

00344

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO 1

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CRECIMIENTO POBLACIONAL DE TRES ESPECIES DE  
CLADOCEROS (*Daphnia pulex*, *Moina*  
*macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia*)  
UTILIZANDO UNA CIANOBACTERIA (*Microcystis*  
*aeruginosa*) Y UN ALGA VERDE (*Chlorella*  
*vulgaris*) COMO ALIMENTO

298368

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
(BIOLOGIA DE SISTEMAS Y RECURSOS  
ACUATICOS)

P R E S E N T A :

BIOLOGO ALEJANDRO FEDERICO ALVA MARTINEZ

Director de Tesis: DR. S. S. S. SARMA

México, D. F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



# Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México  
Coordinación del Posgrado, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología,  
Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, México, D.F. 04510  
Teléfono. y Fax: (52) 56-22-58-03 y 56-22-58-29,  
Correo electrónico: posgrado@mar.icmyl.unam.mx  
[http://www.unam.mx/ciencias\\_mar\\_posgrado](http://www.unam.mx/ciencias_mar_posgrado)



UNAM

Oficio No. PCML-0786/2000

Biol. ALEJANDRO FEDERICO ALVA MARTINEZ  
Presente

Por medio del presente, me permito informar a usted que el Comité Académico de este Posgrado, en su sesión CA/05/00 celebrada el 24 de agosto de 2000, después de analizar su solicitud, acordó:

Asignarle su Jurado para Examen de Maestría, el cual evaluará su tesis intitulada: "Crecimiento poblacional de 3 especies de cladoceros (*Daphnia pulex*, *Moina macrocopa*, *Ceriodaphnia dubia*) utilizando una cianobacteria (*Microcystis aeruginosa*) como alimento", y está integrado de la siguiente manera:

		fecha y firma de aceptación
Dr. Singaraju Sri S. Sarma	Presidente	<i>S. S. Sarma</i> 5 sep. 2000
M. en C. Guadalupe Figueroa Torres	Secretario	<i>Ligueroa Torres M. C.</i> 8 sept 2000
Dra. Nandini Sarma	1er. Vocal	<i>Nandini Sarma</i> 5/9/2000
Dra. María Ana Fernández Alamo	2º. Vocal	<i>M. Ana F. Alamo</i> 18/9/2000
Dra. Sonia Sofía Espina Aguilera	3er. Vocal	<i>Sonia Sofía Espina</i> 12/09/2000
Dr. Fernando Alvarez Noguera	Suplente	<i>Fernando Alvarez</i> 14/9/2000
Dr. Miroslav Macek	Suplente	<i>Miroslav Macek</i> 17/9/00

Es necesario que usted recabe las firmas de los integrantes propuestos a la brevedad y nos remita una copia, para hacer efectivos estos nombramientos.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, D.F., a 29 de agosto de 2000

DR. MARTIN MERINO IBARRA  
Coordinador del Posgrado

## Agradecimientos

- A Dios  
Por darme el privilegio de estar vivo.
- A mis Padres Luis y Adriana  
Por todo su apoyo y buen ejemplo que seguiré a través de mi vida.
- A los Miembros del Comité Tutorial**  
A mi Tutor Dr. S. S. S. Sarma  
Gracias, por compartir conmigo su sabiduría, madurez, eficiencia y darme su apoyo y confianza.  
Dra Nandini Sarma  
Su ternura y fuerza me alentaron en esta Tesis.  
M. en C. Guadalupe Figueroa  
¡Lo hicimos! Gracias por todo.
- A los Miembros del Jurado**  
Dr. Miroslav Macek  
Dra. Sonia Sofia Espina Aguilera  
Dr. Fernando Alvarez Noguera  
Dra. Maria Ana Fernandez Alamo  
Agradezco a todos y cada uno de ellos su rapidez, profesionalismo, precisión y realidad para hacer los cambios y mejorar el documento final.
- A la Jefa de la Unidad Departamental de Alameda y Parques**  
Bióloga Pilar Herrera  
Por todo el apoyo para realizar esta tesis en la Alameda Oriente.
- A los revisores externos de estilo:**  
Dr. Victor Luna Pabello  
Lic. Montserrat Martínez.  
Fidel J. Martínez  
Agradezco sus comentarios y puntos de vista para mejorar mi trabajo.
- Mención especial a:**  
Dr. Martín Merino  
Dra. Cecilia Vanegas  
Sra. Norma Suazo  
Así como a todo el personal de la biblioteca de Ciencias de la Tierra  
Por su valiosísima ayuda  
Muchísimas gracias  
Por ser tan eficientes en mantener el acervo de nuestros documentos.
- A los profesores que me formaron y me dedicaron su valioso tiempo en toda esta aventura científica y pertenecieron en algún momento en mis anteriores escritos tanto para entrar como para permitirme permanecer en la Maestría.**  
1996- M. en C. Alfonso Esquivel, M. en C. Martha Rodríguez  
1997- Dr. Javier Alcocer, Dra. Rosa Luz Tavera.  
1998- M. en C. Jorge Romero, M. en C. José Luis García Calderón.
- Agradezco a mis hermanos y a toda mi familia que siempre me acompañan y me alientan.
- A mis amigas y amigos, que sin su presencia me hubiera sido mas difícil emprender esta Tesis.

## CONTENIDO

---

	Núm. de página
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	7
OBJETIVOS PARTICULARES	12
MATERIAL Y MÉTODOS	12
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIÓN	41
LITERATURA CITADA	43
ANEXO: A	53
ANEXO: B	54
ANEXO: C Artículo publicado	55

## RESUMEN

Se llevaron a cabo experimentos de crecimiento poblacional, de tres especies de cladóceros *Daphnia pulex* ( $2,413 \pm 129 \mu\text{m}$ ), *Moina macrocopa* ( $1,286 \pm 49 \mu\text{m}$ ) y *Ceriodaphnia dubia* ( $951 \pm 57 \mu\text{m}$ ) con una duración de 22 a 30 días utilizando como alimento células disgregadas por un sonicador de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* y la microalga verde *Chlorella vulgaris*, en tres densidades  $0.75 \times 10^6$ ,  $1.5 \times 10^6$  y  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ . Un aumento en la disponibilidad de *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* resultó en un incremento en la abundancia de *D. pulex*. *M. macrocopa* mostró un incremento en la abundancia poblacional cuando se aumentan los niveles de *C. vulgaris*, pero experimentó un completo decremento cuando se alimentaron con *M. aeruginosa*. Por otra parte, la densidad de la población de *C. dubia* mostró una relación inversa con respecto a los niveles de concentración *C. vulgaris*, pero se incrementó cuando se aumentaron los niveles de *M. aeruginosa*. *C. dubia* alcanzó una densidad máxima de  $37 \pm 1$  individuos  $\text{ml}^{-1}$ , en  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  de *M. aeruginosa*, mientras que en condiciones comparables, *D. pulex* alcanzó  $10 \pm 0.5$  individuos  $\text{ml}^{-1}$ . La tasa de crecimiento poblacional por día ( $r = 0.24 \text{ día}^{-1}$ ) fue similar para *D. pulex* y *M. macrocopa* con *C. vulgaris* en  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ . No se detectaron diferencias significativas para los valores de ( $r$ ) y los máximos de densidad de población entre *D. pulex* alimentada con *C. vulgaris* y *M. aeruginosa*; Sin embargo, las diferencias fueron significativas para *M. macrocopa* y *C. dubia* ( $P < 0.05$ ). Se encontró una relación entre el tamaño del cuerpo del cladóceros y su capacidad para consumir células de *M. aeruginosa*, no obstante, *D. pulex* creció con *C. vulgaris* como con *M. aeruginosa*.

En conclusión, una forma práctica de sacar provecho a estos experimentos, sería el cultivo masivo y la posterior incorporación de las poblaciones de *D. pulex* y *C. dubia*, en aquellos cuerpos de agua eutróficos en los que se desee efectuar un control. El momento adecuado para la adición de cladóceros es cuando se detecta en el cuerpo de agua una gran abundancia de *M. aeruginosa* en formas unicelular, así como de incipientes agregados.

## ABSTRACT

Population growth experiments for 22-30 days using three cladoceran species (adult mean length ( $\mu\text{m}$ )  $\pm$  standard error) were conducted: *Daphnia pulex* (2413 $\pm$ 129), *Moina macrocopa* (1286 $\pm$ 49) and *Ceriodaphnia dubia* (951 $\pm$ 57) on sonicated cells of the cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa* and the green alga *Chlorella vulgaris* offered in three densities ( $0.75 \times 10^6$ ,  $1.5 \times 10^6$  and  $3.0 \times 10^6$  cell  $\text{ml}^{-1}$ ). An increase in the availability of *C. vulgaris* and *M. aeruginosa* resulted in an increase in the abundance of *D. pulex*. The response of the other two cladoceran species to *C. vulgaris* and *M. aeruginosa* differed greatly. *M. macrocopa* showed increased population abundance with increasing *C. vulgaris* levels but crashed completely when fed *M. aeruginosa* by the second day. On the other hand, the population densities of *C. dubia* showed an inverse relation with *C. vulgaris* levels but increased with increasing levels of *M. aeruginosa*. *C. dubia* reached a peak density of  $37 \pm 1$  ind  $\text{ml}^{-1}$  under  $3.0 \times 10^6$  cell  $\text{ml}^{-1}$  of *M. aeruginosa*s, while under comparable conditions, *D. pulex* reached  $10 \pm 0.5$  ind  $\text{ml}^{-1}$ . The rate of population increase per day ( $r$ ) was similar (0.24) for *D. pulex* and *M. macrocopa* on *C. vulgaris* under  $3.0 \times 10^6$  cell  $\text{ml}^{-1}$ . No statistically significant differences were detected for  $r$  values and the peak population densities between *D. pulex* fed *C. vulgaris* and *M. aeruginosa*, but the differences were significant for *M. macrocopa* and *C. dubia*. No clear relationship between body size of cladocerans and their ability to consume *M. aeruginosa* cells was found although *D. pulex* consistently grew well either on *C. vulgaris* or *M. aeruginosa*.

## INTRODUCCIÓN

El incremento de la eutroficación debido a la urbanización ha generado el aumento de cianobacterias no comestibles y tóxicas en cuerpos de agua dulce de todo el mundo (Dokulil et al., 2000). Entre las cianobacterias *Microcystis aeruginosa* Kutzinger, 1833 es quizá la más común de las especies que se han estudiado y hay una amplia información disponible, especialmente con relación a sus toxinas (Vezie et al., 1998; Sivonen, 1999; Willame y Hoffmann, 1999). Se conoce que las cianotoxinas inhiben la capacidad de alimentarse, crecer, respirar, reproducirse y reducen el tiempo de vida en una variedad de organismos incluyendo los cladóceros (Hietala et al., 1997; Dawson, 1998). El efecto de *Microcystis aeruginosa* en los cladóceros depende de una variedad de factores incluyendo su tamaño, hábitos alimenticios, su nicho, y resistencia a pasar hambre (Lampert y Sommer, 1997).

En general, las especies de zooplancton del género *Daphnia* son capaces de utilizar estas colonias de *Microcystis* en cambio las especies de zooplancton pequeñas como *Moina* no pueden (Kobayashi et al., 1998; Yasuno et al., 1998). El reducido consumo de *Microcystis* es también debido a la forma colonial, donde en algunas ocasiones puede ser tan grande como 450  $\mu\text{m}$  mientras que el tamaño del alga preferido por los cladóceros es  $< 100 \mu\text{m}$  (Jarvis et al., 1987). Ofreciendo las células en forma unicelular de *Microcystis* se puede reducir el efecto mecánico de obstáculo que posee la forma de colonia (Porter y Orcutt, 1980) y los pequeños cladóceros como *Ceriodaphnia* pueden crecer alimentados con Cianobacterias.

En los cuerpos de agua eutróficos, los florecimientos de cianobacterias comienzan de pequeñas células sencillas y finalmente forman colonias (Reynolds et al., 1981), que debido a su tamaño, están protegidos de la herbivoría del zooplancton y por eso persisten en el medio (Boeing et al., 1998). Aun así cualquier intento para reducir la frecuencia de los florecimientos de cianobacterias puede ser prevenido durante el inicio de la formación de grandes colonias de cianobacterias incrementando las densidades del zooplancton particularmente de los cladóceros herbívoros cuando las formas de las cianobacterias sean unicelulares o estén formando pequeñas colonias. La gran mayoría de publicaciones sobre el control de *Microcystis*, empleando cladóceros, están basadas en estudios usando las colonias como alimento (Fulton y Paerl, 1987; Jarvis et al., 1987). Solo algunos estudios han documentado el uso de la forma unicelular de *Microcystis* como alimento de los cladóceros (Fulton y Paerl, 1987; Nandini y Rao, 1998).

Para eliminar el impedimento mecánico de ingesta, que para los cladóceros implica el tamaño de las colonias de *Microcystis*, se han sugerido varios métodos de disgregación a formas unicelulares. Estas incluyen la ultrasonicación, centrifugación, adición de ciertas sustancias químicas y el uso de agua caliente o presión (Box, 1981; Zohary y Pais Madeira, 1987; Brookes et al., 1994; Chow et al., 1999). De todos estos métodos, la ultrasonicación ha demostrado que las células permanecen sin cambio aparente, por lo que es un método ampliamente recomendado (Box, 1981; Nandini y Rao, 1998). Sin embargo, debido a la heterogeneidad en el tamaño y número de unidades que conforman las colonias, el número de células disgregadas puede variar significativamente (Easthope y Howard, 1999),

originando fluctuaciones en su concentración, por lo cual debe tenerse presente esta característica al suministrar el alimento a los cladóceros.

Varios factores intervienen en la definición de la capacidad de los cladóceros para utilizar como alimento los florecimientos de cianobacterias. Estos incluyen diferencias en la habilidad de las diversas especies en la manipulación de los filamentos o colonias, así como del nivel de tolerancia que tienen a las toxinas producidas por el alga (Nizan et al., 1986; Nandini y Rao, 1998). En este sentido, es importante la realización de más estudios, particularmente enfocados a las zonas subtropicales y tropicales donde los florecimientos de cianobacterias persisten a través de todo el año (Zafar, 1986).

El presente trabajo se enfocó a evaluar el crecimiento poblacional de algunas especies de cladóceros, variando la concentración de *Microcystis aeruginosa* (en forma unicelular) y *Chlorella vulgaris*.

## ANTECEDENTES

El éxito de las especies en la interacción recurso – competencia, depende de su habilidad para responder a cambios en la cantidad y calidad del alimento disponible (Haney y Trout, 1985). El crecimiento del zooplancton está fuertemente influenciado por la cantidad y la calidad del alimento (DeMott y Gulati, 1999) estableciéndose que ciertas especies de algas, en particular las verdes, son buen alimento para los cladóceros, ya que promueven mejor su crecimiento y reproducción mientras que otras, como las cianobacterias, están catalogadas como mal alimento (De Pauw y Pruder, 1986; Ahlgren et al., 1990).

Las cianobacterias son componentes normales de los cuerpos de agua (Herath, 1997) y, en los ambientes eutróficos, este grupo está altamente distribuido y es el predominante (Hanazato y Yasuno, 1987) ya que su abundancia esta estrechamente ligada al grado de eutroficación del sistema (Sevrin-Reyssac y Pletikosic, 1990). No obstante, su excesivo crecimiento en forma de florecimientos, se convierte en un problema ambiental que se ha estado intensificando en muchas regiones del mundo (Infante y Rich, 1984). Ya que diversas investigaciones han detectado el incremento, en espacio y tiempo, de florecimientos de cianobacterias tóxicas (Lanaras et al., 1989; Ohtake et al., 1989, Falconer, 1993; Codd, 1995; Willen y Mattsson, 1997; Vezie et al., 1998).

Se sabe que, cuando las condiciones son favorables para el crecimiento y la formación de florecimientos de las cianobacterias, ocurren eventos en el ecosistema que afectan principalmente al zooplancton (Christoffersen, 1996). Los organismos afectados son

cladóceros, copépodos y rotíferos (Infante y Rich, 1984) que tienen un papel importante en la transferencia de energía, dinámica de alimentos, estabilidad, productividad y aumento de la diversidad en las cadenas tróficas de los ecosistemas acuáticos (Thorp y Covich, 1991). Y se ha demostrado que los cladóceros no puede seleccionar su alimento entre las cianobacterias tóxicas y las no tóxicas (Lampert, 1981; DeMott, 1986). Esta circunstancia provoca la eliminación de la mayoría de los cladóceros por tiempos prolongados resultado en afectaciones en el cambio de la estructura trófica comunitaria del cuerpo de agua (Gilbert, 1996).

Cuando hay ramoneo del zooplancton sobre *Microcystis*, se estimulan mecanismos de defensa consistentes en la síntesis de toxinas como la microcistina (Carmichael, 1994; Fulton y Paerl, 1987; Skulberg et al., 1994; Pizzolon, 1996; Rohrlack et al., 1999) la cual una vez formada, puede alcanzar valores de 0.1 a 0.2 µg por µg de clorofila-a. en la biomasa de *M. aeruginosa* (Lawton et al., 1994). La microcistina es liberada al medio al morir el alga (Kuentzel, 1970; Watanabe et al., 1992; Aleya et al., 1998; Brunberg, 1999) afectando a todos los estados de desarrollo y eliminando a las especies de *Daphnia* que se pudieran estar alimentando de *Microcystis* (Haney et al., 1994; Rohrlack et al., 1999).

El efecto de toxicidad de las cianobacterias sobre los cladóceros ha sido ampliamente demostrado en laboratorio (Porter y Orcutt 1980, Lampert 1981, 1987, De Bernardi y Giussani, 1990, Gilbert, 1990, DeMott et al., 1991, Hietala et al., 1995, Reinikainen et al., 1999) sin embargo hay debilidad en el estudio de este tipo de interacciones por la carencia de información de pruebas *in situ* (DeMott, 1986, 1999; Reinikainen et al. 1994). en el

laboratorio los efectos resultantes son la fuerte inhibición de la alimentación y, consecuentemente de su sobre vivencia, así como de su crecimiento y reproducción, lo que resulta en una liberación temprana de los estadios juveniles (Reinikainen et al., 1995) con marcada reducción de talla y número de neonatos (Gilbert, 1990), induciendo con ello la formación de huevos de resistencia llamados epifias (Lauren-Määttä et al., 1997). Esta respuesta es similar cuando hay una pobre calidad nutricia o una escasez de alimento (Taylor, 1985; Boersma y Vijverberg, 1994).

Los estudios mencionan que las altas concentraciones de cianobacterias en formas filamentosas o de colonias afectan la nutrición de los cladóceros (Porter, 1977; Infante y Rich, 1984; Gliwicz, 1990). Por lo que la abundancia de *D. pulex* esta influenciada tanto por la presencia de toxinas de las cianobacterias, así como por el valor nutricional de las mismas (Reinikainen et al., 1995).

