



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**“EFECTO DE LA CIANOBACTERIA
Anabaena sp. SOBRE LA DEMOGRAFÍA DE
Brachionus havanaensis (*Brachionidae*:
Rotifera)”**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

B I O L O G O

**PRESENTA:
Abraham Agustín Vargas Hernández**

Directora de tesis Dra. Nandini Sarma



IZTACALA

Los Reyes Iztacala, México 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedicado

A mis padres Marco Antonio Vargas Colín y Maria Antonieta Hernández Mellado por todo el apoyo brindado a lo largo de mi vida, gracias por las enseñanzas y valores que me inculcaron los amo.

A Athenea, Thalia, Hebe, Mildred y Najla: Gracias hermanitas por darme ánimos en las buenas y en las malas y porque siempre confiaron en mi. Las quiero mucho.

A la banda del CCH: Yee, Vania, Lupita y Juan

A toda la banda de Iztacala; Lalimba, Tocayo, Los Hobits, Joab, Paco, Yaz, Clauchin, Cucurbi, Alejandra, Teolo, Deniss, Aglae, Talitha, Geles, Lyz, Dennistopa y muy en especial a Erick con el cual me divertí y aprendí mucho, te quiero hermano.

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

A todos las personas del laboratorio de Zoología Acuática especialmente a Gerardo, Diego y Jorge por su apoyo en la conclusión de este trabajo.

A la Dra. Nandini Sarma y Dr. S.S.S. Sarma por ser de gran ayuda en la realización de este proyecto y por ayudarme a cumplir esta meta en mi vida.

A la Dra. Maria del Rosario Sánchez Rodríguez, Dr. Pedro Ramírez García y M. en C. José Luís Gamma Flores, por sus contribuciones en el proyecto.

A Internacional Foundation for Science (IFS) F3076-1 por su apoyo en la realización de este proyecto.

*La naturaleza es grande en las grandes cosas,
pero es grandísima en las más pequeñas.*

Saint-Pierre

Índice.

Resumen.....	7
1. Introducción.....	9
2. Antecedentes.....	13
3. Justificación.....	18
4. Hipótesis.....	18
5. Objetivos.....	19
6. Material y Métodos.....	20
6.1 Cultivo de organismos experimentales (<i>Brachionus havanaensis</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Anabaena sp.</i>).....	20
6.2 Crecimiento Poblacional de <i>Brachionus havanaensis</i>	23
6.3 Tabla de Vida de <i>Brachionus havanaensis</i>	23
6.4 Frecuencia de observaciones.....	24
7.Resultados.....	26
7.1 Crecimiento Poblacional.....	26
7.2 Densidad Máxima.....	28
7.3 Tasa intrínseca de crecimiento.....	29
7.4 Sobrevivencia y Fecundidad.....	30
7.5 Tabla de Vida Demográfica.....	32
8. Discusión.....	36

8.1 Crecimiento Poblacional.....	37
8.2 Tabla de Vida.....	38
9. Conclusiones.....	41
10. Citas Bibliográficas.....	42
11. Anexos.....	46
11.1 Medio E.P.A.....	46
11.2 Medio Bold basal.....	47
11.3 Medio de cultivo BG11.....	48

Resumen

En las últimas décadas en la mayoría de los lagos en el mundo han incrementado rápidamente los niveles de nitrógeno y fósforo, dando como resultado una aceleración del proceso denominado eutrofización y su consecuente relación con la aparición de florecimientos cianobacteriales. Estos últimos, cuando son florecimientos dañinos originan problemas como son la muerte de los organismos acuáticos incluyendo peces y zooplancton. *Anabaena* sp. es una de las tantas especies de cianobacterias que provocan este tipo de problemas. Entre el zooplancton, los rotíferos son muy útiles como organismos de bioensayos para probar el impacto de la toxicidad de varias sustancias. En este trabajo se efectuó un bioensayo que permitió evaluar el efecto de *Anabaena* sp.(A), en combinación con el alga *Chlorella vulgaris* (C), a dos temperaturas, sobre el crecimiento poblacional y las variables demográficas de *Brachionus havanaensis*, ya que estos organismos son convenientes para bioensayos debido a su fácil manejo. Para esto se realizó un experimento el cual consistió en observar el comportamiento del rotífero, sometido a cuatro combinaciones de alimento (A100%, A75%+C25%, A25%+C75% y C100%) y cuatro repeticiones de cada concentración y dos temperaturas (21° y 26°C). Se colocaron 20 neonatos del rotífero *B. havanaensis* en vasos de plástico de 50 ml. de capacidad, con 20 ml de EPA alimentada con el alga *C. vulgaris* y con *Anabaena* sp. en forma unicelular. Los experimentos se terminaron cuando el último individuo de cada cohorte murió, esto para tabla de vida y cuando la población descendió por más de tres días, para crecimiento poblacional. Con base en estos resultados se calcularon las variables de supervivencia y reproducción. La sobrevivencia (lx) y la fecundidad

(*mx*) mas altas para *B. havanaensis* se obtuvieron en el tratamiento con A 75%+C 25% y en A 25%+C 75 a una temperatura de 21° y 26°C respectivamente, siendo la optima a 21°. Para el caso del crecimiento poblacional hubo un mejor desempeño con la concentración de A75%+C25% a 26°.Concluyendo que *B. havanaensis* acepta el alimento con *Anabaena* y *Chlorella* a una temperatura de 21°C mejor que a 26°C. Y que tanto su crecimiento poblacional como su reproducción y sobrevivencia también son mejores a 21°C que a 26°C.

Palabras Clave: *Brachionus havanaensis.*, *Anabaena sp.*, Temperatura, Tasa de reproducción, Crecimiento poblacional.

1. Introducción

En las últimas décadas muchos lagos, presas y otros tipos de cuerpos de agua béticos, debido a las actividades humanas, vienen sufriendo el proceso de eutrofización acelerada la cual es un incremento a corto plazo en sus niveles de nutrientes particularmente de nitrógeno y fósforo. Los efectos visibles son impurezas en la superficie, malezas acuáticas sumergidas, agregaciones de macrofitas béticas pero sobretodo en florecimientos algales o cianobacteriales. La degradación de esta materia orgánica puede conducir a la disminución del oxígeno disuelto en el agua, lo cual puede causar problemas secundarios tales como la muerte del zooplancton por la falta de oxígeno y por la liberación de sustancias tóxicas o fosfatos que están previamente ligados con los sedimentos oxidantes (Chorus y Bartram, 1999).

La creciente eutrofización de los ambientes acuáticos tiene una consecuencia indeseable que es la floración de *cianobacterias*, la cual forma una capa densa llamada florecimiento superficial, estas cianobacterias excretan compuestos orgánicos que imparten a las aguas malos olores y sabores, creando un serio problema en el agua potable, algunas cepas de estas algas causan reacciones alérgicas que pueden ser tóxicas (Lampert y Sommer, 1997).

Las cianobacterias se encuentran entre los organismos más primitivos de la tierra; su origen se estima en unos 3,500 millones de años, aparecen tanto en el suelo como en el medio acuático; preferentemente en los ambientes dulceacuícolas, pueden ser no tóxicas como la *Spirulina* sp. ó tóxicas como *Anabaena* sp. y basándonos en las cianobacterias tóxicas se sabe que su

crecimiento en colonias y la producción de toxinas para evitar la depredación ha hecho que estas especies sean exitosas en los cuerpos de agua dulce (Roset, *et al.* 2001).

Dentro de los géneros de cianobacterias de aguas continentales que han registrado florecimientos tóxicos a nivel mundial se encuentran: *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Cylindrospermopsis*, *Nodularia*, *Microcystis* y *Anabaena* (Infante, 1984) y las floraciones de cianobacterias tóxicas mas frecuentes para aguas dulces y salobres pertenecen los géneros *Microcystis* sp y *Anabaena* sp. (Chorus y Bartram, 1999).

El producto de las cianobacterias es una variedad de metabolitos secundarios en la formación de los fotopigmentos, que se acumulan en el citoplasma en determinadas situaciones. La producción de estas endotoxinas es máxima cuando las condiciones de crecimiento son optimas, pero cuando las condiciones son desfavorables, las cianobacterias mueren, produciéndose la lisis celular y la liberación de las toxinas al medio (Roset, *et al.* 2001). En la actualidad, las toxinas se suelen agrupar principalmente en neurotoxinas y hepatotoxinas, de las neurotoxinas se conocen mas de 5 diferentes, siendo la anatoxina-a la mas conocida. En este tipo de toxinas su acción es rápida, ya que causa la muerte a cualquier individuo por paro respiratorio a los pocos minutos de la exposición. En el caso de éstas hepatotoxinas, ocasionan el tipo mas común de intoxicación relacionado con cianobacterias, de acción mas lenta, causan la muerte en horas o a los pocos días destruyendo el hígado; precisa de estudios de control y seguimiento ante el peligro de que pequeñas

dosis de toxinas en exposiciones prolongadas, puedan aumentar la incidencia de cáncer hepático en las poblaciones expuestas (Roset, *et al.* 2001).

