencias en la tasa de eclosión en respuesta a la salinidad y temperatura entre especies y morfotipos de algunas especies.

Especies

Especies hipersalinas del género Brachionus (B. dimidiatus, B. manjavacas, B. paranguensis)

Los huevos de las tres especies de rotíferos *B. dimidiatus*, *B. manjavacas*, *B. paranguensis* mostraron diferentes respuestas a las variaciones de temperatura y salinidad tanto en sus tasas de eclosión como en el momento de la eclosión. Los modelos mixtos revelaron la existencia de efectos significativos de “temperatura”, “especie”, y de la interacción entre “temperatura” y “salinidad²” para la tasa de eclosión, mientras que, para el día de eclosión, la “especie” y la “temperatura” fueron significativos (Tabla 3.6).

Tabla 3.6. Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la salinidad, temperatura, y huevos de tres especies hipersalinas de rotíferos (*B. dimidiatus*, *B. manjavacas*, *B. paranguensis*) en la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos.

	Tasa de eclosión – AIC= 729.6			Día de eclosión – AIC=570.8		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	132.85	1	< 2.2e-16 ***	35.74	1	2.2e-09 ***
Temperatura	29.82	1	0.00000004 ***	51.74	1	6.3e-13 ***
Salinidad	3.47	1	0.062	-0.00	1	0.742
Salinidad ²	2.177	1	0.140	0.05	1	0.820
Especie	39.84	2	0.000000002 ***	188.39	2	< 2.2e-16 ***
Temperatura x Salinidad ²	11.31	1	0.00076 ***	-	-	-

Nota: Debido a que el AIC en el estudio de lagos hipersalinos fue menor para una distribución cuadrática, esta misma distribución se usó para el análisis de las especies hipersalinas. El mejor modelo obtenido para la tasa de eclosión fue con el AIC (729.6) y para el día de eclosión con el AIC (570.8). La relación con la tasa de eclosión con la temperatura y salinidad es cuadrática. Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia (P < 0.05) se reportan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

Se observó una menor tendencia de los huevos diapáusicos a eclosionar a mayores temperaturas (Figuras 3.5). El análisis por pares de la respuesta de eclosión de las tres especies de rotíferos hipersalinos mostró que la especie con mayores porcentajes de eclosión fue *B. manjavacas* seguida por *B. dimidiatus* y, por último, *B. paranguensis* (Tabla 3.7 y Figuras 3.5 A). Los análisis de interacción entre la salinidad y la temperatura mostraron que el aumento de salinidad sólo tenía efecto sobre la tasa de eclosión a la temperatura de 15°C, mientras que a 30°C la salinidad no presentó efecto alguno (Tabla 3.7). Para el día de eclosión, los análisis de pares mostraron que entre *B. dimidiatus* y *B. paranguensis* no hubo diferencia en la temporalidad de eclosión, mientras que *B. manjavacas* eclosionó más tarde respecto a *B. dimidiatus* y *B. paranguensis* (Tabla 3.7).

Finalmente, aunque el modelo mixto no mostró una interacción significativa entre “temperatura” y “especie” (Tabla 3.7), los análisis post hoc revelaron evidencias de que la tasa de eclosión de *B. dimidiatus* y *B. manjavacas* sí se veían reducidas significativamente por el aumento de temperatura. En cambio, la tasa de eclosión de *B. paranguensis* no se vio afectada por los dos niveles de temperatura usados en este experimento (Tabla 3.7).

Tabla 3.7. Análisis Post hoc para comparar el contraste de pares de las tres especies de rotíferos hipersalinos y la interacción entre las especies y la temperatura y la temperatura respecto a la salinidad.

Contraste de pares	Tasa de eclosión – AIC= 729.6			
	Estimado	Error típico	Valor Z	P
<i>B. dimidiatus</i> - <i>B. paranguensis</i>	1.00	0.22	4.43	< 0.0001 ***
<i>B. manjavacas</i> – <i>B. paranguensis</i>	1.77	0.29	6.09	< 0.0001 ***
<i>B. manjavacas</i> – <i>B. dimidiatus</i>	0.77	0.25	3.01	0.00705 **
Interacción Especie x Temperatura	Valor	Df	Chisq	P
<i>B. dimidiatus</i>	0.31	1	8.11	0.0087 **
<i>B. manjavacas</i>	0.14	1	11.50	0.002 **
<i>B. paranguensis</i>	0.37	1	1.63	0.20
Interacción Temperatura x Salinidad²	Valor	Df	Chisq	P
Temperatura (30°C)	0.0004	1	2.17	0.140
Temperatura (15°C)	-0.0009	1	10.97	0.0018 **

Tabla 3.7. continuación

Contraste de pares	Día de eclosión – AIC 570.8			
	Estimado	Error típico	Valor Z	P
<i>B. dimidiatus</i> - <i>B. paranguensis</i>	-0.00	0.11	-0.06	0.997
<i>B. manjavacas</i> – <i>B. paranguensis</i>	1.02	0.10	9.43	< 1e⁻⁰⁹ ***
<i>B. manjavacas</i> – <i>B. dimidiatus</i>	1.02	0.08	12.65	< 1e⁻⁰⁹ ***

Nota: La relación de la temperatura con la tasa de eclosión fue lineal. Los valores con significancia se representan en negritas.

B. dimidiatus y *B. paranguensis* muestran a 15°C una tendencia cuadrática a la salinidad con valores intermedios de salinidad que favorecen la eclosión, aunque a salinidades tan altas como 35 g/L, la alta temperatura favorece la eclosión de los huevos. Con respecto a *B. manjavacas* la temperatura de 15°C parece favorecer la eclosión de los huevos a todas las concentraciones de salinidad consideradas en este estudio, aunque al aumentar la temperatura la tasa de eclosión disminuye considerablemente a todas las salinidades (Figura 3.5 A). Con respecto al día de eclosión, *B. dimidiatus* y *B. paranguensis* a una temperatura de 15°C retrasaron el día de eclosión hasta 4 días a salinidades de entre 0.5 y 15 g/L, mientras que a una salinidad de 35 g/L ambas temperaturas tuvieron un efecto parecido sobre el momento de eclosión. En cuanto a *B. manjavacas*, la temperatura de 15 °C eclosionó alrededor del día 12, mientras que a 30°C la eclosión de los huevos se presentaba entre los 3 y 5 días (Figura 3.5 B).

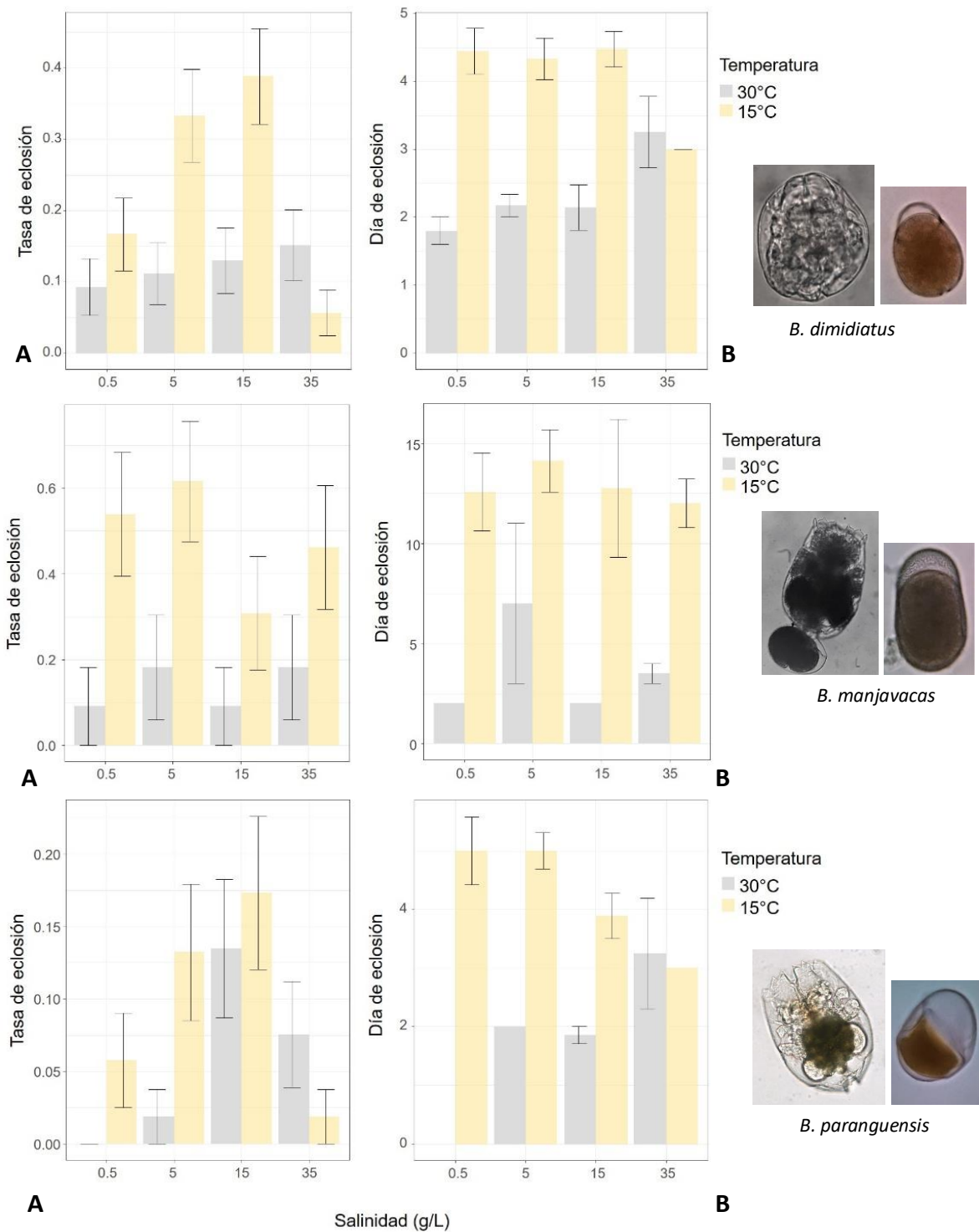


Figura 3.5. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la tasa de eclosión (A) y día de eclosión (B) de los huevos de resistencia de tres especies hipersalinas de *Brachionus*: *B. dimidiatus* (N= 430), *B. manjavacas* (N= 96), *B. paranguensis* (N= 420). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Efectos sobre los morfotipos de Brachionus angularis

Se encontraron dos morfotipos de huevos de la especie de rotífero *B. angularis* que fueron diferenciados como A y B. Los huevos de *B. angularis* A, aunque se detectaron en cuatro lagunas: El Taraje, El Trébol, Aneas, y El Cedazo, el mayor número de huevos se encontró en El Cedazo. El morfotipo *B. angularis* B solo se detectó en El Cedazo (Tabla 3.1).

El modelo mixto mostró, para la tasa de eclosión, además de efectos significativos de los factores principales “salinidad” y “morfotipo”, un efecto significativo de algunas interacciones (Tabla 3.8.) y para el día de eclosión, la “temperatura” y “morfotipo” fueron significativos (Tabla 3.8).

Tabla 3.8. Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la salinidad, temperatura, y huevos de dos morfotipos del rotífero *B. angularis* en la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos.

	Tasa de eclosión – AIC= 216.9			Día de eclosión – AIC= 351.1		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	19.74	1	0.000008 ***	7.54	1	0.006
Temperatura	0.79	1	0.372	89.45	1	< 2.2e⁻¹⁶ ***
Salinidad	26.22	1	0.0000003 ***	1.23	1	0.265
Morfotipo	8.99	1	0.002 **	3.93	1	0.047 *
Salinidad x Morfotipo	7.77	1	0.005 **	-	-	-
Temperatura x Morfotipo	4.65	1	0.030 *	-	-	-

Nota: El mejor modelo obtenido para la tasa de eclosión fue con el AIC (216.9) y para el día de eclosión con un AIC (351.1). La relación con la tasa de eclosión con la temperatura y salinidad es lineal. Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia (P < 0.05) se reportan en negritas. Chisq (Chi-cuadrada); Df (grados de libertad).

En general, independientemente de la temperatura, el aumento de salinidad redujo la proporción de eclosiones en ambos morfotipos (Figura 3.6.). Los análisis de contraste por pares mostraron que la tasa de eclosión de *B. angularis* B fue significativamente menor que la de *B. angularis* A (Tabla 3.10). La interacción entre salinidad y morfotipo puede apreciarse en la figura 3.6. comparando, con los dos tratamientos de temperatura agrupados, la diferencia entre las pendientes negativas de las rectas que unen las tasas de eclosión medias de los huevos diapáusicos de cada morfotipo al aumentar la salinidad. El efecto de la temperatura también fue distinto según el morfotipo: a 15°C, las tasas de eclosión medias de los dos morfotipos fueron similares, en cambio, a 30°C, *B. angularis* A mostró una mayor tasa de eclosión media que *B. angularis* B (Tabla 3.10 y Figura 3.6). Para el día de eclosión, la respuesta entre morfotipos fue diferente, con una tendencia a un mayor retraso en la eclosión para el morfotipo A (Figura 3.6).

Tabla 3.9. Análisis Post hoc para comparar el contraste de pares de los dos morfotipos de huevos del rotífero *B. angularis* y la interacción entre ellos en relación con la temperatura y la salinidad.

Contraste de pares	Tasa de eclosión – AIC= 216.9			
	Estimado	Error típico	Valor Z	P
<i>B. angularis</i> B – <i>B. angularis</i> A	-0.28	0.38	-2.99	0.002 **
Interacción Morfotipo x Salinidad	Valor	Df	Chisq	P
<i>B. angularis</i> A	-0.84	1	53.83	4.3 e⁻¹³ ***
<i>B. angularis</i> B	-0.53	1	17.55	2.7 e⁻⁰⁵ ***
Interacción Temperatura x Morfotipo	Valor	Df	Chisq	P
Temperatura (30°C)	0.01	1	5.49	0.038 *
Temperatura (15°C)	0.08	1	0.44	0.507

Nota: La relación de la temperatura y salinidad con la tasa de eclosión fue lineal. Los valores con significancia se representan en negritas.

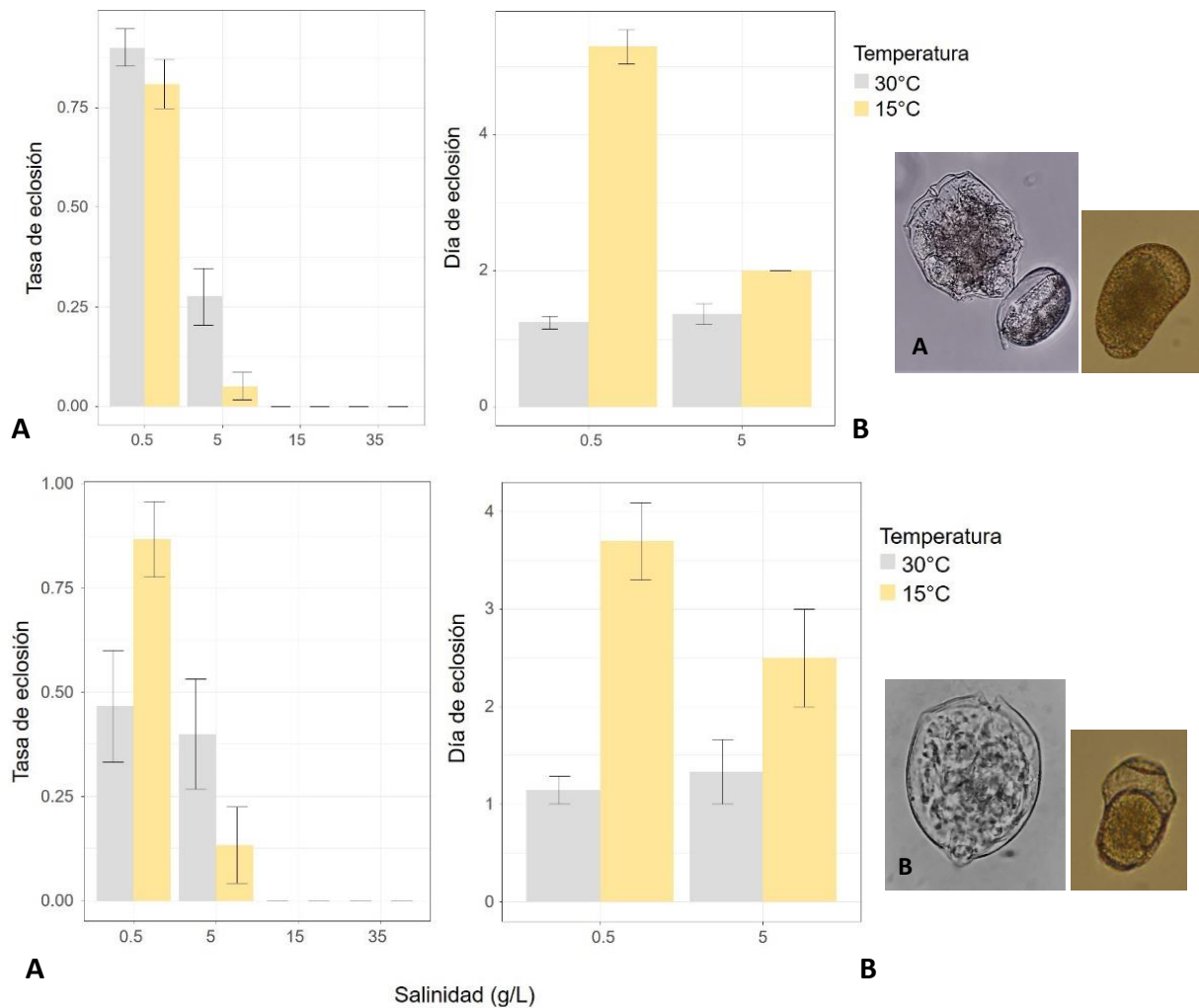


Figura 3.6. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la tasa (A) y día (B) de eclosión de los huevos de resistencia de dos morfotipos diferentes de *B. angularis* A (N= 324) y B (N= 120). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Efectos sobre los morfotipos de Brachionus quadridentatus

Para el rotífero *B. quadridentatus*, también se encontraron dos morfotipos que fueron diferenciados como A y B. *B. quadridentatus* A fue encontrado en los cinco humedales de Charca de Suárez, mientras que *B. quadridentatus* B se encontró sólo en tres de estos

humedales: El Taraje, El Trébol, y Aneas (Tabla 3.1). Los análisis con modelos mixtos para la tasa de eclosión mostraron efectos significativos de la “salinidad” y “morfotipo” (Tabla 3.10), mientras que, para el día de eclosión, solamente la “temperatura” fue significativa. En promedio, independientemente de la temperatura y del morfotipo, la tasa de eclosión resultó mayor a las menores salinidades ensayadas (< 15 g/L, Figura 3.7 A). Además, la proporción de eclosiones varió entre los dos morfotipos, con mayores tasas de eclosión para el morfotipo A que para el morfotipo B (Tabla 3.11). Con respecto al día de eclosión, la temperatura alta adelantó la eclosión en los dos morfotipos (Figura 3.7).

Tabla 3.10. Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la salinidad, la temperatura, y el tipo de morfotipo de huevo del rotífero *B. quadridentatus* en la tasa y día de eclosión de los huevos diapáusicos.

	Tasa de eclosión – AIC= 190.1			Día de eclosión – AIC = 351.8		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	31.52	1	2.1e⁻⁰⁸ ***	30.74	1	0.000002 ***
Temperatura	0.00	1	0.853	6.99	1	0.008 **
Salinidad	50.59	1	3.1e⁻¹² ***	0.31	1	0.572
Morfotipo	9.03	1	0.002 **	0.58	1	0.445

Nota: El mejor modelo obtenido para la tasa de eclosión fue con el AIC (190.1) y para el día de eclosión AIC (351.8). Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia (P < 0.05) se reportan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

Tabla 3.11. Análisis Post hoc para comparar el contraste de pares de dos morfotipos del rotífero *B. quadridentatus*.

Contraste de pares	Tasa de eclosión – AIC= 198			
	Estimado	Error típico	Valor Z	P
<i>B. quadridentatus</i> B – <i>B. quadridentatus</i> A	-1.70	0.56	-3	0.002 **

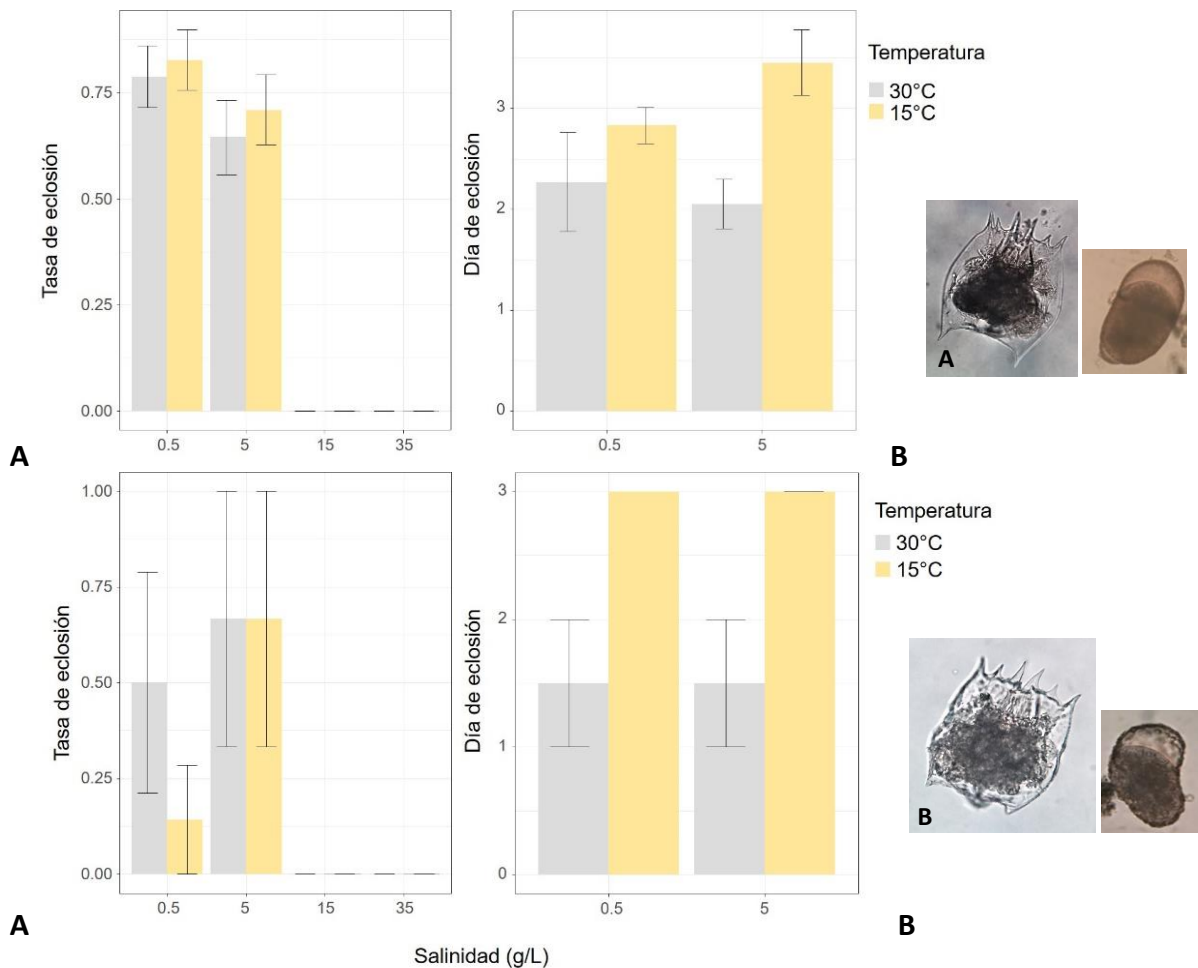


Figura 3.7. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la tasa (A) y día (B) de eclosión de los huevos de resistencia de dos morfo tipos diferentes de *B. quadridentatus* A (N= 243) y B (N= 27). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Discusión

Este representa el primer estudio en modelar el efecto cruzado con combinaciones de salinidad y temperatura sobre la tasa de eclosión y el momento de eclosión de los huevos de resistencia de rotíferos y cladóceros aislados de diferentes tipos de ecosistemas, desde una perspectiva global, hasta el análisis intraespecífico de las especies. Los resultados obtenidos desde dicha perspectiva global, mostraron que la temperatura y la salinidad, de

manera independiente, afectaron la tasa de eclosión de las especies de forma lineal, es decir, a mayor temperatura y salinidad, la tasa de eclosión de las especies fue menor, excepto a una salinidad de 35 g/L en donde se tuvo el mismo efecto en la tasa de eclosión independientemente de la temperatura. Resultados similares fueron obtenidos por Bailey et al. (2006) que investigaron la tasa de eclosión de diferentes especies de rotíferos y cladóceros a tres diferentes salinidades (0, 8 y 35 g/L) y tres temperaturas (10, 20 y 30°C), registrando un mayor porcentaje de eclosión en las salinidades más bajas, independientemente de la temperatura utilizada, aunque a una temperatura de 30°C obtuvieron menor eclosión. También, Santangelo et al. (2014) realizaron experimentos de eclosión con 16 diferentes taxa entre rotíferos y cladóceros, utilizando un rango de salinidades de <2 g/L a >30 g/L. En general los valores más bajos de eclosión fueron observados en salinidades altas, 16 y 32 g/L, y solo dos especies de rotíferos, *B. plicatilis* s.s. y *Hexarthra* sp. eclosionaron a todas las salinidades. De la misma manera, en el presente estudio, en el caso del día de eclosión la relación fue lineal, y solo la temperatura alta aceleró la eclosión de las especies sin importar la salinidad a la que se encontraban los huevos. Resultados parecidos fueron encontrados por Walczyńska & Serra (2014) que analizaron el efecto de diferentes temperaturas (17.5, 22.5 y 25°C) sobre tres especies pertenecientes al complejo *B. plicatilis*, y observaron que la temperatura aceleraba drásticamente la eclosión de los huevos, en efecto a 25°C, el 80 % de los huevos eclosionaron en los primeros 5 días.

Debido a que un mayor número de ecosistemas están siendo afectados negativamente por el cambio climático (Santangelo et al. 2014), y que los análisis estadísticos globales mostraron que el factor aleatorio “lago” tuvo un aporte significativo sobre el modelo realizado, se agruparon los lagos por tipo de ecosistema (lagos hipersalinos, humedales no salinos, y lagunas de alta montaña) para identificar qué tipos de ecosistemas son los más susceptibles a ser afectados negativamente a las variaciones de temperatura y salinidad.

En efecto, a pesar de que se haya documentado el efecto negativo que tiene el aumento de la salinidad (de 0 a 36 g/L) sobre la tasa de eclosión de huevos de resistencia de diferentes especies de rotíferos (García-Roger et al. 2008) y cladóceros (Bailey et al. 2004), es necesario comprobar en qué medida están siendo afectados los diferentes tipos de ecosistemas acuáticos, y con ello evaluar la vulnerabilidad de los ecosistemas de forma separada. Hasta la fecha, no se han realizado estudios que comparen la respuesta a aumentos de salinidad entre diferentes tipos de ecosistemas.

Con respecto a los ecosistemas hipersalinos, se conocen pocas especies de rotíferos y cladóceros adaptadas a ambientes con altas salinidades. De acuerdo con Fontanteto et al. (2006), al momento, se tienen identificadas 173 especies de rotíferos como verdaderas especies eurihalinas y la mayoría de estudios ecológicos están enfocados en las especies del complejo *Brachionus plicatilis*, mientras que solo 5 especies de cladóceros viven en aguas salobres (Aladin 1991). En este estudio, se usaron cinco especies hipersalinas entre rotíferos y cladóceros; tres rotíferos del género *Brachionus* (*B. dimidiatus*, *B. manjavacas*, y *B. paranguensis*) y *Hexarthra fennica*, y el cladóceros *Moina salina*. Los resultados obtenidos sugieren que estas especies están bien adaptadas a los efectos que podría tener el cambio global en los ecosistemas acuáticos, mostrando capacidad para eclosionar en todos los escenarios planteados. Gabaldón et al. (2015), analizando el efecto de la salinidad en la tasa de eclosión de *B. plicatilis* s.s y *B. manjavacas*, observaron un mayor número de eclosiones a una salinidad de 8 g/L, aunque también observaron un porcentaje importante de eclosiones a 16 y 24 g/L. En el presente estudio, la distribución de la tasa de eclosión fue cuadrática, sugiriendo que las cinco especies hipersalinas usadas tienen una mayor tasa de eclosión a salinidades de 5 y 15 g/L a 15°C, sin embargo, como muestran los resultados, alguna de estas especies puede soportar condiciones tan adversas y extremas como el aumento de salinidad a 35 g/L en una temperatura de 30°C, sugiriendo una alta capacidad resiliente si la temperatura y la salinidad incrementaran notablemente en estos sistemas acuáticos. Los datos presentes en la literatura, evidencian los notables cambios de salinidades que han ocurrido, a lo largo de los años, en los dos ecosistemas hipersalinos

bajo estudio. En el caso de Fuente de Piedra, esta laguna presenta una elevada variación intra e interanual, desde una salinidad de 9 g/L hasta 220 g/L (García & Niell 1993). Con respecto a la laguna de Rincón de Parangueo, antes de 1980, éste era un gran lago con concentraciones de salinidad mucho más bajas que las actuales, hasta que se produjo una fractura al interior del cráter y el agua del lago empezó a desecarse gradualmente y a volverse hipersalina (Cerca et al. 2014). Mediciones efectuadas en el año 1999 registraron una salinidad en la laguna de unos 50 g/L (Aranda-Gómez et al. 2013), mientras que los últimos datos de salinidad tomados para el presente estudio fueron de 25 g/L. Estos datos, para las dos lagunas, podrían explicar la adaptación demostrada por las especies hipersalinas encontradas, a eclosionar a todas las salinidades experimentales, ya que en el tiempo han tenido que hacer frente a drásticas variaciones de esta variable.

Con respecto a los humedales no salinos, estos son ecosistemas con condiciones muy cambiantes temporalmente, que suelen generar estrés en las comunidades planctónicas, favoreciendo, por tanto, la producción de huevos de resistencia (Schroeder 2001). En este trabajo, todas las especies usadas para el análisis mostraron que la eclosión se restringió a salinidades de 0.5 y 5 g/L, y la temperatura no tuvo ningún efecto sobre la tasa de eclosión, aunque el aumento de la temperatura aceleró el día de eclosión de las especies. Estos resultados sugieren que las especies que habitan este tipo de ecosistemas, tienen la capacidad de adaptarse a variaciones de salinidad dentro de los primeros 5 g/L, a diferencia de cuerpos de agua totalmente dulceacuícolas, en donde salinidades mayores de 1 g/L afectan negativamente las especies (Nielsen et al. 2003), o de los ecosistemas hipersalinos, en donde las especies están adaptadas a concentraciones de hasta 40 g/L, como es el caso de *B. plicatilis* s.s. (Minkoff et al. 1983). Los resultados obtenidos aquí sobre la tasa de eclosión, parecen ser consistentes con los de otros humedales, por ejemplo, en lagunas del Parque Nacional de Doñana (Santa Olalla y Dulce) donde a una temperatura de entre 15 y 25°C las especies tienden a eclosionar a una salinidad de 4 g/L, y la tasa de eclosión disminuye drásticamente con el aumento de la salinidad a 8 g/L (Conde-Porcuna et al. 2018). En este mismo parque, pero en otro punto de ubicación (Entre Muros), también se

obtuvo la eclosión de 9 especies de rotíferos y 1 de cladóceros en salinidad de 5 g/L y una temperatura media de 19.5°C (Frisch et al. 2009). Los resultados de estos trabajos y los datos reportados en esta tesis obtenidos a una temperatura más alta que la utilizada por los estudios mencionados (hasta 30°C), indican que los aumentos de la temperatura debidos al cambio climático no afectan directamente las especies de rotíferos y cladóceros encontradas en los humedales, aunque los aumentos de la concentración de salinidad causados por la evaporación o disminución del flujo hídrico sí podrían ser muy deletéreos y llevar a una disminución de la riqueza de especies zooplanctónicas.

Finalmente, en las lagunas de alta montaña, los resultados mostraron muy pocas eclosiones de las diferentes especies encontradas. De hecho, todas ocurrieron bajo una salinidad de 0.5 g/L a una temperatura de 15°C, y solamente se registró una eclosión de un cladóceros (*Alona* sp.) a 30°C. Aunque la temperatura no fue una variable significativa sobre la tasa de eclosión de estas poblaciones, las especies de este tipo de ecosistemas necesariamente deben estar adaptadas a las bajas temperaturas debido a que la temperatura de los cuerpos de agua estudiados es de entre 16 y 18°C en época de deshielo (Pérez-Martínez et al. 2013) y presenta una media anual de 3.9°C en el resto del año (Worldwide Bioclimatic Classification System 1996–2018). Con respecto al día de eclosión, las siete especies de cladóceros en este estudio tuvieron un pico de eclosión en el día 8 a una temperatura de 15°C, un resultado parecido al encontrado por Pérez-Martínez et al. (2013) para *D. pulicaria* que, a una temperatura de 10°C, presentó un pico de eclosión en el día 9. No obstante, estos autores encontraron que el día de eclosión de la especie de cladóceros sí estaba significativamente afectado por la temperatura, contrariamente a nuestros resultados que no indican ninguna significancia entre esta variable y el momento de eclosión. En el caso de la salinidad, las lagunas de alta montaña de Sierra Nevada se caracterizan por ser ecosistemas acuáticos con cualidades oligotróficas y con baja alcalinidad (Tabla 1), por lo que un ligero aumento en la salinidad tendría un efecto sumamente negativo para la tasa de eclosión de las especies. No obstante, en general, las fluctuaciones en salinidad de estas lagunas no son muy altas (Tabla 1), y por lo tanto, esta variable no representa un factor de

riesgo en estos ecosistemas. Por otro lado, un aumento de la temperatura sí podría tener un efecto muy negativo sobre las especies de rotíferos y cladóceros. Pérez-Martínez et al. (2013), a una temperatura de 10°C, obtuvieron una tasa de eclosión del cladóceros *D. pulicaria* de un 20%, y los resultados del presente trabajo demostraron que al aumentar la temperatura en 5°C (i.e., 15°C), la tasa de eclosión de las especies bajaba a un 10%. Estos resultados evidencian la necesidad de efectuar más estudios sobre el impacto de diferentes rangos de temperatura (4 - 18°C) y con diferentes especies de zooplancton, para poder revelar cuál es el efecto del incremento de temperatura a 18°C, la más alta registrada hasta el momento, y poder así predecir con más exactitud la capacidad resiliente de este tipo de ecosistema frente al cambio climático.

