



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México



“Crecimiento poblacional y tabla de vida demográfica de *Brachionus rubens*, *Brachionus patulus* (Rotifera), *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* (Cladocera), expuestos a diferentes concentraciones de Zinc”

T E S I S

que para obtener el grado académico de

Maestro en Ciencias

(Limnología)

p r e s e n t a

Jonathan Raúl Sánchez Ortiz

Director de Tesis:

Dr. S.S.S. Sarma

Comité Tutorial:

Dra. Laura Sanvicente Añorve

Dr. Martín Frías Espiricueta

Dr. Ernesto Mangas Ramírez

Dr. Jorge R. Ruelas Inzunza

México, D.F., 2010



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.

DEDICO ESTE TRABAJO

**A mi madre Irma, Shanthal, Raúl, Hanna, Hanne, Beder,
Aramen, Iván, Toño, Dashiell y Lucina**

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A mi madre, que me inculcó los principios y valores que rigen mi vida. Le agradezco todo su sacrificio y esfuerzo, solo le puedo decir que cada día trato de ser un poco más como ella.

A mi hermana que es mi mejor amiga, porque siempre puedo contar con ella y les dio vida a mis “marranitas”, que son mis “nochos” y “abriba”, que son mi vida.

A mi padre que me enseñó a ser leal, honesto y amigo.

A mi abuela que ha sido como mi mamá y que ha dejado todo por estar conmigo.

A mis primos Beder, Toño, Ivan, Dash y Aramen que son como mis hermanos y siempre están ahí para mí.

A mis tíos Gil y Guille que me han visto como un hijo.

A mis tíos Roberto y María que me dieron la oportunidad de ver el mundo.

Al Dr. S.S.S. Sarma por apoyarme tanto y por haber dirigido este proyecto, un agradecimiento especial a la Dra. Nandini, por siempre preocuparse por nosotros sus alumnos.

A mis compañeros del laboratorio Rocio, Cristian, Diego y a todos los que trabajamos en el laboratorio de zoología acuática.

A mis compañeros de la maestría a los Coria, Aarón, Ángel, Oss, Chely, Sara, Joaquín, Sergio y Lulu.

A Dr. Ignacio Peñalosa por haberme ayudado tanto durante la carrera y la maestría.

A la Dra. Laura Sanvicente Añorve, Dr. Jorge R. Ruelas Inzunza, Dr. Martín Frías Espiricueta y Dr. Ernesto Mangas Ramírez, por sus contribuciones a este proyecto.

Al Posgrado del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología; a Diana, Lupita, Chantal y Gabi y todos los que hicieron divertido el cursar la maestría en el instituto

A CONACyT (número de becario 235753) por su apoyo económico.

I. ÍNDICE**ÍNDICE****ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS****RESUMEN****INTRODUCCIÓN****OBJETIVOS****HIPÓTESIS****CAPÍTULO I****CRECIMIENTO POBLACIONAL DE ZOOPLANCTON****MATERIALES Y MÉTODOS****RESULTADOS****CRECIMIENTO POBLACIONAL (CLADOCERA)****CRECIMIENTO POBLACIONAL (ROTIFERA)****DISCUSIÓN****CAPITULO II****TABLA DE VIDA DEMOGRÁFICA DE ZOOPLANCTON****MATERIALES Y MÉTODOS****TABLA DE VIDA (ROTIFERA)****TABLA DE VIDA (CLADOCERA)****RESULTADOS**

TABLA DE VIDA (CLADOCERA)

TABLA DE VIDA (ROTIFERA)

RESULTADOS

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

LITERATURA CONSULTADA

ANEXO I TRABAJOS DERIVADOS DE ESTE TRABAJO

ANEXO II ARTÍCULO PUBLICADO

II. ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Fig. 1: Crecimiento poblacional de <i>Ceriodaphnia dubia</i> y <i>Daphnia pulex</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc	18
Fig. 2: Relación entre la densidad máxima de los cladóceros (<i>Ceriodaphnia dubia</i> y <i>Daphnia pulex</i>) expuestas a diferentes concentraciones de zinc	19
Fig. 3: Tasa de crecimiento poblacional de los cladóceros (<i>Ceriodaphnia dubia</i> y <i>Daphnia pulex</i>) expuestas a diferentes concentraciones de zinc	20
Fig. 4: Crecimiento poblacional de <i>Brachionus rubens</i> y <i>Brachionus patulus</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc.....	22
Fig. 5: Tasa de crecimiento poblacional de los cladóceros (<i>Brachionus rubens</i> y <i>Brachionus patulus</i>) expuestas a diferentes concentraciones de zinc	23
Fig. 6: Relación entre la densidad máxima de los rotíferos (<i>Brachionus rubens</i> y <i>Brachionus patulus</i>) expuestas a diferentes concentraciones de zinc	24
Fig. 7: Supervivencia de <i>Ceriodaphnia dubia</i> y <i>Daphnia pulex</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc.....	38
Fig. 8: Fecundidad de <i>Ceriodaphnia dubia</i> y <i>Daphnia pulex</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc.....	39
Fig. 9: Variables de tabla de vida demográfica (<i>Daphnia pulex</i>) expuesta a diferentes concentraciones de zinc	40
Fig. 10: Variables de tabla de vida demográfica (<i>Ceriodaphnia dubia</i>) expuesta a diferentes concentraciones de zinc	41
Fig. 11: Supervivencia de <i>Brachionus rubens</i> y <i>Brachionus patulus</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc.....	44

Fig. 12: Fecundidad de <i>Brachionus rubens</i> y <i>Brachionus patulus</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc.....	45
Fig. 13: Variables de tabla de vida demográfica (<i>Brachionus rubens</i>) expuesta a diferentes concentraciones de zinc.....	46
Fig. 14: Variables de tabla de vida demográfica (<i>Brachionus patulus</i>) expuesta a diferentes concentraciones de zinc	47
Tabla 1: ANDEVA´s de la densidad poblacional y tasa de crecimiento poblacional de <i>Daphnia pulex</i> y <i>Ceriodaphnia dubia</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc	21
Tabla 2: ANDEVA´s de la densidad poblacional y tasa de crecimiento poblacional <i>Brachionus rubens</i> y <i>Brachionus patulus</i> expuestas a diferentes concentraciones de zinc	25
Tabla 3: ANDEVA´s de características demográficas de tabla de vida de <i>Ceriodaphnia dubia</i> expuesta a diferentes concentraciones de zinc	42
Tabla 4: ANDEVA´s de características demográficas de tabla de vida de <i>Daphnia pulex</i> expuesta a diferentes concentraciones de zinc	43
Tabla 5: ANDEVA´s de características demográficas de la tabla de vida de <i>Brachionus rubens</i> expuesta a diferentes concentraciones de zinc	48
Tabla 6: ANDEVA´s de características demográficas de la tabla de vida de <i>Brachionus patulus</i> expuesta a diferentes concentraciones de zinc	49

RESUMEN

Los rotíferos, así como los cladóceros y junto con los protozoos, son los organismos dominantes en los sistemas dulce acuícolas. Los cladóceros *Daphnia pulex* y *Ceriodaphnia dubia* han sido ampliamente utilizadas en bioensayos, por ser comparables en cuestión de sensibilidad, de igual forma los rotíferos, están considerados como indicadores de la calidad de los sistemas acuáticos, el género *Brachionus* está ampliamente distribuido en el país. La inducción de tóxicos ocasiona alteraciones en las interacciones de los organismos, modificando la estructura de la comunidad y la abundancia de especies. El zinc es un elemento potencialmente tóxico abundante en los cuerpos de agua, se utilizó en el presente estudio por ser un metal esencial de todos los seres vivos. En México la mayoría de los bioensayos de toxicidad se realizan sobre especies zooplanctónicas que no necesariamente pertenecen al país, por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de exposición al zinc, a diferentes concentraciones (0, 0.125, 0.25, 0.5 y 1 mgL⁻¹ en el caso de los cladóceros y 0, 0.1, 0.2, 0.4 y 0.8 mg L⁻¹ en el caso de rotíferos), sobre el crecimiento poblacional y tabla de vida demográfica de *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia pulex* (Cladocera), *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens* (Rotifera), especies que son fáciles de encontrar en los sistemas acuáticos el país. Los resultados mostraron que con el aumento de zinc en el medio la densidad poblacional decrece, sin embargo, *Daphnia pulex* y *Brachionus rubens* muestran un efecto positivo en la concentración más baja de zinc (0.125 y 0.1 mg L⁻¹, respectivamente), llamada hormesis. La densidad poblacional mostró un rango de 0.2 a 6 y 0.2 a 4.1 ind. ml⁻¹ para *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* respectivamente; mientras que los rotíferos mostraron densidades de 1 a 58 ind. ml⁻¹ y de 110 a 260 ind. ml⁻¹ para *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens*, respectivamente. La tasa de crecimiento poblacional (r) varió de -0.12 a 0.14 y -0.02 a 0.23 por día para *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex*, respectivamente, -0.39 a 0.26 para *Brachionus patulus* 0.22 a 0.6 para *Brachionus rubens* y, dependiendo de la concentración de zinc en el medio. La supervivencia, fecundidad y las variables reproductivas mostraron una relación inversamente proporcional con el aumento de zinc en el medio, para las cuatro especies; sin embargo, *C. dubia* mostró un efecto positivo en la tasa reproductiva bruta y neta, en la concentración más baja (0.125 mg L⁻¹). De acuerdo a la norma oficial mexicana 001-ECOL-1996 la concentración máxima permisible de zinc es de 10 mg L⁻¹, este trabajo se observó que para las especies zooplanctónicas seleccionadas una concentración superior 0.1 mg L⁻¹, mostró un efecto adverso para el crecimiento poblacional y variables de historia de vida. El zinc aunque es un metal esencial, en altas concentraciones puede ser tóxico, sin embargo, *Brachionus rubens* y *Daphnia pulex* en la concentración de 0.1 y 0.125 mg L⁻¹, respectivamente mostraron un efecto positivo (hormesis).

INTRODUCCIÓN

Los rotíferos, así como los cladóceros y junto con los protozoos, son los organismos dominantes en el agua dulce y son importantes en el reciclado de nutrientes de los sistemas dulce acuícolas (Sarma *et al.*, 2006). Los rotíferos suelen alcanzar densidades considerables, el género *Brachionus* alcanza densidades superiores a 100 individuos ml^{-1} dependiendo de la cantidad y calidad de alimento (Ruppert y Barnes, 1996). Existen alrededor de 2000 especies en el mundo de las cuales México cuenta con 300. El cuerpo de estos animales está constituido por cerca de 1000 células y sus sistemas de órganos son eutélicos (Wallace *et al.*, 2006). El filo tiene representantes sésiles, coloniales, aunque la mayoría son nadadores libres. Los rotíferos del género de *Brachionus* son ampliamente usados como organismos de bioensayo para evaluar el efecto de pesticidas, elementos potencialmente tóxicos y otras sustancias tóxicas en los sistemas acuáticos (Snell y Janssen, 1995).