Por otra parte, las comunidades hidrobiológicas de agua dulce, más notorias o de mayor relevancia ecológica corresponden al plancton (fitoplancton y zooplancton), los macro-invertebrados acuáticos y los peces. Estos organismos viven en estrecha relación con el medio físico y químico acuático, y su presencia o ausencia son referentes de calidad del agua (Chorus y Bartram, 1999).

En consecuencia, las comunidades hidrobiológicas, se utilizan como indicadores en diversos estudios ambientales. Dada la relativa facilidad para recolectar muestras de cada una de ellas, ya que estas comunidades se convierten en instrumentos muy útiles de medición en estudios de impacto ambiental (Reish y Oshida, 1987).

Entre el zooplancton de agua dulce se encuentran los Protozoos, Cladóceros, Copépodos y Rotíferos y estos son los grupos dominantes en términos de biomasa (Thorp y Covich, 2001). Los rotíferos en particular son de gran importancia en lagos por su gran capacidad de coexistir junto a peces, de sus hábitos incesantes de alimentación y su rápida respuesta a cambios en presencia de factores bióticos o abióticos (Pavón *et al.*, 2004).

B. havanaensis, es un rotífero común en varias partes del mundo incluido el continente norteamericano, esta distribuido en aguas tropicales y sub-tropicales,

es frecuente su presencia en densidades y disponibilidad relativamente altas en varios cuerpos de agua dulce mexicanos aparte de jugar un papel como alimento para los depredadores de plancton en el siguiente nivel trófico, así como para entender la dinámica de esta especie en referencia al alimento y la temperatura (Pavón *et al.*, 2004). Para todos los organismos incluyendo los rotíferos, la temperatura afecta los procesos metabólicos; porque, al tener el cuerpo de agua temperaturas altas se provoca una aceleración en la eclosión de huevos, la edad y la maduración de los organismos y lo mas importante es, que se prevé una esperanza de vida corta (Pavón *et al.*, 2004).

Esto nos lleva a tener varias estrategias de la calidad de agua de un ambiente determinado para la elaboración de un diagnóstico, como la realización de bioensayos de laboratorio y de campo (Tortorelli y Hernández, 1995), que son pruebas en las cuales un tejido vivo, organismo o grupo de organismos son usados como agentes para determinar la potencia de cualquier sustancia fisiológicamente activa o de actividad desconocida (Reish y Oshida, 1987). Según Reish y Oshida (1987). El uso de bioensayos resulta conveniente por la pequeña talla del zooplancton; por tanto requiere de poco espacio de laboratorio y poco volumen de agua, presentan una sensibilidad a sustancias tóxicas; ciclo de vida corto; requerimientos nutricionales generalmente conocidos, lo cual lo hace ideal para estudios de bioacumulación. Un ejemplo claro son los rotíferos, aunque desafortunadamente son pocos los estudios que se han realizado de las interacciones de los rotíferos con las cianobacterias (Gilbert, 1994).

Particularmente *B. havanensis* en pruebas de ecotoxicología y con cianobacterias solo existe una publicación (Alva, *et al.*, 2007) quien experimento con la especie *B. havanaensis*, alimentándola con la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*.

2. Antecedentes

- Nizan (1986) elaboró un estudio del efecto tóxico agudo de *M. aeruginosa* en *Daphnia magna* observando que varias especies de *M. aeruginosa* afectan tanto a las *daphnias* en estado adulto como a las juveniles por las microcistinas que se encuentran contenidas en sus células y que resultan responsables de las manifestaciones tóxicas en experimentos por exposición a concentraciones agudas.
- De Mott *et al.* (1991) realizaron un estudio de los efectos de cianobacterias tóxicas y sus toxinas puras en la supervivencia y alimentación de un copépodo y tres especies de *Daphnia* mostrando que los experimentos de toxicidad aguda con toxinas puras para las 4 especies del zooplancton difieren marcadamente en la sensibilidad fisiológica debido a las hepatotoxinas de *Microcystis aeruginosa* y de *Nodularia spumigena*.
- Hizo un estudio de tabla de vida y crecimiento poblacional de *Daphnia laevis* bajo diferentes densidades de *Chlorella vulgaris* y *Microcystis aeruginosa* observando que la variable de supervivencia no fue afectada por el tipo de alimento o por la concentración ofrecida mientras que las variables reproductivas fueron influenciadas más por el tipo de alga que por su densidad (Nandini *et al.*, 2000).
- Trabajaron una comparación de la población de 3 especies de cladóceros (*Daphnia pulex*, *Moina macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia*) alimentadas con diferentes niveles de *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* mostrando que no hubo diferencias significativas en *Daphnia pulex* alimentada con *M. aeruginosa* y *C. vulgaris* pero las diferencias si fueron

significativas para *Moina* y *Ceriodaphnia* por lo que no se encontró una relación entre el tamaño del cuerpo de los cladóceros y su habilidad para alimentarse con células de *Microcystis* (Alva *et al.*, 2001).

- Jang *et al.* (2003) trabajaron sobre el incremento en la producción de toxinas de cianobacterias en presencia de zooplancton y los resultados sugieren que efectivamente existe un incremento en la producción de toxinas en respuesta a la exposición directa o indirecta en varias especies del zooplancton.
- Lüring (2003) efectuó una prueba del crecimiento de *Daphnia* con mezclas de *Scenedesmus* y *Microcystis*, observando que la presencia de *Microcystis* se refleja en un alto crecimiento poblacional supervivencia, tamaño del cuerpo y desarrollo.
- Otro estudio del crecimiento poblacional de *Daphnia pulex* con dietas mezcladas de *Microcystis aeruginosa* con *Chlorella vulgaris* o *Scenedesmus acutus* observando que existe un buen crecimiento poblacional y abundancia en esta especie con las mezclas de algas a diferencia de aquellas que solo se alimentaron con *M. aeruginosa* y observando también que la mezcla de *M. aeruginosa* con *S. acutus* tuvo mejores resultados que la mezcla de *M. aeruginosa* con *C. vulgaris* llevado a cabo por Alva (2004).
- Estudiaron el crecimiento poblacional y somático seleccionando especies de cladóceros y rotíferos ofreciendo la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* como alimento, encontrando que para los rotíferos *Hexarthra mira* y *Brachionus calyciflorus*, obteniendo un

porcentaje bajo en el crecimiento cuando se les suministró tanto cianobacterias en colonia como separadas. (Nandini y Rao, 1998).

- Evaluó la respuesta de rotíferos y cladóceros a *Microcystis aeruginosa* aplicando un estudio demográfico y reporta que la sobrevivencia con *Chlorella vulgaris* fue alta en la mayoría de las especies, y particularmente en dos especies de cladóceros hubo una mejor sobrevivencia en presencia de colonias de *M. aeruginosa*. Para el caso de los rotíferos definitivamente hubo una mejor sobrevivencia con *C.vulgaris*. (Nandini, 2000).
- Gilbert (1990) en un estudio mostró los diferentes efectos de *Anabaena affinis* en cladóceros y rotíferos, observando que la presencia de *A. affinis* en filamentos previene la supresión de los rotíferos y que en comparación con los cladóceros se nota una dominancia por parte de los rotíferos.
- Gilbert (1994) efectuó un estudio de susceptibilidad en rotíferos planctónicos bajo estrés toxico con *Anabaena flos-aquae*. Observando que el efecto del toxico de la cianobacteria inhibe la reproducción debido a la producción de neurotoxinas siendo *B. calyciflorus* la especie mas sensible.
- Gilbert (1996) hizo un estudio del efecto de la disponibilidad de alimento en la respuesta de dos especies de rotíferos con una cepa tóxica de la cianobacteria *Anabaena flos-aquae* encontrando que la esperanza de vida, la fecundidad y el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* se ven afectadas por la concentración de comida y reducida por *Anabaena*.

- Galkovskaja (1987) elaboró un estudio del impacto de la temperatura sobre rotíferos planctónicos, observando sus efectos sobre los índices de la ingestión de rotíferos y que son influenciados también por la concentración del alimento. Por lo tanto, este factor también se ve influenciando en la producción secundaria de poblaciones experimentales en diversas temperaturas.
- Gilbert (1996) estudio el efecto de la temperatura en la respuesta de rotíferos planctónicos a una cianobacteria tóxica, encontrando que de los rotíferos aclimatados a temperaturas de (12°-14°C), (19°C), (25°-26°C), la susceptibilidad a la cianobacteria y su toxina aumentaron perceptiblemente, y los resultados indican que los aumentos estacionales en temperatura del agua, y el clima que se calienta, pueden agravar el impacto de el toxico de la cianobacteria en los rotíferos y quizás otros taxa del zooplancton.
- Efectuaron un estudio del efecto de la temperatura y el alimento en dos especies de rotíferos de litoral en la que observaron que la temperatura óptima para el desarrollo de los rotíferos se encuentra en un ámbito de 20° a 25° y para la reproducción de 25°C (Pérez y Rico, 1998).
- Realizaron un estudio de la influencia del alimento *Chlorella vulgaris* en la concentración y temperatura en la dinámica poblacional de *Brachionus calyciflorus* encontrando que la densidad poblacional mas alta fue alcanzada alrededor del sexto día a 30°C y que la concentración de alimento y la temperatura tienen un impacto significativo en el alcance de la máxima densidad poblacional (Sarma *et al.*, 1998).

