

03096
5



Posgrado en ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



INTERACCIÓN ENTRE ZOOPLANCTON HERBÍVORO
Y *SCENEDESMUS*: UN ESTUDIO SOBRE LA
MORFOLOGÍA COMO MECANISMO DE DEFENSA

T E S I S

que para obtener el grado académico de

Maestro en Ciencias
(Limnología)

presenta
MAYELI SÁNCHEZ MARTÍNEZ

Director de tesis: Dra. NANDINI SARMA

Comité Tutorial: DR. RODOLFO DIRZO MINJARES
DRA. ROSA LUZ TAVERA
DRA. GLORIA VILA CLARA FATJÓ
DR. JAVIER ALCOCER DURAND

México, Ciudad de México, 2002

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Mayeli Sánchez
Martínez
FECHA: 17 sept 2002
FIRMA: Maya

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

- Si un cordero come arbustos, ¿comerá también flores?
-Un cordero se come todo lo que encuentra.
-¿ Y hasta las flores que tienen espinas?
-Sí, hasta las flores que tienen espinas.
-Entonces, ¿para qué sirven las espinas?

-Hace millones de años que las flores tienen espinas, hace igualmente millones de años que los corderos comen flores, a pesar de sus espinas. ¿Es que no es cosa seria enterarse por qué las flores fabrican unas espinas que no le sirven para nada? ¿Acaso no es importante esa guerra de las flores y los corderos?

(Antoine de Saint-Exupéry)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A Germán Yutsil, porque este trabajo es tan tuyo como mío, porque esta hecho con tu paciencia y tu impaciencia, por todas las tardes que me acompañaste en el laboratorio, por iluminar mis días cuando abres los ojos por la mañana y por darme fuerza con tu beso de las buenas noches.

A Maru, mi mamá, gracias por ser amiga y confidente, solo tu me presientes.

A Germán, mi papá, durante todo este tiempo has sido mi fuerza, el hombro en el que me apoyo, mi amigo.

A mi hermana Itzell, porque eres mi mejor amiga y la persona más solidaria que conozco.

A Ernesto, es difícil dedicarte un trabajo que es en parte tuyo, gracias por compartir tus días y tus noches conmigo.

A mis hermanos José Luis, Jaime y Ana LÍ, sus risas alegran mi vida.

A mis abuelos María, Isabel, Jaime y Alfredo, por su ejemplo y cariño.

A Lili. Aun recuerdo ese examen en el que nos sacamos diez.

A Oscar, Arturo, Alfredo y Marco, mis tíos, por su ejemplo de lucha.

A Gabi, Marta, Alma y Beti, mis tías, por su afecto.

A todos mis primos.

Agradecimientos.

¡Si uno pudiera encontrar lo que hay que decir, cuando todas las palabras se han levantado del campo como palomas asustadas! (Jaime Sabines).

A mi tutora, la Dra. Nandini Sarma, por su apoyo, dedicación, confianza, por todas las cosas que me enseñó durante estos dos años que compartió conmigo, ha sido un privilegio poder trabajar con usted.

A la Dra. Gloria Vilaclara y Dr. Rodolfo Dirzo, miembros de mi comité tutorial, por sus aportaciones a este trabajo, por el tiempo que invirtieron en el, pero sobre todo por permitirme ver su extraordinaria calidad humana.

A la Dra. Rosa Luz Tavera y Javier Alcocer, quienes se integraron como miembros del jurado, por su invaluable ayuda para concretar este estudio, por su dedicación y en especial por su entusiasmo.

Al Dr. Martín Merino, a todos los miembros del Comité Académico y a los profesores del posgrado en ciencias del Mar y Limnología, por su apoyo. A mis profesores de la licenciatura Roberto Cabrales y Gerardo Tapia.

A CONACYT y a la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM por la beca que me otorgaron.

Yo estoy, tú estás
y ella está y él también;
y todos los que estaban, estuvieron
y está muy bien.

Estamos, estaremos
nosotros; ella y él
estarán lado a lado y yo, que estuve,
estaré.
(David Chericían)

Con todo cariño quiero agradecer a mis compañeros del laboratorio de zoología acuática, en especial a Victor, Alejandro, José Luis, Cecilia, Gerardo, Rubén, Juan y Lucía. A Lalo (Lab. Interacción planta-animal). A mis amigos Paco Coca, León Arellano, Ana Jetzi, Jesus, Erica, Gabriela Colodner, Aaron Bueno, Mónica y Aretha. A las chicas super poderosas Lania, Itzell y Sare. A Ernesto, mi compañero y amigo. A Maru y Germán, porque usted lo hicieron posible.

A Norma Sauzo y Diana por su amabilidad.

Todos mis estudios los he hecho en escuelas públicas por lo que no puedo más que agradecer a todos aquellos que aún sin saberlo contribuyeron a que a que este trabajo fuera posible.

Indice.

Resumen	1
Introducción	2
Antecedentes	19
Hipótesis	17
Objetivo general	17
Objetivos particulares	17
Diseño experimental	18
Fase 1	19
Fase 2	25
Fase 3	27
Resultados	29
Discusión	50
Conclusiones	58
Bibliografía	59

Resumen:

Desde el punto de vista de las interacciones bióticas, una de las más importantes es la herbivoría. De manera general, el término herbivoría se refiere a la ingestión de material de los productores primarios. Los estudios sobre este tipo de interacciones tienen una mayor tradición en sistemas terrestres, no obstante que existen evidencias de que la herbivoría es más intensa en ecosistemas acuáticos, en donde remueve cerca del 51% de la producción primaria anual. En sistemas acuáticos el zooplancton herbívoro comprende a los rotíferos, cladóceros, copépodos y diferentes especies de protozoarios. La importancia de la presión ejercida por el zooplanctónicos herbívoro se relaciona con la fase clara de los lagos, la distribución espacial y la sucesión del fitoplancton. Debido a que zooplancton no puede comer y/o digerir con la misma eficiencia todo el fitoplancton, la herbivoría actúa como una presión de selección para las algas pelágicas y se puede esperar la evolución de mecanismos que reduzcan la vulnerabilidad al forrajeo. Una de las características importantes que aumentan la resistencia a la herbivoría se relacionan con evitar la ingestión del zooplancton. Hessen y Van Donk (1993) mostraron que células de *Scenedesmus subspicatus* formaban cenobios de cuatro u ocho células con espinas más rígidas y largas cuando eran tratadas con sustancias químicas disueltas provenientes de *Daphnia*, y sugirieron que esta inducción de cambios representaba un mecanismo de defensa de *Scenedesmus*. En este sentido, los objetivos de este estudio fueron determinar si *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda* cambian su morfología ante la presencia de zooplancton herbívoro de diferentes tallas y el grado en que la morfología de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda* funciona como mecanismo de defensa depende de la talla del herbívoro. El trabajo experimental se dividió en tres fases, en la primera se determinó el crecimiento poblacional y la sedimentación de las cepas de *Scenedesmus*; en la segunda se examinó el crecimiento poblacional y la tasa de aclaramiento de zooplancton pequeño (*Brachionus patulus* y *B. calyciflorus*), mediano (*Ceriodaphnia dubia*) y grande (*Daphnia pulex*) al alimentarse con las dos especies de *Scenedesmus*; la tercera fase consistió en observar si el zooplancton inducía cambios en la morfología de *S. acutus* y *S. quadricauda*. En la primera fase se observó que el medio Bold es adecuado para el cultivo de *S. acutus* y *S. quadricauda*; el periodo óptimo para que las algas puedan ser cosechadas para su uso como alimento se encuentra entre el día 4 y el 7; y que la tasa de sedimentación de *S. quadricauda* fue cuatro veces mayor que la de *S. acutus*. En la segunda fase se encontró que el rotífero *Brachionus patulus* creció únicamente en la biomasa baja ($0.013 \text{ ng X } 10^6 \text{ ml}^{-1}$) de *S. acutus*, y fue también en la biomasa baja de *S. acutus* en donde tuvo la tasa de filtración más alta. *B. calyciflorus* alcanzó la mayor tasa de crecimiento ($r = 0.65 \pm 0.008$) y el mayor número de individuos ($27 \pm 2.07 \text{ ind. X ml}^{-1}$) en *S. acutus*, y la tasa de aclaramiento fue de aproximadamente el doble en *S. acutus* que en *S. quadricauda*. *Ceriodaphnia dubia* es capaz de crecer en las dos especies de *Scenedesmus*, pero en *S. quadricauda* ($0.8 \pm 0.1 \text{ 07 ind. X ml}^{-1}$) su densidad poblacional es muy baja en comparación con la que alcanza en *S. acutus* ($20 \pm 0.77 \text{ 07 ind. X ml}^{-1}$). La tasa de aclaramiento fue semejante en las dos especies de *Scenedesmus*. *Daphnia pulex* fue la única especie de zooplancton capaz de crecer en *S. quadricauda* y alcanzó una densidad similar al observado en *S. acutus*. En función de las observaciones realizadas se concluyó que la forma de *S. acutus* y *S. quadricauda* tiene un impacto negativo en la población de zooplancton pequeño (*B. patulus* y *B. calyciflorus*); el zooplancton mediano (*C. dubia*) se vio afectado únicamente por el tamaño de *S. quadricauda* y en el zooplancton grande (*Daphnia pulex*) no hubo un efecto relacionado con el tamaño de *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda*. En la tercera fase se encontró que *S. acutus* y *S. quadricauda* sí cambian algunos aspectos de su morfología ante la presencia de zooplancton herbívoro, pero no se encontró una relación entre cambios morfológicos y talla del zooplancton.

Introducción

Desde el punto de vista de las interacciones bióticas, una de las más importantes es la herbivoría. De manera general, el término herbivoría se refiere a la ingestión de material de los productores primarios. Esta, en algunos sistemas, es capaz de regular la producción primaria (Cyr y Pace, 1993). A pesar de que la importancia potencial de la herbivoría fue reconocida por los predecesores de los ecólogos, como Charles Darwin, durante más de un siglo la interfase planta-animal -cuando los animales actúan como depredadores- ha sido virtualmente ignorada (Dirzo, 1984). Los estudios sobre este tipo de interacciones tienen una mayor tradición en sistemas terrestres, no obstante que existen evidencias de que la herbivoría es más intensa en ecosistemas acuáticos (Cyr y Pace, 1993) y fue hasta 1970's que la importancia del forrajeo por el zooplancton herbívoro en el desarrollo de las poblaciones fitoplanctónicas empezó a ser reconocido (Lampert y Sommer, 1997).

Las tasas de herbivoría varían en los diferentes tipos de ecosistemas; dentro del agua, las algas son forrajeadas más intensamente que las plantas vasculares y los herbívoros remueven cerca del 51% de la producción primaria anual, mientras que en sistemas terrestres sólo llega al 18%, a pesar de que la biomasa de herbívoros es similar en ambos casos (Cyr y Pace, 1993).

En sistemas acuáticos el zooplancton herbívoro comprende a los rotíferos, cladóceros, copépodos y diferentes especies de protozoarios. La importancia de la presión ejercida por los grupos zooplanctónicos de metazoarios herbívoros se relaciona con la distribución espacial (Gaines y Lubchenco, 1982; Lampert y Taylor, 1985) y la sucesión del fitoplancton (Beisner, 2001; Sarnelle, 1993), así como con la disminución en la biomasa algal, que ocurre en los lagos a la mitad del periodo de crecimiento del fitoplancton, a la que se le denominó "fase clara" ya que generalmente se acompaña con una alta transparencia del agua (Lampert *et al.*, 1986; Lampert y Sommer, 1997). No obstante, el efecto de los herbívoros llega aún más lejos, ya que participan en la regeneración de nutrientes limitantes y, bajo ciertas condiciones, la regeneración de nutrientes puede compensar las pérdidas del fitoplancton por forrajeo (Sterner, 1986). En contraste, el papel de los protozoarios como herbívoros ha sido menos explorado (p. ej. ver Guixa-Boixereu *et al.*, 1999 y Gonzales, 1999).

El zooplancton no puede comer y/o digerir con la misma eficiencia todo el fitoplancton, debido a que en el proceso de forrajeo influyen una gran variedad de factores, como el tamaño y composición del alga o la producción de toxinas (Dodson y Frey, 1991; Peters, 1984), por lo que la herbivoría actúa como una presión de selección para las algas pelágicas y se puede esperar la evolución de mecanismos que reduzcan la vulnerabilidad al forrajeo. Algunas de las características importantes que aumentan la resistencia a la herbivoría son aquellas que se relacionan con evitar la ingestión del zooplancton y las que evitan -en el caso de ser ingeridas- daños al pasar por el aparato digestivo (Lampert y Sommer, 1997).

Existen diversos atributos que contribuyen a evitar la ingestión por parte de los herbívoros y uno de los más importantes es el tamaño. En un trabajo con seis especies de *Daphnia* y *Bosmina longirostris*, Burns (1968) observó una relación entre el tamaño del cuerpo y el tamaño de partícula que podía ser ingerida y propuso una ecuación para predecir la medida máxima del globo esférico que puede ingerir un cladóceros a partir de su talla; de forma similar, existe una relación entre el volumen del herbívoro y la tasa máxima de ingestión -que se refiere a cuantas partículas o biomasa de alimento puede consumir un organismo por unidad de tiempo (Lampert y Sommer, 1997)- (Hansen *et al.*, 1997; Peters y Downing, 1984). Sin embargo, Cyr y Curtis (1999) reportaron que, aun cuando de manera general la relación entre el tamaño del cuerpo del zooplancton y el intervalo de tamaño de partículas que puede ingerir se cumple, para algunos miembros del zooplancton, como *Bosmina*, esta relación no se ajusta a la ecuación de Burns (1968), ya que es capaz de ingerir partículas más grandes. Es posible que para los cladóceros el tamaño de partículas alimenticias sea determinado por más factores que el tamaño del cuerpo, por ejemplo, el espacio entre setas (Dodson y Frey, 1991). En general, se considera que los cladóceros no forrajean en el fitoplancton que mide más de $10^4 \mu\text{m}^3$, que los rotíferos no pueden consumir fitoplancton mayor a $10^3 \mu\text{m}^3$ (Harris, 1986) y que las algas que son más grande que $30\text{-}35\mu\text{m}$ no son ingeridas por el zooplancton (Cyr y Curtis, 1999). Otros factores, como la dureza de la pared celular de las algas, también influyen en el consumo del zooplancton: los flagelados, por ejemplo, son ingeridos más fácilmente que las diatomeas (Stutzman, 1995).

Algunas algas poseen mecanismos para que, en caso de ser ingeridas, eviten ser digeridas: las clorofíceas mucilaginosas son digeridas muy poco por cladóceros (p. ej.

Daphnia pulicaria) y copépodos, resultando en una disminución del crecimiento poblacional del zooplancton (Stutzman, 1995) y la excreción de mucílago por diatomeas también puede inhibir el forrajeo de copépodos (Van Donk *et al.*, 1999). Las algas deficientes en nutrientes disminuyen la ingestión y la eficiencia de asimilación del zooplancton, incrementando su probabilidad de persistencia en periodos de estrés por la falta de nutrientes (Van Donk *et al.*, 1999). Cuando *Daphnia* forrajea en algas deficientes en nutrientes o algas con estrés por UV-B reduce su tasa de crecimiento y de fecundidad (Van Donk *et al.*, 1997; Van Donk y Hessen, 1995). Por ejemplo, se reportó que *Daphnia* sobrevive mejor, crece más rápido y se reproduce un mayor número de veces cuando se alimenta en *Chlamydomonas* sin limitación de nutrientes, que en células limitadas por N o P (Mitchell *et al.*, 1992; Van Donk, 1997). De la misma forma, los estudios en campo han encontrado una relación entre la limitación de nutrientes y el efecto del forrajeo en las comunidades fitoplanctónicas (p. ej. Vanni y Temte, 1990). Algunas especies de algas pueden tomar nutrientes del zooplancton que las ingiere, además de evitar ser digeridas. Estudios en *Sphaerocystis Schroeteri* demostraron que gracias a que las colonias tienen una cubierta de un polisacárido complejo, el 90% de las células pasan sin ser dañadas por el aparato digestivo de *Daphnia magna* y *D. galeata* y, a su paso, toman nutrientes que se encuentran dentro de las dafnias (Porter, 1976).

Las cianobacterias son de especial interés porque poseen diferentes mecanismos, que pueden actuar solos o en conjunto y que minimizan la presión por herbivoría. Algunos de estos mecanismos son (Nandini y Rao, 1998): (i) la formación de colonias (*Microcystis*) o filamentos (*Oscillatoria*, *Lyngbya*) que representan una dificultad mecánica potencial para el forrajeo al ser manipuladas e interfieren en el proceso de filtración; (ii) ser pobremente digeridas y asimiladas, por lo que constituyen un alimento menos aprovechable para el zooplancton en comparación con otras algas, y (iii) la secreción de toxinas que dañan a los herbívoros, por ejemplo microcistinas, que son ciclopéptidos hepatotóxicos (Nandini, 2000). Se ha observado que las sustancias tóxicas emitidas por cianobacterias pueden disminuir la tasa de filtración de dáfidos en un 50% (Scheffer y Rinaldi, 2000), mientras que los datos tomados en campo reflejan que, durante periodos en los que abunda la formación de colonias de *Microcystis*, se puede reducir la tasa de filtración de *Daphnia* a sólo un 25-36% de la tasa máxima de filtración que se presenta en periodos donde son

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

dominantes otras algas más comestibles (Jarvis *et al.*, 1987). En el laboratorio se corroboraron datos similares sobre la reducción de la tasa de filtración por cianobacterias en el copépodo *Eudiaptomus gracilis* (Pandolfini *et al.*, 2000). En un estudio con cinco especies de cladóceros y dos rotíferos alimentados con *Microcystis aeruginosa*, Nandini (2000) encontró que la susceptibilidad de los diferentes taxa de zooplankton variaba no sólo por efecto del tóxico, sino también por la formación de colonias. Esto fue confirmado por el trabajo de Alva-Martínez *et al.* (2001) con *Microcystis aeruginosa* en células, en el que se observó que *Moina macrocopa* es muy susceptible al tóxico y su población no puede crecer, mientras que *Ceriodaphnia dubia* puede tener un crecimiento incluso mayor al que tiene al ser alimentada con algas no tóxicas. En *Daphnia pulex* se observa un decremento de su historia de vida al ser alimentada con *Microcystis* (Hietala *et al.*, 1997).

Se cree que la resistencia al forrajeo involucra un costo metabólico o reduce las habilidades competitivas, por lo que se puede esperar un intercambio entre resistencia al forrajeo y pago por el costo metabólico (Van Donk *et al.*, 1999). Cuando los nutrientes se encuentran en exceso, el crecimiento poblacional puede compensar las pérdidas por forrajeo; sin embargo, en sistemas deficientes en nutrientes o con estrés por rayos UV-B el crecimiento poblacional es bajo y algunos cambios morfológicos contra la herbivoría pueden ser benéficos, incluso a expensas del crecimiento de la población. Para algunas especies de algas, el incremento en el grosor de su pared celular bajo condiciones desfavorables puede ser, en apariencia, una preparación para enquistarse; en estas especies podría no ser apropiado invocar el argumento de que el grosor de la pared celular sea una estrategia primaria para disminuir el crecimiento de herbívoros, aunque precisamente tiene este efecto (Van Donk, 1997). Esto es similar a lo que sucede en sistemas terrestres, en donde los flavonoides producidos por las plantas tienen como función principal la protección del tejido de las hojas contra daño por rayos UV y, simultáneamente, actúan como repelentes de herbívoros (Strauss y Agrawal, 1999).

En este sentido existen dos niveles posibles de interpretación de cualquier interacción entre productores primarios y sus herbívoros, estos dos niveles se determinan a partir de factores proximales y de factores últimos. La interpretación proximal (ecológica) de la herbivoría se da en términos de las características actuales de los productores primarios y sus herbívoros, mientras que la interpretación última contempla la posibilidad

de que características presentes actualmente en los productores primarios y sus herbívoros sean resultado de un proceso evolutivo que involucró directamente a la herbivoría como presión de selección (Dirzo, 1984).

En el presente trabajo defensa se define como cualquier característica que le confiere un beneficio en su adecuación a un productor primario en presencia de un herbívoro (Strauss y Agrawal, 1999).

Las defensas de los productores primarios se pueden encontrar de forma permanente o pueden inducirse (Howe y Westley, 1988); existen una gran cantidad de factores que pueden inducir cambios en un productor primario, sin embargo no todos estos cambios representan una defensa inducida.

Una “respuesta inducida” se refiere a los cambios que presentan los productores primarios después de un daño o de estrés. Estos cambios pueden incrementar la “resistencia” a futuros ataques de herbívoros reduciendo su preferencia o el daño que causan los herbívoros -no se asume que estos cambios evolucionan como resultado de la selección por herbívoros-. Cuando la respuesta de las plantas a daños por herbívoros disminuye las consecuencias negativas en la adecuación que tienen los ataques en los productores primarios la respuesta actúa como una “defensa inducida” (Karban y Myers, 1989).

Karban y Mayrs (1989) propusieron la siguiente clave dicotómica para la identificación de las defensas inducidas:

¿Cambian las cualidades de las plantas con un daño o estrés?

1 No: No hay respuesta

1' Si: Respuesta inducida (seguir a 2)

¿La respuesta inducida reduce la preferencia o el daño de la herbivoría?

2 No: No hay efecto o existe susceptibilidad a la inducción

2' Si: Resistencia inducida (seguir a 3)

¿La reducción de la preferencia/daño incrementa la adecuación de la planta?

3 No: La planta no es defendida por la defensa

3' Si: Defensa inducida

La inducción de cambios que disminuyen el efecto de la herbivoría pueden relacionarse con el estrés por factores ambientales y la presencia de sustancias químicas provenientes del zooplancton. En la Tabla 1 se resumen los factores que inducen defensas en el fitoplancton y sus efectos indirectos en el zooplancton (Van Donk, 1997).

Tabla 1. Resumen de factores que inducen defensas en el fitoplancton, efectos indirectos en el zooplancton y presencia de mecanismos de retroalimentación (tomada de Van Donk, 1997).