El tipo de alimentación en la mayoría de las especies de rotíferos, es por filtración; aunque también existen especies dentro del filo que tienen hábitos alimenticios carnívoros (Wallace *et al.*, 2006). La reproducción por partenogénesis es característica de la mayoría de los grupos de rotíferos (Koste, 1978), aunque no exclusiva. Es probable que se haya desarrollado este procedimiento de reproducción, entre otros, para sobrevivir en los sistemas dulce acuícolas, especialmente en sistemas acuáticos temporales. Los rotíferos, viven alrededor de 3 o 4 semanas, aunque algunas especies pueden vivir más de 45 días (Ruppert y Barnes, 1996). Existe una estrategia más que tienen los rotíferos para sobrevivir la desecación o el “vivir fuera del agua” se conoce como anhidrobiosis, que fue descrita por Leeuwenhoek hace más de 300 años; sin embargo, la bioquímica y mecanismo de este proceso aun no está claro (Lapinsky y Tunnacliffe, 2003).

Los cladóceros (crustácea), constituyen la mitad de los Braquiópodos e incluyen especies comunes y ampliamente distribuidas como el caso del género *Daphnia* (Dumont y Negrea, 2002). Al igual que en los rotíferos, los cladóceros, presentan cicломorfosis, proceso adaptativo que promueve cambios en la morfología de los individuos del sistema acuático, ya sea por cambios en la estructura del sistema mismo, la influencia de las variaciones estacionales, por la presencia de depredadores o por alteraciones producto de la actividad antropogénica (Hutchinson, 1967). Por otro lado; los cladóceros, grupo constituyente del en los sistemas acuáticos, presentan también reproducción de tipo partenogénica: patrón de reproducción similar al de algunas especies de rotíferos (Dodson y Frey, 2001). Una ventaja atribuible a los cladóceros, es que, especies de mayor talla pueden crecer y reproducirse mejor que especies de menor talla (Gliwicz, 1990). *Daphnia pulex* y *Ceriodaphnia dubia* han sido ampliamente utilizadas para determinar su comportamiento bajo diferentes concentraciones y tipos de alimento (Flores-Burgos *et al.*, 2003; Alva-Martínez *et al.*, 2007), ambas especies consideradas cosmopolitas y en México se pueden encontrar en el mismo sistema acuático (Elías-Gutiérrez *et al.*, 1999). Como los rotíferos, los cladóceros también son sensibles a cambios ambientales y en términos de sensibilidad *Daphnia* y *Ceriodaphnia* son comparables (Gama-Flores *et al.*, 2007). Pero incluso especies estrechamente relacionadas, con el alimento y hábitos alimenticios parecidos entre sí, pueden mostrar diferencias notables en la abundancia máxima en condiciones de campo (Downing y Rigler, 1984).

Los rotíferos y los cladóceros se encuentran sujetos a fuertes variaciones del medio, son factores decisivos la temperatura y el pH (Downing y Rigler, 1984), así como la cantidad y la calidad de alimento, ya que éste es otro factor muy importante que comúnmente altera las condiciones de laboratorio o campo (Lampert y Sommer, 1997). Por ello, se ven seriamente afectados cuando las concentraciones de alimento son extremas (Sarma y Nandini, 2001), ya que el vive en ambientes donde la abundancia y calidad de los recursos puede variar drásticamente todo el tiempo, el éxito en ambientes de no-equilibrio depende en

parte de la habilidad de almacenar energía y la utilización de ésta durante periodos de limitación de alimento o inanición (Kirk, 1997).

Además, las interacciones como la competencia entre las especies son factores importantes que regulan comunidades de los ecosistemas acuáticos. Cambios en la calidad y cantidad de alimento disponible para el potencialmente conduce a cambios en el resultado de la competencia por recursos; además, si las especies planctónicas difieren de acuerdo al ambiente óptimo, pueden ocurrir cambios en relación a las habilidades competitivas en cualquier momento en que se modifiquen las condiciones ambientales. Además, los rotíferos son considerados indicadores de la calidad de los sistemas acuáticos (Sladeczek 1983). *Brachionus rubens* es una especie común en los cuerpos de agua de México (Sarma *et al.*, 2005) La inducción de tóxicos ocasiona una disrupción en las interacciones de los organismos, modificando la estructura de la comunidad y la abundancia de especies (Preston *et al.*, 1999)

Actualmente en las normas oficiales mexicanas, se recomienda el uso de *Daphnia magna* para la evaluación de la toxicidad de los contaminantes acuáticos. Al ser una especie exótica en México, el uso de *Daphnia magna* como representante de la norma para las evaluaciones de toxicidad, con cladóceros, para los sistemas acuáticos de México, se debate con frecuencia (Mangas-Ramírez *et al.*, 2001). Según la Norma Oficial Mexicana-001-ECOL-1996, define como metales pesados aquéllos que, en concentraciones por encima de determinados límites, pueden producir efectos negativos en la salud humana, flora o fauna. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana sólo se consideran los siguientes: arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, zinc y cianuros. (NOM-001-ECOL-1996). En los organismos zooplanctónicos, la captación de metales pesados se efectúa por adsorción de los iones disueltos en el agua a las superficies corporales o a través del tracto digestivo. La captación está influida por la forma soluble o particulada del metal en el agua, el tiempo de exposición y la

concentración del mismo, así como por factores fisicoquímicos (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999).

Metal pesado en su definición estricta se refiere a la masa o densidad de elemento, por tanto no necesariamente agrupa a elementos únicamente tóxicos (6 g / cm^3). Alloway, sugiere nombrarlos como Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT), que se refiere a elementos que pueden ser tóxicos dependiendo de la concentración en la que se encuentren en el ambiente y estos pueden incluirse en otras definiciones que pueden ser elementos traza, esenciales o no-esenciales (Alloway, 1995).

Los tóxicos interfieren en el proceso natural de competencia causando cambios en las características intrínsecas de los organismos como la tasa de crecimiento poblacional por diferentes vías entre la especies del. Por ejemplo, en un bioensayo que se realizó con *Moina macrocopa* y *Brachionus calyciflorus*, donde crecieron juntas variando la concentración de cadmio en el medio y el tiempo de exposición en los cultivos, *Moina* en la concentraciones bajas resultó favorecida en su crecimiento mientras que en las concentraciones altas, se vio adversamente afectada (Gama-Flores *et al.*, 2006).

A diferencia de la gran mayoría de cladóceros no planctónicos (Smirnov, 1974), géneros limnéticos como *Moina*, *Ceriodaphnia*, *Daphnia* y *Diaphanosoma* son a menudo expuestos a metales pesados disueltos en cuerpos de agua contaminados.

En comparación con *Moina* y *Diaphanosoma*, *Ceriodaphnia* y *Daphnia* se han empleado sistemáticamente para ensayos de toxicidad, tanto aguda como crónica (Sarma y Nandini, 2006). El género *Daphnia* es predominantemente templado, muchas de sus especies no se encuentran en aguas tropicales (Kořinek, 2002). Sin embargo, *D. magna*, una especie típica de clima templado, ha sido considerada como organismo de bioensayo estándar, incluso en algunos países tropicales, por ejemplo, México (Mendoza-Cantú *et al.*, 2007), aunque *Daphnia*

pulex está distribuido en la parte central del país (Hebert y Finston, 2001). En busca de suplentes de esta especie de cladóceros, ha puesto de manifiesto que *Ceriodaphnia* resulta igualmente sensible que *Daphnia* al estrés. Obras publicadas muestran que la mayoría de los estudios sobre ecotoxicología han considerado ya sea *Ceriodaphnia* o *Daphnia*, pero rara vez ambas (Nandini y Sarma, 2006). Por lo tanto, estudio comparativo de la participación de ambos géneros nos permitiría comprender la sensibilidad relativa a un determinado tóxico.

El plomo, como el cadmio, es un metal considerado pesado que tiene un efecto adverso en el crecimiento de los organismos acuáticos. Es tóxico para diferentes grupos de incluyendo rotíferos y cladóceros (Pérez-Legaspi y Rico-Martínez 2001; García-García *et al.*, 2006). Independientemente del tóxico, el grado de toxicidad se puede conocer, también, probando concentraciones y obteniendo la concentración letal 50 (CL₅₀), así se puede estimar la toxicidad de cualquier sustancia soluble en agua (Finney, 1971).

Así, las pruebas de toxicidad aguda y crónica son métodos reconocidos y estandarizados que evalúan directamente el efecto del tóxico sobre las especies expuestas (Preston *et al.*, 1999). Las pruebas a corto plazo son útiles para establecer comparaciones entre contaminantes y ofrecer aplicaciones prácticas, determinando en que concentración del elemento se presenta un 50% de mortalidad de los organismos experimentados en un tiempo dado (CL₅₀). Los experimentos de toxicidad crónica muestran a largo plazo, el efecto acumulativo de un tóxico a bajas concentraciones, evaluando diversas variables de los organismos zooplanctónicos mediante pruebas de tabla de vida y crecimiento poblacional.

El zinc es uno de los elementos potencialmente tóxicos más abundante en los cuerpos de agua (Azuara-García *et al.*, 2006). Se pensó en el zinc, por ser un metal esencial para el desarrollo de todos los seres vivos (Vallee y Falchuk, 1993), ya que participa en la síntesis de ADN, y es centro activo de cerca de 100 enzimas, a pesar de no ser un metal de abundancia considerable en la corteza

terrestre su obtención es fácil por procesos metalúrgicos y la producción minera. Existen pocos trabajos relacionados con la toxicidad del zinc para organismos planctónicos (Zou, 1997), si bien tiene un papel importante en el desarrollo de los organismos, al sobrepasar los límites de tolerancia al metal se vuelve tóxico (Williams y Mount, 1965).

La mayoría de los bioensayos de toxicidad se realizan sobre especies que no son comunes en México, por lo que este trabajo pretende obtener datos con especies de rotíferos y cladóceros que son fáciles de encontrar en los diferentes sistemas acuáticos de México. Además de las características de regionalización, se usaron especies de ciclos de vida corto, para poder obtener resultados en un tiempo breve.

En el presente trabajo, el objetivo fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre el crecimiento poblacional y tabla de vida demográfica sobre especies zooplanctónicas seleccionadas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el probable efecto de exposición al zinc, concentraciones sub-letales, sobre el crecimiento poblacional y tabla de vida demográfica de *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera), *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens* (Rotifera).

HIPÓTESIS

El zinc es un metal esencial, que puede ser considerado un elemento potencialmente tóxico, necesario para todos los seres vivos. En México se desconoce la toxicidad de este elemento, dependiendo de su concentración en el medio, para las especies zooplanctónicas nativas de los sistemas acuáticos nacionales. La norma 001-ECOL-1996 nos da una concentración mínima de 10 mg L^{-1} para el zinc. Conociendo esto y desconociendo la sensibilidad de los organismos zooplanctónicos seleccionados para este estudio (*Brachionus rubens*, *Brachionus patulus* (Rotifera) y *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia pulex* (Cladocera), con la ayuda de el crecimiento poblacional y tabla de vida, bajo estas condiciones se espera encontrar que las especies zooplanctónicas seleccionadas respondan adversamente con el aumento de la concentración del zinc en el medio.