Nandini y Rao (1998) encontraron que varias especies de cladóceros (*Ceriodaphnia cornuta*, *Scapholeberis kingi* y *Simocephalus vetulus*) son capaces de crecer alimentados exclusivamente de *M. aeruginosa*. Asimismo, *D. longispina* se puede reproducir con altas concentraciones de cianobacterias, pero la talla de los neonatos es reducida (DeMott y Gulati, 1999), disminuyendo alrededor de un 5 a 10 % de su talla normal (Reinikainen et al., 1999).

Un aspecto relevante de las interacciones entre cianobacterias y cladóceros, es el que el alga presente no afecte la reproducción de los crustáceos (Lundstedt y Brett, 1991).

Gilbert (1990) y Hanazato y Yasuno (1987) han encontrado que los cladóceros alimentados con *Microcystis* sp. adquieren una resistencia fisiológica. Por ejemplo, *D. galeata*, un clon que coexistió con *Microcystis* sp. tóxica en el reservorio de Bautzen (Jungmann y Benndorf, 1994), no mostró evidencia de inhibición de alimentación después de una hora de exposición (DeMott, 1999).

La diversidad de respuestas hace difícil especular su significado adaptativo. No se sabe cuál es el mecanismo que emplea *Daphnia* spp. Para regular su alimentación en condiciones poco favorables (Jungmann et al., 1991).

Para detectar las toxinas de cianobacterias hay métodos fisicoquímicos que son costosos y complejos (Pizzolon, 1996); No obstante, existe un método sencillo y barato que puede emplearse con este fin y es el del bioensayo. En este tipo de ensayos, se miden las diferencias entre tasa de crecimiento de cladóceros como *Daphnia* y su sensibilidad a las cianobacterias tóxicas (Peñaloza et al., 1990; Vasconcelos, 1990 y Rohrlack et al., 1999).

La realización de bioensayos, midiendo el crecimiento de diferentes especies de cladóceros con distintas sensibilidades a las toxinas, se puede usar con la finalidad de probar el impacto potencial de *Microcystis* tóxica sobre el plancton. Los experimentos en laboratorio han demostrado que a partir de la densidad de cladóceros es posible evaluar el impacto potencial de algas tóxicas en la naturaleza. *D. pulex* es una especie recomendable para llevar a cabo dichos bioensayos (DeMott, 1999), por su alta sensibilidad a *Microcystis*

tóxica (Hietala et al., 1996), empezando a morir después de las 24 hrs. de exposición a  $1 \times 10^4$  cel  $ml^{-1}$ . de *Microcystis* sp. (DeMott et al., 1991).

Con base en la información recopilada, se enfocó la presente investigación a estudiar el crecimiento poblacional de tres especies de cladóceros, *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia*, alimentadas con cianobacterias (*Microcystis aeruginosa*) y microalga verde (*Chlorella vulgaris*). El diseño experimental contempla despejar las siguientes hipótesis: 1) Al alimentar los organismos con cianobacterias la tasa de crecimiento poblacional variaría con la especie, con el tamaño de los organismos y con sus hábitos alimenticios. 2) Dicha tasa de crecimiento sería dependiente de la disponibilidad de alimento por una parte, y de la sensibilidad del cladóceros a las toxinas de las cianobacterias, por otra. 3) Si las especies de prueba pueden alimentarse y reproducirse adecuadamente con cianobacterias, también lo harán cuando se alimenten con algas verdes.

En la Ciudad de México, la realización de este tipo de estudios es importante ya que los florecimientos de *M. aeruginosa* son frecuentes presentándose en los Lagos de Chapultepec (Alcocer, 1988), en la Pista Olímpica de Remo y Canotaje "Virgilio Uribe" (Alva, 1996; Montoya, 1997, Alva y Ruiz, 1998), en el Parque Ecológico de Huayamilpas (González et al., 1998), en el Deportivo Ecológico de Cuernavaca (Alva, 1999a), en la Alameda Oriente, en el Bosque de Tlahuac, en el Parque Tezozomoc y en el Lago del Bosque de Aragón (Alva, 1999b). Y estos florecimientos causa el decremento de la calidad del agua y la disminución de posibles usos del recurso acuático para fuente de abastecimiento para su

consumo humano, industriales, uso recreativo y estético, entre otros, generando con esto pérdidas económicas (Herath, 1997).

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el crecimiento poblacional y la abundancia máxima de *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia* al ser alimentadas con *Microcystis aeruginosa* y *Chlorella vulgaris* a concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$
2. Conocer cuál de las 3 especies de cladóceros seleccionadas es la más resistente a la presencia y consumo de cianobacterias.
3. Determinar, de las tres especies de cladóceros, cual es la que presentó mayor tasa de crecimiento poblacional bajo condiciones experimentales establecidas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Las especies de cladóceros seleccionadas para la investigación fueron: *Daphnia pulex* Leydig, 1860 ( $2.5 \pm 0.3$  mm), *Moina macrocopa*, Goulden, 1968 ( $1.25 \pm 0.12$  mm) y *Ceriodaphnia dubia*, Richard, 1894 ( $2.0 \pm 0.2$  mm). Las cepas se obtuvieron en el embalse Manuel Avila Camacho ubicado en el Estado de Puebla ( $18^\circ 53'$  y  $18^\circ 57'$  Latitud Norte y  $98^\circ 06'$  con  $98^\circ 15'$  Longitud Oeste a una Altitud de 2100 msnm).

Las cepas se mantuvieron en el laboratorio en un medio sintético (EPA: 96 mg  $\text{NaHCO}_3$ , 60 mg  $\text{CaSO}_4$ , 60 mg  $\text{MgSO}_4$  y 4 mg  $\text{KCl}$  en un litro de agua destilada; (Anónimo, 1985) y

consumo humano, industriales, uso recreativo y estético, entre otros, generando con esto pérdidas económicas (Herath, 1997).

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el crecimiento poblacional y la abundancia máxima de *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia* al ser alimentadas con *Microcystis aeruginosa* y *Chlorella vulgaris* a concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$
2. Conocer cuál de las 3 especies de cladóceros seleccionadas es la más resistente a la presencia y consumo de cianobacterias.
3. Determinar, de las tres especies de cladóceros, cual es la que presentó mayor tasa de crecimiento poblacional bajo condiciones experimentales establecidas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Las especies de cladóceros seleccionadas para la investigación fueron: *Daphnia pulex* Leydig, 1860 ( $2.5 \pm 0.3$  mm), *Moina macrocopa*, Goulden, 1968 ( $1.25 \pm 0.12$  mm) y *Ceriodaphnia dubia*, Richard, 1894 ( $2.0 \pm 0.2$  mm). Las cepas se obtuvieron en el embalse Manuel Avila Camacho ubicado en el Estado de Puebla ( $18^\circ 53'$  y  $18^\circ 57'$  Latitud Norte y  $98^\circ 06'$  con  $98^\circ 15'$  Longitud Oeste a una Altitud de 2100 msnm).

Las cepas se mantuvieron en el laboratorio en un medio sintético (EPA: 96 mg  $\text{NaHCO}_3$ , 60 mg  $\text{CaSO}_4$ , 60 mg  $\text{MgSO}_4$  y 4 mg KCl en un litro de agua destilada; (Anónimo, 1985) y

consumo humano, industriales, uso recreativo y estético, entre otros, generando con esto pérdidas económicas (Herath, 1997).

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el crecimiento poblacional y la abundancia máxima de *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia* al ser alimentadas con *Microcystis aeruginosa* y *Chlorella vulgaris* a concentraciones de 0.75, 1.5 y 3.0 X 10<sup>6</sup> células ml<sup>-1</sup>
2. Conocer cuál de las 3 especies de cladóceros seleccionadas es la más resistente a la presencia y consumo de cianobacterias.
3. Determinar, de las tres especies de cladóceros, cual es la que presentó mayor tasa de crecimiento poblacional bajo condiciones experimentales establecidas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Las especies de cladóceros seleccionadas para la investigación fueron: *Daphnia pulex* Leydig, 1860 (2.5 ± 0.3 mm), *Moina macrocopa*, Goulden, 1968 (1.25 ± 0.12 mm) y *Ceriodaphnia dubia*, Richard, 1894 (2.0 ± 0.2 mm). Las cepas se obtuvieron en el embalse Manuel Avila Camacho ubicado en el Estado de Puebla (18° 53' y los 18° 57' Latitud Norte y 98° 06' con 98° 15' Longitud Oeste a una Altitud de 2100 msnm).

Las cepas se mantuvieron en el laboratorio en un medio sintético (EPA: 96 mg NaHCO<sub>3</sub>, 60 mg CaSO<sub>4</sub>, 60 mg MgSO<sub>4</sub> y 4 mg KCl en un litro de agua destilada; (Anónimo, 1985) y

micro alga verde *Chlorella vulgaris* en forma unicelular durante tres meses antes de empezar la fase experimental.

Los cultivos se iniciaron con una hembra partenogénica, vía reproducción asexual para evitar cambios genéticos significativos que indujeran errores de manejo experimental. La densidad de los cultivos fue de 100 a 1000 individuos l<sup>-1</sup>.

El alga *C. vulgaris* ( $5.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ) se cultivó (anexo A) usando el medio de Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1988); (Anexo B). Estas algas se emplearon como alimento de referencia en el estudio.

Para obtener la cianobacteria *M. aeruginosa* Kütz. se hicieron muestreos en varios cuerpos de agua del Distrito Federal, México donde existían antecedentes de florecimientos de *M. aeruginosa*: Lago de Chapultepec (Alcocer, 1988), Pista Olímpica de Remo y Canotaje Virgilio Uribe (Alva, 1996; Montoya, 1997; Alva y Ruiz, 1998) Deportivo Ecológico de Cuernavaca, y la Alameda Oriente (Alva, 1999b).

El cuerpo de agua que presentó florecimientos de *M. aeruginosa* en la época de febrero a mayo, fue el del Parque Alameda Oriente, y se encontró en condiciones descritas por (Zohary y Breen, 1989; Zohary y Pais Maderia, 1990) que son las útiles para esta investigación.

La Alameda Oriente, antes laguna de Xochiaca, está ubicada en la delegación Venustiano Carranza en la Ciudad de México (19° 26' 00'' Latitud Norte y 99° 05' 00'' Longitud Oeste a una Altitud de 2234 msnm). Es un parque recreativo, creado en 1989; tiene cinco estanques con un área total de 11 hectáreas. El agua suministrada al lago proviene del Lago de Aragón y debido a que el agua es tratada a nivel secundario contiene exceso de nutrimentos que favorece el crecimiento de florecimientos de cianobacterias de *M. aeruginosa* que permanecen y se acumulan en las orillas protegidas del viento, siendo muy evidentes en la época de calor (com. pers. Pilar Herrera).

#### **Recolección de *Microcystis aeruginosa***

La *M. aeruginosa* se recolectó cada cinco días utilizando dos frascos de plástico de 1.5 lts., que se sumergían lentamente, bajo el florecimiento, dejando la boca de la botella a 1 cm de la superficie. Enseguida, se inclino cuidadosamente para que la muestra del florecimiento se deslizara dentro de la botella hasta su llenado total; posteriormente se tapo y se traslado al laboratorio, en donde permaneció en refrigeración por 24 h. Aprovechando la facultad de *M. aeruginosa* de flotar, fue posible separarla del exceso de agua y de otros organismos y se filtró a través de mallas de diferentes tamaños, de 50 µm hasta 500 µm.

Las colonias de *M. aeruginosa* se disgregaron a forma unicelular por medio de un sonicador. El método utilizado fue el propuesto por Box (1981) modificando solamente la cantidad de *M. aeruginosa* a disgregar, de 20 ml de alícuota a 50 ml. Este método consiste en lo siguiente: Con un sonicador marca (Branson Sonic Power Co.) se disgregó una

muestra de 40 ml de *M. aeruginosa* contenida en un recipiente de 50 ml. El sonicador se ajusto a 20 kHz a 50 W ml<sup>-1</sup> por 60 s.

A la muestra se le extrajeron alicuotas con una pipeta Pasteur y se depositaron en un hemocitómetro (Improved Neubauer Boeco; 1/10 mm de profundidad) y utilizando un microscopio óptico (Nikon) se evaluaron las células cualitativamente para verificar si había o no lisis y se contaron. Las dimensiones de *M. aeruginosa* en forma unicelular fueron  $4.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$  y por dilución de las muestras se obtuvieron las concentraciones experimentales de 0.75, 1.5 y  $3.0 \times 10^6$  células ml<sup>-1</sup>. Las concentraciones de *C. vulgaris* que se emplearon, fueron iguales a las de *M. aeruginosa*. El pH se mantuvo entre 7.0 y 7.5 unidades; la temperatura fue de  $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  y el foto período se fijo en 12/12 h. luz y oscuridad mediante lámparas tubulares de luz fluorescente de 75 watts. Las especies de algas utilizadas no eran asépticas.

### **Crecimiento poblacional**

Los experimentos sobre el crecimiento poblacional de los cladóceros se llevaron a cabo en vasos de precipitado de 100 ml con 50 ml del medio EPA. Los tres cultivos se mantuvieron con dos tipos de alimento, *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* en forma unicelular. Los experimentos se hicieron por triplicado así, se emplearon, en total 54 vasos (tres especies X dos tipos de alimento X tres concentraciones X tres repeticiones de cada uno).

A cada uno de los vasos se les introdujo 10 individuos de cada especie de cladóceros seleccionada *D. pulex*, *M. macrocopa* y *C. dubia*.

La población introducida inicialmente estaba constituida por una mezcla de neonatos, juveniles y adultos (sin epifias). Todos los individuos de cada vaso se contaron cada 24 h, bajo microscopio estereoscópico (Nikon) con un aumento de 20 X y, enseguida, se transfirieron a un medio que contenía las mismas concentraciones de alimento. Los cladóceros muertos ( $N\ ml^{-1}$ ) no se consideraron y se eliminaban; sólo los individuos vivos se trasladaron a los vasos con el medio fresco.

Los experimentos finalizaron cuando las poblaciones concluían un ciclo vital entre 20 a 30 días o tenían la tendencia a disminuir en número; en general el lapso fue de tres a cuatro semanas, dependiendo de la especie.

Para el cálculo del crecimiento poblacional ( $r$ ) se utilizó la siguiente fórmula exponencial (Krebs, 1985):

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

donde:  $\ln$  es el logaritmo natural,  $N_0$  es la densidad poblacional inicial,  $N_t$  es la densidad poblacional después del tiempo  $t$  y  $t$  es el tiempo.

Para efectuar dicho cálculo, se seleccionaron tres puntos durante la fase exponencial del crecimiento poblacional de la curva de cada repetición, para que el resultado fuera representativo de la población (Dumont et al., 1995).

Las variables a medir fueron:

- ❖ Tasa de crecimiento poblacional: Es la tasa a la que una población aumenta o disminuye en un determinado tiempo, debido al incremento natural, expresada como porcentaje de la población base diferenciando principalmente entre su natalidad y mortalidad. Es un valor que se puede obtener utilizando los datos de la abundancia diaria de zooplancton (Lampert y Sommer, 1997).
  
- ❖ Abundancia máxima, Nos ayudara a detectar el mayor número (o biomasa) que puede alcanzar una población de una especie bajo ciertas condiciones especificadas (Lampert y Sommer, 1997).
  
- ❖ Tiempo para alcanzar la abundancia máxima, significa el tiempo necesario para la población en alcanzar un valor muy alto en número o biomasa bajo condiciones especificadas (Lampert y Sommer, 1997).

El efecto del tipo y de la densidad del alimento sobre tasa de crecimiento poblacional, la abundancia máxima y el día de abundancia máxima se comprobaron mediante un análisis de varianza tomado de Sokal y Rohlf (1981).

## RESULTADOS

Para *D. pulex* bajo los diferentes niveles de *C. vulgaris* el crecimiento poblacional comenzó entre el día 6 al 9, alcanzando su valor máximo entre el día 14 y el 16. Para *M. macrocopa* el crecimiento comenzó entre el día 2 al 3, alcanzando su valor máximo entre el día 17 y 20. Para *C. dubia* el crecimiento de los organismos en la concentración de  $0.75 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> comenzó entre el día 10 al 13 y en  $1.5 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> tuvo un ligero incremento entre el día 26 a 28. El valor máximo se obtuvo en la concentración de  $0.75 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> entre los días 22 a 30 y en  $1.5 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fue en los días 29 a 30 y en  $3.0 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> en los días 11 a 13.

Con *M. aeruginosa* el crecimiento poblacional de las tres especies es diferente, en *D. pulex*, comenzó entre el día 4 al 6 en todas las concentraciones, alcanzando su máximo entre el día 27 y 30. Para *M. macrocopa* no hubo crecimiento, y antes del tercer día, todos los organismos en todas las concentraciones ya habían muerto. Con *C. Dubia*, el crecimiento comenzó entre el día 6 a 8 en todas las concentraciones alcanzando su máximo entre el día 20 a 22 en las concentraciones de  $0.75 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> y  $1.5 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> y entre el día 24 a 26 en la concentración de  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> (figuras 1 a 3).

La abundancia máxima para la especie *D. pulex* con *C. vulgaris* el rango de densidad pico de individuos en  $0.75 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fue de 2.08 a 2.66 ind ml<sup>-1</sup>, en  $1.5 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> de 3.52 a 4.62 ind ml<sup>-1</sup> y en  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fue de 4.44 a 8.04 ind ml<sup>-1</sup>, para *M. macrocopa* el rango de abundancia máxima de individuos en  $0.75 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fue de 2.74 a 2.80 ind

ml<sup>-1</sup>, en 1.5 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> de 3.94 a 6.06 ind ml<sup>-1</sup> y en 3 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> de 6.44 a 7.62 ind ml<sup>-1</sup>. Con *C. dubia* el rango de abundancia máxima de individuos en 0.75 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> fue de 5.4 a 6.78 ind ml<sup>-1</sup>, en 1.5 X 10<sup>6</sup> de 0.66 a 2.54 ind ml<sup>-1</sup> y en 3 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> de 0.28 a 0.44 ind ml<sup>-1</sup>.