Factores de inducción	Defensas del fitoplancton	Efectos indirectos del zooplancton	Mecanismos de retroalimentación
Limitación en nutrimentos	Incremento en la talla y en el grosor de la pared celular.	Asimilación del alga ↓ Tasa de crecimiento ↓ Fecundidad ↓	Sí, toma de nutrimentos por el alga durante el pasaje por el intestino
Estrés por UV-B	Incremento en la talla y en el grosor de la pared celular.	Asimilación del alga ↓ Tasa de crecimiento ↓ Fecundidad ↓	No
Infoquímicos del zooplancton	Formación de colonias y espinas.	Para el zooplancton pequeño: Tasa de ingestión ↓ Tasa de crecimiento ↓ Fecundidad ↓	Sí, el alimento limita las formas de zooplancton menos infoquímicos

La variabilidad en las características defensivas de las algas en el campo puede ser explicada en parte por el reemplazo clonal como condición de cambio. Sin embargo, esto es también una evidencia de la plasticidad fenotípica. Por ejemplo, diferentes especies del género *Scenedesmus* son notoriamente flexibles desde el punto de vista fenotípico, cepas individuales pueden crecer unicelularmente o como colonias (cenobios¹) de cuatro u ocho células; estas células pueden variar respecto al número y tamaño de las espinas (Van Donk *et al.*, 1999). Para *Scenedesmus* se sugirió que el cambio fenotípico es un orden de secuencias de ecomorfosis que puede ser definido como una ciclomorfosis² conducida por factores ambientales (Trainor, 1992); aunque también se ha interpretado la ciclomorfosis de diferentes grupos planctónicos como una respuesta a la depredación (Dodson, 1974), y en *S. subspicatus* y *S. acutus* se encontró evidencia de que la ciclomorfosis se podía inducir

¹ El término *coenobium* es frecuentemente usado para colonias de *Scenedesmus*, su definición estricta es “una colonia de organismos unicelulares que tienen una forma y organización definida, que se comporta individualmente y, al reproducirse, da cenobios hijos (Lawrence, 1971 *in* Wiltshire y Lampert, 1999)”, es decir que se comportan como una “unidad biológica”.

² Ciclomorfosis se refiere a un cambio cíclico morfológico temporal (estacional o no) en las comunidades planctónicas (Black y Slobodkin, 1983).

por factores relacionados con la presencia de *Daphnia* (Hessen y Van Donk, 1993; Lampert *et al.*, 1994).

Debido a que *Daphnia* forrajea en *Scenedesmus*, se postuló que la formación de colonias representa un mecanismo de defensa del alga (Hessen y Van Donk, 1993). Sin embargo, trabajos posteriores mostraron que la inducción de colonias en *Scenedesmus* no es específica de *Daphnia magna* (Van Donk *et al.*, 1999 y referencias contenidas en el texto). El postulado del mecanismo de defensa de las algas es aún incierto, ya que se desconoce si todos los organismos que inducen la formación de colonias consumen *Scenedesmus*. Lürling y otros (Lürling y Van Donk, 1996; 1997; Lürling, *et al.* 1997) han puesto de manifiesto otras incongruencias en estudios sobre la calidad de alimento que representan los *Scenedesmus* unicelulares y multicelulares para la ingestión por *Daphnia*. Por ejemplo, aunque la pequeña *Daphnia cucullata* parece tener un menor crecimiento en las colonias que las especies de *Daphnia* de mayor tamaño, aparentemente es capaz de competir adecuadamente por las colonias de *Scenedesmus*; entonces, podría interpretarse que la formación de colonias en *Scenedesmus* es un mecanismo de defensa menos útil ante la ingestión por parte del zooplancton grande (Wiltshire y Lampert, 1999).

Con base en lo anterior, el presente trabajo se centró en contestar las siguientes interrogantes:

1. Las especies *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda* ¿cambian su morfología ante la presencia de zooplancton herbívoro?
2. En el caso de cambiarla ¿se relaciona la inducción de cambios morfológicos con la talla del zooplancton?
3. ¿Cuál es el efecto de la morfología de *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda* en el zooplancton en términos de la talla del herbívoro?

Antecedentes

El concepto de polimorfismo en *Scenedesmus* se introdujo hace aproximadamente un siglo, cuando se encontró que células con espinas identificadas como especies de *Chodatella* en realidad eran *Scenedesmus*. Sin embargo, este concepto no se incorporó en la sistemática del género, por lo que frecuentemente para ciertas especies (p. ej. *S. armatus*) diferentes estadios de desarrollo se identificaron como un taxon distinto (Trainor y Egan, 1990).

En apariencia, el desarrollo de células sueltas en *Scenedesmus* no es producto de la fragmentación de colonias, pues los cenobios y las células tienen los mismos estadios de desarrollo; la diferencia se encuentra al final de la división celular, cuando las células hijas fallan en la unión con otras células (Egan y Trainor, 1989).

Black y Slobodkin (1987) sugirieron que la ciclomorfosis puede ser controlada por diversos mecanismos que incluyen señales químicas, temperatura y depredación. En el caso de *Scenedesmus* se reportó que los cambios morfológicos estaban asociados con la disponibilidad de nutrientes y la temperatura (Trainor, 1992) y por factores bióticos. Por ejemplo, Hessen y Van Donk (1993) mostraron que células de *Scenedesmus subspicatus* formaban cenobios de cuatro u ocho células con espinas más rígidas y largas cuando eran tratadas con sustancias químicas disueltas provenientes de *Daphnia*.

Lampert *et al.* (1994) encontraron resultados similares en la inducción de cenobios en el alga verde sin espinas *Scenedesmus acutus* (ahora se sabe que es *S. obliquus*, cepa SAG 276-3a, Göttingen, Hegewald ver Hannen *et al.*, 2000) mediante sustancias excretadas por *Daphnia magna*. Algunos trabajos posteriores realizados también con *S. acutus*, reportaron que las sustancias químicas provenientes de *Daphnia* inducían un mayor volumen de las células de los cenobios y aumentaban el número de células por colonia (Lürling y Van Donk, 1997).

Aunque la inducción de cenobios de *Scenedesmus* por *Daphnia* podría, en un primer acercamiento, atribuirse al hecho de que los animales exudan una sustancia que actúe como un infoquímico³ específico o kairomona⁴ para *Scenedesmus* (Lampert *et al.*, 1994), la identificación de dichas sustancias aún no se ha logrado.

³ Un infoquímico es una sustancia química que transmite información (Dicke y Sabelis, 1988 in Dicke, 1999).

⁴ De acuerdo con el diccionario de términos de biología Hederson (Lawrence, 1997 in Wiltshire y Lampert 1999), una kairomona es un mensajero químico o feromona emitido por una especie, el cual tiene un efecto en miembros de otra especie, algunas veces con detrimento del transmisor.

Lampert *et al.* (1994) y Lürling (1998) descartaron que el factor de inducción pudiera provenir de las propias algas, ya que la inducción no ocurría cuando se agregaba al medio agua proveniente de cultivos de *Scenedesmus* homogeneizados.

Lampert *et al.* (1994) demostraron que la kairomona de *Daphnia* es, en apariencia, una sustancia orgánica no volátil de pequeña masa molecular (<500 uma), estable con el calor y resistente al pH en un intervalo de 1 a 12. Esta sustancia no se ve afectada por el tratamiento con Pronasa E, una enzima que reacciona con péptidos (Lampert *et al.*, 1994). Es evidente que no es el adenosín-3', 5'-monofosfato cíclico, el cual se ha reportado como estimulante de la formación de tapetes ("mats") de cianobacterias cuando se adiciona, por ejemplo, a una suspensión densa de tricomas de *Spirulina platensis*. *Daphnia* puede producir cantidades importantes de AMPc como resultado de la degradación digestiva de las células de algas, sin embargo, no se forman hojuelas o colonias cuando el AMPc se adiciona a *Aphanizomenon flos-aqua*, *Oscillatoria agardhii* y *Scenedesmus acutus/obliquus* (Van Donk *et al.*, 1999).

Debido a que *Daphnia* en estado de inanición induce menos la formación de colonias que *Daphnia* que forrajea activamente (Lampert *et al.*, 1994; Lürling, 1998), Lürling (1998) y Lürling y Van Donk (1997) propusieron que el infoquímico era producto de la degradación de las algas por la digestión del herbívoro. Además, se ha observado que *Daphnia* alimentada activamente con *Scenedesmus* induce la formación de un porcentaje mayor de colonias en los cultivos que *Daphnia* que forrajean en algas menos comestibles, como por ejemplo, en la cianobacteria filamentosa *Oscillatoria*. Sin embargo, existen evidencias contradictorias sobre la calidad del alimento y la excreción de sustancias de inducción de colonias. De forma opuesta a lo que ocurre con *Daphnia* al ser alimentada con *Oscillatoria*, el agua proveniente de cultivos de *Daphnia* alimentada con *Microcystis* unicelulares y *Scenedesmus* deficientes en nutrimentos o levaduras, induce colonias de *Scenedesmus* en igual cantidad que animales alimentados con *Scenedesmus* sin restricción de nutrimentos y luz. Las bacterias presentes en el intestino de los dáfnidos pueden estar involucradas en la producción de infoquímicos de inducción de colonias, ya que esta respuesta se inhibe con animales expuestos a antibióticos, como carbenicilina o cefototaxina, que no afectan el crecimiento de las algas (Van Donk *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

De forma alternativa existe la hipótesis de que el infoquímico se origina en el metabolismo no digestivo del zooplancton y que se relaciona únicamente de forma indirecta con su digestión. Von Elert y Franck (1999) reportan que el infoquímico no pudo ser extraído del alga o del herbívoro con solventes acuosos o más lipofílicos. En ese trabajo, la liberación de la actividad de inducción de cenobios por la alimentación activa de *D. magna* fue investigado como una función de la masa corporal del individuo y no se observó aumento con el incremento de la masa corporal individual. Los datos de Von Elert y Frank (1999) reflejan una relación alométrica entre la tasa de ingestión y la producción de inducción de colonias. Esto fue interpretado como un indicio de que el químico podría originarse del metabolismo no digestivo del zooplancton más que de la digestión del alga por forrajeo. El infoquímico liberado por *D. magna* se caracterizó como un ácido carboxílico olifénico de bajo peso molecular (Von Elert y Franck, 1999). Recientemente, Wiltshire y Lampert (1999) probaron la hipótesis de que el amonio y la urea excretados por el zooplancton (*Daphnia*) pueden inducir la formación de cenobios en *Scenedesmus*, y encontraron una relación positiva entre la formación de colonias por urea y una relación negativa con el amonio.

Otros factores que afectan la intensidad de respuesta de las algas dependen de parámetros tales como la talla del zooplancton, densidad de los animales, el estado fisiológico del zooplancton y la temperatura (Van Donk *et al.*, 1999; Lürling y Van Donk, 1999). Lampert *et al.* (1994) y Lürling y Van Donk (1997) reportaron que la formación de colonias se relaciona con la concentración del factor de *Daphnia*. La formación de colonias se incrementa de forma no lineal con la densidad de los animales, alcanzando un estado estacionario en el nivel de 200 individuos de *Daphnia* en un litro, pero el efecto puede aumentarse cuando se adiciona agua con infoquímicos; por otra parte, también se encontró una clara relación entre la longitud de *D. magna* y la intensidad de formación de colonias en *Scenedesmus*, relación que puede indicar una importante correlación con la actividad de forrajeo de los animales (Van Donk *et al.*, 1999); los dáfnidos pequeños, como *D. cucullata*, no inducen colonias en densidades menores a 400 individuos l⁻¹ probablemente debido a su biomasa relativamente baja, más que a su habilidad para inducir colonias (Van Donk *et al.*, 1999). Lürling y Van Donk (1997), en un estudio en el que se probó la habilidad de diferentes grupos de zooplancton para inducir colonias, encontraron una

relación especialmente significativa entre la abundancia de rotíferos y la inducción de colonias; por último, aun cuando la inducción de colonias por kairomonas puede llevarse a cabo tanto a baja como a alta temperatura, el número de células por colonias se incrementa en agua fría y la inducción de colonias ocurre más rápido a temperatura alta (Lürling y Van Donk 1999).

El grado en el cual la formación de colonias en *Scenedesmus* ofrece una protección contra el forrajeo depende, en apariencia, del tamaño del herbívoro; la formación de colonias únicamente es efectiva contra pequeños herbívoros. Hessen y Van Donk (1993) encontraron tasas bajas de forrajeo en *D. magna* cuando el número de colonias de *Scenedesmus* en el alimento era alta, por lo que supusieron que las colonias de *Scenedesmus* eran más grandes que la máxima talla que podía ingerir un dáfido de 1.75 mm de longitud. Sin embargo, Lampert *et al.* (1994) no encontraron diferencias significativas en el consumo de *S. acutus/obliquus*. La cepa de *S. acutus/obliquus* no tiene espinas, por lo que es posible que los dáfnidos probados (los cuales eran más largos por un milímetro a los usados por Hessen y Van Donk, 1993) puedan ingerirla sin dificultad. Por otra parte, las concentraciones del alga fueron diferentes: Lampert empleó bajas concentraciones de alimento donde las dafnias podían filtrar a su tasa máxima, mientras que Hessen y Van Donk (1993) trabajaron con concentraciones de alimento muy altas. En experimentos realizados con dos dáfnidos -*D. magna* y *D. cucullata*- con *Scenedesmus acutus/obliquus* (colonias y células), se encontró que para la pequeña *D. cucullata* la tasa de aclaramiento –que es una expresión del volumen de agua que es aclarado de partículas por unidad de tiempo- disminuía de forma significativa cuando forrajeaba en colonias, mientras que para *D. magna*, la tasa de aclaramiento no mostró diferencias significativas cuando forrajeaba en colonias o en células (Lürling *et al.*, 1997). En otro dáfido, *D. pulex*, se observó que al igual que en *D. magna*, la tasa de aclaramiento no cambiaba de forma significativa cuando se alimentaba en colonias o células de *S. acutus/obliquus* (Van Donk, 1997). En la Tabla 2 se puede observar la diferencia en la tasa de clarificación de dáfnidos de diferentes tallas alimentados con colonias o células de *Scenedesmus*.

Tabla 2. Alimentación de *Daphnia* en células (U) o colonias (C) de *Scenedesmus* expresada como el volumen de agua con alga que es limpiada, por individuo, por tiempo (tasa de aclaramiento, ml ind⁻¹ h⁻¹) (Tomada de Van Donk *et al.*, 1999).

Zooplancton	Tamaño del animal (mm)	Tipo de alimento	Principal volumen de partícula (µm ³)	Tasa de aclaramiento (ml ind ⁻¹ h ⁻¹)
<i>Daphnia pulex</i>	1.0	<i>S. acutus</i>	89 U	0.24 ± 0.10
	1.0	"	312 C	0.19 ± 0.08
	2.5	"	89 U	0.97 ± 0.05
	2.5	"	312 C	0.87 ± 0.26
<i>Daphnia cucullata</i>	0.6	<i>S. acutus</i>	89 U	0.32 ± 0.06
	0.6	"	312 C	0.03 ± 0.24*
	1.1	"	89 U	0.61 ± 0.11
	1.1	"	312 C	0.19 ± 0.12*
<i>Daphnia magna</i>	1.0	<i>S. obliquus</i>	89 U	0.33 ± 0.07
	1.0	"	224 C	0.22 ± 0.11
	1.0	"	476 C	0.05 ± 0.10*
	1.6	"	89 U	0.95 ± 0.11
	1.6	"	224 C	0.95 ± 0.08
	1.6	"	476 C	0.96 ± 0.11
<i>Daphnia cucullata</i>	0.7	<i>S. obliquus</i>	89 U	0.24 ± 0.12
	0.7	"	224 C	0.08 ± 0.22
	0.7	"	476 C	0.01 ± 0.24
	1.2	"	89 U	0.41 ± 0.15
	1.2	"	224 C	0.17 ± 0.09*
	1.2	"	476 C	0.07 ± 0.03*

*Tasas de aclaramiento que fueron significativamente más bajas que la de los animales alimentadas con células.

Aun cuando las tasas de aclaramiento de *D. magna* y *D. cucullata* mostraron resultados diferentes al ser alimentadas con colonias, en ambas especies el crecimiento poblacional (r) disminuyó cuando fueron alimentadas en colonias en comparación con células (r bajó 5% para *D. magna* y 32% para *D. cucullata*) (Lürling *et al.*, 1997).

Cabe destacar que los experimentos sobre el efecto de los cambios morfológicos de *Scenedesmus* en el zooplancton sólo se realizaron con cladóceros y se desconoce el efecto en rotíferos que, de acuerdo con el intervalo de partículas que pueden ingerir, son depredadores potenciales de *Scenedesmus* (Harris, 1986) y que constituyen un grupo importante de herbívoros en sistemas acuáticos epicontinentales, especialmente en cuerpos acuáticos tropicales, en donde el zooplancton de talla pequeña es más común (Fernando *et al.*, 1987).

Por otra parte, en experimentos sobre el efecto de infoquímicos de *Daphnia* en quince cepas de clorofíceas, dos cepas de diatomeas y tres cepas de cianofíceas, la inducción de colonias de *Daphnia* parece no ser exclusiva del género *Scenedesmus*, ya que *Coelastrum* obtuvo una respuesta similar (Tabla 3). Además, en este estudio resalta que no todas las especies de *Scenedesmus* respondieron a *Daphnia*, como ocurrió en *S. quadricauda*. Con base en lo anterior, es posible sugerir que la formación de colonias como una respuesta a *Daphnia* es característica y única en clorofíceas. Sin embargo, no se ha observado que esta respuesta sea absoluta: los estados fisiológicos de diferentes especies pueden obscurecer los efectos; por ejemplo, *S. subspicatus* responde sólo en forma ocasional a las sustancias químicas de *Daphnia*, lo cual probablemente depende de la fase de crecimiento en la que se encuentre el alga (Van Donk *et al.*, 1999).

Por último, se ha encontrado que la mayor parte de los taxa de zooplancton pueden inducir colonias en *S. acutus* cuando sus poblaciones son importantes; estos experimentos se hicieron con rotíferos, cladóceros, copépodos y ostrácodos; únicamente los ostrácodos y algunos cladóceros (como, por ejemplo, *Chydorus sphaericus*) y copépodos (por ejemplo, *Cyclops agilis*) no cambiaron el fenotipo de *Scenedesmus* (ver Tabla 4). Esto sugiere que la inducción de colonias en *Scenedesmus* está muy extendida, pero no es universal (Van Donk *et al.*, 1999) y aún no está claro si es una respuesta general al zooplancton o únicamente a los herbívoros (Van Donk, 1997).

Debido a que la inducción de colonias no afecta la composición bioquímica del alga (Lürling *et al.*, 1997) ni modifica la tasa de crecimiento poblacional (Lampert *et al.*, 1994; Lürling, 1998) y no se relaciona con la concentración de clorofila *a*, el costo de la formación de colonias puede asociarse con la sedimentación (Lürling y Van Donk, 2000), aunque también se interpretó a los apéndices y expansiones de las algas como favorecedoras del retardo de caída (Margalef, 1983).

Las células tienen una mejor flotación que las colonias (Lürling y Van Donk, 2000), no obstante, las formas coloniales barbadas y con un mayor número de espinas flotan mejor que las células (Egan y Trainor, 1989), aunque en los estudios de inducción por infoquímicos no se observaron formas barbadas (Lürling y Van Donk, 2000).

Tabla 3. Especies de fitoplancton probadas para la inducción de colonias (Tomado de Van Donk *et al.*, 1999).

Taxon de alga	Taxon de herbívoros	Inducción de colonias
Chlorophyceae		
<i>Scenedesmus acuminatus</i> NIVA-CHL 58	<i>Daphnia pulex</i>	Sí
<i>Scenedesmus acutus</i> Max-Planck-Institut	<i>Daphnia gal.eata</i>	Sí
<i>Scenedesmus obliquus</i> NIVA-CHL 6	<i>Daphnia magna</i>	Sí
<i>Scenedesmus obliquus</i> SAG 276-1	<i>Daphnia magna</i>	Sí
<i>Scenedesmus quadricauda</i> NIVA CHL 7	<i>Daphnia magna</i>	No
<i>Scenedesmus subspicatus</i> NIVA CHL 55	<i>Daphnia gal.eata</i>	Sí
<i>Coelastrum microporum</i> SAG 217-1 ^a	<i>Daphnia magna</i>	Sí
<i>Coelastrum sphaericum</i> SAG 32.81	<i>Daphnia magna</i>	Sí
<i>Ankistrodesmus fal.catus</i> NIVA CHL 8	<i>Daphnia magna</i>	No
<i>Ankistrodesmus bibrainus</i> SAG 278-1	<i>Daphnia magna</i>	¿?
<i>Chlorella vulgaris</i> NIVA CHL 19	<i>Daphnia magna</i>	¿?
<i>Raphidocelis subcapitata</i> NIVA CHL 1	<i>Daphnia magna</i>	No
<i>Micractinium pusillum</i> CCAP 248/1	<i>Daphnia magna</i>	No
<i>Pediastrum duplex</i> SAG 261-3 ^a	<i>Daphnia magna</i>	No
<i>Planktosphaeria maxima</i> CCAP 65/1	<i>Daphnia magna</i>	No
Bacillariophyceae		
<i>Synedra tenuis</i> CCAP 1080/2	<i>Daphnia pulex</i>	¿?
<i>Asterionella formosa</i> CCAP 1005/9	<i>Daphnia pulex</i>	No
Cyanophyceae		
<i>Microcystis aeruginosa</i> NIVA-CYA 43	<i>Daphnia magna</i>	No
<i>Oscillatoria agardhii</i> NIVA.CYA 116	<i>Daphnia magna</i>	No
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> CYA 142	<i>Daphnia magna</i>	No

Tabla 4. Especies de zooplancton probadas para la habilidad de inducir la formación de colonias en *Scenedesmus* (Tomado de Van Donk *et al.*, 1999).

Zooplancton	Inducción de colonias en <i>Scenedesmus</i>	Densidad (ind. l ⁻¹)*
Cladocera		
<i>Daphnia magna</i>	Sí	20
<i>Daphnia pulex</i>	Sí	20
<i>Daphnia gal. eata</i>	Sí	50
<i>Daphnia hyal. ina</i>	Sí	100
<i>Daphnia cucullata</i>	Sí	400
<i>Bosmina longirostris</i>	Sí	1000
<i>Chydorus sphaericus</i>	No	500
<i>Simocephalus vetulus</i>	Sí	200
Copepoda		
<i>Eudiaptomus gracilis</i>	Sí	200
<i>Cyclops agilis</i>	No	200

Hipótesis

Scenedesmus acutus f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda* cambian su morfología ante la presencia de zooplancton herbívoro y en la inducción de cambios morfológicos influye la talla del zooplancton.

La morfología de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda* representa un mecanismo de defensa a la herbivoría.

El grado en que la morfología de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda* funciona como mecanismo de defensa depende de la talla del herbívoro.