En general, los resultados muestran que las especies de los ecosistemas hipersalinos están mejor adaptadas y, por tanto, son especies más resilientes que las especies de humedales no salinos y de lagunas de alta montaña para afrontar variaciones drásticas de temperatura y salinidad que se producen por el cambio global. Las especies estudiadas de los ecosistemas hipersalinos pudieron eclosionar en cualquier salinidad, aunque la tasa de eclosión estuvo afectada por la temperatura y su interacción con las diferentes salinidades. Diversos estudios reportan esta adaptación de especies hipersalinas a eclosionar en un amplio rango de salinidades. Santangelo et al. (2014), a una temperatura de 24°C, obtuvieron eclosiones de la especie *B. plicatilis s.s.* en salinidades de 0 a 32 g/L, aunque solo a 4 g/L en *B. dimidiatus*. Mikoff et al. (1983), reportó para *B. plicatilis s.s.* una salinidad óptima de eclosión de 16 g/L a 15°C, y una considerable disminución de la tasa de eclosión a salinidades más bajas (9 g/L) y más altas (40 g/L); mientras que Gabaldon et al. (2015), muestra para *B. plicatilis s.s.* y *B. manjavacas*, un rango de eclosión desde 8 a 24 g/L a una temperatura de 20°C, sin embargo, la salinidad óptima fue de 8 g/L.

Por el otro lado, en el caso de las especies que habitan ecosistemas como los humedales no salinos, a pesar de ser especies que se enfrentan a ecosistemas muy cambiantes, su capacidad de resiliencia sobre aumentos de salinidad se limitó a los 5 g/L, sin embargo, la

temperatura parece no tener ningún efecto negativo sobre la tasa de eclosión de este tipo de especies. Finalmente, la baja tasa de eclosión obtenida para las especies de las lagunas de alta montaña, y el hecho de que solo eclosionaran a baja salinidad y mayormente en baja temperatura, sugiere una gran especificidad sobre las condiciones de eclosión de las especies, siendo así las especies con un menor potencial resiliente a variaciones de temperatura y salinidad. Estas diferencias de respuesta, se pueden explicar mediante la gran variedad de formas y estructuras que presentan los huevos diapáusicos. Sin embargo, hasta el momento se sabe muy poco sobre la estructura y su funcionamiento, y como están ligadas a las respuestas de las condiciones medioambientales, y el único trabajo que se tiene al respecto es el que se desarrolla en el capítulo 1.

La distribución de la tasa de eclosión para las especies de *Brachionus* hipersalinas utilizadas fue cuadrática. Los análisis estadísticos mostraron que la tasa de eclosión de las tres especies está afectada por la temperatura y su interacción con la salinidad, así como por el tipo de especie de la que se trate. De hecho, los análisis de contraste de pares comprobaron las diferencias en la tasa de eclosión; *B. manjavacas* es la especie que más eclosiona, seguida por *B. dimidiatus* y posteriormente *B. paranguensis*. Además, los análisis de interacción demuestran que, *B. dimidiatus* y *B. manjavacas*, responden de manera diferente a la temperatura, mientras que la tasa de eclosión de *B. paranguensis* no está afectada por esta variable. En la actualidad, *B. manjavacas* y *B. paranguensis* son dos especies que pertenecen al grupo “L” del complejo *B. plicatilis*. Estas especies, han sido clasificadas y descritas por técnicas moleculares, sin embargo, también se ha señalado que las especies del complejo *B. plicatilis* presentan una clara diferencia en la tolerancia a concentraciones de salinidad (Alcántara-Rodríguez et al. 2012). En la presente tesis, también se evidencia y se fortalece las diferencias ecológicas que se pueden observar entre dos especies del grupo L del complejo *B. plicatilis*, pero sobre la respuesta de la tasa de eclosión a la salinidad y la temperatura. En este caso, los resultados también muestran diferente tolerancia hacia las variaciones de temperatura, mientras que *B. manjavacas* disminuyó su tasa de eclosión con incrementos de temperatura, *B. paranguensis* la aumentó a una salinidad de 35 g/L.

Se podría argüir sobre qué especie tiene un mayor potencial resiliente a las variaciones de temperatura y salinidad y, probablemente, la respuesta sería que, de las tres especies estudiadas, *B. paranguensis* sería la mejor adaptada a los aumentos de los dos factores. En efecto, los resultados muestran que, a mayor salinidad y mayor temperatura, la tasa de eclosión es mayor que a temperatura baja, y la tendencia del cambio climático sugiere aumentos significativos de estas dos variables. Por lo tanto, el que *B. paranguensis* no esté bien adaptada a concentraciones salinas bajas, no presentaría un mayor problema para la especie, sin embargo, para *B. dimidiatus*, hasta el momento, el aumento de la salinidad si ha representado un efecto negativo, ya que no se ha encontrado en la comunidad activa (Guerrero-Jiménez et al. 2019), y Santangelo et al. (2014), muestran que esta especie solo eclosiona a una salinidad de 4 g/L. Por otro lado, *B. manjavacas*, logra eclosionar en un amplio rango de salinidades, sin embargo, la especie tiene una preferencia para eclosionar en salinidad de 8 g/L (Gabaldón et al. 2015), y de acuerdo con los resultados obtenidos en esta tesis, el incremento simultáneo de la salinidad y la temperatura, tendría efectos negativos sobre la tasa de eclosión de esta especie.

Este es el primer trabajo que compara la tasa de eclosión de diferentes morfotipos de una misma especie en respuesta a diferentes salinidades y temperaturas y a la interacción de las dos variables. Liu & Niu (2010) y Xiang et al. (2011), analizaron el efecto de la temperatura sobre la tasa de eclosión de dos morfotipos de *B. calyciflorus*, mostrando diferencias en las respuestas de eclosión entre morfotipos, aunque en estos estudios no se tomó en cuenta el impacto que pudiera tener la salinidad. En el presente estudio, se observaron diferencias en las respuestas de eclosión en los dos morfotipos estudiados de las especies *B. angularis* y *B. quadridentatus*, además, en el capítulo 1, los morfotipos de estas dos especies han mostrado una variación morfológica importante. Los análisis estadísticos muestran que para *B. angularis*, la tasa de eclosión de los dos morfotipos estudiados responde de forma muy diferente a las variaciones de las dos variables utilizadas, sobre todo en función de la temperatura, en donde el morfotipo A tiene

preferencias para eclosionar a una temperatura de 30°C y el morfotipo B a 15°C. Por otro lado, los dos morfotipos de *B. quadridentatus* responden de manera similar a las variaciones de temperatura y salinidad, aunque el morfotipo A tiene una mayor tasa de eclosión respecto al morfotipo B. Desafortunadamente, al momento no hay datos publicados sobre los patrones de eclosión de estas dos especies en respuesta a diferentes salinidades y temperaturas, y por lo tanto no es posible hacer una comparación con los resultados obtenidos. Las diferentes tolerancias a aumentos de salinidad y temperatura entre morfotipos de la misma especie, podría representar una estrategia de las especies para sobrevivir a condiciones ambientales cambiantes, además de ser indicación de la posible presencia de especies crípticas. *B. quadridentatus*, por ejemplo, es considerada una especie críptica (Moreno et al. 2017), y no debería por lo tanto descartarse la idea de que las diferencias observadas en la eclosión según la temperatura y salinidad, pudieran estar mostrando una diferenciación ecológica de estas especies como ya se ha demostrado para especies pertenecientes al complejo *B. plicatilis* (Gabaldón et al. 2015, 2017). Además, esto podría explicar la presencia de discrepancias en las respuestas de una misma especie entre diferentes estudios, como ocurre para la especie *B. plicatilis* s.s. cuya salinidad óptima de eclosión reportada difiere según los estudios (Pourriot & Snell 1983; Mikoff 1983; Santangelo et al. 2014).

CAPÍTULO IV

Variación en las respuestas de eclosión de rotíferos y cladóceros a la desecación del sedimento

Introducción

Es un hecho bien conocido que los huevos diapáusicos del zooplancton de lagunas y charcas temporales son capaces de resistir a condiciones ambientales adversas e incluso extremas como altas salinidades, altas o bajas temperaturas y la desecación o congelación de los sedimentos (revisado por Radzikowski 2013). Sin embargo, esta resistencia “natural” a la adversidad tiene un límite y los huevos acabarán deteriorándose perdiendo su viabilidad, incluso para perturbaciones a corto-medio plazo (6 meses, Chittapun et al. 2005). En el capítulo 3 de esta tesis se ha puesto de manifiesto que la futura salinización de ecosistemas acuáticos someros simulada por los modelos actuales de cambio climático reducirá la viabilidad del banco de huevos del sedimento de algunas especies de rotíferos y cladóceros. Además, otro riesgo climático es que muchos lagos someros experimentarán sequías impredecibles y prolongadas que provocarán la desecación del banco de huevos del sedimento (Brucet et al. 2010; Antón-Pardo & Armengol 2012; Jeppesen et al. 2015). Aunque las sequías son un evento climático que forma parte del ciclo normal del clima mediterráneo (Vicente-Serrano et al. 2014; Tavsanoglu et al. 2015), en la región andaluza (sur de España), por ejemplo, se han dado episodios de dos o más años secos a lo largo del siglo pasado (e.g., 1909-1914, 1941-1945 y 1978-1984) y el actual (1990-1996, 2004-2009 y 2017-19) (Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible 2020). Durante el verano, los humedales temporales soportarán temperaturas extremas de hasta 35°C (e.g., García & Niell 1993). En este contexto, la capacidad de los huevos de resistencia del sedimento para tolerar los episodios de desecación y altas temperaturas extremas desempeñará un papel clave en la recuperación de la comunidad zooplanctónica. Sin embargo, aún no está claro cómo los patrones de eclosión de las diferentes especies de zooplancton y, de las diferentes poblaciones dentro de la misma especie, reaccionarán a estos episodios de desecación y altas temperaturas de los sistemas someros temporales (Arnott & Yan 2002; Branstrator et al. 2013; Vargas et al. 2019).

Algunos estudios han mostrado que el zooplancton puede ser útil para monitorizar el impacto de la sequía en los humedales por cambios asociados a la salinización del agua y al hidroperiodo (Rojo et al. 2012). Sin embargo, es difícil separar los efectos del incremento en salinidad sobre las comunidades acuáticas de aquellos efectos relacionados con el cambio en el nivel del agua de estos sistemas lacustres. Arnott et al. (2001) observaron que la desecación de sedimentos de la zona litoral estimulaba la eclosión de huevos del zooplancton. En cambio, Santangelo et al. (2011) mostraron bajas tasas de eclosión de huevos de resistencia de cladóceros tropicales después de haber estado sometidos a una desecación a medio plazo (4 meses) a temperatura ambiente (24°C). Sin embargo, los estudios que han analizado directamente los efectos de la desecación sobre la respuesta de eclosión de los huevos de resistencia de zooplancton, además de ser escasos (Arnott et al. 2001; Chittapun et al. 2005; Santangelo et al. 2011; Branstrator et al. 2013; Vargas et al. 2019), no han tenido en cuenta el posible efecto que altas temperaturas extremas puedan tener sobre las tasas de eclosión de sedimentos ya desecados (Branstrator et al. 2013; Vargas et al. 2019).

En general, los huevos de rotíferos y cladóceros sobreviven a periodos de desecación y eclosionan una vez rehidratados, especialmente los huevos de especies que han evolucionado en ecosistemas someros temporales por estar éstos más sujetos a fluctuaciones del hidroperiodo y a períodos de sequía (Battauz et al. 2014; Walsh et al. 2017). No obstante, los huevos de algunas especies de rotíferos y cladóceros pueden ver reducida su viabilidad tras periodos de desecación (Schroeder 2005; Radzikowski 2013). En efecto, periodos de desecación mayores de 6 meses han mostrado reducir la viabilidad de los huevos diapáusicos de varias especies de rotíferos (Chittapun et al. 2005), mientras que huevos de algunos cladóceros como *Bythotrephes longimanus* no lograron eclosionar después de tan solo 6 horas de desecación (Branstrator et al. 2013). La capacidad de resistir a la desecación parece estar relacionada con la estructura del mismo huevo. Por ejemplo, en los cladóceros los huevos resistentes a la desecación normalmente presentan una yema homogénea sin vacuolas (Makrushin 1978). Sin embargo, la termoresistencia de los huevos

de rotíferos y cladóceros y hasta qué punto las altas temperaturas pueden afectar a su capacidad de eclosión apenas ha sido investigada (Chittapun et al. 2005). Además, en rotíferos, la mayoría de los estudios sobre resistencia a la desecación y a las altas temperaturas se han centrado en rotíferos bdeloideos (Ricci & Caprioli 2005) y se ha prestado mucho menos atención a los rotíferos monogonontes.

Los objetivos de este capítulo son analizar qué efecto tiene la desecación sobre el éxito de eclosión de los huevos de resistencia de cladóceros y rotíferos aislados de diferentes tipos de ecosistemas someros, así como explorar el efecto que una alta temperatura extrema pueda tener sobre el efecto de la desecación de los huevos. Las hipótesis de partida son: 1) La desecación del sedimento, independientemente de la temperatura ambiental, disminuirá el éxito de eclosión de los huevos de resistencia (Santangelo et al. 2011); 2) Las altas temperaturas extremas, independientemente de la desecación del sedimento, reducirán también la tasa de eclosión de las especies (Minkoff et al. 1983; y capítulo 3); 3) Existirá un efecto de interacción sinérgica entre la temperatura extrema y la desecación del sedimento incrementándose así el riesgo de pérdida de viabilidad de los huevos de resistencia para una posterior eclosión ; y, 4) Habrá una relación entre la mayor resistencia de los huevos a las altas temperaturas y a la desecación y la presencia de estas condiciones adversas extremas en sus hábitats nativos.

Esta información es muy importante ya que debido al cambio climático se prevé que los lagos someros en la zona mediterránea serán particularmente afectados por incrementos en la temperatura, la salinidad y los periodos de sequía (Jeppesen et al. 2015). Por la tanto, conocer la tolerancia de los huevos a largos periodos de desecación y elevadas temperaturas, permite prever de qué manera la comunidad zooplanctónica podría ser afectada en un futuro próximo. Anualmente el periodo de sequía en la región mediterránea generalmente empieza en mayo (García et al. 1997), y suele durar hasta que vuelvan las lluvias en otoño, sin embargo, en los últimos años, los periodos de sequía han ido fluctuando entre año y año, tendiendo a prolongar más el periodo seco. Por esta razón, para este

estudio, se utilizó un periodo de 4 meses que ejemplifique un periodo normal de desecación de los lagos para la zona del mediterráneo.

Material y Métodos

Ecosistemas de estudio

Este estudio se realizó a partir de las mismas muestras de cores de sedimento utilizadas en los capítulos 1, 2 y 3 de esta tesis. Sin embargo, para obtener un tamaño de muestra suficiente, en este estudio se usaron sólo los huevos de las especies más frecuentes por lo que los ecosistemas de estudio en este capítulo se redujeron a cinco: El Taraje, El Trébol, Fuente de Piedra, Rincón de Parangueo, y Río Seco. Su localización geográfica y las características ambientales están detalladas en la Tabla 30-44. Los dos humedales no salinos (El Taraje y El Trébol), la laguna de alta montaña Río Seco y el lago hipersalino Rincón de Parangueo son cuerpos de agua permanentes que, hasta ahora, no hay registro de que se hayan secado. Esto podría hacer que sus comunidades zooplanctónicas sean potencialmente más susceptibles a la desecación. El lago hipersalino Fuente de Piedra es temporal y nos permitirá hacer comparaciones en las respuestas de eclosión de las diferentes especies a la desecación.

Recolección y aislamiento de los huevos diapáusicos

Para la metodología de aislamiento de los huevos diapáusicos de rotíferos y efipios de cladóceros véase la metodología general de esta tesis (Figura 12). Para los experimentos se utilizaron, igual que en el capítulo 3, sólo los huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros que presentaban un aspecto saludable, es decir, aquellos que mostraban su cubierta externa intacta para poder asumir que eran viables (García-Roger et al. 2005).

Diseño experimental

Para analizar el efecto de la desecación de los huevos de resistencia y su posible interacción sinérgica con altas temperaturas extremas sobre su éxito de eclosión se diseñó un experimento factorial en el que huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros se incubaron en dos combinaciones de humedad (húmedo vs. seco) y dos combinaciones de temperatura (15 y 40°C). En total, se incubaron 356 huevos de 7 especies de rotíferos y 104 efipios de 9 especies de cladóceros (Tabla 4.1). Se utilizaron estas dos temperaturas para poder comparar las tasas de eclosión entre una temperatura adecuada para la eclosión (15°C, véase capítulo 3) y una alta temperatura extrema de los días calurosos de verano en la cuenca mediterránea (40°C, Consejería de Medio Ambiente 2007). Aunque en las noches de verano la temperatura baja de los 40°C, se mantuvo esta temperatura constante durante todo el experimento para intensificar su posible efecto sobre el éxito de eclosión.

Todos los huevos fueron lavados 2-3 veces con agua destilada para tratar de uniformizar el mismo tipo de agua en todos los experimentos de la Tesis, y a continuación, se repartieron, de manera individual, en micro placas de poliestireno de 96 pocillos (Fisherbrand™ Petri Dishes Specialty) al azar entre todos los tratamientos. En total, se usaron ocho placas, dos para cada tratamiento experimental. El tratamiento “húmedo” consistía de 200 µl de agua destilada a 10 g/L de salinidad. Se optó por usar agua con esta salinidad porque, aunque esta baja salinidad no evitaría completamente la eclosión de las especies salinas, sí evitaría la eclosión de las especies de agua dulce (Montero-Pau et al. 2011, y capítulo 3 de esta tesis). Además, una mayor salinidad hubiese podido provocar daños a los huevos de las especies salinas (ver capítulo 3). Las placas se incubaron durante 4 meses en oscuridad.

Todas las placas se taparon durante todo el proceso de incubación con papel de aluminio y se sellaron por todo el contorno con cinta adhesiva, para que no hubiera evaporación en el tratamiento “húmedo” que pudiera incrementar la concentración de sal y se mantuvieron

las condiciones de oscuridad total para evitar la eclosión de los huevos de resistencia (Pourriot & Snell 1983; Montero-Pau et al. 2011).

Para poder analizar el efecto de la temperatura de forma independiente y evitar la pseudoreplicación, las 8 placas se colocaron aleatoriamente en 4 cajas oscuras (ya descritas en el capítulo 3), una placa del tratamiento “seco” y otra del tratamiento “húmedo” en cada caja, y dos cajas en cada temperatura. Se usaron dos modelos de cámaras de incubación Memmert: el modelo ICP 700, para el tratamiento de 15°C y el modelo ICP 600 para el tratamiento de 40°C.

Después de los cuatro meses, se abrieron todas las placas y todos los huevos se lavaron 2-3 veces con agua destilada. A continuación, en cada pocillo, se añadió 200 µl de agua destilada a 0.5 g/L de salinidad a los huevos de las especies de agua dulce (aislados de El Taraje, El Trébol, y Río Seco); a los huevos de las especies de agua salada (aislados de Fuente de Piedra y Rincón de Parangueo) se les añadió 200 µl de agua destilada a 15 g/L de salinidad. Después, se procedió a un segundo periodo de incubación de 15 días en las mismas cajas pero ahora con luz blanca ($345.50 \pm 20.54 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) con fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad y se uniformizó todos los tratamientos a una temperatura de 15°C. Se revisó diariamente el número de eclosiones de las especies durante un periodo de 15 días.

Análisis Estadísticos

Análisis Globales

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa R. 3.3.3 (R fundación para análisis estadísticos). Para analizar el efecto de la desecación previa de los huevos, y su posible efecto de interacción con una temperatura extrema, sobre el éxito y el momento de la eclosión se usaron modelos lineales generalizados mixtos ya presentados en el capítulo 3 (ver páginas 106-109). Para un análisis global, las variables predictoras fueron el

grado de humedad (sequedad vs. medio líquido, como variable categórica) durante la incubación y la temperatura (15 y 40°C, como variable continua). Los factores aleatorios usados fueron: “especie” (especies tanto de cladóceros como rotíferos), “caja” (4 niveles), “lago” (5 niveles) y “placa” (8 niveles). Si las interacciones entre los dos factores fijos no eran significativas, éstas se eliminaban del modelo para eliminar su posible efecto sobre el efecto de los factores principales (Bolker et al. 2008).

Diferencias entre grupo taxonómico y especies

Para analizar las diferencias que el efecto de la desecación de los huevos y la alta temperatura extrema pudieran tener sobre los patrones (i.e. tasas y día) de eclosión de los huevos entre grupos taxonómicos y especies de rotíferos y cladóceros, se hicieron también modelos lineales generalizados mixtos. Para las diferencias entre grupos taxonómicos (cladóceros y rotíferos) se incluyó el efecto fijo “taxón” y “caja” en el análisis y se realizaron solo con los datos obtenidos a 15°C (ver resultados para explicación). Para este análisis se consideró “caja” como factor fijo debido a que solo se utilizan los experimentos a temperatura de 15°C, por lo tanto, el factor caja solo tiene dos niveles, insuficientes para ser considerada como factor aleatorio. En el caso de las diferencias entre especies, se consideraron “especie”, “lago”, y “caja” como factores fijos adicionales y “placa” como factor aleatorio.

Resultados

Para el experimento se utilizaron 460 huevos diapáusicos de siete especies de rotíferos y nueve de cladóceros de los cuales eclosionaron 34 huevos (Tabla 4.1). Los huevos eclosionados pertenecieron a cuatro especies de rotíferos y dos de cladóceros, cuya tasa de eclosión global osciló del 2% para *M. salina*, hasta el 18% para *B. quadridentatus* A, mientras que las demás especies (*B. calyciflorus*, *B. paranguensis*, *L. bulla* y *Daphnia sp.*) tuvieron una tasa de eclosión global de 12% (Figura 4.1). Diez de las especies examinadas no presentaron

eclosión de los huevos en ninguno de los tratamientos. En general, los dos humedales El Taraje y El Trébol, fueron los lagos que presentaron el mayor número de eclosiones, 16 y 13 respectivamente (Tabla 4.1).

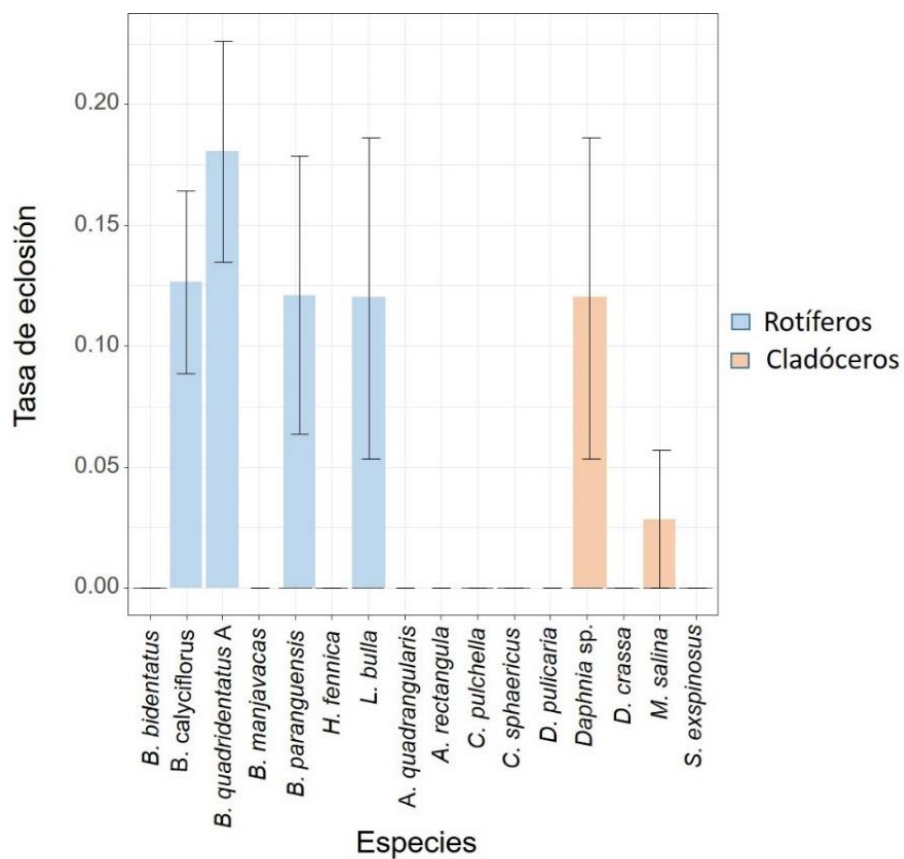


Figura 4.1. Tasa de eclosión de las especies de rotíferos y cladóceros utilizadas para el experimento. Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Tabla 4.1. Especies y número de huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros utilizados para los análisis de desecación.

Especie	Ecosistema acuático				
	Humedales no salinos		Hipersalinos		Alta montaña
Rotíferos	TAG	TRE	FP	RP	RS
<i>Brachionus bidentatus</i>	12	8			
<i>B. calyciflorus</i>	40 (5)	39 (5)			
<i>B. quadridentatus</i> (A)	36 (7)	36 (6)			
<i>B. manjavacas</i>			45		
<i>B. paranguensis</i>				33 (4)	
<i>Hexarthra fennica</i>			80		
<i>Lecane bulla</i>	13 (2)	12 (1)			
Cladóceros					
<i>Alona quadrangularis</i>					6
<i>A. rectangula</i>					5
<i>Ceriodaphnia pulchella</i>	8	6			
<i>Chydorus sphaericus</i>					1
<i>Daphnia pulicaria</i>					12
<i>Daphnia</i> sp.	13 (2)	12 (1)			
<i>Dunhevedia crassa</i>	4	2			
<i>Moina salina</i>			35 (1)		
<i>Simocephalus exspinosus</i>	2				
Total	128	115	160	33	24

Nota: El número de individuos eclosionados por lago se muestra entre paréntesis. El significado de los acrónimos se puede encontrar en el apartado de área de estudio general, páginas 32-44.

Efecto de la desecación y la temperatura a nivel global

Los análisis estadísticos mostraron que sólo la temperatura afectó significativamente a la tasa de eclosión (Tabla 4.2). Independientemente de las condiciones de humedad, el éxito de eclosión fue prácticamente nulo cuando los huevos se incubaron a una temperatura extrema de 40°C (Figura 4.2). El único huevo eclosionado a esta temperatura fue en el tratamiento “medio líquido” y pertenecía al rotífero *B. paranguensis*. No se observó un efecto significativo del grado de humedad durante la incubación sobre la tasa de eclosión

(Tabla 4.2), ni tampoco de la interacción entre la temperatura y dicho grado de humedad de los huevos. Ningún factor aleatorio, salvo “especie”, fue relevante en el análisis (Tabla 4.2)

En relación al día de eclosión, como no hubo eclosiones en el tratamiento “sequedad” a 40°C, se realizó un análisis global aditivo y no interactivo con la desecación y la temperatura. Dicho análisis no mostró efecto significativo ni de la temperatura (media posterior = 0.03, CI = -0.00 a 0.08, pMCMC = 0.125) ni de la desecación (media posterior = 0.61, CI = -1.85 a 2.30, pMCMC = 0.3). El día de eclosión osciló entre el tercer y sexto día.

Tabla 4.2. Análisis Global con Modelos Mixtos (MCMCgImm) que evalúan el efecto de la desecación y la temperatura sobre la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos.

	Tasa de eclosión - Global DIC=177.4			
	Media Posterior	Mínima CI 95%	Máxima CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	-0.74	-4.36	2.16	0.586
Temperatura	-0.16	-0.26	-0.07	< 0.003**
Grado de humedad (sequedad)	-0.16	-3.37	2.76	0.806
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	1.39	0.00	4.86	1.4
Especie	1.58	0.00	4.46	-6
Caja	0.54	0.00	2.15	-2.4
Placa	0.52	0.00	2.09	-2.6

Nota: Los valores estadísticamente significativos (efectos principales) se indican en negrita. CI = intervalos de confianza; pMCMC = dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC = DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

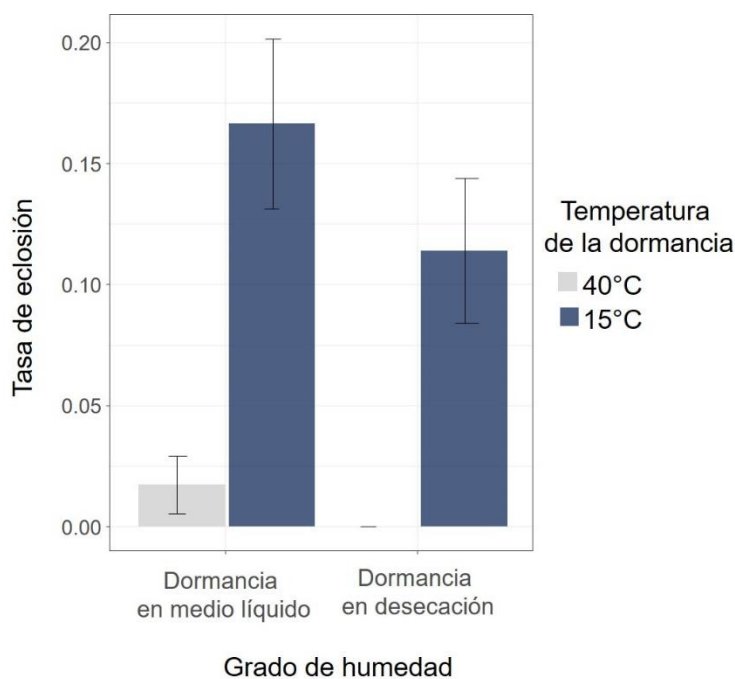


Figura 4.2. Tasa de eclosión de huevos diapáusicos a 15°C tras las pre-incubaciones a dos temperaturas (15 y 40°C) y dos combinaciones de humedad (medio líquido y desecación). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Efecto de la desecación por taxón y especie en las tasas de eclosión

Dado que el efecto aleatorio “especie” fue significativo para el modelo, también se analizó el efecto de la desecación utilizando distintas combinaciones de taxones/especies, y ya que los resultados previos indican la fuerte inhibición de la eclosión a 40°C, para analizar el efecto del grado de humedad sin esa fuerte interferencia de la temperatura, los análisis se realizaron únicamente con los datos de la temperatura de 15°C. Dicho valor es representativo de la temperatura que puede encontrarse en la región mediterránea cuando muchos sistemas acuáticos se vuelven a llenar tras un periodo de desecación. A dicha temperatura, de las seis especies eclosionadas, tres (*B. calyciflorus*, *B. quadridentatus* A y *Daphnia* sp.) eclosionaron en ambos tratamientos, en seco y en medio líquido, mientras que los huevos de *L. bulla* y *B. paranguensis* solo eclosionaron tras una incubación en el medio

líquido. Por el contrario, la especie de cladóceros *M. salina* solo eclosionó si se sometía al tratamiento en medio seco (aunque solo se observó una eclosión) (Figura 4.3).

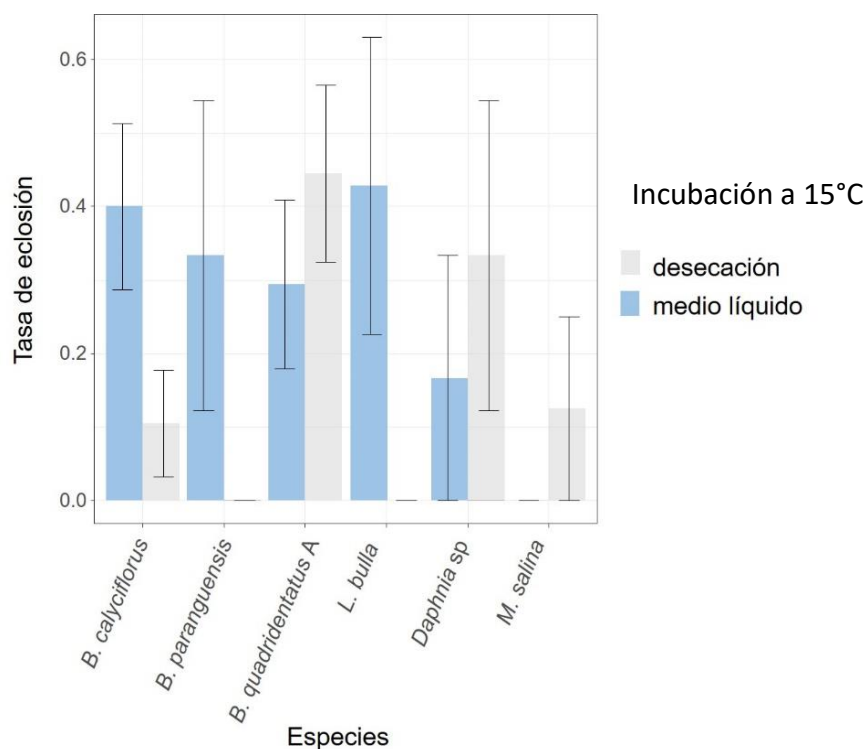


Figura 4.3. Tasa de eclosión a 15°C de las seis especies de rotíferos y cladóceros que eclosionaron en desecación y medio líquido en una incubación de 15°C. Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Los análisis realizados sobre las posibles diferencias de eclosión entre las especies de rotíferos y cladóceros (factor “taxón”) a 15°C, mostraron efectos significativos del factor “taxón”, y de la interacción entre “grado de humedad” y “taxón” (Tabla 4.3). En general, los rotíferos presentaron una mayor tasa de eclosión respecto a los cladóceros, y los resultados evidencian que el tratamiento seco tiende a inhibir la eclosión en rotíferos, pero no en cladóceros (Tabla 4.3, Figura 4.4).