Con *M. aeruginosa* para *D. pulex* el rango de abundancia máxima de individuos en 0.75 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> fue entre 1.8 a 2.58 ind ml<sup>-1</sup>, en 1.5 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> de 3.88 a 5.78 ind ml<sup>-1</sup> y en 3 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> de 9.12 a 10.66 ind ml<sup>-1</sup>. Con *M. macrocopa* el rango de abundancia máxima de individuos en 0.75 X 10<sup>6</sup> fue de 0.08 a 0.18 ind ml<sup>-1</sup>, en 1.5 X 10<sup>6</sup> de 0.08 a 0.24 ind ml<sup>-1</sup> y en 3 X 10<sup>6</sup> de 0.1 a 0.2 ind ml<sup>-1</sup> y con *C. dubia* el rango de abundancia máxima de individuos en la concentración 0.75 X 10<sup>6</sup> fue de 12.54 a 15.14 ind ml<sup>-1</sup>, en 1.5 X 10<sup>6</sup> fue entre 23.84 a 28.02 ind ml<sup>-1</sup>, y en 3 X 10<sup>6</sup> de 35.02 a 38.28 ind ml<sup>-1</sup> (fig. 4).

El análisis de varianza efectuado sobre las densidades máximas de población en las 3 especies de cladóceros alimentadas con *C. vulgaris* mostraron ser altamente significativas *D. pulex* (P < 0.05), *M. macrocopa* (P < 0.01) y *C. dubia* (P < 0.05). Y las alimentadas con *M. aeruginosa* *D. pulex* y *C. dubia* fueron muy significativa con (P < 0.001). *M. macrocopa* resulto no significativa.

En la comparación de la máxima densidad poblacional de *D. pulex* alimentada con *M. aeruginosa* y *C. vulgaris* resulto no significativa en cambio *M. macrocopa* y *C. dubia* fueron significativas con un valor de (P < 0.001).

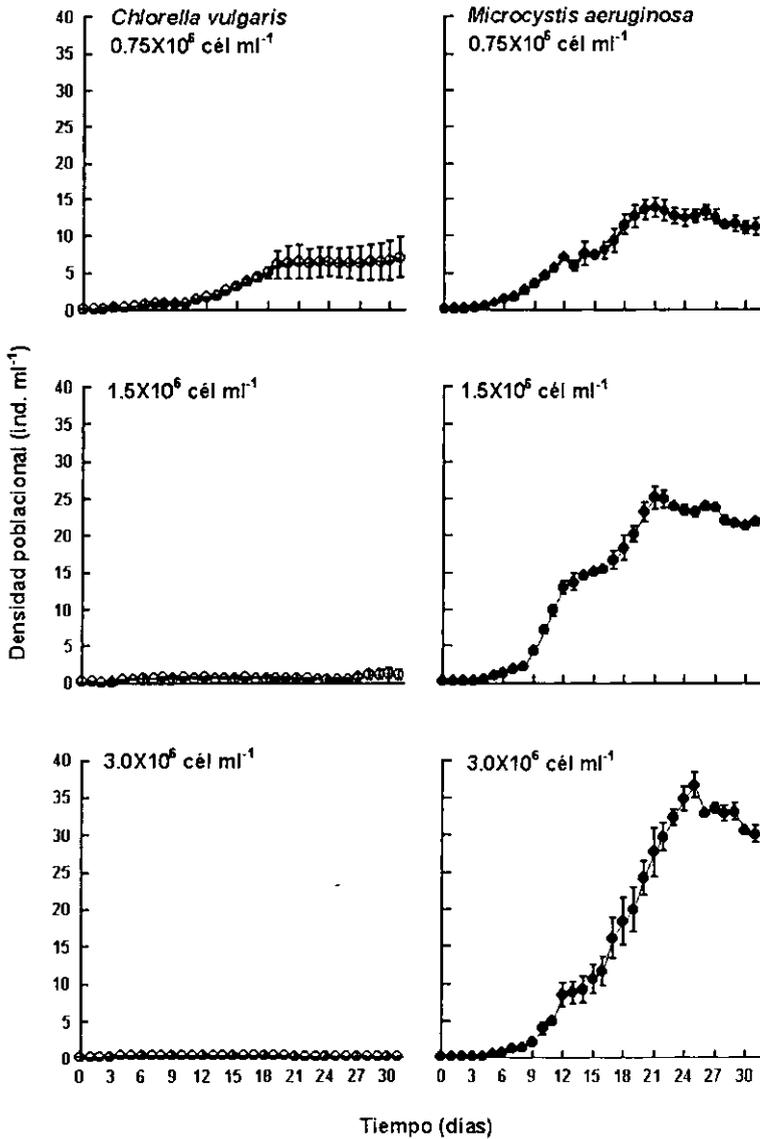


Fig. 1. Crecimiento poblacional de *C. dubia* alimentada con *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* a diferentes densidades 0.75, 1.5 y 3.0 X 10<sup>6</sup> cél. ml<sup>-1</sup>. Se muestran la media  $\pm$  valores del error estándar con los 3 replicados

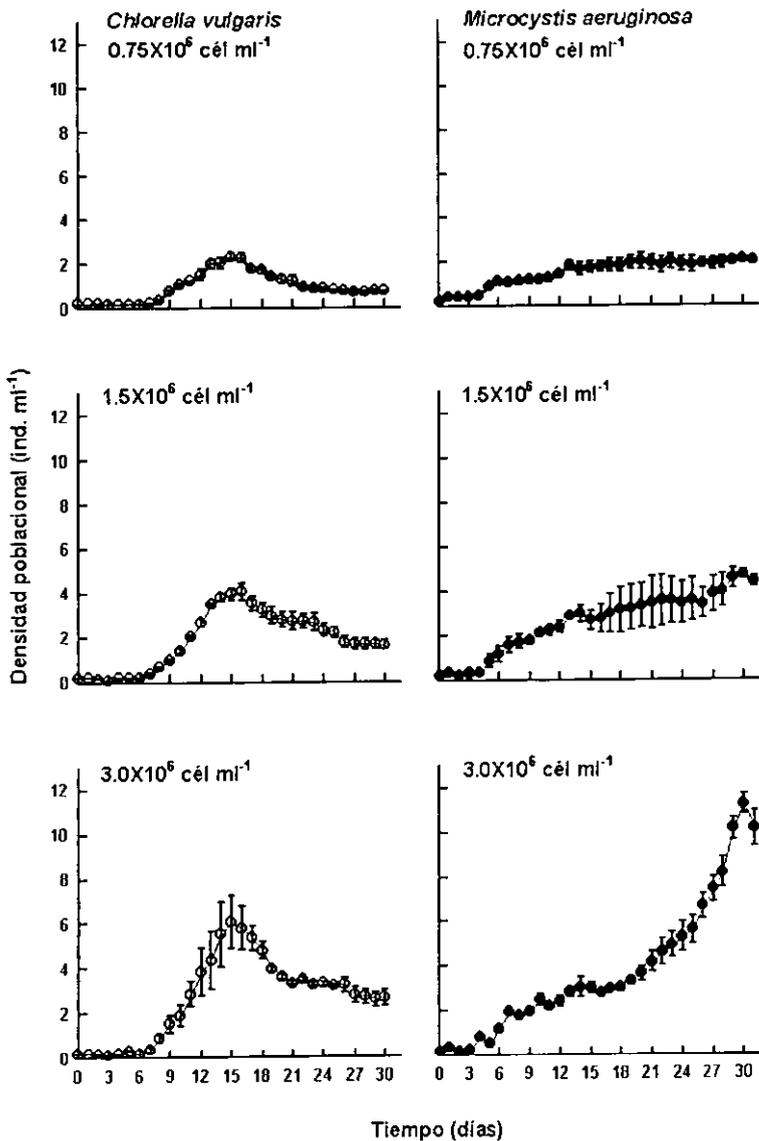


Fig 2. Crecimiento poblacional de *D. pulex* alimentada con *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* a diferentes densidades 0.75, 1.5 y 3.0 X 10<sup>6</sup> cél. ml<sup>-1</sup>. Se muestran la media  $\pm$  valores del error estándar con los 3 replicados

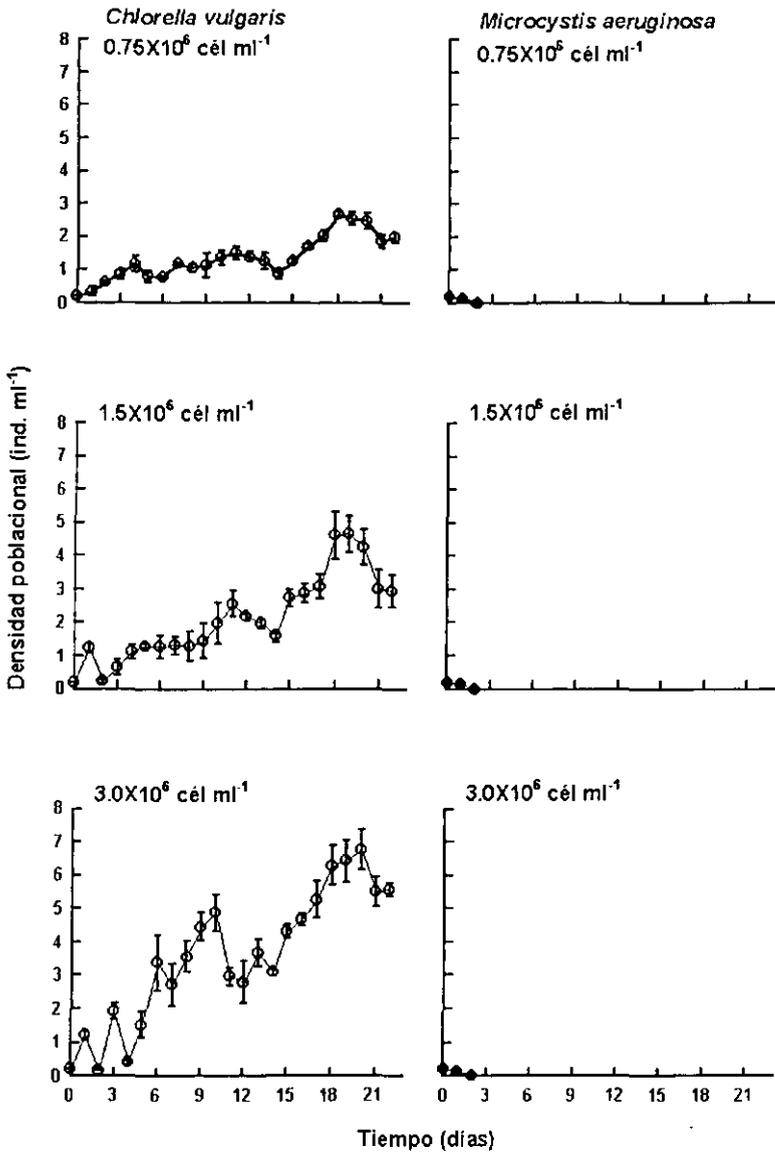


Fig. 3. Crecimiento poblacional de *M. macrocopa* alimentada con *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* a diferentes densidades 0.75, 1.5 y 3.0 X 10<sup>6</sup> cél. ml<sup>-1</sup>. Se muestran la media ± valores del error estándar con los 3 replicados.

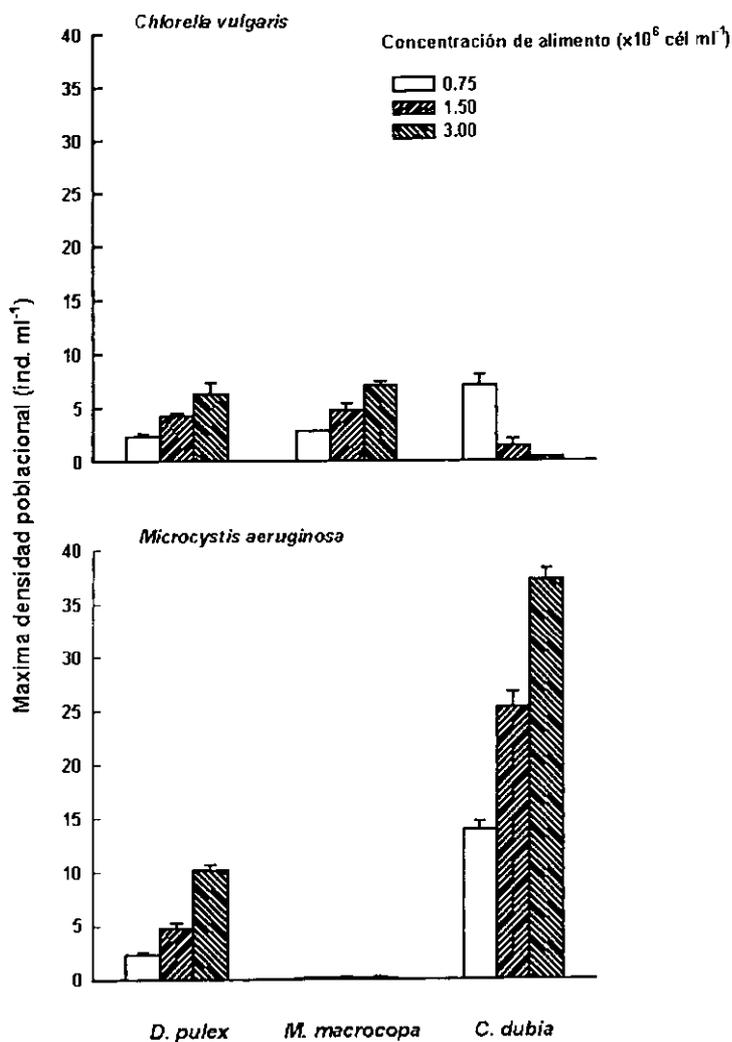


Fig. 4. Densidad poblacional máxima (ind.  $ml^{-1}$ ) de *C. dubia*, *D. pulex* y *M. macrocopa* alimentadas con *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* a tres diferentes densidades. Se muestra la media  $\pm$  valores error estándar en 3 replicados.

Con respecto a la tasa de crecimiento poblacional ( $r$ ) derivado de la ecuación exponencial se obtuvo lo siguiente para *D. pulex* con *C. vulgaris*: La ( $r$ ) en las concentraciones de 0.75 X 10<sup>6</sup> es de 0.144 – 0.198, para 1.5 X 10<sup>6</sup> de 0.155 – 0.217 y en 3 X 10<sup>6</sup> de 0.233 – 0.262. Con *M. macrocopa*, la ( $r$ ) en las concentraciones de 0.75, 1.5 y 3 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> es de 0.117 – 0.137, 0.141 – 0.193 y 0.216 – 0.262. Y con *C. dubia*. La ( $r$ ) en las concentraciones de 0.75, 1.5 y 3 X 10<sup>6</sup> de cél ml<sup>-1</sup> es de 0.165 – 0.227, 0.103 – 0.132 y 0.039 – 0.064.

Con *M. aeruginosa* en *D. pulex* la ( $r$ ) en las concentraciones de 0.75, 1.5 y 3 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> es de 0.091 – 0.103, 0.124 – 0.203 y 0.202 – 0.258. Con *M. macrocopa* la ( $r$ ) en las concentraciones de 0.75, 1.5 y 3 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> es de -0.105 - -0.916, -0.182 - -0.916 y 0.0 - -0.693 y de *C. dubia* la ( $r$ ) en las concentraciones de 0.75, 1.5 y 3 X 10<sup>6</sup> cél ml<sup>-1</sup> es de 0.191 – 0.199, 0.205 – 0.228 y 0.224 – 0.239 (fig. 5).

Estadísticamente los rangos del incremento poblacional de los 3 cladóceros utilizados alimentados con *C. vulgaris* mostraron ser significativos. Con *D. pulex* ( $P < 0.05$ ), *M. macrocopa* ( $P < 0.01$ ) y *C. dubia* ( $P < 0.001$ ) con *M. aeruginosa* solo *M. macrocopa* resulto no significativa en cambio *C. dubia* y *D. pulex* con ( $P < 0.01$ ) si fueron significativas.

La comparación de los valores del crecimiento poblacional de *D. pulex* con *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* resultaron igual que con *C. vulgaris* no significativos y los valores de *C. dubia* y *M. macrocopa* fueron significativos con ( $P < 0.001$ ).

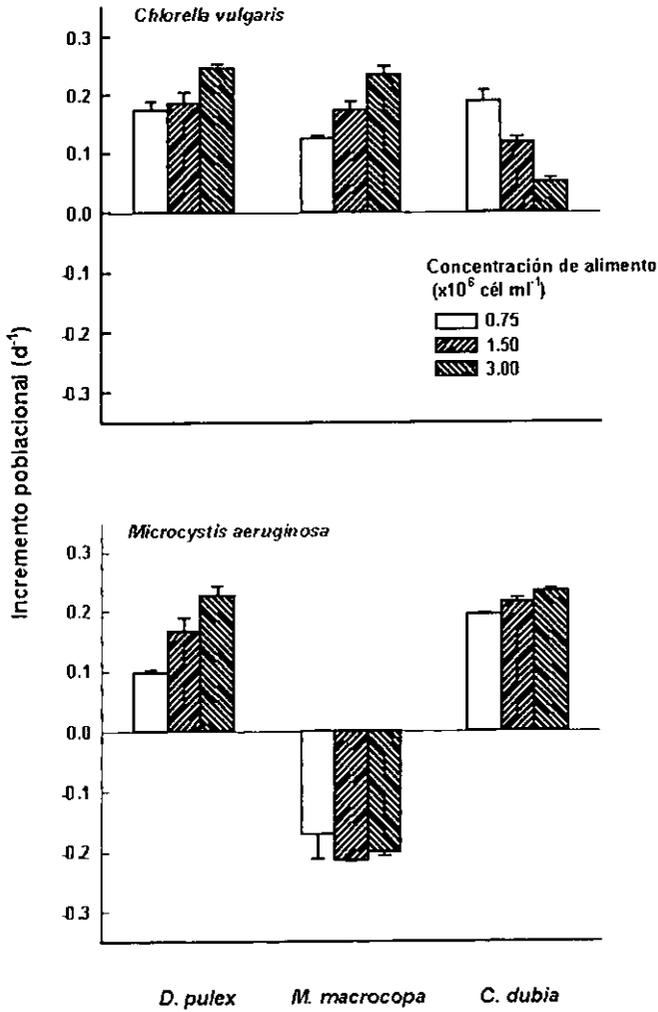


Fig. 5. Crecimiento poblacional ( $d^{-1}$ ) de *C. dubia*, *D. pulex* y *M. macrocopa* alimentada con *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* a tres diferentes densidades. Se muestra la media  $\pm$  valores error estándar en 3 replicados.

Con respecto al tiempo para alcanzar el valor de abundancia máxima, *D. pulex* con *C. vulgaris* en las concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> respectivamente fueron de 13 a 15, 15 a 16 y de 15 a 18 días. Para *M. macrocopa* en las concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fueron de 18 a 19, 18 a 19 y 18 a 20 días. Para *C. dubia* el día de abundancia máxima en las concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fueron 14 a 18, 7 a 10 y 6 a 12 días.