CAPITULO I

CRECIMIENTO POBLACIONAL DE ZOOPLANCTON

MATERIALES Y MÉTODOS

Las especies de rotíferos, fueron obtenidas del cepario de la unidad de Morfofisiología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, el aislamiento de los organismos se obtuvo del lago de Xochimilco. Se establecieron cultivos usando hembras partenogénicas, y ambas especies se mantuvieron en cultivos clonales. Para cultivar las especies se usó agua moderadamente dura (medio EPA), disolviendo 96 mg NaHCO₃, 60 mg CaSO₄, 60 mg MgSO₄ y 4 mg de KCl en 1 litro de agua destilada (Weber, 1993; Klerks y Lentz, 1998).

Como alimento para ambas especies se usó microalga *Chlorella vulgaris*, la cual fue cultivada usando medio Bold basal (Borowitzka y Borowitzka, 1998). El alga se cosechó durante la fase exponencial, centrifugada a 4000 rpm, sedimentada, decantada y resuspendida en agua destilada. La densidad fue estimada con la ayuda de un hemocitómetro.

Como tóxico para los experimentos fue usado cloruro de zinc de grado analítico. Fue preparada una solución madre en agua destilada a 100 mg L⁻¹, para preparar las concentraciones nominales usando el medio EPA. Basándonos en pruebas de intervalo logarítmico (0.01, 0.1, 1, 10 y 100 mg L⁻¹) y después de intervalo reducido (ejemplo: 0.1, 0.2, 0.4 y 0.8 mg L⁻¹) se pudieron determinar las concentraciones para hacer los bioensayos de toxicidad aguda. La prueba de toxicidad crónica se hizo al terminar las pruebas anteriores para obtener las concentraciones en las que se llevaron a término los bioensayos de toxicidad crónica, en las especies de cladóceros y rotíferos. Obtenidas las concentraciones, las densidades iniciales de ambos grupos, la relación fue de 1:2.5 de individuos ml⁻¹, basados en la literatura para el uso de cladóceros, la densidad de los rotíferos para cada frasco de cada tratamiento fue 1 individuo ml⁻¹. La densidad de alimento fue de *Chlorella* a 1 X 10⁶ células ml⁻¹. Para cada tratamiento se usaron tres repeticiones.

Dentro de cada frasco fueron introducidos 25 individuos por cada especie de rotíferos y 10 individuos por cada especie de cladóceros, para cada tratamiento; usando una pipeta Pasteur, con la ayuda de un microscopio estereoscópico a 20 X. Siguiendo el inicio del experimento, diariamente fue cuantificado el número total de individuos vivos de cada repetición de cada tratamiento (inicialmente se contó todo y después por alícuotas de 1 a 5 ml, una vez que la densidad poblacional de los rotíferos llegó a los 100 individuos por tratamiento, en el caso de los cladóceros no se utilizaron alícuotas), y después fueron transferidos a nuevos frascos en condiciones apropiadas de zinc-alga los experimentos finalizaron alrededor de 2 semanas, para el caso de los rotíferos y de 3 a 4 semanas para los cladóceros, la diferencia en tiempo se debe al ciclo de vida de ambos filos que es diferente.

Fueron capturados los datos, calculamos la tasa de crecimiento (r) con la siguiente ecuación: $r = \left(\frac{\ln N_t - \ln N_0}{t} \right)$, donde N_0 y N_t son la densidad inicial y densidad al tiempo t respectivamente, y t es el tiempo en días. Los datos de la tasa y el crecimiento poblacional fueron analizados usando Andeva's (análisis de varianza) (Statistica versión 8), para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos (Krebs, 1985).

RESULTADOS

Crecimiento poblacional (Cladocera)

Las curvas de crecimiento poblacional de *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* bajo diferentes concentraciones de zinc se presentan en la Fig. 1; en general, las densidades poblacionales de ambas especies de cladóceros decrecen con el aumento en la concentración de zinc en el medio. A una concentración de 1 mg L^{-1} , ambas *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* no pueden reproducirse y mueren a una semana aproximadamente de iniciada la exposición al elemento. Comparados con los controles, a la más baja concentración de zinc (0.125 mg L^{-1}), el crecimiento de *Ceriodaphnia dubia* disminuye, mientras que *Daphnia pulex* mostró un aumento en su densidad poblacional.

La densidad poblacional máxima de *Ceriodaphnia dubia* estuvo en un rango de 0.2 a 6 ind. ml^{-1} dependiendo de la concentración de zinc en el medio. Mientras que para *Daphnia pulex* el rango fue más bajo ($0.2\text{ a }4.1\text{ ind. ml}^{-1}$). La relación fue inversamente proporcional, entre la densidad máxima y la concentración de zinc en el medio para ambas especies de cladóceros tratados (Fig. 2). Dependiendo de la concentración de zinc en el medio, la tasa de crecimiento poblacional r varió de -0.12 a 0.14 y -0.02 a 0.23 por día para *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex*, respectivamente (Fig. 3). Estadísticamente la densidad poblacional y la tasa de crecimiento poblacional r se ven afectados por la concentración de zinc en el medio ($p < 0.001$, ANDEVA de un factor, Tabla 1). La prueba de comparación múltiple (Tukey) muestra que la tasa de crecimiento poblacional de *Daphnia pulex* en la concentración más baja de zinc (0.125 mg L^{-1}) fue significativamente más alto que los controles. Sin embargo, bajo condiciones similares, r de *Ceriodaphnia dubia* fue significativamente menor que en los controles. En las subsecuentes concentraciones de zinc en el medio, las tasas de crecimiento poblacional de ambas especies de cladóceros estuvieron significativamente reducidas comparadas con los controles.

CRECIMIENTO POBLACIONAL (ROTIFERA)

Las curvas de crecimiento poblacional de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus* bajo diferentes concentraciones de zinc se presentan en la Fig. 4 en general, las densidades poblacionales de ambas especies de cladóceros decrecen con el aumento en la concentración de zinc en el medio. A una concentración de 0.8 mg L^{-1} , *Brachionus patulus* no puede reproducirse y muere a una semana aproximadamente de iniciada la exposición al elemento. Comparados con los controles, a la más baja concentración de zinc (0.1 mg L^{-1}), el crecimiento de *Brachionus patulus* disminuye, mientras que *Brachionus rubens*, mostró un aumento en su densidad poblacional. La densidad poblacional máxima de *Brachionus rubens* estuvo en un rango de 110 a 260 ind. ml^{-1} dependiendo de la concentración de zinc en el medio. Mientras que para *Brachionus patulus* el rango fue más bajo (5.52 a 52 ind. ml^{-1}). La relación fue inversamente proporcional, entre la densidad máxima y la concentración de zinc en el medio para ambas especies de rotíferos seleccionados (Fig. 4).

Dependiendo de la concentración de zinc en el medio, la tasa de crecimiento poblacional r varió de -0.38 a 0.29 para *Brachionus patulus* y de 0.3 a 0.6 para el caso de *Brachionus rubens* (Fig. 5). Con el aumento en la concentración de zinc en el medio se observó la disminución en la densidad máxima de las especies de rotíferos seleccionadas, la relación fue significativamente inversa para *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens* (Fig. 6).

La tasa de crecimiento poblacional de ambas especies de rotíferos disminuyó con el incremento en la concentración de zinc en el medio; sin embargo, el impacto del zinc sobre *Brachionus patulus* es mayor que con *Brachionus rubens*. Independientemente de la especie la concentración de 0.8 mg L^{-1} de zinc, resultó en un efecto adverso sobre r , en comparación con el testigo (Fig. 5, Tabla 2, Andeva's y prueba de tukey). *Brachionus patulus*, también en la concentración de zinc por arriba de 0.4 mg L^{-1} se vio significativamente distinto con respecto de la tasa de crecimiento poblacional del testigo.

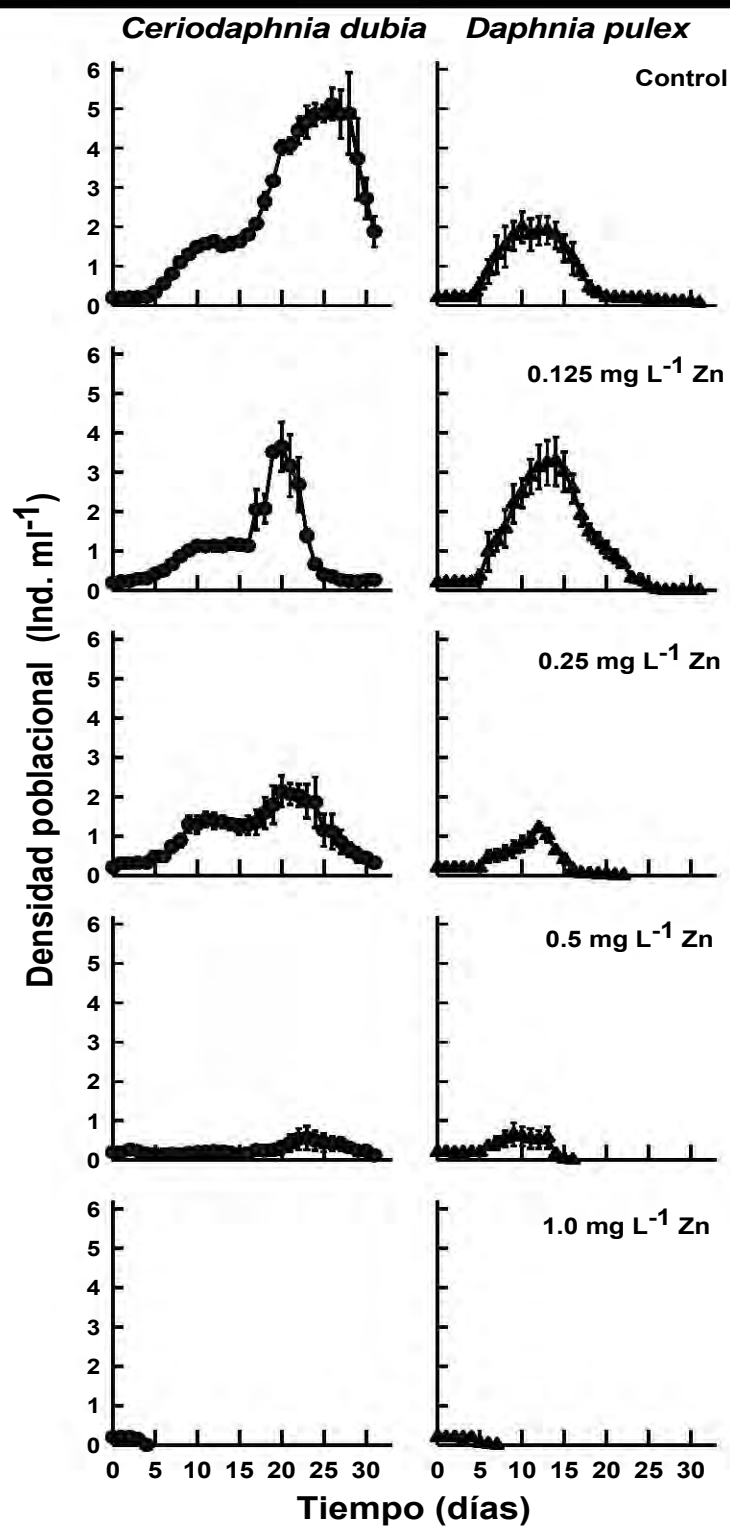


Figura 1: Crecimiento poblacional de *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* a diferentes concentraciones de zinc.