Objetivos generales

1. Evaluar si *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda* presentan cambios morfológicos ante la presencia de zooplancton herbívoro de diferentes tallas.
2. Determinar la respuesta numérica y la tasa de aclaramiento de zooplancton de diferentes tallas al ser alimentado con *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda*.

Objetivos particulares

- Determinar si existe un cambio en la morfología de los cenobios de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *Scenedesmus quadricauda* ante la presencia de zooplancton de talla grande (*Daphnia pulex*), mediana (*Ceriodaphnia dubia*), y pequeña (*Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus*).
- En caso de presentarse cambios en los cenobios, evaluar si existe una relación entre inducción de cambios morfológicos y la talla del zooplancton.
- Evaluar el efecto de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y el de *Scenedesmus quadricauda* en el crecimiento poblacional de *D. pulex*, *Ceriodaphnia dubia*, *B. calyciflorus* y *B. patulus*.
- Cuantificar la tasa de aclaramiento de *D. pulex*, *Ceriodaphnia dubia*, *B. calyciflorus* y *B. patulus* en *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y en *Scenedesmus quadricauda*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Diseño experimental

El diseño experimental se dividió en tres fases. En la primera de ellas se obtuvieron a los organismos experimentales y se desarrollaron pruebas preliminares para conocer el tamaño de los organismos, medio de cultivo adecuado y sedimentación –esto último solo para las dos especies de *Scenedesmus*-. La segunda fase consistió en experimentos encaminados a evaluar el efecto de la morfología de *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda* en el zooplancton. En la tercera fase se realizaron experimentos para determinar el efecto de el zooplancton en la morfología de *S. acutus* y *S. quadricauda*. En la figura 1 se presentan las tres fases del diseño experimental.

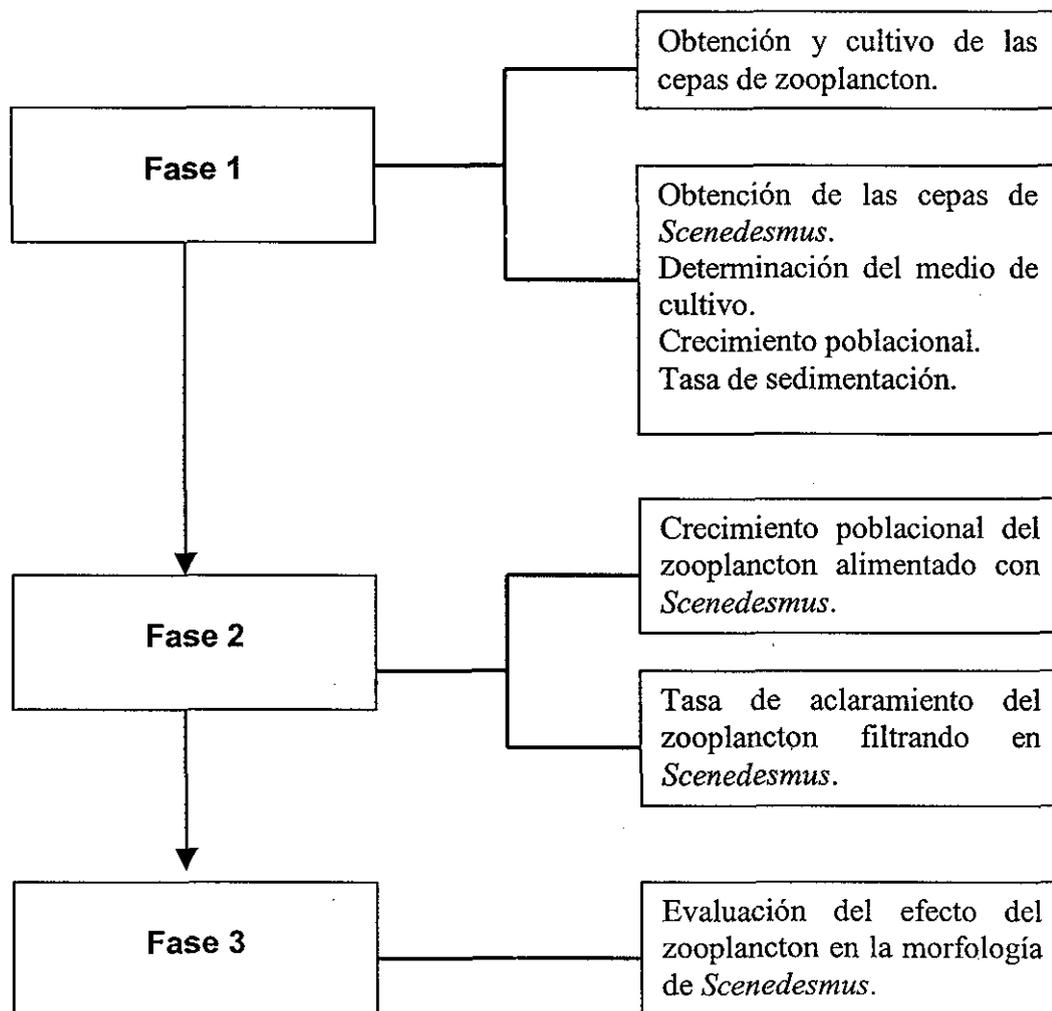


Fig. 1 Fases del diseño experimental.

A continuación se detallan los materiales y métodos empleados en cada fase.

Fase 1.

1. Obtención y cultivo de las cepas.

Las cepas de *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* fueron recolectadas del embalse Manuel Ávila Camacho (Presa de Valsequillo), en el estado de Puebla; la de *Brachionus calyciflorus* fue colectada en el Lago de Chapultepec, ubicado en la Ciudad de México, y la de *B. patulus* de la presa Santa Elena, en el Estado de México. Todas las especies de zooplancton fueron aisladas y mantenidas en condiciones de laboratorio por más de un año en el laboratorio de Zoología Acuática de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la UNAM. En la Fig. 2 se muestran imágenes de las cuatro especies de zooplancton, las fotografías pertenecen al laboratorio de Zoología Acuática. El zooplancton fue cultivado en medio EPA (Anexo 2) y alimentado con *Chlorella vulgaris*; de forma previa a los experimentos y con el fin de aclimatar a los organismos, se cambió el alimento de mantenimiento por *Scenedesmus*. La talla de los organismos usados en los experimentos se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Talla del zooplancton usado en los experimentos (promedio \pm error estándar).

Especie	Largo (μm)	Ancho (μm)
<i>B. patulus</i>	108 \pm 2	113 \pm 2
<i>B. calyciflorus</i>	175 \pm 4	150 \pm 3
<i>C. dubia</i>	759 \pm 7	504 \pm 8
<i>D. pulex</i>	2408 \pm 40	1424 \pm 32

Las cepas de *Scenedesmus* empleadas se adquirieron del cepario de la Universidad de Texas y se encuentran registradas con las claves 72, *Scenedesmus acutus* f. *alternans*, y 614, *Scenedesmus quadricauda*, (para más detalles sobre las cepas ver el Anexo 1). En la Fig. 3 se pueden apreciar imágenes de las dos especies de *Scenedesmus*, las fotografías fueron tomadas en un Microscopio Olympus modelo BX50, con cámara digital marca SONY modelo CCD-IRIS, con objetivos planfluorita y la técnica que se empleó fue la de Observación con Contraste de Interferencia Diferencial, Nomarski (NDICO, por sus siglas en inglés, Nomarski Differential Interference Contrast Observation), y se trabajaron con el software Image-Pro plus, version 3.0 para Windows. Las cepas de *Scenedesmus* se

encontraban en medio Proteasa (Anexo 2) y de forma preliminar se cambiaron al medio de cultivo Bold (Anexo 2).

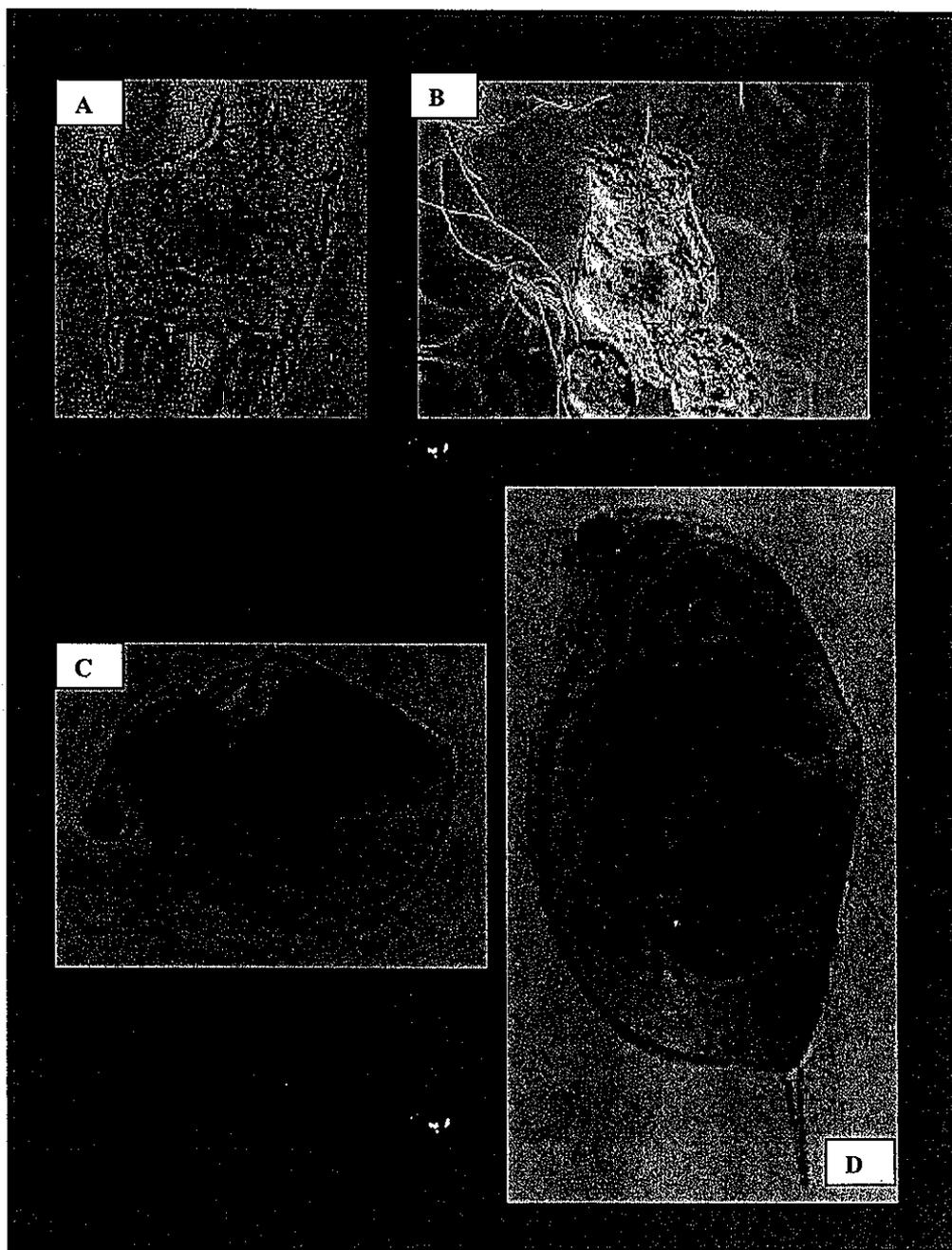


Fig. 2. Las imágenes muestran a (A) *Brachionus patulus*, (B) *Brachionus calyciflorus*, (C) *Criodaphnia dubia* y (D) *Daphnia pulex*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

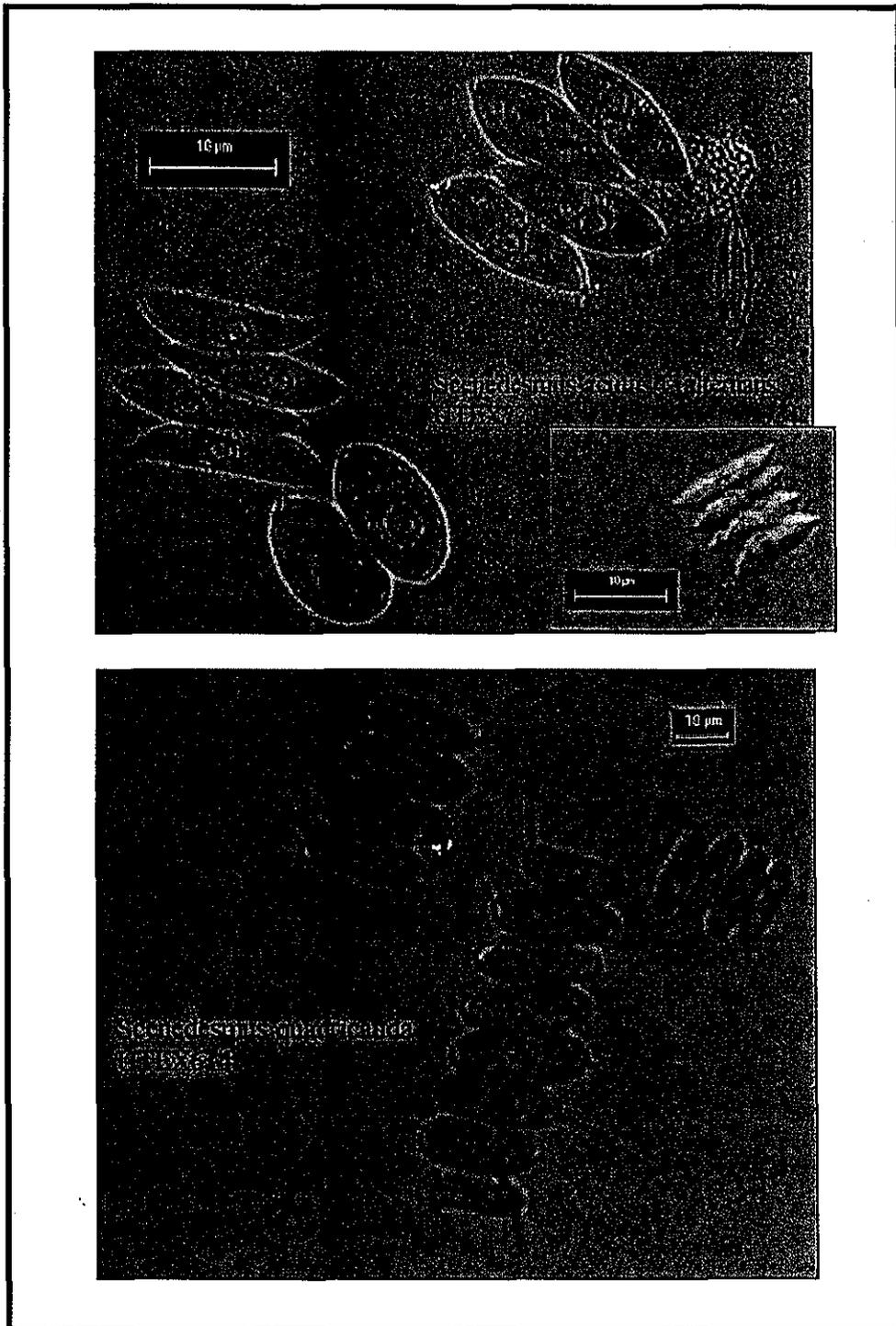


Fig. 3. Imágenes de *Scenedesmus acutus* f. *alternas*. (fotografías superiores) y *Scenedesmus quadricauda* (fotografía inferior).

1.1 Cultivo de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *S. quadricauda* en medio Bold.

- a) Se esterilizaron 10 matraces con 500 ml de medio Bold cada uno.
- b) Posteriormente, se esterilizó el asa de siembra exponiéndola a la flama del mechero, se esperó hasta que se enfrió para proceder a hacer un raspado de la cepa de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* e inocularla en 5 recipientes de vidrio, a los que se les colocó una tapa con dos orificios de aproximadamente 3 milímetros. Esta operación se repitió para inocular *Scenedesmus quadricauda* en los 5 matraces restantes.
Lo anterior se llevó a cabo en una campana de flujo laminar para evitar que los cultivos se contaminaran con otros microorganismos.
- c) Para que el cultivo tuviera una mejor oxigenación, se introdujo un tubo de vidrio conectado a un flujo de aire en cada matraz.
- d) Se expusieron los matraces a un fotoperiodo continuo utilizando lámparas de luz blanca de 30 watts hasta que el tono de la solución fue verde oscuro.
- e) Los recipientes se colocaron en refrigeración hasta que las algas se sedimentaron.
- f) Se decantaron los recipientes y se hizo un concentrado para cada especie de *Scenedesmus*.

1.2 Cuantificación del número de células por mililitro en cada concentrado de *Scenedesmus*.

El método que se usó es el propuesto por Stein (1973).

- a) Con la pipeta se colocó una gota en el área cuadrículada de cada plataforma de la cámara cuentaglóbulos de Neubauer (Anexo 3) –cuidando no sobrepasar dicha área- y se colocó el cubreobjetos.
- b) En el microscopio óptico se contó el número de células que se encontraban en el cuadro central (que a su vez está dividido en 25 pequeños cuadros de 200 μm).

El procedimiento se hizo para cada plataforma de la cámara cuentaglóbulos por triplicado y los resultados se promediaron.

- c) La densidad (d) de la suspensión fue:

$$d = 10^4 \times \text{número de células promedio}$$



1.3 Equivalencia en biomasa del fitoplancton.

Debido a la diferencia en tamaño entre ambas especies de *Scenedesmus*, con una Electrobalanza Cahn (C-33), se obtuvo el peso seco de un mililitro (con una densidad de células conocida) de cada especie de *Scenedesmus* –con 20 réplicas- y se calculó el peso por célula; en el caso de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* fue de 0.026 ng para y de 0.130 ng para *S. quadricauda*.

Con base en lo anterior se determinó la cantidad de inóculo inicial en el crecimiento poblacional de las algas y la densidad de algas empleada en los experimentos de inducción de colonias, tasa de aclaramiento y crecimiento poblacional de zooplancton.

2. Crecimiento poblacional de *Scenedesmus*.

- a) En una botella de plástico con 1.5 litros de medio Bold se inoculó *Scenedesmus* (el inóculo inicial fue de 4.3 células ml⁻¹ de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y de 0.86 células ml⁻¹ de *S. quadricauda*).
- b) Posteriormente la botella se expuso a un fotoperíodo continuo utilizando lámparas de luz blanca de 30 watts y se oxigenó introduciendo un tubo de vidrio conectado a un flujo de aire.
- c) Lo anterior se hizo con cuatro repeticiones para cada especie de *Scenedesmus*.
- d) Cada tercer día se cuantificó la densidad del cultivo en cada recipiente de vidrio mediante el procedimiento descrito en la sección 1.2 hasta que la gráfica del promedio de la densidad diaria por especie mostraba disminuir o se estabilizaba.

La tasa de crecimiento poblacional (r) fue calculada usando la fórmula:

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

Donde N_t es el número de células de la población en el tiempo t ; N_0 es el número de células inicial y t es el intervalo de tiempo transcurrido de N_0 a N_t .

La tasa de crecimiento se calculó para cada réplica por separado en diferentes intervalos de tiempo y se promedió. Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza de dos vías (Sokal y Rohlf, 2000). En todos los análisis estadísticos la cifra que aparece después del \pm es el error estándar.

2.1 Cuantificación de clorofila *a*.

Durante el tiempo que se midió el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda*, se tomó 0.05 l de muestra de cada botella y se filtró a través de un filtro de fibra de vidrio Whatman GF/C (Ø24 mm) para la posterior cuantificación de clorofila *a*.

La extracción de clorofila se hizo agregando a cada filtro 10 ml de cloroformo y metanol en una proporción 2:1 (Wood, 1985); los filtros fueron macerados y se dejaron en completa oscuridad por cuatro horas; posteriormente, se centrifugaron las muestras por 10 minutos a 6000 r.p.m.

Por último, se midió, en un espectrofotómetro Turner modelo sp 870, la absorbancia de cada muestra en tres longitudes de onda 665, 645 y 630. La clorofila *a* ($\mu\text{g l}^{-1}$) fue determinada con la formula de Talling (1969):

$$\text{Clorofila } a = \text{Ca X } (V / v \text{ X } l)$$

Donde V = volumen de la muestra

v = volumen del solvente

l = paso de la cuveta en centímetros

$$\text{Ca} = 11.85 \text{ X (absorbancia en } \lambda \text{ 664)} - 1.54 \text{ X (absorbancia en } \lambda \text{ 647)} - 0.08 \text{ X (absorbancia en } \lambda \text{ 630)}$$

3. Sedimentación de *Scenedesmus*.

Para observar la diferencia en el tiempo de sedimentación de *S. acutus* y *S. quadricauda*, en un vaso con 50 ml de agua destilada se agregó *Scenedesmus* con una densidad conocida y se contó, en diferentes horarios, las células en la superficie de la columna de agua; el experimento terminó cuando ya no hubo células en la superficie.

Durante las primeras dos horas se contó cada 20 minutos, posteriormente se contó a las 4,8 y 16 horas.

La cuantificación de las células se hizo de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección 1.2 y el experimento se realizó por triplicado para cada especie de *Scenedesmus*.

Fase 2.

1. Crecimiento poblacional del zooplancton en *Scenedesmus*.

El método para evaluar el crecimiento poblacional del zooplancton es el propuesto por Sarma y Nandini (1999).

- a) Para cada especie de *Scenedesmus* en dos densidades (0.5 y 2.0×10^6 células ml^{-1} de *S. acutus* y 0.1 y 0.4×10^6 células ml^{-1} de *S. quadricauda*) en un vaso de 250 ml con 50 ml de EPA se colocó 1 ind. ml^{-1} de *B. calyciflorus* o *B. patulus*; ó 0.2 ind. ml^{-1} de *D. pulex* o *C. dubia* de diferentes edades tomadas al asar, lo anterior se lleva a cabo con cuatro réplicas.
- b) Los vasos se expusieron a un fotoperiodo continuo (12:12 horas luz:oscuridad) utilizando lámparas de luz blanca de 30 watts.
- c) Se cuantificó diariamente el número de individuos en cada vaso en un microscopio estereoscópico; en el caso de los rotíferos cuando se sobrepasó 20 ind. ml^{-1} se cuantificaron las densidades de tres alícuotas de un mililitro.
- d) Diariamente se cambió el EPA con el alga usando siempre las mismas densidades.
- e) Se graficó el promedio diario de los organismos en cada grupo de réplicas y el experimento se detuvo cuando se observó un descenso en la densidad o que la población se estabilizaba.
- f) A partir de los resultados obtenidos para cada replicado en tres intervalos de tiempo se estimó la tasa de crecimiento poblacional (r) con la siguiente fórmula:

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

Donde N_t es el número de individuos de la población en el tiempo t ; N_0 es el número de células inicial y t es el intervalo de tiempo transcurrido de N_0 a N_t .