Tabla 4.3. Análisis por Taxón con Modelos Mixtos (MCMCgImm) que evalúan el efecto de la desecación y el grupo taxonómico sobre la tasa de eclosión de los huevos diapáusico a 15°C.

	Tasa de eclosión – Taxón a 15°C DIC=144.6			
	Media Posterior	Mínima CI 95%	Máxima CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	-3.71	-6.77	-0.38	0.016 *
Grado de humedad (sequedad)	2.09	-1.45	5.83	0.215
Caja (B)	0.00	-1.08	0.84	1.00
Taxón (Rotíferos)	2.77	0.07	5.99	0.037 *
Grado de humedad (sequedad) x Taxón (Rotífero)	-3.13	-6.77	-0.23	0.043 *
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	0.58	0.00	2.23	-0.03
Especie	0.44	0.00	1.64	-0.3
Placa	0.87	0.00	3.32	-1.2

Nota: Los valores estadísticamente significativos (efectos principales) se indican en negrita. CI = intervalos de confianza; pMCMC = dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC = DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

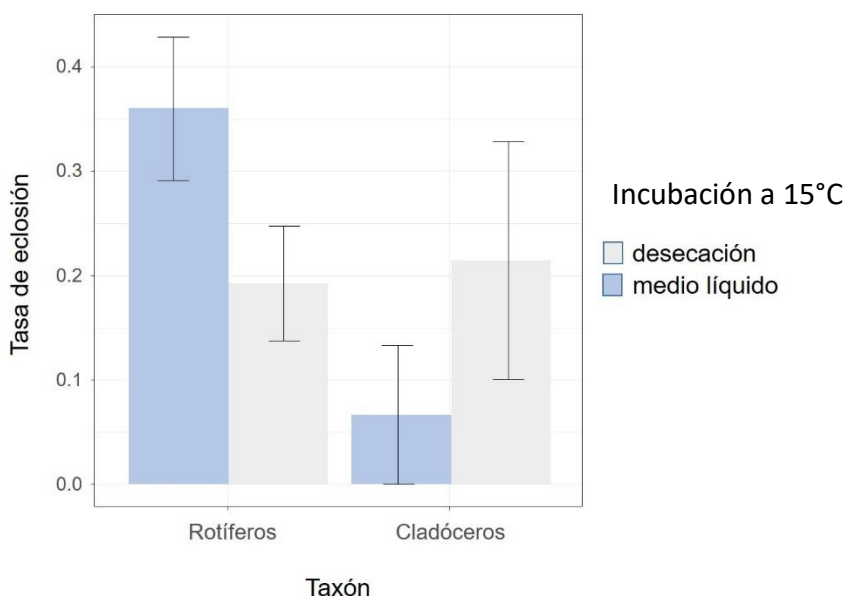


Figura 4.4. Tasa de eclosión de los huevos entre los dos taxones estudiados (rotíferos y cladóceros) para la desecación y el medio líquido en una incubación de 15°C. Las barras de error representan el Error Típico (ET).

La comparación de la tasa de eclosión entre las dos únicas especies de rotíferos (*B. calyciflorus* y *B. quadridentatus* A) que eclosionaron en ambos tratamientos del grado de humedad a 15°C, mostró que el “grado de humedad” y la interacción del “grado de humedad” con la “especie” fueron significativas (Tabla 4.4). La Figura 4.5, muestra que la desecación tiende a inhibir la eclosión de *B. calyciflorus*, pero no de *B. quadrangularis*. Con respecto al día de eclosión, los resultados del análisis muestran significancia con respecto al grado humedad (Tabla 4.4), y en la Figura 4.5 se puede observar que la desecación aumenta el día de eclosión de ambas especies, *B. quadrangularis* y *B. calyciflorus*, en comparación con el tratamiento en medio líquido.

Tabla 4.4. Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto del grado de humedad (desecación y medio líquido), en dos especies de rotíferos (*B. calyciflorus* y *B. quadridentatus* A) en la tasa y día de eclosión de los huevos diapáusicos a 15°C.

	Tasa de eclosión – AIC= 98.9			Día de eclosión – AIC=84.2		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	1.36	1	0.536	12.86	1	0.0003 ***
Lago	0.09	1	0.755	1.30	1	0.253
Caja	0.02	1	0.866	0.14	1	0.704
Grado de humedad	0.83	1	0.368	6.03	1	0.014 *
Especie	0.44	1	0.504	0.79	1	0.371
Grado de humedad x Especie	4.48	1	0.034 *	-	-	-

Nota: El mejor modelo obtenido para la tasa de eclosión fue con el AIC (98.9) y para el día de eclosión con el AIC (84.2). Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia ($P < 0.05$) se reportan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

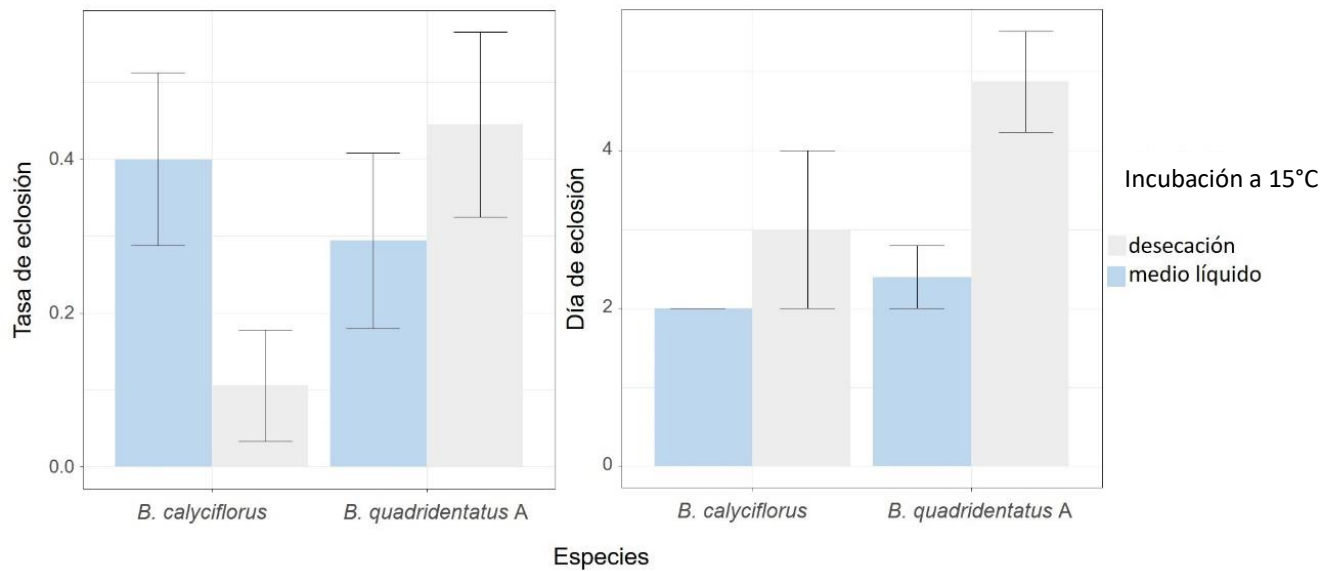


Figura 4.5. Comparación de la tasa y día de eclosión de dos especies de rotíferos dulceacuícolas en la desecación y medio líquido en una incubación a 15°C. Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Discusión

En este capítulo se ha explorado por primera vez el efecto combinado de las altas temperaturas y la desecación del sedimento sobre la viabilidad del banco de huevos de resistencia del zooplancton. Estas dos condiciones ambientales adversas extremas ocurren cada vez con mayor frecuencia en los ecosistemas someros temporales de regiones áridas (Jeppesen et al. 2015). Otros estudios (Vargas et al. 2019) han analizado también, recientemente, sólo el efecto de la desecación del sedimento sobre la viabilidad y los patrones de eclosión del banco de huevos del zooplancton. En este capítulo, con huevos aislados, se evaluó de forma independiente el efecto de la desecación directamente sobre los huevos y teniendo en cuenta el lugar de procedencia, así como las variaciones que pudieran observarse dentro de las diferentes especies. Además, también se aborda la interacción de la desecación con dos temperaturas diferentes de incubación para poder

observar posibles variaciones en la respuesta de la tasa de eclosión sobre las especies de rotíferos y cladóceros.

En este trabajo no eclosionaron huevos de todas las especies estudiadas. En efecto, de las dieciséis especies consideradas sólo eclosionaron seis de ellas. Estos resultados son conformes con otros estudios previos que han estudiado la viabilidad de huevos diapáusicos de rotíferos después de periodos de desecación donde tampoco eclosionaron huevos de todas las especies (Chittapun et al. (2005), sugiriendo que los huevos diapáusicos del zooplancton presentan una viabilidad limitada tras un periodo en desecación y que la respuesta, además, es probablemente específica para cada especie. Sin embargo, nuestros resultados contrastan con las observaciones reportadas por Lubzens et al. (1980) quienes obtuvieron una tasa de eclosión del 100% de los huevos de resistencia pertenecientes a las especies del complejo *B. plicatilis* después de estar sometidos a desecación durante un periodo de seis meses. Probablemente la ausencia de eclosión de algunas especies en nuestro trabajo podría deberse al hecho de que en el experimento se utilizaron las mismas condiciones de eclosión para todas las especies y, por lo tanto, una parte de los huevos podrían no haber recibido los estímulos adecuados para romper la dormancia (Vargas et al. 2019). En particular, ningún huevo de resistencia aislado del sedimento colectado en la laguna de alta montaña de Sierra Nevada eclosionó, mostrando evidencias de que, tanto la desecación como el pequeño aumento de conductividad del agua en este tipo de lagunas afectarán negativamente a la resiliencia de sus poblaciones zooplanctónicas. Esto puede deberse al hecho de que la laguna Río Seco nunca ha llegado a secarse y, por lo tanto, los huevos serán muy sensibles a la falta de humedad. Además, la hidratación de los huevos con medio salino, incluso en la baja salinidad empleada en este estudio de 10 g/L, podría haber sido deletéreo para estas especies ya que los bancos de huevos de estas poblaciones han mostrado ser muy sensibles al aumento de salinidad del agua con las menores tasas de eclosión de huevos diapáusicos (véase capítulo 3). Estos resultados sugieren que las especies de las lagunas de Sierra Nevada se verán muy afectadas si las temperaturas siguen

incrementándose, tanto por los aumentos de salinidad debidos al incremento de la evaporación como por la eventual desecación de las lagunas.

Algunos estudios han mostrado que los huevos de resistencia del zooplancton tienen la capacidad de resistir periodos de desecación (Walsh et al. (2017); Vargas et al. (2019)). Vargas et al. (2019) mostraron que hay más abundancia de eclosiones cuando los sedimentos se exponen a un periodo largo de desecación (8 meses) en comparación con uno corto (2 meses). No obstante, fue bajo este periodo corto de desecación cuando ellos registraron más riqueza de especies. Además, Van Damme & Dumont (2010) afirma que la desecación favorece la ruptura del periodo de dormancia de los huevos de resistencia. En cambio, otros estudios sugieren que los periodos de sequía reducen la tasa de eclosión de los huevos de resistencia (Chittapun et al. (2005); Radzikowski (2013); Santangelo et al. (2011)). En el presente trabajo, los resultados sugieren que hay especies de lagunas someras que son muy sensibles a la desecación temporal de sus hábitats que no podrían volver a colonizar la columna de agua a partir de la eclosión desde el banco de huevos del sedimento después del llenado de las lagunas. Por ejemplo, las dos especies de rotíferos *B. paranguensis* y *L. bulla*, se vieron seriamente afectadas por la desecación de sus huevos de resistencia. En el caso particular de *L. bulla*, este resultado podría deberse al hecho de que las dos humedades de donde los huevos de esta especie fueron aislados, El Taraje y El Trébol, nunca han llegado a secarse hasta ahora y, por lo tanto, los huevos diapáusicos de esta especie no están adaptados a períodos de desecación del sedimento. Con respecto a *B. paranguensis*, esta especie fue aislada del lago volcánico Rincón de Parangueo, el cual, durante repetidas visitas realizadas en verano y en años diferentes para realizar el presente estudio, nunca se observó totalmente desecado, si bien, el nivel del agua si osciló. No obstante, en este lago sí se han registrado períodos de sequía como el reportado por Armienta et al. (2008) para el año 2003 cuando el lago se secó completamente antes del periodo de lluvias. Por lo tanto, podríamos asumir que los periodos de sequía en Rincón de Parangueo no son estacionales, sino ocasionales. Además, los sedimentos de este lago podrían tener una alta capacidad de retención de la humedad, por lo que los huevos nunca

se quedarían totalmente secos hasta en los períodos de sequía. Por consiguiente, es muy probable que la viabilidad de los huevos de *B. paranguensis*, al igual que los de *L. bulla*, esté afectada por periodos de sequedad. Los resultados obtenidos sugieren que las poblaciones del zooplancton de los humedales no salinos de Charca de Suárez son vulnerables a los posibles efectos de la desecación que, como consecuencia del aumento de temperatura por el actual cambio climático, pudieran producirse ya que algunas especies, como el rotífero *L. bulla*, podrían dejar de eclosionar desde el banco de huevos del sedimento, y otras, como *B. calyciflorus*, disminuirían su tasa de eclosión. En consecuencia, podría disminuir la riqueza de especies y la resiliencia de estos ecosistemas.

Por otro lado, Vargas et al. (2019) demostraron que los huevos diapáusicos de algunas especies de zooplancton, tales como el rotífero *Synchaeta* sp. y el cladóceros *Moina reticulata*, son más propensos a eclosionar después de un periodo de sequía y la siguiente rehidratación. Además, Van Damme & Dumont (2010) y Ning & Nielsen (2011) afirman que algunas especies necesitan un periodo de desecación para romper la dormancia de los huevos. En nuestro estudio, esta hipótesis podría explicar los resultados obtenidos para la especie del cladóceros *M. salina*, aislada de la laguna Fuente de Piedra, que no presentó ninguna eclosión en el tratamiento húmedo y necesitó del periodo de desecación para poder eclosionar. Este humedal hipersalino es un sistema acuático temporal estacional que siempre llega a secarse en verano, Esta especie, por lo tanto, parece estar adaptada a la variabilidad temporal del hábitat de donde fue aislada y, en consecuencia, la presencia de largos periodos de sequía que podrían presentarse en un futuro debido a los aumentos de temperatura y evaporación del agua, no afectarían significativamente a esta especie. No obstante, hay que precisar que, de los 35 huevos de *M. salina* utilizados, solo 1 eclosionó. Para el resto de las especies que eclosionaron, las tasas de eclosión fueron también bajas, lo cual puede atribuirse a una estrategia de apuesta diversificada (*bet-hedging*) (Simovich & Hathaway 1997; Brendonck et al. 1998; Brendonck & de Meester 2003) adoptada por muchas especies de zooplancton para aumentar las probabilidades de supervivencia frente

a la impredecibilidad ambiental (Garcia-Roger et al. 2014), de manera que la eclosión de los huevos está extendida durante múltiples periodos de tiempo más o menos largos.

Los resultados obtenidos para las dos especies del rotífero, *B. quadridentatus* A y *B. calyciflorus*, que habitan las mismas lagunas de la Charca de Suárez, mostraron diferencias en la respuesta de eclosión a la desecación, en efecto la tasa de eclosión de *B. calyciflorus* fue más baja respecto a la de *B. quadridentatus* A, sugiriendo una ventaja de esta última sobre *B. calyciflorus* ante una posible desecación de las lagunas.

Con respecto al efecto de la temperatura, poco se sabe sobre el efecto que ésta tiene durante el periodo de dormancia de los huevos de zooplancton. En este estudio, los resultados del efecto de la temperatura mostraron que, independientemente del grado de humedad al que se incubaron los huevos de resistencia, el aumento de la temperatura tuvo el mismo efecto negativo tanto sobre la duración de la dormancia como sobre la tasa de eclosión de los huevos, así como también había sido demostrado para *B. plicatilis s.s.* por Minkoff et al. (1983) y en el capítulo 3 para la mayoría de las especies estudiadas. *B. paranguensis* fue la única especie que eclosionó a una temperatura de 40°C en medio líquido. Previamente, Radzikowski (2013) mostraron que, si bien hay especies de copépodos que eclosionan a 35°C (Brewer 1964), ligeros incrementos de temperatura probablemente destruyen todos los huevos. En el caso de *B. paranguensis*, este capítulo muestra que a una temperatura superior (40°C) y durante más tiempo de exposición, los huevos pueden permanecer viables. Este rotífero seguramente está adaptado a vivir en un ambiente con condiciones extremas, tanto de salinidad como de temperatura, que suele llegar a 30°C durante muchos meses al año (Armienta et al. 2008). La elección de la temperatura de 40°C en este capítulo se justifica en que, durante el verano, es posible encontrar este tipo de temperaturas en ecosistemas mediterráneos. No obstante, dicha temperatura que pretende simular el clima en los días calurosos de verano en la región mediterránea, no son fácilmente extrapolables a las condiciones naturales, ya que durante las noches las temperaturas descienden en dicha región a 15-20°C. Por lo tanto, futuros experimentos

deberían utilizar rangos de temperatura diferentes para el día/noche y así poder extrapolar de forma adecuada los resultados a condiciones naturales de elevadas temperaturas estivales.

Algunos estudios se han focalizado en demostrar, sobre todo, los límites de resistencia de los huevos durante periodos cortos de exposición a temperaturas extremas. Por ejemplo, Balompapueng et al. (1997) analizaron la resistencia a bajas temperaturas de huevos del género *Brachionus*, demostrando que aún tienen la capacidad de eclosión a -80°C durante un periodo de incubación de 24 horas. Lubzens et al. (1980), también observaron eclosiones de huevos pertenecientes al género *Brachionus* después de un periodo de incubación de tres meses a -14°C . Un estudio conducido con el cladócero *Daphnia pulex*, mostró que esta especie mantiene la viabilidad para eclosionar después de una exposición corta (30 minutos) a condiciones de -84°C y 90°C (Turowska 2012). En estas mismas temperaturas, pero por un periodo de incubación de 3 horas, Radzikowski (2013) observó la eclosión de huevos del cladócero *D. longispina*. Ninguno de estos estudios, han evaluado periodos de incubación similares a los de posibles condiciones naturales como los que se han evaluado en el presente diseño experimental. Este es, por tanto, el primer estudio en comparar las diferencias en la tasa de eclosión en dos temperaturas de incubación y mostrar las primeras evidencias del efecto negativo que tiene el aumento de temperatura por largos periodos de tiempo.

CAPÍTULO V

Variación inter e intraespecífica en rasgos de historia de vital de rotíferos y cladócueros eclosionados a partir de huevos de resistencia: efecto de la temperatura y salinidad

Introducción

Como consecuencia del cambio global, el incremento de la temperatura y de la salinidad, podría afectar la estructura y el funcionamiento de los lagos someros (Jeppesen et al. 2007a). Como ya se ha mencionado anteriormente en el capítulo 2, la temperatura y la salinidad representan dos de los factores ecológicos más importantes que determinan la ecología de las especies de zooplancton, y en consecuencia, la estructura de las comunidades zooplanctónicas en los lagos (Miracle & Sierra 1989; Gómez et al. 1997; Fielder et al. 2000). En efecto, las fluctuaciones de estos dos factores podrían afectar profundamente la supervivencia, el crecimiento y la reproducción del zooplancton.

Se ha demostrado que el incremento de la temperatura provoca una aceleración del metabolismo en los rotíferos y los cladóceros (Miracle & Sierra 1989; Hall & Burns 2002; Brucet et al. 2009). Esa aceleración induce un aumento del consumo de alimentos y, consecuentemente, una aceleración del crecimiento y de la reproducción. Esto conlleva a un compromiso (*trade-off*) ecológico entre rasgos del ciclo vital de los organismos entre, por ejemplo, la asignación de recursos a la reproducción o a la inversión en supervivencia de los adultos. Así, una mayor inversión de energía en la producción temprana de huevos, soportará una longevidad menor de los individuos (Snell & King 1977). Además, el aumento de las temperaturas puede afectar indirectamente a las comunidades mediante un aumento del proceso de evaporación, con un consecuente incremento de la salinidad del agua (Williams 2001; Brucet et al. 2010).

Es sabido que la salinidad puede llevar a importantes cambios en la composición de las comunidades mediante una reducción de la diversidad (Boix et al. 2008), causando la desaparición de aquellas especies que presentan baja tolerancia hacia las altas salinidades. Cladóceros y rotíferos han demostrado presentar un elevado grado de sensibilidad a fluctuaciones de salinidad (Dodson & Frey 2001), no obstante, la tolerancia del zooplancton a la salinidad varía mucho entre especies. En efecto, con respecto a los cladóceros, se ha

demostrado que, en presencia de un gradiente de salinidad, ocurriría un desplazamiento de especies, desde especies de mayor tamaño como *Daphnia* en bajas salinidades, a especies más pequeñas como *Bosmina* and *Chydorus* en altas salinidades (Jeppesen et al. 2007b; Brucet et al. 2009; Jensen et al. 2010). También entre rotíferos se han observado diferentes respuestas a cambios de salinidad, con especies halobiontes como *Brachionus plicatilis* s.s., *B. manjavacas*, *B. ibericus*, *Hexarthra fennica*, *H. oxyuris* que presentan alta tolerancia a diferentes salinidades, o *Keratella cochlearis* que, contrariamente, desaparece frente a un incremento de la salinidad del agua (Kipriyanova et al. 2007). Una gran variación en la tolerancia hacia este factor también se puede observar entre especies cercanas, como es el caso de los miembros del complejo *Brachionus plicatilis*, cuyas preferencias de salinidad varían desde 5 g/L hasta 30 g/L (Yin & Zhao 2008; Alcántara-Rodríguez et al. 2012; Papakostas et al. 2013; Guerrero-Jiménez et al. 2019).

En este sentido, los experimentos de laboratorio con el desarrollo de tablas de vida son una herramienta fundamental para analizar la respuesta diferencial entre especies de zooplancton a factores ecológicos ya que permiten obtener información sobre las diferentes estrategias vitales que desarrollan las especies diferentes mediante observaciones del crecimiento, reproducción y longevidad de los organismos (Krebs 1985). Estas informaciones ayudarán a predecir las respuestas de las especies de rotíferos y cladóceros al cambio global, y determinar así la afectación de los cambios ambientales en la estructura y función de las comunidades. Actualmente, los estudios de tablas de vida con especies de zooplancton se han centrado en analizar los efectos de la temperatura y la salinidad sólo sobre algunas especies en particular. Por ejemplo, Bosque et al. (2000) y Anitha et al. (2015) estudiaron los efectos combinados de la temperatura, la salinidad y la cantidad de alimento sobre la historia vital de los rotíferos *Synchaeta littoralis* y *Brachionus angularis*, respectivamente. Otros estudios han sido conducidos sobre el efecto, por separado, de la temperatura y la salinidad en la historia de vida de varias especies de rotíferos y cladóceros. Entre ellos, Galkovskaya (1983) estudió el efecto que tiene la temperatura en las especies dulceacuícolas, mientras que Yin & Zhao (2008) analizaron el

efecto de la misma sobre las especies salinas. Además, varios estudios han investigado el efecto que tiene la salinidad en especies de rotíferos halobiontes, como las pertenecientes al complejo *B. plicatilis* (Miracle & Serra 1989, Gabaldón et al. 2015, Guerrero-Jiménez et al. 2019). Sin embargo, todos estos estudios han sido llevados a cabo sobre organismos procedentes de huevos partenogénéticos subitáneos (i.e., eclosionados al poco tiempo de haberse producido) experimentando, generalmente, las mismas condiciones de salinidad y temperatura que sus madres. Los organismos que proceden de la eclosión de huevos diapáusicos, en cambio, pueden presentar rasgos vitales diferentes a los de descendientes de huevos partenogénéticos que podrán estar, o no, relacionados con las condiciones ambientales específicas en las que han eclosionado y a las que tienen que enfrentarse para una exitosa colonización del hábitat. Además, no hay estudios que hayan considerado las posibles variaciones de las respuestas a diferentes salinidades y temperaturas entre morfotipos de una misma especie. Analizar estas diferencias podría de hecho ayudar a identificar la presencia de especies crípticas (Lowe et al. 2007; Montero-Pau et al. 2011), o de posibles adaptaciones de una especie a sobrevivir a condiciones ambientales cambiantes.

El objetivo de este capítulo fue analizar, mediante tablas de vida, el efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre rasgos ecológicamente relevantes del ciclo vital de organismos, rotíferos y cladóceros eclosionados desde huevos diapáusicos, procedentes de diferentes tipos de hábitats tanto dulceacuícolas como salinos. Se analizó el efecto conjunto de estos factores tanto a nivel global como a nivel especie-específico. Además, en el presente trabajo, se analizaron las variaciones intraespecíficas de los rasgos de historia de vida entre morfotipos de los rotíferos *Brachionus quadridentatus* y *Lecane bulla*.

Las hipótesis planteadas en este estudio son: (1) que el hecho de eclosionar bajo unas determinadas condiciones de salinidad y temperatura no garantiza un crecimiento positivo de las poblaciones; (2) que las especies de lagunas hipersalinas presentarán un mayor rango de tolerancia a la salinidad; y (3) que las respuestas intraespecíficas de historia de vida ante

la salinidad y temperatura pueden variar según las características del sistema acuático, sugiriendo posibles adaptaciones.

Metodología

Para analizar la variabilidad interespecífica e intraespecífica entre las poblaciones en los parámetros de historia de vida de organismos eclosionados desde el banco de huevos diapáusicos de rotíferos y cladóceros, se aislaron propágulos diapáusicos de los sedimentos del mismo modo que se ha descrito en el capítulo 3 de esta tesis. Dichos propágulos se incubaron para su eclosión en los ocho tratamientos combinados de temperatura (15 y 30 °C) y salinidad (0.5, 5, 15 y 35 g/L) siguiendo la misma metodología que en el capítulo 3. De las lagunas estudiadas en esta Tesis, se seleccionaron tres de las lagunas dulceacuícolas (Aneas, El Taraje, y el Trébol) y una de las hipersalinas (Fuente de Piedra).

En total se estudiaron 5 especies de rotíferos: *Brachionus manjavacas*, *B. calyciflorus*, *B. quadridentatus* (con dos morfotipos A y C), *Lecane bulla* y *Hexarthra fennica*, y dos especies de cladóceros: *Daphnia pulex* y *Moina salina*. En la sistemática y taxonomía se han utilizado las claves de Koste (1978) para los rotíferos y de Alonso (1996) para cladóceros, usando un microscopio invertido Leitz Fluovent Fu.

Cultivos de algas

Se cultivaron dos especies de microalgas para la alimentación de los organismos, una de agua salina, *Tetraselmis suecica* (91.2; μm^3 ; 11.4 μm x 8 μm x 1 μm ; N=20), cedida por la Universidad de Valencia, y otra de agua dulce, *Scenedesmus sp.* (IdA Sce/RS; 31.36 μm^3 ; 7.87 μm x 4 μm x 1 μm ; N=20) se obtuvo de la colección de cultivos del Instituto Universitario del Agua de la Universidad de Granada. Las dos especies fueron cultivadas individualmente en Bold's Basal Medium (BBM; B5282 Sigma-Aldrich) en una habitación aislada a $17.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, con aireación constante y una radiación fotosintéticamente activa de

~ 90 $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ con un ciclo luz: oscuridad de 14:10 h. Para *T. suecica* se agregó sal de mar comercial de la marca Aquavitro al medio BBM a una concentración final de 12 g/L. Se seleccionó esta salinidad porque es el rango de valores óptimos de salinidad para el cultivo de especies de rotíferos y cladóceros provenientes de ecosistemas salinos (Hirayama & Ogawa (1972). Los dos cultivos algales se mantuvieron siempre en fase exponencial para garantizar una calidad nutricional constante para los organismos. Para ello, cada 7 días se cosechaba el 25% del volumen de cada cultivo estanco y se reemplazaba con medio fresco. Aunque los cultivos de algas no fueran axénicos, también cada 7 días, se verificaba que no estuvieran contaminados los cultivos por protozoos ni hongos y se usaron técnicas estériles durante todo el desarrollo de los experimentos.

En estas condiciones de cultivo, el contenido en carbono de una célula de *Tetraselmis* y *Scenedesmus* fue de 57.41 ± 4.7 pg y 11.04 ± 0.3 pg, respectivamente (N=20). El contenido en carbono se estimó según la expresión C (pg C cel^{-1}) = $0.216 \cdot V^{0.939}$ de Menden-Deuer & Lessard (2000) donde V es el biovolumen celular (μm^3) calculado aproximando la forma de las células algales a un elipsoide. La densidad de células se estimó mediante una cámara de Neubauer o hemocitómetro.

Experimento de historia de vida (diseño factorial 2 x 4)

Las tablas de vida se empezaron con neonatos de menos de 12 horas eclosionados desde los huevos diapáusicos en las diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. Los neonatos, se colocaron individualmente y de forma aleatoria en pocillos de placas de 24 pocillos de poliestireno, se les agregó 2 ml del mismo medio salino en el que eclosionaron y se mantuvieron también a la misma temperatura en la que eclosionaron. Para cada temperatura, se usaron tres cajas de madera opacas, y en cada caja había cuatro placas de 24 pocillos. Las cajas se mantuvieron con un fotoperiodo de 16:8 h luz/oscuridad y con una intensidad de luz blanca de 345.50 ± 20.54 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$. Los organismos se alimentaron cada 24h con una dieta mixta de *Tetraselmis suecica* y *Scenedesmus sp.* La concentración total

de alimento proporcionado a los organismos fue de 5 mgC/L en una proporción 1:1 (2.5:2.5 mgC/L) de ambas especies algales. De esta forma conseguíamos una misma cantidad de alimento para las especies hipersalinas y las dulceacuícolas. Esta cantidad de alimento no es limitante ni para los rotíferos ni para los cladóceros (Monakov 2003). Observaciones preliminares no mostraron ningún efecto de los niveles experimentales de salinidad empleados en este estudio sobre la integridad de las células de *Scenedesmus*.

Todos los organismos usados para el experimento fueron monitoreados cada 12-24 horas desde su nacimiento hasta su muerte, y diariamente se cambiaron los organismos a medio fresco y se alimentaron con el mix de algas para garantizar la concentración constante de alimento. En caso de observar neonatos, estos se eliminaron. Debido a que las primeras réplicas monitoreadas cada 24 horas a 30°C con las especies del género *Brachionus* mostraron confusión entre los neonatos producidos por la madre y la propia madre, se descartaron esos resultados, y por tanto, se realizaron otros en donde los organismos fueron monitoreados cada 12 horas para garantizar el seguimiento del mismo individuo.

Para el análisis de los resultados se midieron dos variables: el número de neonatos producidos por individuo, y la longevidad por individuo. Para evaluar la longevidad y la fertilidad de cada individuo, se contaron los días en los que los individuos permanecieron vivos y el número de neonatos producidos por cada organismo, respectivamente.

La tasa intrínseca de crecimiento poblacional no fue calculada resolviendo la ecuación de Euler iterativamente, ya que, en algunos tratamientos, y en muchas réplicas, los individuos no dejaron ningún descendiente, lo que impide estimar dicha tasa de forma adecuada. En cualquier caso, los análisis para la longevidad y la producción de neonatos serían suficientes para conocer el posible impacto de la salinidad y la temperatura sobre la estrategia vital de estos organismos.

Análisis estadísticos generales

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa R. 3.3.3 (R fundación para análisis estadísticos). La metodología usada con los modelos generalizados lineales mixtos (MCMCglmm) para analizar la producción de neonatos por individuo y la longevidad de los organismos en función de la temperatura y la salinidad, fue similar a la de los capítulos 3 y 4 (ver paginas 106-109). Sin embargo, para este capítulo, para las dos variables utilizadas se asumió una distribución Poisson. Las variables predictoras fueron: concentración de salinidad (variable continua) y temperatura (variable categórica). Los factores aleatorios usados fueron especie (especies de cladóceros y rotíferos), caja (cámara opaca donde se incubaron las placas), y Lago (lugar de procedencia del organismo). Los valores de significancia se calcularon de igual forma que en el método usado para los capítulos 3 y 4.

Análisis estadísticos por grupo taxonómico y tipo de ecosistema acuático

Para analizar la respuesta de la salinidad y temperatura en las especies de rotíferos dulceacuícolas, se utilizaron los modelos generalizados mixtos (MCMCglmm) al igual que en el análisis general. Las variables predictoras fueron: concentración de salinidad (variable continua) y temperatura (variable categórica). Los factores aleatorios usados fueron especie (especies de rotíferos), caja (6 niveles), y Lago (11 niveles). Los valores de significancia se calcularon de igual forma que en el método usado para los análisis generales. En el caso de los rotíferos y cladóceros hipersalinos, se utilizaron modelos lineales mixtos frecuentistas independientes para cladóceros y rotíferos (glmer) y, además, se realizaron y trataron modelos lineales y cuadráticos del mismo modo que en el capítulo 3 (ver paginas 106-109). Los factores aleatorios usados para este modelo fueron “Especie” y “Caja” para rotíferos y “Caja” para cladóceros, debido a que solo se contó con una especie; la influencia de los efectos aleatorios se evaluó usando la prueba de razón de probabilidad (LRT) (Pinheiro & Bates 2000). Debido a la interacción significativa entre temperatura y salinidad para los rotíferos hipersalinos, también se realizaron análisis post hoc para evaluar los efectos

principales de la interacción en la longevidad y la producción de neonatos por individuo del mismo modo que en el capítulo 3. Para los cladóceros dulceacuícolas no se incluyó ningún análisis estadístico debido a que los resultados estaban representados sólo por cuatro organismos de una especie que eclosionó en un solo tratamiento (salinidad de 0.5 g/L y temperatura 15°C).