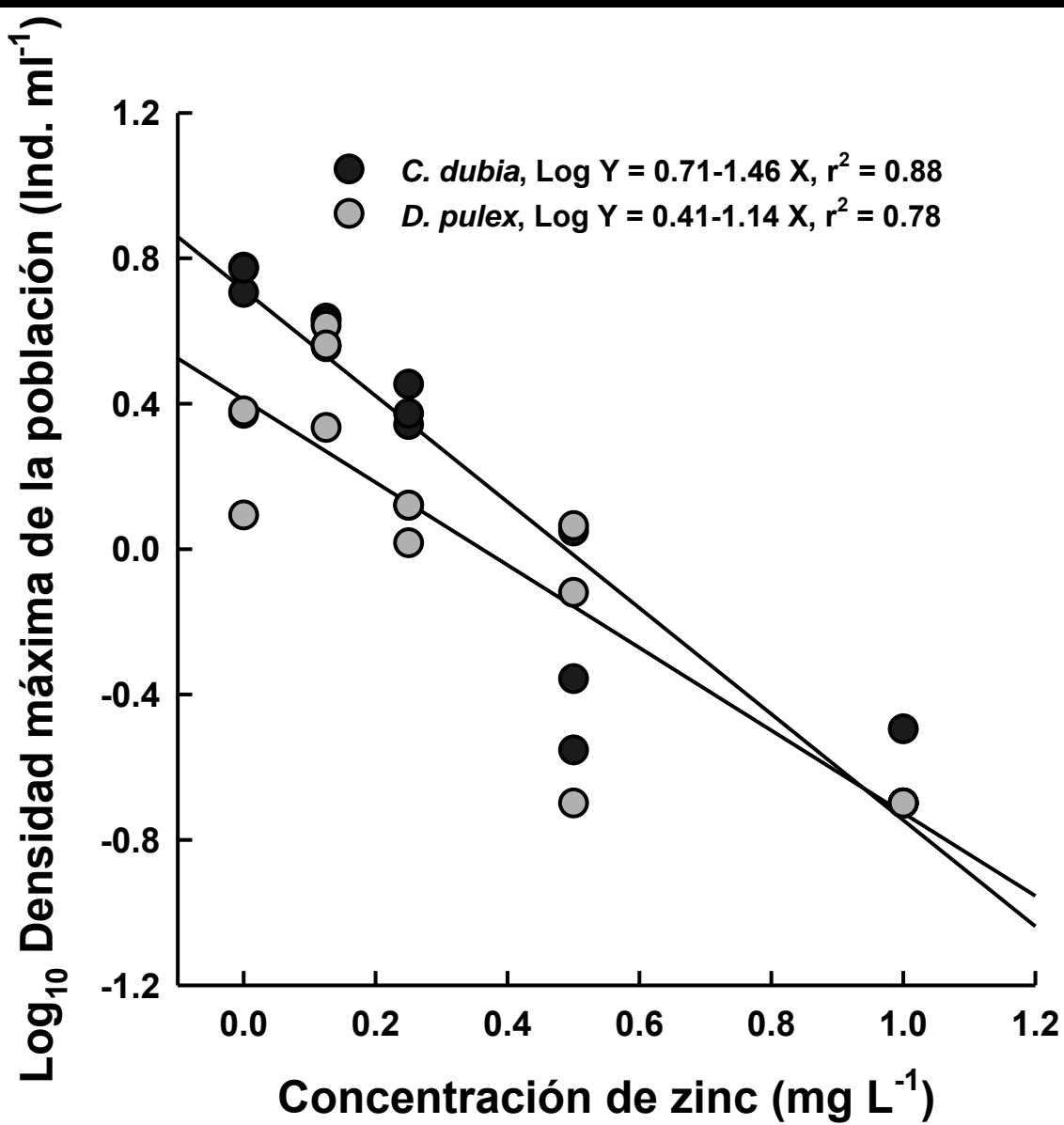


Figura 2: Relación entre la densidad máxima de los cladóceros (*Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex*) y diferentes concentraciones de zinc.

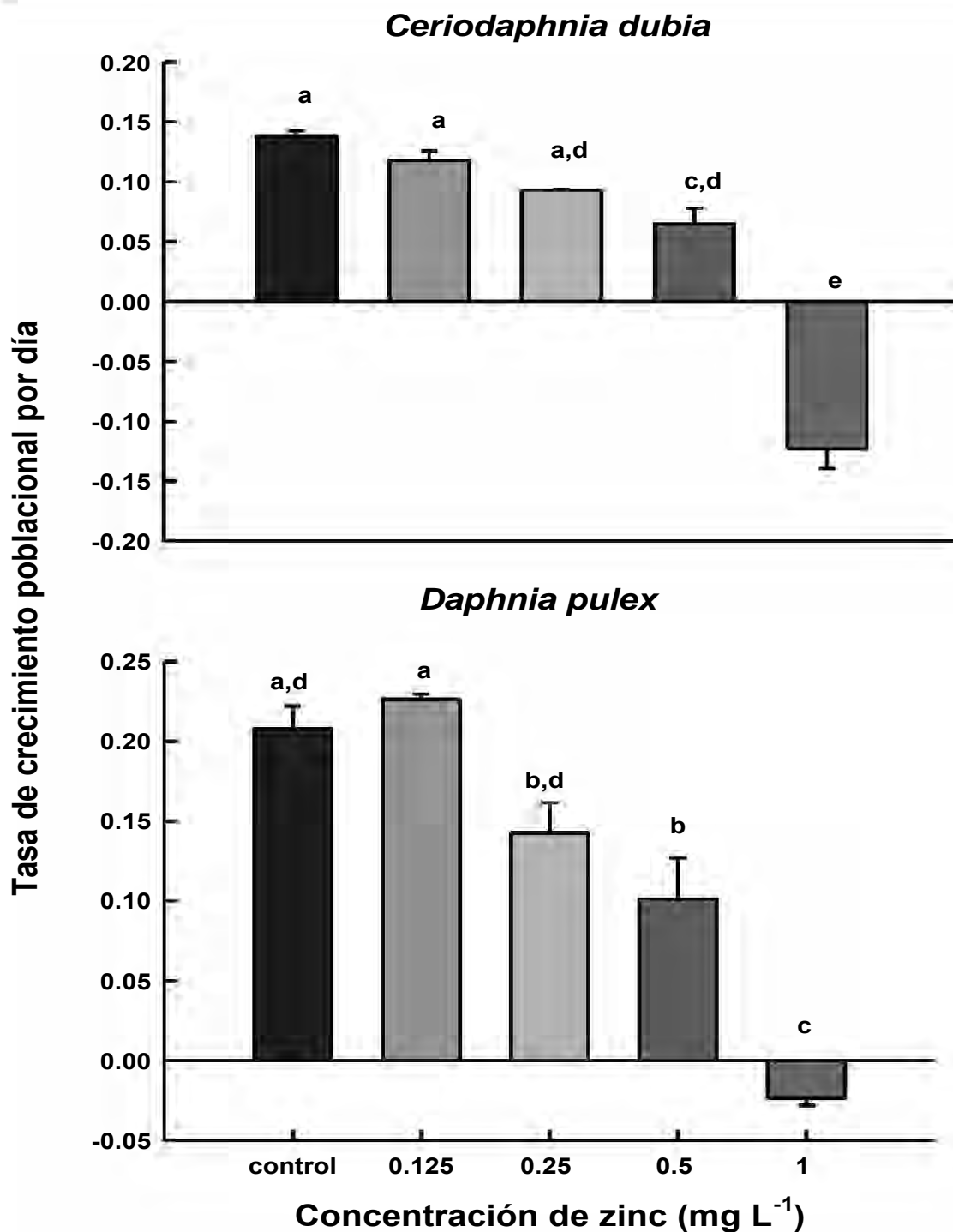


Figura 3: Tasa de crecimiento poblacional de los cladóceros (*Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex*) bajo crecimiento diferentes concentraciones de zinc, las letras indican diferencia significativa entre cada tratamiento las barras que comparten letra no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de tukey).

Tabla 1: ANDEVA´s de la densidad poblacional y tasa de crecimiento poblacional por día (r) de *Daphnia pulex* y *Ceriodaphnia dubia* bajo diferentes niveles de Zn. (GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados CM= media cuadrática F= prueba de F) *** = $p < 0.001$

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Densidad poblacional				
<i>Ceriodaphnia dubia</i>				
Entre niveles de Zn	4	15.72	3.93	109.62***
Error	10	0.36	0.03	
<i>Daphnia pulex</i>				
Entre niveles Zn	4	17.72	4.43	12.76***
Error	10	3.47	0.34	
Tasa de crecimiento poblacional				
<i>Ceriodaphnia dubia</i>				
Entre niveles Zn	4	0.13	0.03	108.63***
Error	10	0.003	0.0003	
<i>Daphnia pulex</i>				
Entre niveles Zn	4	0.11	0.02	40.01***
Error	10	0.007	0.0007	

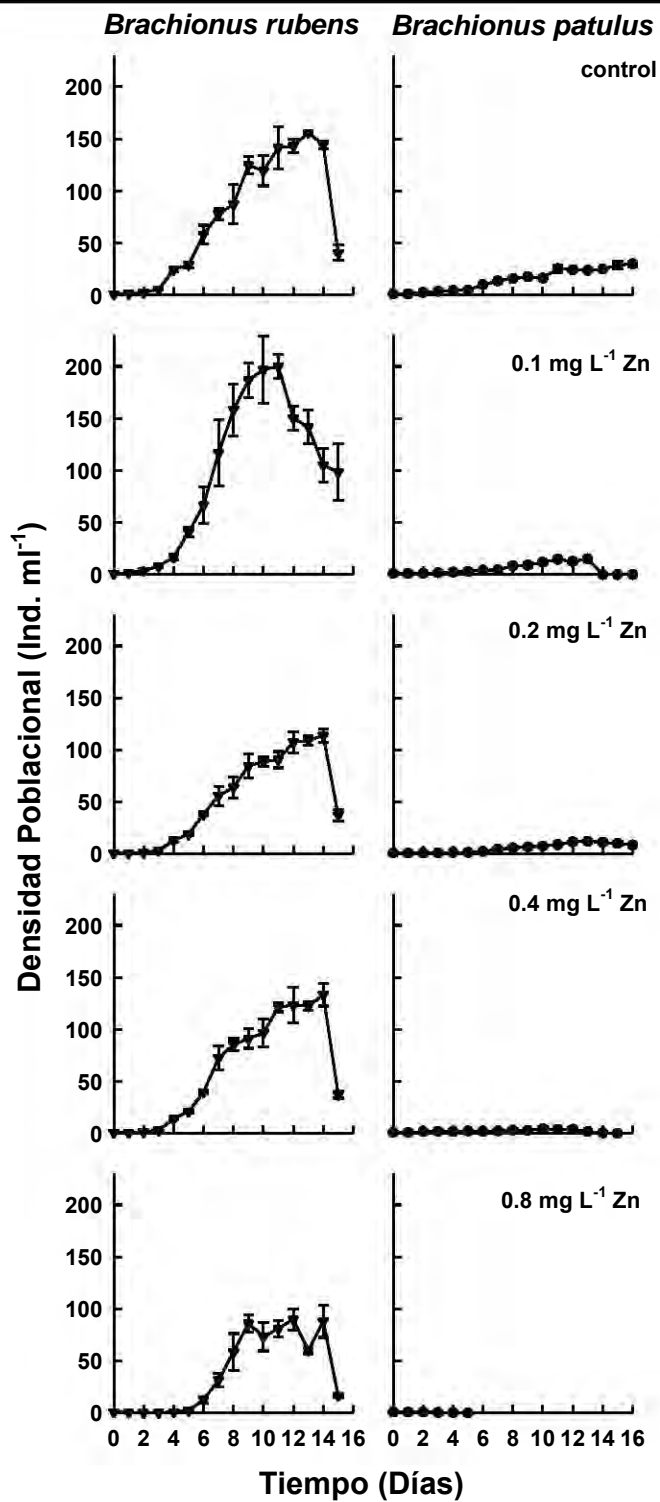


Figura 4: Crecimiento poblacional de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus* a diferentes concentraciones de zinc.