- Elaboraron un estudio de efectos combinados de *C. vulgaris* como alimento a diferentes concentraciones y temperaturas sobre el crecimiento poblacional de *B. havanaensis*, encontrando que el incremento en los niveles de alimento y temperatura provocan un incremento en el crecimiento poblacional de *B. havanaensis* (Pavón *et al.*, 2004).
- Hicieron un estudio de efectos combinados de alimento con *C. vulgaris* a diferentes concentraciones y temperaturas en la demografía de *B. havanaensis*, observando que la esperanza de vida y tiempo generacional fue mejor que a niveles con mayor temperatura (Pavón *et al.*, 2005).

3. Justificación

Por una parte *Brachionus havanaensis* tiene una distribución amplia en Norteamérica y frecuentemente es una especie dominante en lagos eutrofizados con florecimientos cianobacteriales en México., por otra es un rotífero del cual no se tienen muchas pruebas con sustancias tóxicas además de ser una especie que se reproduce bien y se pueden obtener respuestas rápidas al realizar este tipo de experimentos. De esta manera se aportan datos, a la vez de aumentar el estudio del Phylum Rotifera; es por ello que se realizó este estudio dando paso a una línea de investigación a futuro con las diferentes especies de rotíferos.

4. Hipótesis

Si las diferentes concentraciones de *Anabaena* afectan el crecimiento poblacional de *B. havanaensis* entonces se observará una mayor mortalidad de individuos conforme la cantidad de cianobacteria suministrada sea mayor. Y si la temperatura afecta el crecimiento poblacional y demográfico entonces a una mayor temperatura se verá afectado el crecimiento del rotífero y a una temperatura menor serán positivos los resultados.

5. Objetivos

Objetivo General

- Evaluar el efecto de varias combinaciones de dietas algales (*Anabaena* sp. + *Chlorella vulgaris*) y temperatura, sobre el crecimiento poblacional y demográfico del rotífero, *Brachionus havanaensis*.

Objetivos Particulares

- Cuantificar el efecto de diferentes combinaciones de *Anabaena*+*Chlorella* sobre las características poblacionales del rotífero *B. havanaensis*.
- Determinar el efecto de la temperatura, sobre la capacidad del rotífero *B. havanaensis* en el aprovechamiento de *Anabaena* en términos de sus características demográficas.

6. Material y métodos

6.1 Cultivo de organismos experimentales

Brachionus havanaensis (lamina 1) se colecto en los canales de Xochimilco, obteniendo hembras partenogénéticas, posteriormente fueron cultivados masivamente en el laboratorio de Zoología Acuática de la Unidad de Morfofisiología de la F.E.S. Iztacala, UNAM en medio con EPA (Anexo I), y suministrandoles alga *Chlorella vulgaris* (1×10^6 cél./ml) como alimento.

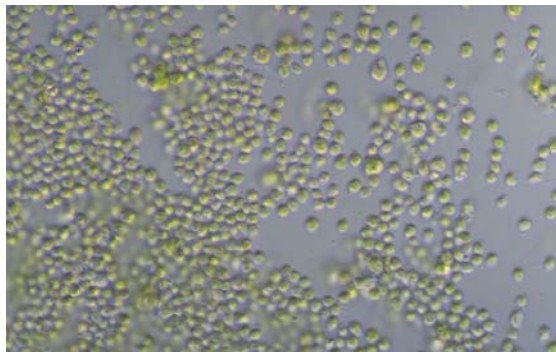


Lamina 1. *Brachionus havanaensis*.

La cepa de *C. vulgaris* (lamina 2 y 3) se obtuvo del mismo laboratorio y su cultivo masivo se realizó en botellas de plástico de 2 litros con medio basal Bold (Anexo II) expuestas a fotoperiodo 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y aeración continuas agregando como fuente de carbono NaHCO_3 cada tercer día y a una temperatura de 20°C durante 10 días. Una vez que el alga creció se dejó sedimentar en refrigeración y posteriormente se decantó, finalmente se refrigeró a 4° para mantenerla fresca, hasta su uso experimental.



Lamina 2. Cultivo de *Chlorella vulgaris*.



20 μm

Lamina 3. *Chlorella vulgaris*.

La cepa de *Anabaena* sp. (lamina 3 y 4) se obtuvo del mismo laboratorio y su cultivo masivo se realizó en botellas de 5 litros con medio BG11 (Anexo III) exclusivo para cianobacterias expuestas a fotoperiodo y aeración continuas y con una temperatura ambiente de entre (24° y 26°C) durante 10 días. Una vez que la cianobacteria creció fue decantado el sobrenadante y sonicada para separar las células y propiciar un mejor consumo por parte de los organismos. Finalmente fue refrigerada para mantener fresca el alga.



Lamina 4. Cultivo de *Anabaena* sp.



—
73 μm

Lamina 5. *Anabaena* sp.

6.2 Crecimiento poblacional de *Brachionus havanaensis*

Para los bioensayos de crecimiento poblacional se utilizó *C. vulgaris* como control, y dos proporciones de *Anabaena* sp.(A) con *C. vulgaris* (C) (A75%+C25% y A25%+C75% respectivamente) con una concentración final de (0.5×10^6 cél / ml), y por último una concentración de *Anabaena* (1×10^6 cél / ml). La densidad del alga para la elaboración de las concentraciones fue contada en una cámara de Neubauer. Por otra parte se tuvieron cuatro repeticiones incluyendo las del grupo control para cada concentración. Se colocaron 20 individuos en vasos de 50 ml de capacidad conteniendo 20 ml de medio EPA (Anexo I) con cada una de las concentraciones. De los resultados se derivó la tasa de crecimiento r , los cuales fueron analizados por medio de ANDEVA para determinar si existe una diferencia significativa entre ellos, finalmente los resultados se graficaron utilizando el programa de Sigma plot 9.0 (Pavón, 2004).

6.3 Tabla de vida de *Brachionus havanaensis*

Para el montaje de los experimentos y los bioensayos de Tabla de Vida se utilizó *Chlorella vulgaris* como control y se utilizaron dos proporciones de *Anabaena* sp. con *C. vulgaris* (A75%+C25% y A25%+C75% respectivamente), la densidad del alga para la elaboración de las concentraciones fue contada en una cámara de Neubauer. Por otra parte se tuvieron cuatro repeticiones incluyendo las del grupo control para cada concentración. Se colocaron 20 neonatos de ± 12 hrs. Para hacer esta técnica, se pusieron organismos adultos que tuvieran huevos, en una malla de 50 micras (μm), y estos huevos a su vez fueron separados de los adultos con agua a presión; una vez realizado esto, todos los huevos fueron aislados en un vaso de medio con EPA y se utilizaron