El día de abundancia máxima para *D. pulex* con *M. aeruginosa* en las concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fue entre 20 a 30, 22 a 30 y 29 días. Para *M. macrocopa* en las concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fue de 1 día y para *C. dubia* en las concentraciones de 0.75, 1.5 y  $3 \times 10^6$  cél ml<sup>-1</sup> fueron 21, 21 a 27 y 25 a 28 días

Estadísticamente se demostró que de los 3 cladóceros alimentados con *C. vulgaris*, *D. pulex* y *M. macrocopa* no son significativos para el día de abundancia máxima, solo fue significativa *C. dubia* con ( $P < 0.05$ ) y con la cianobacteria *M. aeruginosa*, dos cladóceros *D. pulex* y *C. dubia* resultaron no significativos. La comparación entre el alimento *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* del día de abundancia máxima *D. pulex* y *C. dubia* fueron muy significativas ( $P < 0.001$ ) (tabla 1).

## DISCUSIÓN

En la literatura referente al manejo de los cuerpos de agua, como lagos y estanques. Existe una extensa información sobre el uso de cladóceros para el control de florecimientos de *Microcystis aeruginosa* (Gulati et al., 1990; Burns, 1998; Steffensen et al., 1999). En el presente estudio, se comparó el crecimiento poblacional de tres especies de cladóceros de talla entre 950 - 2400  $\mu\text{m}$  alimentados con esta alga y comparando su desarrollo con el alga verde *Chlorella vulgaris*.

De Bernardi y Giussani (1990) menciona que son tres los factores que disminuyen el consumo de las cianobacterias por parte de los cladóceros: el primero de ellos menciona el aspecto tóxico en que algunas especies de cianobacterias contienen toxinas en su interior que matan a los cladóceros que la consuman.

En exámenes preliminares y en esta investigación, los individuos de *Moina macrocopa* indicaron una alta y rápida mortalidad, presentandose entre el segundo y el tercer día cuando se alimentaban de *Microcystis aeruginosa* en forma de células sencillas, confirmando lo encontrado en el aspecto del tiempo de vida por DeMott y Gulati (1999) donde consideran tóxicas a las cianobacterias cuando el zooplancton muere rápidamente existiendo estas como única fuente de alimento. Con lo anterior se demuestra que la *Microcystis aeruginosa* utilizada en esta tesis pudo contener elementos tóxicos que inhibieron la reproducción de *Moina macrocopa* en los tres niveles de dieta, afirmando lo comprobado por Yasuno et al (1998) *Moina macrocopa* es sensitiva a *Microcystis aeruginosa*.

Por otra parte *Daphnia pulex* y *Ceriodaphnia dubia* pudieron utilizar las células de *Microcystis aeruginosa* coincidiendo con lo reportado por Benndorf y Henning (1989) donde reportan que *Daphnia* puede crecer y reproducirse en presencia de altas densidades de colonias y filamentos de cianobacterias tóxicas.

Debiéndose a que algunos cladóceros tienen una capacidad de adaptación a *Microcystis* spp. en cuerpos de aguas naturales (Gilbert, 1990) y en este experimento las curvas de crecimiento claramente demostraron que *D. pulex* y *C. dubia* requieren de más tiempo para alcanzar los picos de abundancia con *Microcystis aeruginosa* que con *Chlorella vulgaris* sugiriendo un periodo inicial de adaptación al alga, así como a la sensibilidad de las toxinas que son equivalente a una baja concentración de alimento. Cabe mencionar que la reducción en la tasa de crecimiento y de reproducción puede ser causada o inhibida, dependiendo de la sensibilidad fisiológica de las especies de cladóceros, según el potencial tóxico de los compuestos contenidos por las cianobacterias y por el número de las células ingeridas (Ahlgren et al., 1990; Gilbert y Durand, 1990; DeMott et al., 1991; DeMott, 1999).

Hietala et al. (1995) y Nandini y Rao (1998) mostraron experimentalmente que, una alimentación exclusiva con *M. aeruginosa* el zooplancton requiere de un periodo inicial de adaptación, resultando en un tamaño reducido del cuerpo y disminución en alcanzar el tiempo de maduración del cladóceros. Y en donde a baja concentración de alimento y elementos tóxicos los animales juveniles crecen más lentamente, retrasando su

reproducción hasta que se encuentren condiciones más favorables (Taylor, 1985; DeMott, 1999).

La presencia y toxicidad de las cianobacterias puede variar en los hábitats de los estanques a través del tiempo y consecuentemente en éstos hábitats, la variabilidad clonal en favor de la resistencia a las cianobacterias será importante para *Daphnia* sp. (Hietala et al., 1997). - or lo que para futuros estudios *in situ* se debe de tomar este factor en cuenta.

El segundo factor es el mecánico: los cladóceros no pueden consumir partículas mayores a las 50  $\mu\text{m}$  y debido a que las cianobacterias forman colonias multicelulares o bien filamentos como en el caso de *M. aeruginosa*, con medidas de colonias mayores a 400  $\mu\text{m}$ , su consumo se limita.

De acuerdo con De Bernardi et al. (1981) y Nandini y Rao (1998) el tamaño de las colonias de *M. aeruginosa* es el factor que las hace inaceptables como alimento, más que su digestibilidad. Experimentalmente se demostró que estas pequeñas colonias de *Microcystis* pueden ser alimento adecuado para *Daphnia obtusa* y *Daphnia hyalina* y estos autores sugieren que *M. aeruginosa* puede ser eficientemente utilizada si está en forma unicelular o en colonias en formación. Siendo el tamaño de la partícula preferida entre los rangos de 1 a 25  $\mu\text{m}$  (Dodson y Frey, 1991).

Por lo que en estos experimentos al ofrecer las colonias de *Microcystis aeruginosa* disgregadas en forma unicelular se puede evitar el problema mecánico de su consumo y

*Daphnia pulex* como *Ceriodaphnia dubia* la pudieron consumir no así *Moina macrocopa* que aun quitando el impedimento mecánico no la consumió debido a su sensibilidad a esta alga.

En general, los cladóceros grandes como *Daphnia* pueden ingerir grandes cantidades de células de cianobacterias como *M. aeruginosa* tanto en forma de colonia como en forma unicelular y son adversamente afectados por las toxinas. (Rohrlack et al., 1999; Nandini et al., 2000). No así los cladóceros pequeños y los rotíferos que no están capacitados para ingerir colonias o filamentos grandes, debido a alguna interferencia mecánica y efectos tóxicos (Starkweather y Kellar, 1983).

La información de las densidades máximas de población alcanzadas por las varias especies de cladóceros sugiere que el tamaño del cuerpo es importante generalmente pequeño en especies numéricas más abundantes que las especies grandes. Por ejemplo *Daphnia* y *Simocephalus* que son taxa de tamaño grande son encontrados normalmente menos de 10 ind ml<sup>-1</sup>, mientras que especies pequeñas de cladóceros como *Diaphanosoma* puede alcanzar cerca de 130 ind ml<sup>-1</sup>, (Segawa y Yang, 1988; Havens y East 1997). En este estudio las especies grandes como *D. pulex* alcanzo una baja densidad menor que la de *C. dubia* cuando se alimento de *Microcystis*. Así como *D. pulex* alcanzo una menor densidad comparada con *M. macrocopa* alimentada con *Chlorella vulgaris*.

*Daphnia* y *Ceriodaphnia* tienen un patrón similar de respuesta en su alimentación. A bajas concentraciones de alimento, las dos especies comienzan a regular su alimentación, decreciendo sus rangos de filtración (Haney y Trout, 1985)

Otra de las explicaciones del periodo retardado de crecimiento poblacional por parte de los cladóceros que pudieron consumir *M. aeruginosa* en esta investigación fue que, *Microcystis aeruginosa* puede potencialmente afectar la capacidad natatoria y de ingesta de *Daphnia* al afectar el mecanismo de ingesta y reducir la frecuencia de filtración de los apéndices torácicos al disminuir el movimiento de la mandíbula. En consecuencia la eficiencia de filtración y la cantidad de alimento transportado a través del esófago es menor (Lampert y Sommer, 1997; Rohrlack et al., 1999).

*El tercer factor es el nutricional:* las cianobacterias no tienen valor nutricional por lo que no son buenas aportadoras de energía.

La concentración de *Chlorella vulgaris* y de *Microcystis aeruginosa* fueron utilizadas con anterioridad en otras especies de cladóceros, basadas en los niveles que ocurren naturalmente en los cuerpos de agua naturales (Ha et al., 1999; Manage et al. 1999; Matthiensen et al., 1999). La abundancia máxima encontrada en este estudio está dentro de los intervalos mencionados para otras especies de cladóceros (ver tabla 2). Por ejemplo *C. cornuta* pudo alcanzar una abundancia máxima cercana a los 10 ind ml<sup>-1</sup>. Por otro lado especies grandes como *Daphnia magna* pueden alcanzar solamente cerca de 1 ind ml<sup>-1</sup>. En

el presente trabajo, *D. pulex* pudo alcanzar cerca de 10 ind ml<sup>-1</sup>. mientras *C. dubia* pudo alcanzar más de 35 ind ml<sup>-1</sup>.

Existen varios aspectos que se deben considerar cuando se determina la calidad nutricia de las algas para el zooplancton, entre ellos destacan el tener un tamaño adecuado, pared celular digerible, no tóxica y con una composición química apropiada (Ahlgren et al., 1990). Aparentemente *Microcystis* sp. carece de importantes constituyentes necesarios para el crecimiento de los cladóceros como *D. pulex* (Lürling y Van Donk, 1997) sin embargo Vasconcelos (1991) indica que *M. aeruginosa* tiene valor nutricional y Krüger et al. (1995) encontraron que *Microcystis* sp. contiene sustancialmente cantidades de ácidos grasos  $\omega$  (omega) 3 y ácido linolénico sustancias necesarias para el crecimiento de los cladóceros.

El hecho de que *Ceriodaphnia dubia* crecen mejor con *M. aeruginosa* que con *C. vulgaris* pueden ser debido a diferentes factores. Por ejemplo diferencias en el tamaño del cuerpo (generalmente individuos de tamaño pequeño en los tratamientos de *Microcystis*), valor nutricional y contenido de proteínas (*Microcystis* pueden tener altos contenidos de proteínas que *Chlorella*), o el tamaño relativo de la célula *Chlorella* (5.5  $\mu\text{m}$ ) y *Microcystis aeruginosa* (4.5  $\mu\text{m}$ ) causando eficiencias diferentes de asimilación en estos tipos de comida (Cao et al., 1997; Reinikainen et al., 1999; Thostrup y Christoffersen, 1999). Los datos en los efectos de las diferentes densidades de *Chlorella* en la historia de vida característica de los cladóceros sugieren que el género *Ceriodaphnia dubia* se adapta bien a los bajos niveles de alimentación sin embargo a altas densidades de alga verde tienen un

efecto negativo en su crecimiento poblacional (Cuddington y McCauley, 1994; Rose et al., 2000) El estudio soporta esta observación.

Aparentemente los organismos tienen una reducción pronunciada en la tasa de alimentación cuando son colocados en mezclas que contienen materiales tóxicos. Sin embargo, con el aumento del hambre de los organismos, estos incrementan su alimentación con exposiciones continuas al alimento tóxico (DeMott, 1999). En *D. pulex* el reducido crecimiento y reproducción es causado por un inadecuado elemento nutricional de *Microcystis* sp. (DeMott, 1999, Lampert y Muck, 1985). Estudios más profundos indican que los efectos tóxicos son menores a concentraciones altas de alimento más que a las de baja concentración (Reinikainen et al., 1994).

Entre los cladóceros, el genero *Moina* tiene los más altos niveles de crecimiento población. En el presente estudio, *Moina macrocopa* y *D. pulex* tienen rangos similares de crecimiento poblacional, mientras que *C. dubia* tuvo valores más bajos (Fig. 5). Los datos observados en los rangos de crecimiento están entre los datos reportados para la mayoría de los cladóceros planctónicos (Kilham et al., 1997, Nandini y Rao, 1998).

La habilidad de algunos cladóceros para ser más eficientes en obtener suficiente energía y nutrimentos que sus competidores para crecer y reproducirse en bajo condiciones limitantes como en ambiente de cianobacterias es importante para determinar qué tan exitosa es su reproducción (Gerritsen y Kou, 1985; Reinikainen et al., 1995).

En el lago Kasumigaura Japón, con alto nivel de eutroficación, los cladóceros se alimentaron de *M. aeruginosa*, logrando un incremento en su biomasa al aumentar su reproducción. Esto siempre y cuando los florecimientos superficiales de *M. aeruginosa* entren en estado de descomposición proporcionándoles así el alimento requerido (Hanazato y Yasuno, 1987). Hanazato y Yasuno (1987) concluyeron que utilizando como alimento *M. aeruginosa*. *Moina micrura* no se reprodujo y *Moina macrocopa* si.

**Tabla 1** Datos con análisis de varianza del crecimiento poblacional de *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia* alimentadas con *Chlorella vulgaris* y de *Microcystis aeruginosa* a tres concentraciones ( $0.75 \times 10^6$ ,  $1.5 \times 10^6$  y  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ ). GL = Grados de libertad, SS = Suma de cuadrados, MS = Media de cuadrados, F = proporción  $p < 0.05$  (\*),  $p > 0.05$  (ns).

Fuente	GL	SC	MC	F
<b>Densidad poblacional máxima vs niveles de <i>C. vulgaris</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	2	23.806	11.90	9.65*
Error	6	7.398	1.23	
<i>M. macrocopa</i>				
Entre grupos	2	27.412	13.71	25.99**
Error	6	3.164	0.53	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	2	77.166	38.58	5.94*
Error	6	38.946	6.49	
<b>Densidad poblacional máxima vs niveles de <i>M. aeruginosa</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	2	97.722	48.86	77.20***
Error	6	3.798	0.63	
<i>M. macrocopa</i>				
Entre grupos	2	0.001	0.0005	0.12ns
Error	6	0.025	0.0042	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	2	817.602	408.80	120.61***
Error	6	20.337	3.39	

Fuente	GL	SC	MC	F
<b>Densidad poblacional máxima: <i>C. vulgaris</i> vs <i>M. aeruginosa</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	1	0.007	0.007	2.60ns
Error	16	0.043	0.0027	
<i>M. macrocopa</i>				
Entre grupos	1	1.843	1.84	22.67***
Error	16	1.301	0.08	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	1	0.040	0.04	18.82***
Error	16	0.034	0.0021	
<b>Día de máxima densidad poblacional vs niveles de <i>C. vulgaris</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	2	4.222	2.11	1.27ns
Error	6	10.000	1.67	
<i>M. macrocopa</i>				
Entre grupos	2	1.556	0.78	1.17ns
Error	6	4.000	0.67	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	2	93.556	46.78	8.59*
Error	6	32.667	5.44	
<b>Día de la máxima densidad poblacional vs niveles de <i>M. aeruginosa</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	2	33.556	16.78	1.06ns
Error	6	95.333	15.89	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	2	38.000	19.00	3.80ns
Error	6	30.000	5.00	

Fuente	GL	SC	MC	F
<b>Día de la máxima densidad poblacional: <i>C. vulgaris</i> vs <i>M. aeruginosa</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	1	589.389	589.39	65.89***
Error	16	143.111	8.94	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	1	636.056	636.06	52.40***
Error	16	194.222	12.14	
<b>Crecimiento poblacional vs niveles <i>C. vulgaris</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	2	0.009	0.0045	6.75*
Error	6	0.004	0.00067	
<i>M. macrocopa</i>				
Entre grupos	2	0.019	0.0095	19.00**
Error	6	0.003	0.0005	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	2	0.030	0.015	30.00***
Error	6	0.003	0.0005	
<b>Crecimiento poblacional vs niveles <i>M. aeruginosa</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	2	0.025	0.0125	15.00**
Error	6	0.005	0.00083	
<i>M. macrocopa</i>				
Entre grupos	2	0.054	0.03	0.13ns
Error	6	1.226	0.20	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	2	0.002	0.001	14.96**
Error	6	0.000401	0.000068	

Fuente	GL	SC	MC	F
<b>Crecimiento poblacional: <i>C. vulgaris</i> vs <i>M. aeruginosa</i></b>				
<i>D. pulex</i>				
Entre grupos	1	0.007	0.007	2.60ns
Error	16	0.043	0.0027	
<i>M. macrocopa</i>				
Entre grupos	1	1.843	1.84	22.67***
Error	16	1.301	0.08	
<i>C. dubia</i>				
Entre grupos	1	0.040	0.04	18.82***
Error	16	0.034	0.0021	

Tabla 2. Abundancia máxima de cladóceros (ind ml<sup>-1</sup>).

Especie	Tipo de alimento	Abundancia máxima	Día	Referencia
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	<i>C. vulgaris</i>	14	16	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	4	18	Nandini y Rao, 1998
<i>C. dubia</i>	<i>C. vulgaris</i>	7	18	Presente trabajo
	<i>M. aeruginosa</i>	37	26	Presente trabajo
<i>D. carinata</i>	<i>C. vulgaris</i>	4.2	25	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	20	8	Nandini y Rao, 1998
<i>D. galeata</i>	<i>C. reinhardtii</i>	1.1	21	Asaeda y Acharya, 2000
<i>D. magna</i>	<i>C. reinhardtii</i>	1.1	17	Asaeda y Acharya, 2000
<i>D. pulex</i>	<i>C. reinhardtii</i>	0.5		De Roos, et al., 1997
	<i>C. vulgaris</i>	6	17	Presente trabajo
	<i>Microcystis</i>	0.6	7	Lauren-Määttä et al., 1997
<i>Moina macrocopa</i>	<i>M. aeruginosa</i>	10	29	Presente trabajo
	<i>C. vulgaris</i>	5	10	Nandini y Rao, 1998
	<i>C. vulgaris</i>	7	19	Presente trabajo
	<i>M. aeruginosa</i>	2.5	12	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	0.15	1	Presente trabajo
<i>Scapholeberis kingi</i>	<i>C. vulgaris</i>	1.4	13	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	0.8	18	Nandini y Rao, 1998
<i>Simocephalus vetulus</i>	<i>C. vulgaris</i>	0.7	18	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	2.7	20	Nandini y Rao, 1998

Tabla 3. Tasa de crecimiento poblacional (r), de cladóceros.