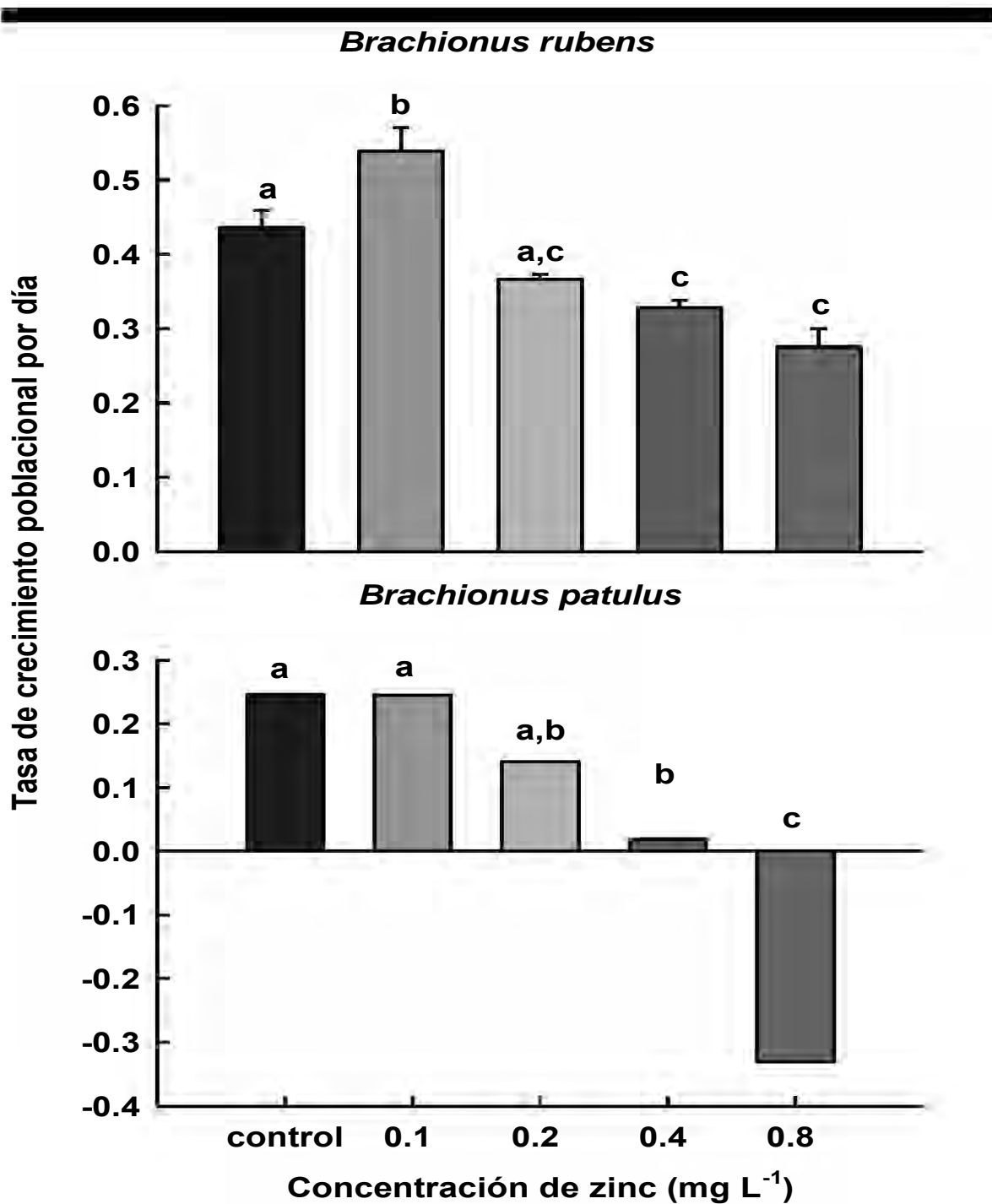


Fig. 5: Tasa de crecimiento poblacional de los rotíferos (*Brachionus rubens* y *Brachionus patulus*) bajo diferentes concentraciones de zinc, las letras indican diferencia significativa entre cada tratamiento las barras que comparten letra no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de tukey $p < 0.050$).

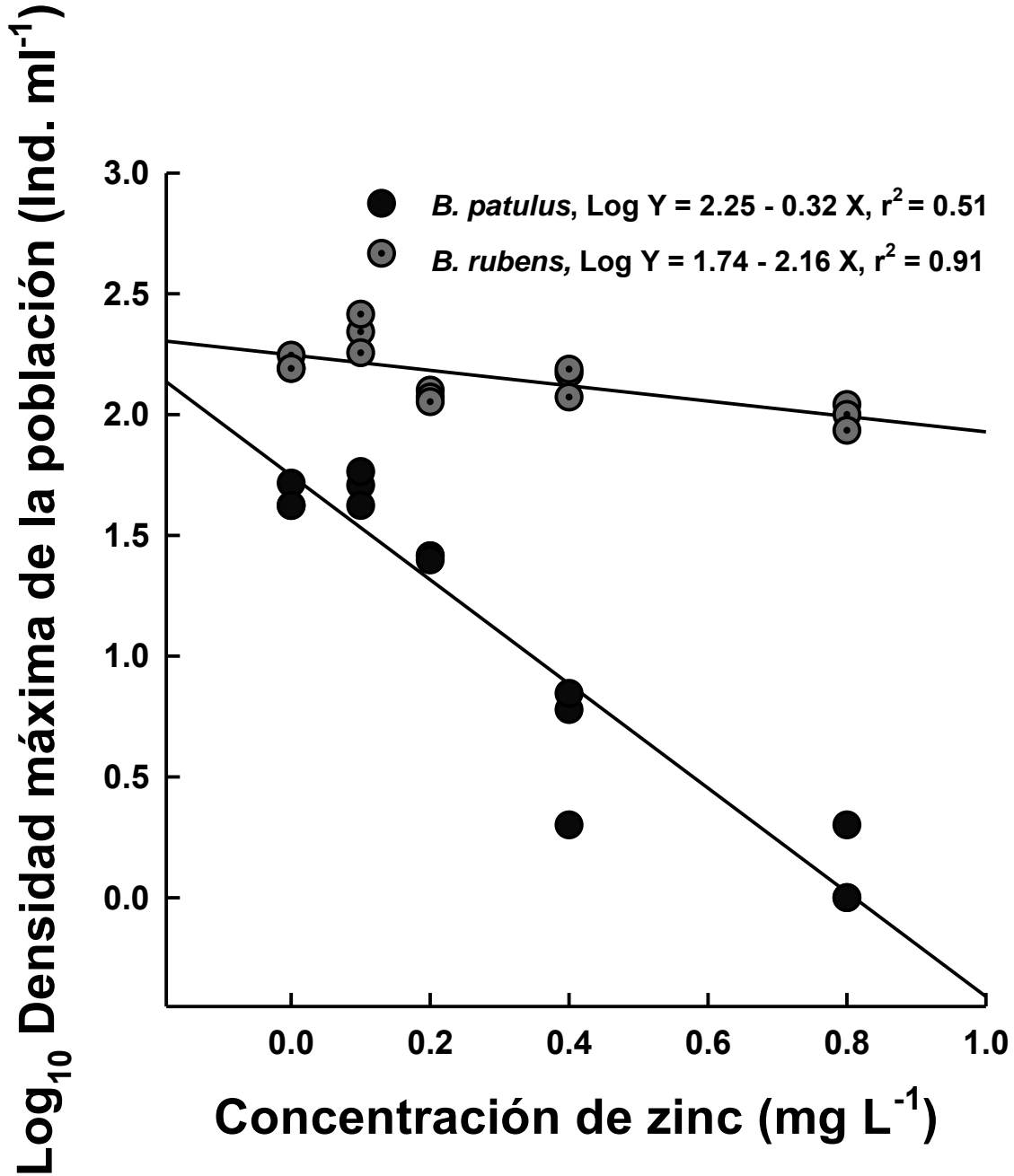


Figura 6: Relación entre la densidad máxima de los cladóceros (*Brachionus rubens* y *Brachionus patulus*) y diferentes concentraciones de zinc.

Tabla 2: ANDEVA´s de la densidad poblacional y tasa de crecimiento poblacional por día (r) de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus* bajo diferentes niveles de Zn. *** = $p < 0.001$

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Densidad poblacional				
<i>Brachionus patulus</i>				
Entre niveles de Zn	4	6043.06	1510.76	71.71***
Error	10	210.66	21.06	
<i>Brachionus rubens</i>				
Entre niveles Zn	4	18662.40	4665.60	22.35***
Error	10	2087.33	208.73	
Tasa de crecimiento poblacional				
<i>Brachionus rubens</i>				
Entre niveles Zn	4	0.12	0.03	22.95***
Error	10	0.01	0.001	
<i>Brachionus patulus</i>				
Entre niveles Zn	4	0.68	0.17	57.35***
Error	10	0.03	0.003	

DISCUSIÓN

El zinc a pesar de no ser un metal abundante en la corteza terrestre, su obtención es fácil, otros usos que se le han dado en las últimas décadas es la utilización de este en baterías de computadoras portátiles, así también en la telefonía celular y en la limpieza de metales preciosos (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999).

El metal se encuentra como componente en la molécula de insulina que se encarga de transportar la glucosa y que sea biodisponible, en los “dedos de zinc” que sirven en la célula para el enrollamiento del ADN y diversas enzimas (Supuran y Winum, 2009). El exceso de zinc se ha asociado con bajos niveles de cobre, alteraciones en la función del hierro y disminución de la función inmunológica, este también se encuentra relacionado con la mortalidad del zooplancton (Zou, 1997).

El papel del zinc como se ha mencionado tiene un efecto adverso o positivo, dependiendo de la concentración del mismo en el medio. En el presente trabajo el zinc mostró un efecto adverso en la mayoría de las especies seleccionadas, conforme la concentración aumenta en el medio acuoso; sin embargo, especies como *Brachionus rubens* (Rotifera) y *Daphnia pulex* (Cladocera) mostraron un efecto positivo en el crecimiento poblacional y solo en la concentración más baja del experimento, que fue 0.1 y 0.125 mg L⁻¹ respectivamente. El término de “positivo” puede considerarse para diversos efectos, como el incremento en la densidad poblacional así como en la subsecuente resistencia al tóxico en las generaciones posteriores y se le denomina efecto hormético u hormesis, en ambos casos (Calabrese y Baldwin, 1998).