Los resultados de r fueron promediados para cada especie de zooplancton en cada densidad de alga, y se analizaron con un análisis de varianza de dos vías y en caso de encontrarse diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey (Sokal y Rohlf, 2000).

1.1 Cambios en la talla del zooplancton.

En el caso de los cladóceros, de forma anexa se evaluó la relación entre talla y peso al ser alimentado con *Scenedesmus acutus* y con *S. quadricauda*. El procedimiento empleado fue el siguiente:

- a) Para cada especie de *Scenedesmus*, usando una sola densidad (0.5×10^6 células ml^{-1} de *S. acutus* y 0.1×10^6 células ml^{-1} de *S. quadricauda*) en un vaso de 250 ml con 50 ml de EPA se colocaron 0.2 ind. ml^{-1} de *D. pulex* o *C. dubia* de diferentes edades tomadas al asar, con cuatro réplicas.
- b) Los vasos se expusieron a un fotoperiodo continuo (12:12 horas luz:oscuridad) utilizando lámparas de luz blanca de 30 watts y diariamente se renovó el medio.
- c) Después de una semana se retiraron a los organismos
- d) Se tomaron 5 organismos de cada réplica y se midieron en un microscopio óptico con un tubo de dibujo marca Nikon.
- e) Posteriormente se dejó secar a los organismos por 24 horas en una estufa a 50°C .
- f) Por último se pesó a los organismos en una electrobalanza Cahn (C-33).

Los resultados fueron analizados con un análisis de varianza de una vía y en caso de encontrarse diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey (Sokal y Rohlf, 2000).

2. Tasa de aclaramiento.

Debido a que existen reportes que indican que la concentración de *Scenedesmus* empleada en los experimentos de forrajeo afectan los resultados (Sarma *et al.*, 1996; Van Donk, 1997; Van Donk *et al.*, 1999) se cuantificó la tasa de filtración de *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia dubia*, *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus* con dos densidades de alga diferentes para cada especie de *Scenedesmus*; 0.5 y 2.0×10^6 células ml^{-1} de *S. acutus* y 0.1 y 0.4×10^6 células ml^{-1} de *S. quadricauda*.

El método para medir la tasa de aclaramiento es el empleado por Peters (1984).

- a) De forma preliminar se colocaron en inanición los organismos de zooplancton por un lapso de 30 minutos;
- b) Posteriormente se colocaron 100 ind. ml^{-1} de *B. calyciflorus* o *B. patulus*; ó 2.5 ind. ml^{-1} de *D. pulex* ó 5 ind. ml^{-1} de *C. dubia* en un tubo de ensaye con 2 ml de medio EPA y *Scenedesmus* en las dos densidades descritas anteriormente.
- c) Después de 15 minutos se agitaron los tubos de ensaye.

- d) Transcurridos 30 min. se retiró al zooplancton y se cuantificó inmediatamente la densidad de algas en el recipiente experimental mediante el procedimiento descrito en la sección 1.2.
- e) El experimento se realizó con cuatro réplicas.
- f) La tasa de aclaramiento (G) fue calculado en cada réplica con la siguiente ecuación:

$$G = V [\ln C_{bo} - \ln C_{bt}] / t N$$

Donde:

V = volumen de la prueba

C_{bt} = concentración del alimento en el tiempo t

C_{bo} = concentración del alimento inicial en el control

t = duración del experimento

N = número de animales

Los resultado de G fueron promediados para cada especie de zooplancton en cada densidad de alga empleada para las dos especies de *Scenedesmus* y los resultados fueron analizados con un análisis de varianza de dos vías y en caso de encontrarse diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey (Sokal y Rohlf, 2000).

Fase 3.

6. Efecto del zooplancton en Scenedesmus.

En este experimento se utilizaron tres tratamientos:

- ii) Zooplancton alimentado con *Chlorella vulgaris*
 - iii) Zooplancton alimentado con *S. quadricauda*
 - iv) Zooplancton sin alimento.
- a) En un vaso de 250 ml -más tres replicas- con 50 ml de EPA y 0.5×10^6 células ml^{-1} de *S. acutus* ó 0.1×10^6 células ml^{-1} de *S. quadricauda*, se colocó un filtro con una malla de 10 micras en el que se encontraba 1 ind. ml^{-1} de *B. calyciflorus* o *B. patulus*; ó 0.2 ind. ml^{-1} de *D. pulex* o *C. dubia* y en el caso de los tratamientos i) y ii) 1×10^4 células ml^{-1} de *Chlorella vulgaris* ó 0.1×10^4 células ml^{-1} de *S. quadricauda* respectivamente.

- b) En un microscopio óptico con un tubo de dibujo calibrado, marca Nikon, se midieron 100 colonias de cada tratamiento, en el caso de *S. acutus* se tomó el largo y ancho de la colonia y se contaron el número de células que integraban al cenobio; para *S. quadricauda* se midió además el largo y ancho incluyendo las espinas.
- c) Se dejó a los vasos experimentales por un periodo de 48 horas expuestos a un fotoperiodo continuo de 12:12 horas luz:oscuridad utilizando lámparas de luz blanca de 30 watts.
- d) Posteriormente se retiraron los filtros y se tomaron medidas de las mismas características descritas en el paso b, de 20 colonias en cada replica para cada tratamiento.
- e) Los resultados fueron evaluados mediante un análisis de varianza de una vía y en caso de encontrarse diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey (Sokal y Rohlf, 2000).

Resultados.

1. Crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *S. quadricauda*.

Para evaluar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* y *S. quadricauda* en medio Bold se usó la misma biomasa como inóculo inicial y es notorio que los valores de clorofila *a* son muy semejantes en el día cero (ver Fig. 4 (B) y 5 (B)). En las dos especies de *Scenedesmus*, la fase de crecimiento exponencial se dio en los primeros ocho días de cultivo, y durante este periodo la clorofila *a* también aumentó de forma exponencial (ver Fig. 4 y 5), el análisis de varianza (ANDEVA) de una vía mostró que en esta fase los valores de clorofila *a* no difieren de forma significativa entre ambas especies de *Scenedesmus*. El día de abundancia máxima se presentó el día 13 en el cultivo de *S. acutus* f. *alternans* y en el 8 para *S. quadricauda*. Los cultivos de *S. acutus* alcanzaron una mayor biomasa; no obstante, en el ANDEVA de una vía las tasas de crecimiento de *Scenedesmus acutus* f. *alternans* (0.49 ± 0.04) y *S. quadricauda* (0.48 ± 0.02) no difirieron de forma significativa.

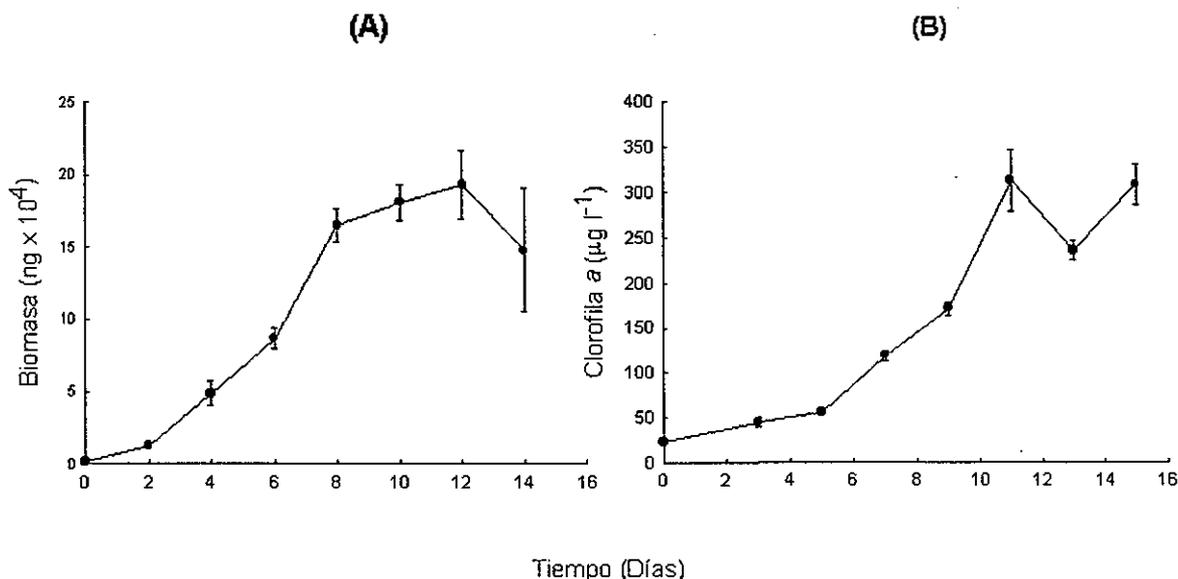


Fig. 4 Crecimiento poblacional (promedio \pm error estándar) de *Scenedesmus acutus* f. *alternans*. Las gráficas muestran el crecimiento en relación con la biomasa (A) y en relación con la producción de clorofila *a* (B).

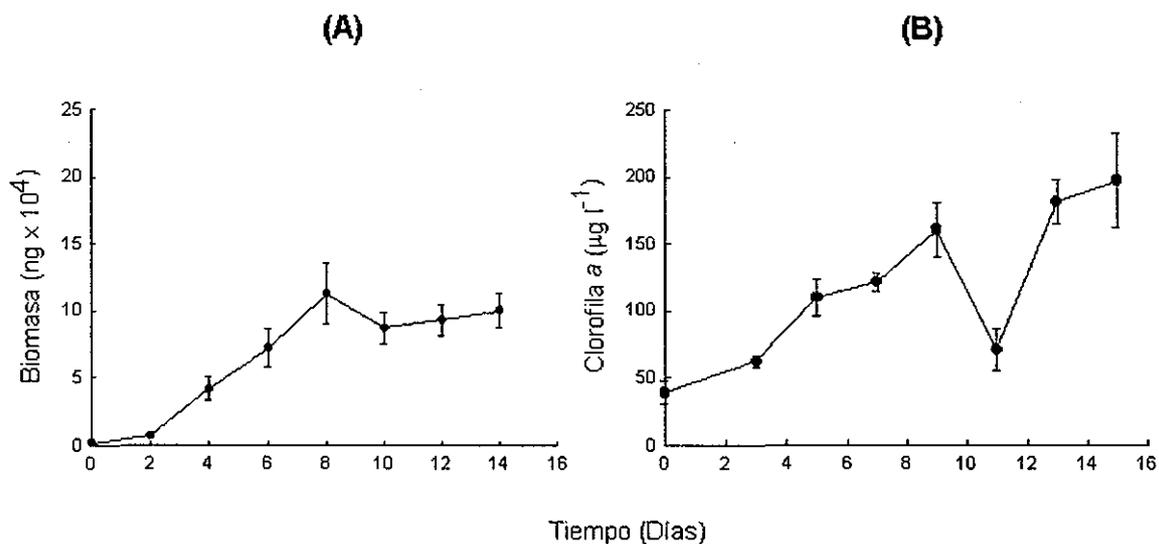


Fig. 5 Crecimiento poblacional (promedio \pm error estándar) de *Scenedesmus quadricauda*. (A) muestra el crecimiento en relación con la biomasa y (B) en relación con la producción de clorofila *a*.

2. Sedimentación de *Scenedesmus*

En la Fig. 6 se observa que la sedimentación de *Scenedesmus quadricauda* es mayor que la sedimentación de *Scenedesmus acutus*. En *S. quadricauda* durante las primeras dos horas, sólo el 10% de las células se mantuvieron en la superficie de la columna de agua, mientras que, en *S. acutus*, a las cuatro horas de haber iniciado se encontraba el 50% de las células que fueron contadas de forma inicial.

El tiempo que tardaron en salir de la superficie de la columna de agua todas las células de *S. acutus* fue cuatro veces menor que el de *S. quadricauda*.

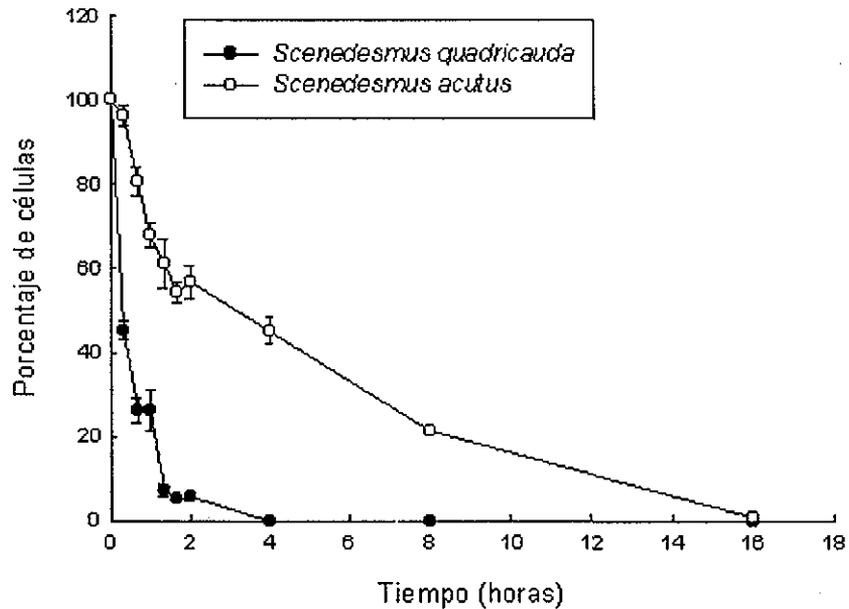


Fig. 6. Periodo de sedimentación (promedio \pm error estándar) de las células de *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda*.

3. Crecimiento poblacional del zooplancton en *Scenedesmus*.

El crecimiento poblacional de *Brachionus patulus* difirió tanto para las especies de *Scenedesmus* con la que fue alimentado como en la biomasa de alimento empleada. *Brachionus patulus* al ser alimentado con *S. acutus*, logró tener una abundancia mayor en la biomasa baja de alimento (*bb*), que corresponde a $0.013 \text{ ng} \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ (Fig. 7 (A)). Se puede observar que durante los primeros ocho días el comportamiento de la población es muy homogéneo, a partir del día ocho se nota un crecimiento más acelerado de la población. Para el tratamiento con *S. Acutus*, en la concentración de biomasa alta (*ba*) -que corresponde a $0.052 \text{ ng} \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ -, *B. patulus* mantuvo su población con una abundancia muy baja por diez días después de los cuales decreció su densidad (Fig. 7 (A)).

En los experimentos con *S. quadricauda* se determinó que *B. patulus* no logra crecer, pero resalta que en la *ba* (que también corresponde a $0.052 \text{ ng} \times 10^6 \text{ X ml}^{-1}$), la

población disminuyó a cero en 10 días, mientras que en la *bb* (que equivale a $0.013 \text{ ng X } 10^6 \text{ ml}^{-1}$), esto ocurrió hasta el día 17 (Fig. 7 (B)).

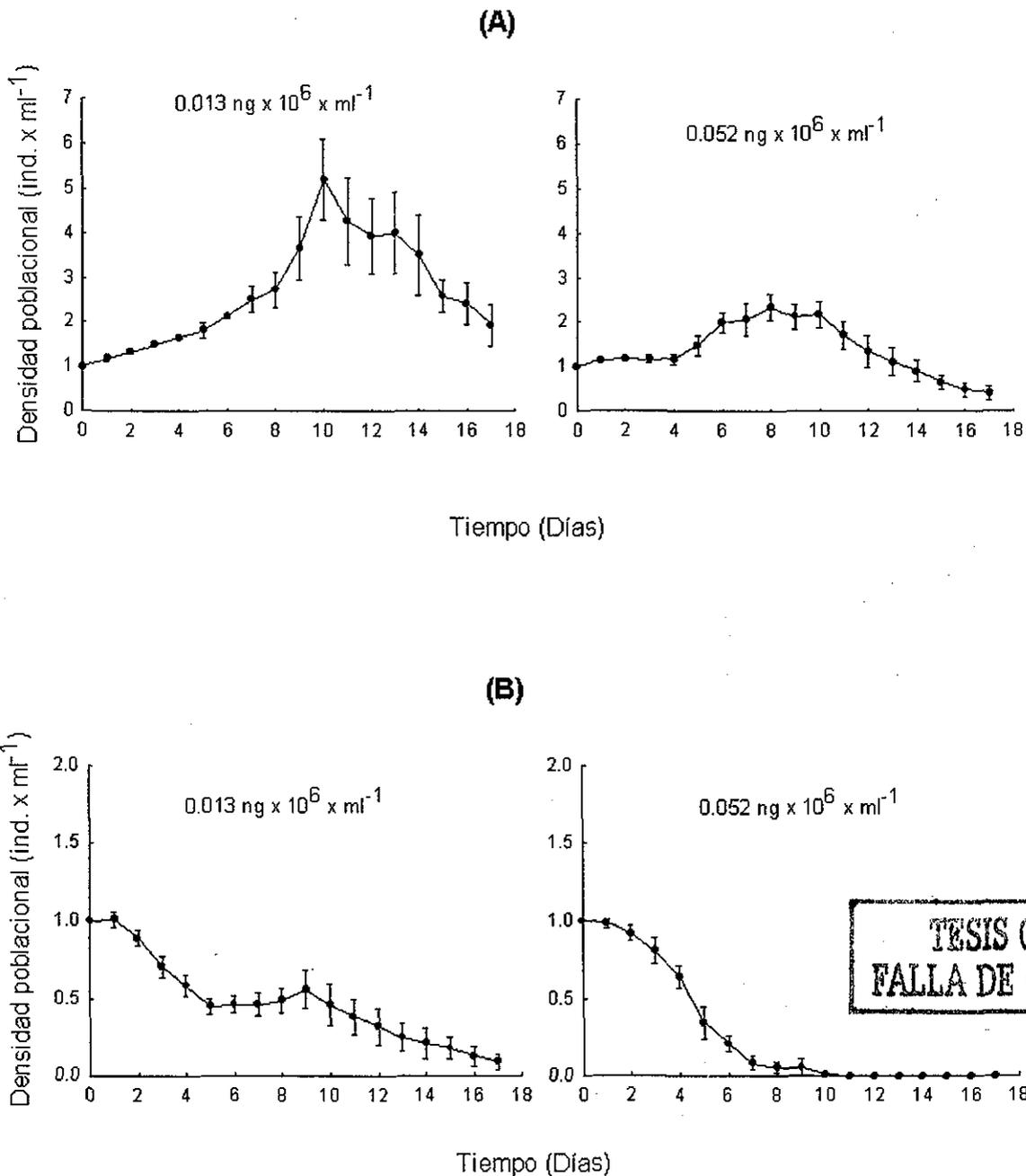


Fig. 7. Crecimiento poblacional (promedio \pm error estándar, $n = 4$) de *Brachionus patulus* ($108 \pm 2 \mu\text{m}$ de longitud) alimentado con *Scenedesmus acutus* (A) y *S. quadricauda* (B). Las gráficas superiores (A) y las inferiores (B) varían en la escala asignada a la densidad poblacional.

B. calyciflorus alcanzó una abundancia mayor en *S. acutus* que en *S. quadricauda* (Fig. 8). En *S. acutus* la abundancia máxima fue de 27 (± 2.07) individuos en un mililitro en la *bb* y de 91 (± 2.9) en la *ba*; mientras que en *S. quadricauda* la abundancia máxima se alcanzó en la *bb* y sólo llegó a 3 (± 0.22). En la *ba* de *S. acutus*, la fase de crecimiento se presentó durante los primeros nueve días (Fig. 8 (A)). Esto mismo sucedió en la *bb* de *S. quadricauda*; sin embargo, después de nueve días la población decreció de forma abrupta y, para el día catorce, todos los individuos estaban muertos (Fig. 8 (B)). En la *ba* de *S. quadricauda*, la población de *B. calyciflorus* no consiguió mantenerse y desde el primer día, la población decayó (Fig. 8 (B)).

La población de *Ceriodaphnia dubia* tuvo una tendencia similar a la de los rotíferos, creció mejor al ser alimentada con *S. acutus* que con *S. quadricauda*. En *S. acutus*, en las dos biomásas de alimento, la fase de crecimiento se encontró en los primeros 20 días (Fig. 9 (A)); la abundancia máxima fue de 8 (± 0.27) individuos en un mililitro en la *bb*, y de 20 (± 0.77) en la *ba*. En *S. quadricauda*, en la *bb*, se observó un crecimiento muy limitado durante los primeros diez días, posteriormente la población disminuyó, pero alrededor del día 25 se empezó a recuperar (Fig. 9 (B)). En la *ba* de *S. quadricauda*, *C. dubia* mantuvo su población durante quince días, después experimentó un periodo de crecimiento; sin embargo el número máximo de individuos en un mililitro sólo llegó a 0.8 (± 0.1) (Fig. 9 (B)).

A diferencia de las especies de zooplankton anteriores *Daphnia pulex* pudo crecer y obtener una densidad similar en *S. acutus* y en *S. quadricauda*. Para *D. pulex* la abundancia más baja se encontró en la *bb* de *S. acutus* (1.4 ± 0.1) (Fig. 10 (A)). Para las dos concentraciones de *S. acutus*, *D. pulex* tuvo una fase de crecimiento durante los primeros diez días, pero en la *ba* se apreció un segundo periodo de crecimiento a partir del día 23 (ver Fig. 10 (A)). Cuando *D. pulex* fue alimentada con la *bb* de *S. quadricauda*, el periodo de crecimiento también se encontró en los primeros 10 días, después de los cuales se percibió un descenso en la población, pero alrededor del día 22 la densidad se recuperó y se estabilizó (Fig. 10 (B)). En la *ba* de *S. quadricauda* la fase de crecimiento fue más larga y llegó hasta el día 29. En *D. pulex* destaca que la abundancia máxima fue mayor en la *ba* de alimento, comparado con la *bb*, para las dos especies de *Scenedesmus*.