Especie	Tipo de alimento	r	Referencia
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	<i>C. vulgaris</i>	0.32	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	0.24	Nandini y Rao, 1998
<i>C. dubia</i>	<i>C. vulgaris</i>	0.19	Presente trabajo
	<i>M. aeruginosa</i>	0.23	Presente trabajo
<i>Daphnia carinata</i>	<i>C. vulgaris</i>	0.30	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	0.10	Nandini y Rao, 1998
<i>D. galeata</i>	<i>Oscillatoria</i> sp.	0.15	Repka, 1997
	<i>Scenedesmus. obliquus</i>	0.34	Repka, 1997
<i>D. pulex</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	0.50	Lürling y Van Donk, 1997
	<i>C. vulgaris</i>	0.25	Presente trabajo
	<i>Cryptomonas pyrenoidifera</i>	0.46	Lürling y Van Donk, 1997
	<i>Microcystis</i> sp.	0.24	Hietala et al., 1997
		0.16	Lürling y Van Donk, 1997
		0.51	Walls, et al., 1997
	<i>M. aeruginosa</i>	0.23	Presente trabajo
	<i>Scenedesmus</i> sp.	0.38	Hietala et al., 1997
	<i>S. acutus</i>	0.42	Lürling y Van Donk, 1997
	<i>Synedra tenuissima</i>	0.44	Lürling y Van Donk, 1997
<i>D. pulicaria</i>	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	0.39	Kilham et al., 1997
<i>Moina macrocopa</i>	<i>C. vulgaris</i>	0.60	Nandini y Rao, 1998
	<i>C. vulgaris</i>	0.24	Presente trabajo
	<i>M. aeruginosa</i>	0.30	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	-0.57	Presente trabajo
	<i>S. incrassatulus</i>	0.73	Espinosa-Chavez, et al., 1992.
<i>Moina micrura</i>	<i>Chlorella</i> sp.	0.77	Hanazato y Yasuno, 1987
	<i>M. aeruginosa</i>	0.47	Hanazato y Yasuno, 1987
<i>Scapholeberis kingi</i>	<i>C. vulgaris</i>	0.28	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	0.18	Nandini y Rao, 1998
<i>Simocephalus vetulus</i>	<i>C. vulgaris</i>	0.29	Nandini y Rao, 1998
	<i>M. aeruginosa</i>	0.31	Nandini y Rao, 1998

## CONCLUSIONES

En conclusión, los datos obtenidos en este estudio en el crecimiento poblacional de las tres especies de cladóceros bajo los tres niveles de concentración de alimento y los dos tipos diferentes de alga revelaron una relación con la talla del cuerpo del cladóceros y su habilidad para consumir células de *M. aeruginosa*. También se encontró que de las tres especies de cladóceros utilizadas *M. macrocopa* fue el organismo más sensible a *M. aeruginosa* sonicada, siendo esta alga tóxica para este cladóceros.

Sin embargo, el hecho que de que *D. pulex* y *C. dubia* utilizadas en este estudio sean capaces de crecer alimentadas con *M. aeruginosa* sugiere que requieren de un periodo inicial de adaptación a *M. aeruginosa*, así como a su sensibilidad a las toxinas demostrado por su disminución en el tiempo de maduración. Por lo que éstas pudieran ser utilizadas más adelante en el campo para probar su eficacia en el control de las poblaciones de esta cianobacteria siempre y cuando se encuentre en un estado de unicelular o de pequeñas colonias.

Una forma de usar este experimento seria el cultivo en masa de poblaciones de *D. pulex* y *C. dubia* y emplearlas para suministrarlas en los cuerpos de agua eutróficos en periodos anteriores a un florecimiento algal cuando el mayor numero de las células de *M. aeruginosa* se encuentran todavía en forma unicelular y los cladóceros al consumirla disminuirían la formación de colonias en el medio.

Los resultados de este trabajo se podrían utilizar para fomentar que algunas especies como *M. macrocopa* y *D. pulex* se pudieran cultivar a una densidad adecuada para utilizarlas como alimento en la acuicultura, También especies resistentes a *M. aeruginosa* como *D. pulex* y *C. dubia* se pueden cultivar utilizando esta cianobacteria como alimento y luego pasarlas a los peces, sin embargo es necesario establecer posibles efectos tóxicos acumulados en el cuerpo de los cladóceros que pudieran afectar a humanos indirectamente. Para esto la biomasa se podría utilizar para cultivar especies de peces de ornatos.

Una conclusión adicional es que *Ceriodaphnia dubia* tienen un efecto negativo en su crecimiento poblacional a altas densidades de *Chlorella vulgaris* por lo cual necesita de baja concentración de alga para tener crecimiento.

## LITERATURA CITADA.

- Ahlgren, G., L. Lundstedt, M. Brett and C. Forsberg, 1990. Lipid composition and food quality of some freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters. *J. Plankton Res.*, 12(4): 809–818.
- Alcocer, J., 1988. Caracterización hidrobiológica de los lagos de Chapultepec, México. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 88 pp.
- Aleya, L., M. Durieu and J. Devaux, 1998. Estimation of bacterial production through the coupling of (Methyl 3 H) Thymidine incorporation and several parameters over a *Microcystis aeruginosa* bloom in a hypereutrophic reservoir. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, 3: 35–43.
- Alva, A., 1996. La calidad del agua en la Pista de Remo y Canotaje Virgilio Uribe, México, D.F. con base en el contenido de nutrimentos y factores físicos. Informe de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco, D.F., 35 pp.
- Alva, A., 1999a. Panorama General del estado actual de los recursos naturales del Parque Deportivo Ecológico Cuemanco. Memorias Taller Dinámico sobre conservación y mejoramiento de los cuerpos de agua y áreas verdes del Parque Deportivo Ecológico Cuemanco. 31 de julio y 1 de agosto de 1999. D.F. 13 pp.
- Alva, A., 1999b. Memorias Primera Reunión de Cuerpos de agua Artificiales del Gobierno del Distrito Federal. Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco, A.C. México, D.F. 9 de septiembre de 1999. 43 pp.
- Alva, A. y J. Ruiz, 1998. Eutroficación cultural de la Pista Olímpica de Remo y Canotaje Virgilio Uribe, Xochimilco, D.F. México. Memorias, Reunión Nacional Sobre Pequeños Embalses. 19 al 21 de agosto de 1998, México, D.F.
- Anónimo, 1985. Methods of Measuring the acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms. US Environment Protection Agency. EPA/600: 4-85/013.
- Asaeda, T. and K. Acharya, 2000. Application of individual growth and population models of *Daphnia pulex* to *Daphnia magna*, *Daphnia galeata* and *Bosmina longirostris*. *Hydrobiologia*, 421: 141–155.

- Benndorf, J. and M. Henning, 1989. *Daphnia* and toxic blooms of *Microcystis aeruginosa* in Bautzen reservoir (GDR). *Int. Rev. ges. Hydrobiol.*, 53: 83–100.
- Boersma, M. and J. Vijverberg, 1994. Resource depression in *Daphnia galeata*, *Daphnia cucullata* and their interspecific hybrid: life-history consequences. *J. Plankton Res.*, 16: 1741–1758.
- Boeing, W. J., A. Wagner, H. Voigt, T. Deppe and J. Benndorf, 1998. Phytoplankton responses to grazing by *Daphnia galeata* in the biomanipulated Bautzen Reservoir. *Hydrobiologia*. 389: 101-114.
- Borowitzka, M. A. and L. J. Borowitzka, 1988. *Micro-algal biotechnology*, Cambridge University Press, London. 1-480.
- Box, J. D., 1981. Enumeration of cell concentrations in suspensions of colonial freshwater microalgae, with particular reference to *Microcystis aeruginosa*. *Br. Phycol. J.*, 16: 153–164.
- Brookes, J. D., G. G. Ganf and M. D. Burch, 1994. Separation of forms of *Microcystis* from *Anabaena* in mixed populations by the application of pressure. *Australian Journ. mar. freshwat. Res.*, 45: 863-868.
- Brunberg, A., 1999. Contribution of bacteria in the mucilage of *Microcystis* spp. (Cyanobacteria) to benthic and pelagic bacterial production in a hypereutrophic lake. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 29: 13–22.
- Burns, C. W. 1998. Planktonic interactions with an austral bias: Implications for biomanipulation. *Lakes Reserv. Res. Manage.*, 3: 95–104.
- Cao, J., D. Li and J. Wang, 1997. Studies on biochemical composition of 10 species of common freshwater phytoplankton. *Acta Sci. Nat. Univ. Sunyatseni*, 36: 22–27.
- Carmichael, W. W., 1994. Toxinas de cianobacterias. *Investigación y Ciencia*, Marzo: 22–29.
- Christoffersen, K., 1996. Ecological implications of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. *Phycologia*, 35 (suppl. 6): 42–50.
- Chow, C. W. K., M. Drikas, J. House, M. D. Burch and R. M. A. Velzeboer. 1999. The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Water Res.*, 33: 3253-3262.

- Codd, G. A., 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Wat. Sci. Tech.* 32: 149–156.
- Cuddington, K. M. and E. Mccauley, 1994. Food-dependent aggregation and mobility of the water fleas *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia pulex*. *Can. J. Zool.*, 72: 1217-1226.
- Dawson, R. M., 1998. The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 36: 953–962.
- De Bernardi, R. and G. Giussani, 1990. Are blue–green algae a suitable food for zooplankton? An overview. *Hydrobiologia*, 200/201: 29–41.
- De Bernardi, R., G. Giussani and E. L. Pedretti, 1981. The significance of blue-green algae as food for filter feeding zooplankton: experimental studies on *Daphnia* spp. fed by *Microcystis aeruginosa*. *Verh. int. Ver. Limnol.*, 21: 477–483.
- DeMott, W. R., 1986. The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. *Oecologia*, 69: 334–340.
- DeMott, W. R., 1999. Foraging strategies and growth inhibition in five daphnids feeding on mixtures of a toxic cyanobacterium and a green alga. *Freshwater Biol.*, 42: 263–274.
- DeMott, W. R. and R. D. Gulati. 1999. Phosphorus limitation in *Daphnia*: Evidence from a long term study of three hypereutrophic Dutch lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 44: 1557–1564.
- DeMott, W. R., Q. Zhang and W. Carmichael., 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* 36: 1346–1357.
- De Pauw, N. and G. Pruder, 1986. Use and production as food in aquaculture: practice, problems and research needs. En: Bilio, M. H. Rosenthal y C. J.. Sindermann (eds.), *Realism in aquaculture: Achievements, Constraints, Perspectives*, European Aquaculture Society, Bredene, Belgium, pp. 77–106.
- De Roos, A. M., McCauley E., R. M. Nisbet, W. S .C. Gurney and W. W. Murdoch., 1997. What individual life histories can (and cannot) tell about population dynamics. *Aquatic Ecol.*, 31: 37–45.
- Dodson, S. I. and D. G. Frey, 1991. Cladocera and other Branchiopoda En. Thorp, J.H. y Covich, A.P. (eds). *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. pp: 723-763. Academic Press, London.

- Dokulil, M., W. Chen and Q. Cai, 2000. Antropogenic impacts to large lakes in China: the Tai Hu example. *Aquat. Ecosyst. Health Manage.*, 3: 81-94.
- Dumont, H., S. S. S. Sarma and A. Jawahar. 1995. A laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (rotifera) in relation to food density. *Freshwater Biol.*, 33: 39-46.
- Easthope, M. P. and A. Howard, 1999. Implementation and sensitivity analysis of a model of cyanobacterial movement and growth. *Hydrobiologia*. 414: 53-58.
- Espinosa-Chávez, F., F. Martínez-Jerónimo y R. Ramírez-Granados., 1992. Tasa de filtracion y cultivo de *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera) alimentada con *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae) y estiércol vacuno digerido. *An. Inst. Cien. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Auton. México*, 19: 137-142.
- Falconer, I. R., 1993. Algal Toxins. En: Falconer I.R.(ed.) *Seafood and Drinking Water*. Academic Press Ltd. London, 227 pp.
- Fulton, R. S. and H. W. Paerl, 1987. Toxic and inhibitory effects of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* on herbivorous zooplankton. *J. Plankton Res.*, 9: 837-855.
- Gerritsen, J. and J-I. Kou, 1985. Food limitation and body size. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergbn. Limnol.*, 21: 173-184.
- Gilbert, J. J., 1990. Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers: mechanisms and implications. *Ecol.*, 71: 1727-1740.
- Gilbert, J. J., 1996. Effect of temperature on the response of planktonic rotifers to a toxic cyanobacterium. *Ecology*. 77: 1174-1180.
- Gilbert, J. J. and M. W. Durand, 1990. Effect of *Anabaena flos-aquae* on the abilities of *Daphnia* and *Keratella* to feed and reproduce on unicellular algae. *Freshwater Biol.*, 24: 577-596.
- Gliwicz, Z. M., 1990. Why do cladocerans fail to control algal bloom? *Hydrobiologia*, 200/201: 83-97.
- González, R., G. De la Lanza y A. Marquez., 1998. Contenido de Materia Organica del Lago de Huayamilpas, D.F. en Aguas y Sedimento Superficial. *Memorias I Congreso Nacional de Limnología*. 11 al 14 de noviembre de 1998. Morelia, Michoacan. México.

- Gulati, R. D., E. H. R. R. Lammens, M. L. Meijer and E. Van Donk (eds.), 1990. Biomanipulation-Tool for water management. *Hydrobiologia*, 200/201: 1-628.
- Ha, K., E. A. Cho, H. W. Kim and G.J. Joo, 1999. *Microcystis* bloom formation in the lower Nakdong River, South Korea: Importance of hydrodynamics and nutrient loading. *Mar. Freshwat. Res.*, 50: 89-94.
- Hanazato, T. and M. Yasuno, 1987. Evaluation of *Microcystis* as food for zooplankton in a eutrophic lake. *Hydrobiologia*. 144: 251-259.
- Haney, J. F. and M. A. Trout, 1985. Size selective grazing by zooplankton in lake Titicaca. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergbn. Limnol.*, 21: 147-160.
- Haney, J. F., D. J. Forsyth and M. R. James., 1994. Inhibition of zooplankton filtering rates by dissolved inhibitors produced by naturally occurring cyanobacteria. *Arch. Hydrobiol.*, 132 (1): 1-13.
- Havens, K. E. and T. L. East, 1997. Carbon dynamics in the 'grazing food chain' of a subtropical lake. *J. Plankton Res.*, 19: 1687-1711.
- Herath, G., 1997. Freshwater algal blooms and their control: Comparison of the European and Australian Experience. *J. Environ. Manage.*, 51: 217-227.
- Hietala, J., C. Lauren-Määttä and M. Walls, 1996. Sensitivity of *Daphnia* to toxic cyanobacteria: effects of genotype and temperature. *Freshwater Biol.*, 37: 299-306.
- Hietala, J., C. Lauren-Määttä and M. Walls. 1997. Life history responses of *Daphnia* clones to toxic *Microcystis* at different food levels. *J. Plankton Res.*, 19: 917-926.
- Hietala, J., M. Reinikainen and M. Walls, 1995. Variation in life history responses of *Daphnia* to toxic *Microcystis aeruginosa*. *J. Plankton Res.*, 17: 2307-2318.
- Infante, A. and W. Rich, 1984. The effect of cyanophyta upon zooplankton in a eutrophic tropical lake (Lake Valencia, Venezuela). *Hydrobiologia*, 113: 293-298.
- Jarvis, A. C., R.C. Hart and S. Combrink, 1987. Zooplankton feeding on size fractionated *Microcystis* colonies and *Chlorella* in a hypertrophic lake (Hartheespoort Dam, South Africa): implications to resource utilization and zooplankton succession. *J. Plankton Res.*, 9: 1231-1249.

- Jungmann, D. and J. Benndorf, 1994. Toxicity to *Daphnia* of a compound extracted from laboratory and natural *Microcystis* spp. & the role of microcystins. *Freshwater Biol.*, 32: 13–20.
- Jungmann, D., M. Henning and F. Jüttner, 1991. Are the same compounds in *Microcystis* responsible for toxicity to *Daphnia* and inhibition of its filtering rate? *Inter. Rev. ges. Hydrobiol.*, 76: 47–56.
- Kilham, S.S., D.A. Kreeger, C.E. Goulden and S.G. Lynn, 1997. Effects of algal food quality on fecundity and population growth rates of *Daphnia*. *Freshwater Biol.*, 38: 639–647.
- Kobayashi, T., A. Church, S. Hardiman and L. Gallagher. 1998. Grazing by a resident macrozooplankton community and non-resident *Daphnia carinata* King: a preliminary in situ incubation study. *Lakes and Reservoir Manag.*, 3: 193–203.
- Krebs, C. J., 1985. *Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance*, Harper & Row, New York, 800 pp.
- Krüger, G. H. J., H. De Wet, J. L. F. Kock and A. J. H. Pieterse, 1995. Fatty acid composition as a taxonomic characteristic for *Microcystis* and other coccoid cyanobacteria (blue-green algae) isolates. *Hydrobiologia*, 308: 145–151.
- Kuentzel, L. E., 1970. Bacteria – Algae Symbiosis – A cause of algal blooms. En: Weist, W. G. y P. E. Greeson (eds.) *Hydrobiology “Bioresources of shallow water environments”* AWRA., 385 pp.
- Lampert, W., 1981. Inhibitory and toxic effects of blue-green algae on *Daphnia*. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.*, 66: 285–298.
- Lampert, W., 1987. Laboratory studies on zooplankton-cyanobacterial interactions. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21: 483–490.
- Lampert, W. and P. Muck, 1985. Multiple aspects of food limitation in zooplankton communities: The *Daphnia – Eudiaptomis* example. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergbn. Limnol.*, 1: 311–322.
- Lampert, W. and U. Sommer, 1997. *Limnoecology: The ecology of lakes and streams*. Oxford University Press., New York. 382 pp.

- Lanaras, T., S. Tsitsamis, C. Chlichlia and C. M. Cook., 1989. Toxic cyanobacteria in Greek Freshwaters. *J. of Appl. Phycol.*, 1: 67-73.
- Lauren-Määttä, C., J. Hietala, M. Reinikainen and M. Walls, 1997. Do *Microcystis aeruginosa* toxins accumulate in the food web: a laboratory study. *Hydrobiologia*, 304: 23-27.
- Lawton, L. A., C. Edwards and G. A. Codd, 1994. Extraction and high performance liquid chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated water. *The Analyst*, 119: 1525-1530.
- Lundstedt, L. and M. T. Brett, 1991. Differential growth rates of three cladoceran species in response to mono - and mixed - algal cultures. *Limnol. Oceanogr.*, 36: 159-165.
- Lüring, M. and E. Van Donk, 1997. Life history consequences for *Daphnia pulex* feeding on nutrient-limited phytoplankton. *Freshwater Biol.*, 38: 693-709.
- Manage, P. M., Z. Kawabata and S. Nakano, 1999. Seasonal changes in densities of cyanophage infectious to *Microcystis aeruginosa* in a hypereutrophic pond. *Hydrobiologia*, 411: 211-216.
- Matthiensen, A., J. S. Yunes and G. A. Codd, 1999. Occurrence, distribution and toxicity of cyanobacteria from the Patos Lagoon estuary, southern Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*. 59: 361-376.
- Montoya, L., 1997. Estudio del grado de eutroficación de la Pista de Remo y Canotaje Virgilio Uribe durante los periodos de invierno de 1996 a primavera de 1997. Informe de Servicio Social. Universidad Autonoma Metropolitana. Unidad Xochimilco, D.F., 66 pp.
- Nandini, S. and T. R. Rao, 1998. Somatic and population growth in selected cladoceran and rotifer species offered the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as food. *Aquatic Ecology*. 31: 283-298.
- Nandini, S., S. S. S. Sarma and P. Ramírez-García, 2000. Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana*. 73(10): 1273-1286.
- Nizan, S., C. Dimentman and M. Shilo, 1986. Acute toxic effect of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. *Limnol. Oceanogr.*, 31: 497-502.