Para el caso de los cladóceros la densidad poblacional varió en los controles tanto para la densidad más alta como el día en que se alcanzó ésta. Para el caso de *Ceriodaphnia dubia*, la densidad máxima fue de 5 ind. ml⁻¹ aproximadamente y se alcanzó al día 25 del experimento; mientras que para *Daphnia pulex* la densidad poblacional máxima fue 2 ind. ml⁻¹, el día que se llegó esta densidad fue al día 10,

para ambas especies una vez que alcanzan la densidad máxima la población empezó a decrecer.

Para los siguientes tratamientos la densidad poblacional se vio significativamente afectada con el aumento de zinc en el medio, salvo *Daphnia pulex* en la concentración más baja, también el día en que se alcanza la densidad poblacional máxima sufrió cambios en los tratamientos posteriores, para la concentración de 0.125 mg L^{-1} en el caso de *Ceriodaphnia dubia* fue al día 20 y una densidad de 3 ind. ml^{-1} , para el caso de *Daphnia pulex* la densidad poblacional crece pero el día que se alcanza el pico más alto es alrededor del 18 del experimento, lo que muestra que mientras que para *Ceriodaphnia dubia* se reduce en 5 días el tiempo que toma la población para alcanzar su máxima densidad, a *Daphnia pulex* tarda 8 días más con respecto del control.

Para la siguiente concentración de zinc de 0.25 mg L^{-1} la densidad poblacional disminuye significativamente. Para *Ceriodaphnia dubia* muestra dos picos en la curva poblacional, uno al día 10, como se observa en el control, y otro al día 20; sin embargo la densidad más alta es de solo 2 ind. ml^{-1} . Para *Daphnia pulex* la densidad más alta se alcanza al día 15 y la densidad poblacional máxima es de solo 1 ind. ml^{-1} aproximadamente. En los siguientes tratamientos no hay diferencia significativa con respecto del tratamiento anterior, ya que no se alcanza la densidad de 1 ind. ml^{-1} en cualquiera de los casos lo que varía es el tiempo que dura la población, para *Ceriodaphnia dubia* termina el experimento, para el caso de *D. pulex* a los 15 días muere la población, en la concentración de 0.5 mg L^{-1} , en la concentración más alta de 1 mg L^{-1} ambas especies a la semana de haber empezado el experimento mueren sin reproducirse.

La respuesta esperada, es observar en los controles un crecimiento mayor que los tratamientos, la respuesta observada en la Fig. 2 la relación densidad y concentración de zinc en el medio es inversamente proporcional. El comportamiento de la especies en el crecimiento observado es comparable con

otros trabajos realizados anteriormente sin la participación de tóxico en el experimento (Montúfar-Meléndez *et al.*, 2007).

El crecimiento poblacional de los rotíferos muestra un efecto similar al observado con la especies de cladóceros. El crecimiento poblacional de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus* se ve adversamente afectado con la presencia y el aumento en la concentración del zinc en el medio; sin embargo como se observó en el caso de *Daphnia pulex*, con *Brachionus rubens* hay efecto similar de promoción en el crecimiento poblacional por encima del control y solo en la concentración más baja de zinc.

La densidad poblacional máxima fue de 150 ind. ml⁻¹ aproximadamente y se alcanzó al día 15 del experimento un día antes de la conclusión del mismo ya que para el siguiente día la densidad poblacional decreció en más de un 50%.

CAPITULO II

TABLA DE VIDA DEMOGRÁFICA DE ZOOPLANCTON

MATERIALES Y MÉTODOS

Las especies de cladóceros, fueron obtenidas del cepario de la unidad de Morfofisiología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, el aislamiento de los organismos se obtuvo del lago de Zumpango, Estado de México, para el caso de *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* fue obtenido de un cuerpo de agua temporal de un municipio de el estado de Chihuahua (latitud: 28° 38'N y longitud: 106° 04'O, altitud: 1440 msnm), primero se establecieron cultivos usando hembras partenogénicas, se mantuvieron en cultivos clonales, de todas las especies. Para cultivar las especies se usó agua moderadamente dura (medio EPA), disolviendo 96 mg NaHCO₃, 60 mg CaSO₄, 60 mg MgSO₄ y 4 mg de KCl en 1 litro de agua destilada (Weber, 1993; Klerks y Lentz, 1998).

Como alimento para ambas especies se usó microalga *Scenedesmus acutus*, la cual fue cultivada usando medio Bold basal (Borowitzka y Borowitzka, 1998). El alga se cosechó durante la fase exponencial, centrifugada a 4000 rpm, sedimentada, decantada y resuspendida en agua destilada. La densidad fue estimada con la ayuda de un hemocitómetro.

Como tóxico para los experimentos fue usado cloruro de zinc de grado analítico. Fue preparada una solución madre en agua destilada a 100 mg L⁻¹, para preparar las concentraciones nominales usando el medio EPA. Basándonos en pruebas de intervalo logarítmico (0.01, 0.1, 1, 10 y 100 mg L⁻¹) y después de intervalo reducido (ejemplo: 0.1, 0.2, 0.4 y 0.8 mg L⁻¹) se pudieron determinar las concentraciones para hacer los bioensayos de toxicidad aguda. La prueba de toxicidad crónica se hizo al terminar las pruebas anteriores para obtener las concentraciones en las que se llevaron a término los bioensayos de toxicidad crónica, en las especies de cladóceros y rotíferos. Obtenidas las concentraciones, las densidades iniciales de ambos grupos, la relación fue de 1:2.5 de individuos ml⁻¹, basados en la literatura

para el uso de cladóceros. La densidad de alimento fue de 0.5×10^6 células. Para cada tratamiento se usaron tres repeticiones.

Tabla de vida (Rotifera)

Para conducir los experimentos de tabla de vida, se utilizaron cultivos pequeños de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus*, fueron mantenidos los cultivos por una semana. Para obtener neonatos de edades conocidas, fueron filtrados los rotíferos durante la fase exponencial usando una malla de 80 μm . Neonatos y pequeños individuos de los rotíferos deben de ser removidos inmediatamente. Los neonatos se mantienen por tres horas se retiran y posteriormente fueron usados para los experimentos. Los experimentos de tabla de vida con rotíferos fueron conducidos con una cohorte estándar a diferentes concentraciones zinc (0, 0.1, 0.2, 0.4 y 0.8 mg L^{-1}) y una densidad del alga de 1×10^6 células ml^{-1} de *Chlorella vulgaris* con tres repeticiones cada concentración de zinc.

Por lo que el diseño experimental consistió de 12 frascos transparentes por cada especie de rotífero (24 frascos), de 25 ml de capacidad. Fueron introducidos 25 neonatos por cada frasco. En lo sucesivo se contaron y removieron los neonatos en las siguientes observaciones en intervalos de 12 horas. Simultáneamente los adultos que murieron fueron retirados. Las hembras supervivientes fueron transferidas cada 24 horas a frascos con concentración de alimento y tóxico como al inicio del experimento. Los experimentos terminaron cuando murieron todas las hembras de cada especie de rotífero. Los neonatos por cada 24 horas se juntaron y consideraron como el número diario de crías para calcular las variables de tabla de vida (Pavón-Meza *et al.*, 2005).

Tabla de vida (Cladocera)

Para el caso de los cladóceros los experimentos de tabla de vida demográfica se seleccionaron grupos de 10 individuos de aproximadamente de 24 horas de edad, y se colocaron en recipientes de vidrio con un volumen de 50 ml de medio EPA. Fueron expuestos a zinc, usando 4 concentraciones incluyendo al testigo. Las concentraciones se obtuvieron con base en la CL₅₀ obtenidas para cada especie (*Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex*).

Los organismos permanecieron expuestos durante 24 horas; transcurrido este tiempo, los organismos de prueba iniciales se contaron y se cambiaron a recipientes con las mismas condiciones en que se habían colocado en un principio (concentración de alimento y tóxico). Los neonatos fueron contados, retirados del recipiente y desechados. Este procedimiento fue realizado hasta que el último de los organismos iniciales murió.

El conteo de organismo se llevó a cabo en una caja de acrílico transparente (de 5 cm por lado y una profundidad de 1.5 cm), con ayuda de un microscopio estereoscópico NIKON (Mod. SMZ645) y una pipeta Pasteur para traspasarlos de un recipiente de experimentación a otro (Pavón-Meza *et al.*, 2005). Los resultados obtenidos en la tabla de vida se analizaron por medio de ANDEVA'S para determinar si existe una diferencia significativa entre ellos y se realizaron pruebas de Tukey para ver entre que tratamientos existe la diferencia (Zar, 1984; Sokal y Rohlf, 1995).

Se usaron las fórmulas estándar para obtener las variables de la tabla de vida (Krebs, 1985) siguientes: supervivencia, fecundidad, promedio de vida, tasa reproductiva bruta y neta, tiempo generacional y tasa de crecimiento poblacional, todas al variables se obtienen de la sustitución de supervivientes y neonatos en la fórmula.

Proporción de supervivientes (supervivencia) $l_x = \frac{n_x}{n_0}$

donde n_x = supervivientes

n_0 = número inicial de individuos

Proporción de neonatos (fecundidad) $m_x = \frac{n_1}{n_x}$

donde n_x = supervivientes

n_1 = número de neonatos producidos

Promedio de vida $L_x = \frac{n_x 1 + n_x 2}{2}$

donde: $n_x 1$: supervivientes del día x

$n_x 2$: supervivientes del día siguiente

Esperanza de vida $e^x = \frac{T_x}{n_x}$

donde: $T_x = \sum L_x$

n_x = supervivientes

Tasa reproductiva bruta $\sum m_x$

donde: m_x = proporción de neonatos (Fecundidad)

Tasa reproductiva neta $R_0 = \sum l_x m_x$

donde: l_x = supervivencia

m_x = fecundidad

Tiempo de generación $T = \frac{\sum l_x m_x x}{R_0}$

donde: l_x = supervivencia

m_x = fecundidad

x = edad

R_0 = tasa reproductiva neta

Tasa de incremento poblacional $r = \sum_{x=0}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$

donde: $e = 2.718$

x = edad

$l_x m_x = R_0$

RESULTADOS

Tabla de vida (Cladocera)

La supervivencia de los cladóceros se vio adversa y significativamente afectada con el aumento en la concentración del elemento (Fig. 4). Sin embargo, observamos que *Ceriodaphnia dubia* fue afectada en un 50-90% de reducción en las tasas de supervivencia en comparación con los controles. Los patrones de fecundidad también mostraron que *Ceriodaphnia dubia*, la fecundidad es inversamente proporcional al aumento del zinc en el medio (Fig. 5).

Hubo un efecto significativo con el aumento de la concentración de sustancia tóxica en todas las de supervivencia y reproducción relacionados con la tabla de vida y las variables consideradas. El post-hoc análisis mostró que las concentraciones de zinc 0.5 mg L^{-1} y superiores redujeron significativamente la supervivencia y la reproducción (Fig. 6).