Análisis estadísticos de las variaciones intraespecíficas

Para evaluar las variaciones intraespecíficas se usaron dos especies de rotíferos dulceacuícolas, *B. quadrientatus* A y *L. bulla*, debido a que estas dos especies fueron las únicas que se encontraron en, al menos, dos lagunas (ver Tabla 5.1). Para cada especie, se realizaron análisis por separado. Se utilizaron modelos lineales mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la salinidad y la temperatura sobre los organismos provenientes de diferentes poblaciones, utilizando “Población”, “Salinidad”, y “Temperatura” como factor fijo. También se realizaron análisis post hoc para el contraste de pares en los efectos principales y medir el efecto principal de algunas interacciones (población x temperatura, temperatura x salinidad) en la longevidad y la producción de neonatos por individuo. Estos análisis se realizaron de forma similar a los realizados en el capítulo 3.

Resultados

Efecto global de la salinidad y la temperatura

Para medir los efectos de la salinidad y temperatura sobre los rasgos de historia de vida, se usaron 348 rotíferos y 34 cladóceros (Tabla 5.1).

Tabla 5.1. Valores del número de neonatos por individuo y longevidad de cada individuo calculados para el análisis de las tablas de vida realizadas con los neonatos eclosionados de los bancos de huevos de los cuatro cuerpos de agua estudiados.

Especie	# de muestra	Tratamiento	Cuerpo de agua	# de neonatos por individuo	Longevidad
Rotíferos					
<i>Brachionus calyciflorus</i>	6	15 °C – 0.5 g/L salinidad	TRE	1	6.3 ± 1.7
<i>B. manjavacas</i>	10	15 °C – 0.5 g/L salinidad	FP	4.3 ± 3.3	9.9 ± 1.9
<i>B. manjavacas</i>	5	15 °C – 5 g/L salinidad	FP	8.2 ± 10.3	9.8 ± 6.6
<i>B. manjavacas</i>	6	15 °C – 15 g/L salinidad	FP	11.3 ± 4.3	11.8 ± 3
<i>B. manjavacas</i>	10	15 °C – 35 g/L salinidad	FP	20.7 ± 6.8	18.7 ± 4.5
<i>B. manjavacas</i>	10	30 °C – 0.5 g/L salinidad	FP	0.7 ± 1.3	3.3 ± 1.5
<i>B. manjavacas</i>	7	30 °C – 5 g/L salinidad	FP	0.5 ± 0.5	3.4 ± 0.9
<i>B. manjavacas</i>	7	30 °C – 15 g/L salinidad	FP	3 ± 1.7	5.7 ± 1.7
<i>B. manjavacas</i>	10	30 °C – 35 g/L salinidad	FP	18.2 ± 4.1	13.2 ± 2.4
<i>B. quadridentatus</i> A	9	15 °C – 0.5 g/L salinidad	TAJ	10 ± 4.3	11 ± 5.1
<i>B. quadridentatus</i> A	10	15 °C – 5 g/L salinidad	TAJ	1.1 ± 1.4	7.3 ± 4.6
<i>B. quadridentatus</i> A	10	30 °C – 0.5 g/L salinidad	TAJ	16.7 ± 4.9	7.8 ± 2.6
<i>B. quadridentatus</i> A	10	30 °C – 5 g/L salinidad	TAJ	0.2 ± 0.6	2.9 ± 0.8
<i>B. quadridentatus</i> A	9	15 °C – 0.5 g/L salinidad	TRE	6.2 ± 3.3	11.2 ± 2.9
<i>B. quadridentatus</i> A	7	15 °C – 5 g/L salinidad	TRE	4.5 ± 1.6	7.7 ± 0.7
<i>B. quadridentatus</i> A	10	30 °C – 0.5 g/L salinidad	TRE	19.7 ± 3.6	9.9 ± 1.9
<i>B. quadridentatus</i> A	3	30 °C – 5 g/L salinidad	TRE	0	3.3 ± 1.15
<i>B. quadridentatus</i> A	9	15 °C – 0.5 g/L salinidad	ANS	13.1 ± 8.03	11.4 ± 2.2
<i>B. quadridentatus</i> A	10	15 °C – 5 g/L salinidad	ANS	0.1 ± 0.31	1.6 ± 1.07
<i>B. quadridentatus</i> A	7	30 °C – 0.5 g/L salinidad	ANS	18.5 ± 1.9	8.2 ± 1.7
<i>B. quadridentatus</i> A	9	30 °C – 5 g/L salinidad	ANS	0	1.2 ± 0.4
<i>B. quadridentatus</i> C	10	15 °C – 0.5 g/L salinidad	ANS	11.9 ± 8.7	7.6 ± 3.4
<i>B. quadridentatus</i> C	10	15 °C – 5 g/L salinidad	ANS	0	1 ± 0
<i>B. quadridentatus</i> C	9	30 °C – 0.5 g/L salinidad	ANS	9.4 ± 9.6	3.6 ± 2.6
<i>B. quadridentatus</i> C	10	30 °C – 5 g/L salinidad	ANS	0	1 ± 0

Tabla 5.1. continuación

Especie	# de muestra	Tratamiento	Cuerpo de agua	# de neonatos por individuo	Longevidad
<i>Hexarthra fennica</i>	10	15 °C – 0.5 g/L salinidad	FP	0	1 ± 0
<i>H. fennica</i>	10	15 °C – 5 g/L salinidad	FP	1.7 ± 1.4	6.5 ± 3.3
<i>H. fennica</i>	10	15 °C – 15 g/L salinidad	FP	8.3 ± 5.1	7 ± 1.7
<i>H. fennica</i>	10	15 °C – 35 g/L salinidad	FP	7.7 ± 4.5	9.7 ± 3.5
<i>H. fennica</i>	10	30 °C – 0.5 g/L salinidad	FP	0	1 ± 0
<i>H. fennica</i>	10	30 °C – 5 g/L salinidad	FP	0	1 ± 0
<i>H. fennica</i>	10	30 °C – 15 g/L salinidad	FP	0	2.3 ± 0.8
<i>H. fennica</i>	10	30 °C – 35 g/L salinidad	FP	0	2 ± 0.6
<i>Lecane bulla</i>	10	15 °C – 0.5 g/L salinidad	TRE	3.2 ± 2.5	9.5 ± 2.3
<i>L. bulla</i>	8	15 °C – 5 g/L salinidad	TRE	2 ± 1.5	9.6 ± 3.3
<i>L. bulla</i>	10	30 °C – 0.5 g/L salinidad	TRE	6.5 ± 3.7	7.9 ± 2.2
<i>L. bulla</i>	9	30 °C – 5 g/L salinidad	TRE	0.5 ± 1.1	3.3 ± 2.1
<i>L. bulla</i>	9	15 °C – 0.5 g/L salinidad	ANS	6.6 ± 2.6	11.3 ± 2.3
<i>L. bulla</i>	3	15 °C – 5 g/L salinidad	ANS	0	1 ± 0
<i>L. bulla</i>	6	30 °C – 0.5 g/L salinidad	ANS	8.1 ± 1.1	6.6 ± 1.2

Cladóceros

<i>Daphnia pulex</i>	4	15 °C – 0.5 g/L salinidad	TRE	54 ± 27.2	68 ± 15.0
<i>Moina salina</i>	2	15 °C – 0.5 g/L salinidad	FP	0	2 ± 1.4
<i>M. salina</i>	8	15 °C – 5 g/L salinidad	FP	14 ± 11.2	26.3 ± 4.1
<i>M. salina</i>	4	15 °C – 15 g/L salinidad	FP	20 ± 15.25	30.2 ± 16.6
<i>M. salina</i>	4	15 °C – 35 g/L salinidad	FP	21 ± 7.7	35.5 ± 14.8
<i>M. salina</i>	2	30 °C – 0.5 g/L salinidad	FP	0	1 ± 0
<i>M. salina</i>	3	30 °C – 5 g/L salinidad	FP	0	3.3 ± 0.5
<i>M. salina</i>	5	30 °C – 15 g/L salinidad	FP	0	1.4 ± 0.5
<i>M. salina</i>	2	30 °C – 35 g/L salinidad	FP	1.5 ± 0.7	8.5 ± 2.1

Nota: Los colores grises representan los cuatro tratamientos (0.5, 5, 15, 35 g/L salinidad) para la temperatura de 15 °C, mientras que los azules son para la temperatura de 30 °C. El significado de los acrónimos se puede encontrar en el apartado de área de estudio general, páginas 32-44.

Los modelos MCMC mostraron que, para la longevidad, el mejor modelo fue un modelo cuadrático en el que tanto la temperatura como la salinidad fueron variables significativas (Tabla 5.2). Los mismos resultados se obtuvieron para la producción de neonatos por individuo, si bien la interacción entre la salinidad y la temperatura fue significativa en este caso (Tabla 5.2). Los resultados indican que la disminución de la temperatura incrementa la longevidad de los organismos expuestos a cualquier salinidad. Aunque, los organismos más longevos se observaron en salinidad de 35 g/L a 15 °C (Figura 5.1). Según los valores del Δ DIC (DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio) (Tabla 5.2), el valor del factor aleatorio “especie” indicó la elevada variabilidad en la longevidad de las distintas especies (Tabla 5.2). Debido a este resultado también se decidió analizar cómo varían los parámetros de historia de vida entre los grupos taxonómicos y las principales especies.

Tabla 5.2 Análisis Global con Modelos Mixtos (MCMCglmm) que evalúan el efecto de la temperatura y salinidad sobre la longevidad y neonatos producidos por individuo.

	Longevidad - Global DIC= 1940.5			
	Media Posterior	Mínima CI 95%	Máxima CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	1.36	0.65	2.23	< 0.005 **
Temperatura (15 °C)	0.77	0.52	1.02	< 0.005 **
Salinidad	0.02	0.01	0.03	< 0.005 **
Salinidad ²	0.00	0.00	0.00	< 0.005 **
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	0.17	0.00	0.38	-4.2
Especie	1.06	0.21	2.73	-25
Caja	0.01	0.00	0.19	-1

Tabla 5.2. continuación

	Neonatos por individuo – Global DIC= 1514.3			
	Media Posterior	Mínima CI 95%	Máxima CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	-0.10	-1.38	1.14	0.81
Temperatura (15 °C)	0.88	0.31	1.53	< 0.005 **
Salinidad	0.01	-0.02	0.04	0.437
Salinidad ²	0.00	0.00	0.00	< 0.005 **
Temperatura (15°C) x Salinidad ²	0.00	0.00	0.00	0.0104 *
				ΔDIC
Efectos Aleatorios				
Lago	0.25	0.00	0.68	-0.7
Especie	2.13	0.24	5.28	-3.5
Caja	0.06	0.00	0.29	-0.5

Nota: La longevidad y la producción de neonatos por individuo mostraron una distribución cuadrática (DIC=1940.5), (DIC=1514.3), respectivamente. Los valores que son significativos se indican en negritas. CI (intervalos creíbles), pMCMC, dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC: DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

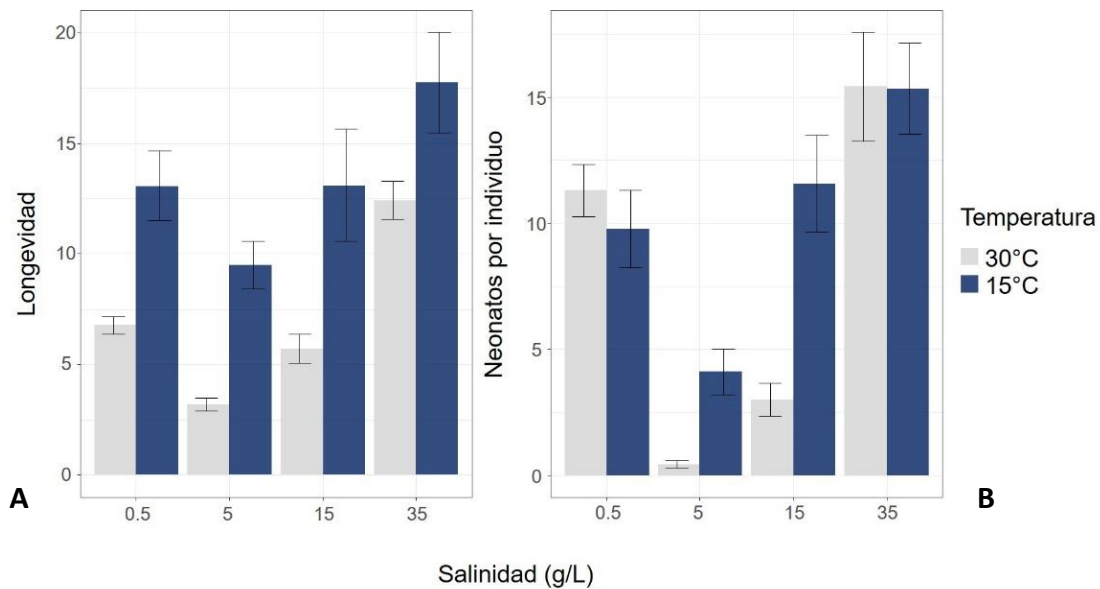


Figura 5.1 Diferencia en los rasgos de la historia vital de rotíferos y cladóceros. Longevidad (A) y neonatos por individuo (B). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Efecto de la salinidad y la temperatura por Taxón y Ecosistema Acuático

Rotíferos hipersalinos

Se analizó el efecto que tuvieron la salinidad y la temperatura sobre los rasgos de historia de vida de todas las especies de rotíferos hipersalinos usadas. Los análisis estadísticos mostraron que, para la longevidad y producción de neonatos por individuo, la temperatura, salinidad, y la interacción entre la temperatura y salinidad fueron variables significativas (Tabla 5.3). El AIC del modelo lineal para longevidad y neonatos por individuo fue más bajo que el del modelo cuadrático (AIC=678.3 y AIC= 803.5, respectivamente). Los análisis de interacción entre temperatura y salinidad mostraron que la salinidad responde de manera diferente según la temperatura (15 o 30°C) tanto para la longevidad como para la producción de neonatos (Tabla 5.4). Los resultados mostraron que al igual que las especies dulceacuícolas, la temperatura de 15 °C aumentó la longevidad en cualquier salinidad (Tabla 5.3 y Figura 5.2) y la producción de neonatos por individuo también es favorecida por una temperatura de 15°C, no obstante, se puede observar que el efecto de la temperatura es superior a bajas salinidades, mientras que a 35 g/l las diferencias no son tan pronunciadas (Tabla 5.3 y Figura 5.2). “Especie” como factor aleatorio fue significativo (LRT: Chi-squared = 176.8, df= 1, p = < 2.2e-16 ***), mientras que “Caja” no fue significativo para el modelo (LRT: Chi-squared = 0.05, df= 1, p = 0.823).

Tabla 5.3 Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la temperatura, salinidad sobre la longevidad y la producción de neonatos por individuo en rotíferos hipersalinos.

	Longevidad – AIC= 664.6			Neonatos por individuo – AIC= 760.2		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	3.29	1	0.069	7.91	1	0.004 **
Salinidad	84.28	1	< 2.2e⁻¹⁶ ***	178.37	1	< 2.2e⁻¹⁶ ***
Temperatura	79.82	1	< 2.2e⁻¹⁶ ***	89.88	1	< 2.2e⁻¹⁶ ***
Temperatura x Salinidad	8.95	1	0.002 **	54.01	1	1.98e⁻¹³ ***

Nota: El mejor modelo obtenido para la longevidad fue con el AIC (664.6) y para lo producción de neonatos por individuo fue con un AIC (760.2). Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia (P < 0.05) se reportan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

Tabla 5.4 Análisis Post hoc para comparar la interacción entre la temperatura respecto a la salinidad en rotíferos salinos para la longevidad y neonatos por individuo.

Interacción Temperatura x Salinidad	Longevidad – AIC= 664.6			
	Valor	Df	Chisq	P
Temperatura (30°C)	0.03	1	84.28	< 2.2e⁻¹⁶ ***
Temperatura (15°C)	0.02	1	72.81	< 2.2e⁻¹⁶ ***

Interacción Temperatura x Salinidad	Neonatos por individuo – AIC= 760.2			
	Valor	Df	Chisq	P
Temperatura (30°C)	0.10	1	178.3	< 2.2e⁻¹⁶ ***
Temperatura (15°C)	0.04	1	175.7	< 2.2e⁻¹⁶ ***

Nota: La relación de la temperatura y salinidad con la longevidad y la producción de neonatos por individuo fue lineal. Los valores con significancia se representan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

Rotíferos dulceacuícolas

Se analizó el efecto que tuvieron la salinidad y la temperatura sobre los rasgos de historia de vida de todas las especies de rotíferos dulceacuícolas usadas. Los modelos MCMC mostraron que, para la longevidad y producción de neonatos por individuo, el mejor modelo fue lineal y que la temperatura, salinidad, y la interacción entre la temperatura y salinidad fueron variables significativas (Tabla 5.5). Los resultados mostraron que, la temperatura de 15 °C aumentó la longevidad en cualquier salinidad (Tabla 5.5 y Figura 5.2) y la producción de neonatos por individuo es favorecida por aumentos de temperatura, sin embargo, cuando la temperatura aumenta en salinidad de 5 g/L, la producción de neonatos por individuo disminuye (Tabla 5.5 y Figura 5.2). Por otro lado, los aumentos de salinidad afectaron de forma negativa la longevidad y la producción de neonatos por individuo (Tabla 5.5 y Figura 5.2). Según los valores del Δ DIC (Tabla 5.4), los valores de los factores aleatorios “lago” y “especie” indicaron la elevada variabilidad en la longevidad que se observa dependiendo de las distintas especies y del lago de procedencia (Tabla 5.5). Debido a estos resultados también se decidió analizar cómo varían los parámetros de historia de vida entre poblaciones de la misma especie en diferentes lugares.

Tabla 5.5 Análisis Global con Modelos Mixtos (MCMCglmm) que evalúan el efecto de la temperatura y salinidad sobre la longevidad y la producción de neonatos por individuo en rotíferos dulceacuícolas.

Longevidad – Rotíferos dulceacuícolas DIC= 960.86				
	Media Posterior	Mínima CI 95%	Máxima CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	1.86	1.24	2.51	0.0104 *
Temperatura (15°C)	0.35	0.05	0.52	< 0.005 **
Salinidad	-0.26	-0.31	-0.22	< 0.005 **
Temperatura (15°C) x Salinidad	0.09	0.03	0.15	0.0104 *
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	0.21	0.00	0.36	-14.5
Especie	0.23	0.02	0.80	-17.8
Caja	0.06	0.00	0.06	0.5

Neonatos por individuo – Rotíferos dulceacuícolas DIC= 828.1				
	Media Posterior	Mínima CI 95%	Máxima CI 95%	pMCMC
Efecto principal				
Intercepto	2.23	0.43	4.04	0.0312 **
Temperatura (15°C)	-0.75	-1.25	-0.18	0.0104 *
Salinidad	-1.01	-1.18	-0.83	< 0.005 **
Temperatura (15°C) x Salinidad	0.54	0.36	0.74	< 0.005 **
ΔDIC				
Efectos Aleatorios				
Lago	0.13	0.00	0.15	-0.7
Especie	3.86	0.05	9.29	-4.7
Caja	0.04	0.00	0.15	-0.7

Nota: Los valores que son significativos se indican en negritas. CI (intervalos creíbles), pMCMC, dos veces la probabilidad posterior de que la estima sea positiva o negativa, utilizando la menor de ellas. ΔDIC: DIC del modelo completo menos DIC del modelo más sencillo sin el término aleatorio.

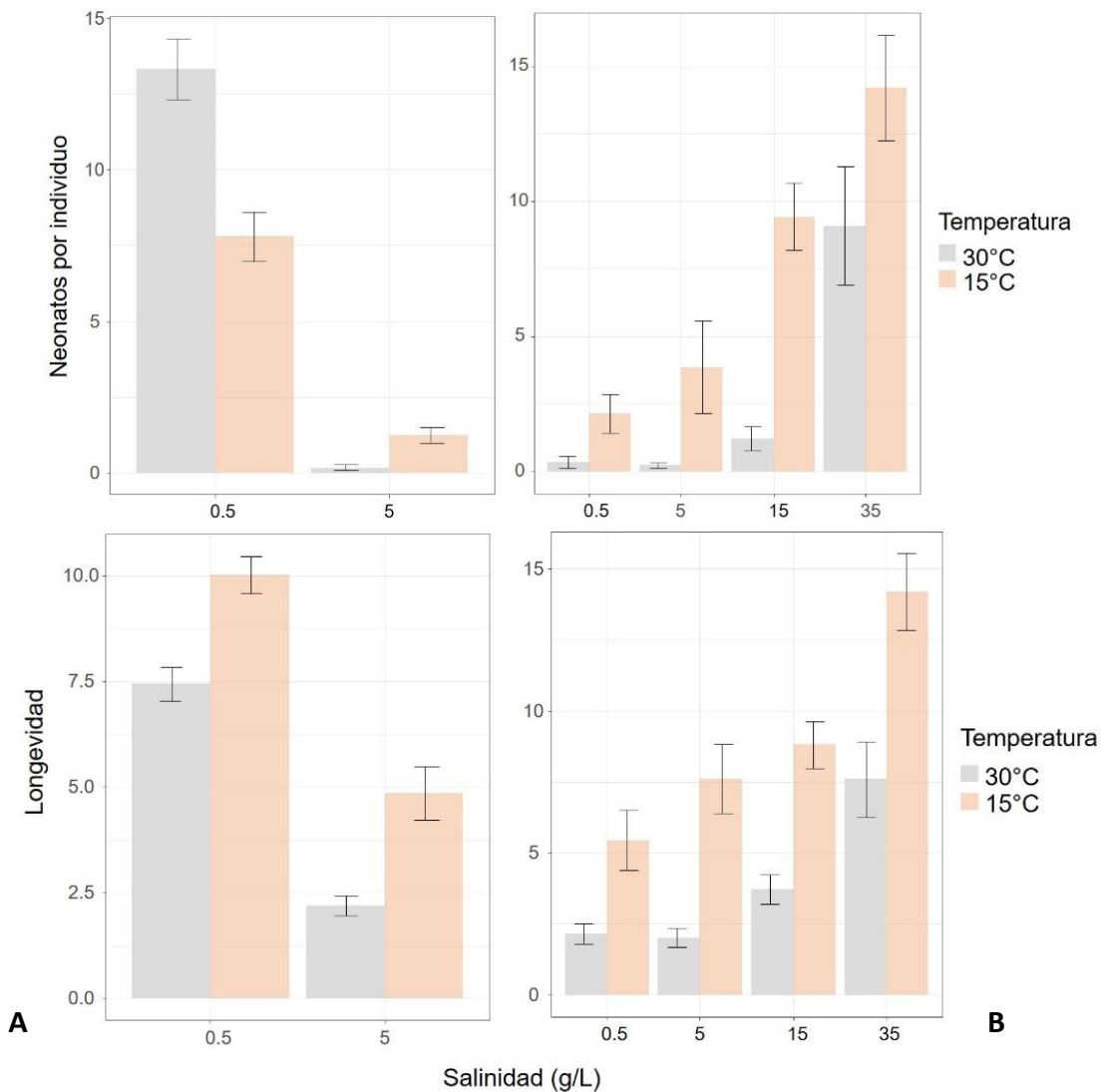


Figura 5.2 Diferencia entre Longevidad y neonatos por individuo, para los ocho tratamientos usados en las tablas de vida de rotíferos. Rotíferos dulceacuícolas (A) e hipersalinos (B). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Cladóceros: Moina salina y Daphnia pulicaria.

Se analizó el efecto que tuvieron la salinidad y la temperatura sobre los rasgos de historia de vida del cladóceros hipersalino (*M. salina*). Los análisis estadísticos mostraron que, para la longevidad y producción de neonatos por individuo, la temperatura y la salinidad fueron variables significativas (Tabla 5.5). El AIC del modelo lineal para longevidad y neonatos por

individuo fue más bajo que el del modelo cuadrático (AIC=264.7 y AIC= 273.3, respectivamente). Los resultados mostraron que el cladóceros hipersalino tiene una preferencia por temperatura de 15°C y salinidades altas (≥ 5 g/L) (Figura 5.3). De hecho, a temperatura de 15°C se obtuvo la mayor producción de neonatos por individuo en salinidades de 5 a 35 g/L, y solo en salinidad de 35 g/L, pero a temperatura de 30°C se obtuvo una mínima producción de neonatos (Figura 5.3.). Por otro lado, la longevidad es favorecida por una temperatura de 15°C, pero va disminuyendo conforme la salinidad disminuye teniendo así la menor longevidad a temperatura de 30°C y a una salinidad de 0.5 g/L (Figura 5.3). “Caja” se asumió como un factor no significativo, ya que que no se pudieron comparar modelos debido a solo tener como factor aleatorio el factor “Caja”. Para el cladóceros dulceacuícola (*Daphnia pulicaria*) no se pudo obtener ninguna información estadística sobre el efecto de la salinidad y la temperatura para los rasgos de historia de vida (ver métodos), pero los datos obtenidos para el único organismo estudiado se muestran en la Figura 5.3.

Tabla 5.6. Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la temperatura, salinidad sobre la longevidad y la producción de neonatos por individuo en cladóceros hipersalinos.

	Longevidad – AIC= 256.6			Neonatos por individuo – AIC= 264.9		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	43.24	1	4.8e⁻¹¹ ***	0.03	1	0.849
Salinidad	7.45	1	0.006 **	9.07	1	0.002 **
Temperatura	31.62	1	1.8e⁻⁰⁸ ***	20.13	1	0.000007 ***

Nota: El mejor modelo obtenido para la longevidad fue con el AIC (147.3) y para lo producción de neonatos por individuo fue con un AIC (205.9). Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia ($P < 0.05$) se reportan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

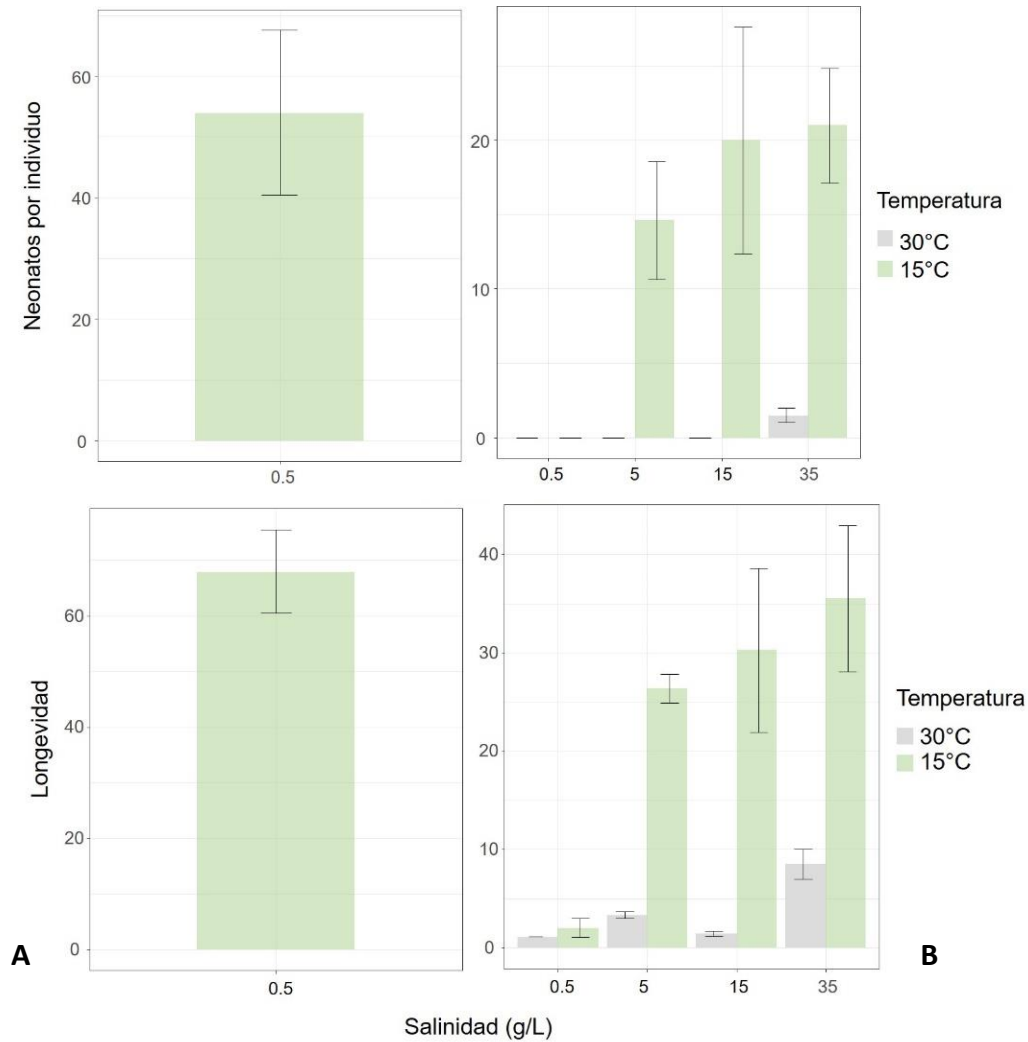


Figura 5.3 Diferencia entre la Longevidad y neonatos por individuo, para los ocho tratamientos usados en las tablas de vida de cladóceros. Cladócero *Daphnia* sp. (A) y *M. salina* (B). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Variaciones intraespecíficas sobre la temperatura y la salinidad

Se compararon las respuestas intraespecíficas de los rasgos de historia de dos especies de rotífero (*B. quadridentatus* A y *L. bulla*). Los análisis estadísticos mostraron que, para la longevidad, en el caso de las tres poblaciones estudiadas de *B. quadridentatus* A, la temperatura, la población y la interacción entre la temperatura y la salinidad fueron significativas (Tabla 5.7), mientras que, para la producción de neonatos por individuo, la

salinidad, la temperatura, y la interacción entre la temperatura y salinidad fueron variables significativas (Tabla 5.7). La interacción población y la salinidad ha salido marginalmente significativa para la longevidad (Tabla 5.7) y se decidió mantenerla en el modelo final. Según esa interacción, a 5 g/l se reduce la longevidad de todas las poblaciones, pero de forma más apreciable en Aneas (Figura 5.4).

Tabla 5.7. Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la temperatura, salinidad, y diferente población de *B. quadridentatus* en la longevidad y la producción de neonatos por individuo.

	Longevidad – AIC= 507.6			Neonatos por individuo – AIC= 500.9		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	334	1	< 2.2e-16 ***	1065.19	1	< 2.2e-16 ***
Salinidad	0.86	1	0.35	56.08	1	6.9 e-14 ***
Temperatura	6.25	1	0.01 *	75.62	1	< 2.2e-16 ***
Población	15.84	2	0.0003 ***	1.97	2	0.371
Temperatura x Salinidad	7.94	1	0.0048 **	23.29	1	1.3e-16 ***
Salinidad x Población	5.72	2	0.05	-	-	-

Nota: El mejor modelo obtenido para la longevidad fue con el AIC (507.6) y para lo producción de neonatos por individuo fue con un AIC (500.9). La relación con la tasa de eclosión con el lago, temperatura, y tratamiento es lineal. Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia ($P < 0.05$) se reportan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

Los análisis de post hoc para contrastar las diferentes poblaciones, mostraron que la población de Aneas tiene menor longevidad respecto a la de El Taraje y El Trébol y que no hay variaciones sobre la producción de neonatos por individuo entre las tres poblaciones (Tabla 5.8). Por otro lado, los análisis de interacción mostraron que, tanto para la longevidad como para la producción de neonatos por individuo la salinidad tiene efecto significativo en ambas temperaturas, si bien la respuesta a la salinidad es más intensa a 30 °C (Tabla 5.8).

Tabla 5.8 Análisis Post hoc para comparar el contraste de pares de la longevidad, y la producción de neonatos por individuo de las tres poblaciones del rotífero *B. quadridentatus* A, y la interacción entre la temperatura respecto a la salinidad.

Longevidad – AIC= 507.6				
Contraste de pares	Estimado	Error estándar	Valor Z	P
El Trébol - El Taraje	0.04	0.08	0.54	0.847
Aneas – El Taraje	-0.31	0.09	-3.32	0.002 **
Aneas –El Trébol	-0.35	0.09	-3.73	< 0.001 ***
Interacción Temperatura x Salinidad	Valor	Df	Chisq	P
Temperatura (30°C)	-0.28	1	67.21	4.8e⁻¹⁶ ***
Temperatura (15°C)	-0.16	1	56.70	5.0e⁻¹⁴ ***

Neonatos por individuo – AIC= 500.9				
Contraste de pares	Estimado	Error estándar	Valor Z	P
El Trébol - El Taraje	0.06	0.08	0.77	0.717
Aneas – El Taraje	0.12	0.08	1.40	0.339
Aneas –El Trébol	0.05	0.08	0.66	0.787
Interacción Temperatura x Salinidad	Valor	Df	Chisq	P
Temperatura (30°C)	-1.17	1	56.08	6.9e⁻¹⁴ ***
Temperatura (15°C)	-0.39	1	122.06	< 2.2e⁻¹⁶ ***

Nota: La relación de la temperatura y salinidad con la longevidad y la producción de neonatos por individuo fue lineal. Los valores con significancia se representan en negritas. Chisq (Chi-cuadrada); Df (grados de libertad).