- Ohtake, A., M. Shirai, T. Aida, N. Mori, K-I Harada, K. Matsura, M. Suzuki and M. Nakano, 1989. Toxicity of *Microcystis* species isolated from natural blooms and purification of the toxin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 3202-3207.
- Peñaloza, R., M. Rojas, I. Vila and F. Zambrano, 1990. Toxicity of a soluble peptide from *Microcystis* sp. to zooplankton and fish. *Freshwater Biol.*, 24: 233-240.
- Pizzolon, L. 1996. Importancia de las cianobacterias como factor de toxicidad en las aguas continentales. *Interciencia*, 21: 239-245.
- Porter, K. G., 1977. The plant-animal interface in fresh water ecosystems. *Am. Sci.*, 65:154-170.
- Porter, K. G. and J. D. J. Orcutt, 1980. Nutritional adequacy, manageability, and toxicity as factors that determine the food quality of green and blue-green algae for *Daphnia*. En: Kerfoot W.C. (ed.) *Evolution and ecology of zooplankton communities*. University Press of New England, Hanover, NH, 268-281.
- Reinikainen, M., M. Walls and M. Ketola, 1994. Acute toxicity of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (strain PCC 7820) to *Daphnia pulex* (Cladocera). *Algal Stud.*, 75: 229-237.
- Reinikainen, M., M. Ketola, M. Jantunen and M. Walls. 1995. Effects of *Microcystis aeruginosa* exposure and nutritional status on the reproduction of *Daphnia pulex*. *J. Plankton Res.*, 17: 431-436.
- Reinikainen, M., J. Hietala and M. Walls. 1999. Reproductive allocation in *Daphnia* exposed to toxic cyanobacteria. *J. Plankton Res.*, 21: 1553-1564.
- Repka, S., 1997. Effects of food type on the life history of *Daphnia* clones from lakes differing in trophic state. I. *Daphnia galeata* feeding on *Scenedesmus* and *Oscillatoria*. *Freshwater Biol.*, 37: 675-683.
- Reynolds, C. S., G. H. M. Jaworski, H. A. Cmiec and G. F. Leedale, 1981. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kuetz. Emend. Elenkin. *Phil. Trans. R. Soc. Lond., Ser. B.*, 293: 419-477.
- Rohrlack, T., M. Henning, and J. Kohl., 1999. Mechanisms of the inhibitory effect of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia galeata*'s ingestion rate. *J. Plankton Res.*, 21: 1489-1500.

- Rose, R. M., M. St. J. Warne and R. P. Lim, 2000. Life history responses of the cladoceran *Ceriodaphnia cf. dubia* to variation in food concentration. *Hydrobiologia*, 427: 59–64.
- Segawa, S. and W. T. Yang, 1988. Population growth and density of an estuarine cladoceran *Diaphanosoma aspinosum* in laboratory culture. *Bull. Plankton Soc. Jap.*, 35: 67–73.
- Sevrin-Reyssac, J. and M. Pletikosic, 1990. Cyanobacteria in fish ponds. *Aquaculture* 88: 1–20.
- Sivonen, K., 1999. Toxins produced by cyanobacteria. *Vesitalous*. 5: 11-18.
- Skulberg, O.M., B. Underdal and H. Utكيلen, 1994. Toxic waterblooms with cyanophytes in Norway – current knowledge. *Algol. Stud.*, 75: 279–289.
- Sokal, R. R. and F. J. Rohlf, 1981. *Biometry*. W. H. Freeman and Company, San Francisco, 859 pp.
- Starkweather, P. L. and P. E. Kellar 1983. Utilisation of cyanobacteria by *Brachionus calyciflorus*. *Anabaena flos-aquae* (NRC-44-1) as a sole or complementary food source. *Hydrobiologia*, 104: 373–377.
- Steffensen, D., M. Burch, B. Nicholson, M. Drikas and P. Baker, 1999. Management of toxic blue-green algae (cyanobacteria) in Australia. *Environ. Toxicol.*, 14: 183–195.
- Taylor, B. E., 1985. Effects of food limitation on growth and reproduction of *Daphnia*. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergbn. Limnol.*, 21: 285–296.
- Thorp, J.H. and A.P. Covich, 1991. *Ecology and classification of North America Freshwater Invertebrates*. Academic Press, Inc. U.S.A., 1345 pp.
- Thostrup, L. and K. Christoffersen, 1999. Accumulation of microcystin in *Daphnia magna* feeding on toxic *Microcystis*. *Arch. Hydrobiol.*, 145: 447–467.
- Vasconcelos, V. M., 1990. Preliminary results of a study on the impact of toxic and nontoxic cyanobacteria on some freshwater microcrustacean species. *Crustaceana*, 59: 316–318.
- Vasconcelos, V. M., 1991. Impacte de estirpes toxicas e nao toxicas da cianobacteria *Microcystis aeruginosa* em especies zooplanctonicas. *Revista de Biologia de la Universidad de Aveiro*, 4: 211–221.

- Vezie, C., L. Brient, K. Sivonen, G. Bertru, J. C. Lefevre and M. Salkinoja-Salonen, 1998. Variation of Microcystin content of cyanobacterial blooms and isolated strains in lake Grand-Lieu (France). *Microb. Ecol.*, 35: 126–135.
- Walls, M. C. Lauren-Määttä, M. Ketola, P. Ottra-Aho, M. Reinikainen and S. Repka. 1997. Phenotypic plasticity of *Daphnia* life history traits: the roles of predation, food level and toxic cyanobacteria. *Freshwater Biol.*, 38: 353–364.
- Watanabe, M. M., K. Kaya and N. Takamura, 1992. Fate of the toxic cyclic heptapeptides, the microcystins from blooms of *Microcystis* (Cyanobacteria) in a hypertrophic lake. *J. Phycol.*, 28: 761–767.
- Willame, R. and L. Hoffmann, 1999. Bloom-forming blue-green algae in Belgium and Luxembourg. *Arch. Hydrobiol. (Suppl.)*, 129: 365–376.
- Willen, T. and R. Mattsson, 1997. Water-blooming and toxin-producing cyanobacteria in Swedish fresh and brackish waters 1981 – 1995. *Hydrobiologia*, 353: 181–192.
- Yasuno, M., Y. Sugaya, K. Kaya and M. M. Watanabe, 1998. Variations in the toxicity of *Microcystis* species to *Moina macrocopa*. *Phycol. Res.*, 46: 31–36.
- Zafar, A. R., 1986. Seasonality of phytoplankton in some South Indian lakes. *Hydrobiologia*, 138: 177–187.
- Zohary, T. and A. M. Pais Maderia, 1987. Counting natural populations of *Microcystis aeruginosa*: A simple method for colony disruption into single cells and its effect on cell counts of other species. *J. Limnol. Soc. South. Afr.*, 13: 75–77.
- Zohary, T. and A. M. Pais Maderia, 1990. Structural, physical and chemical characteristics of *Microcystis aeruginosa* hyperscums from a hypertrophic lake. *Freshwater Biol.* 23: 339–352.
- Zohary, T. and C.M. Breen, 1989. Environmental factors favouring the formation of *Microcystis aeruginosa* hyperscums in a hypertrophic lake. *Hydrobiologia*, 178: 179–192.

## ANEXO A

### **Producción de alga *Chlorella vulgaris* en cultivo cerrado**

De una cepa pura de *Chlorella vulgaris* se toma una alícuota con el fin de inocular 10 botellas de plástico de 2000 ml, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio, que contienen 1800 ml. de medio nutritivo BOLD. Dicho medio es el adecuado para desarrollar el cultivo, el cual se mantiene con aireación constante, a una temperatura de 24 °C y luz permanente, mediante tres lámparas tubulares de luz fluorescente de 75 watts. El volumen de líquido de las botellas se mantuvo a nivel constante reponiendo la pérdida por evaporación con agua destilada enriquecida con bicarbonato de sodio a una concentración de 1 g/l.

El agua utilizada en el cultivo se filtró mediante una malla de nylon de 20 $\mu$ ; los nutrientes se mezclaron y se adicionó una alícuota de 25 ml de alga directamente al garrafón con el fin de que en todas las botellas quedara la misma cantidad.

El momento de la cosecha se realizó después de un período de 10 días aproximadamente, durante la fase exponencial del cultivo. En este momento las células contienen una mayor proporción de proteína que las células que se desarrollan durante otras etapas de crecimiento; la fase estacionaria tiene una baja proporción de carbohidratos.

Para estimar el crecimiento de las algas se realizó el conteo directo bajo un microscopio óptico (Nikon) cada 24, utilizando un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad

recomendado para contar algas pequeñas de 2 a 30  $\mu$ . Este hematocitómetro de Neubauer tiene dos cámaras las cuales se llenaron con 5 ml de cultivo mediante una pipeta Pasteur con bulbo.

## ANEXO B

### MEDIO DE CULTIVO BOLD BASEL (Borowitzka y Borowitzka, 1988)

#### Proporción

1. Nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ )	250 g/l
2. Sulfato de Magnesio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	75 g/l
3. Fosfato de potasio dibásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	75 g/l
4. Fosfato de potasio monobásico ( $\text{KHPO}_4$ )	75 g/l
5. Cloruro de Sodio ( $\text{NaCl}$ )	25 g/l
6. EDTA	50 g + 31 g KOH /l
7. Sulfato de fierro ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ )	4.98 g + 1ml $\text{H}_2\text{SO}_4$
8. Acido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	11.42 g/l
9. Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ )	25 g/l
<b>10. ELEMENTOS TRAZA</b>	
♣ Cloruro de manganeso ( $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	1.44 g/l
♣ Trióxido de molibdeno ( $\text{MoO}_3$ )	0.71 g/l
♣ Sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ )	1.75 g/l
♣ Nitrato de cobalto ( $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ )	0.49 g/l
♣ Sulfato de zinc ( $\text{ZnSO}_4$ )	8.82 g/l

Nota: agregar dos mililitros de cada solución por cada litro de medio.

recomendado para contar algas pequeñas de 2 a 30  $\mu$ . Este hematocitómetro de Neubauer tiene dos cámaras las cuales se llenaron con 5 ml de cultivo mediante una pipeta Pasteur con bulbo.

## ANEXO B

### MEDIO DE CULTIVO BOLD BASEL (Borowitzka y Borowitzka, 1988)

#### Proporción

1. Nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ )	250 g/l
2. Sulfato de Magnesio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	75 g/l
3. Fosfato de potasio dibásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	75 g/l
4. Fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	75 g/l
5. Cloruro de Sodio ( $\text{NaCl}$ )	25 g/l
6. EDTA	50 g + 31 g KOH /l
7. Sulfato de fierro ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ )	4.98 g + 1ml $\text{H}_2\text{SO}_4$
8. Acido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	11.42 g/l
9. Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ )	25 g/l
<b>10. ELEMENTOS TRAZA</b>	
♣ Cloruro de manganeso ( $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	1.44 g/l
♣ Trióxido de molibdeno ( $\text{MoO}_3$ )	0.71 g/l
♣ Sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ )	1.75 g/l
♣ Nitrato de cobalto ( $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ )	0.49 g/l
♣ Sulfato de zinc ( $\text{ZnSO}_4$ )	8.82 g/l

Nota: agregar dos mililitros de cada solución por cada litro de medio.

## Anexo C: Artículo Publicado

Revisar la versión final en

CRUSTACEANA Volumen 74 Numero 8 paginas 749 - 764

### COMPARATIVE POPULATION DYNAMICS OF THREE SPECIES OF CLADOCERA IN RELATION TO DIFFERENT LEVELS OF *CHLORELLA VULGARIS* AND *MICROCYSTIS AERUGINOSA*

BY

ALEJANDRO FEDERICO ALVA-MARTÍNEZ<sup>1</sup>), S. S. S. SARMA<sup>1,3</sup>) and S. NANDINI<sup>2</sup>)

<sup>1</sup>) Laboratorio de Zoología Acuática, División de Investigación y Posgrado, Edificio UMF, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala, A.P. 314, CP 54090, Tlalnepantla, Edo. de México, Mexico

<sup>2</sup>) Proyecto CyMA, División de Investigación y Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala, A.P. 314, CP 54090, Tlalnepantla, Edo. de México, Mexico

#### ABSTRACT

We conducted population growth experiments for 22-30 days using three species of cladocerans measuring (adult mean length ( $\mu\text{m}$ )  $\pm$  standard error): *Daphnia pulex* ( $2413 \pm 129$ ), *Moina macrocopa* ( $1286 \pm 49$ ) and *Ceriodaphnia dubia* ( $951 \pm 57$ ) fed the green alga *Chlorella vulgaris* and cells separated by ultrasonic waves of the Cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, offered in three densities ( $0.75 \times 10^6$ ,  $1.5 \times 10^6$ , and  $3.0 \times 10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$ ). An increase in the availability of *Chlorella* and *Microcystis* resulted in an increase in the abundance of *D. pulex*. The response of the other two species to *Chlorella* and *Microcystis* differed greatly. *M. macrocopa* showed increased population abundance with increasing *Chlorella* levels but crashed completely when fed *Microcystis* on day 2. On the other hand, the population densities of *C. dubia* showed an inverse relation with *Chlorella* levels but increased with increasing levels of *Microcystis aeruginosa*. *C. dubia* reached a peak density of  $37 \pm 1$  ind.  $\text{ml}^{-1}$  at  $3.0 \times 10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$  of *Microcystis*. Under the same food conditions, *D. pulex* reached  $10 \pm 0.5$  ind.  $\text{ml}^{-1}$ . The rate of population increase per day ( $r$ ) was similar (0.24) for *D. pulex* and *M. macrocopa* on *Chlorella vulgaris* at  $3.0 \times 10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$ . No statistically significant differences were detected for  $r$  values and the peak population densities between *D. pulex* fed *Chlorella* or *Microcystis*, but the differences were significant for *Moina* and *Ceriodaphnia*. We found no clear relation between the body size of cladocerans and their ability to consume *Microcystis* cells, although *D. pulex* consistently grew well on either *Chlorella* or *Microcystis*.

#### RESUMEN

Nosotros llevamos a cabo experimentos de crecimiento poblacional de 22-30 días de duración, usando 3 especies de cladóceros (tamaño medio del adulto ( $\mu\text{m}$ )  $\pm$  error estándar) *Daphnia pulex* ( $2413 \pm 129$ ), *Moina macrocopa* ( $1286 \pm 49$ ) y *Ceriodaphnia dubia* ( $951 \pm 57$ ) utilizando alga

<sup>3</sup>) Fax: +5256231256; e-mail: sarma@servidor.unam.mx

verde *Chlorella vulgaris* y células sonicadas de la cianobacteria, *Microcystis aeruginosa* ofrecidas en tres densidades ( $0.75 \times 10^6$ ,  $1.5 \times 10^6$  y  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ ) como alimento. Un aumento en la disponibilidad de *Chlorella* y *Microcystis* resultó en un incremento en la abundancia de *D. pulex*. La respuesta de las otras dos especies de cladoceros a *Chlorella* y *Microcystis* tuvo gran diferencia. *M. macrocopa* mostró un incremento en la abundancia poblacional cuando se aumentaron los niveles de *Chlorella*, pero sufrieron un completo decremento en el segundo día cuando se alimentaron con *Microcystis*. Por otra parte, las densidades de población de *C. dubia* mostraron una relación inversa con los niveles de *Chlorella* pero tuvieron un incremento cuando se aumentan los niveles de *M. aeruginosa*. *C. dubia* alcanza una densidad pico de  $37 \pm 1$  ind.  $\text{ml}^{-1}$  en  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  de *Microcystis*, mientras condiciones comparables, *D. pulex* alcanza  $10 \pm 0.5$  ind.  $\text{ml}^{-1}$ . El rango de incremento poblacional por día ( $r$ ) fue similar (0.24) para *D. pulex* y *M. macrocopa* con *Chlorella vulgaris* en  $3.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ . No se detectaron diferencias estadísticas significativas para los valores de ( $r$ ) y los picos de las densidades de población entre *D. pulex* alimentada con *Chlorella* y *Microcystis*, pero las diferencias son significativas para *Moina* y *Ceriodaphnia*. Nosotros encontramos una relación no muy clara entre el tamaño del cuerpo y su capacidad para consumir células de *Microcystis*, sin embargo *D. pulex* crece bien tanto con *Chlorella* como con *Microcystis*.

## INTRODUCTION

Increased eutrophication due to urbanization has caused an increase of non-edible and toxic Cyanobacteria in freshwater bodies all over the world (Dokulil et al., 2000). Among the various Cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1833 is perhaps the most common species on which ample information is available, especially in relation to toxins (Sivonen, 1999; Vezie et al., 1998; Willame & Hoffmann, 1999). Cyanotoxins are known to inhibit feeding, somatic growth, respiration, and reproduction, and to reduce the lifespan of a variety of organisms including cladocerans (Hietala et al., 1997; Dawson, 1998). The effect of *M. aeruginosa* on cladocerans depends on a variety of factors including body-size, feeding habits, niche occupation, and resistance to starvation (Lampert & Sommer, 1997). In general, larger planktonic species of the genus *Daphnia* are capable of better utilizing colonial forms of *Microcystis* than do smaller plankton species (e.g., *Moina*) (Kobayashi et al., 1998; Yasuno et al., 1998). The poor utilization of *Microcystis* is also due to its predominance in the form of colonies, some of which could be larger than  $450 \mu\text{m}$ , while the preferred size of algae for cladocerans is  $< 100 \mu\text{m}$  (Jarvis et al., 1987). Offering the single-celled form of *Microcystis* could reduce the mechanical hindrance posed by the colonial form (Porter & Orcutt, 1980) and, thus, smaller cladocerans such as *Ceriodaphnia* could grow on Cyanobacteria.