La supervivencia de *Daphnia pulex* se vio adversa y significativamente afectada con el aumento en la concentración del elemento (Fig. 9). Sin embargo, hemos observado que *Daphnia pulex* se ve afectada en un 30-90% de reducción en las tasas de supervivencia en comparación con los controles. Los patrones de fecundidad también mostraron que *Daphnia pulex* la fecundidad está relacionada inversamente proporcional al aumento del zinc en el medio.

Las variables demográficas de *Ceriodaphnia dubia* (promedio de vida, esperanza de vida, tasa reproductiva bruta, tasa reproductiva neta, crecimiento poblacional y tiempo generacional), expuestos a diferentes concentraciones de zinc, se muestran en la Fig. 9. En general la totalidad de las variables demográficas muestra una relación inversamente proporcional con el aumento en la concentración de zinc en el medio; con la excepción de tiempo generacional, tasa reproductiva bruta y neta muestran que en la concentración más baja de zinc (0.125 mg L^{-1}) se observó un efecto positivo para *Ceriodaphnia dubia*. Estadísticamente las variables demográficas fueron significativamente

influenciadas por el tóxico (Tabla 3). El promedio de vida de *Ceriodaphnia dubia* varió (3.4 – 34.5 días), la esperanza de vida *mostró* un rango de (2.9 – 34 días), tasa reproductiva bruta (0 – 39.96 Ind.), tasa reproductiva neta (0 – 29.3 Ind.), tasa de crecimiento poblacional (- 0.09 – 0.29) y tiempo generacional (0 – 19.43 días).

Las variables demográficas de *Daphnia pulex* (promedio de vida, esperanza de vida, tasa reproductiva bruta, tasa reproductiva neta, crecimiento poblacional y tiempo generacional), expuesta a diferentes concentraciones de zinc, se muestran en la Fig. 10. Las variables demográficas muestran una relación inversamente proporcional con el aumento en la concentración de zinc en el medio; con la excepción de promedio de vida, tasa de crecimiento poblacional, tasa reproductiva neta y esperanza de vida, muestran que en la concentración más baja de zinc (0.125 mg L⁻¹) *mostró* un efecto positivo para *Daphnia pulex*. Estadísticamente las variables demográficas fueron significativamente influenciadas por el tóxico (Tabla 4). El promedio de vida de *Daphnia pulex* varió (2.4-18.4 días), la esperanza de vida *mostró* un rango de (1.9 – 17.9 días), tasa reproductiva bruta (0 – 27.91 Ind.), tasa reproductiva neta (0 – 19 Ind.), tasa de crecimiento poblacional (- 0.03 – 0.3) y tiempo generacional (0 – 13.6 días).

Tabla de vida (Rotifera)

Las curvas de sobrevivencia de *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens*, expuestas a diferentes concentraciones de zinc se muestran en la Fig.11. En general, para ambas especies de rotíferos en el testigo tanto como en la concentración de zinc más baja, la sobrevivencia tiene una forma muy cercana a la rectangular, lo que significa que la vida se prolonga más; sin embargo, con el aumento en la concentración de zinc en el medio la mortalidad de la cohorte se hace evidente a partir del día tres en adelante. La concentración más alta de zinc (0.8 mg L⁻¹), para *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens* no sobrevivieron más de una semana.

Las curvas de fecundidad de *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens*, expuestas a diferentes concentraciones de zinc se muestran en la Fig. 12. En general, para

ambas especies la reproducción comenzó en menos de 48 horas alcanzando la densidad máxima entre la primera y segunda semana del bioensayo pasando este tiempo empezó a disminuir la reproducción, independientemente de la concentración de zinc. Para ambas especies de rotíferos a partir de la concentración de zinc de 0.2 mg L^{-1} , mostró disminución en la reproducción de manera notables con respecto a al control y la concentración de zinc más baja de 0.1 mg L^{-1} que muestran una curva reproductiva cercana a la distribución normal. Para la concentración más alta de 0.8 mg L^{-1} mostró que la reproducción fue casi nula, para ambas especies de rotíferos seleccionadas, la muerte de ambas poblaciones comenzó antes de una semana de haber empezado el experimento.

Las variables demográficas de *Brachionus rubens* (promedio de vida, esperanza de vida, tasa reproductiva bruta, tasa reproductiva neta, crecimiento poblacional y tiempo generacional), expuestos a diferentes concentraciones de zinc, se muestran en la Fig. 13. La totalidad de las variables demográficas muestra una relación inversamente proporcional con el aumento en la concentración de zinc en el medio. Estadísticamente las variables demográficas fueron significativamente influenciadas por el tóxico (Tabla 5). El promedio de vida de *Brachionus rubens* varió (2.32 – 10.96 días), la esperanza de vida (1.82 – 10.46 días), tasa reproductiva bruta (0.91 – 102.7 Ind.), tasa reproductiva neta (0.6 – 39.88 Ind.), tasa de crecimiento poblacional (- 0.39 – 1.25) y tiempo generacional (1.11 – 7.83 días).

Las variables demográficas de *Brachionus patulus* (promedio de vida, esperanza de vida, tasa reproductiva bruta, tasa reproductiva neta, crecimiento poblacional y tiempo generacional), expuestos a diferentes concentraciones de zinc, se muestran en la Fig. 14. Las variables demográficas muestran una relación inversamente proporcional con el aumento en la concentración de zinc en el medio. Estadísticamente las variables demográficas fueron significativamente influenciadas por el tóxico (Tabla 6). El promedio de vida de *Brachionus patulus* varió (2.48-13.72 días), la esperanza de vida (1.98 – 13.22 días), tasa reproductiva

bruta (0.14 – 31.58 Ind.), tasa reproductiva neta (0.12 – 13.28 Ind.), tasa de crecimiento poblacional (- 2.12 – 0.52) y tiempo generacional (1 – 9.4 días).

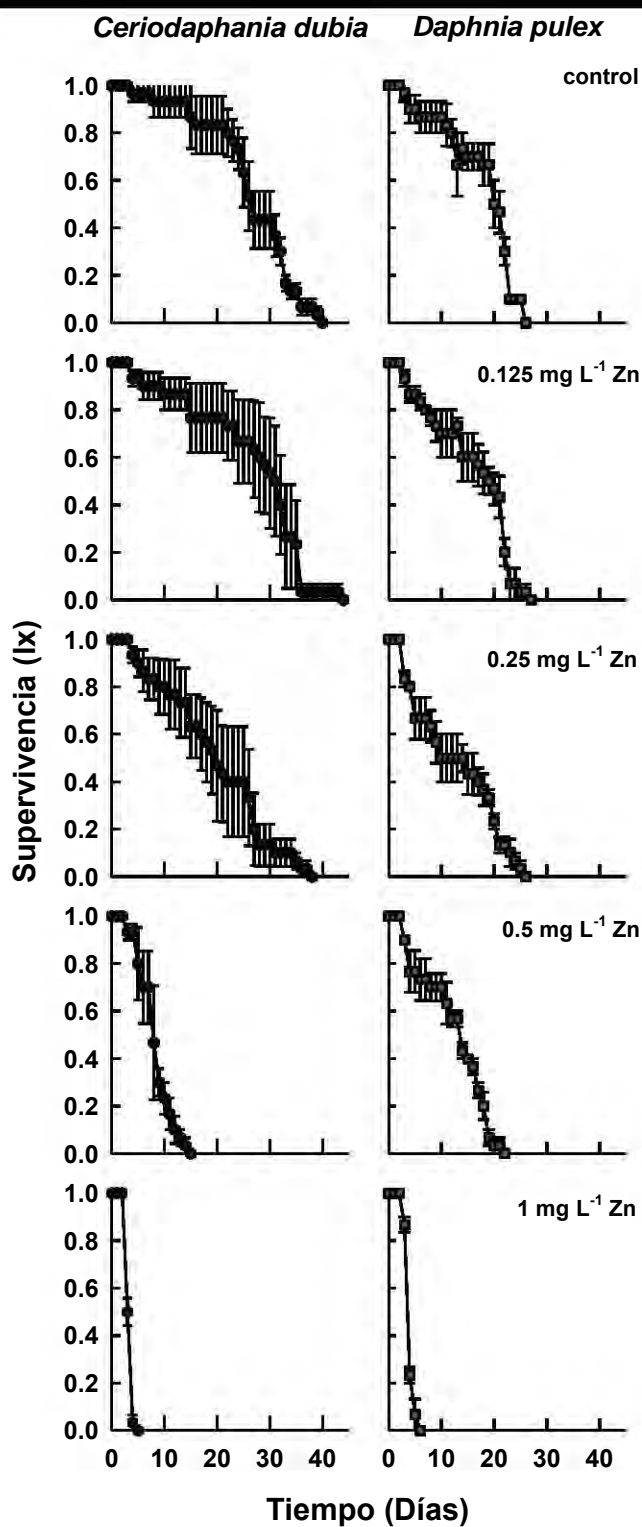


Figura 7: Supervivencia de *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* expuesta a diferentes concentraciones de zinc.

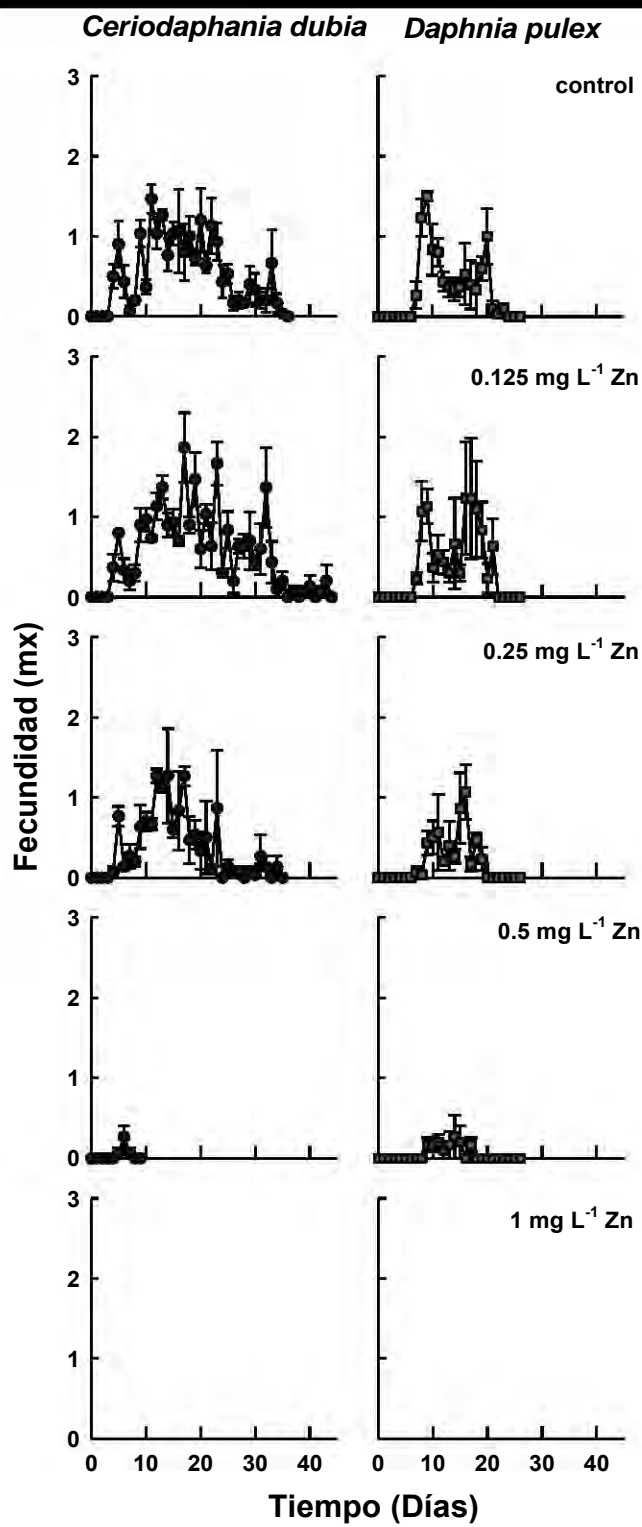


Figura 8: Fecundidad de *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* expuesta a diferentes concentraciones de zinc.