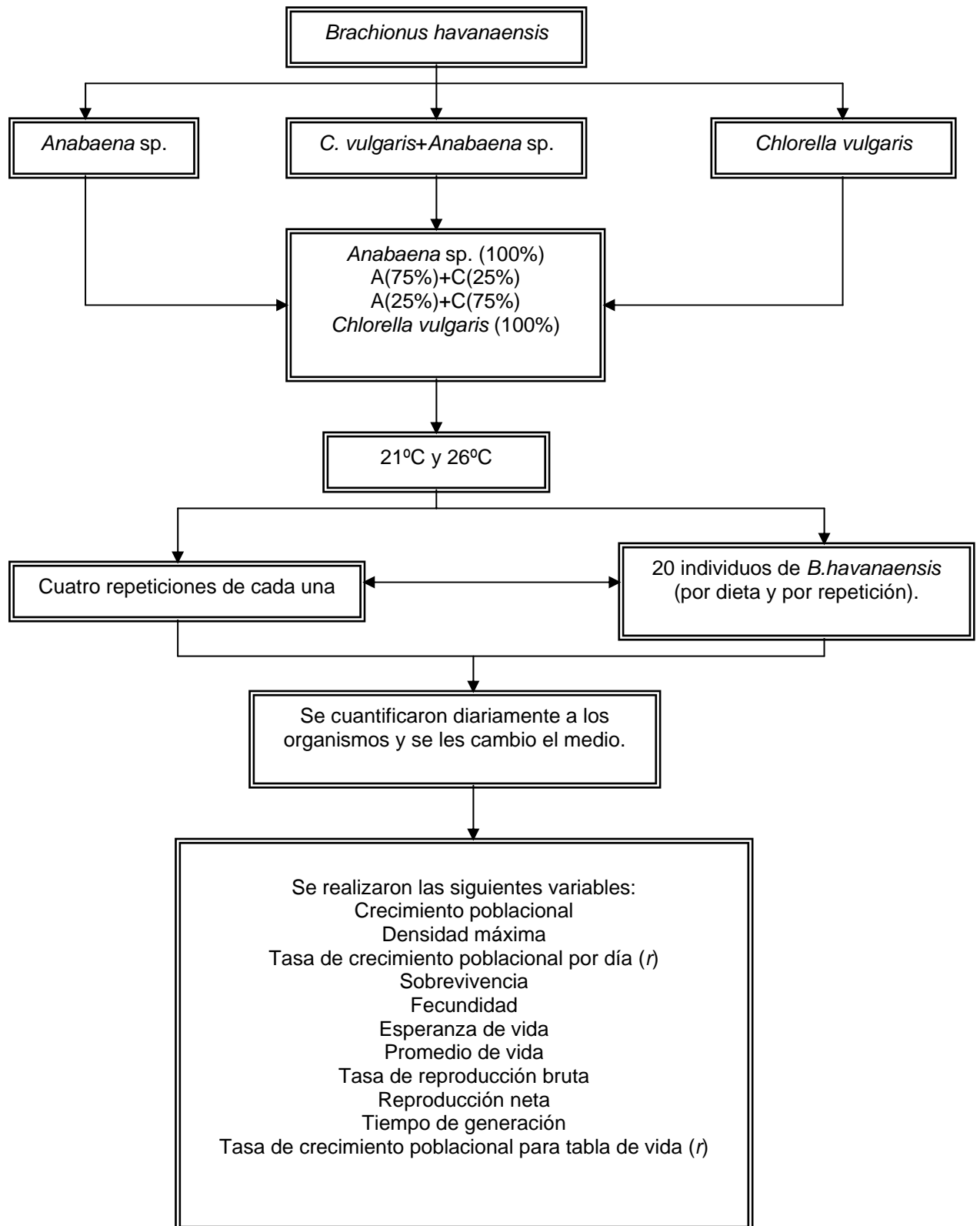
los organismos que eclosionaron después de ± 12 horas; poniéndolas en vasos de 50 ml de capacidad con un volumen de 20 ml de medio con EPA (Anexo I) con cada una de las concentraciones (Pavón, 2005).

6.4 Frecuencia de observaciones

Una vez montado el experimento, se observaron los organismos 2 veces al día, realizando conteos, para determinar el número de neonatos presentes y número de adultos restantes. Los neonatos se descartaban, y esto se realizó hasta que el último adulto muriera; estos datos se utilizaron para la tabla de vida y en cuanto al crecimiento poblacional, los organismos fueron observados cada 24 horas para constatar como crecía la población sin quitar organismos, hasta llegar al día en el que la población descendió por dos días seguidos. Finalmente con los resultados obtenidos se calcularon los siguientes parámetros poblacionales:

Sobrevivencia (lx), Fecundidad (mx), Promedio de vida (P.V.), Esperanza de vida (E.V.), Tasa Reproductiva Bruta (T.R.B.), Tasa Reproductiva Neta (T.R.N.), Tiempo Generacional (T.G.) y Tasa de Incremento Poblacional (r). Y estos resultados se graficaron con el programa de Sigma plot 9.0 (Pavón, 2005).

Fig.1 Diagrama de la Metodología



7. Resultados

7.1 Crecimiento poblacional

En el crecimiento poblacional de *B. havanaensis* se observó que los individuos de la población empezaron a crecer a partir del segundo día y se notó que en la mayoría de las concentraciones se alcanzó el nivel máximo de crecimiento alrededor del día 15, y posterior descenso de la población. Fue notoria la variación entre temperaturas y alimento ya que a 26°C se observó un menor crecimiento; caso contrario a las concentraciones que se mantuvieron a 21°C las cuales favorecieron el crecimiento de *B.havanaensis*. (Fig. 2). Con base en la prueba de ANDEVA de dos vías que se aplicó a los parámetros poblacionales evaluados, se observó una diferencia significativa en la relación alimento-temperatura ($P < 0.01$) (Tabla1).

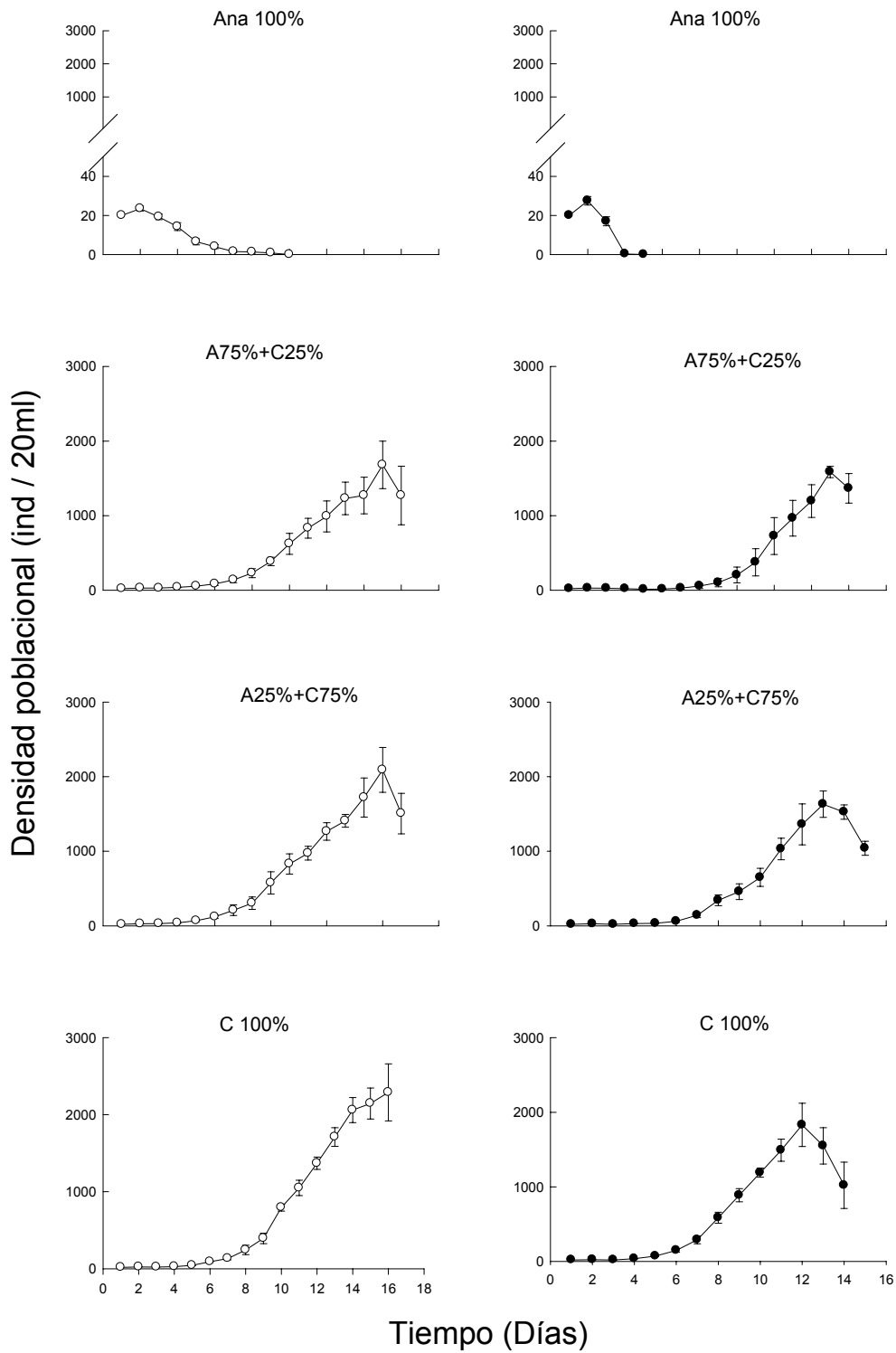


Fig. 2 Crecimiento poblacional de *Brachionus havanaensis* a 21°C (○) y 26°C (●) alimentados con diferentes mezclas de *Anabaena* con *Chlorella vulgaris* (1×10^6 cél/ml).

7.2 Densidad máxima.

Para la Densidad máxima se observó que a 21°C hubo un mayor crecimiento con *Chlorella*, contando cerca de 2400 organismos.

En el caso de la densidad máxima a 26°C se observó que la segunda y las dos últimas concentraciones tuvieron un crecimiento similar a diferencia de las concentraciones de *Anabaena* sola (Fig. 3).