In natural water-bodies, cyanobacterial blooms start from single cells and finally form colonies (Reypolds et al., 1981), which, due to their size, are protected from zooplankton herbivory and hence persist (Boeing et al., 1998). Therefore, any attempt at reducing the occurrence of cyanobacterial blooms must aim at

preventing the formation of large colonies by increasing the zooplankton density, particularly of herbivorous cladocerans when the Cyanobacteria are still present in the form of single cells or small colonies. A vast majority of publications on *Microcystis* control using cladocerans is based on studies using the colonial forms of Cyanobacteria as food (Fulton & Paerl, 1987; Jarvis et al., 1988). Relatively few studies have documented the use of the single-celled form of *Microcystis* as food for cladocerans (Fulton & Paerl, 1988; Nandini & Rao, 1998).

In order to eliminate the possible mechanical hindrance by the *Microcystis* colonies, various methods have been suggested to break them into single cells. These include ultrasonication, centrifugation, addition of certain chemical substances, and use of boiling water or pressure (Box, 1981; Zohary & Madeira, 1987; Brookes et al., 1994; Chow et al., 1999). Of all these methods, ultrasonication has consistently shown that the cells remain intact and therefore this method is widely recommended (Nandini & Rao, 1998). Further, since the number of cells per colony varies greatly (Easthope & Howard, 1999), food level-dependent responses of cladocerans to colonial *Microcystis* numbers must be treated with caution.

Several factors contribute to the low consensus on the ability of cladocerans to utilize cyanobacterial blooms. These include differences in the various species in the ability to handle filaments or colonies as well as differences in tolerance of strains of species to the toxins that may be produced (Nizan et al., 1986; Nandini & Rao, 1998). Thus, more studies are necessary, particularly in the tropics where cyanobacterial blooms can persist throughout the year (Zafar, 1986). In this study, we have documented the population growth of selected planktonic species of Cladocera offered varying concentrations of *M. aeruginosa* (as single-cells) and *Chlorella vulgaris* Beyerinck, 1890.

#### MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted using three species of Cladocera differing widely in the body size (adult mean length ( $\mu\text{m}$ )  $\pm$  standard error, based on 50 individuals): *Daphnia pulex* Leydig, 1860 ( $2413 \pm 129$ ), *Moina macrocopa* Goulden, 1968 ( $1286 \pm 49$ ) and *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 ( $951 \pm 57$ ). They were isolated from local ponds and cloned in the laboratory. Mass cultures were established in 40 l glass aquaria using reconstituted moderate hardwater as a medium (EPA medium, Anon., 1985). The EPA medium was prepared by dissolving 96 mg  $\text{NaHCO}_3$ , 60 mg  $\text{CaSO}_4$ , 60 mg  $\text{MgSO}_4$ , and 4 mg KCl in one litre of distilled water. *C. vulgaris* was mass-cultured using Bold's basal medium (Borowitzka & Borowitzka, 1988) and used as food in the experiments as well as in the mass cultures. The alga was harvested during the log phase, centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes and resuspended in EPA medium.

Since it is difficult to culture *Microcystis aeruginosa* with consistent nutritional and biochemical status (Orr & Jones, 1998), we isolated it from a natural waterbody (Lake Alameda Oriente Park, Mexico City) where it bloomed during the experimental period as the almost exclusive component of the phytoplankton. *M. aeruginosa* was collected every two days by filtering about 80 l using a 50  $\mu\text{m}$  mesh plankton net. In the laboratory, *Microcystis* was again filtered using a 100  $\mu\text{m}$  mesh to remove zooplankton. After repeated washing with EPA medium, the colonies were ultrasonicated at 5000 rpm, resulting in completely separated but intact cells (mean  $\pm$  s.d. of single cell diameter =  $4.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ). These were then rinsed with distilled water, centrifuged, and resuspended in EPA medium. The density of both *C. vulgaris* and of the single cells of *M. aeruginosa* was established using a haemocytometer. From the concentrated algal stocks, the test concentrations of *Chlorella* and *Microcystis* of  $0.75 \times 10^6$ ,  $1.5 \times 10^6$ , and  $3.0 \times 10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$  were obtained by serial dilution with EPA medium.

The experimental design for each of the 3 cladoceran species consisted of 18 (= 3 food levels  $\times$  2 food types  $\times$  3 replicates) transparent plastic jars of 100 ml containing 50 ml EPA medium and the appropriate food type and density. We introduced in all jars 10 individuals using a stereomicroscope and a wide-bore Pasteur pipette. The composition of this initial population was a mixed group consisting of neonates, juveniles and non-ovigerous adults. Following inoculation, we counted, every day, the individuals alive in each replicate and transferred them to fresh test jars, again containing the appropriate food type and density. Dead individuals were removed. The experiments were terminated after 16-30 days (depending on the species of Cladocera) when the populations in most replicates began to decline or stabilize.

The rate of population increase per day ( $r$ ) was calculated for each species, using the exponential growth equation:  $r = (\ln N_t - \ln N_0)/t$ , where  $N_0$  = initial population density and  $N_t$  = population density after time  $t$  (days) (Krebs, 1985). The  $r$  was obtained as the mean of 4-5 values, as far as possible during the exponential phase of the growth of the populations. Statistical evaluation of the population growth rate increase, maximal population density, and the day of maximal population density under different levels of *Chlorella* and *Microcystis* was done by analysis of variance (ANOVA, Sokal & Rohlf, 1981).

## RESULTS

The population growth of *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa*, and *Ceriodaphnia dubia* in relation to different levels of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa* is presented in figs. 1-3. Regardless of the food type, an increase in the availability of food caused an increase in the abundance of *D. pulex* (fig. 1). The response of the other two cladocerans to *Chlorella* and *Microcystis* differed greatly.

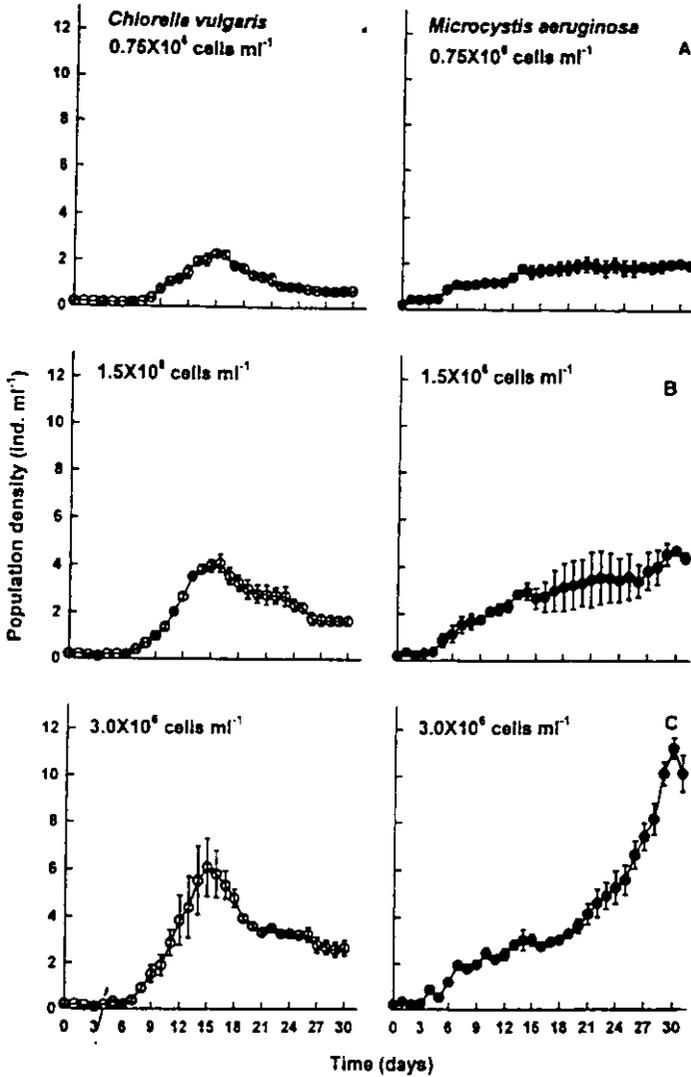


Fig. 1. Population growth of *Daphnia pulex* Leydig, 1860 offered *Chlorocella vulgaris* Beyerinck, 1890 and single-celled *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1833 at three different food densities (A, B, and C). Mean  $\pm$  standard error values based on 3 replicates.

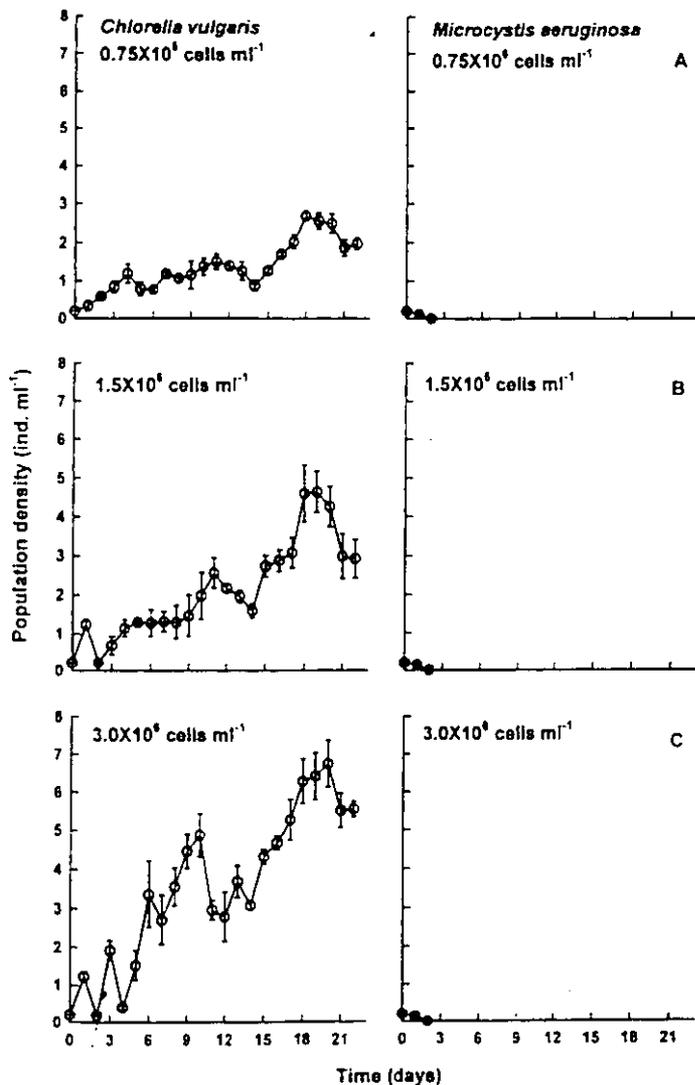


Fig. 2. Population growth of *Moina macrocopa* Goulden, 1968 offered *Chlorella vulgaris* Beyerinck, 1890 and single-celled *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1833 at three different food densities (A, B, and C). Mean  $\pm$  standard error values based on 3 replicates.

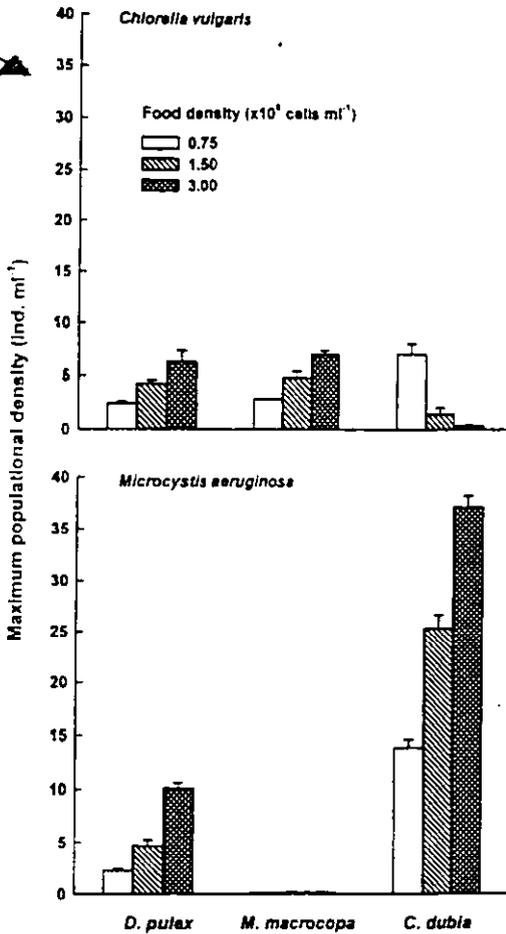


Fig. 3. Population growth of *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 offered *Chlorella vulgaris* Beyerinck, 1890 and single-celled *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1833 at three different food densities (A, B, and C). Mean  $\pm$  standard error values based on 3 replicates.

*M. macrocopa* showed an increased population growth with increasing *Chlorella* levels but crashed completely on *Microcystis* on day 2 (fig. 2). On the other hand, the population densities of *Ceriodaphnia dubia* showed an inverse relation with *Chlorella* levels but increased with increasing levels of *M. aeruginosa* (fig. 3).

TABLE I

Data on analysis variance (ANOVA) on selected population growth variables of *Daphnia pulex* Leydig, *Moina macrocopa* Goulden, and *Ceriodaphnia dubia* Richard fed *Chlorella vulgaris* Beyerinck and single-celled *Microcystis aeruginosa* Kützing at three densities ( $0.75 \times 10^6$ ,  $0.75 \times 10^6$  and  $3.0 \times 10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$ ). Shown are: DF = degrees of freedom, SS = sum of squares; MS = mean square, F = F-ratio,  $P < 0.05$  (\*),  $P > 0.05$  (ns)

Source	DF	SS	MS	F
Peak population density vs. <i>Chlorella</i> levels				
<i>D. pulex</i>				
Among food levels	2	23.806	11.90	9.65*
Error	6	7.398	1.23	
<i>M. macrocopa</i>				
Among food levels	2	27.412	13.71	25.99**
Error	6	3.164	0.53	
<i>C. dubia</i>				
Among food levels	2	77.166	38.58	5.94*
Error	6	38.946	6.49	
Peak population density vs. <i>Microcystis</i> levels				
<i>D. pulex</i>				
Among food levels	2	97.722	48.86	77.20***
Error	6	3.798	0.63	
<i>M. macrocopa</i>				
Among food levels	2	0.001	0.0005	0.12ns
Error	6	0.025	0.0042	
<i>C. dubia</i>				
Among food levels	2	817.602	408.80	120.61***
Error	6	20.337	3.39	
Peak population density: <i>Chlorella</i> vs. <i>Microcystis</i>				
<i>D. pulex</i>				
Between food types	1	0.007	0.007	2.60ns
Error	16	0.043	0.0027	
<i>M. macrocopa</i>				
Between food types	1	1.843	1.84	22.67***
Error	16	1.301	0.08	
<i>C. dubia</i>				
Between food types	1	0.040	0.04	18.82***
Error	16	0.034	0.0021	
Day of maximal population density vs. <i>Chlorella</i> levels				
<i>D. pulex</i>				
Among food levels	2	4.222	2.11	1.27ns
Error	6	10.000	1.67	
<i>M. macrocopa</i>				
Among food levels	2	1.556	0.78	1.17ns
Error	6	4.000	0.67	
<i>C. dubia</i>				
Among food levels	2	93.556	46.78	8.59*
Error	6	32.667	5.44	

falta coloc  
 + ue signific  
 las asteris  
 \*\* y \*

TABLE I  
(Continued)

Source	DF	SS	MS	F
Day of maximal population density vs. <i>Microcystis</i> levels				
<i>D. pulex</i>				
Among food levels	2	33.556	16.78	1.06ns
Error	6	95.333	15.89	
<i>C. dubia</i>				
Among food levels	2	38.000	19.00	3.80ns
Error	6	30.000	5.00	
Day of maximal population density: <i>Chlorella</i> vs. <i>Microcystis</i>				
<i>D. pulex</i>				
Between food types	1	589.389	589.39	65.89***
Error	16	143.111	8.94	
<i>C. dubia</i>				
Between food types	1	636.056	636.06	52.40***
Error	16	194.222	12.14	
Rate of population increase vs. <i>Chlorella</i> levels				
<i>D. pulex</i>				
Among food levels	2	0.009	0.0045	6.75*
Error	6	0.004	0.00067	
<i>M. macrocopa</i>				
Among food levels	2	0.019	0.0095	19.00**
Error	6	0.003	0.0005	
<i>C. dubia</i>				
Among food levels	2	0.030	0.015	30.00***
Error	6	0.003	0.0005	
Rate of population increase vs. <i>Microcystis</i> levels				
<i>D. pulex</i>				
Among food levels	2	0.025	0.0125	15.00**
Error	6	0.005	0.00083	
<i>M. macrocopa</i>				
Among food levels	2	0.054	0.03	0.13ns
Error	6	1.226	0.20	
<i>C. dubia</i>				
Among food levels	2	0.002	0.001	14.96**
Error	6	0.000401	0.000068	
Rate of population increase: <i>Chlorella</i> vs. <i>Microcystis</i>				
<i>D. pulex</i>				
Between food types	1	0.007	0.007	2.60ns
Error	16	0.043	0.0027	
<i>M. macrocopa</i>				
Between food types	1	1.843	1.84	22.67***
Error	16	1.301	0.08	
<i>C. dubia</i>				
Between food types	1	0.040	0.04	18.82***
Error	16	0.034	0.0021	

\*\* = ?

\*\*\* = ?

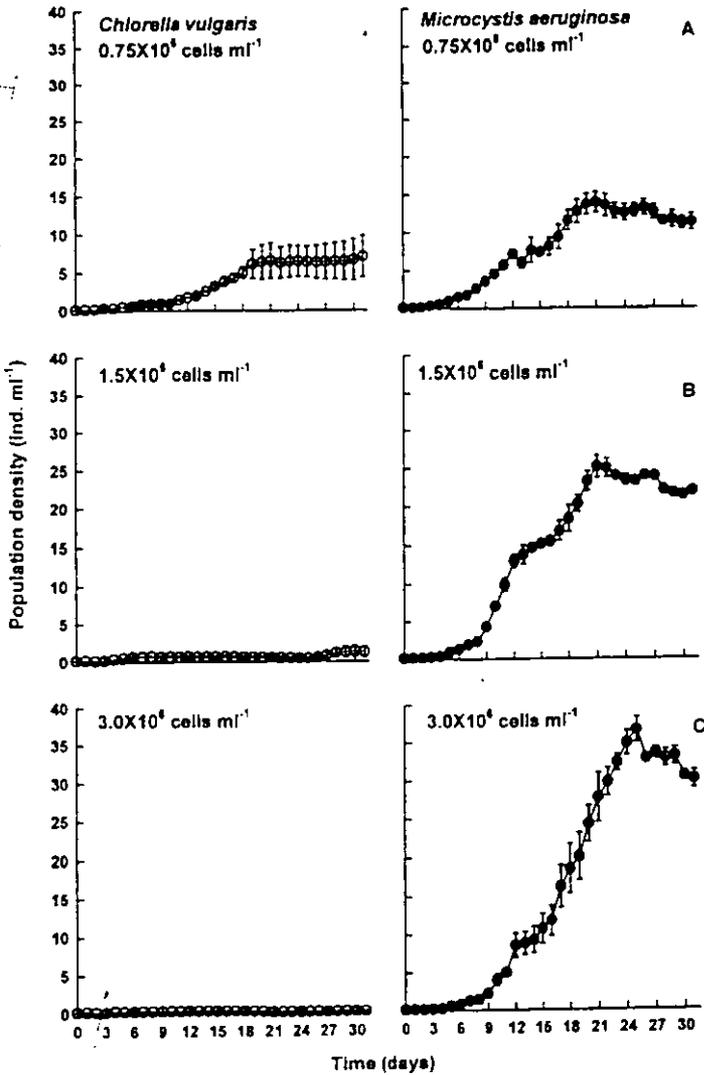


Fig. 4. Peak population densities (ind. ml<sup>-1</sup>) of *Daphnia pulex* Leydig, 1860, *Moina macrocopa* Goulden, 1968, and *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 offered *Chlorella vulgaris* Beyerinck, 1890 and single-celled *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1833 at three different food densities. Mean  $\pm$  standard error values based on 3 replicates.