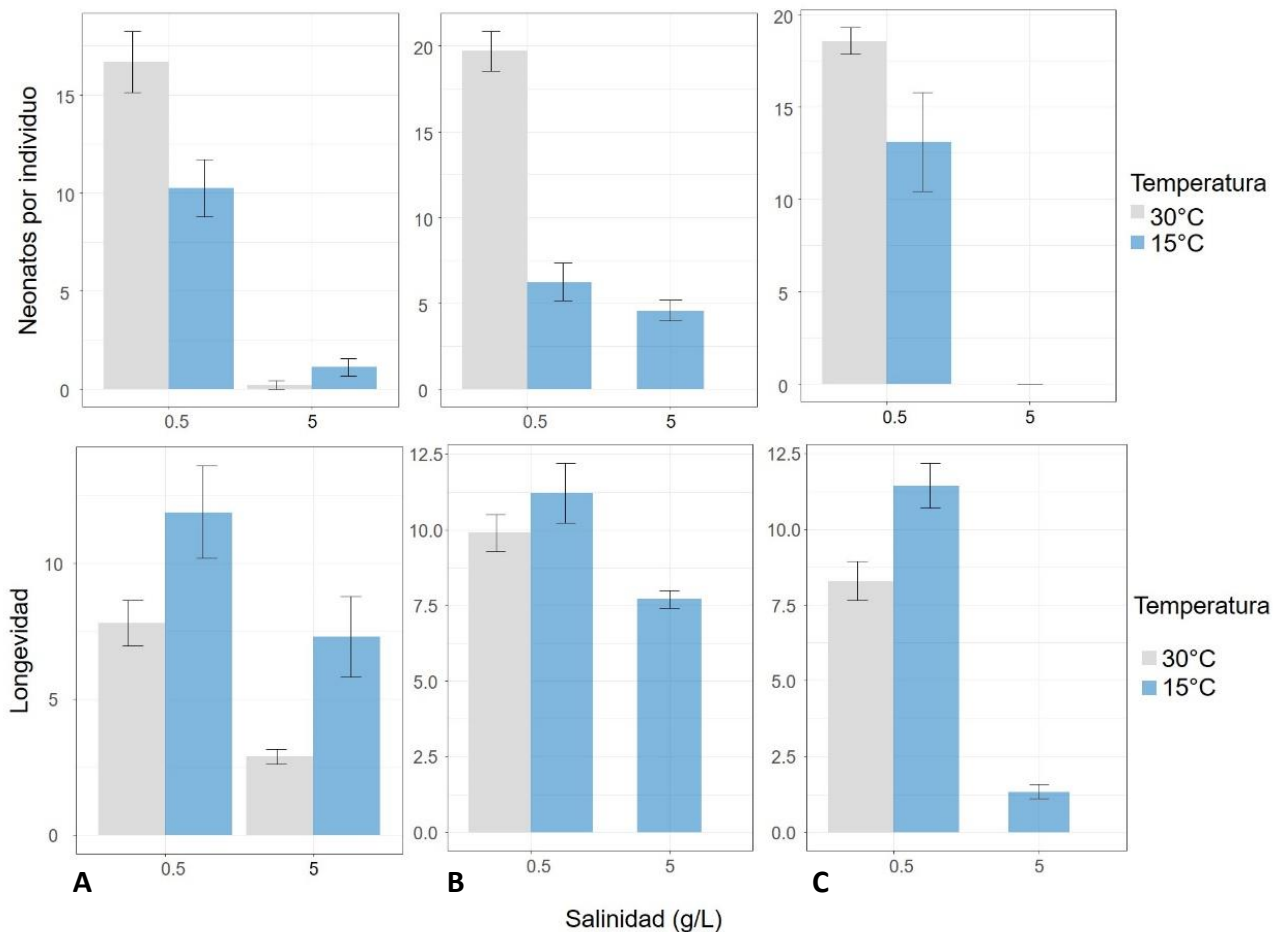


Figura 5.4 Diferencia de la Longevidad y Neonatos por individuo, para tres poblaciones de *B. quadridentatus* (El Taraje (A), El Trébol (B), y Aneas (C)). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Por otro lado, los análisis estadísticos realizados para *L. bulla*, mostraron que, para la variable longevidad, la salinidad, la interacción entre la temperatura y salinidad, la interacción entre la temperatura y la población, y la interacción entre la temperatura, salinidad, y población fueron variables significativas (Tabla 5.9), mientras que para la producción de neonatos por individuo, la temperatura, la salinidad, la población, e interacción entre la temperatura y la salinidad fueron variables significativas (Tabla 5.9).

Tabla 5.9 Modelos Mixtos (glmer) para evaluar el efecto de la temperatura, salinidad, y diferente población de *L. bulla* en la longevidad y la producción de neonatos por individuo.

	Longevidad – AIC= 260.6			Neonatos por individuo – AIC= 446.7		
	Chisq	Df	P	Chisq	Df	P
Intercepto	290.42	1	< 2.2e ⁻¹⁶ ***	250.85	1	< 2.2e-16 ***
Salinidad	14.55	1	0.0001 ***	28.71	1	0.00000008 ***
Temperatura	0.26	1	0.604	11.59	1	0.0006 ***
Población	0.60	1	0.437	5.86	1	0.015 *
Temperatura x Salinidad	10.8	1	0.001 **	6.20	1	0.012 *
Temperatura x Población	4.82	1	0.028 *	0.00	1	0.998
Salinidad x Población	0.00	1	0.935	0.00	1	0.999
Temperatura x Salinidad x Población	8.02	1	0.0046 **	-	-	-

Nota: El mejor modelo obtenido para la longevidad fue con el AIC (260.6) y para lo producción de neonatos por individuo fue con un AIC (446.7). La relación con la longevidad y los neonatos por individuo respecto a la salinidad es lineal. Los resultados se muestran mediante la función ANOVA del paquete “car” de R (Fox & Weisberg 2011). Los valores de significancia ($P < 0.05$) se reportan en negritas. Chisq (Chi- cuadrada); Df (grados de libertad).

Los análisis post-hoc para las interacciones con la longevidad mostraron que los individuos de la población de El Trébol responden de forma negativa con la temperatura mientras que para los de Aneas la temperatura no tuvo efecto (Tabla 5.10 y Figura 5.5). También se observó que el efecto negativo de la salinidad fue más intenso a 15 °C que a 30 °C, si bien en el Trébol la salinidad no tuvo efecto a 15 °C (Tabla 5.9 y Figura 5.5). En el caso de la producción de huevos por individuo, se observó que el efecto de la salinidad sobre la producción de neonatos es más intenso a 30 °C que a 15 °C de temperatura (Tabla 5.10. y Figura 5.5).

Tabla 5.10 Análisis Post hoc para comparar el contraste de pares de la longevidad, y la producción de neonatos por individuo de dos poblaciones del rotífero *L. bulla*, y la interacción entre la temperatura respecto a la salinidad.

Longevidad – AIC= 260.6				
Interacción Población x Temperatura	Valor	Df	Chisq	P
El Trébol	0.60	1	15.52	0.0001 ***
Aneas	1.06	1	0.03	0.846
Interacción Temperatura x Población				
Temperatura (30°C)	1.16	1	0.35	0.551
Temperatura (15°C)	2.03	1	9.35	0.004 **
Interacción Temperatura x Salinidad				
Temperatura (30°C)	-0.18	1	6.66	0.009 **
Temperatura (15°C)	-0.26	1	15.90	0.00013 ***
Neonatos por individuo – AIC= 446.7				
Interacción Temperatura x Salinidad	Valor	Df	Chisq	P
Temperatura (30°C)	-0.54	1	28.71	0.0000001 ***
Temperatura (15°C)	-0.25	1	17.36	0.00003 ***

Nota: La relación de la temperatura y salinidad con la longevidad y la producción de neonatos por individuo fue lineal. Los valores con significancia se representan en negritas. Chisq (Chi-cuadrada); Df (grados de libertad).

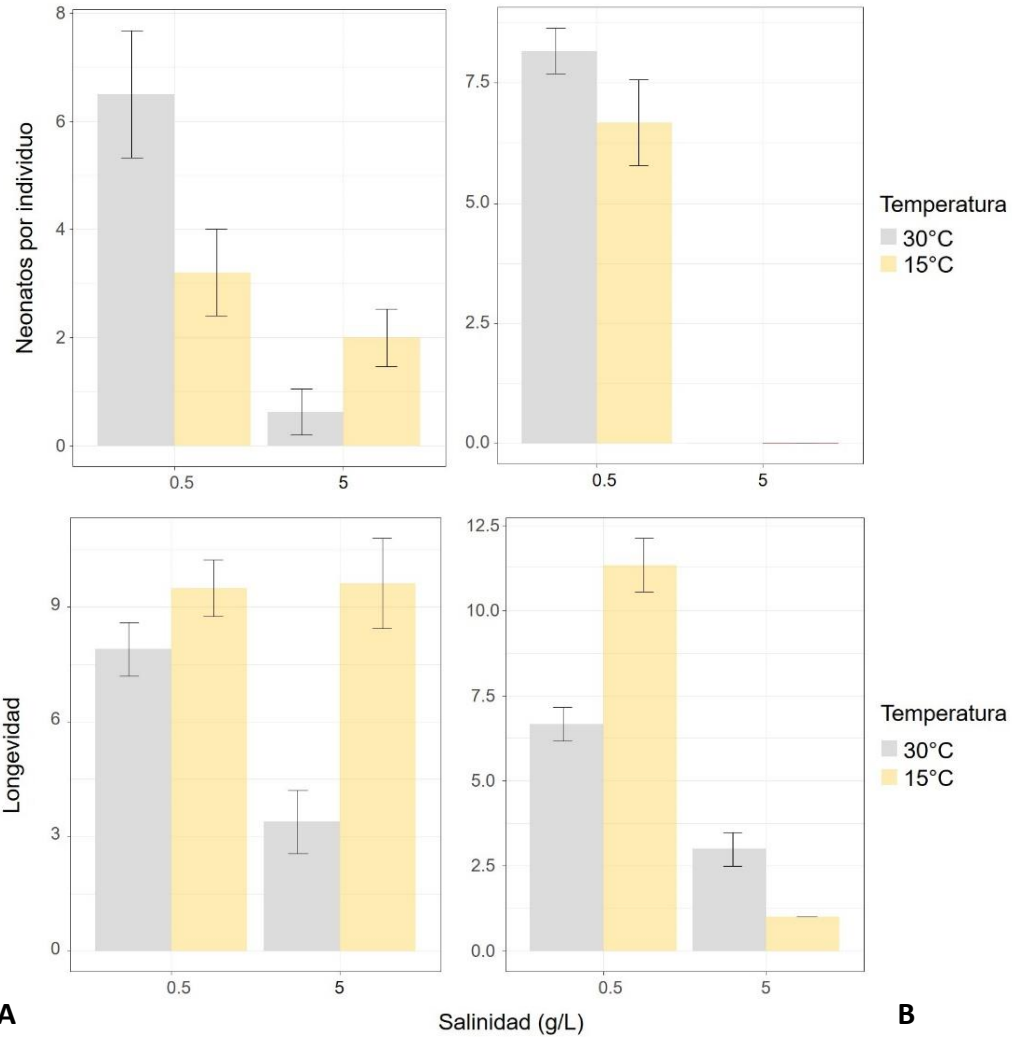


Figura 5.5 Diferencia de la Longevidad y Neonatos por individuo, para dos poblaciones de *L. bulla* (EL Trébol (A) y Aneas (B)). Las barras de error representan el Error Típico (ET).

Discusión

Este trabajo muestra por vez primera un estudio experimental analizando conjuntamente el efecto de la temperatura y la salinidad, dos factores relacionados con el cambio global, sobre los principales rasgos de historia de varias especies de rotíferos y cladóceros. El análisis se ha centrado en la historia de vida de organismos bajo las mismas condiciones experimentales en que eclosionaron para conocer si, más allá de su capacidad de eclosión,

podrían llegar a colonizar exitosamente las lagunas bajo esas mismas condiciones. Además, se analiza de forma separada, cual es la respuesta de especies dulceacuícolas respecto a las hipersalinas de los rotíferos y los cladóceros, pudiendo así focalizar la vulnerabilidad de las especies tomando en cuenta su origen y su variabilidad intraespecífica entre varias poblaciones.

Análisis Global

Usualmente, el efecto de la temperatura y salinidad se ha estudiado de forma independiente mediante especies individuales de rotíferos y cladóceros. Por ejemplo, en el caso de los rotíferos, Yin & Zhao (2008) analizaron el efecto de la salinidad, temperatura y la concentración de comida para *B. plicatilis s.s.*, Bosque et al. (2000), midieron las mismas variables, pero con *Synchaeta littoralis*. En cladóceros, El-Gamal et al. (2014), estudiaron el efecto de la temperatura y salinidad en *Daphnia longispina* y Gonçalves et al. (2007) analizaron el efecto de la temperatura en *Daphnia magna* y *Daphnia longispina*. Sin embargo, en todos estos trabajos, los organismos de las especies utilizadas procedían de cultivos de laboratorio y por lo tanto las respuestas de estos organismos a distintas salinidades y temperaturas es más difícilmente extrapolable, contrariamente a nuestro estudio, donde los organismos utilizados eran hembras descendientes de huevos diapáusicos provenientes de los sedimentos de los diferentes cuerpos de agua en estudio y eclosionados bajo las mismas condiciones experimentales que las tablas de vida. En sistemas naturales, se puede asumir que los organismos que tengan que vivir a diferentes niveles de salinidad hayan eclosionado a esa alta salinidad o, al menos, a salinidades cercanas, especialmente en el caso de los rotíferos.

En este estudio, se analizó la respuesta hacia la temperatura y la salinidad en 7 especies entre rotíferos y cladóceros mostrando que el modelo tiene una distribución cuadrática tanto para la longevidad como para la producción de neonatos por individuo. Con respecto a la distribución cuadrática observada en el modelo, se debe al hecho de englobar a especies

de diferentes taxa y además adaptadas a medios dulceacuícolas e hipersalinos, por lo que es congruente observar en los rasgos de vida analizados, valores más altos en los tratamientos más extremos, es decir en 0.5 y 35 g/L que corresponderían, por un lado, a los organismos dulceacuícolas y por el otro a los hipersalinos. Además, los resultados del DIC mostraron que el factor aleatorio “Especie” fue significativo, lo que demuestra que hay una gran variabilidad de respuesta de las diferentes especies frente a cambios en temperatura y salinidad que dificulta hacer generalizaciones e indica la importancia de considerar diferencias específicas e intraespecíficas como posteriormente comentamos.

En este trabajo, para las especies de rotíferos y cladóceros estudiadas, la temperatura mostró tener influencia sobre los dos rasgos de vida estudiados. De acuerdo con Yin & Zhao (2008), la temperatura tiene una gran influencia sobre la longevidad, sus resultados muestran mayor longevidad a 18°C y conforme sube la temperatura, la longevidad de los clones de *B. plicatilis* s.s. disminuye. Por su parte, Miracle & Serra (1989) señalan que incrementos en la temperatura están relacionados con una mayor producción de progenie en menor tiempo. Resultados parecidos han sido observados en este trabajo para el análisis global, en efecto, se obtuvo una disminución de la longevidad a temperaturas altas. Por otro lado, con respecto a la producción de neonatos por individuo, a una salinidad de 0.5 g/L, hubo una mayor producción de neonatos a temperatura alta, mientras que a 35 g/L la producción es igual en ambas temperaturas. Estos resultados tan variables en los dos rasgos de vida, como dicho anteriormente, seguramente se deben al diferente tipo de adaptación de las especies dulceacuícolas e hipersalinas, por lo que se abordaran más adelante en los análisis por taxón y ecosistema.

La salinidad también ha demostrado ser una variable que afecta los rasgos de vida de las especies de rotíferos y cladóceros (Miracle & Serra 1989; Gonçalves et al. 2007; Yin & Zhao 2008; Anitha et al. 2015). De acuerdo con Gonçalves et al. (2007), en los cladóceros *D. longispina* y *D. magna*, un efecto negativo crónico se muestra en las dos especies cuando la salinidad incrementa a 2.2 y 5 g/L, respectivamente. En rotíferos, Anitha et al. (2015)

muestra como en *B. angularis* incrementos de salinidad a partir de 5 g/L empiezan a tener un efecto negativo sobre la tasa de crecimiento y, por lo tanto, de la longevidad y la producción de neonatos. En *Proales* sp., una salinidad de 0.4 g/L disminuye la producción de huevos (Lansing 1942), y en *B. calyciflorus*, una salinidad de 2 g/L empieza a tener efectos negativos en la supervivencia de los organismos, y los efectos se intensifican entre más aumenta la salinidad (Aranovich & Spektorova 1974). De acuerdo con cuanto reportado en los estudios mencionados, en este trabajo los valores más bajos de longevidad y producción de neonatos por individuo en especies dulceacuícolas se observaron en una salinidad de 5 g/L, tanto para rotíferos como para cladóceros.

Por otro lado, para las especies halobiontes, Miracle & Serra (1989) han reportado para la gran mayoría de especies de rotíferos del complejo *B. plicatilis*, un rango óptimo de salinidad entre los 10 y 20 g/L, y Komis (1992) sugiere para las especies salinas un rango óptimo de reproducción en salinidades desde 4 a 35 g/L. Por lo tanto, el rango de tolerancia a la salinidad desde 5 a 35 g/L obtenido en este estudio, seguramente se deben a la presencia de estas especies adaptadas a salinidades altas, lo que también explicaría que los valores más altos en los rasgos de vida estudiados se observaran a una salinidad de 35 g/L, y que fueran disminuyendo conforme decrecía la concentración de salinidad. De hecho, las especies hipersalinas usadas, provienen de la laguna Fuente de Piedra en donde la salinidad del agua generalmente está por encima de los 20 g/L (García et al. 1997).

En este estudio también se analizó la interacción que pudiera existir entre la temperatura y la salinidad en la longevidad y la producción de neonatos por individuo. Por un lado, la interacción entre estas dos variables no influenció la longevidad de los individuos, sin embargo, si afectó la producción de neonatos por individuo. La interacción observada, posiblemente se explique mediante la separación de especies dulceacuícolas e hipersalinas, en donde se ve que los organismos expuestos a 0.5 g/L tuvieron mayor producción a temperatura alta (dulceacuícolas), mientras que los expuestos a salinidad de 35 g/L, tuvieron mayor producción a baja temperatura (hipersalinas).

Análisis por Taxón y Ecosistema acuático

Rotíferos

Para estudiar más en detalle cuál fue el efecto de la temperatura y salinidad sobre la comunidad zooplanctónica, se analizó el efecto por taxón separando los rotíferos y cladóceros dulceacuícolas e hipersalinos.

Las especies hipersalinas usadas en este trabajo mostraron una relación lineal para el decremento de la salinidad para los rasgos de vida analizados. Para otras especies pertenecientes al complejo *B. plicatilis* y la especie marina *Synchaeta littoralis*, Miracle & Serra (1989), Bosque et al. (2001) y Gabaldón et al. (2015) mostraron que, a pesar de ser tolerantes a altas salinidades, estas presentan una mayor longevidad por debajo de los 25 g/L. Por otro lado, Ferrando et al. (2018) demostraron que una salinidad de 12 g/L es desfavorable para el crecimiento de la especie *B. plicatilis* s.s. Los resultados aquí obtenidos, sugieren que las poblaciones de las especies usadas para este trabajo, *B. manjavacas* y *H. fennica*, se han adaptado exitosamente a los aumentos de salinidad (de hasta 35 g/L) y de temperatura, sin embargo, también muestran que, en presencia de salinidades inferiores, la temperatura alta podría llevar a su desaparición temporal, hasta que el cuerpo de agua se evapore y pueda concentrarse la cantidad necesaria de salinidad para estas especies. Seguramente esta adaptación es de tipo local, ya que, en los últimos años, la laguna Fuente de Piedra, ha pasado por fuertes periodos de sequía, por lo que la mayoría del tiempo permanece seca o tiene niveles muy bajos de agua, aumentando drásticamente la concentración de salinidad (García et al. 1997).

Por otro lado, los resultados mostraron que las especies de rotíferos dulceacuícolas están influenciadas por la salinidad, temperatura y la interacción entre estas dos variables, mediante una relación lineal. En efecto, las especies dulceacuícolas mostraron una respuesta negativa a la salinidad, ya que, al incremento de la salinidad a 5 g/L, se observó

una menor longevidad, y una casi nula producción de neonatos. Resultados concordantes fueron observados en *B. angularis*, la especie más tolerante a la salinidad (Aranovich & Spektrorova 1974), por Anitha et al. (2015) en donde esta especie tuvo un efecto negativo en sus valores de tasa de crecimiento, y por tanto de su longevidad y producción de neonatos en una salinidad de 5 g/L a 30°C. También Saucedo-Ríos et al. (2017), reportaron un efecto positivo sobre la longevidad y producción de neonatos de tres especies de *Lecane* (*L. bulla*, *L. cornuta*, y *L. papuana*) al aumentar la temperatura, siendo 25 y 30°C las temperaturas ideales para estas especies. En este estudio, *L. bulla* respondió también de forma positiva a la temperatura, pero solo en El Trébol ya que la población de Aneas no se vio afectada por la temperatura.

Tanto para las especies salinas como para las dulceacuícolas, la salinidad representa una variable que afecta directamente el ciclo vital de las especies. Sin embargo, las especies adaptadas a ecosistemas dulceacuícolas, seguramente son mayormente afectadas debido al excesivo gasto energético que suponen los mecanismos de osmorregulación para las variaciones de salinidad (Aladin 1991; Frey 1993; Jeppesen et al. 1994; Boix et al. 2008; Bruçet et al. 2009). En general, los resultados obtenidos sugieren que las comunidades de rotíferos presentes en los humedales serán las más afectadas por el cambio climático, ya que, este llevará a incrementos drásticos de temperaturas y salinidad (Sala et al. 2000; Fischlin et al. 2007), favoreciendo así las especies hipersalinas.

Cladóceros

En este estudio, solo eclosionó una especie de cladócero dulceacuícola (*Daphnia pulex*) y una especie hipersalina (*Moina salina*). Los resultados obtenidos muestran que las dos especies tuvieron una respuesta negativa a los aumentos de temperatura, que, de acuerdo con cuanto reportado en la literatura, representa uno de los principales factores que influyen el ciclo de vida de muchas especies de cladóceros, debido probablemente al efecto que esta tiene sobre el metabolismo en términos de captación de oxígeno y filtración

e ingestión del alimento (Peters 1987; Gordo et al. 1994). En el caso del cladóceros dulceacuícola *Daphnia pulicaria*, los resultados muestran que los aumentos de la temperatura y la salinidad afectan negativamente la especie. Estos resultados son similares a los obtenidos por Gonçalves et al. (2007), en donde *D. longispina* y *D. magna*, dos cladóceros dulceacuícolas congénéricos, presentaron valores de toxicidad aguda en salinidades alrededor de los 3 y 6 g/L a 20 °C, respectivamente. El-Gamal et al. (2014), en su trabajo sobre el efecto de la salinidad sobre la supervivencia e historia vital de *D. longispina*, también confirma el efecto negativo que la salinidad tiene sobre la especie, sugiriendo que incrementos relativamente pequeños en la salinidad llegan a afectar drásticamente a la especie de cladóceros dulceacuícola. Con respecto a la especie hipersalina *M. salina*, los resultados muestran que con un decremento de la salinidad hasta 0.5 g/L, los individuos morían en menos de 24 horas sin dejar progenie. Resultados negativos con respecto al aumento de temperatura en *M. salina*, ya habían sido demostrados por Gordo et al. (1994), sugiriendo que la temperatura óptima de crecimiento de esta especie es de entre 20 y 25°C en una salinidad de 36 g/L.

En general, solo podemos afirmar que las dos especies de cladóceros que hemos estudiado podrían verse mayormente afectadas por los efectos del cambio global en comparación con las comunidades de rotíferos, aunque serían necesarios más estudios para confirmar. En efecto, como anteriormente comentado, los aumentos de temperatura han mostrado afectar particularmente a las especies de cladóceros bajo estudio. Además, al igual que para los rotíferos, en cladóceros, el excesivo gasto de energía producido por las especies para compensar concentraciones de salinidad no favorables para su supervivencia y desarrollo, causó efectos negativos en su historia vital (Aladin & Potts 1995). Aunque, esto parece ser aún más evidente en los cladóceros, debido a sus limitadas capacidades osmorreguladoras en comparación con los otros grupos de zooplancton (Frey 1993; Tavsanoglu et al. 2015).

Con respecto al tipo de sistemas acuáticos, los resultados obtenidos, sugieren que las comunidades presentes en los humedales no salinos, también serán las más afectadas por

el cambio climático, debido a las variaciones de temperatura y salinidad que suelen presentarse periódicamente en estos ecosistemas. Por otro lado, las comunidades que habitan los ecosistemas hipersalinos estarán más favorecidas debido al menor gasto de energía que deberán producir para enfrentarse a aumentos de salinidad.

Análisis intraespecífico

Finalmente, se observaron distintas respuestas en los rasgos de vida en diferentes poblaciones de dos especies de rotíferos, *B. quadridentatus* A y *L. bulla*. La variabilidad de la respuesta hacia la temperatura y salinidad, de acuerdo con Miracle & Serra (1989), podría estar relacionada con la interacción genotipo x ambiente y/o adaptación local. Las dos especies analizadas son consideradas complejos de especies (Walsh et al. 2009; Moreno et al. 2017), por lo que observar diferencias significativas de tolerancia a la salinidad y temperatura entre poblaciones de estos taxones no es inusual. En efecto, con respecto a *B. quadridentatus*, un estudio molecular realizado por García-Morales & Domínguez-Domínguez (2019) utilizando el gen mitocondrial COI, demostró que la especie presentaba siete diferentes linajes, y en el capítulo 1, también se mostraron diferencias morfológicas entre los huevos de resistencia de esta especie, lo que sustenta la presencia de especies crípticas y quizás podría ser una explicación a las diferentes respuestas de los individuos de *B. quadridentatus* frente a cambios de salinidad y temperatura. Por otro lado, para *L. bulla*, Walsh et al. (2009) mediante el gen COI demostraron la presencia de tres grandes linajes dentro de la especie, sugiriendo que realmente ésta representa un complejo de especies crípticas que incluso pueden vivir en simpatria en los cuerpos de agua, y que la diversidad entre poblaciones está fuertemente relacionada con los parámetros medioambientales. Estos resultados podrían explicar las diferentes respuestas a la salinidad y temperatura encontradas en este trabajo, aunque no se encontraron diferencias morfológicas. Hintz et al. (2018) observaron que *Daphnia* puede adaptarse a tener una mayor tolerancia a la salinidad a cambio de un crecimiento más lento ante la falta de sal. En nuestro caso, a 15°C eso podría ser aplicable para los rotíferos hipersalinos, pero no sería apropiado para *Moina*

salina. En cualquier caso, cambios en las concentraciones de salinidad debido al cambio climático y extracciones de agua podría favorecer la adaptación local y respuestas evolutivas en el zooplancton. En este sentido, los resultados obtenidos en este estudio indican que para *B. quadridentatus* y *L. bulla*, las poblaciones provenientes de El Trébol presentarían mayor adaptabilidad a aumentos de salinidad que la de Aneas. En efecto, los valores de longevidad y producción de neonatos para *B. quadridentatus* mostraron que la población de El Trébol podría soportar una salinidad de 5 g/L a temperatura baja frente a la población de Aneas. Similarmente, en el caso de *L. bulla*, la población de El Trébol parece exhibir una mayor adaptabilidad a la salinidad porque a 15 °C se observó un efecto negativo de la salinidad únicamente en Aneas. Una posible explicación podría ser la presencia de intrusiones de agua salina en diferentes medidas a lo largo del año, que confiere a las poblaciones la posibilidad de adaptarse a los aumentos de salinidad. En efecto, Blanco-Coronas et al. (2020) en un estudio sobre la interacción entre las aguas freáticas y superficiales en los humedales que forman la Charca de Suárez, observó que El Trébol está alimentado exclusivamente por aguas subterráneas, al igual que El Lirio y El Taraje, y que por lo tanto está caracterizado por una mayor salinidad en comparación con lagunas que presentan entradas de aguas mixtas, como Aneas. La presencia durante el año de periodos con mayor concentración, o mayor fluctuación, de salinidad, sobre todo en el sedimento, podría explicar la mayor adaptación a aumentos de salinidad de *B. quadridentatus* y *L. bulla*, provenientes de El Trébol, comparados con las poblaciones encontradas en Aneas. Campillo et al. (2011) ya observaron adaptación local a la salinidad por parte de *B. plicatilis sensu stricto*, pero este es el primer estudio en sugerir esta posible adaptación local de *B. quadridentatus* y *L. bulla*, especies para las que no se han realizado con anterioridad estudios de historia de vida con relación a la salinidad y la temperatura. Futuros estudios son necesarios para comprobar esta posible adaptación local en estas u otras especies de dichas lagunas.

SÍNTESIS Y CONCLUSIONES

Síntesis

En esta tesis se ha puesto de manifiesto que los huevos diapáusicos pueden ser una herramienta eficaz para evaluar algunos efectos del cambio global en sistemas acuáticos. Tradicionalmente, la poca información existente acerca de la morfología de los mismos ha representado un obstáculo para poder utilizarlos en este tipo de estudios. Esta tesis, representa un avance considerable en la utilización de los huevos diapáusicos, ya que, desde el principio, se logran identificar con precisión los diferentes morfotipos de las diferentes especies a estudiar (capítulo 1). Esto es importante, debido a que, todavía hay una discusión dividida sobre si las especies de rotíferos y cladóceros tienden a ser específicas en la morfología de sus huevos diapáusicos (Gilbert & Wurdak 1978), o no (Moreno et al. 2017; Vandekerkhove et al. 2004). En el capítulo 1, se demuestra, mediante un análisis exhaustivo bajo diferentes técnicas de microscopía óptica y electrónica de barrido, que es posible observar claramente las diferencias morfológicas de los huevos diapáusicos, sobre todo de rotíferos, aun en géneros como *Brachionus*, en donde los huevos de resistencia tienden a ser muy similares. No obstante, la divergencia genética de las poblaciones de rotíferos monogonotes, puede ocurrir en ausencia de cambios morfológicos, lo que resulta en complejos de especies crípticas o gemelas (e.g., Moreno et al., 2017). En cambio, los efipios de los cladóceros parecen no tener esa diferenciación tan clara que se presenta en los rotíferos probablemente debido a que la ornamentación de los huevos efipiales toman su ornamentación de su propio exoesqueleto. Sin embargo, en rotíferos, sí se han llegado a observar diferencias marcadas en los morfotipos de una misma especie, como documentamos en este capítulo para *Brachionus angularis* y *Brachionus quadridentatus*. Hasta el momento, debido a la escasa información taxonómica que se conoce sobre las diferentes estructuras de los huevos diapáusicos del zooplancton, este estudio es un avance importante en el entendimiento del campo de la taxonomía que posteriormente podría ayudar a esclarecer los mecanismos evolutivos que expliquen la relación entre la funcionalidad y la estructura de los diversos morfotipos de huevos

diapáusicos en relación con las características del hábitat de los ecosistemas en que se desarrollan las especies.

En el caso particular de los rotíferos, en el capítulo 2 se observó que este grupo taxonómico presentó un mayor número de morfotipos en los bancos de huevos respecto a los cladóceros. Además, en el capítulo 3 se observó que el mayor número de organismos eclosionados de huevos diapáusicos provinieron también de este grupo. Los huevos diapáusicos de rotíferos, parecen estar mejor adaptados a los incrementos de salinidad y temperatura en comparación con los cladóceros. Sin embargo, a los efectos de la desecación (capítulo 4), los rotíferos son más sensibles que los cladóceros, y en este estudio, *Brachionus paranguensis* y *Lecane bulla* fueron las especies de rotíferos con mayor afectación a periodos prolongados de desecación, mientras que el cladóceros *Moina salina* parece necesitar de un periodo de desecación para reactivarse del periodo de dormancia. Una vez eclosionadas las especies de rotíferos y cladóceros desde huevos de resistencia, en el capítulo 5, se demostró que la respuesta de los parámetros de historia de vida de estos organismos no necesariamente será igual a los patrones de eclosión de los huevos diapáusicos de las especies. Además, entre las especies de zooplancton, hay una amplia variedad de respuesta a las variaciones de temperatura y salinidad inter e intraespecífica. Por ejemplo, en rotíferos, las diferentes poblaciones de *B. quadridentatus* y *L. bulla* presentaron respuestas diferentes en la longevidad y producción de progenie a la exposición de temperatura y salinidad. En *B. quadridentatus*, la población procedente del humedal no salino Aneas mostró la longevidad más corta y con una producción de neonatos por individuo nula al aumento de salinidad de 5 g/L a baja temperatura (15°C) y el aumento de temperatura era fatal para la población. En cuanto a *L. bulla*, igualmente la población de Aneas mostró menor capacidad de adaptación al incremento de temperatura y salinidad respecto a la población de El Trébol.

Los rotíferos es un grupo que está representado por 1570 especies (Segers 2008), mientras que los cladóceros solo mantienen 620 especies (Forro et al. 2008), por lo tanto, es lógico

pensar que los rotíferos presenten mayor variedad de huevos diapáusicos, y que toda esta diversidad de especies, tenga más oportunidades de responder a los efectos del cambio global por pura probabilidad numérica respecto a los cladóceros. Además, aparentemente, la fisiología de los cladóceros, parece no lograr tolerar los incrementos de temperatura en comparación con la de los rotíferos. Esto se logra ver desde la baja tasa de eclosión de cladóceros a temperatura de 30°C y en caso de eclosionar, se pone de manifiesto en el capítulo 5, como *M. salina* tiende a desaparecer por el efecto de la alta temperatura.