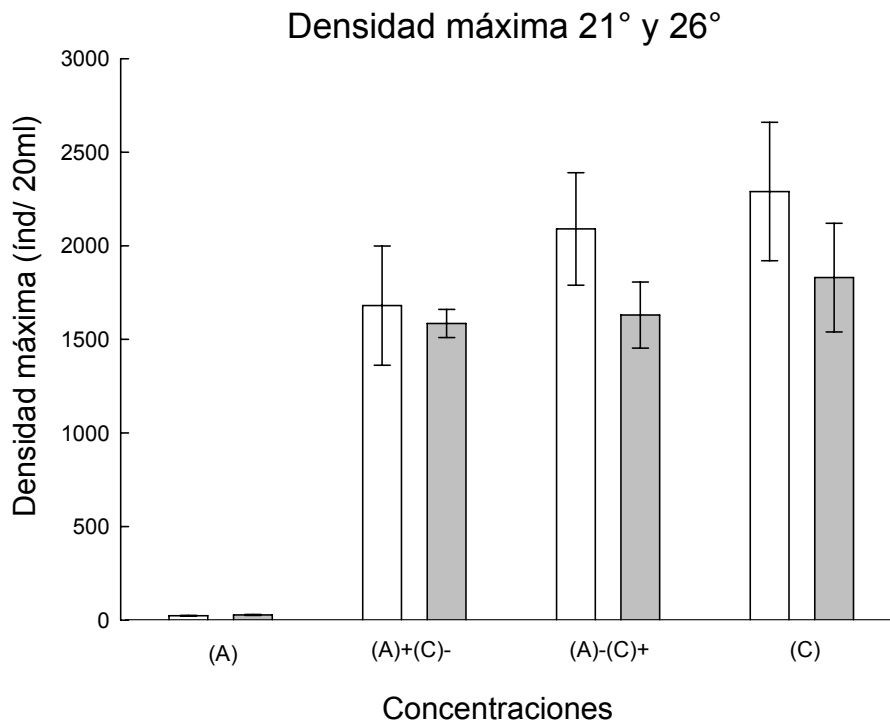


Fig. 3 Densidad Máxima con *Anabaena*, mezclas de *Anabaena* y *Chlorella* y *Chlorella* manejadas a 21° (blanco) y 26°C (gris) con una concentración de 1×10^6 cél/ml como alimento.

También se realizó un Análisis de Varianza de dos vías (ANDEVA) de las cinco concentraciones para las dos temperaturas, y en las que se mostró una diferencia significativa en la densidad del alimento ($p < 0.01$) (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis de Varianza (ANDEVA) de dos factores para ver si existen diferencias significativas entre la temperatura y las concentraciones de alimento sobre la densidad máxima, donde S.C.=suma de cuadrados, G.L.=grados de libertad, P.S.C.=promedio de suma de cuadrados y F= Prueba de Fischer, donde *p< 0.01

	S.C.	G.L.	P.S.C.	F
T°	44274	1	44274	2.89
Alimento	2308461	3	769487	50.37*
T° x Alimento	72264	3	24088	1.57
Error	3666176	24	152757	

7.3 Tasa Intrínseca de Crecimiento.

Para la Tasa intrínseca de Crecimiento (r), se observa que tuvieron todas las concentraciones tuvieron un crecimiento similar entre si excepto la concentración con *Anabaena* pura a 21°C y para las concentraciones con una temperatura de 26°C (Fig. 4)

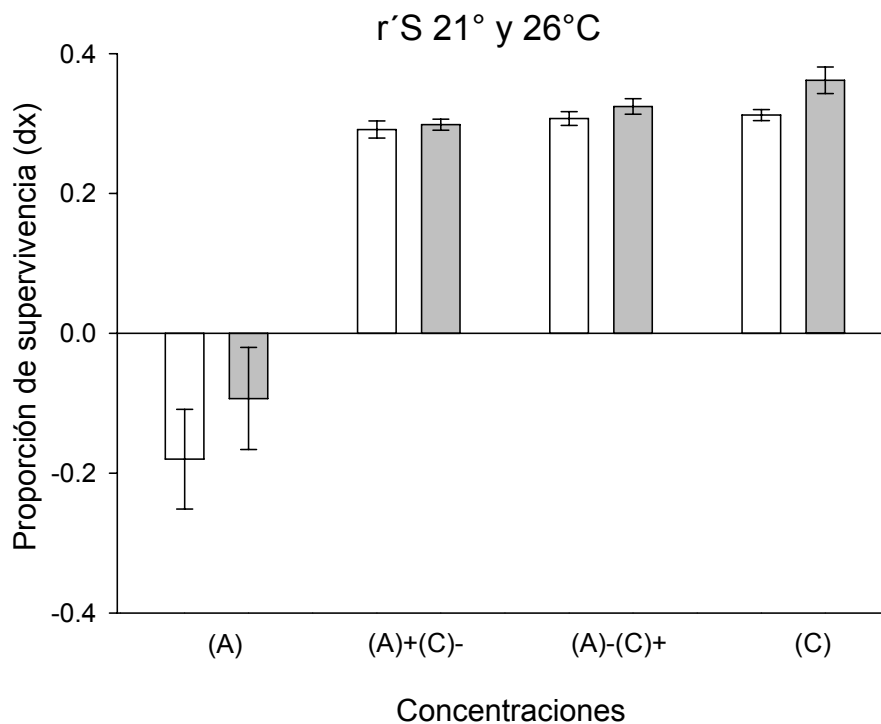


Fig. 4 Tasa de Incremento poblacional (r) con *Anabaena*, mezclas de *Anabaena* y *Chlorella* y *Chlorella* manejadas a 21° (blanco) y 26°C (gris) con una concentración de 1×10^6 cél/ml como alimento

Se realizó un Análisis de Varianza de dos vías (ANDEVA) de las cinco concentraciones para las dos temperaturas en las que se mostró una diferencia significativa en la tasa intrínseca de crecimiento del alimento ($p < 0.01$) (Tabla 2), siendo la temperatura sola y la temperatura contra las concentraciones las variables que no ejercieron un efecto significativo en el análisis (Tabla 2).

Tabla 2 Análisis de Varianza (ANDEVA) de dos factores para ver si existen diferencias significativas entre la temperatura y las concentraciones de alimento sobre las tasas de crecimiento poblacional, donde S.C.=suma de cuadrados, G.L.=grados de libertad, P.S.C.=promedio de suma de cuadrados y F=Prueba de Fischer, donde $*p < 0.01$

	S.C.	G.L.	P.S.C.	F
T°	0.00	1	0.00	2.32
Alimento	0.91	3	0.30	138.38*
T°x Alimento	0.00	3	0.00	0.32
Error	0.05	24	0.00	

7.4 Supervivencia y Fecundidad

La Supervivencia (lx) más alta para *Brachionus havanaensis* se obtuvo en la concentración con *Chlorella vulgaris* y en todas las concentraciones se observó que mientras mayor fue la concentración de *Anabaena* sp. la supervivencia y la fecundidad disminuían por lo que en las concentraciones más altas no fueron capaces de sobrevivir. También se reporta que en la mayoría de las concentraciones alcanzaron una supervivencia de entre 20 y 25 días a una temperatura de 21° (Fig. 5). En cuanto a la Fecundidad (mx) se observa que fueron similares entre las diferentes concentraciones a excepción en donde solo estuvo *Anabaena*, en la cual se observa una disminución en la fecundidad con valores menores a 2 individuos (Fig. 5).