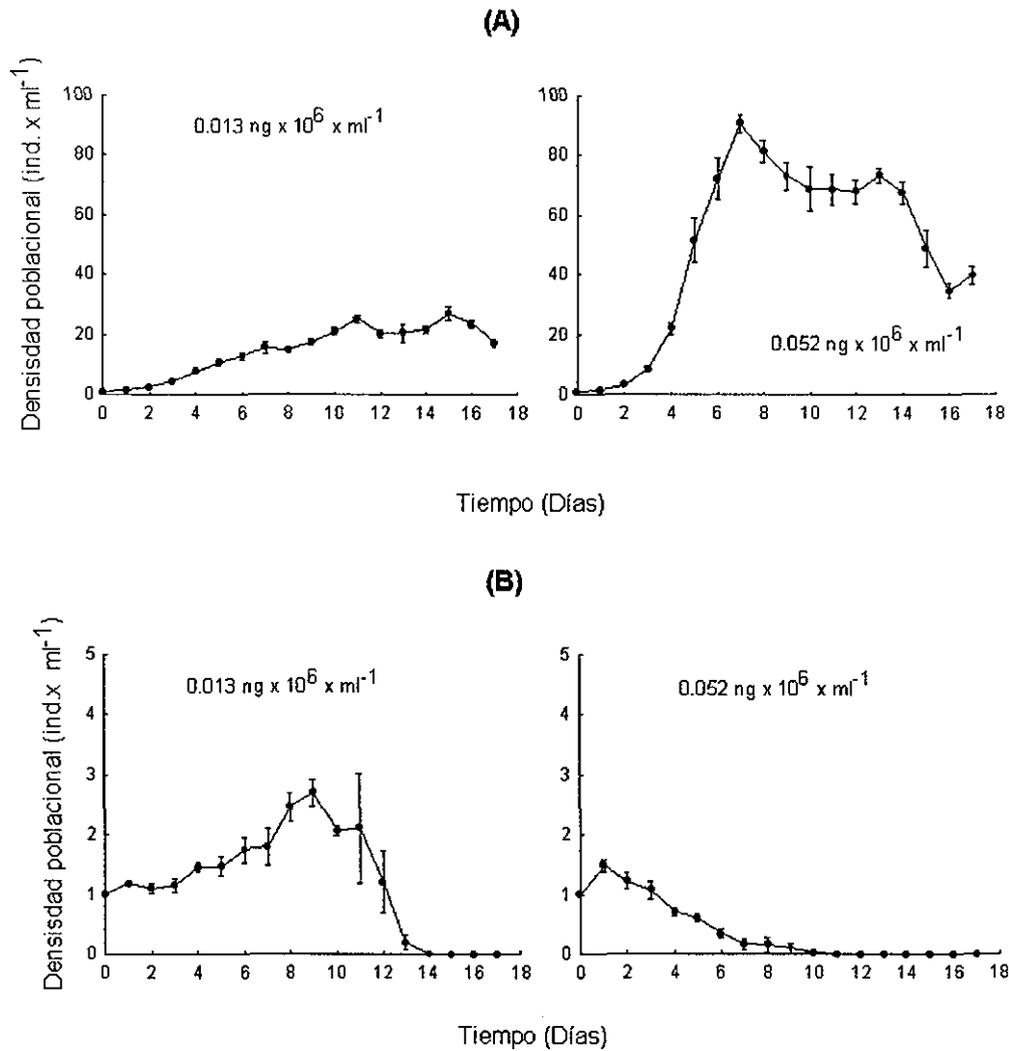


Fig. 8. Crecimiento poblacional (promedio \pm error estándar, $n = 4$) de *Brachionus calyciflorus* ($175 \pm 2 \mu\text{m}$ de longitud) alimentado con *Scenedesmus acutus* (A) y *S. quadricauda* (B). Resalta la diferencia de escala entre las gráficas que muestran el crecimiento de la población de *B. calyciflorus* en (A) y en (B).

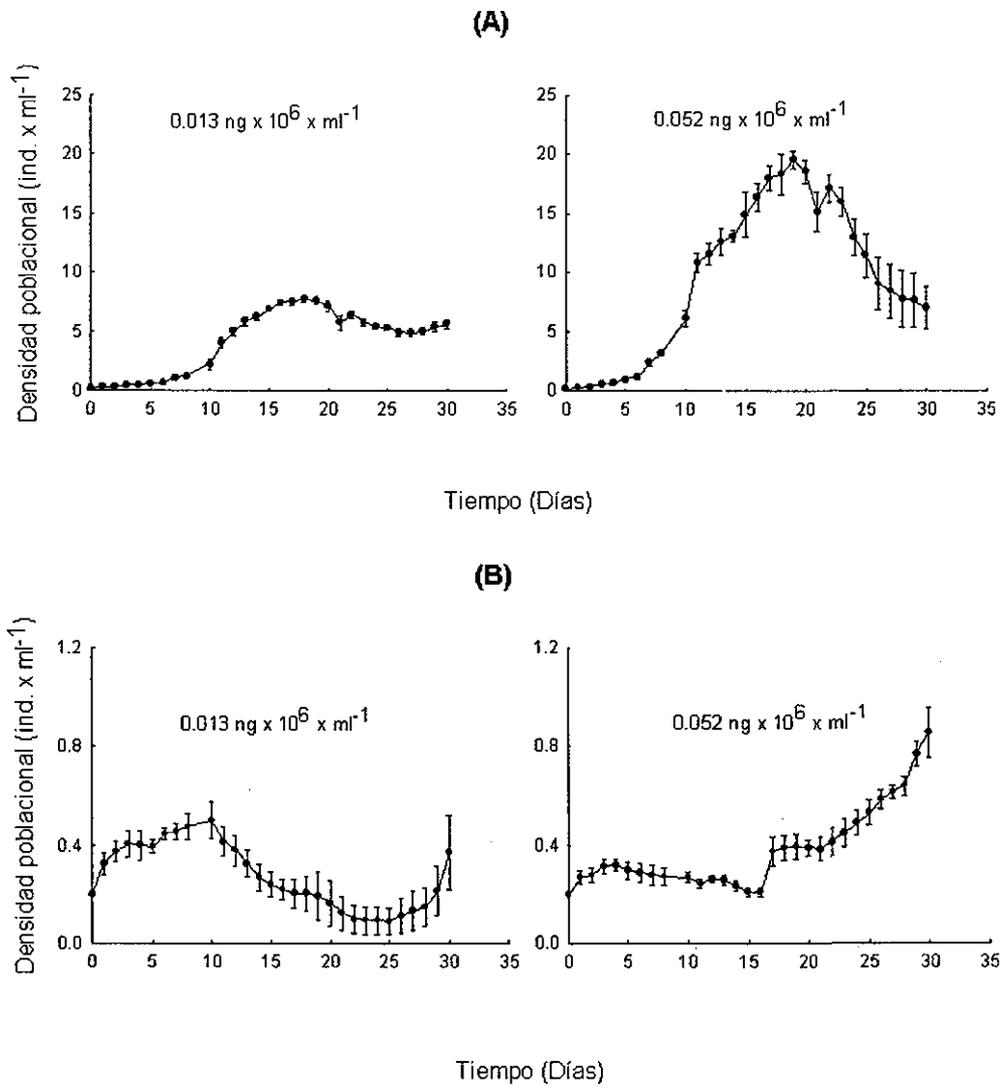


Fig. 9. Crecimiento poblacional (promedio \pm error estándar, $n = 3$) de *Ceriodaphnia dubia* ($759 \pm 7 \mu\text{m}$ de longitud) en *Scenedesmus acutus* (A) y *S. quadricauda* (B). Las gráficas superiores (A) e inferiores (B) tienen una marcada diferencia en la escala del eje que corresponde a la densidad poblacional.

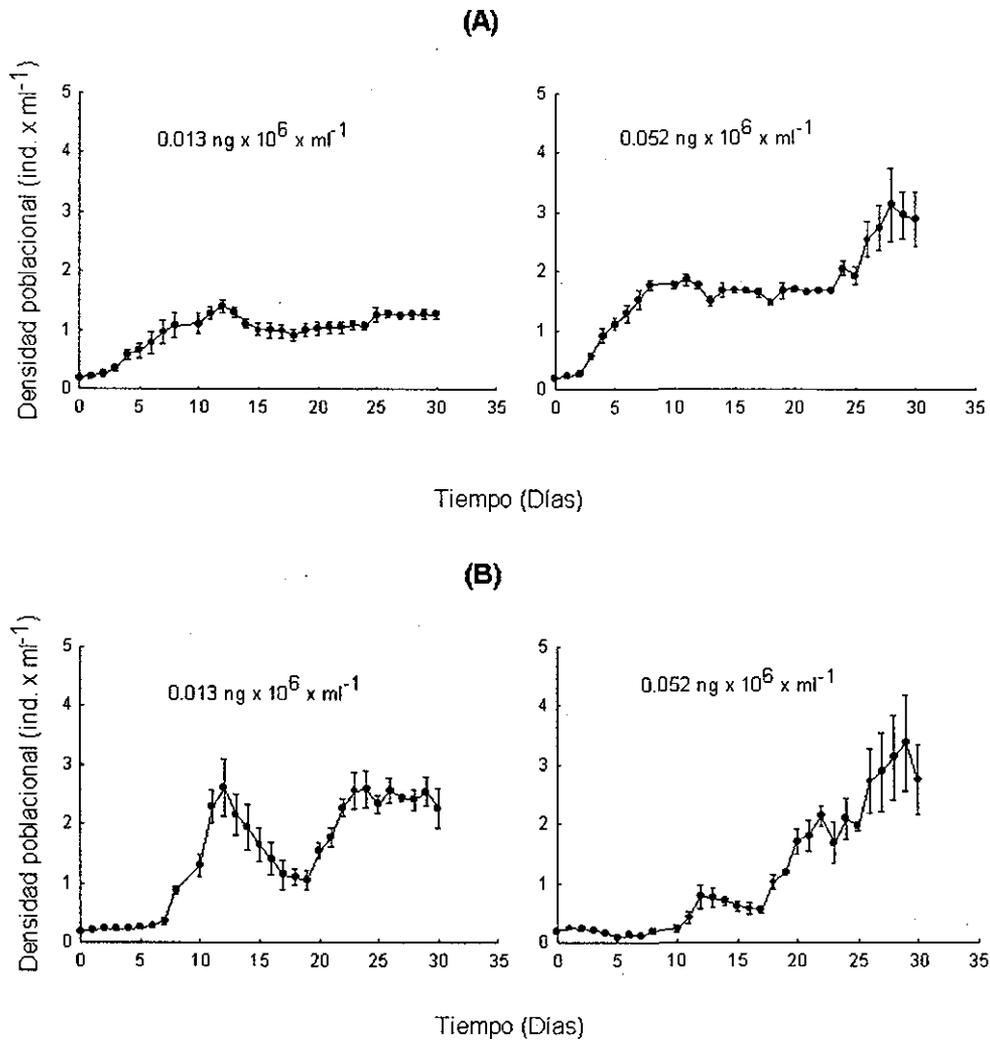


Fig. 10. Crecimiento poblacional (promedio \pm error estándar, $n = 3$) de *Daphnia pulex* ($2408 \pm 40 \mu\text{m}$ de longitud) en *Scenedesmus acutus* (A) y *S. quadricauda* (B).

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

De acuerdo con el ANDEVA de dos vías la abundancia máxima de *B. patulus* fue significativamente diferente en las dos especies de *Scenedesmus* y en las dos biomasa de alimento (Tabla 6). Una comparación posterior, por medio de la prueba de Tukey, indicó que el efecto de la biomasa sólo se presentó en la abundancia máxima de *B. patulus* alimentado con *Scenedesmus acutus* y que las dos concentraciones de biomasa de *S. quadricauda* junto con la ba de *S. acutus* pertenecían un grupo homogéneo (Fig. 11 (A)).

En *B. calyciflorus* la abundancia máxima difirió de forma significativa por especie de alga ($F = 1168$; $p < 0.001$) y biomasa ($F = 362$; $p < 0.001$) (Tabla 6). En la prueba de Tukey se encontró que la abundancia máxima difirió en relación con el alga que se use como alimento y en que el efecto de la biomasa disponible como alimento afectó únicamente el tratamiento con *S. acutus* (Fig. 11 (B)).

La abundancia máxima de *C. dubia* fue diferente de forma significativa tanto por especie de alga ($F = 345$; $p < 0.001$), como por biomasa ($F = 79$; $p < 0.001$) (Tabla 6). En la comparación posterior se encontró que el efecto de la concentración de alga empleada no se presentó *S. quadricauda* (Fig. 11 (C)).

La abundancia máxima de *D. pulex* no fue estadísticamente diferente en ninguno de los tratamientos (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías de la densidad máxima del zooplancton alimentado con *Scenedesmus*. Los asteriscos indican el valor de p, si $p < 0.05$ entonces se usa un asterisco, cuando $p < 0.01$ se usan dos y si $p < 0.001$ entonces se le agrega al valor de F tres asteriscos.

Especie	Variable	df efecto	MS efecto	df error	MS error	F
<i>Brachionus patulus</i>	Tipo de alga (A)	1	31.64	12	0.85	37.27***
	Biomasa del alga (B)	1	7.70	12	0.85	9.07*
	A x B	1	7.43	12	0.85	8.75*
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Tipo de alga (A)	1	12336.5	12	10.55	1168.93***
	Biomasa del alga (B)	1	4041.15	12	10.55	382.91***
	A x B	1	4478.29	12	10.55	424.33***
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Tipo de alga (A)	1	515.35	8	1.49	344.73***
	Biomasa del alga (B)	1	117.56	8	1.49	78.64***
	A x B	1	102.08	8	1.49	68.28***
<i>Daphnia pulex</i>	Tipo de alga (A)	1	2.13	8	0.75	2.84
	Biomasa del alga (B)	1	2.87	8	0.75	3.84
	A x B	1	1.12	8	0.75	1.50

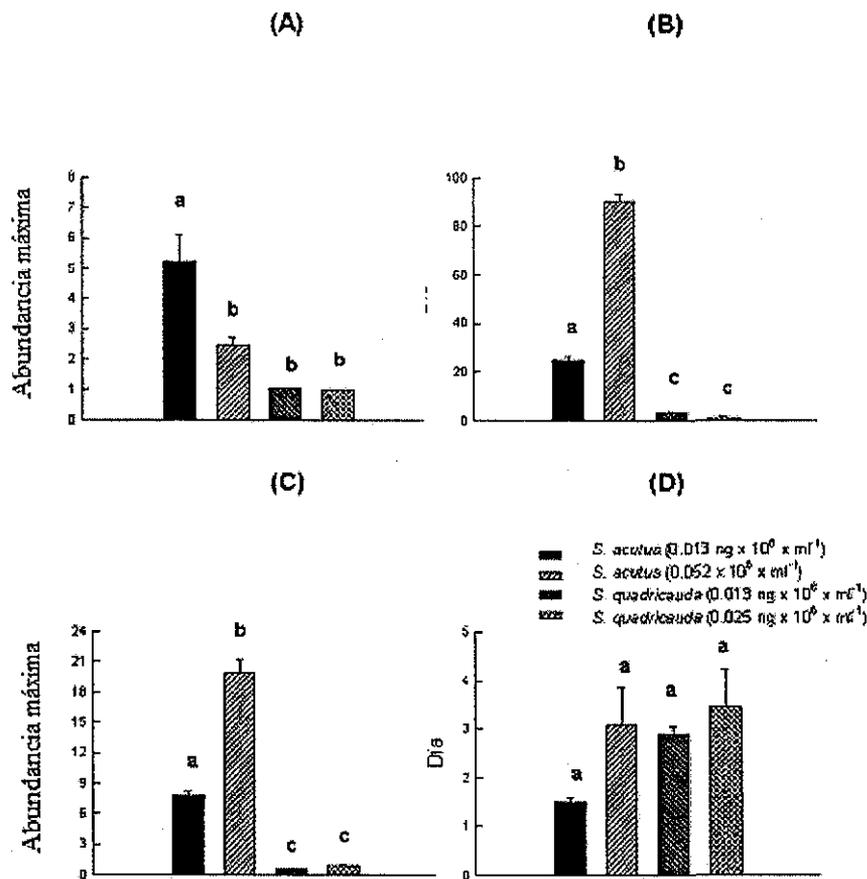


Fig. 11. Densidad poblacional máxima de *Brachionus patulus* (A), *B. calyciflorus* (B), *Ceriodaphnia dubia* (C) y *Daphnia pulex* (D) alimentados con *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda*. Las letras que se encuentran en la parte superior de las barras indican si los grupos son homogéneos, de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Considerando que *B. patulus* no pudo crecer al ser alimentado con *S. quadricauda*, el día de abundancia máxima se presentó en promedio en el día uno (Fig. 12 (A)). En *S. acutus* abundancia máxima correspondió al día 10 (± 0.3) en la *bb* y a 8.5 (± 0.96) en la *ba*. La diferencia en el día de abundancia máxima fue significativa dependiendo de la especie

de alga ($F = 274.96$; $p < 0.001$) (Tabla 7). En la prueba de Tukey se corroboró que existen dos grupos homogéneos; el primero lo conformaron las dos biomásas disponibles de *S. acutus*, en el segundo se agruparon la *bb* y la *ba* de *S. quadricauda* (Fig. 12 (A)).

En *B. calyciflorus*, el día de abundancia máxima se alcanzó primero en la concentración de *ba* de las dos especies de *Scenedesmus* (Fig. 12 (B)), pero es necesario distinguir que *B. calyciflorus* en la *ba* de *S. quadricauda* no pudo crecer (Fig. 8 (B)). En la *bb* de alimento el día de abundancia máxima fue el $7 (\pm 0.0)$ en *S. quadricauda* y el $11.5 (\pm 0.5)$ en *S. acutus* (Fig. 12 (B)). El día de abundancia máxima fue estadísticamente diferente en relación con la especie de alga empleada y la concentración de biomasa (Tabla 7). La comparación de los tratamientos indicó que no existían grupos homogéneos (prueba de Tukey) (Fig. 12 (B)).

En *Ceriodaphnia dubia*, la abundancia máxima llegó primero en la *bb* de alimento de *S. quadricauda* y es notorio que en el día de abundancia máxima en la *ba* existe un desplazamiento (Fig. 12 (C)). Aun cuando el día de abundancia máxima no fue el mismo para las dos biomásas disponibles de *S. acutus*, la diferencia no fue significativa y forman un grupo homogéneo (Fig. 12 (C)). El ANDEVA de dos vías mostró una diferencia significativa dependiente de la biomasa de alga (Tabla 7) pero en la comparación posterior de los grupos se encontró que la diferencia en función de la biomasa sólo se cumple en *S. quadricauda* y que también hubo un efecto en relación con la especie de alga empleada (Fig. 12 (C)).

En *Daphnia pulex* el día de abundancia máxima fue entre el día 27 y 28 (Fig. 112 D) y no hubo diferencia significativa para ningún tratamiento (Tabla 7).

Las tasas de crecimiento (r) de *B. patulus* tuvo un comportamiento similar en las dos biomásas de *S. acutus* (Fig. 13 (A)). En *S. quadricauda* r fue negativa en las dos biomásas empleadas, si embargo, el valor absoluto de r en la *ba* fue mayor ($|r| = 0.57 \pm 0.05$), es decir, la población decreció de forma más acelerada (Fig. 13 (A)). La r de *B. patulus* varió de forma significativa tanto por tipo de alga como por biomasa de alimento (Tabla 8). Mediante la prueba de Tukey se halló que la r en la *bb* y la *ba* de *S. acutus* forman un grupo semejante (Fig. 13 (A)).

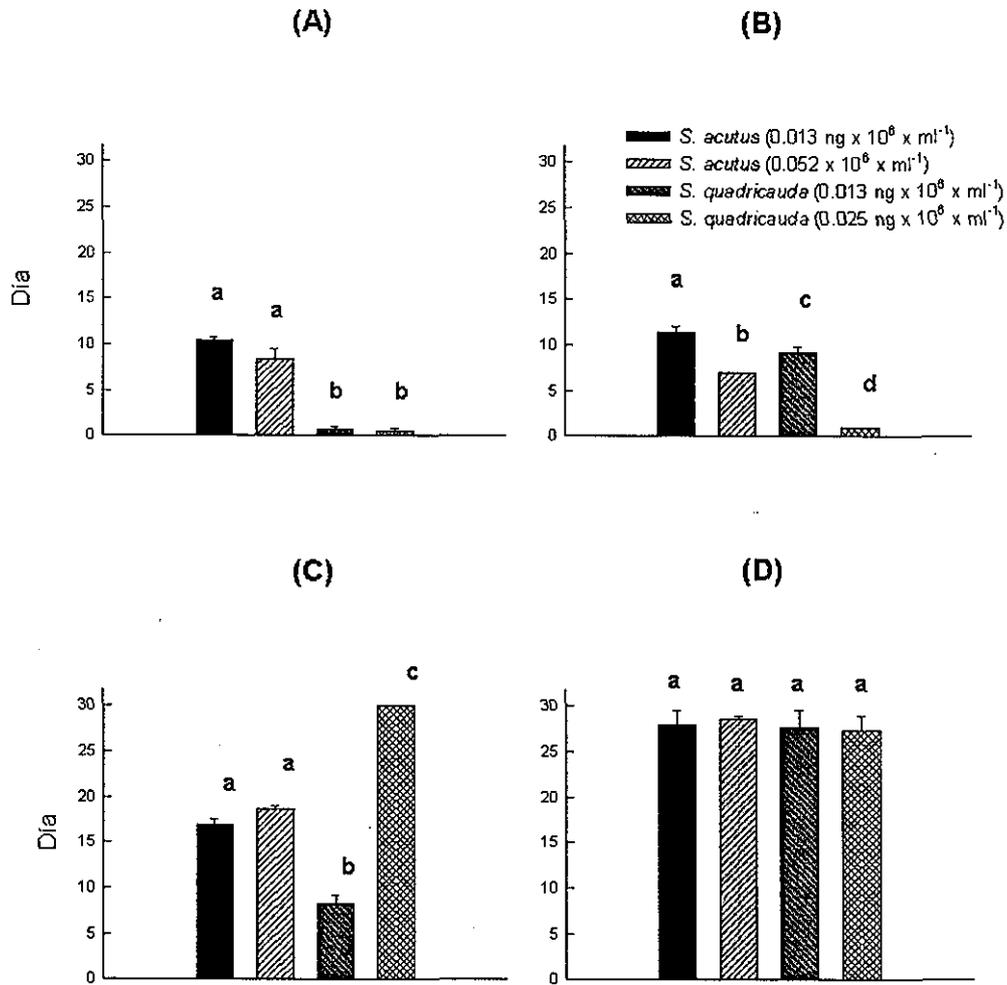


Fig. 12. Día de densidad poblacional máxima de *Brachionus patulus* (A), *B. calyciflorus* (B), *Ceriodaphnia dubia* (C) y *Daphnia pulex* (D) alimentados con *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda*. Las letras que se encuentran en la parte superior de las barras indican si los grupos son homogéneos, de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