Otro resultado relevante que aportó esta tesis, es la respuesta de las especies de zooplancton dependiendo del tipo de ecosistema en que se encontraran. Desde el capítulo 2, se puede observar como los humedales no salinos representaron los ecosistemas con mayor riqueza tanto en las comunidades activas como en los bancos de huevos. En este mismo capítulo, se pone de manifiesto, que, para medir la riqueza de las especies de forma certera, es necesario el estudio tanto de las comunidades activas como de los bancos de huevos debido a la gran diversidad que presentan estos ecosistemas y como expuesto antes, a la poca información que se tiene sobre las estructuras de los huevos diapáusicos. En los capítulos 3, 4 y 5, las especies de estos ecosistemas, hasta cierto límite (salinidad de 5 g/L) mostraron tener una mejor respuesta a los incrementos de temperatura y salinidad, así como a los periodos largos de desecación (en temperatura de 15°C). En el capítulo 3, los humedales no salinos representaron el mayor número de eclosiones tanto de rotíferos como de cladóceros y, en el capítulo 4, las especies que lograron eclosionar después de largos periodos de desecación fueron los rotíferos de los humedales no salinos de Charca de Suárez. Finalmente, en el capítulo 5, las especies no salinas estudiadas mostraron la mayor producción de neonatos por individuo a alta temperatura (30°C), en comparación a las especies hipersalinas.

En el caso de los ecosistemas hipersalinos, en el capítulo 2, se demostró que el estudio de la riqueza mediante solo los bancos de huevos, es suficiente, ya que suele haber poca riqueza de especies y en los bancos de huevos suelen representarse especies que en un

momento en concreto no pudieron ser observadas por las variaciones de temperatura y salinidad. También se demostró, que las especies que habitan este tipo de ecosistemas tan hostiles, están bien preparadas para las variaciones de salinidad, pero el incremento de la temperatura llega a ser un factor importante en la tasa de eclosión de las especies (capítulo 3), y en el desarrollo de su ciclo vital (capítulo 5), especialmente en cladóceros. Sin embargo, la desecación parece ser primordial para el cladóceros hipersalino *M. salina*, mientras que para el rotífero *B. paranguensis* si es afectado por un periodo de desecación, pero es la especie que mejor tolera los incrementos de temperatura (capítulo 4).

Por último, las lagunas de alta montaña, fueron los ecosistemas más susceptibles a las variaciones de temperatura, salinidad y desecación, tanto en rotíferos como en cladóceros respecto a los lagos hipersalinos y a los humedales no salinos. En el capítulo 3, se puede observar como muy pocas especies lograron eclosionar (cladóceros: *Alona quadrangularis* y *Alona* sp. y el rotífero *Lecane patella*). Además, estas especies, con excepción de un solo organismo, eclosionaron en salinidad de 0.5 g/L a una temperatura de 15°C, y en los experimentos de desecación (capítulo 4) y de tabla de vida (capítulo 5) ya no se lograron eclosionar individuos. Estos resultados sugieren que las especies de estos ecosistemas, deben tener rangos muy específicos de temperatura y baja salinidad, y por tanto, su grado de resiliencia sería muy bajo, comparado con el resto de los ecosistemas estudiados.

En definitiva, la resiliencia de las especies de zooplancton parece estar definitivamente ligada a las características del hábitat. Las especies van sobrellevando las variaciones climáticas paso a paso, es decir, primeramente, se adecuan a las posibilidades de eclosión, y posteriormente, en una segunda etapa, necesariamente deberán contar con los mecanismos fisiológicos necesarios para enfrentarse a las variaciones que surgirán durante su periodo de vida, de otra manera, las poblaciones no lograrán sobrevivir. Sin embargo, y afortunadamente, las variaciones intraespecíficas demuestran que algunas poblaciones, podrían responder eficientemente a estas variaciones y por tanto mostrar su capacidad de resiliencia para enfrentar exitosamente las condiciones del cambio global.

Conclusiones

Las conclusiones obtenidas en los diferentes estudios realizados para esta tesis son:

1.- El análisis de la ultraestructura morfológica los huevos diapáusicos del zooplancton con microscopía óptica (MO) y electrónica de barrido (MEB) es una herramienta válida para la identificación taxonómica de especies de rotíferos y cladóceros, y es una alternativa rentable a las técnicas moleculares más costosas de secuenciación genética. Mediante el análisis con MO y MEB es posible observar caracteres morfológicos (color, tamaño, ornamentación, espacio extraembrionario) de los huevos de resistencia que permiten identificar una gran variedad de morfotipos de huevos y, posteriormente, relacionarlos con su respectiva especie. Hay alta especificidad de especie en la mayoría de las especies de rotíferos, en cambio, los efiopios de cladóceros sólo pueden ser identificados a nivel de género.

2.- El número de especies presentes en la comunidad activa del zooplancton y en los bancos de huevos del sedimento de sistemas lacustres no siempre coinciden. En general, la riqueza de especies en la columna de agua es mayor que la de los huevos diapáusicos. Esta discordancia puede explicarse sobre todo por tres aspectos principales: la variabilidad inter-específica presente en la comunidad, las características del ecosistema acuático relacionadas con la temporalidad del hábitat, y la dificultad de diferenciar la morfología de los huevos de resistencia en algunos taxones.

3.- En cladóceros, generalmente el número de especies de la columna activa tiende a ser menor que el número de huevos diapáusicos encontrados en los bancos de huevos, sin embargo, para rotíferos, si bien la gran variabilidad que tienen las especies en su capacidad de producir huevos diapáusicos y la poca información acerca de ellas complican el estudio de la riqueza de especies mediante el estudio de los bancos de huevos, se detectó una mayor riqueza de especies de rotíferos en la columna de agua

4.- La conductividad, el área superficial de los lagos, y el pH son las principales variables que explican el tamaño de la reserva de huevos diapáusicos saludables (considerados viables) del zooplancton. Los humedales no salinos, con valores de conductividad intermedios (800-4500 $\mu\text{S}/\text{cm}$) comparados con las lagunas de alta montaña y las hipersalinas, registraron una alta abundancia de huevos de resistencia (hasta 22.03 huevos/g de peso seco). Aunque no se observaron patrones claros que relacionen el área superficial de los sistemas con la abundancia de huevos diapáusicos, una mayor producción de huevos diapáusicos está asociada a los hábitats más pequeños o efímeros. Finalmente, valores de pH extremos (10.4) podrían producir estrés en la comunidad y favorecer la producción de huevos.

5.- El tipo de ecosistema (i.e., humedales no salinos, lagos hipersalinos y lagunas de alta montaña) es la principal variable que explica las diferencias en la riqueza de morfotipos de huevos diapáusicos entre sistemas. Los humedales no salinos representaron el tipo de ecosistema con mayor riqueza de morfotipos de huevos de resistencia en el banco de huevos activo, con hasta 10 morfotipos distintos de rotíferos y 4 de efiptos de cladóceros.

6.- De manera global, los incrementos en la temperatura y la salinidad afectan negativamente al éxito de eclosión de los huevos de resistencia del zooplancton. Además, un aumento en la temperatura induce las eclosiones en un menor tiempo en cualquier tipo de ecosistema. En particular, las especies de rotíferos de los ecosistemas hipersalinos están mejor adaptadas al aumento de temperatura y salinidad, mostrando capacidad para eclosionar en todos los escenarios planteados en este estudio (15 y 30°C, y desde 0.5 hasta 35 g/L de salinidad). En cambio, en los humedales no salinos, las especies de zooplancton mostraron capacidad de adaptarse a variaciones de salinidad dentro de los primeros 5 g/L, aunque sí mostraron una mayor adaptación a la mayor temperatura analizada. Por su parte, la comunidad zooplanctónica de las lagunas de alta montaña resultó ser poco resiliente tanto a los aumentos de salinidad como de temperatura.

7.- Las especies hipersalinas del complejo *Brachionus plicatilis* presentan diferentes respuestas de eclosión (i.e., tasas y momentos de eclosión) a los aumentos de salinidad y temperatura. *B. dimidiatus* y *B. paranguensis* muestran a 15°C una tendencia cuadrática a la salinidad con valores intermedios de salinidad (5-15 g/L) que favorecen la eclosión. No obstante, un aumento de la temperatura favorece el éxito de eclosión de los huevos diapáusicos de estas especies a alta salinidad (35 g/L). En cambio, *B. manjavacas* presenta, en todo el rango de salinidad estudiado, una mayor tasa de eclosión a 15°C, y al aumentar la temperatura, la tasa de eclosión disminuye considerablemente en todas las salinidades. Por lo tanto, frente a un aumento de salinidad y temperatura debido al cambio climático, *B. paranguensis* y *B. dimidiatus* representen especies mucho más resilientes comparadas con *B. manjavacas*, que se ve afectada principalmente por aumentos en la temperatura. Con respecto al día de eclosión, en general, la alta temperatura adelanta el momento de eclosión de las tres especies, no obstante, a una salinidad de 35 g/L se observó que la temperatura no tenía efecto sobre el momento de eclosión de *B. paranguensis* y *B. dimidiatus*.

8.- La respuesta de eclosión varía también entre diferentes morfotipos de las especies de rotíferos de agua dulce *Brachionus angularis* y *Brachionus quadridentatus*. Para *B. angularis*, el aumento de la salinidad redujo significativamente el éxito de eclosión de los huevos diapáusicos de ambos morfotipos. En cambio, ante un aumento de la temperatura de 15 a 30°C, la tasa de eclosión de un morfotipo (*B. angularis* A) fue mayor que la del otro morfotipo (*B. angularis* B). Para *B. quadridentatus*, en general, independientemente de la temperatura y del morfotipo, la tasa de eclosión resultó mayor a las menores salinidades ensayadas, y el morfotipo A presentó una mayor tasa de eclosión que el morfotipo B. Las diferencias en la eclosión de los huevos de resistencia de los dos morfotipos de *B. angularis* y *B. quadridentatus* demuestran plasticidad intraespecífica en la respuesta a las variaciones del medio ambiente, aumentando así la probabilidad de sobrevivencia de las dos especies.

9.- La desecación del sedimento afecta considerablemente a la tasa de eclosión de los huevos diapáusicos del zooplancton y la resiliencia de las diferentes especies a la desecación es distinta. Así pues, en su conjunto, los rotíferos mostraron menor resiliencia a la desecación del sedimento que los cladóceros. Especialmente, las dos especies de rotíferos *B. paranguensis* y *Lecane bulla*, se ven seriamente afectadas por la desecación de sus huevos de resistencia, hasta el punto que no podrían volver a colonizar la columna de agua a partir de la eclosión desde el banco de huevos del sedimento después del llenado de las lagunas. En cambio, los efipios del cladóceros *Moina salina* aislados de la laguna temporal estacional de Fuente de Piedra parecen no eclosionar sino es después de haber experimentado un periodo de desecación.

10.- La exposición de los huevos de resistencia a una temperatura extrema de 40°C tiene un efecto muy adverso sobre la resiliencia del zooplancton. De todas las especies estudiadas, la única especie que puede colonizar la columna de agua después de alcanzar esta temperatura es el rotífero *B. paranguensis* probablemente porque está adaptada a vivir en un hábitat con condiciones extremas tanto de salinidad (hasta 30 g/L) como de temperatura (hasta 30°C).

11.- Las especies de zooplancton de las lagunas de alta montaña de Sierra Nevada podrían ser las más afectadas debido al cambio climático, tanto por el incremento de la salinidad del agua como por la posible desecación de las lagunas. Por otro lado, los dos humedales no salinos, El Taraje y El Trébol, fueron los lagos que presentaron el mayor número de eclosiones tras el periodo de desecación. Por lo tanto, estos dos humedales no salinos, presentan una mayor resiliencia frente a posibles cambios del régimen hídrico, ya que su comunidad zooplanctónica podría volver a colonizar estos cuerpos de agua tras un periodo de sequía.

12.- Bajo un escenario de cambio global, hay una resiliencia diferencial al incremento de temperatura y salinidad entre las distintas especies y dentro de cada especie de

zooplancton. Esta variabilidad dificulta hacer generalizaciones sobre el papel del banco de huevos diapáusicos en la resiliencia de las comunidades acuáticas a los efectos esperables del cambio climático. El peor escenario que puede producirse ante la salinización futura de los humedales y lagunas, y el incremento de temperatura, al menos para las especies de rotíferos estudiadas en esta tesis, es el aumento de la salinidad hasta 5 g/L dada la reducción de la longevidad y la producción de descendientes viables de las especies de rotíferos de agua dulce a estos niveles de salinidad.

13.- Los análisis por taxón muestran que, en general, los rotíferos son un grupo más resiliente respecto a los cambios de temperatura y salinidad que los cladóceros.

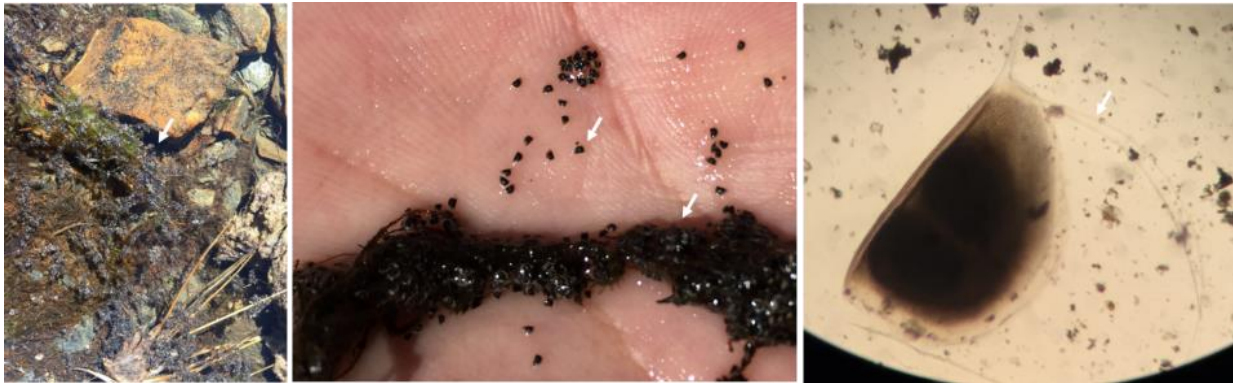
14.- Las diferencias observadas en rasgos ecológicamente relevantes (i.e., longevidad y producción de descendientes) entre poblaciones de las especies de los rotíferos *B. quadridentatus* y *L. bulla* en experimentos bajo las mismas combinaciones de temperatura y salinidad, sugieren la existencia de diferenciación ecológica dentro del complejo de especies crípticas de estas especies, hasta ahora no determinada. Esta diferenciación sugiere, además, diferencias genéticas entre las poblaciones, un requisito esencial para facilitar la adaptación local a los cambios ambientales.

15.- Las especies hipersalinas de zooplancton son más resilientes a los incrementos de salinidad, aunque las especies hipersalinas de rotíferos presentes en este estudio demostraron mayor adaptación a aumentos de temperatura que el cladóceros *M. salina*. En efecto, esta especie, presentó un drástico decremento en la longevidad y producción de neonatos por individuo frente a incrementos de temperatura a 30°C.

Apendices

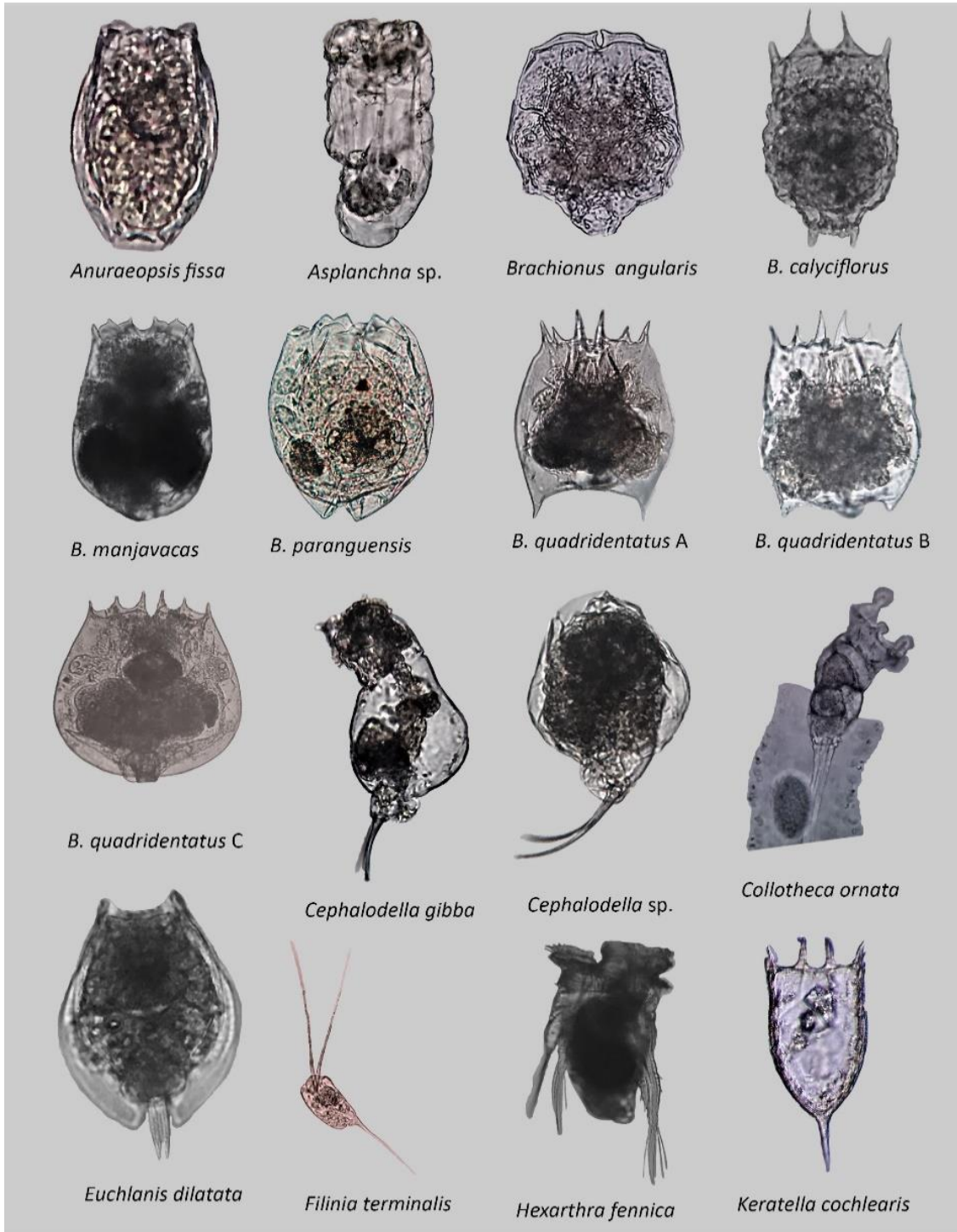
Capítulo 1

Apéndice 1. Fotografías de los efipios de *D. pulicaria* en la laguna de Río Seco extraídos de la columna de agua.



Capítulo 2.

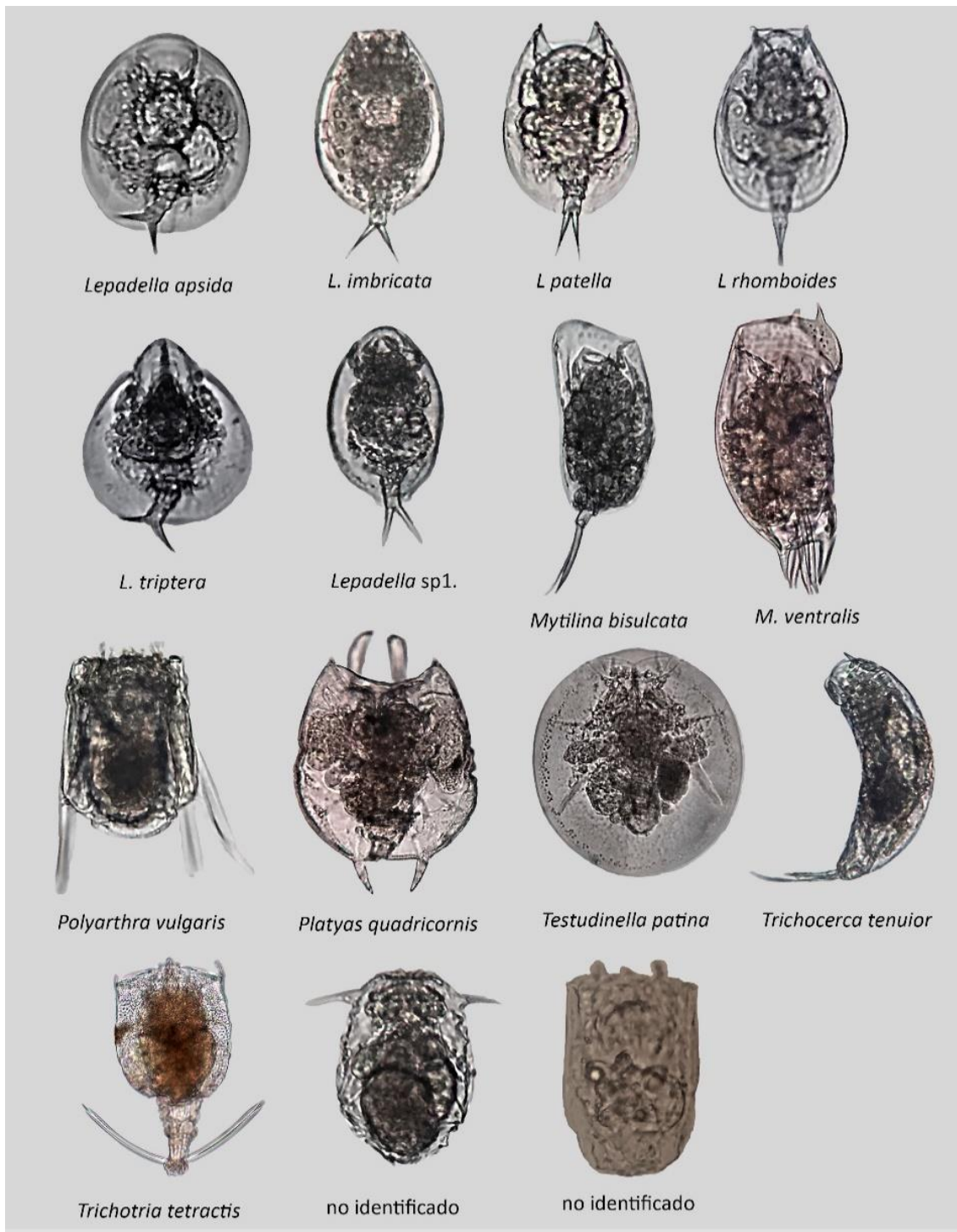
Apéndice 2.1. Especies de rotíferos encontrados en la columna de agua de los once cuerpos de agua estudiados.



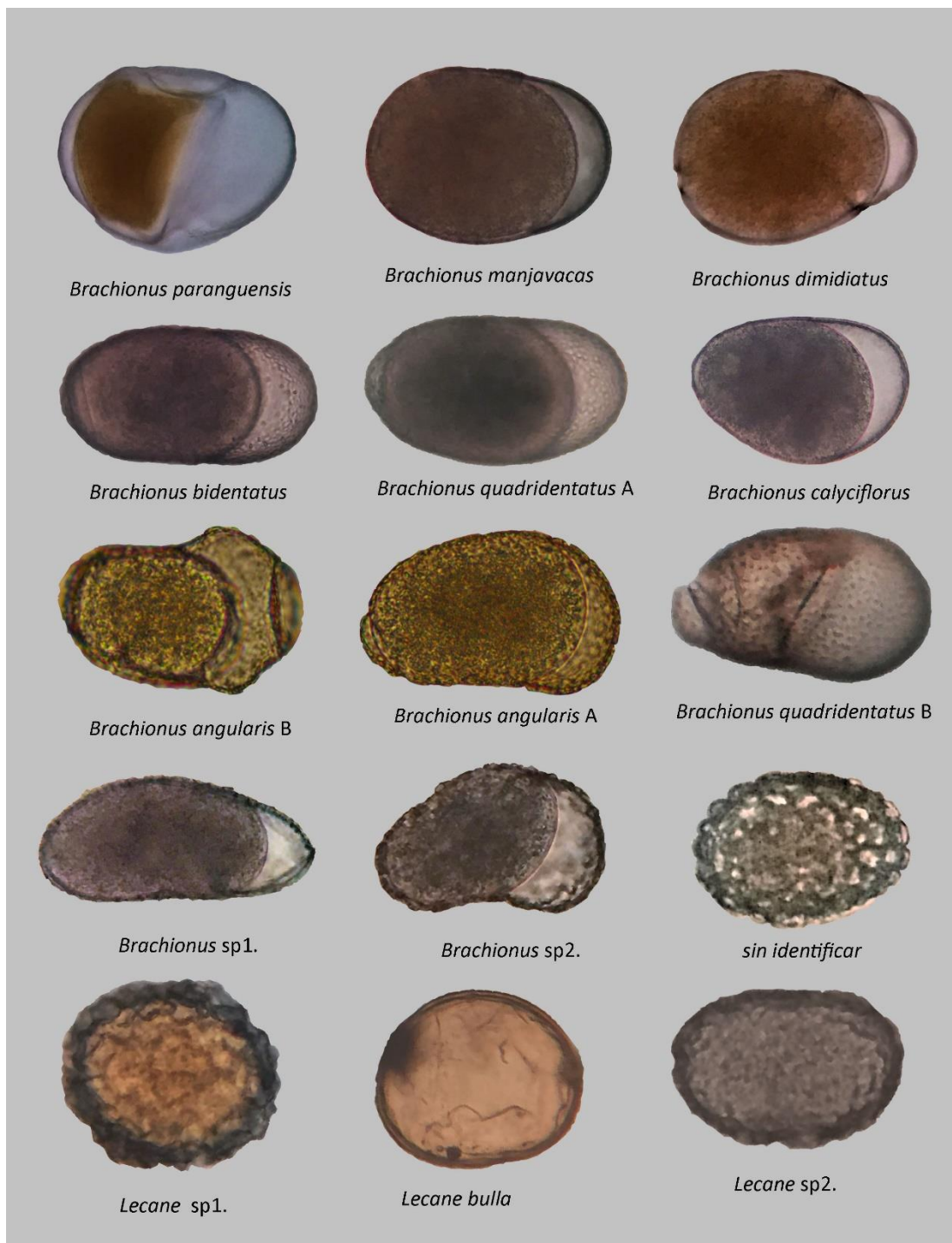
Apéndice 2.1. continuación



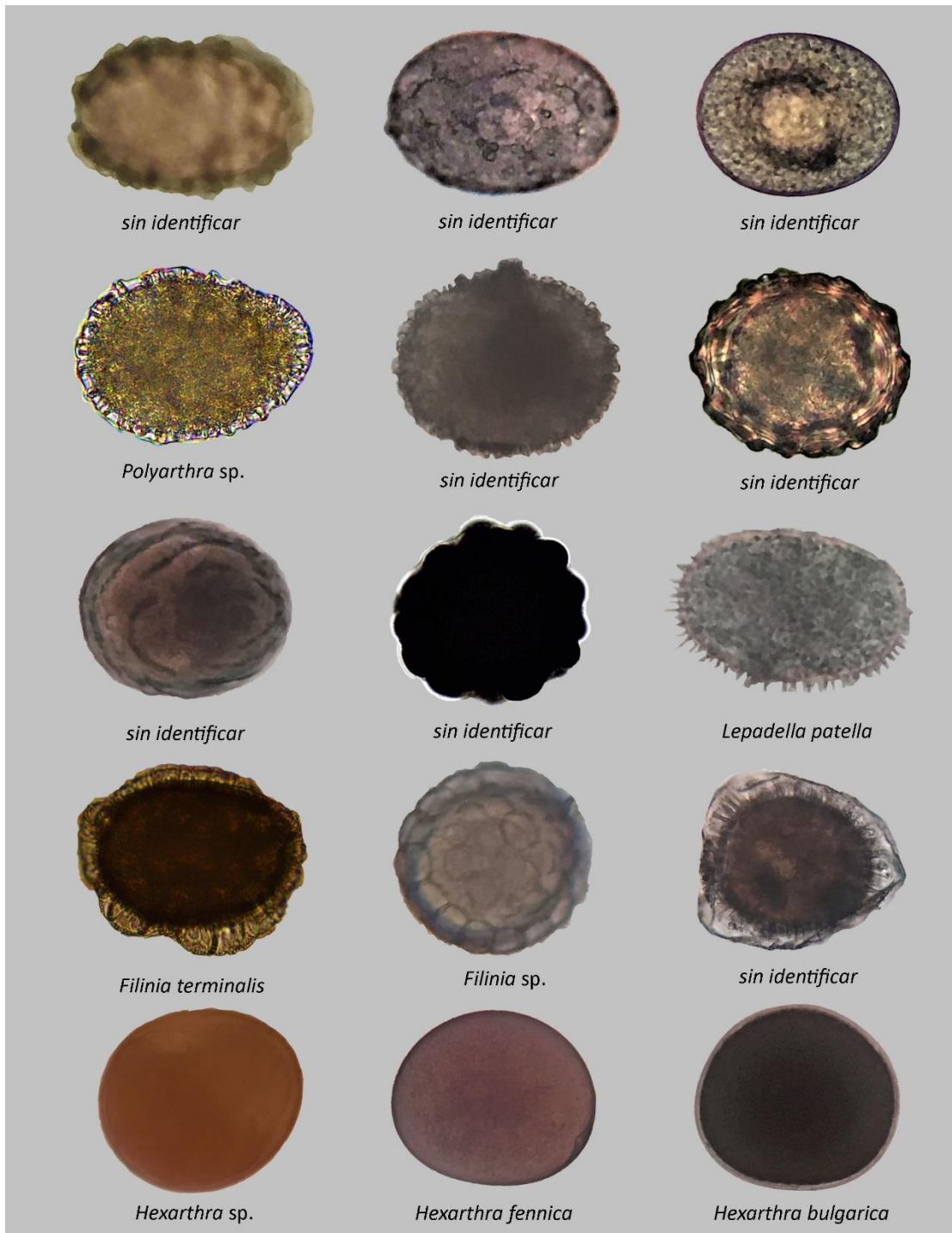
Apéndice 2.1. continuación



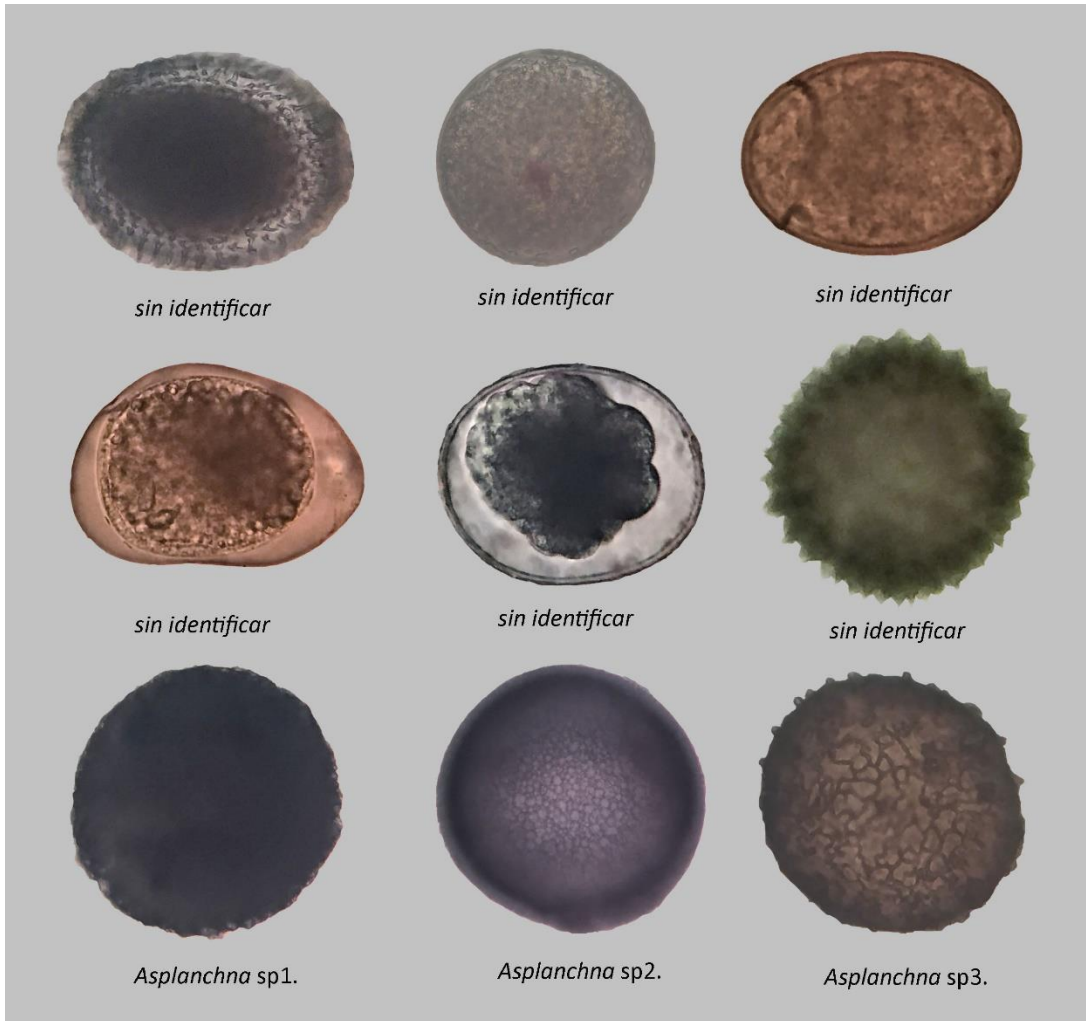
Apéndice 2.2. Morfotipos de huevos diapásicos de rotíferos encontrados en el sedimento de los once cuerpos de agua estudiados.