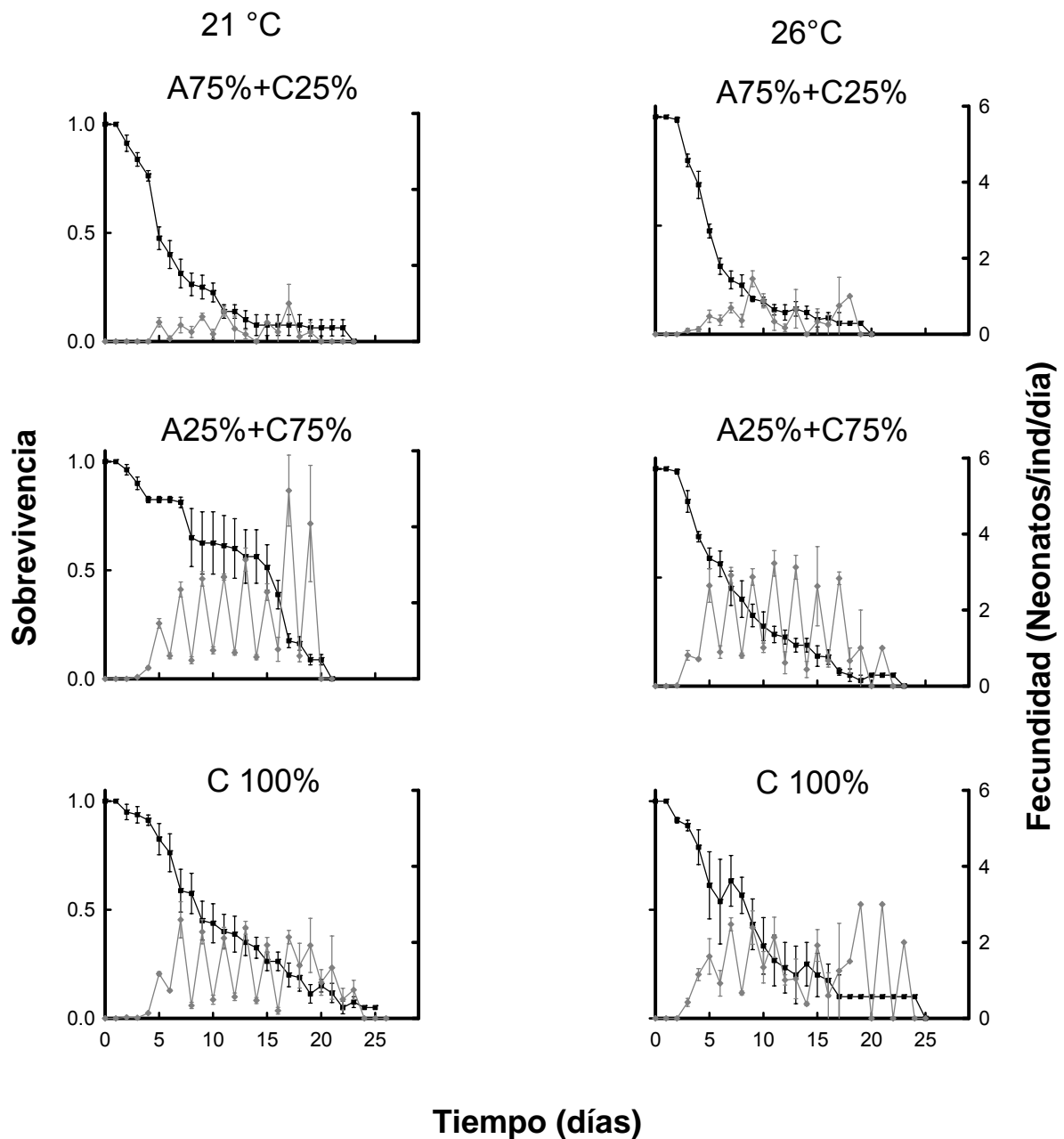


Fig. 5 Curvas de sobrevivencia (línea negra) y fecundidad (línea gris) del rotífero *Brachionus havanaensis* a diferentes temperaturas y concentraciones de alimento.

7.5 Tabla de vida demográfica.

Los promedios de vida mas altos para *B. havanaensis* se observan en la concentración de A25%+C75%, llegando alrededor de 6 días, además se

observo que entre menores eran las concentraciones de las mezclas, aumentaba el promedio de vida.

En cuanto a la esperanza de vida de nacimiento se arrojaron casi los mismos resultados que los promedios de vida, esta variable representa lo que uno esperaría estadísticamente, el tiempo de vida de un organismo.

En la variable de tasa de reproducción bruta se observa de igual forma una mayor reproducción en la concentración de A25%+C75% con alrededor de 30 individuos por día a 21°C y sin tomar en cuenta la sobrevivencia.

Lo mismo sucede para la tasa de reproducción neta, en la que la misma concentración denota una mayor cantidad de individuos por día siendo esta una variable en la que sí se toma en cuenta la sobrevivencia.

Para el tiempo generacional se observa una variación entre las concentraciones y entre temperaturas observando que un organismo, desde su nacimiento hasta su primera reproducción, es en el rango del segundo día hasta el sexto día.

Para la tasa de incremento poblacional (r) se observó que en las dos primeras concentraciones no hubo un incremento ya que su población descendió a partir del segundo día en la concentración de A75%+C25% y tuvo un descenso a una temperatura de 21°C; y la concentración que tuvo el incremento poblacional mas alto fue la de A25%+C75% con casi ocho organismos por individuo por día.

De acuerdo con el ANDEVA de dos vías realizado para cada uno de los parámetros de tabla de vida se observa que existe una diferencia significativa en relación al alimento, excepto en el tiempo generacional, en cuanto a la temperatura solamente el promedio de vida y el tiempo generacional son significativamente diferentes donde ($p < 0.01$) (Tabla 3). Estos datos fueron obtenidos con Statistica 6.0

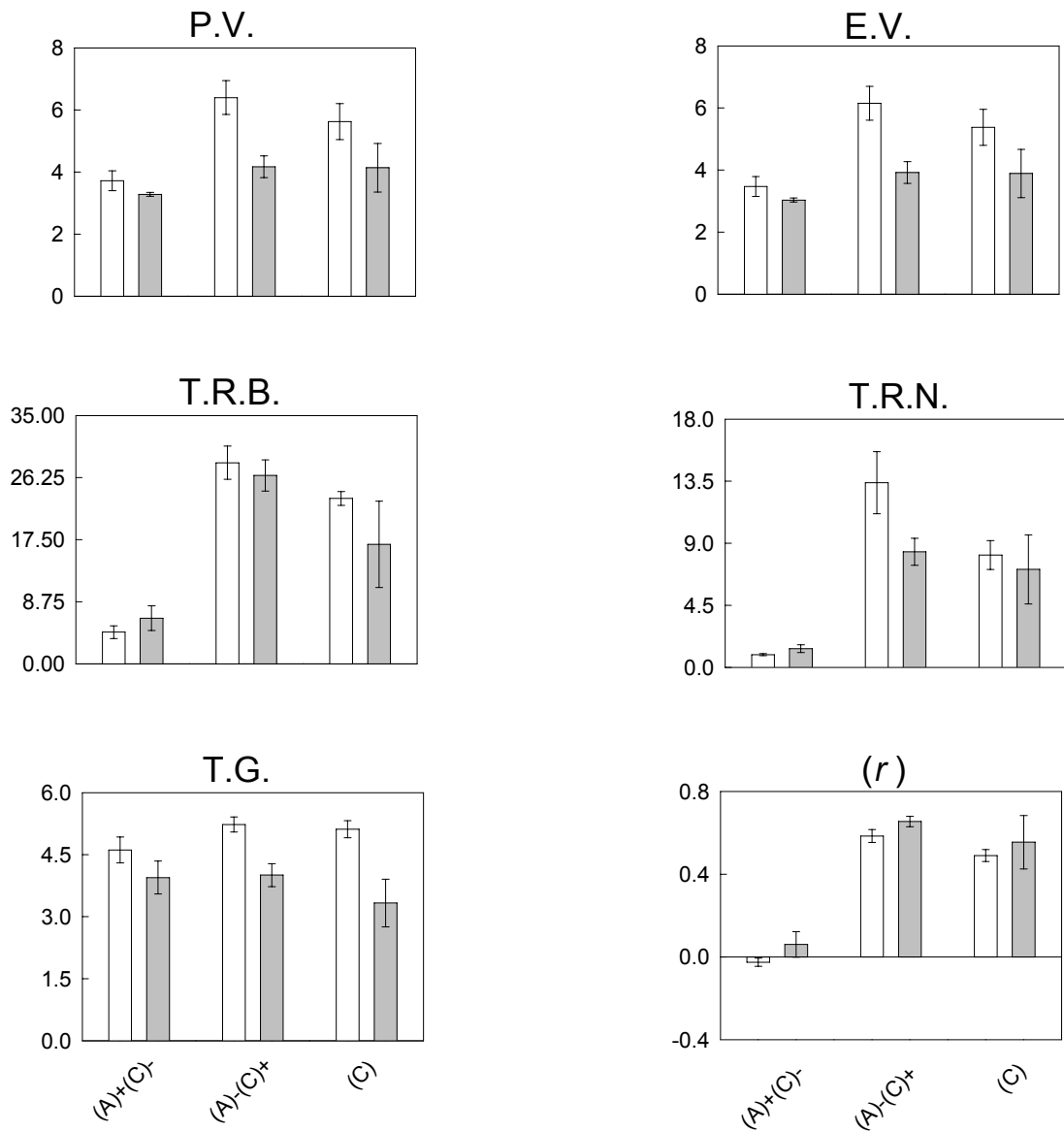


Fig. 6 Tablas de vida a 21°C (blanco) y 26°C (gris) donde: P.V.= Promedio de vida Tiempo (días), E.V.= Esperanza de vida Tiempo (días), T.R.B.= Tasa de Reproducción Bruta (Individuos), T.R.N.=Tasa de Reproducción Neta (Descendencia/ Hembra), T.G.= Tiempo Generacional Tiempo (días), y r = Tasa de Incremento Poblacional Final (Organismos/ Ind./ Día); con mezclas de *Anabaena* y *Chlorella* con una concentración de 1×10^6 cél/ml como alimento.