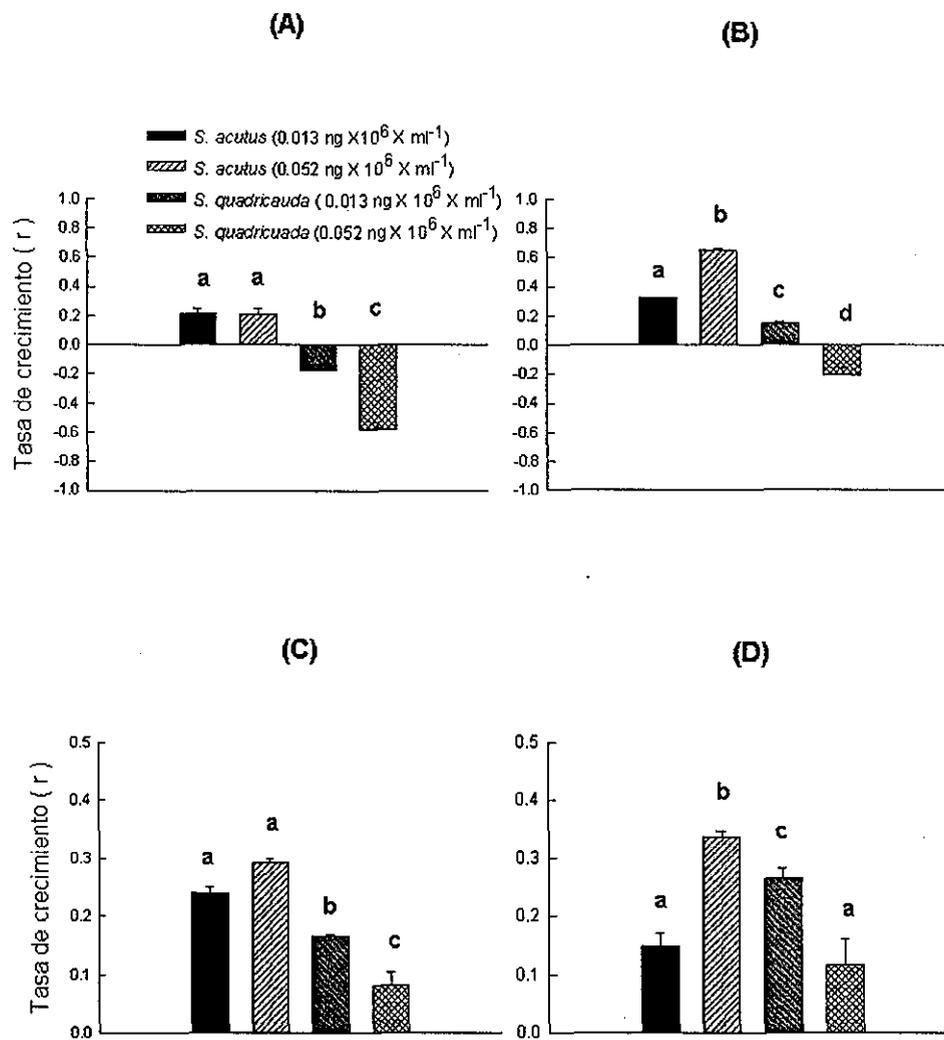


Fig. 13. Tasa de crecimiento de *Brachionus patulus* (A), *B. calyciflorus* (B), *Ceriodaphnia dubia* (C) y *Daphnia pulex* (D) alimentados con *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda*. Las letras que se encuentran en la parte superior de las barras indican si los grupos son homogéneos, de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

En *B. calyciflorus*, la *r* mayor se reportó en la *ba* de *S. acutus* (0.65 ± 0.008) mientras que en la *ba* la *r* fue de sólo la mitad (0.32 ± 0.004) (Fig. 13 (B)). En *S. quadricauda* la *r* fue mayor en la *bb* (0.18 ± 0.007) y fue negativa en la *ba* (-0.21 ± 0.05). Aun cuando en el ANDEVA de dos vías no se encontró diferencias importantes en la *r* en relación con la biomasa de alimento (Tabla 8), la comparación posterior de los grupos reveló que no habían grupos homogéneos (prueba de Tukey; Fig. 13 (B)).

En *C. dubia*, *r* fue mayor en *S. acutus* que en *S. quadricauda*. En *S. acutus* la *r* fue superior para la *ba* de alimento; por el contrario en *S. quadricauda* la *r* fue mayor en la *bb*. en la concentración de *ba* de *S. acutus* (Fig. 13). El ANDEVA de dos vía indicó que la *r* tuvo diferencias importantes dependiendo de la especie de alga usada (Tabla 8) y al aplicar la prueba de Tukey se exhibió que en *S. quadricauda* también existía una diferencia en función de la biomasa de alimento disponible (Fig. 13 (C)).

Para *D. pulex* la tasa de crecimiento mayor se dio en la *ba* de *S. acutus* (0.337 ± 0.01). De forma parecida a lo ocurrido en *C. dubia*, la *r* de *D. pulex* al alimentarse con *S. quadricauda* fue mayor para la *bb* (0.2647 ± 0.01) (Fig. 13 (D)). En la Fig. 13 (D) destaca que la *r* en la *bb* de *S. acutus* y en la *ba* de *S. quadricauda* forman un grupo homogéneo, y que la *r* difiere de forma importante dependiendo de la biomasa de alga usada.

Tabla 7. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías del día de abundancia máxima del zooplancton alimentado con *Scenedesmus*.

Especie	Variable	df efecto	MS efecto	df error	MS error	F
<i>Brachionus patulus</i>	Tipo de alga (A)	1	315.06	12	1.15	274.96***
	Biomasa del alga (B)	1	5.06	12	1.15	4.42
	A x B	1	3.06	12	1.15	2.67
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Tipo de alga (A)	1	68.06	12	0.65	105.39***
	Biomasa del alga (B)	1	162.56	12	0.65	251.71***
	A x B	1	14.06	12	0.65	21.77***
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Tipo de alga (A)	1	4.08	8	1	4.08
	Biomasa del alga (B)	1	396.75	8	1	396.75***
	A x B	1	310.08	8	1	310.08***
<i>Daphnia pulex</i>	Tipo de alga (A)	1	2.08	8	6.5	0.32
	Biomasa del alga (B)	1	0.08	8	6.5	0.01
	A x B	1	0.75	8	6.5	0.12

Tabla 8. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías de la tasa de crecimiento poblacional (r) del zooplancton.

Especie	Variable	df	MS	df	MS	F
		efecto	efecto	error	error	
<i>Brachionus patulus</i>	Tipo de alga (A)	1	1.38	12	0.006	223.16***
	Biomasa del alga (B)	1	0.18	12	0.006	28.51***
	A x B	1	0.16	12	0.006	25.38***
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Tipo de alga (A)	1	1.076	12	0.003	337.46***
	Biomasa del alga (B)	1	0.001	12	0.003	0.35
	A x B	1	0.470	12	0.003	147.38***
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Tipo de alga (A)	1	0.082	12	0.001	125.04***
	Biomasa del alga (B)	1	0.001	12	0.001	1.36
	A x B	1	0.019	12	0.001	28.32***
<i>Daphnia pulex</i>	Tipo de alga (A)	1	0.008	8	0.002	4.12
	Biomasa del alga (B)	1	0.001	8	0.002	0.59
	A x B	1	0.084	8	0.002	41.73***

3.1 Cambios en la talla del zooplancton.

El ANDEVA de una vía indicó que la longitud y la anchura de *Ceriodaphnia dubia* variaron de forma significativa ($F = 125.3^{***}$ y $F = 36.9^{***}$ respectivamente) en relación con las condiciones iniciales (alimentada con *Chlorella vulgaris*) y al ser alimentada con *Scenedesmus acutus* o *S. quadricauda*; la comparación de los grupos, mediante una prueba de Tukey, señaló que tanto la anchura como la longitud forman un grupo homogéneo en *S. acutus* y *S. quadricauda* que difiere con la condición inicial (Tabla 9). En cuanto al peso de *C. dubia*, las tres condiciones son semejantes ($F = 0.3$; $p > .5$).

La longitud, la anchura y el peso de *Daphnia pulex* al ser alimentada con *S. quadricauda* fueron diferentes de forma significativa ($\alpha = 0.05$) con la condición inicial (Tabla 10). Cuando *Daphnia pulex* se alimentó con *S. acutus* la anchura fue significativamente diferente a las otras dos condiciones, pero la longitud formó un grupo homogéneo con los individuos alimentados con *S. quadricauda* y el peso formó un grupo homogéneo con la condición inicial (Tabla 10).

Tabla 9. Talla y peso (promedio \pm error estándar μm) de *Ceriodaphnia dubia*. Letras similares en las columnas indican que los grupos son homogéneos, de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

	Longitud	Anchura	Peso
Inicio	759 \pm 7 b	504 \pm 8 a	0.019 \pm 0.003 a
<i>S. acutus</i>	871 \pm 25 b	606 \pm 24 b	0.020 \pm 0.005 a
<i>S. quadricauda</i>	830 \pm 19 b	574 \pm 11 b	0.023 \pm 0.003 a

Tabla 10. Talla y peso (promedio \pm error estándar μm) de *Daphnia pulex*. Letras similares en las columnas indican que los grupos son homogéneos, de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

	Longitud	Anchura	Peso
Inicio	2408 \pm 40 a	1424 \pm 32 a	0.07 \pm 0.003 a
<i>S. acutus</i>	2581 \pm 77 b	1658 \pm 65 b	0.13 \pm 0.037 a
<i>S. quadricauda</i>	2838 \pm 53 b	1702 \pm 35 c	0.16 \pm 0.009 b

4. Tasa de aclaramiento.

Brachionus patulus tuvo una tasa de aclaramiento (**G**) mayor en *S. acutus* que en *S. quadricauda* (Tabla 11). En ambas especies de *Scenedesmus* la **G** fue mayor en la *bb* de alimento. La **G** fue estadísticamente diferente dependiendo tanto de la especie de alga ($F = 17.42$; $p < 0.01$) como de la biomasa ($F = 5.06$; $p < 0.05$) (Tabla 12). En la comparación posterior se encontraron dos grupos homogéneos, un grupo se conformó por las dos biomásas de *S. acutus* y la *ba* de *S. quadricauda*; el segundo grupo se integró por las dos biomásas de *S. quadricauda*.

Brachionus calyciflorus exhibió una conducta semejante a la de *B. patulus*; la **G** fue mayor en *S. acutus* que en *S. quadricauda* y en las dos especies de alga la **G** fue mayor en la *bb* (Tabla 11). En *B. calyciflorus* se observó una diferencia significativa en relación con la especie y a la biomasa de alga (Tabla 12), pero en la prueba de Tukey se apreció únicamente el efecto de la especie de alga (Tabla 11).

En el caso del cladóceros *Ceriodaphnia dubia* destaca que la **G** es semejante para todos los grupos (Tabla 11) y no se encontraron diferencias estadísticas en el ANDEVA de dos vías (Tabla 12).

En *Daphnia pulex* **G** fue mayor en *S. quadricauda* y en las dos especies *Scenedesmus* la **G** fue mayor en la *ba* de alimento (Tabla 11). Las tasas de aclaramiento fueron tuvieron una diferencia importante dada por el tipo de alga y la biomasa (Tabla 12). En la prueba de Tukey se observó la presencia de dos grupos homogéneos y sólo difirieron de forma significativa la *bb* de *S. acutus* y la *ba* de *S. quadricauda* (Tabla 11).

Tabla 11. Tasa de aclaramiento ($\text{ml ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) de zooplancton en *Scenedesmus* (promedio \pm error estándar). Letras similares en las filas indican que los grupos son homogéneos, de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) realizada para cada especie de zooplancton forrajeando dos biomásas de *S. acutus* y dos biomásas de *S. quadricauda*.

	<i>Scenedesmus</i>	<i>acutus</i>	<i>Scenedesmus</i>	<i>quadricauda</i>
	0.013 ng	0.052 ng	0.013 ng	0.052 ng
<i>B. patulus</i>	0.0202 \pm 0.0013 a	0.0189 \pm 0.0002 a	0.0160 \pm 0.0019 b	0.0105 \pm 0.0012 ab
<i>B. calyciflorus</i>	0.0299 \pm 0.0005 a	0.0251 \pm 0.0005 a	0.0154 \pm 0.0030 b	0.0105 \pm 0.0006 b
<i>C. dubia</i>	0.3489 \pm 0.0374 a	0.2100 \pm 0.0089 a	0.3124 \pm 0.1186 a	0.3715 \pm 0.0210 a
<i>D. pulex</i>	0.7360 \pm 0.0403 a	0.4864 \pm 0.0316 ab	0.9140 \pm 0.1034 ab	0.6799 \pm 0.0218 b

Tabla 12. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías de la tasa de aclaramiento de zooplancton en *Scenedesmus*.

Especie	Variable	df efecto	MS efecto	df error	MS error	F
<i>Brachionus patulus</i>	Tipo de alga (A)	1	0.000158521	12	9.09854E-06	17.42**
	Biomasa del alga (B)	1	4.60839E-05	12	9.09854E-06	5.06*
	A x B	1	1.89886E-05	12	9.09854E-06	2.09
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Tipo de alga (A)	1	0.000848498	12	1.73351E-05	48.9***
	Biomasa del alga (B)	1	9.4739E-05	12	1.73351E-05	5.47*
	A x B	1	9.04621E-09	12	1.73351E-05	0.0005
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Tipo de alga (A)	1	0.0117	8	0.012	0.976
	Biomasa del alga (B)	1	0.0294	8	0.012	2.451
	A x B	1	0.0048	8	0.012	0.398
<i>Daphnia pulex</i>	Tipo de alga (A)	1	0.1035	8	0.01	10.01**
	Biomasa del alga (B)	1	0.1754	8	0.01	16.97***
	A x B	1	0.0002	8	0.01	0.02

5. Efecto del zooplancton en *Scenedesmus*.

Para estudiar el efecto de las cuatro especies de zooplancton en la morfología de *Scenedesmus* se tuvieron cuatro tratamientos (i) el testigo (sin zooplancton), (ii) zooplancton alimentado con *S. quadricauda*, (iii) zooplancton sin alimento y (iv) zooplancton alimentado con *Chlorella vulgaris*.

En el análisis de la anchura de *S. acutus* las pruebas de ANDEVA de una vía mostraron que existían diferencias significativas entre los tres tratamientos y el testigo (Tabla 13); sin

embargo en la comparación posterior se encontró que para *B. patulus*, *B. calyciflorus* y *D. pulex* las diferencias eran entre los tratamientos *ii*, *iii* y *iv*, y se formaron grupos homogéneos que incluían al testigo, solamente el lote de *Ceriodaphnia dubia* formo un grupo homogéneo que contenía a los tres tratamientos con zooplancton y difería de forma significativa del testigo (Tabla 14).

En la longitud de *S. acutus* en las dos especies de rotíferos se encontraron diferencias importantes entre tratamientos ($F= 7.17$; $p < 0.001$ para *B. patulus* y $F = 5.16$; $p < 0.01$ para *B. calyciflorus*) (Tabla 13); la prueba de Tukey indicó que en *B. patulus* solamente el tratamiento *iii* fue diferente del testigo y en *B. calyciflorus* el *iv* fue diferente del testigo (Tabla 14). En el lote de *D. pulex* hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 5.75$; $p < 0.001$) (Tabla 13) pero únicamente el *ii* fue diferente del testigo (Tabla 14). En *C. dubia* también hubo diferencias significativas ($F = 7.8$; $p < 0.001$) (Tabla 13), y el tratamiento *ii* y *iv* tuvieron un comportamiento homogéneo que difería del testigo (Tabla 14).

En cuanto al número de células que forman el cenobio de *S. acutus* la única especie de zooplancton que tuvo diferencias entre tratamientos y el testigo fue *B. calyciflorus*, en donde *iv* no fue homogéneo (Tabla 14).

Para *S. quadricauda* no se encontraron diferencias entre los tratamientos y el testigo en relación con la anchura, longitud con espinas y número de células, en todas las especies de zooplancton probadas (Tabla 15). En el análisis del largo se observó que *C. dubia* tuvo un efecto importante dependiente de los tratamientos ($F = 4.45$; $p < 0.01$) (Tabla 15) y en la comparación posterior se indicó que los tratamientos *ii* y *iii* formaban un grupo homogéneo diferente del testigo (Tabla 16). En la anchura con espinas nuevamente *C. dubia* tiene un efecto importante dependiente del tratamiento ($F = 11.61$; $p < 0.001$) (Tabla 15) y los tratamientos *ii*, *iii* y *iv* pertenecen a un grupo homogéneo diferente significativamente del testigo. (Tabla 16).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 13. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías del efecto del zooplancton en *Scenedesmus acutus*.

	SS efecto	df efecto	MS efecto	SS error	df error	MS error	F
Anchura							
<i>Brachionus patulus</i>	1563.67	3	521.22	20649.81	160	129.06	4.04**
<i>Brachionus calyciflorus</i>	295.83	3	98.61	16850.40	161	104.66	0.94
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	769.57	3	256.52	18779.91	161	116.65	2.20
<i>Daphnia pulex</i>	538.87	3	179.62	9232.09	162	56.99	3.15*
Longitud							
<i>Brachionus patulus</i>	181.33	3	60.44	2881.41	160	18.01	3.36*
<i>Brachionus calyciflorus</i>	39.79	3	13.26	2753.39	161	17.10	0.78
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	205.46	3	68.49	2476.27	161	15.38	4.45**
<i>Daphnia pulex</i>	73.41	3	24.47	2471.76	162	15.26	1.60
No. de células							
<i>Brachionus patulus</i>	4.24	3	1.41	154.32	160	0.96	1.46
<i>Brachionus calyciflorus</i>	1.88	3	0.63	125.70	161	0.78	0.80
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	4.76	3	1.59	153.82	161	0.96	1.66
<i>Daphnia pulex</i>	0	3	0	0	162	0	--

Tabla 14. Efecto del zooplancton en la talla de (promedio \pm error estándar μm).

	i		ii		iii		iv	
Anchura								
<i>Brachionus patulus</i>	17.73	± 0.53 a	22.55	± 1.11 b	22.47	± 0.79 b	21.51	± 1.07 ab
<i>Brachionus calyciflorus</i>	17.73	± 0.53 a	21.36	± 0.77 ab	21.98	± 1.25 b	19.28	± 0.58 ab
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	17.73	± 0.53 a	21.81	± 1.00 b	23.66	± 0.76 b	21.72	± 0.92 b
<i>Daphnia pulex</i>	19.23	± 0.70 ab	22.90	± 0.88 a	22.48	± 0.48 b	24.47	± 0.92 a
Longitud								
<i>Brachionus patulus</i>	18.17	± 0.41 b	20.92	± 0.81 ab	20.47	± 0.71 ab	21.58	± 0.89 b
<i>Brachionus calyciflorus</i>	18.17	± 0.41 a	21.06	± 0.77 b	19.89	± 0.81 ab	17.43	± 0.60 a
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	18.17	± 0.41 a	22.47	± 0.79 b	23.07	± 2.24 b	19.15	± 0.72 ab
<i>Daphnia pulex</i>	19.87	± 0.37 a	19.62	± 0.88 ab	16.89	± 0.68 b	21.35	± 0.80 a
No. de células								
<i>Brachionus patulus</i>	4.27	± 0.18 a	5.29	± 0.38 a	5.08	± 0.36 a	5.33	± 0.39 a
<i>Brachionus calyciflorus</i>	4.27	± 0.18 a	5.92	± 0.41 b	5.26	± 0.38 ab	4.25	± 0.18 a
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	4.27	± 0.18 a	5.00	± 0.36 a	5.21	± 0.39 a	4.80	± 0.33 a
<i>Daphnia pulex</i>	4.87	± 0.17 a	4.64	± 0.30 a	4.70	± 0.32 a	5.17	± 0.38 a

Tabla 13. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías del efecto del zooplancton en *Scenedesmus quadricauda*.