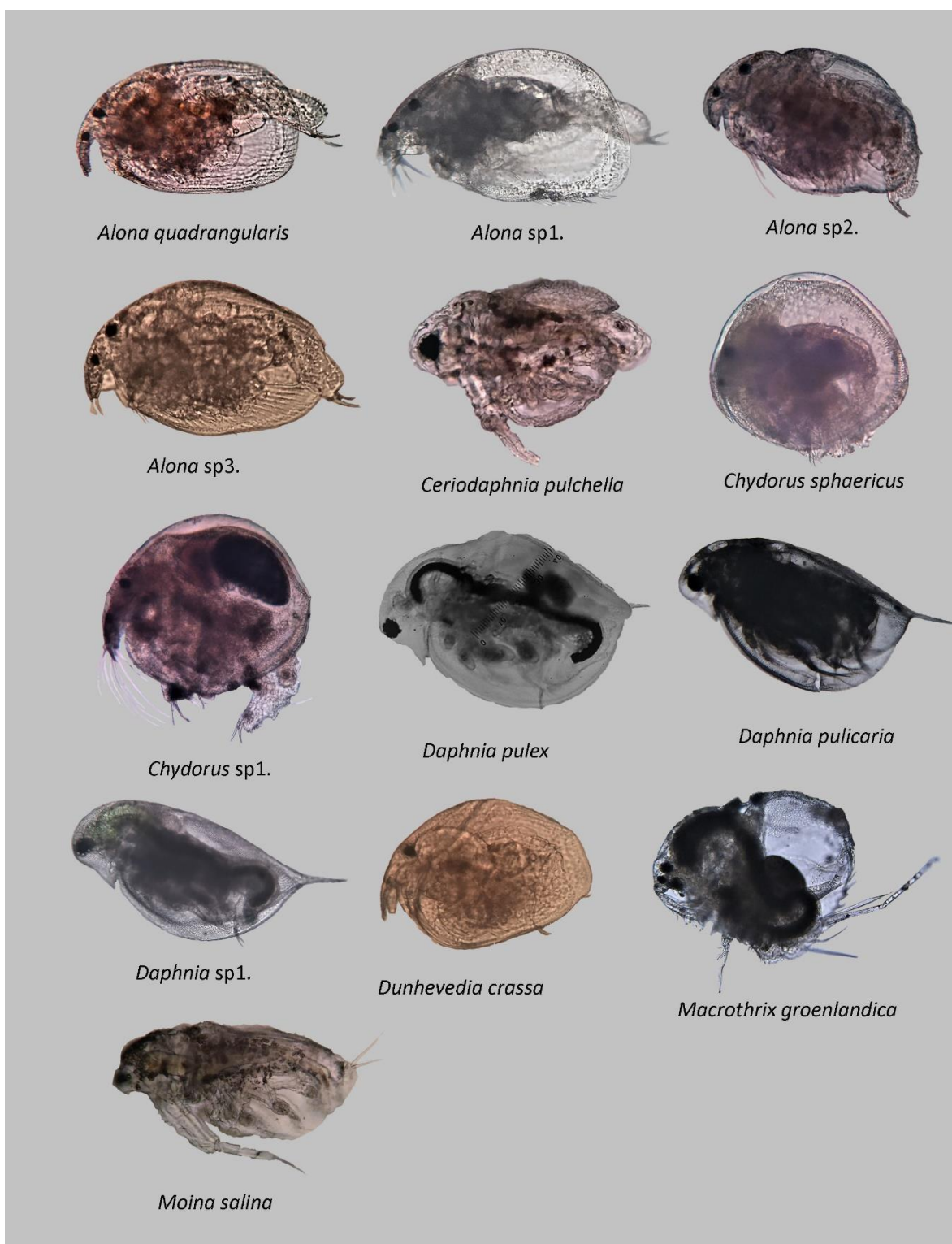
Apéndice 2.2. continuación



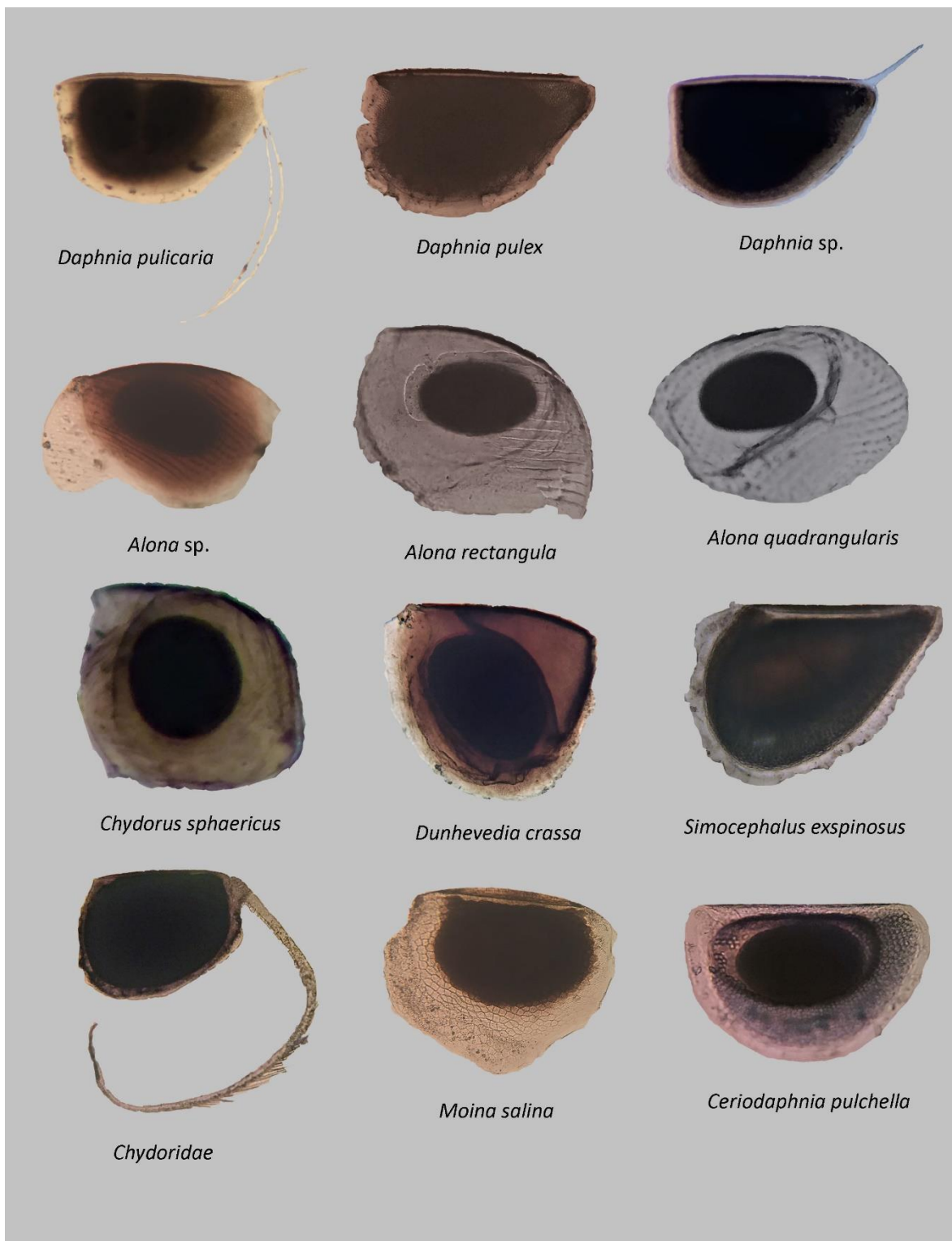
Apéndice 2.2. continuación



Apéndice 2.3. Especies de cladóceros encontrados en la columna de agua de los once cuerpos de agua estudiados.



Apéndice 2.4. Morfotipos de huevos diapáusicos de cladóceros encontrados en el sedimento de los once cuerpos de agua estudiados.



BIBLIOGRAFÍA

- Aladin N.V. 1991. Salinity tolerance and morphology of the osmoregulation organs in Cladocera with special reference to Cladocera from the Aral Sea. *Hydrobiologia*, 291–299.
- Aladin N.V. & Potts W.T.W. 1995. Osmoregulatory capacity of the Cladocera. *Journal of Comparative Physiology B*, 164: 671-683.
- Alcántara-Rodríguez J.A., Ciroso-Pérez J., Ortega-Mayagoitia E., Serranía-Soto C.R. & Piedra-Ibarra E. 2012. Local adaptation in populations of a *Brachionus* group *plicatilis* cryptic species inhabiting three deep crater lakes in Central Mexico. *Freshwater Biology*, 57: 728–740.
- Alonso M. 1996. Fauna Ibérica. Vol. 7. Crustacea. Branchiopoda. Museo Nacional de Ciencias Naturales. 486.
- American Public Health Association (APHA). 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. American Public Health Association, Washington, USA.
- Anitha P.S., Sabu A.S. & George R.M. 2015. Effects of salinity, temperature, feed type and feed concentration on the reproductive rate of *Brachionus angularis*. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 3:10-17.
- Anton-Pardo M. & Armengol X. 2012. Effects of salinity and water temporality on zooplankton community in coastal Mediterranean ponds. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 114: 93–99.

Aranda-Gómez J.J., Levresse G., Pacheco-Martínez J., Ramos-Leal J.A., Carrasco-Nuñez G., Chacón-Baca E., González-Naranjo G., Chávez-Cabello G., Vega-González M., Origel G. & Noyola-Medrano C. 2013. Active sinking at the bottom of the Rincón de Parangueo Maar (Guanajuato, México) and its probable relation with subsidence faults at Salamanca and Celaya. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 65: 169-188.

Aránguiz-Acuña A., Pérez-Portilla P., De la Fuente A. & Fontaneto D. 2018. Life-history strategies in zooplankton promote coexistence of competitors in extreme environments with high metal content. *Scientific Reports*, 8: 1–10.

Aranovich T.M. & Spektorova L.V. 1974. Survival and fecundity of *Brachionus calyciflorus* in water of different salinities. *Hydrobiologia*, 10:71-74.

Armienta M.A., Vilaclara G., De la Cruz-Reyna S., Ramos S., Ceniceros N., Cruz O., Aguayo A., & Arcega-Cabrera F. 2008. Water chemistry of lakes related to active and inactive Mexican volcanoes. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 178: 249–258.

Arnott S.E., Magnuson J.J. & Yan N.D. 1998. Crustacean zooplankton species richness: single- and multiple- year estimates. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 55: 1573-1582.

Arnott S.E., Yan N.D., Magnuson J.J. & Frost T.M. 1999. Interannual variability and species turnover of crustacean zooplankton in shield lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 56: 162-172.

- Arnott S.E., Yan N., Keller W. & Nicholls K. 2001. The influence of drought induced acidification on the recovery of plankton in Swan Lake (Canada). *Ecological Applications*, 11: 747–763.
- Arnott S.E., & Yan N.D. 2002. The influence of drought and re-acidification on zooplankton emergence from resting stages. *Ecological Applications*, 12: 138–153.
- Bailey S.A., Duggan I.C., Van Overdijk C.D.A., Johengen T.H., Reid D.F. & Macisaac H.J. 2004. Salinity tolerance of diapausing eggs of freshwater zooplankton. *Freshwater Biology*, 49: 286–295.
- Bailey S.A., Nandakumar K. & MacIsaac H. J. 2006. Does saltwater flushing reduce viability of diapausing eggs in ship ballast sediment? *Diversity and Distributions*, 12: 328–335.
- Balompapueng M.D., Hagiwara A., Nozaki Y. & Hirayama K. 1997. Preservation of resting eggs of the euryhaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Møller by canning. *Hydrobiologia*, 358: 163–166.
- Baptista L.R.M., Lorscheitter M.L. & Scherer C. 2012. Floristic composition of a Subtropical bog, Eastern Plateau from southern Brazil. *Check List*, 8:224–236.
- Ban S. 1992. Seasonal distribution, abundance and viability of diapause eggs of Eurytemora affinis (Copepoda: Calanoida) in the sediment of Lake Ohnuma, Hokkaido. *Bulletin of the Plankton Society of Japan*, 39: 41-48.
- Barnett A.G., Koper N., Dobson A.J., Schmiegelow F. & Manseau M. 2010. Using information criteria to select the correct variance–covariance structure for longitudinal data in ecology. *Methods in Ecology*, 1: 15–24.

Barton K. 2012. MuMIn: multi-model inference: Rpackage.

See: <http://cran.r-project.org/web/packages/MuMIn/index.html>.

Batanero G.L., León-Palmero E., Li L., Green A.J., Rendón-Martos M., Suttle C.A. & Reche I. 2017. Flamingos and drought as drivers of nutrients and microbial dynamics in a saline lake. *Scientific Reports* 7: 12173.

Bates D., Machler M., Bolker B. M. & Walker S. C. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67: 1–48.

Battauz Y.S., de Paggi S.B.J. & Paggi J.C. 2014. Passive zooplankton community in dry littoral sediment: Reservoir of diversity and potential source of dispersal in a subtropical floodplain lake of the Middle Paraná River (Santa Fé, Argentina). *International Review of Hydrobiology*, 99: 277–286.

Battarbee R.W., Kernan M. & Rose N. 2009. Threatened and stressed mountain lakes of Europe: Assessment and progress. *Aquatic Ecosystem Health Management*, 12: 118–128.

Beauchamp P.M. de. 1952. Un facteur de la variabilité chez les rotifères du genre *Brachionus*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 234: 573-575.

Beauchamp P.M. de. 1965. Classe des Rotifères. *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie*, 3: 1225–1379.

Beers J.R. 1981. Determinación de la biomasa del zooplancton. En: Boltovskoy D. (ed). Atlas del zooplancton del Atlántico Sudoccidental y métodos de trabajo con el zooplancton marino. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, INIDEP, Mar del Plata. 133-141 pp.

- Berzins B. & Pejler B. 1987. Rotifer occurrence in relation to pH. *Hydrobiologia*, 147: 107-116.
- Birky C.W., Wolf C., Maughan H., Herbertson L. & Henry E. 2005. Speciation and selection without Sex. *Hydrobiologia*, 546: 29–45.
- Blanco-Coronas A.M., López-chicano M., Calvache M.L., Benavente J. & Duque C. 2020. Surface Water Interactions in “ La Charca de Suárez ” Wetlands , Spain. *Water*, 318: 1–18.
- Bodelón O., Bernués M., Baltanás Á. & Montes C. 1994. Conductividad y salinidad en los ecosistemas acuáticos del Parque Nacional de Doñana (SO, España). *Limnetica*, 10: 27-31.
- Bogoslovsky A.S. 1963. Materials to the study of the resting eggs of rotifers. Communication I. B.julleten Moscovskogo obscestva ispytatelej prirody. *Otdel Biologiceskij*, 68: 50-67.
- Bogoslovsky A.S. 1967. Materials to the study of the resting eggs of rotifers. Communication 2. B.julleten Moscovskogo obscestva ispytatelej prirody. *Otdel Biologiceskij*, 72:46–67. (in Russian with English summary).
- Boix D., Gascón S., Sala J., Badosa A., Brucet S., López-Flores R., Martinoy M., Gifre J. & Quintana X. 2008. Patterns of composition and species richness of crustaceans and aquatic insects along environmental gradients in Mediterranean water bodies. *Hydrobiologia*, 597: 53-69.

- Bolker, B. M., M. E. Brooks, C. J. Clark, S. W. Geange, J. R. Poulsen, M. H. H. Stevens, & J. S. White, 2008. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trend Ecology Evolution*, 24: 127–135.
- Bosque T., Hernández R., Pérez R., Todolí R. & Oltra R. 2000. Effects of salinity, temperature and food level on the demographic characteristics of the seawater rotifer *synchaeta littoralis rousselet*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 258: 55–64.
- Branstrator D.K., L.J. Shannon M.E. Brown & Kitson M.T. 2013. Effects of chemical and physical conditions on hatching success of *Bythotrephes longimanus* resting eggs. *Limnology and Oceanography*, 58: 2171–2184.
- Brendonck L., Riddoch B., Van De Weghe V. & Van Dooren T. 1998. The maintenance of egg banks in very short-lived pools – a case study with anostracans (Branchiopoda). *Archiv fur Hydrobiologie, Advances in Limnology*, 52: 141–161.
- Brendonck L. & De Meester L. 2003. Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment. *Hydrobiologia*, 491: 65-84.
- Brock M.A., Nielsen D.L., Shiel R.J., Green J.D. & Langley J.D. 2003. Drought and aquatic community resilience: The role of eggs and seeds in sediments of temporary wetlands. *Freshwater Biology*, 48: 1207–1218.
- Brooks T.M., Mittermeier R.A., da Fonseca G.A.B., Gerlach J., Hoffmann M., Lamoreux J.F., Mittermeier C.G., Pilgrim J.D. & Rodrigues A.S.L. 2006. Global biodiversity conservation priorities. *Science*, 313: 58–61.
- Brucet, S., Boix D., Gascan S., Sala J., Quintana X.D., Badosa A., Søndergaard M., Lauridsen T.L. & Jeppesen E. 2009. Species richness of crustacean zooplankton and trophic

structure of brackish lagoons in contrasting climate zones: north temperate Denmark and Mediterranean Catalonia (Spain). *Ecography*, 32: 692–702.

Brucet S., Boix D., Quintana X.D., Jensen E., Nathansen L.W., Trochine C., Meerhoff M., Gascó S. & Jeppesen E. 2010. Factors influencing zooplankton size structure at contrasting temperatures in coastal shallow lakes: Implications for effects of climate change. *Limnology and Oceanography*, 55: 1697–1711.

Burnham K.P & Anderson D.R. 2002. Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretical approach. 2ed. (Springer-Verlag).

Cáceres C.E. 1997. Temporal variation, dormancy, and coexistence: A field test of the storage effect. *Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America*, 94: 9171–9175.

Cáceres C.E. 1998: Interspecific variation in the abundance, production, and emergence of *Daphnia* diapausing eggs. *Ecology*, 79: 1699–1710.

Cáceres C.E. & Hairston N.G. Jr. 1998. Benthic-pelagic coupling in planktonic crustaceans: the role of the benthos. In: Brendonck L., de Meester L., Hairston N.G. Jr. (Eds.), Evolutionary and ecological aspects of crustacean diapause. *Archive of Hydrobiology Beih. Ergebn. Limnology*, 52: 163–174.

Cáceres C.E. & Tessier A.J. 2004. Incidence of diapause varies among populations of *Daphnia pulex*. *Oecologia*, 49: 1333–1340.

Campillo S., Garcia-Roger E.M., Carmona M.J. & Serra M. 2011. Local adaptation in rotifer populations. *Evolutionary Ecology*, 25: 933–947.

- Cano-Cruz M. & Carrasco-Núñez G. 2008. Evolución de un cráter de explosión (maar) riolítico: Hoya de estrada, campo volcánico valle de Santiago, Guanajuato, México [Evolution of a rhyolitic explosion crater (maar): Hoya de Estrada, Valle de Santiago volcanic field, Guanajuato, Mexico]. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 25:549–564.
- Carvalho G.R. & Wolf H.G. 1989. Resting eggs of lake Daphnia. I. Distribution, abundance and hatching off eggs collected from various depths in lake sediments. *Freshwater Biology*, 22: 459–470.
- Cerca M., Carreón-Freyre D., Aranda-Gómez J.J. & Rocha-Treviño L. 2014. GPR profiles for characterizing subsidence deformation in lake sediments within a maar crater. *Proceedings of the 2014, 15Th International Conference on Ground Penetrating Radar*: 274–278.
- Chan E.M., Derry A.M., Watson L.A. & Arnott S.E. 2008. Variation in calanoid copepod resting egg abundance among lakes with different acidification histories. *Hydrobiologia*, 614: 275–284.
- Chapin F.S., Zavaleta E.S., Eviner V.T., Naylor R.L., Vitousek P.M., Reynolds H.L., Hooper D.U., Lavorel S., Sala O.E., Hobbie S.E., Mack M.C. & Diaz S. 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405:234– 242.
- Chesson P.L. 1983. Coexistence of competitors in a stochastic environment: the storage effect. *Lecture Notes in Biomathematics*, 54: 188-198.
- Chittapun S., Pholpunthin P. & Segers H. 2005. Restoration of tropical peat swamp rotifer communities after perturbation: An experimental study of recovery of rotifers from the resting egg bank. *Hydrobiologia*, 546: 281–289.

- Choudhuri G.N. 1968. Effects of soil salinity on germination and survival of some steppe plants in Washington. *Ecology*, 49: 465–471.
- Ciros-Pérez J., Gómez A. & Serra M. 2001. On the taxonomy of three sympatric sibling species of the *Brachionus plicatilis* (Rotifera) complex from Spain, with the description of *B. ibericus* n. sp. *Journal of Plankton Research*, 23: 1311–1328.
- Colbourne J.K. & Hebert P.D.N. 1996. The systematics of North American *Daphnia* (Crustacea: Anomopoda), a molecular phylogenetic approach. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 8: 349-360.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Instituto del Medio Ambiente del Estado de Aguascalientes (IMAE) & Gobierno del Estado de Aguascalientes. 2007. Guía de Aves de la presa “El Cedazo”. CIPAMEX. México. 30-100 pp.
- Conde-Porcuna J.M., Pérez-Martínez C. & Moreno E. 2018. Variations in the hatching response of rotifers to salinity and waterbird ingestion. *Journal of Plankton Research*, 40: 326–341.
- Connell J.H. & Sousa W.P. 1983. On the evidence needed to judge ecological stability or persistence. *American Naturalist*, 121: 789–824.
- Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible, 2020. Metodología y ejes principales para el Pacto Andaluz por el Agua. Junta de Andalucía.
- Consejería de Medio Ambiente. 2004. Plande Medio Ambiente de Andalucía 2004-2010. Junta de Andalucía.

- Consejería de Medio Ambiente. 2015. Prácticas de Empresas en Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, Junta de Andalucía
- Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid, 2007.
- Crispim M.C. & Watanabe T. 2001. What can dry reservoir sediments in a semi-arid region in Brazil tell us about Cladocera? *Hydrobiologia*, 442:101-105.
- Curtis H. & Barnes N.S. 2000. Biología. 6a. ed. Madrid: Ed. *Médica Panamericana*; 1007pp.
- Datry T., VanderVorste R., Goitia E., Moya N., Campero M., Rodriguez F. & Oberdorff T. 2017. Context-dependent resistance of freshwater invertebrate communities to drying. *Ecology and Evolution*, 7: 3201–3211.
- Declerck S.A.J., Malo A.R., Diehl S., Waasdorp D., Lemmen K.D., Proios K. & Papakostas S. 2015. Rapid adaptation of herbivore consumers to nutrient limitation: eco-evolutionary feedbacks to population demography and resource control. *Ecology Letters*, 18: 553–562.
- De Meester L. & De Jager H. 1993. Hatching of *Daphnia* sexual eggs. I. Intraspecific differences in the hatching responses of *D. magna* eggs. *Freshwater Biology*, 30: 219–226.
- De Meester L., Dawidowicz P., Van Gool E. & Loose C.J. 1999. Ecology and evolution of predator-induced behavior of zooplankton: depth selection behavior and diel vertical migration. In: Tollrian, R. & C. D. Harvell (eds). The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

De Paggi S. J. 1989. Rottlferos de algunas provincias del Noroeste argentino. *Revista hidrobiología tropical* 22: 223-238.

De Rosario-Martinez H. 2015a. Phia: post-hoc interaction analysis. R package version 0.2–1. <https://cran.r-project.org/web/packages/phia/index.html>

De Rosario-Martinez H. 2015b. Analysing interactions of fitted models. <http://cran.r-project.org/web/packages/phia/vignettes/phia.pdf>

De Stasio B.T. 1989. The seed bank of a freshwater crustacean: copepodology for the plant ecologist. *Ecology*, 70: 1377–1389.

Dodson S.I. & Frey D.G. 2001. Cladocera and other Branchiopoda. In: Thorp J. H., Covich A. P. (eds), *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, Academic Press, Amsterdam, 849-913.

Dodson S.I., Lillie R. A. & Will-Wolf S. 2005. Land use, water chemistry, aquatic vegetation, and zooplankton community structure of shallow lakes. *Ecological Applications*, 15: 1191–1198.

Donald D.B. 1983. Erratic occurrence of anostracans in a temporary pond: colonization and extinction or adaptation to variations in annual weather? *Canadian Journal of Zoology*, 61: 1492–1498.

Downing A.L. & Leibold M.A. 2002. Ecosystem consequences of species richness and composition in pond food webs. *Nature*, 416: 837–841.

- Duarte C.M., Alonso S., Benito G., Dachs J., Montes C. & Pardo M. 2006. "Cambio global: impacto de la actividad humana sobre el sistema tierra," in *Colección Divulgación, CSIC* (Madrid), 187.
- Duggan I.C., Green J.D. & Shiel R.J. 2002. Rotifer egg densities in lakes of different trophic state, and their assessment using emergence and egg counts. *Archiv für Hydrobiologie*, 153:409-420.
- Dumont H.J. 1994. On the diversity of the cladocera in the tropics. *Hydrobiologia*, 272: 27–38.
- Egborge A.B.M. 1994. Salinity and the distribution of rotifers in the Lagos Harbour - Badagry Creek system, Nigeria. *Hydrobiologia*, 272: 95–104.
- El-Gamal M.M., Mona M.H., Abdel R.F., Salim H.K. & Nour Eldeen M.F. 2014. Salinity and temperature effect on survival and life history of freshwater cladoceran *Daphnia longispina* inhabiting Egyptian water. *Journal of Scientific Issues, Research and Essays*, 2: 365-374.
- Ellner S. & Hairston N.G. Jr. 1994. Role of overlapping generations in maintaining genetic variation in a fluctuating environment. *The American Naturalist*, 143: 403–417.
- Ferrando N.S., Claps M.C., Benítez H.H. & Gabellone N.A. 2018. Influence of temperature and conductivity on the life-history characteristics of a pampean strain of *Brachionus plicatilis*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90: 1431–1444.
- Fielder D.S., Purser G.J. & Battaglene S.C. 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 189: 85–99.

Fischlin A., Midgley G.F., Price J.T., Leemans R., Gopal B., Turley C., Rounsevell M.D.A., Dube O.P., Tarazona J. & Velichko A.A. 2007. Ecosystems, their properties, goods, and services. In: Parry M.L., Canziani O.F., Palutikof J.P., van der Linden P.J., Hanson C.E. (Eds.), *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, 212-272 pp.

Fisher R.M., Cornwallis C.K. & West S.A. 2013. Group formation, relatedness, and the evolution of multicellularity. *Current Biology*, 23: 1120–1125.

Fontaneto D., De Smet W.H. & Ricci C. 2006. Rotifers in saltwater environments, re-evaluation of an inconspicuous taxon. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86: 623–656.

Fontaneto D., Kaya M., Herniou E.A. & Barraclough T.G. 2009. Extreme levels of hidden diversity in microscopic animals (Rotifera) revealed by DNA taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53: 182–189.

Forró L., Korovchinsky N.M., Kotov A.A. & Petrusek A. 2008. Global diversity of cladocerans (Cladocera; Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 177-184.

Fox J. & Weisberg S. 2011. *An {R} Companion to Applied Regression*, 2nd edn. SAGE Publications, Thousand Oaks, California.

Frey, D.G. 1993. The penetration of cladocerans into saline waters. *Hydrobiologia*, 233–248.

- Frisch D., Arechederra A. & Green A.J. 2009. Recolonisation potential of zooplankton propagule banks in natural and agriculturally modified section of a semiarid temporary stream (Doñana, Southwest Spain). *Hydrobiologia*, 624: 115–123.
- Fryer G. 1996. Diapause, a potent force in the evolution of freshwater crustaceans. *Hydrobiologia*, 320: 1–14.
- Gabaldón C., Carmona M.J., Montero-Pau J. & Serra M. 2015. Long-term competitive dynamics of two cryptic rotifer species: Diapause and fluctuating conditions. *PLoS ONE*, 10: 1–13.
- Gabaldón C., Fontaneto D., Carmona M.J., Montero-Pau J. & Serra M. 2017. Ecological differentiation in cryptic rotifer species: what we can learn from the *Brachionus plicatilis* complex. *Hydrobiologia*, 796: 7–18.
- Galkovskaya G.A. 1983. On temperature acclimation in an experimental population of *Brachionus calyciflorus*. *Hydrobiologia*, 104: 225-227.
- García C.M. & Niell F.X. 1993. Seasonal change in a saline temporary lake (Fuente de Piedra, southern Spain). *Hydrobiologia*, 267: 211–223.
- García C.M., García-Ruiz R., Rendon M., Niell F.X. & Lucerna J. 1997. Hydrological cycle and interannual variability of the aquatic community in a temporary saline lake (Fuente de Piedra, southern Spain). *Hydrobiologia*, 345: 131–141.
- García-Morales A.E. & Elías-Gutiérrez M. 2013. DNA barcoding of freshwater Rotifera in Mexico: Evidence of cryptic speciation in common rotifers. *Molecular Ecology Resources*, 13: 1097–1107.

- García-Morales A.E. & Domínguez-Domínguez O. 2019. Cryptic molecular diversity in the morphologically variable rotiferan *Brachionus quadridentatus* (Rotifera: Monogononta). *Revista de Biología Tropical*, 67: 1114-1130.
- García-Roger E.M., Carmona M.J., & Serra M. 2005. Deterioration patterns in diapausing egg banks of *Brachionus* (Müller, 1786) rotifer species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 314: 149–161.
- García-Roger E.M. 2006. Análisis demográfico de bancos de huevos diapáusicos de rotíferos. Dissertation, Universitat de Valencia.
- García-Roger E.M., Armengol-Díaz X., Carmona M. J. & Serra M. 2008. Assessing rotifer diapausing egg bank diversity and abundance in brackish temporary environments: An ex situ sediment incubation approach. *Fundamental and Applied Limnology*, 173: 79–88.
- García-Roger E.M., Serra M. & Carmona M.J. 2014. Bet-hedging in diapausing egg hatching of temporary rotifer populations - A review of models and new insights. *International Review of Hydrobiology*, 99: 96–106.
- Geddes M.C. 1976. Seasonal fauna of some ephemeral saline waters in Western Victoria with particular reference to *Parartemia zietziana* Sayce (Crustacea: Anostraca). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 27: 1–22.
- Gilbert J.J. 1974. Dormancy in Rotifers. *Transactions of the American Microscopical Society*, 93: 490-513.

- Gilbert J.J. 1980. Some effects of diet on the biology of the rotifers *Asplanchna* and *Brachionus*. In D.C. Smith & Y Tiffon (eds), Nutrition in the lower Metazoa. Pergamon, Oxford & New York: 57-71.
- Gilbert J.J. & Wurdak E.S. 1978. Species-specific morphology of resting eggs in the Rotifer *Asplanchna*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 97: 330-339.
- Gilbert J.D., De Vicente I., Ortega F., Jiménez-Melero R., Parra G. & Guerrero F. 2015. A comprehensive evaluation of the crustacean assemblages in southern Iberian Mediterranean wetlands. *Journal of Limnology*, 74: 169-181.
- Gliwicz Z.M. & Pijanowska J. 1989. The role of predation in zooplankton succession. In Sommer U. (ed.), Plankton Ecology. Springer, Berlin Heidelberg New York: 253–298.
- Golladay S.W. & Hax C.L. 1995. Effects of an engineered flow disturbance on meiofauna in a north Texas prairie stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 14: 404-411.
- Gómez A., Carmona M.J. & Serra M. 1997. Ecological factors affecting gene flow in the *Brachionus plicatilis* complex (Rotifera). *Oecologia*, 111: 350–356.
- Gonçalves A.M.M., Castro B.B., Pardal M.A. & Gonçalves F. 2007. Salinity effects on survival and life history of two freshwater cladocerans (*Daphnia magna* and *Daphnia longispina*). *Annales De Limnologie - International Journal of Limnology*, 43: 13-20.
- Gordo T., Lubian L.M. & Canavate J.P. 1994. Influence of temperature on growth, reproduction and longevity of *Moina salina* Daday, 1888 (Cladocera, Moinidae). *Journal of Plankton Research*, 16: 1513-1523.

- Gotelli N.J. & Colwell R.K. 2011. Estimating species richness. In: *Biological Diversity: Frontiers in Measurement and Assessment*. Magurran, A. E. & B. J. McGill (Eds.). Oxford University Press: EUA.
- Grover J.P. 1999. Water fleas on cycles. *Nature*, 402: 592-593.
- Guerrero-Jiménez G., Vannucchi P.E., Silva-Briano M., Adabache-Ortiz A., Rico-Martínez R., Roberts D., Neilson R. & Elías-Gutierrez M. 2019. *Brachionus paranguensis* sp. nov. (Rotifera, Monogononta), a member of the L group of the *Brachionus plicatilis* complex. *Zookeys*, 23: 1–23.
- Hadfield J.D. 2010. MCMC methods for multi-response Generalised Linear Mixed Models: the MCMCglmm R package. *Journal of Statistical Software*, 33: 1– 22.
- Hairston N.G. Jr. & Van Brunt R.A. 1994. Diapause dynamics of two diaptomid copepod species in a large lake. *Hydrobiologia*, 293: 209–218.
- Hairston, N. G., 1996. Zooplankton egg banks as biotic reservoirs in changing environments. *Limnology and Oceanography* 41: 1087–1092.
- Hairston N.G. Jr., Lampert N.G., Caceres W., Holtmeier C.E., Weider C.L., Gaedke L.J., Fischer U., Fox J.M. & Post J.A. 1999. Rapid evolution revealed by dormant eggs. *Nature*, 401: 446.
- Hairston N.G. Jr., Hansen A.M., Schaffner W. R. 2000. The effect of diapause emergence on the seasonal dynamics of a zooplankton assemblage. *Freshwater Biology*, 45: 133–145.