Tabla 3 Análisis de Varianza (ANDEVA) de dos factores para ver si existen diferencias significativas entre la temperatura y las concentraciones de alimento en el Promedio de Vida=P.V., Tasa de Reproducción Bruta=T.R.B., Tasa de Reproducción Neta T.R.N., Tiempo Generacional T.G. y las tasas de crecimiento de tabla de vida (*r*); donde: S.C.=suma de cuadrados, G.L.=grados de libertad, P.S.C.=promedio de suma de cuadrado y F= Prueba de Fischer, donde * $p < 0.01$

P.V.	S.C.	G.L.	P.S.C.	F
T°	11.51	1	11.51	11.71*
Alimento	14.01	2	7.00	7.12*
T° x Alimento	3.24	2	1.62	1.65
Error	17.69	18	0.98	
T.R.B.				
T°	26.33	1	26.33	0.75
Alimento	2006.65	2	1003.32	28.85*
T° x Alimento	71.47	2	35.73	1.02*
Error	625.79	18	34.76	
T.R.N.				
T°	21.00	1	21.00	3.27
Alimento	394.11	2	197.05	21.93*
T° x Alimento	31.78	2	15.89	1.76
Error	161.69	18	8.98	
T.G.				
T°	8.99	1	8.99	18.17*
Alimento	0.72	2	0.36	0.73
T° x Alimento	1.24	2	0.62	1.25
Error	8.90	18	0.49	
(r)				
T°	0.0325	1	0.03	2.10
Alimento	1.673	2	0.83	54.04*
T° x Alimento	0.000	2	0.00	0.01
Error	0.278	18	0.01	

8. Discusión

En el presente trabajo se utilizó una cianobacteria como lo han hecho varios investigadores (Gilbert, 1994; Nandini, *et al.*, 2000; Alva, *et al.*, 2001) ya que estas son comunes y las encontramos todo el año en los cuerpos de agua dulce, particularmente en condiciones tropicales. Frecuentemente las cianobacterias son tóxicas para los organismos que las consumen ya que contienen endotoxinas que son liberadas cuando son inferidas provocándoles la muerte. La *Anabaena* utilizada en este estudio sí resultó ser tóxica a pesar de ser cultivada en el laboratorio. Los estudios anteriores han demostrado que ciertas cepas de cianobacterias sueltan o reducen su toxicidad en ausencia del zooplancton herbívoro (Whitton y Potts, 2003). En este caso no fue así, donde, a pesar de que *Anabaena* sp. fue cultivada en ausencia de cualquier efecto de depredación, conservó sus niveles de toxicidad.

El género de *Anabaena* con el que se trabajó es una cianobacteria común en varios cuerpos de agua en el mundo. Gilbert (1994) trabajó *Anabaena* como alimento para los rotíferos en forma sonicada y suministrada en células individuales ya que estas cianobacterias no pueden ser consumidas por el zooplancton, puesto que en vida libre forman filamentos con medidas mayores a las del tamaño de un rotífero las cuales son imposibles de consumir para estos organismos. Lo que observamos en este estudio es que con una dieta exclusiva de *Anabaena* sonicada, los rotíferos no sobreviven. Por lo tanto, la forma filamentosa de esta especie no es consumida, y pueden coexistir junto con los rotíferos. La especie *B. havanaensis* es uno de los rotíferos más comunes encontrados en varios cuerpos de agua en el país a pesar de la

presencia de altas densidades de cianobacterias por lo que estos organismos son muy buenos indicadores de la calidad del agua y excelentes en cuanto a la sensibilidad de tóxicos se refiere (Jiménez, 2007).

Por otra parte en la naturaleza las cianobacterias se encuentran mezcladas con otros tipos de algas entre las que podemos encontrar *C. vulgaris* sin saber cual es el efecto que les provoca, pero con base en los resultados del trabajo observamos que en las mezclas con una mayor cantidad de *Anabaena sp.* y una menor de *C. vulgaris* se observa una disminución en el crecimiento de los organismos caso contrario al de la mezcla con una concentración menor de *Anabaena* y una mayor de *C. vulgaris* la cual tuvo un crecimiento parecido al del grupo control. Estos resultados son comparables con los de (Alva, *et al.*, 2007) en los que muestra que conforme se aumentó la cantidad de cianobacteria a las mezclas mayor fue el índice de mortandad de los rotíferos. Estas observaciones también indican que en la naturaleza, los rotíferos pueden sobrevivir a pesar de la presencia de cianobacterias, particularmente cuando otras fuentes de alimento tales como bacterias, algas verdes y diatomeas están también presentes.

En lo que se refiere a la temperatura se sabe que es un factor importante para organismos como los rotíferos debido a que afecta sus procesos metabólicos (Pavón *et al.*, 2005), esto se ve reflejado en cuerpos de agua naturales ya que se ha demostrado bajo condiciones de laboratorio que cuando la temperatura es baja y el nivel de comida es alto puede reducir la tasa de incremento poblacional de algunos braquionidos (Pavón *et al.*, 2005). Cuando la

temperatura es alta y el nivel de comida es bajo también se va a presentar una disminución en la población pero, cuando la temperatura y el nivel de comida es alto las poblaciones van a sobrevivir por periodos más largos de tiempo. Esto ha sido demostrado cuando son alimentados con *Chlorella* y en rangos de temperatura de entre 15° y 30°C como lo realizado por Nandini y Rao (1998) y Pavón *et al.* (2004) que es el rango de temperatura en el Lago de Xochimilco (Jiménez, 2007), donde se obtuvieron los organismos para la realización de este experimento. Aunque en los experimentos citados los rotíferos fueron alimentados con *Chlorella* a diferentes temperaturas, también se han hecho trabajos con cianobacterias ya que algunos resultados indican que los aumentos estacionales de la temperatura pueden agravar el impacto de las cianobacterias en rotíferos y otros taxa del zooplancton (Gilbert, 1996), lo cual fue demostrado en estos experimentos también ya que con una temperatura de 21°C *B. havanaensis* prevaleció por mas tiempo. Esto también es comparable con lo reportado por Nandini (2000), ya que en ese estudio muestra a la especie *Brachionus calyciflorus*, la cual fue susceptible al efecto de otra cianobacteria, *Microcystis aeruginosa* a una alta temperatura de 30°C.

La tasa de incremento poblacional (r) es otra variable sensible, y no solo considerando niveles de alimento y temperatura sino también la interacción de ambas en la naturaleza. Cuando los niveles de ambos son óptimos los resultados del incremento poblacional serán altos. Pavón *et al.* (2004) documento que los valores de (r) para la tabla de vida son mayores a los valores de (r) para crecimiento poblacional por la ausencia de competencia intraespecifica. Por otro lado en la naturaleza no encontramos condiciones

como las del experimento de tabla de vida en las que podemos separar a los neonatos del resto de los individuos. Los estudios anteriores indican que el tiempo de desarrollo disminuye con el aumento de la temperatura y que da lugar a tasas de crecimiento más altas (Krebs, 1985).

Aunque aquí se trabajó con una cianobacteria, el hecho de haber manejado también la temperatura, se vio reflejado en el comportamiento de los rotíferos, ya que la respuesta del zooplancton en cuanto a su tasa intrínseca de crecimiento varió de manera evidente en general a temperatura de 26°C, ya que en esta tasa se mostraron valores más altos que los observados a 21°C, que se mostraron más bajos y esto también se ve reflejado en las tasas de crecimiento derivadas de los dos diseños experimentales.

Dietas mezcladas de varias especies frecuentemente son mejores que de una sola especie (Alva *et al.*, 2007). Esto se observó aquí también; el crecimiento poblacional de *Brachionus havanaensis* fue mejor o igual tanto en la mezcla con *Anabaena* y *Chlorella* como con *Chlorella* sola, a 26° y 21°C. Los valores de r detectados en este estudio coinciden con los rangos observados por otras especies de *Brachionus* como lo realizado por Nandini (2000) y en otros estudios con *B. havanaensis* siendo un ejemplo el trabajo de Pavón, *et al.* (2004, 2005) ya que observaron que los valores también son altos en una temperatura mayor por lo que podríamos decir que estos factores fueron influenciados por los factores que corresponden al tipo de comida y la temperatura (Forbes y Calow, 1999). En relación con la densidad máxima de organismos se observó una densidad mayor en 21° que a 26°C posiblemente debido a que existió un menor efecto de la cianobacteria a una temperatura de 21°C como se documentó en otros trabajos (Iyer y Rao, 1998).

Por lo tanto, este experimento, muestra la importancia de *Anabaena sp.* ya que en lugares donde las temperaturas son altas existen grandes florecimientos provocando que los organismos del zooplancton sufran una disminución en sus poblaciones al alimentarse de ella. Aunque estas cianobacterias las encontramos formando colonias o como filamentos grandes ($> 100 \mu\text{m}$), en la naturaleza y los rotíferos no pueden alimentarse de ellas por su tamaño, pero no se descarta que se encuentre dentro de su dieta si están presentes en formas unicelulares. El impacto puede ser menor por la pequeña talla ($< 500 \mu\text{m}$) de los herbívoros, sin embargo si se va a presentar un impacto en su población y en el resto del zooplancton grande ($> 1\text{mm}$). Con base en estos resultados se propone hacer investigación para conocer las especies de cianobacterias, el nivel de toxicidad que presentan, la cantidad y tipo de toxinas presentes en cuerpos de agua naturales. Como afecta al zooplancton y de esta manera aportar datos y a la vez aumentar el estudio en el Phylum Rotifera dando paso a una línea de investigación a futuro con las diferentes especies de rotíferos y extrapolando el riesgo de usar agua contaminada con cianobacteria para el consumo humano.