	SS efecto	df efecto	MS efecto	SS error	df error	MS error	F
Anchura							
<i>Brachionus patulus</i>	1563.67	3	521.22	20649.81	160	129.06	4.04**
<i>Brachionus calyciflorus</i>	295.83	3	98.61	16850.40	161	104.66	0.94
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	769.57	3	256.52	18779.91	161	116.65	2.20
<i>Daphnia pulex</i>	538.87	3	179.62	9232.09	162	56.99	3.15*
Anchura espinas							
<i>Brachionus patulus</i>	629.03	3	209.68	13122.06	159	82.53	2.54
<i>Brachionus calyciflorus</i>	1936.44	3	645.48	11788.02	159	74.14	8.71***
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	2534.47	3	844.82	11642.88	160	72.77	11.61***
<i>Daphnia pulex</i>	774.39	3	258.13	7793.55	162	48.11	5.37***
Longitud							
<i>Brachionus patulus</i>	181.33	3	60.44	2881.41	160	18.01	3.36*
<i>Brachionus calyciflorus</i>	39.79	3	13.26	2753.39	161	17.10	0.78
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	205.46	3	68.49	2476.27	161	15.38	4.45**
<i>Daphnia pulex</i>	73.41	3	24.47	2471.76	162	15.26	1.60
Longitud espinas							
<i>Brachionus patulus</i>	793.01	3	264.34	8978.03	160	56.11	4.71**
<i>Brachionus calyciflorus</i>	567.91	3	189.30	8580.05	161	53.29	3.55*
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	257.15	3	85.72	8133.73	161	50.52	1.70
<i>Daphnia pulex</i>	984.78	3	328.26	8130.12	161	50.50	6.5***
No. de células							
<i>Brachionus patulus</i>	4.24	3	1.41	154.32	160	0.96	1.46
<i>Brachionus calyciflorus</i>	1.88	3	0.63	125.70	161	0.78	0.80
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	4.76	3	1.59	153.82	161	0.96	1.66
<i>Daphnia pulex</i>	0	3	0	0	162	0	--

Tabla 14. Efecto del zooplancton en la talla de *Scenedesmus quadricauda* (promedio \pm error estándar μm).

	i	ii	iii	iv
Anchura				
<i>Brachionus patulus</i>	29.93 \pm 1.06 a	32.29 \pm 2.53 a	36.36 \pm 2.76 a	37.89 \pm 2.83 a
<i>Brachionus calyciflorus</i>	29.93 \pm 1.06 a	29.92 \pm 1.86 a	33.09 \pm 2.72 a	27.97 \pm 1.17 a
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	29.93 \pm 1.06 a	35.36 \pm 3.01 a	34.41 \pm 2.32 a	30.51 \pm 1.50 a
<i>Daphnia pulex</i>	30.82 \pm 0.78 a	35.45 \pm 1.68 a	34.18 \pm 1.25 a	33.47 \pm 1.62 a
Anchura espinas				
<i>Brachionus patulus</i>	24.16 \pm 1.01 a	27.55 \pm 1.76 a	30.01 \pm 1.79 a	25.68 \pm 1.35 a
<i>Brachionus calyciflorus</i>	24.16 \pm 1.01 a	30.77 \pm 1.28 ab	31.96 \pm 1.13 b	31.45 \pm 1.40 b
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	24.16 \pm 1.01 a	31.96 \pm 1.02 b	33.82 \pm 1.11 b	31.28 \pm 1.50 b
<i>Daphnia pulex</i>	29.05 \pm 0.72 a	32.91 \pm 1.51 ab	31.85 \pm 1.47 ab	34.89 \pm 1.11 a
Longitud				
<i>Brachionus patulus</i>	21.13 \pm 0.43 a	22.72 \pm 0.80 a	22.12 \pm 0.87 a	24.16 \pm 1.04 a
<i>Brachionus calyciflorus</i>	21.13 \pm 0.43 a	20.68 \pm 0.73 a	20.51 \pm 0.66 a	22.25 \pm 1.05 a
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	21.13 \pm 0.43 a	21.04 \pm 0.65 a	22.63 \pm 0.74 ab	24.33 \pm 0.71 b
<i>Daphnia pulex</i>	20.90 \pm 0.40 a	22.44 \pm 0.70 a	22.38 \pm 0.92 a	21.78 \pm 0.75 a
Longitud espinas				
<i>Brachionus patulus</i>	5.67 \pm 0.79 a	10.17 \pm 1.63 a	6.44 \pm 1.03 a	11.36 \pm 1.66 a
<i>Brachionus calyciflorus</i>	5.67 \pm 0.79 a	6.95 \pm 1.26 a	9.06 \pm 1.40 a	10.76 \pm 1.34 a
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	5.67 \pm 0.79 a	8.98 \pm 1.39 a	5.51 \pm 1.07 a	8.98 \pm 1.39 a
<i>Daphnia pulex</i>	6.90 \pm 0.67 a	12.45 \pm 1.97 a	12.22 \pm 1.87 a	11.31 \pm 1.64 a
No. de células				
<i>Brachionus patulus</i>	4.08 \pm 0.09 a	4.14 \pm 0.20 a	4.57 \pm 0.31 a	4.19 \pm 0.19 a
<i>Brachionus calyciflorus</i>	4.08 \pm 0.09 a	4.19 \pm 0.19 a	4.36 \pm 0.25 a	4.00 \pm 0.00 a
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	4.08 \pm 0.09 a	4.50 \pm 0.31 a	4.38 \pm 0.26 a	4.00 \pm 0.00 a
<i>Daphnia pulex</i>	4.00 \pm 0.00 a	4.00 \pm 0.00 a	4.00 \pm 0.00 a	4.00 \pm 0.00 a

Discusión

Durante los primeros ocho días de crecimiento de los cultivos de *S. acutus* y *S. quadricauda* se observó una relación entre biomasa y producción de clorofila *a*, y se mantuvo la equivalencia de clorofila *a* entre las dos especies de algas, lo cual es congruente con datos obtenidos en cultivos de laboratorio y en estudios de poblaciones naturales en los que se encontró una correlación entre la densidad de fitoplancton y la producción de clorofila *a* (Stein, 1973). A partir del día ocho se perdió la relación entre clorofila *a* y número de células. En cultivos de laboratorio, las algas cuentan con una gran cantidad de nutrientes, por lo que la población comienza a crecer de forma exponencial; conforme la población crece, la disponibilidad de luz y nutrientes disminuye, y en estudios de campo se encontró que en algas limitadas por nutrientes no existía relación entre clorofila *a* y densidad (Geider y Osborne, 1992); es posible que después del día ocho los cultivos de *Scenedesmus* comenzaran a tener estrés y, posteriormente, esto afectó la relación entre densidad y clorofila *a*.

En el presente estudio la tasa de crecimiento (*r*) de *S. acutus* ($r = 0.49 \pm 0.04$) fue mayor a la que reportaron Lüring y Van Donk (1999) para la misma especie ($r = 0.3394 \pm 0.014$). Las *r* de *S. acutus* y *S. quadricauda* se encuentran dentro de los valores obtenidos para otras especies del mismo género (Lüring y Van Donk, 1999).

Es probable que las diferencias en *r* se deban en parte al uso de medios de cultivo distintos: por ejemplo, en el estudio de Lüring y Van Donk (1999) se empleó medio WC. En general, los medios pueden variar en el pH, concentración de nutrientes mayores, disponibilidad de nitrógeno y composición de micronutrientes (Stein, 1973). El medio Bold se caracteriza por ser uno de los más completos en su composición química cuantitativa y cualitativa, por lo que cubre los requerimientos de un gran número de especies de algas (Stein, 1973).

En función de las observaciones realizadas, el medio Bold es adecuado para el cultivo de *S. acutus* y *S. quadricauda* y el periodo óptimo para que las algas puedan ser cosechadas se encuentra entre el día 4 y el 7 para su uso como alimento.

Ahlgren *et al.* (1992) reportaron que el contenido de ácidos grasos, lípidos totales, proteínas, aminoácidos, carbono, nitrógeno y fósforo de *S. acutus* y *S. quadricauda*

muestran el mismo patrón y sus valores no difieren de forma significativa, lo cual sugiere que ambas especies representan una fuente de alimentación semejante para el zooplancton.

La relación entre el tamaño del cuerpo y el tamaño de las partículas que pueden ser ingeridas por los cladóceros ha recibido una atención considerable en diferentes trabajos (Kobayashi, 1991; DeMott, 1985). Comúnmente se calcula que el tamaño máximo de partícula que pueden consumir los cladóceros es de $10^4 \mu\text{m}^3$ y de $10^3 \mu\text{m}^3$ para los rotíferos (Harris, 1986) y que el zooplancton no consume algas que son más grande que 30-35 μm (Cyr y Curtis, 1999). En general, se considera que el tamaño del cuerpo es directamente proporcional al tamaño máximo de partículas que puede ingerir el zooplancton. En un estudio con *Bosmina longirostris* y seis especies del género *Daphnia*, Burns (1968) descubrió que existía una relación entre el tamaño del cuerpo y el tamaño de partícula que puede consumir un cladóceros; a partir de una regresión lineal de sus datos desarrolló una ecuación:

$$y = 22x + 4.87$$

Donde x representa la longitud del caparazón del cladóceros (en mm) e y es el diámetro máximo de partícula (en μm) que puede ingerir.

Los resultados de este estudio para *D. pulex* concuerdan con la ecuación de Burns; sin embargo, para *C. dubia* el tamaño de partícula predicho (21.59 μm) es menor al observado en este estudio, lo cual es congruente con lo reportado por Cyr y Curtis (1999), quienes mostraron que algunas especies de cladóceros (p. ej., *Ceriodaphnia quadrangula*) pueden consumir partículas más grandes que las esperadas según la ecuación de Burns.

La tasa de aclaramiento (G), que representa una medida de la cantidad de partículas que puede consumir un individuo por unidad de tiempo (Peters, 1984), está determinada en parte por dos factores:

El primero se refiere a las características del alga -por ejemplo, el tamaño, la composición bioquímica o la forma- (Dodson y Frey, 1991; Peters, 1984); en experimentos realizados con *Daphnia cucullata* y *Daphnia magna* filtrando en células y colonias de 4 y 8 células de *Scenedesmus acutus* (antes *S. obliquus*) se observó que la tasa de aclaramiento disminuía al aumentar el tamaño de partícula (Lürling *et al.*, 1997). En este estudio, los rotíferos tuvieron una conducta semejante, la G de *Brachionus patulus* y *B. calyciflorus* fue mayor en la especie de alga más pequeña (*S. acutus*) y los análisis estadísticos reflejaron un

efecto importante determinado por la especie de alga. En el caso de los cladóceros, la G no tuvo un efecto significativo relacionado con la talla de las algas, no obstante que la longitud de *C. dubia* estuvo dentro del intervalo de longitud de *D. cucullata* ($0.65 \pm 0.07 - 1.16 \pm 0.07$) usadas en el trabajo de Lürling *et al.* (1997).

El segundo factor se refiere a la concentración de alimento en la que se midió la G (Walz, 1993). Teóricamente, la G de un individuo muestra un comportamiento análogo al determinado por la función de saturación de Michaelis-Menten, conforme la concentración de alimento aumenta, la G también aumenta hasta que llega un punto en el que la eficiencia de filtración del individuo se detiene y la G se estabiliza (Walz, 1993); si se continua aumentando la concentración de alimento se llegará a un punto en el que la G disminuye debido a que el alimento obstruye el proceso de filtrado; en el caso de los cladóceros, el aparato filtrador puede atascarse. En nuestro estudio no se encontró una diferencia entre las dos biomásas de alimento disponibles de *S. acutus* o de *S. quadricauda*, en las cuatro especies de zooplancton probadas; para determinar su respuesta funcional es necesario probar con una mayor número de concentraciones de alimento.

La tasa de filtración de *B. calyciflorus* fue de un orden de 10 veces mayor al reportado por Rothhaupt (1993a) para esta misma especie usando partículas con radiomarcadores como alimento; pero se encuentra dentro de los valores reportados por Gilbert y Bogdan (1984) en un estudio con cinco especies de rotíferos. Es posible que las técnicas para medir la G con radiomarcadores sean más sensibles y podrían permitir explorar con más detalle la respuesta funcional de los rotíferos al forrajear en *Scenedesmus*.

El intervalo de valores de la G de *C. dubia* ($0.21 \pm 0.009 - 0.37 \pm 0.02$) en este estudio fue semejante a la de cladóceros de la misma talla que forrajearon en *S. obliquus* y *S. acutus* reportados por Van Donk (1999) ($G = 0.01 \pm 0.24 - 0.32 \pm 0.06$) y por Lürling *et al.* (1997).

En general se cree que las comunidades dominadas por zooplancton grande –p. ej., *Daphnia*– tienen tasas de herbivoría mayor que las comunidades dominadas por zooplancton de menor talla (Beisner, 2001; Hansen *et al.*, 1997); sin embargo, Cyr y Pace (1992) no encontraron relación entre la distribución de la talla de zooplancton y la tasa de herbivoría: las comunidades dominadas por zooplancton grande, como *Daphnia* y *Diaphanosoma*, tenían tasas de herbivoría semejantes a la de las comunidades dominadas

por herbívoros de menor talla. En este trabajo la relación entre mayor tamaño y mayor tasa de aclaramiento se cumple sólo para *S. quadricauda*, ya que *D. pulex* (que fue la especie más grande) tuvo la mayor tasa de aclaramiento; en términos de longitud del cuerpo, los rotíferos tienen una mayor tasa de aclaramiento con *S. acutus*.

Otra aspecto importante relacionado con la talla zooplancton es la tasa de crecimiento: generalmente las tasas de crecimiento poblacional de los cladóceros son menores a la de los rotíferos (Rothhaupt, 1988; 1990; Gliwicz, 1990); en este estudio se observó que lo anterior sólo se cumple par *B. calyciflorus* en *S. acutus*. La tasa de crecimiento de *B. patulus* fue mayor en *S. acutus* que en *S. quadricauda*, donde r fue negativa. El valor máximo de r encontrado en *B. patulus* ($r = 0.21 \pm 0.03$) fue menor al descrito para la misma especie al ser alimentada con *Chlorella vulgaris* ($r = 0.61$) (Sarma y Rao, 1991). La r de *B. calyciflorus* en *S. acutus* (0.65 ± 0.008) fue semejante a los valores advertidos en otros estudios en donde se usó *Chlorella* como alimento; sin embargo, la abundancia máxima es menor y el día de abundancia máxima en este estudio se presenta posterior al reportado en otros trabajos (Nandini, 2000, Sarma *et al.*, 1998). Esto es un indicio de que fisiológicamente *B. calyciflorus* es menos eficiente alimentándose con *S. acutus*.

La tasa de crecimiento negativa que presenta *B. calyciflorus* en *S. quadricauda* coincide con los valores obtenidos por Nandini (2000) para *B. calyciflorus* cuando se usa *Microcystis aeruginosa* como alimento. *Microcystis* se considera no comestible para la mayor parte del zooplancton por su composición bioquímica y/o porque forma colonias. En la investigación de Nandini (2000) se emplearon células de *Microcystis* con un diámetro menor a 35 μm y colonias con un diámetro de 150 – 480 μm , y se atribuyó la r negativa a que *B. calyciflorus* no puede ingerir las colonias de *Microcystis*.

Para *Ceriodaphnia dubia*, r (0.29 ± 0.006) es semejante a la de otros estudios ($r = 0.18-0.25$) en los que se usó *Chlorella* y células no tóxicas de *Microcystis*; la abundancia máxima, así como el día de abundancia máxima, se encuentran dentro del intervalo de valores reportados (Mangas-Ramírez *et al.*, 2002; Alva-Martínez *et al.*, 2001), lo cual es un indicio de que la eficiencia de *C. dubia* es semejante en estas tres dietas.

En *D. pulex* se observó que conforme aumenta la densidad de alimento, aumenta la tasa de crecimiento, lo cual es congruente con la literatura (Mangas-Ramírez *et al.*, 2001;

Walls *et al.*, 1997; Alva-Martínez *et al.*, 2001). La tasa de crecimiento está dentro de los valores encontrada por Mangas *et al.* (2001, $r = 0.12$) y por Alva-Martínez *et al.* (2001, $r = 0.24$) con diferentes dietas; sin embargo, la abundancia máxima es de aproximadamente la mitad de la mínima reportada por estos autores y sería necesario explorar si la diferencia entre número de organismos fue determinada por factores como una menor eficiencia de consumo de *Scenedesmus* por *D. magna* o por diferencias entre las concentraciones de alimento usadas en los experimentos. En investigaciones con *D. pulex* alimentada con *Microcystis* y *Scenedesmus* (Hietala *et al.* 1997; Walls *et al.* 1997), la r coincidió con la que se exhibe en esta investigación; y los valores coinciden también con los reportados para otros dáfidos (Lüring *et al.*, 1997; Repka, 1997).

La relación entre tasa de aclaramiento (G) y tasa de crecimiento no siempre es fácil de interpretar (Rothhaupt 1993b): bajo determinadas concentraciones de alimento, las especies pueden diferir entre relaciones positivas de G y r , o patrones convexos. En este estudio, *B. patulus* tuvo valores positivos de G , sin embargo r fue negativa; si partimos de que la calidad nutricional de *S. acutus* es semejante a la de *S. quadricauda*, y que se observó un efecto significativo del tamaño del alga en la tasa de filtración de los rotíferos, el hecho de que r sea negativa para *B. patulus* al alimentarse de *S. quadricauda* y que la r de *B. calyciflorus* fuera negativa en la biomasa alta de alimento y que en la biomasa baja sólo pudiera mantener su población por pocos días se puede sugerir que el tamaño de *S. quadricauda* reduce la eficiencia de consumo de los rotíferos. En *C. dubia*, aun cuando no se observó una diferencia significativa entre la G en las dos especies de *Scenedesmus*, la abundancia máxima fue casi 20 veces menor en *S. quadricauda* que en *S. acutus*, por lo tanto también es posible que el tamaño de *S. quadricauda* influya en su aprovechamiento.

La única especie que no mostró diferencias en relación con el tamaño del alga fue *D. pulex*, pues los datos obtenidos muestran que modifica la talla al ser alimentada con *S. quadricauda*, lo cual le puede conferir alguna ventaja en el uso más eficiente del alga.

Por último, en los resultados sobre la inducción por infoquímicos se encontró que la densidad de organismos, tanto de rotíferos como de cladóceros, fue significativamente menor que las usadas por Van Donk *et al.* (1999) en los casos en donde hubo inducción de cambios morfológicos. En algunos casos, también se observó que el zooplancton pequeño indujo cambios morfológicos y no se encontró una relación entre el tamaño de los

herbívoros y la inducción de cambios morfológicos; así mismo, tampoco se encontró una relación entre la dieta de los organismos y la inducción. Lo anterior resulta contrario a lo reportado en otros estudios (Van Donk *et al.*, 1999) *S. quadricauda* si cambio su morfología.

La competencia por alimento en el zooplancton puede causar la reducción de la diversidad de especies de fitoplancton (Dumont, 1994), por lo que la muy generalizada coexistencia de un gran número de especies de algas, está determinada en gran medida por la forma en que las especies de fitoplancton pueden resistir la extinción, tanto por la competencia como por la depredación (McCauley y Briand, 1979). En cuerpos acuáticos epicontinentales existe un alto grado de solapamiento, tanto espacial como temporal, en muchas especies de fitoplancton, esto puede ser un indicio de que los niveles de competencia son relativamente bajos (McCauley y Briand, 1979). En la naturaleza, las especies de fitoplancton co-ocurren simultáneamente con el zooplancton (Hutchinson, 1967), a lo cual Hutchinson (1961) sugirió que la depredación estaba implicada como uno de los factores responsables en la alta diversidad de fitoplancton observada.

En la interacción entre el fitoplancton y el zooplancton, una de las características más importantes es el tamaño de los organismos. Desde el punto de vista del fitoplancton, aumentar de tamaño puede contribuir a disminuir la herbivoría (Lampert y Sommer, 1997): por ejemplo, en el caso de cianobacterias, al formar colonias aumentan de forma funcional el tamaño de partícula para el zooplancton y no pueden ser consumidas (Nandini y Rao, 1998). Las algas del género *Scenedesmu* son de las más comunes en aguas epicontinentales (Lüring y Van Donk, 2000) y es probable que, en el caso de ecosistemas dominados por zooplancton pequeño o mediano, su presencia se relacione con el hecho de que su morfología le confiere una ventaja competitiva en relación con las algas más pequeñas.

Desde el punto de vista del zooplancton, considerando que sus poblaciones se solapan en el uso de recursos, la diferencia en el tamaño del cuerpo constituye una característica básica para su supervivencia (ver Werner y Gilliam, 1984). De acuerdo con la hipótesis de la eficiencia por talla (Brooks y Dodson; 1965), el zooplancton más grande es más eficiente y puede consumir partículas más grandes; en consecuencia, en ausencia de depredadores el zooplancton de mayor talla puede eliminar en competencia a pequeños herbívoros planctónicos. Debido a que *D. pulex* fue la única especie capaz de consumir las

dos especies de *Scenedesmus* (a pesar de que su densidad poblacional fue menor a otros reportes) es posible que en sistemas naturales desplace al zooplancton mediano o pequeño durante periodos en los que *Scenedesmus* sea dominante.

En lagos templados se considera que el herbívoro con mayor impacto es *Daphnia* spp., porque tiene altas tasas de crecimiento, su estrategia de forrajeo es generalista, influye en el nivel trófico superior y, al mismo tiempo, en la estructura de las comunidades fitoplanctónicas (Beisner, 2001). En lagos tropicales, mientras que las algas del género *Scenedesmus* son comunes, el zooplancton del género *Daphnia* en general es raro (Fernando *et al.*, 1985) y cladóceros de talla pequeña (800-120 μ m), particularmente del género *Moina* y *Ceriodaphnia*, así como varios géneros de rotíferos, p. ej. *Brachionus*, son más comunes, por lo que la morfología de *S. acutus* y *S. quadricauda* puede ser una estrategia especialmente importante en estos sistemas.

Considerando que el tamaño de *S. acutus* es menor al de *S. quadricauda*, la diferencia en la sedimentación puede atribuirse a la relación superficie/volumen. En un estudio con *S. armatus*, Egan y Trainor (1989) mostraron que las células pueden flotar mejor que las colonias, pero que las colonias barbadas y con un mayor número de espinas pueden flotar mejor; sin embargo, en *S. quadricauda* las espinas no son eficientes para evitar la sedimentación, y es posible que exista un intercambio (“trade-off”) entre la disminución del efecto de la herbivoría y la sedimentación, como lo propusieron Lürling y Van Donk (2000). La sedimentación representa un riesgo importante en zonas templadas, donde se ubican los cuerpos acuáticos epicontinentales más profundos; en las regiones tropicales son más comunes los cuerpos acuáticos someros (Lewis, 1987). En sistemas acuáticos tropicales, el costo podría estar más relacionado con la disminución de las habilidades competitivas, que representa un efecto que no se ha explorado.

El hecho de que la formación de colonias sea una respuesta inducida (Lürling, 1998/1999; Lürling y Van Donk, 1999; Van Donk *et al.*, 1999) y que esto reduzca el daño de los herbívoros pequeños y medianos -como se encontró en este trabajo- es importante, ya que se ha postulado que las defensas inducidas son más efectivas que las permanentes (Karban *et al.*, 1997). Cuando una defensa es inducida, por una parte, el costo para los organismos es menor y, por otra parte, los herbívoros tienen una menor oportunidad de adaptarse a los cambios fenotípicos (Karban *et al.*, 1997); en comunidades acuáticas, donde

los herbívoros son fenotípicamente muy plásticos, tener defensas inducidas puede constituir una ventaja. Retomando la clave dicotómica propuesta por Karban y Mayers junto con la información aquí discutida, se confirma que cambios en la morfología dentro de una misma especie de *Scenedesmus* es un mecanismo de resistencia inducida. Para poder determinar si es un mecanismo de defensa, es necesario realizar experimentos que exploren con más detalle el efecto de la morfología en la adecuación de *Scenedesmus*. Por otra parte, en el estudio de la interacción fitoplancton-herbívoro en general se han usado experimentos cortos (por ejemplo, tablas de vida o tasas de filtración, ver Lüring *et al.*, 1997 y Van Donk *et al.*, 1999); en este estudio, se ha observado que realizar experimentos largos (por ejemplo, de crecimiento poblacional) combinados con experimentos cortos permite realizar una mejor interpretación de la herbivoría.

Conclusiones.

- *S. acutus* y *S. quadricauda* sí cambian algunos aspectos de su morfología ante la presencia de zooplancton herbívoro.
- No se encontró una relación entre cambios morfológicos y talla del zooplancton.
- La forma de *S. acutus* y *S. quadricauda* tiene un impacto negativo en la población de zooplancton pequeño (*B. patulus* y *B. calyciflorus*).
- El zooplancton mediano (*C. dubia*) se vio afectado únicamente por el tamaño de *S. quadricauda*.
- En el zooplancton grande (*Daphnia pulex*) no hubo un efecto relacionado con el tamaño de *Scenedesmus acutus* y *S. quadricauda*.