- Halbach U. 1970. Die Ursachen der Temporalvariation von *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotatoria). *Oecologia*, 4: 262-3 18.
- Hall C.J. & Burns C.W. 2002. Mortality and growth responses of *Daphnia carinata* to increases in temperature and salinity. *Freshwater Biology*, 47: 451–458.
- Hammer U.T. 1993. Zooplankton distribution and abundance in saline lakes of Alberta and Saskatchewan, Canada. *International Journal of Salt Lake Research*, 2: 111–132.
- Hamra G., Maclehorse R. & Richardson D. 2013. Markov Chain Monte Carlo: an introduction for epidemiologists. 627–634.
- Hamza F. & Selmi S. 2018. Diversity of waterbirds wintering in Douz wetlands (south Tunisia): factors affecting wetland occupancy and species richness. *Springer Japan*, 917–925.
- Han, C., Kim H.J., Suga K., Li M., & Hagiwara A. 2018. Comparison of resting egg gene expression with different hatchability related to salinity variation in the marine rotifer *Brachionus manjavacas*. *Fisheries Science*, 84: 663–669.
- Hansen A.M. & Jeppesen E. 1992. Changes in the abundance and composition of cyclopoid copepods following fish manipulation in eutrophic Lake Væng, Denmark. *Freshwater Biology*, 28: 183-193.
- Hebert P.D.N., Penton E.H., Burns J.M., Janzen D.H. & Hallwachs W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 41: 14812–14817.

- Hedrick P.W. 1995. Genetic polymorphism in a temporally varying environment: effects of delayed germination or diapause. *Heredity*, 75: 164–170.
- Hernández M. 2010. Suelos de Humedales como sumideros de carbono y fuentes de metano. *Terra Latinoamericana*, 28: 139-147.
- Hintz W.D., Devin K., Jones D.K. & Relyea R.A. 2018. Evolved tolerance to freshwater salinization in zooplankton: life-history trade-offs, cross-tolerance and reducing cascading effects. *Philosophical Transaction B*, 374: 1-10.
- Hirayama K. & Ogawa S. 1972. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. I. Filter Feeding of Rotifer. *The Japanese Society of Fisheries Science*, 38: 1207-1214.
- Hothorn T., Bretz F. & Westfall P. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, 50: 346–363.
- Ito T. 1958. Studies on the *Mizukawari* in eel culture ponds. X. The density of dormant eggs of rotifer on bottom deposits in eel culture ponds. *Report of the Faculty of Fisheries, Prefectural University Mie*, 3: 170–177.
- Jensen E., Brucet S., Meerhoff M., Nathansen L. & Jeppesen E. 2010. Community structure and diel migration of zooplankton in shallow brackish lakes: role of salinity and predators. *Hydrobiologia*, 646, 15-229.
- Jeppesen E., Lauridsen T.L., Mitchell S.F., Christoffersen K. & Burns C.W. 2000. Trophic structure in the pelagial of 25 shallow New Zealand lakes: changes along nutrient and fish gradients. *Journal of Plankton Researches*, 22: 951–968.

- Jeppesen E., Kronvang B., Søndergaard M., Hansen K.M., Andersen H.E., Lauridsen T.L. & Liboriussen L. 2007a. Climate Change Effects on Runoff, Catchment Phosphorus Loading and Lake Ecological. *Journal of Environmental Quality*, 38: 1930–1941.
- Jeppesen E., Søndergaard M., Pedersen A.R., Strzelczak A., Lauridsen T.L. & Johansson L.S. 2007b. Salinity Induced Regime Shift in Shallow Brackish Lagoons. *Ecosystems* 10: 47–57.
- Jeppesen E., Noges P., Davidson T.A., Haberman J., Noges T., Kätlin B., Torben L.L., Søndergaard M., Sayer C., Laugaste R., Johansson L.S., Bjerring R. & Amsinck S.L. 2011. Zooplankton as indicators in lakes: a scientific-based plea for including zooplankton in the ecological quality assessment of lakes according to the European Water Framework Directive (WFD). *Hydrobiologia*, 676: 279-297.
- Jeppesen E., Brucet S., Naselli-Flores L., Papastergiadou E., Stefanidis K., Nöges T., Nöges P., Attayde J.L., Zohary T., Coppens J., Bucak T., Menezes R.F., Freitas F.R.S., Kernan M., Søndergaard M. & Beklioğlu M. 2015. Ecological impacts of global warming and water abstraction on lakes and reservoirs due to changes in water level and related changes in salinity. *Hydrobiologia*, 750: 201–227.
- Jiang S., Dickey T.D., Steinberg D.K. & Madin L.P. 2007. Temporal variability of zooplankton biomass from ADCP backscatter time series data at the Bermuda Testbed Mooring site. *Deep Sea Research*, 54: 608-636.
- Johnson K.H., Vogt K.A., Clark H.J., Schmidtz O.J. & Vogt D.J. 1996. Biodiversity and productivity and the stability of ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*, 11: 372–377.

- Kantrud H.A. & Stewart R.E. 1984. Ecological distribution and crude density of breeding birds on prairie wetlands. *Journal of Wildlife Management*, 48:426–437.
- Kaya M., Fontaneto D., Segers H. & Altındağ A. 2010. Temperature and salinity as interacting drivers of species richness of planktonic rotifers in Turkish continental waters. *Journal of Limnology*, 69: 297–304.
- Kerfoot W.C. & Weider L.J. 2004. Experimental paleoecology (resurrection ecology): Chasing Van Valen's Red Queen hypothesis. *Limnology and Oceanography*, 49: 1300–1316.
- Kipriyanova L.M., Yermolaeva N.I., Bezmaternykh D.M., Dvurechenskaya S.Y. & Mitrofanova E.Y. 2007. Changes in the biota of Chany Lake along a salinity gradient. *Hydrobiologia*, 576: 83–93.
- King C.H.E., Ricci C., Schonfeld J. & Serra M. 2005. Evolutionary dynamics of "the" bdelloid and monogonont rotifer life-history patterns. *Hydrobiologia*, 546:55–70.
- Knapp R.A., Matthews K.R. & Sarnelle O. 2001. Resistance and resilience of alpine lake fauna to fish introductions. *Ecological Monographs*, 71: 401–421.
- Komis A. 1992. Improved production and utilization of the rotifer *Brachionus plicatilis* Muller, in European "Ž.Ž. sea bream *Sparus aurata* Linnaeus and sea bass *Dicentrarchus labrax* Linnaeus larviculture. Doctor in Agricultural Sciences Thesis, University of Gent, 277 pp.
- Korovchinsky N.M. & Boikova O.S. 1996. The resting eggs of the Ctenopoda (Crustacea: Branchiopoda): a review. *Hydrobiologia*, 320: 131–140.

- Koste W. 1978. Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Gebr. Borntraeger, Berlin, Stuttgart, 673 Seiten.
- Krebs C.J. 1985. Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance, 3rd ed. Harper and Row, New York.
- Lansing A.I. 1942. Some effects of hydrogen ion on concentration, total salt concentration, calcium and citrate on longevity and fecundity of the rotifer. *Journal of Experimental Zoology*, 91: 195-211.
- Liu W. & Juan Niu C. 2010. Polymorphism in Resting Egg Size and Hatching Strategy in the Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Zoological Science*, 27: 330–337.
- López-González P.J., Guerrero F. & Castro M.M. 1998. Seasonal fluctuations in the plankton community in a hypersaline temporary lake (Honda, southern Spain). *International Journal of Salt Lake Researches*, 6: 353 – 371.
- Lowe C.D., Kemp S.J., Díaz-Avalos C. & Montagnes D.J.S. 2007. How does salinity tolerance influence the distributions of *Brachionus plicatilis* sibling species? *Marine Biology*, 150: 377–386.
- Lubzens E., Fishler R. & Berdugo-White V. 1980. Induction of sexual reproduction and resting egg production in *Brachionus plicatilis* reared in sea water. *Hydrobiologia*, 73: 55–58.
- Mabidi A.M., Bird S. & Perissinotto R. 2018. Increasing salinity drastically reduces hatching success of crustaceans from depression wetlands of the semi-arid Eastern Cape Karoo region, South Africa. *Scientific Reports Springer U.S.*, 8: 1–9.

- Maderey-Rascón L.M. & Jiménez-Román A. 2001. Hydrological cycle disturbances at the lower portion of the Lerma River upper basin derived from water transfer to Mexico City. *Investigaciones Geográficas*, 45: 24-38.
- Magalhaes T.L. De. 2016. Plant distribution in freshwater wetlands of the Brazilian subtropical highland grasslands. *Springer International Publishing*, 39: 239–249.
- Makrushin A.V. 1978. Anhydrobiosis and yolk structure of the eggs in Cladocera. *Zoologicheskii zhurnal*, 57: 364–374.
- Marcus N.H., Lutz R., Burnett W. & Cable P. 1994. Age, viability and vertical distribution of zooplankton resting eggs from an anoxic basin: evidence of an egg bank. *Limnology and Oceanography*, 39: 154–158.
- May L. 1986. Rotifer sampling a complete species list from one visit. *Hydrobiologia*, 134:117-120.
- Meehl G.A., Stocker T.F., Collins W.D., Friedlingstein P., Gaye A.T., Gregory J.M., Kitoh A., Knutti R., Murphy J.M., Noda A., Raper S.C.B., Watterson I.G., Weaver A.J. & Zhao Z..C. 2007. Global climate projections. In Solomon S., Qin D., Manning M., Chen Z., Marquis M., Averyt K.B., M. Tignor & Miller H.L. (eds), *Climate Change 2007: the Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge: 749–844.
- Menden-Deuer S. & Lessard E.J. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography*, 45: 569–579.

- Michaloudi E., Mills S., Papakostas S., Stelzer C.P., Triantafyllidis A., Kappas I. & Abatzopoulos T.J. 2017. Morphological and taxonomic demarcation of *Brachionus asplanchnoidis* Charin within the *Brachionus plicatilis* cryptic species complex (Rotifera, Monogononta). *Hydrobiologia*, 796: 19.
- Mills S., Alcantara-Rodriguez J.A., Ciroso-Perez J., Gomez A., Hagiwara A., Galindo K.H., Jersabek C.D., Malekzadeh-Viayeh R., Leasi F., Lee J.S., Welch D.B.M., Papakostas S., Riss S., Segers H., Serra M., Shiel R., Smolak R., Snell T., Stelzer C.P., Tang C.Q., Wallace R., Fontaneto D. & Walsh E.J. 2017. Fifteen species in one: deciphering the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera, Monogononta) through DNA taxonomy. *Hydrobiología*, 1-20.
- Minkoff G., Lubzens E. & Kahan D. 1983. Environmental factors affecting hatching of rotifer (*Brachionus plicatilis*) resting eggs. *Hydrobiologia*, 104: 61-69.
- Miracle M.R. & Serra M. 1989. Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, 186–187: 81–102.
- Monakov A.V. 2003. Feeding of Freshwater invertebrates. Kenobi Productions. Belgium. 371 pp.
- Montero-Pau J., Ramos-Rodríguez E., Serra M. & Gómez A. 2011. Long-term coexistence of rotifer cryptic species. *PLoS ONE*, 6:e21530.
- Montellano M. 1990. Una edad del Irvingtoniano al Rancholabreano para la fauna Cedazo del Estado de Aguascalientes. Universidad Nacional Autónoma de México. *Instituto de Geología*, 9: 195-203.

- Mooser O. 1980. Pleistocene Fossil Turtles from Aguascalientes, state of Aguascalientes. *Univeridad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geología*, 4: 63-66 pp.
- Morales-Baquero R. 1985. Estudio de las comunidades de Rotíferos Monogonontes de las lagunas de alta montaña de Sierra Nevada. Ph.D. Thesis. Univ. Granada. 296 pp.
- Morales-Baquero R., Cruz-Pizarro L. & Carrillo P. 1988. Biomass and production of *Euchlanis dilatata* in high mountain lakes and ponds of Sierra Nevada (Spain). *Plankton Researches*, 10: 1065-10.
- Morales-Baquero R., Carrillo P., Reche I. & Sánchez-Castillo P. 1999. Nitrogen-phosphorus relationship in high mountain lakes: effects of the size of catchment basins. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56: 1809–1817.
- Morales-Baquero R., Carrillo P., Barea-Arco J., Pérez-Martínez C. & Villar-Argaiz M. 2006a. Climate-driven changes on phytoplankton–zooplankton coupling and nutrient availability in high mountain lakes of Southern Europe. *Freshwater Biology*, 51: 989–998.
- Morales-Baquero R., Pulido-Villena E. & Reche I. 2006b. Atmospheric inputs of phosphorus and nitrogen to the southwest Mediterranean region: biogeochemical responses of high mountain lakes. *Limnology and Oceanography*, 51: 830–837.
- Morales-Baquero R., Pérez-Martínez C., Ramos-Rodríguez E., Sánchez-Castillo P., Villar-Argaiz M. & Conde-Porcuna J.M. 2019. Zooplankton advective losses may affect chlorophyll-a concentrations in fishless high-mountain lakes. *Limnetica*, 38: 55–65.

- Moreno E., Conde-Porcuna J.M. & Gómez A. 2017. Barcoding rotifer biodiversity in Mediterranean ponds using diapausing egg banks. *Ecology and Evolution*, 7: 4855–4867.
- Nandini S., Ramírez-García P. & Sarma S.S. 2005. Seasonal Variations in the Species Diversity of Planktonic Rotifers in Lake Xochimilco, Mexico. *Journal of Freshwater Ecology*, 20: 287-294.
- Navis S., Waterkeyn A., Voet T., De Meester L. & Brendonck L. 2013. Pesticide exposure impacts not only hatching of dormant eggs, but also hatchling survival and performance in the water flea *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 22: 803–814.
- Nevalainen L., Brown M. & Manca M. 2018. Sedimentary record of cladoceran functionality under Eutrophication and re-oligotrophication in Lake Maggiore, Northern Italy. *Water* 10: 86.
- Nielsen D.L., Brock M.A., Rees G.N., & Baldwin D.S. 2003. Effects of increasing salinity on freshwater ecosystems in Australia. *Australian Journal of Botany*, 51: 655–665.
- Nielsen D.L. & Brock M.A. 2009. Modified water regime and salinity as a consequence of climate change: Prospects for wetlands of Southern Australia. *Climatic Change*, 95: 523–533.
- Ning N.S.P. & Nielsen D.L. 2011. Community structure and composition of microfaunal egg bank assemblages in riverine and floodplain sediments. *Hydrobiologia*, 661: 211–221.
- Nipkow F. 1961. Die Rädertiere im Plankton des Zürichsees und ihre Entwicklungsphasen. Schweiz. Z. *Hydrologie*, 23: 398–461.

- Onbé T. 1978. Sugar flotation method for sorting the resting eggs of marine cladocerans and copepods from sea-bottom sediment. *Bulletin of the Japanese Society Scientific Fisheries*, 44: 1411.
- Papakostas S., Michaloudi E., Triantafyllidis A., Kappas I. & Abatzopoulos T.J. 2013. Allochronic divergence and clonal succession: Two microevolutionary processes sculpturing population structure of *Brachionus* rotifers. *Hydrobiologia*, 700: 33–45.
- Pennak R.W. 1966. Structure of zooplankton populations in the littoral macrophyte zone of some Colorado lakes. *Transactions of the American Microscopical Society*, 85: 329–349.
- Pennak R.W. 1989. Fresh-water invertebrates of the United States: Protozoa to Molluscs. John Wiley Publishers, New York.
- Pérez-Martínez C., Jiménez L., Moreno E. & Conde-Porcuna J.M. 2013. Emergence pattern and hatching cues of *Daphnia pulicaria* (Crustacea, Cladocera) in an alpine lake. *Hydrobiologia*, 707: 47–57.
- Pérez-Martínez C., Conde-Porcuna J.M., Moreno E., Ramos-Rodríguez E. & Jiménez L. 2020. Cladoceran assemblage distribution in shallow alpine lakes of Sierra Nevada (Spain) and its relationship with environmental variables. *Aquatic Sciences Springer International Publishing*, 82: 1–13.
- Peters R.H. 1987. *Daphnia* culture. In Peters R.H. & de Bernardi.R. (eds), *Daphnia. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia*, 45: 483-495.

- Piercey D.W. & Maly E.J. 2000. Factors influencing the induction of diapausing egg production in the calanoid copepod *Diaptomus leptopus*. *Aquatic Ecology*, 34: 9–17.
- Pinheiro J.C. & Bates D.M. 2000. Mixed-Effects Models in S and S-PLUS. Springer-Verlag, New York.
- Piscia R., Guilizzoni P., Fontaneto D., Vignati D. a L., Appleby P. G. & Manca M. 2012. Dynamics of rotifer and cladoceran resting stages during copper pollution and recovery in a subalpine lake. *Annales de Limnologie*, 48: 151–160.
- Piscia R., Tabozzi S., Bettinetti R., Nevalainen L. & Manca M.M. 2016. Unexpected increases in rotifer resting egg abundances during the period of contamination of Lake Orta. *Journal of Limnology*, 75: 76–85.
- Piscia R., Bovio S., Manca M., Lami A. & Guilizzoni P. 2020. Evaluation of the Egg Bank of Two Small Himalayan Lakes. *Water*, 12: 491.
- Pontin R.M. 1966. The osmoregulatory function on the vibratile flames and the contractile vesicles of *Asplanchna* (Rotifera). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 17:1111–1126.
- Pontin R.M. 1978. A key to British freshwater planktonic Rotifera. Freshwater Biological Association, Scientific Publication 38, Windermere, U.K.
- Pourriot R. & Snell T. 1983. Resting eggs in rotifers. *Hydrobiologia*, 104: 213-224.
- Puillandre N., Modica M.V., Zhang Y., Sirovich L., Boisselier M.C., Cruaud C., Holford M. & Samadi S. 2012. Large-scale species delimitation method for hyperdiverse groups. *Molecular Ecology*, 21: 2671–2691.

- Radwan S. 1984. The influence of some abiotic factors on the occurrence of rotifers of Leczna and Wlodawa Lake District. *Hydrobiologia*, 112: 117–124.
- Radzikowski J. 2013. Resistance of dormant stages of planktonic invertebrates to adverse environmental conditions. *Journal of Plankton Research*, 35: 707–723.
- Reche I., Pulido-Villena E., Morales-Baquero R. & Casamayor E.O. 2005. Does ecosystem size determine aquatic bacterial richness? *Ecology*, 86: 1715–1722.
- Reche, I., Ortega-Retuerta E., Romera O., Pulido-Villena E., Morales-Baquero R., & Casamayor E.O. 2009. Effect of Saharan dust inputs on bacterial activity and community composition in Mediterranean lakes and reservoirs. *Limnology and Oceanography*, 54: 869–879.
- Reynoso V.H. & Montellano M. 1994. Revisión de los Équidos de la fauna Cedazo del Pleistoceno de Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 11: 87-105.
- Ricci C. 2001. Dormancy patterns in rotifers. *Hydrobiologia*, 447: 1–11.
- Ricci C. & Caprioli M. 2005. Anhydrobiosis in bdelloid species, populations and individuals. *Integrative and Comparative Biology*, 45: 759–763.
- Rojo C., Álvarez-Cobelas M., Benavent-Corai J., Barón-Rodríguez M.M., & Rodrigo M.A. 2012. Trade-offs in plankton species richness arising from drought: Insights from long-term data of a National Park wetland (central Spain). *Biodiversity and Conservation*, 21: 2453–2476.

RStudio Team. 2015. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL.
Available at: <http://www.rstudio.com>.

Sala O.E., Chapin F.S., Armesto J.J., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber- Sanwald E., Huenneke L.F., Jackson R.B., Kinzig A., Leemans R., Lodge D.M., Mooney H.A., Oesterheld M., Poff N.L., Sykes M.T., Walker B.H., Walker M. & Wall D.H. 2000. Global diversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287: 1770-1774.

Sánchez-Castillo P., Cruz-Pizarro L. & Carrillo P. 1989. Caracterización del fitoplancton de las lagunas de alta montaña de Sierra Nevada (Granada, España) en relación con las características físico-químicas del medio. *Limnetica*, 5: 37–50.

Santangelo J.M., Araújo L.R., de A. Esteves F., Manca M. & Bozelli R.L. 2011. Método para a eclosão de ovos de resistência do zooplâncton tropical: Efeitos da seca ou exposição a baixas temperaturas antes da incubação. *Acta Limnológica Brasiliensia*, 23: 42–47.

Santangelo J.M., de A. Esteves F., Manca M. & Bozelli R.L. 2014. Disturbances due to increased salinity and the resilience of zooplankton communities: The potential role of the resting egg bank. *Hydrobiologia*, 722: 103–113.

Santer B. & Lampert W. 1995. Summer diapause in cyclopoid copepods: Adaptive response to a food bottleneck? *Journal of animal Ecology*, 64: 600–613.

Saucedo-Ríos S., Santos-Medrano G.E. & Rico-Martínez R. 2017. Life table analysis reveals variation in thermal tolerance among three species of the Lecane genus (Rotifera: Monogononta). *Annales de Limnologie*, 53: 253–259.

- Schallenberg M., Hall C. J. & Burns C. W. 2003. Consequences of climate-induced salinity increases on zooplankton abundance and diversity in coastal lakes. *Inter-Research Science Publisher*, 51: 181-189.
- Schielzeth H. & Nakagawa S. 2013. Nested by design: model fitting and interpretation in a mixed model era. *Methods in Ecological Evolution*, 4: 14–24.
- Schroeder T. 2001. Colonising strategies and diapause of planktonic rotifers (Monogononta, Rotifera) during aquatic and terrestrial phases in a floodplain (Lower Oder Valley, Germany). *International Review of Hydrobiology*, 86: 635–660.
- Schroeder T. 2005. Diapause in monogonont rotifers. *Hydrobiologia*, 546, 291–306.
- Schroeder T. & Walsh E.J. 2007. Cryptic speciation in the cosmopolitan *Epiphanes senta* complex (Monogononta, Rotifera) with the description of new species. *Hydrobiologia*, 593:129–140.
- Segers H. 2004. Rotifera Monogononta. In: Yule C.M. & Yong H.S. (Eds), *Freshwater invertebrates of the Malay-sia Region*. Academy of Sciences and Monash University, Malaysia, Kuala Lumpur: 112-116 pp.
- Segers H. 2008. Global diversity of rotifers (Phylum Rotifera) in freshwater. In Balian E.V., Lévêque C., Segers H. & Martens K. (eds), *Freshwater Animal Diversity Assessment*. *Hydrobiologia*, present volume.
- Serra M. & King C.E. 1999. Optimal rates of bisexual reproduction in cyclical parthenogens with density-dependent growth. *Journal of Evolutionary Biology*, 12:263–271.

- Serra M., García-Roger E.M., Ortells R. & Carmona M.J. 2019. Cyclically parthenogenetic rotifers and the theories of population and evolutionary ecology. *Limnetica*, 38: 67-93.
- Simovich M. A. & Hathaway S.A. 1997. Diversified bet-hedging as a reproductive strategy of some ephemeral pool anostracans (Branchiopoda). *Journal of Crustacean Biology* 17: 38–44.
- Skinner R., Sheldon F., Walker K.F. 2001. Animal propagules in dry wetland sediments as indicators of ecological health: effects of salinity. *Regulated Rivers: Research and Management*, 17: 191–197.
- Slusarczyk M. 1995. Predator-induced diapause in *Daphnia*. *Ecology*, 76: 1008–1013.
- Snell T.W. & King C.E. 1977. Lifespan and fecundity patterns in rotifers: the cost of reproduction. *Evolution*, 31: 882-890.
- Snell T. W., Bieberich C.J., Fuerst R. 1983a. The effects of green and blue-green algae diets on the reproductive rate of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 31: 21–30.
- Snell T.W., Burke B.E. & Messur S.D. 1983b. Size and distribution of resting eggs in a natural population of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Gulf Research Report*, 7: 285–287.
- Spiegelhalter, D., A. Thomas, N. Best, & D. Lunn. 2007. OpenBUGS user manual. Version 3.0.2. MRC Biostatistics Unit, Cambridge, UK .
- Sullivan B.K. & McManus L.T. 1986. Factors controlling seasonal succession of the copepods *Acartia hudsonica* and *A. tonsa* in Narragansett Bay, Rhode Island: temperature and resting egg production. *Marine Ecology Progress Series*, 28: 121-128.

- Tarazona E., Garcia-Roger E.M. & Carmona M.J. 2017. Experimental evolution of bet hedging in rotifer diapause traits as a response to environmental unpredictability. *Oikos*, 126: 1162–1172.
- Tavsanoglu U.N., Maleki R. & Akbulut N. 2015. Türkiye Konya Kapalı Havzasında İki Maar Gölü ve bir Tatlısu Gölünde Tuzluluğun Zooplankton Komünite Yapısı Üzerine Etkileri. *Ekoloji*, 24: 25–32.
- Turowska A. 2012. Wraz'liwos'c' jaj przetrwanych wios'larek z rodzaju *Daphnia* pochodzących ze stabilnego lub niestabilnego s'rodowiska na dziaanie skrajnych temperatur. Bachelor Thesis, University of Warsaw.
- Tuytens K., Vanschoenwinkel B., Waterkeyn A. & Brendonck L. 2014. Predictions of climate change infer increased environmental harshness and altered connectivity in a cluster of temporary pools. *Freshwater Biology*, 59: 955–968.
- Thorp J.H. & Covich A. 2010. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. E.U.A. 3rd Ed. Academic Press. 967 pp.
- Van Damme K. & Dumont H. 2010. Cladocera of the Lençóis Maranhenses (NE - Brazil): Faunal composition and a reappraisal of Sars' method. *Brazilian Journal of Biology*, 70: 755–779.
- Van Dooren T. & Brendonck L. 1998. The hatching pattern of *Branchipodopsis wolffi* (Crustacea: Anostraca): phenotypic plasticity, additive genetic and maternal effects. In Brendonck L, L. de Meester & N. G. Hairston, Jr. (eds), Evolutionary and Ecological Aspects of Crustacean Diapause. *Archiv fur Hydrobiologie*, 52: 219–227.

- Vandekerkhove J., Declerck S., Vanhove M., Brendonck L., Jeppesen E., Conde Porcuna J.M. & de Meester L. 2004. Use of ephippial morphology to assess richness of anomopods: potentials and pitfalls. *Journal of Limnology*, 63: 75-84.
- Vandekerkhove J., Declerck S., Jeppesen E., Conde-Porcuna J.M., Brendonck L. & De Meester L. 2005a. Dormant propagule banks integrate spatio-temporal heterogeneity in cladoceran communities. *Oecologia*, 142: 109–116.
- Vandekerkhove J., Declerck S., Brendonck L., Conde-Porcuna J.M., Jeppesen E., Johansson L.S. & De Meester L. 2005b. Uncovering hidden species: hatching diapausing eggs for the analysis of cladoceran species richness. *Limnology and Oceanography: Methods*, 3: 399-407.
- Vargas A.L., Santangelo J.M. & Bozelli R.L. 2019. Recovery from drought: Viability and hatching patterns of hydrated and desiccated zooplankton resting eggs. *International Review of Hydrobiology*, 26–33.
- Vázquez A., Solís E., Macedo N. & Rosas I. 1986. Influencia de la calidad del agua sobre la ocurrencia de *Daphnia pulex* en la presa José Antonio Alzate y algunos aspectos de su pesquería. *Contaminación Ambiental*, 2: 39-56.
- Vasquez-Yeomans L., Castellanos I., Suárez-Morales E. & Gasca R. 2012. Variación espacio-temporal de la biomasa de zooplancton en un sistema estuarino del Caribe occidental durante dos ciclos anuales. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 47: 213-225.
- Vicente-Serrano S.M., Lopez-Moreno J.I., Beguería S., Lorenzo-Lacruz J., Sanchez-Lorenzo A., García-Ruiz J.M., Azorin-Molina C., Morán-Tejeda E., Revuelto J., Trigo R., Coelho

- F. & Espejo F. 2014. Evidence of increasing drought severity caused by temperature rise in southern Europe. *Environmental Research Letters*, 9: 9.
- Walczyńska A. & Serra M. 2014. Species size affects hatching response to different temperature regimes in a rotifer cryptic species complex. *Evolutionary Ecology*, 28: 131–140.
- Walsh E.J., Schroeder T., Wallace R.L. & Rico-Martinez R. 2009. Cryptic speciation in *Lecane bulla* (Monogononta: Rotifera) in Chihuahuan Desert waters. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 30: 1046-1050.
- Walsh E.J., May L. & Wallace R.L. 2017. A metadata approach to documenting sex in phylum Rotifera: diapausing embryos, males, and hatchlings from sediments. *Hydrobiologia*, 796: 265–276.
- Wang B.L., Liu C.Q., Wang F.S., Yu Y. X. & Zhang L.H. 2008. The distributions of autumn picoplankton in relation to environmental factors in the reservoirs along the Wujiang River in Guizhou Province, SW China. *Hydrobiologia*, 598: 35–45.
- Warner R.R. & Chesson P.L. 1985. Coexistence mediated by recruitment fluctuations: a field guide to the storage effect. *The American Naturalist*, 125: 769–787.
- Wesenberg-Lund C. 1930. Contributions to the biology of the Rotifera. 2. The periodicity and sexual periods. Kgl. *Danske videnskabernes Selskabs Skrifter, Naturvidenskabeli Matematisk Afdeling*, 2: 230.
- Wettstein W. & Schmid B. 1999. Conservation of arthropod diversity in montane wetlands: effect of altitude, habitat quality and habitat fragmentation on butterflies and grasshoppers. *Journal of Applied Ecology*, 36: 363–373.

- Williams W.D., Boulton A.J. & Taaffe R.G. 1990. Salinity as a determinant of Salt Lake fauna: a question of scale. *Hydrobiologia*, 197: 257–266.
- Williams W.D. 1998. Salinity as a determinant of the structure of biological communities in salt lakes. *Hydrobiologia*, 381: 191–201.
- Williams W.D. 2001. Anthropogenic salinisation of inland waters. *Hydrobiologia*, 466: 329–337.
- Williams W.D. 2002. Salinisation: A major threat to water resources in the arid and semi-arid regions of the world. *Lakes and reservoirs, Science, Policy and Management for sustainable Use*, 4: 85-91.
- Wilson A.J., Reale D., Clements M.N., Morrissey M.M., Postma E., Walling C.A., Kruuk L.E.B. & Nussey D.H. 2010. An ecologist's guide to the animal model. *Journal of Animal Ecology*, 79: 13–26.
- Won E.J., Han J., Kim D.Y., Dahms H.U. & Lee J.S. 2017. Rotifers in Ecotoxicology. In: Hagiwara A., & Yoshinaga T. (eds.), *Rotifers, Fisheries Science Series*, 184 pp.
- Worldwide Bioclimatic Classification System (1996–2018) S RivasMartinez, S Rivas-Saenz, Phytosociological Research Center, Spain.
<http://www.globalbioclimatics.org>
- Xiang X.L., Xi Y.L., Wen X.L., Zhang G., Wang J.X. & Hu K. 2011. Genetic differentiation and phylogeographical structure of the *Brachionus calyciflorus* complex in eastern China. *Molecular Ecology*, 20: 3027– 3044.

Yin X. W. & Zhao W. 2008. Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O. F. Müller (Rotifera) in relation to temperature, salinity and food algae. *Aquatic Ecology*, 42: 165–176.

Yurista P.M. 1997. Bythotrephes cederstroemii diapausing egg distribution and abundance in Lake Michigan and the environmental cues for breaking diapause. *Journal of Great Lakes Research*, 23: 202–209.

Zeileis A. & Hothorn T. 2002. “Diagnostic Checking in Regression Relationships.” *RNews*, 2: 7–10. URL <http://CRAN.R-project.org/doc/Rnews/>.

Agradecimientos

Muy a mi manera y manteniendo la congruencia con la que siempre he intentado manejarme, además, con el fin de no demeritar el apoyo y cariño colosal o diminuto que haya parecido. A cada persona que se fue cruzando en este lapso de tiempo, agradeceré con una lista aleatoria de nombres de las personas a los que debo la culminación de esta tesis doctoral: Patricia Jiménez García, Eliseo G. Guerrero E., Ramiro Guerrero Jiménez, Dr. Roberto Rico Martínez, Dr. Marcelo Silva Briano, Dra. Patrizia Vannucchi, Biol. Araceli Adabache Ortiz, Dr. Manuel Elías Gutiérrez, Biol. Luis Delgado, Ing. Martha Perez, Dr. José María Conde Porcuna, Dra. Eloísa Ramos, Dr. Rafael Morales Baquero, Aurora Rosa M., Eulogio Corral, Ismael López, Dra. Presentación Carrillo, Dr. Luis Felipe Jiménez, Dra. Lourdes Segura, Dr. H. Segers, CONACyT. Estoy seguro que, al leer su nombre, cada quien sabrá lo que representa para mí.

Para concluir, me gustaría pedir perdón a todos esos estudiantes con los que competí desde antes de empezar con este gran reto. Les pido perdón porque sé que quizá no era el mejor candidato, quizá usurpé un lugar que alguien más merecía, sin embargo, me toco esa pequeña fracción de suerte de ser uno de los elegidos. Sé que no todos pudimos cumplir este sueño y por ello espero no haber defraudado a nadie, ni a mis profesores, ni a mis amigos, ni a mi familia, y sobre a todo a ustedes estudiantes que jamás conocí y que seguro lo hubieran hecho igual o mejor que yo. Este trabajo lo he realizado con toda la pasión que tenía, sé que no me he defraudado a mí y espero no haberlos defraudados a todos ustedes, la única prueba que tengo para ustedes es haber finalizado este reto y seguir firme para lo que viene.

GRACIAS A TODOS

Y al final,
nadie se escapa de ser observado
por el microscopio más perfecto que se ha construido
y que se construirá "El tiempo",
ese que todo lo ve
y que jamás se le escapa ni el más mínimo detalle
de las cosas que realizamos durante la vida,
lo bueno, lo malo, y hasta lo que se dejó de hacer.



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