9. Conclusiones

- Los datos muestran que *Brachionus havanaensis* no creció bien cuando se empleo solamente *Anabaena* sp. como alimento.
- *Anabaena* utilizada en este estudio si resultó ser tóxica a pesar de ser cultivada en laboratorio.
- El incremento de la temperatura si se vio reflejado tanto en el crecimiento poblacional como en la tabla de vida ya que se observó un mayor crecimiento debido a que aceleró los procesos metabólicos de los rotíferos.
- Se comprobó la hipótesis que a una temperatura de 26° fue más evidente la afectación que a una temperatura de 21°.
- El nivel de alimento si repercutió en la demografía de *Brachionus havanaensis* ya que se comprobó la hipótesis de que conforme se aumento el número de células de *Anabaena* sp. en las mezclas hubo una mayor afectación en los individuos.
- En cuanto al crecimiento poblacional la Tasa de incremento poblacional (r) fue la variable más sensible del experimento y para la demografía las variables que se mostraron mas sensibles fueron las de esperanza de vida, tasa neta de reproducción y la (r).
- Este estudio sugiere el posible uso de *Anabaena* sp. pero con una proporción del 25% mezclada con alguna alga comestible.
- *Anabaena* no es recomendable como alimento único en dieta para rotíferos.

11. Anexos

11.1 Medio E.P.A.

Para preparar 20 litros:

NaHCO_3	1.9 gr
CaSO_4	1.2 gr
MgSO_4	1.2 gr
KCl	0.04 gr

11.2 Medio de Cultivo Bold Basal.

Es un medio cuya composición es:

1. NaNO_3	250 gr L^{-1}
2. MgSO_4	75 gr L^{-1}
3. K_2HPO_4	75 gr L^{-1}
4. KH_2PO_4	75 gr L^{-1}
5. NaCl	25 gr L^{-1}
6. EDTA	50 gr+31gr de KOH L^{-1}
7. FeSO_4	4.98 gr L^{-1} + (1 ml H_2SO_4 L^{-1})
8. H_3BO_3	11.42 gr L^{-1}
9. CaCl_2	25 gr L^{-1}
10. Elementos Traza:	
• ZnSO_4	8.82 gr L^{-1}
• MnCl_2	1.44 gr L^{-1}
• MoO_3	0.71 gr L^{-1}
• $\text{MoO}_3\text{CuSO}_4$	1.75 gr L^{-1}
• $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$	0.49 gr L^{-1}

11.3 Medio de cultivo BG11 RippKa *et al*, (1979)

Es un medio cuya composición es:

Na ₂ CO ₃	0,2 mg
MgSO ₄	0,3 mg
CaCl ₂	0,24 mg
K ₂ HPO ₄	0,2 mg
Ácido cítrico	28,5 µg
Citrato férrico-amónico (17% Fe)	6 mg/l-1
Na ₂ -EDTA	2,4 µg
H ₃ BO ₃	46 µg
MnCl ₂	9,1 µg
Na ₂ MoO ₄	1,6 µg
ZnSO ₄	0,8 µg
CuSO ₄	0,3 µg
CoCl ₂	0,2 µg

El medio se prepara a partir de un concentrado 100x que carece del K₂HPO₄ y de la fuente de nitrógeno, los cuales se añaden antes de esterilizar en el autoclave. La fuente de nitrógeno es el NaNO₃ a una concentración final de 17,6 mM (medio BG11).

10. Citas bibliográficas

- Alva, A; Sarma, S.S.S. y Sarma, N. 2001 “Comparative population dynamics of three species of cladoceran relation to different levels of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*”. *Crustaceana* 74 (8):749-764
- Alva, A. 2004. Population growth of *Daphnia pulex* (Cladocera) on a mixed diet (*Microcystis aeruginosa* with *Chlorella* or *Scenedesmus*). *Crustaceana* 77 (8): 973-988
- Alva, A; Sarma, S.S.S. y Sarma, N. 2007 “Population dynamics of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* (Rotifera) on mixed diets with *Microcystis aeruginosa* and green algae”. *Hidrobiológica* 17 (1):59-67
- Chorus, I y Bartram, J. 1999. “Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management”. Ed. World Health Organization. Great Britain. 400 pp.
- DeMott, W; Zhang, Q; Carmichael, W. 1991. “Effects of Toxic Cyanobacteria and Purified Toxins on the Survival and Feeding of a Copepod and Three Species of *Daphnia*”. *Limnology and Oceanography*, 36 (7):1346-1357
- Forbes, V.E.; Calow, P.1999 “Is the percapita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology?” *Environmental Toxicology and Chemistry* 18: 1544-1556.
- Galkovskaja, G.A. 1987. “Planktonic rotifers and temperature”. *Hydrobiologia* 147:307-317

- Gilbert, J. 1990. "Differential Effects of *Anabaena Affinis* on Cladocerans and Rotifers: Mechanisms and Implications" *Ecology*, 71 (5):1727-1740
- Gilbert, J. 1994. "Susceptibility of planktonic rotifers to a toxic strain of *Anabaena flos-aquae*". *Limnology and Oceanography*, 39 (6): 1286-1297.
- Gilbert, J. 1996. "Effect of Food Availability on the response of Planktonic Rotifers to a Toxic Strain of the Cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*". *Limnology and Oceanography*, 41 (7):1565-1572 (a)
- Gilbert, J. 1996. "Effect of Temperature on the Response of Planktonic Rotifers to a Toxic Cyanobacterium". *Ecology*, 77 (4):1174-1180 (b)
- Jang, M-H; Ha, K; Joo, G-J & Takamura, N. 2003. "Toxin production of Cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton". *Freshwater Biology*. 48:1540-1550.
- Jiménez, C.J. 2007. "Diversidad y densidad de rotíferos monogonontos en algunos canales del lago de Xochimilco" Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. pp.66.
- Krebs, C.J. 1985. "Ecology, The experimental analysis of distribution and abundance". 3a ed. Harper and Row, New York. pp. 800.
- Lampert, W; Sommer, U. 1997. "Limnoecology: The Ecology of Lakes and Streams". Oxford University Press, New York. pp. 382.
- Lürling, M. 2003. "*Daphnia* growth on Microcystin-Producing and Microcystin-Free *Microcystis aeruginosa* in different mixtures with the green alga *Scenedesmus obliquus*" *Limnology and Oceanography*. 48 (6):2214-2220

- Sarma, N. y Rao, T.R. 1998 “Somatic and population growth in selected cladoceran and rotifer species offered the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as food”. *Aquatic Ecology* 31: 283-298
- Sarma, N. 2000. “Responses of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae): A demographic study”. *Aquatic Ecology* 34:227–242.
- Sarma, N; Sarma, S. S. S. y Ramírez, P. 2000. “Life Table Demography and Population Growth of *Daphnia Laevis* (Cladocera, Anomopoda) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*”. *Crustaceana*. 73 (10): 1273-1286
- Nizan, S. 1986. “Acute toxic effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*”. *Limnology and Oceanography*. 31 (3):497-502
- Pavón, M.E; Sarma,S.S.S. y Sarma, N., 2004. “Combined effects of food *Chlorella vulgaris* concentration and temperature on the population growth of *Brachionus havanaensis* (Rotifera: Brachionidae)”. *Journal of Freshwater Ecology*. 19 (4): 521-530
- Pavón, M.E; Sarma,S.S.S. y Sarma, N., 2005. “Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) food level and temperature on the demography of *Brachionus havanaensis* (Rotifera): a life table study”. *Hydrobiologia* (546):353–360
- Perez, I y Rico, R. 1998. “Effect of temperature and food concentration in two species of littoral rotifers”. *Hydrobiologia* 387/388: 341–348.
- Pianka, E.R. 1988. “Evolutionary Ecology”. Harper y Row, Pub. Inc. New York. pp. 468.

- Reish, D. y Oshida, P. 1987. "Manual of methods in aquatic environment research". Part 10 – Short-term static bioassays. FAO. Roma – Italia. 62 pp.
- Roset, J; Aguayo, S; Muñoz, J. 2001 "Detección de cianobacterias y sus toxinas. Una revisión". Rev. Toxicol. 18:65-71
- Sarma, S.S.S.; Arévalo, R. y Sarma, N. 1998. "Influence of food (*Chlorella vulgaris*) concentration and temperature on the population dynamics of rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas Rotifera isolated from a subtropical reservoir in Mexico". Ciencia Ergo Sum 5 (1):77-81.
- Systat Software, Inc. SigmaPlot for Windows
- Thorp, J y Covich, A. 2001. "Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates" 2a Edicion. Academic Press. U.S.A. pp. 1056.
- Tortorelli, M. y Hernández, D. 1995. "Calidad de agua de un ambiente acuático sometido a efluentes contaminantes". Ecosistemas de Aguas Continentales. Tomo I. Ediciones Sur. La Plata – Argentina. 217-230 pp.
- Whitton, B.A. y Potts, M. 2003. "The ecology of cyanobacteria". Klower Academic Publishers. London. 669 pp.