Bibliografía

- Ahlgren, G., Gustafsson, I-B. y Boberg, M. 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *J. Phycol.*, 28: 37-50.
- Alva-Martínez, A., Sarma, S. S. S. y Nandini, S. 2001. Comparative population dynamics of three species of Cladocera in relation to different levels of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana*, 74: 749-764.
- Beisner, B. E. 2001. Herbivory in variable environments: an experimental test of the effects of vertical mixing and *Daphnia* on phytoplankton community structure. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 58: 1371-1379.
- Black, R. y Slobodkin, L. 1983. What is cyclomorphosis?. *Freshwat. Biol.*, 18: 373-378.
- Brooks, J. L. y Dodson, S. I. 1965. Predation, body size, and composition of plankton. *Science*, 150: 28-35.
- Burns, C. 1968. The relationship between body size of filter-feeding Cladocera and the maximum size of particle ingested. *Limnol. Oceanogr.*, 13: 675-678.
- Cyr, H. y Curtis, J. M. 1999. Zooplankton community size structure and taxonomic composition affects size-selective grazing in natural communities. *Oecologia*, 118: 306-315.
- Cyr, H. y Pace, M. 1993. Magnitude and patterns of herbivory in aquatic and terrestrial ecosystems. *Nature*, 361: 148-150.
- DeMott, W. R. 1985. Relations between filter mesh size, feeding mode and capture efficiency for cladocerans feeding on ultrafine particles. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 21: 125-134.
- Dicke, M, 1999. Evolution of Induced Indirect Defense of Plants in *The ecology and evolution of Inducible Defenses* (Eds. Tollrian, R. y Harvell, C.). Princeton University Press, U. S. A., 62-88 pp.
- Dirzo, R. 1984. Herbivory: a phytocentric overview in *Perspectives on plant population ecology* (Eds. Dirzo, R. y Saruhkan, J.). Sinauer, U.S.A. 141-165 pp.

- Dodson, S. 1974. Adaptive change in plankton morphology in response to size-selective predation: A new hypothesis of cyclomorphosis. *Limnol. Oceanogr.*, 19: 721-729.
- Dodson, S. I. y Frey, D. G. 1991. Cladocera and Other Branchiopoda, 20. in *Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates* (Eds. Thorp, J. H. y Covich, A.). Academic Press, San Diego, 723-786 pp.
- Dumont, H. J. 1994. Ancient lakes have simplified pelagic food webs. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 44: 223-234.
- Egan, P. F. y Trainor, F. R. 1989. Low cell density: the unifying principle for unicell development in *Scenedesmus* (Chlorophyceae). *Br. phycol. J.* 24: 271-283.
- Fernando, C. H., Paggi, J. C. y Rajapaksa, R. 1987. *Daphnia* in tropical lowlands in *Memorie dell'istituto italiano di idrobiologia Dott. Marco de Marchi* (Eds. Peters, R. H. y De Bernardi R.). Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto Italiano Di Idrobiologia-Verbania Pallanza, 107-142 pp.
- Gaines, S. y Lubchenco, J. 1982. A unified approach to marine plant-herbivore interactions. II. Biogeography. *Ann. Rev. Syst.* 13: 111-138.
- Geider, R. J. y Osborne, B. A. 1992. *Algal Photo-Synthesis*. Chapman and Hall. USA.
- Gilbert, J. J. y Bogdan, K. G. 1984. Rotifer grazing: *in situ* studies on selectivity and rates in *Trophic interactions within aquatic ecosystems* (Eds. Meyers, D. G. y Strickler, J. R.). Westview Press, U. S. A., 97-134 pp.
- Gliwicz, Z. M. 1990. Why do cladocerans fail to control algal blooms?. *Hydrobiologia*, 200/201: 83-97.
- González, J. M. 1999. Bacterivory rate estimates and fraction of active bacterivores in natural protist assemblages from aquatic systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 1463-1469.
- Guixa-Boixereu, N., Lysnes, K. y Pedrós-Alió, C. 1999. Viral Lysis and bacterivory during a Phytoplankton bloom in a coastal water microcosm. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 1949-1958.
- Hannen, E., Lüring, M. y Van Donk, E. 2000. Sequence analysis of the ITS-2 region: a tool to identify strains of *Scenedesmus* (Chlorophyceae). *Journal. of Phycology*, 36: 605-607.

- Hansen, P., Koefoed, P. y Hansen, B. 1997. Zooplankton grazing and growth: Scaling within the 2-2000- μm body size range. *Limnol. Oceanogr.* 42: 687-704.
- Harris, G. 1986. *Phytoplankton ecology*. Charmand and Hall. U.S.A. 384 pp.
- Hessen, D. y Van Donk, E. 1993. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by substances released from *Daphnia*. *Arch. Hydrobiol.*, 127: 129-140.
- Hietala, J., Lauren-Maatta, C. y Walls, M. 1997. Life history responses of *Daphnia* clones to toxic *Microcystis* at different food levels. *J. Plankton Res.*, 19: 917-926.
- Howe, H. F. y Westley, L. C. 1988. *Ecological Relationships of Plants and Animals*. Oxford University Press. New York.
- Hutchinson, G. E. 1961. The paradox of the plankton. *Am. Nat.* 95: 137-145.
- Hutchinson, G. E. 1967. *A treatise on limnology*. Vol. II. Introduction to lake biology an the limnoplankton. Johon Wiley & Sons, Inc. New york.
- Jarvis, A., Hart, R. y Combink, S. 1987. Zooplankton feeding on size fractionated *Microcystis* colonies and *Chlorella* in a hypertrophic lake (Hartbeespoort Dam, South Africa): implications to resource utilization and zooplankton succession. *J. Plankton Res.*, 9: 1231-1249.
- Karban, R., Agrawal, A. A. y Mangel, M. 1997. The benefits of induced defenses against herbivores. *Ecology*, 78: 1351-1355.
- Karban, R. Myers, J. H. 1989. Induced plant responses to herbivory. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 20: 331-348.
- Kobayashi, T. 1991. Body lengths and maximum gut food particles sizes of dominant cladocerans and calanoid copepods in Wallerawang reservoir, New South Wales. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 42: 399-408.
- Lampert, W., Fleckner, W., Rai, H. y Taylor, B. 1986. Phytoplankton control by grazing zooplankton: a study on the spring clear-water phase. *Limnol. Oceanogr.*, 31: 478-490.
- Lampert, W. y Sommer, U. 1997. *Limnoecology: The Ecology of Lakes and Streams*. Oxford University Press, U. S. A., 382 pp.
- Lampert, W. y Taylor, B. E. 1985. Zooplankton grazing in a eutrophic lake: implications of diel vertical migration. *Ecology*, 66: 68-82.

- Lampert, W., Rothhaupt, K. y Von Elert, E. 1994. Chemical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1543-1550.
- Lewis, W, M. Jr. 1987. Tropical Limnology. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 159-184.
- Lürling, M. 1998. Effect of grazing-associated infochemicals on growth and morphological development in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). *J. Phycol.*, 34: 578-586.
- Lürling, M. 1999. Grazer-induced coenobial formation in clonal cultures of *Scenedesmus obliquus* (Chlorococcales, Chlorophyceae). *J. Phycol.*, 35: 19-23.
- Lürling, M. y Van Donk, E. 1996. Zooplankton-induced unicell-colony transformation in *Scenedesmus acutus* and its effect on growth of herbivore *Daphnia*. *Oecologia*, 108: 432-437.
- Lürling, M. y Van Donk, E. 1997. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. *Limnol. Oceanogr.*, 42: 783-788.
- Lürling, M. y Van Donk, E. 1997b. Life history consequences of *Daphnia pulex* feeding on nutrient-limited phytoplankton. *Freshwat. Biol.*, 38: 693-709.
- Lürling, M. y Van Donk, E. 1999. Grazer-induced colony formation in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae): ecomorph expression at different temperatures. *J. Phycol.*, 35: 1120-1126.
- Lürling, M. y Van Donk, E. 2000 Grazer-induced colony formation in *Scenedesmus*: are there costs to being colonial?. *Oikos*, 88:111-118.
- Lürling, M., De Lange, H. J. y Van Donk, E. 1997. Changes in food quality of the green alga *Scenedesmus* induced by *Daphnia* infochemicals: biochemical composition and morphology. *Freshwat. Biol.*, 38: 619-628.
- McCauley, E. y Briand, F. 1979. Zooplankton grazing and phytoplankton species richness: field test of the predation hypothesis. *Limnol. Oceanogr.* 24: 243-252.
- Mangas-Ramírez, E., Sarma, S. S. S. y Nandini, S. 2001. Acute and chronic toxicity of ammonium chloride to the cladoceran *Daphnia pulex* Leydig in relation to algal food density. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 67: 834-840.

- Mangas-Ramírez, E., Sarma, S. S. S. y Nandini, S. 2002. Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 51: 216-222.
- Margalef, R. 1983. *Limnología*. Ediciones Oméga, Barcelona, 1010 pp.
- Mitchell, S., Trainor, F., Rich, P. y Goulden, C. 1992. Growth of *Daphnia magna* in the laboratory in relation to the nutritional state of its food species, *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Plankton Res.*, 14: 379-391.
- Nandini, S. 2000. Responses of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae): a demography study. *Aquatic Ecol.*, 34: 227-242.
- Nandini, S. y Rao, T. R. 1998. Somatic and population growth in selected cladoceran and rotifer species offered the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as food. *Aquatic Ecol.*, 31: 283-298.
- Pandolfini, E., Thys, I., Leporcq, B. y Descy, J-P. 2000. Grazing experiments with two freshwater zooplankters: fate of chlorophyll and carotenoid pigments. *J. Plankton Res.*, 22: 305-319.
- Peters, R. H. 1984. Methods for the study of feeding, grazing and assimilation by zooplankton in *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters* (Eds. Downing, J. A. y Rigler, F. H.). Blackwell Scientific Publications, Great Britain, 334-412 pp.
- Peters, R. y Downing, J. 1984. Empirical analysis of zooplankton filtering and feeding rates. *Limnol. Oceanogr.*, 29: 763-784.
- Porter, K. 1976. Enhancement of Algal Growth and Productivity by Grazing Zooplankton. *Science*, 192: 1332-1334.
- Repka, S. Effects of food type on the life history of *Daphnia* clones from lakes differentiating in trophic state. I. *Daphnia galeata* feeding on *Scenedesmus* and *Oscillatoria*. *Freshwat. Biol.*, 37: 675-683.
- Rothhaupt, K. O. 1988. Mechanistic resource competition theory applied to laboratory experiments with zooplankton. *Nature*, 333: 660 - 662.
- Rothhaupt, K. O. 1993a. Critical consideration of chemostat experiments in *Plankton regulation dynamics* (Ed. Walz, N.). Springer-Verlag, Alemania, 217-225 pp.

- Rothhaupt, K. O. 1993b. Rotifers and continuous culture techniques: model systems for testing mechanistic concepts of consumer-resource interactions in *Plankton regulation dynamics* (Ed. Walz, N.). Springer-Verlag, Alemania, 217-225 pp
- Sarma, S. y Nandini, S. 1999. *International workshop on Zooplankton Ecotoxicology. Involving Rotifera, Cladocera and Copepoda*. UNAM. Campus Iztacala. México, 181 pp.
- Sarma, S. S. S. y Rao, T. R. 1991. The combined effects of food and temperature on the life history parameters of *Brachionus patulus* Muller (Rotifera). *Int. Revue ges. Hydrobiol.*, 76: 225-239.
- Sarma, S. S. S., Arevalo S. A. y Nandini, S. 1998. Influence of food (*Chlorella vulgaris*) concentration and temperature on the population dynamics of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera) isolated from a subtropical reservoir in Mexico. *Ciencia Ergo Sum*, 5: 77-81.
- Sarma, S., Nandini, I. y Dumont, H. 1996. Competitive interactions between herbivorous rotifers: importance of food concentration and initial population density. *Hydrobiologia*, 331: 1-7.
- Sarnelle, O. 1993. Herbivore effects on phytoplankton succession in a eutrophic lake. *Ecological Monographs*. 63: 129-149.
- Scheffer, M y Rinaldi, S. 2000. Minimal models of top-down control of phytoplankton. *Freshwat. Biol.*, 45:265-283.
- Sokal y Rohlf, 2000. *Biometry*. W.H Freeman and Company. San Francisco.
- Stein, J. 1973. *Handbook of Phycological Methods. Culture methods and growth measurements*. Cambridge University Press, Great Britain, 448 pp.
- Sterner, S. 1986. Herbivores' Direct and Indirect Effects on algal Population. *Science*, 231: 605-607.
- Strauss, S. y Agrawal, A. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *TREE*, 14: 179-185.
- Stutzman, P. 1995. Food quality of gelatinous colonial chlorophytes to the freshwater zooplankters *Daphnia pulex* and *Diaptomus oregonensis*. *Freshwat. Biol.*, 34: 149-153.

- Talling, J. 1969. General outline of spectrophotometric methods in *A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments* (Ed. Vollenweider, R.). Blackwell Scientific Publications, London, 22-24 pp.
- Trainor, F. R. 1992. Cyclomorphosis in *Scenedesmus armatus* (Chlorophyta): An ordered sequence of ecomorph development. *J. Phycol.*, 28: 553-558.
- Trainor, F. R. y Egan, P. F. 1990. The implications of polymorphism for the systematics of *Scenedesmus*. *Br. phycol. J.* 24: 271-283.
- Van Donk, E. 1997. Defense in phytoplankton against grazing induced by nutrient limitation, UV-B stress and infochemicals. *Aquatic Ecol.*, 31: 53-58.
- Van Donk, E. y Hessen, D. 1995. Reduced digestibility of UV-B stressed and nutrient-limited algae by *Daphnia magna*. *Hydrobiologia*, 307: 147-151.
- Van Donk, E., Lürling, M. y Lampert, W. 1999. Consumer-induced Changes in Phytoplankton: Inducibility, Cost, Benefits and the Impact on Grazers in *The ecology and evolution of Inducible Defenses* (Eds. Tollrian, R. y Harvell, C.). Princeton University Press, U. S. A., 89-103 pp.
- Van Donk, E., Lürling, M., Hessen, D. y Lokhorst, B. 1997. Altered cell wall morphology in nutrient deficient phytoplankton and its impact on grazers. *Limnol. Oceanogr.*, 42: 357-364.
- Vanni, M. y Temte, J. 1990. Seasonal patterns of grazing and nutrient limitation of phytoplankton in a eutrophic lake. *Limnol. Oceanogr.*, 35: 697-790.
- Von Elert, E. y Franck, A. 1999. Colony formation in *Scenedesmus*: grazer-mediated release and chemical features of the infochemical. *J. Plankton Res.*, 21: 789-804.
- Walls, M., Laurén-Määttä, C., Ketola, M., Ohra-Aho, P., Reinikainen, M. y Repka, S. 1997. Phenotypic plasticity of *Daphnia* life history traits: the roles of predation, food level and toxic cyanobacteria. *Freshwat. Biol.*, 38: 353-364.
- Walz, N. 1993. Carbon metabolism and population dynamics of *Brachionus angularis* and *Keratella cochlearis* in *Plankton regulation dynamics* (Ed. Walz, N.). Springer-Verlag, Alemania, 89-105 pp.
- Werner, E. E. y Gilliam, J. F. 1984. The ontogenetic niche and species interactions in size-structured population. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 15: 394-425.

- Wiltshire, K. y Lampert, W. 1999. Urea excretion by *Daphnia*: A colony-inducing factor in *Scenedesmus*?. *Limnol. Oceanogr.*, 44: 1894-1903.
- Wood, L. W. (1985). Chloroform-methanol extraction of chlorophyll *a*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 38-43.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Anexo 1.

Información textual de las cepas de *S. acutus* f. *alternans* y *S. quadricauda* de la Universidad de Texas (www.bio.utexas.edu/research/utex/).

72 *Scenedesmus acutus* f. *alternans* Hortobagyi:

MEDIUM: proteose; ORIGIN: *isolation*: E.G. Pringsheim; *deposition*: 1952-5 from CCAP 276/3a *Scenedesmus obliquus*; 1976 renamed (George 1976); RELATIVES: CCAP 276/3A *Scenedesmus obliquus*; SAG 276-3a *Scenedesmus obliquus*; ATCC 30580 *Scenedesmus obliquus*, ATCC 11457 *Scenedesmus obliquus*; UTCC 8 *Scenedesmus acutus* a.k.a. UTCC 6 Ni-Tol, UTCC 7; NOTES: antibacterial activity (Cannell et al. 1988b)

614 *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb.:

MEDIUM: proteose; ORIGIN: *isolation*: F. Trainor as large cells; *deposition*: 11/54; NOTES: for classroom use LB 614 [xenic, MEDIUM: soilwater (GR+)]; bristles/colony distribution (Trainor & Egan 1988); no detectable hydrogen photoproduction (Brand et al. 1989); (Bisalputra & Weier 1963)

Anexo 2.

Medios.

Medio Proteasa

Preparación: a 940 mL de agua destilada se adiciona 1.0 g peptona proteasa, 15.0 g de agar y la siguiente solución:

mL	solución	g/400 mL H ₂ O
10	NaNO ₃	10.0
10	CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.0
10	MgSO ₄ ·7H ₂ O	3.0
10	K ₂ HPO ₄	3.0
10	KH ₂ PO ₄	7.0
10	NaCl	1.0

Solución Bristol y medio

La solución Bristol es una modificación del medio Bold (Bold 1949¹).

Preparación: a 940 mL de agua destilada se adiciona:

mL	Solución base	g/400 mL H ₂ O
10	NaNO ₃	10.0
10	CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.0
10	MgSO ₄ ·7H ₂ O	3.0
10	K ₂ HPO ₄	3.0
10	KH ₂ PO ₄	7.0
10	NaCl	1.0

Ingredientes

opcionales:

agar en 15 g/L para solidificar; 1 gota de 1.0% FeCl₃ solución; 2 mL de

¹ Bold, H.C. 1949. The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*, sp. nov. *Bull. Torrey Bot. Club* 76:101-8.

solución de elementos traza (Trelease and Trelease 1935²).

Medio BOLD (Bischoff y Bold, 1963³).

	Proporción
1. Nitrato de sodio (NaNO ₃)	250 g/l
2. Sulfato de magnesio ((MgSO ₄ · 7H ₂ O)	75 g/l
3. Fosfato de potasio dibásico (K ₂ HPO ₄)	75 g/l
4. Fosfato de potasio monobásico (KHPO ₄)	75 g/l
5. Cloruro de sodio (NaCl)	25 g/l
6. EDTA (Na ₂ C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ · 2H ₂ O)	50 g + 31 g KOH / l
7. Sulfato de fierro (FeSO ₄ · 7H ₂ O)	4.98 g+ 1 ml H ₂ SO ₄
8. Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	11.42 g/l
9. Cloruro de calcio (CaCl ₂)	25 g/l
10. Elementos traza.	
Cloruro de magnesio (MnCl ₂ · 7H ₂ O)	1.44 g/l
Trióxido de molibdeno (MoO ₃)	0.71 g/l
Sulfato de cobre (CuSO ₄)	1.75 g/l
Nitrato de cobalto (CO(NO ₃)) ₂	0.49 g/l
Sulfato de zinc (ZnSO ₄)	8.82 g/l

Se agrega dos mililitros de cada solución por cada litro de medio.

Medio EPA (Anónimo, 1985⁴).

² Trelase, S.F. & Trelase, H. 1935. Changes in hydrogen-ion concentration of culture solutions containing nitrate and ammonium nitrogen. *Am. J. Bot.* 22:520-42.

³ Bischoff, H. y Bold, H. 1963. Phycological Studies. IV. Some algae from Enchanted Rock and Related algal species. The Univ. of Texas Pub. No. 6318. pp 95.

A 20 litros de agua destilada se agrega:

- | | |
|--|--------|
| 1. Bicarbonato de sodio (NaHCO_3) | 1.92 g |
| 2. Sulfato de calcio ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) | 1.2 g |
| 3. Sulfato de magnesio (MgSO_4) | 1.2 g |
| 4. Cloruro de potasio (KCl) | 0.8 g |

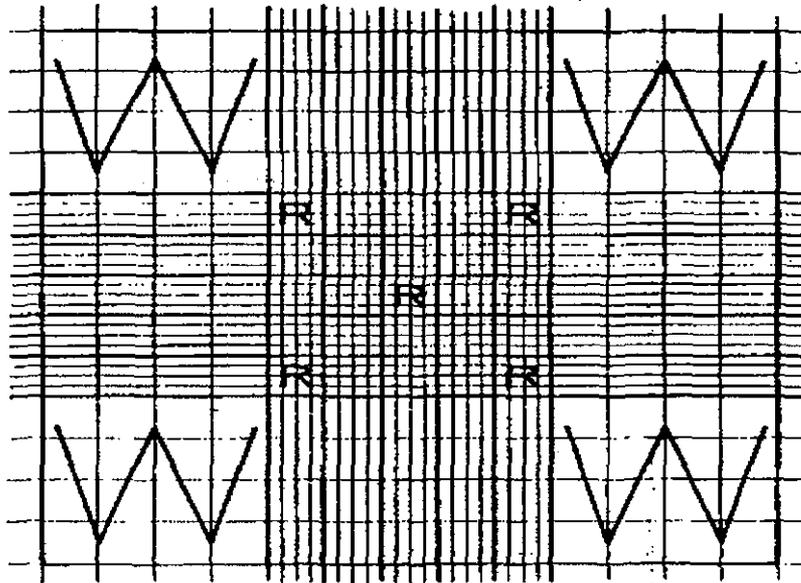
⁴ Anónimo. 1985. *Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms*. US Environment Protection Agency, EPA/600/4-85/013.

Anexo 3.

Cámara cuentaglóbulos de Neubauer⁵.

Ésta cámara consiste en dos plataformas alzadas, en ambos lados de las dos plataformas existe una pequeña elevación sobre la cuál se coloca la tapa de cristal. Entre la parte superior de la plataforma y la tapa de cristal que la recubre el espacio es de .1 mm (Fig. 1). Cada una de las dos plataformas contiene un área cuadrículada compuesta por nueve cuadrados grandes de igual tamaño. El área cuadrículada total de la plataforma (nueve cuadrados grandes) mide 3 mm de ancho por 3 mm de largo; por tanto cada cuadrado grande mide 1 mm de lado. El volumen de ésta área sobre una plataforma es de .9 mm³. El volumen de cada uno de los cuadrados grandes es de .1 mm³. El cuadrado central —que es el que se usa para la cuantificación de las células de alga— se subdivide en 25 pequeños cuadros.

Fig. 1 Cámara cuentaglóbulos de Neubauer.



⁵ Brown, B. 1976. *Técnicas de laboratorio en hematología*. Ed. ELICIEN. Barcelona, pág. 74-75.