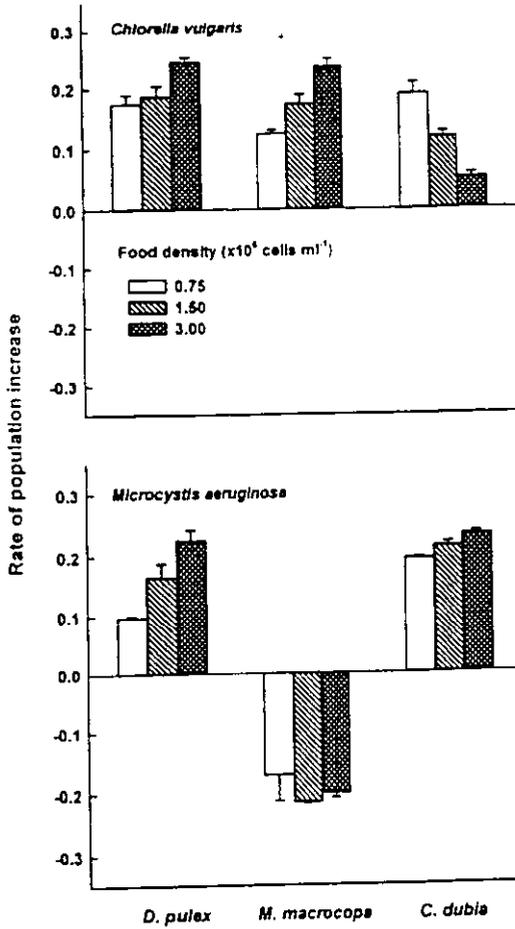


Fig. 5. Rate of population increase of *Daphnia pulex* Leydig, 1860, *Moina macrocopa* Goulden, 1968, and *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 offered *Chlorella vulgaris* Beyerinck, 1890 and single-celled *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1833 at three different food densities. Mean  $\pm$  standard error values based on 3 replicates.

*C. dubia* reached a peak density of  $37 \pm 1$  ind.  $ml^{-1}$  under  $3.0 \times 10^6$  cells  $ml^{-1}$  of *Microcystis*, while *D. pulex* reached  $10 \pm 0.5$  ind.  $ml^{-1}$  under the same food conditions (fig. 4). The peak population densities of both *D. pulex* and *C. dubia* were significantly influenced by the concentrations of *Chlorella vulgaris* and

*Microcystis aeruginosa* ( $P < 0.05$ , ANOVA,  $F$ -test). For *Moina macrocopa*, this variable was significantly affected by the levels of *Chlorella* but not by those of *Microcystis* ( $P > 0.05$ ,  $F$ -test).

The period of time in which maximal population abundance was reached was significantly affected by food type in the case of *D. pulex* and *C. dubia* ( $P < 0.001$ ), but within a given food type, the density had no effect on this variable ( $P > 0.05$ ). Regardless of the species of cladoceran, those fed *Chlorella* reached peak population density earlier than those fed *Microcystis aeruginosa*.

The rate of population increase per day ( $r$ ) was similar (0.24) for *D. pulex* and *M. macrocopa* fed *Chlorella vulgaris* at  $3.0 \times 10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$  (fig. 5). The  $r$  values of *D. pulex* and *C. dubia* were significantly influenced by the concentrations of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa* ( $P < 0.05$ ). The rate of population increase of *M. macrocopa* was significantly influenced by *Chlorella* levels ( $P < 0.01$ ) but not by those of *M. aeruginosa* ( $P > 0.05$ ). No significant differences were detected for  $r$  values and peak population densities between *D. pulex* fed *Chlorella* and *Microcystis* ( $P > 0.05$ ), but the differences were significant ( $P < 0.05$ ) for *Moina* and *Ceriodaphnia* (Table 1).

#### DISCUSSION

Preliminary tests using starved individuals of *Moina macrocopa* already indicated heavy mortality when fed *Microcystis aeruginosa* (single cells), confirming that our strain of the Cyanobacterium produced toxins. Extensive information is available on the use of cladocerans to control *Microcystis* blooms in large water bodies, mainly aimed at management of lakes and reservoirs (Gulati et al., 1990; Burns, 1998; Steffensen et al., 1999). *Daphnia pulex* and *Ceriodaphnia dubia* could utilize the single-celled form of *Microcystis*, while the reproduction of *Moina macrocopa* was inhibited at all three food levels of this diet. Yasuno et al. (1998) have also shown that *M. macrocopa* is strongly sensitive to *Microcystis*. In general, the genus *Daphnia* is capable of growing on *Microcystis* either in the colonial form or as single cells (Rohrlack et al., 1999; Nandini et al., 2000). However, the preferred particle size for cladocerans ranges from 1 to 25  $\mu\text{m}$  (Dodson & Frey, 1994). Colonies of *Microcystis* could be as large as 400  $\mu\text{m}$  while single cells range from 4–6  $\mu\text{m}$ . Therefore, offering the single-celled form of *Microcystis* could avoid mechanical problems of feeding rates and food consumption (Jarvis et al., 1987). The densities of *Chlorella* and *Microcystis* were earlier used for various species of cladocerans, based on the naturally occurring levels in water bodies (Ha et al., 1999; Mánage et al., 1999; Matthiensen et al., 1999).

Data on the effect of different densities of *Chlorella* on the life history characteristics of Cladocera suggest that the genus *Ceriodaphnia* is well adapted to

lower food levels whereas higher densities of green algae have a negative effect on its population growth (Cuddington & McCauley, 1994; Rose et al., 2000). Our study supports this observation. The fact that *Ceriodaphnia dubia* grew better on *M. aeruginosa* than on *Chlorella vulgaris* could be due to several factors. For example, body size differences (generally smaller individuals in *Microcystis*-treatment), nutritional value and protein contents (*Microcystis* may have higher protein content than *Chlorella*), or relative cell size of *Chlorella* (5.5  $\mu\text{m}$ ) and *Microcystis aeruginosa* (4.5  $\mu\text{m}$ ) causing different assimilation efficiencies on these food types (Cao et al., 1997; Reinikainen et al., 1999; Thostrup & Christoffersen, 1999). The growth curves clearly demonstrate that *D. pulex* and *C. dubia* required a much longer time to reach the peak abundances under *Microcystis* than under *Chlorella* regimes, suggesting some sort of initial adaptation period.

Among cladocerans, the genus *Moina* shows one of the highest population growth rates. In the present study, *Moina macrocopa* and *D. pulex* had more or less similar population growth rates, while *C. dubia* had much lower values (fig. 5). The data on the growth rates observed here are within the range reported for most planktonic cladocerans (Kilham et al., 1997; Nandini & Rao, 1998). Information on the maximal population densities reached by various species of Cladocera suggests that their body size is important. Generally, smaller species are numerically more abundant than are larger species. For example, *Daphnia* and *Simocephalus*, being larger forms, are normally encountered at less than 10 ind.  $\text{ml}^{-1}$ , while smaller cladocerans such as *Diaphanasoma* may reach as many as 130 ind.  $\text{ml}^{-1}$  (Segawa & Yang, 1988; Havens & East, 1997). In our study, the larger species *D. pulex* also reached a lower density than *Ceriodaphnia* when fed *Microcystis*. Similarly, *D. pulex* reached a lower density than *M. macrocopa* when offered *Chlorella*.

In conclusion, the data obtained in this study on the population growth of three species of Cladocera under three different levels of two food types revealed no clear relationship with the body size of cladocerans and their ability to consume *Microcystis* cells. We again found (see Nandini & Rao, 1998) that *Moina macrocopa* was susceptible to the toxins produced by *Microcystis*. This has also been documented by Hanazato & Yasuno (1988). Nevertheless, where our strains of *Daphnia pulex* and *Ceriodaphnia dubia* appeared to be growing well on *Microcystis*, this result could be used to further test their efficacy in controlling these cyanobacterial populations.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the referees for their constructive criticism, which helped improve the manuscript. SN and SSSS thank the National System of Investigators (SNI-20520

& 18723). Additional support from a grant awarded to SNI members by ENEP-Iztacala is also gratefully acknowledged. AFAM is thankful to Pilar Herrera García (Alameda and Parks Department) for granting permission to complete this work.

## REFERENCES

- ANONYMOUS, 1985. Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. U.S. Environment Protection Agency, EPA/600/4-85/013.
- BOEING, W. J., A. WAGNER, H. VOIGT, T. DEPPE & J. BENNDORF, 1998. Phytoplankton responses to grazing by *Daphnia galeata* in the biomanipulated Bautzen Reservoir. *Hydrobiologia*, 389: 101-114.
- BOROWITZKA, M. A. & L. J. BOROWITZKA, 1988. Micro-algal biotechnology: 1-480. (Cambridge University Press, London).
- BOX, J. D., 1981. Enumeration of cell concentrations in suspensions of colonial freshwater microalgae, with particular reference to *Microcystis aeruginosa*. *British Phycol. Journ.*, 16: 153-164.
- BROOKES, J. D., G. G. GANF & M. D. BURCH, 1994. Separation of forms of *Microcystis* from *Anabaena* in mixed populations by the application of pressure. *Australian Journ. mar. freshwat. Res.*, 45: 863-868.
- BURNS, C. W., 1998. Planktonic interactions with an austrial bias: implications for biomanipulation. *Lakes Reserv. Res. Managem.*, 3: 95-104.
- CAO, J., D. LI & J. WANG, 1997. Studies on biochemical composition of 10 species of common freshwater phytoplankton. *Acta Sci. nat. Univ. Sunyatseni*, 36: 22-27.
- CHOW, C. W. K., M. DRIKAS, J. HOUSE, M. D. BURCH & R. M. A. VELZEBOER, 1999. The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Water Res.*, 33: 3253-3262.
- CUDDINGTON, K. M. & E. MCCAULEY, 1994. Food-dependent aggregation and mobility of the water fleas *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia pulex*. *Canadian Journ. Zool.*, 72: 1217-1226.
- DAWSON, R. M., 1998. The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 36: 953-962.
- DODSON, S. I. & D. G. FREY, 1991. Cladocera and other Branchiopoda. In: J. H. THORP & A. P. COVICH (eds.), *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates: 723-763*. (Academic Press, London).
- DOKULIL, M., W. CHEN & Q. CAI, 2000. Anthropogenic impacts to large lakes in China: the Tai Hu example. *Aquat. Ecosyst. Health Managem.*, 3: 81-94.
- EASTHOPE, M. P. & A. HOWARD, 1999. Implementation and sensitivity analysis of a model of cyanobacterial movement and growth. *Hydrobiologia*, 414: 53-58.
- FULTON, R. S., III & H. W. PAERL, 1987. Effects of colonial morphology on zooplankton utilization of algal resources during blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) blooms. *Limnol. Oceanogr.*, 32: 634-644.
- & —, 1988. Zooplankton feeding selectivity for unicellular and colonial *Microcystis aeruginosa*. *Bull. mar. Sci.*, 43: 500-508.
- GULATI, R. D., E. H. R. R. LAMMENS, M. L. MEIJER & E. VAN DONK (eds.), 1990. Biomanipulation-tool for water management. *Hydrobiologia*, 200/201: 1-628.
- HA, K., E. A. CHO, H. W. KIM & G. J. JOO, 1999. *Microcystis* bloom formation in the lower Nakdong River, South Korea: importance of hydrodynamics and nutrient loading. *Mar. freshwat. Res.*, 50: 89-94.
- HANAZATO, T. & M. YASUNO, 1988. Assimilation of *Diaphanosoma brachyurum* and *Moina macrocopa* on *Microcystis*. *Japanese Journ. Limnol.*, 49: 37-41.

- HAVENS, K. E. & T. L. EAST, 1997. Carbon dynamics in the 'grazing food chain' of a subtropical lake. *Journ. Plankton Res.*, 19: 1687-1711.
- HIETALA, J., C. LAUREN-MAATTA & M. WALLS, 1997. Life history responses of *Daphnia* clones to toxic *Microcystis* at different food levels. *Journ. Plankton Res.*, 19: 917-926.
- JARVIS, A. C., R. C. HART & S. COMBRINK, 1987. Zooplankton feeding on size fractionated *Microcystis* colonies and *Chlorella* in a hypertrophic lake (Hartheespoort Dam, South Africa): implications to resource utilization and zooplankton succession. *Journ. Plankton Res.*, 9: 1231-1249.
- — — & — — —, 1988. Cladoceran filtration rate-body length relations: model improvements developed for a *Microcystis*-dominated hypertrophic reservoir. *Journ. Plankton Res.*, 10: 115-131.
- KILHAM, S. S., D. A. KREEGER, C. E. GOULDEN & S. G. LYNN, 1997. Effects of algal food quality on fecundity and population growth rates of *Daphnia*. *Freshwat. Biol.*, 38: 639-647.
- KOBAYASHI, T., A. CHURCH, S. HARDIMAN & L. GALLAGHER, 1998. Grazing by a resident macrozooplankton community and non-resident *Daphnia carinata* King: a preliminary in situ incubation study. *Lakes and Reservoir Managem.*, 3: 193-203.
- KREBS, C. J., 1985. Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance: 1-800. (Harper & Row, New York).
- LAMPERT, W. & U. SOMMER, 1997. Limnoecology. The ecology of lakes and streams: 1-382. (Translated by J. F. HANEY). (Oxford University Press, New York).
- MANAGE, P. M., Z. KAWABATA & S. NAKANO, 1999. Seasonal changes in densities of cyanophage infectious to *Microcystis aeruginosa* in a hypereutrophic pond. *Hydrobiologia*, 411: 211-216.
- MATTHIENSEN, A., J. S. YUNES & G. A. CODD, 1999. Occurrence, distribution and toxicity of cyanobacteria from the Patos Lagoon estuary, southern Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, 59: 361-376.
- NANDINI, S. & T. R. RAO, 1998. Somatic and population growth in selected cladoceran and rotifer species offered the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as food. *Aquat. Ecol.*, 31: 283-298.
- NANDINI, S., S. S. S. SARMA & P. RAMÍREZ-GARCÍA, 2000. Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana*, 73: 1273-1286.
- NIZAN, S., C. DIMENTMAN & M. SHILO, 1986. Acute toxic effect of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. *Limnol. Oceanogr.*, 31: 497-502.
- ORR, P. T. & G. J. JONES, 1998. Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. *Limnol. Oceanogr.*, 43: 1604-1614.
- PORTER, K. G. & J. D. ORCUTT, JR., 1980. Nutritional adequacy, manageability, and toxicity as factors that determine food quality of green and blue-green algae for *Daphnia*. *American Soc. Limnol. Oceanogr.*, (Spec. Symp.) 3: 268-281.
- REINKAINEN, M., J. HIETALA & M. WALLS, 1999. Reproductive allocation in *Daphnia* exposed to toxic Cyanobacteria. *Journ. Plankton Res.*, 21: 1553-1564.
- REYNOLDS, C. S., G. H. M. JAWORSKI, H. A. CMIECH & G. F. LEEDALE, 1981. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kuetz. *Emend. Elenkin. Phil. Trans. R. Soc. London*, (B) 293: 419-477.
- ROHRLACK, T./M. HENNING & J. G. KOHL, 1999. Mechanisms of the inhibitory effect of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia galeata*'s ingestion rate. *Journ. Plankton Res.*, 21: 1489-1500.
- ROSE, R. M., M. S. J. WARNE & R. P. LIM, 2000. Life history responses of the cladoceran *Ceriodaphnia cf. dubia* to variation in food concentration. *Hydrobiologia*, 427: 59-64.
- SEGAWA, S. & W. T. YANG, 1988. Population growth and density of an estuarine cladoceran *Daphnosoma aspinosum* in laboratory culture. *Bull. Plankton Soc. Japan*, 35: 67-73.
- SIVONEN, K., 1999. Toxins produced by cyanobacteria. *Vesitalous*, 5: 11-18.

- SOKAL, R. R. & F. J. ROHLF, 1981. *Biometry*: 1-859. (W. H. Freeman and Company, San Francisco).
- STEFFENSEN, D., M. BURCH, B. NICHOLSON, M. DRIKAS & P. BAKER, 1999. Management of a toxic blue-green algae (cyanobacteria) in Australia. *Environ. Toxicol.*, 14: 183-195.
- THOSTRUP, L. & K. CHRISTOFFERSEN, 1999. Accumulation of microcystin in *Daphnia magna* feeding on toxic *Microcystis*. *Arch. Hydrobiol.*, 145: 447-467.
- VEZIE, C., L. BRIENT, K. SIVONEN, G. BERTRU, L.-C. LEFEUVRE & M. SALKINIOJA-SALONEN, 1998. Variation of microcystin content of cyanobacterial blooms and isolated strains in Lake Grand-Lieu (France). *Microb. Ecol.*, 35: 126-135.
- WILLAME, R. & L. HOFFMANN, 1999. Bloom-forming blue-green algae in Belgium and Luxembourg. *Arch. Hydrobiol.*, (Suppl.) 129: 365-376.
- YASUNO, M., Y. SUGAYA, K. KAYA & M. M. WATANABE, 1998. Variations in the toxicity of *Microcystis* species to *Moina macrocopa*. *Phycol. Res.*, 46: 31-36.
- ZAFAR, A. R., 1986. Seasonality of phytoplankton in some South Indian lakes. *Hydrobiologia*, 138: 177-187.
- ZOHARY, T. & A. M. P. MADEIRA, 1987. Counting natural populations of *Microcystis aeruginosa*: a simple method for colony disruption into single cells and its effect on cell counts of other species. *Journ. limnol. Soc. South Africa*, 13: 75-77.

First received 23 October 2000.

Final version accepted 27 February 2001.