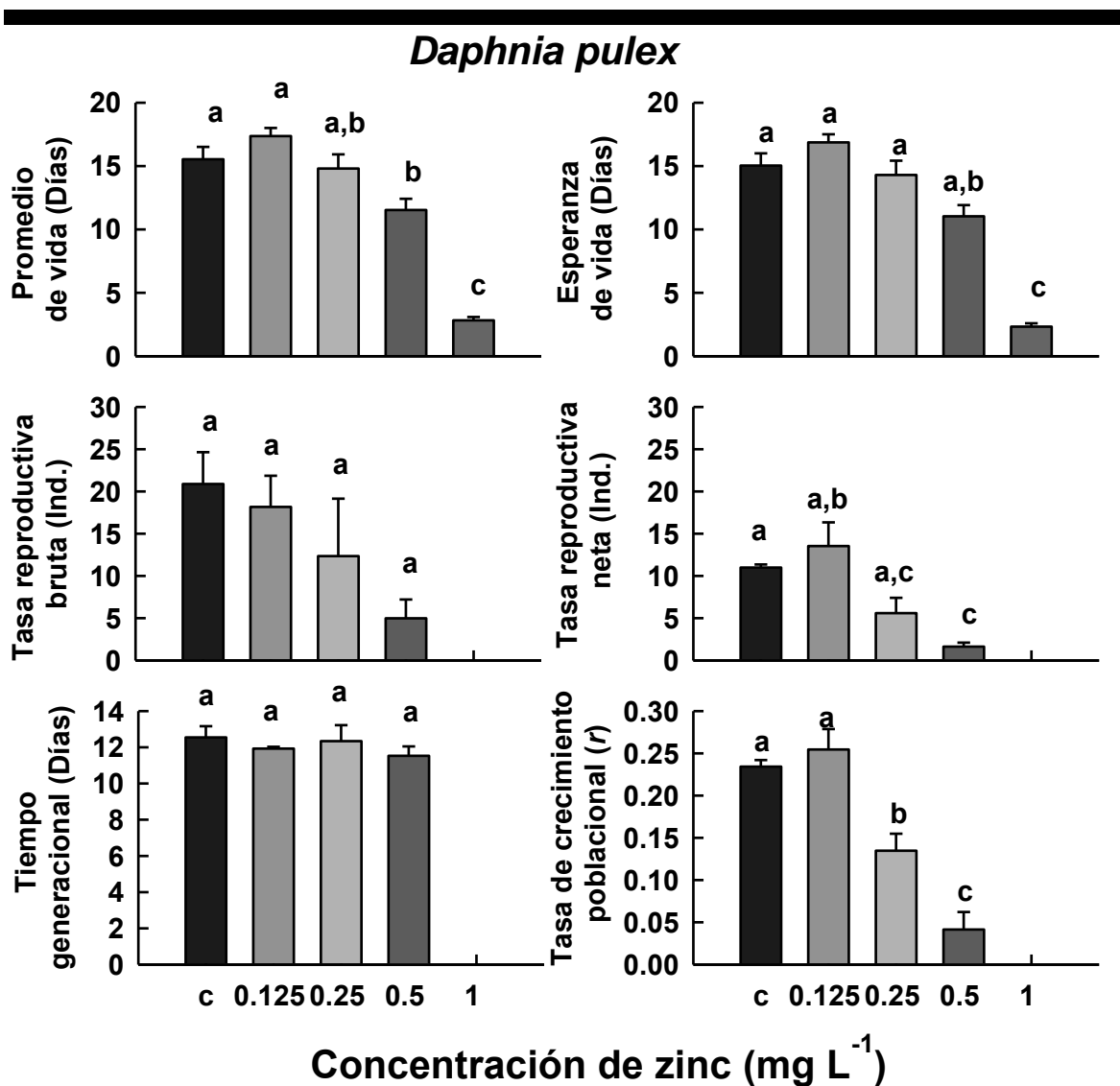


Figura 9: Variables de la tabla de vida de *Daphnia pulex* expuesta a diferentes concentraciones de zinc, las letras indican diferencia significativa entre cada tratamiento las barras que comparten letra no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de tukey = $P < 0.050$).

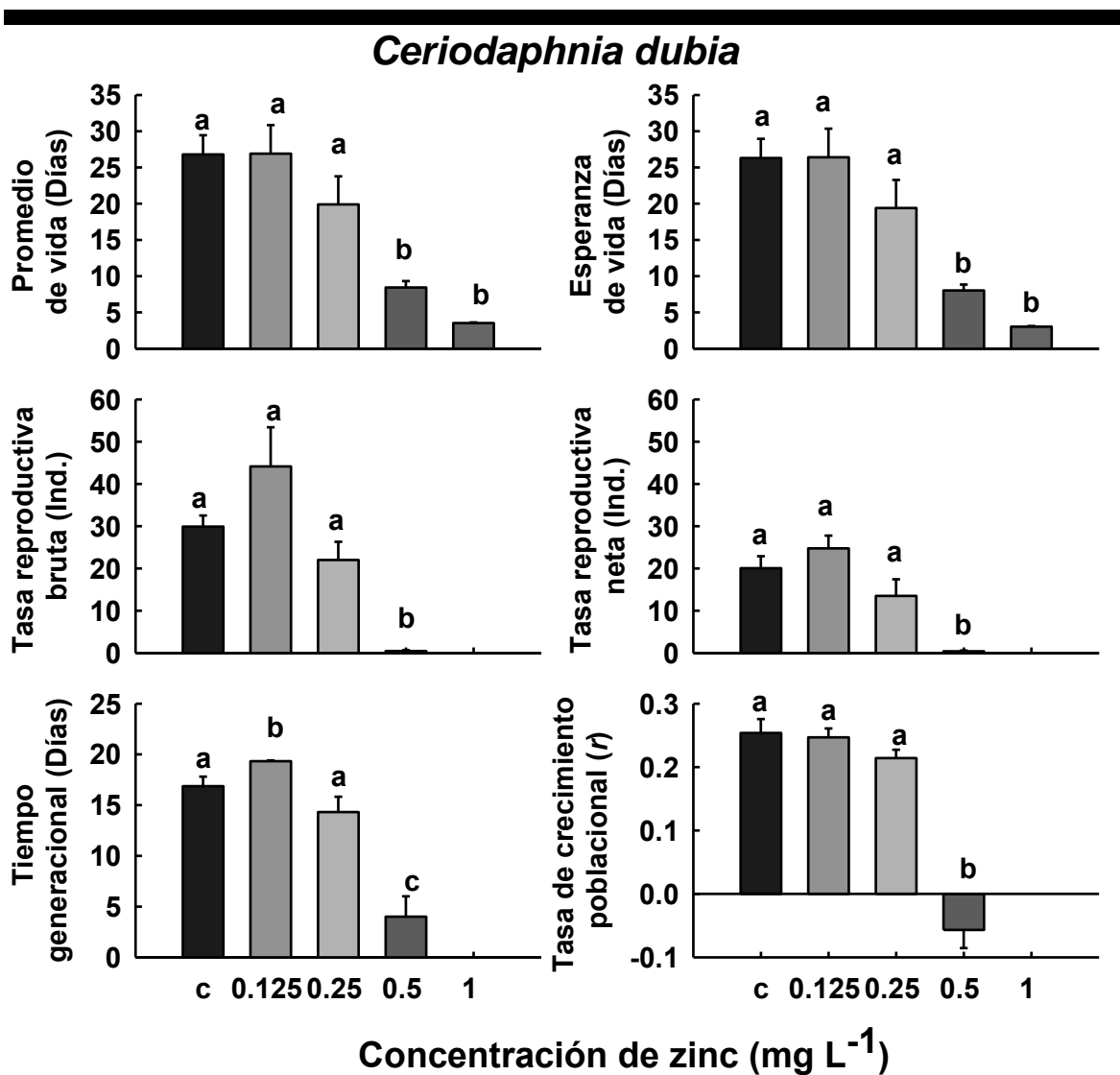


Fig.10: Muestra las variables de la tabla de vida de *Ceriodaphnia dubia* expuesta a diferentes concentraciones de zinc, las letras indican diferencia significativa entre cada tratamiento las barras que comparten letra no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de tukey = $P < 0.050$).

Tabla 3: ANDEVA's de las características demográficas de la tabla de vida de *Ceriodaphnia dubia* bajo diferentes niveles de Zn. *** = $p < 0.001$

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Promedio de vida				
Entre niveles Zn	4	1371.40	342.85	14.82***
Error	10	231.31	23.13	
Esperanza de vida				
Entre niveles Zn	4	1366.22	341.55	14.82***
Error	10	230.39	23.03	
Tasa reproductiva bruta				
Entre niveles Zn	4	4393.32	1098.33	16.48***
Error	10	666.16	66.61	
Tasa reproductiva neta				
Entre niveles Zn	4	1525.64	381.41	19.50***
Error	10	195.51	19.55	
Tiempo generacional				
Entre niveles Zn	4	854.03	213.51	49.46***
Error	10	43.16	4.31	
Tasa de crecimiento poblacional r				
Entre niveles Zn	4	0.26	0.06	65.92***
Error	10	0.01	0.001	

Tabla 4: ANDEVA's de las características demográficas de la tabla de vida de *Daphnia pulex* bajo diferentes niveles de Zn. *** = $p < 0.001$, ** = $p < 0.019$

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Promedio de vida				
Entre niveles Zn	4	397.55	99.38	47.67***
Error	10	20.84	2.08	
Esperanza de vida				
Entre niveles Zn	4	397.55	99.38	47.67***
Error	10	20.84	2.08	
Tasa reproductiva bruta				
Entre niveles Zn	4	922.91	230.72	4.86**
Error	10	474.58	47.45	
Tasa reproductiva neta				
Entre niveles Zn	4	409.06	102.26	14.79***
Error	10	69.11	6.91	
Tiempo generacional				
Entre niveles Zn	4	352.28	88.07	101.48***
Error	10	8.67	0.86	
Tasa de crecimiento poblacional r				
Entre niveles Zn	4	0.16	0.03	32.06***
Error	10	0.01	0.001	

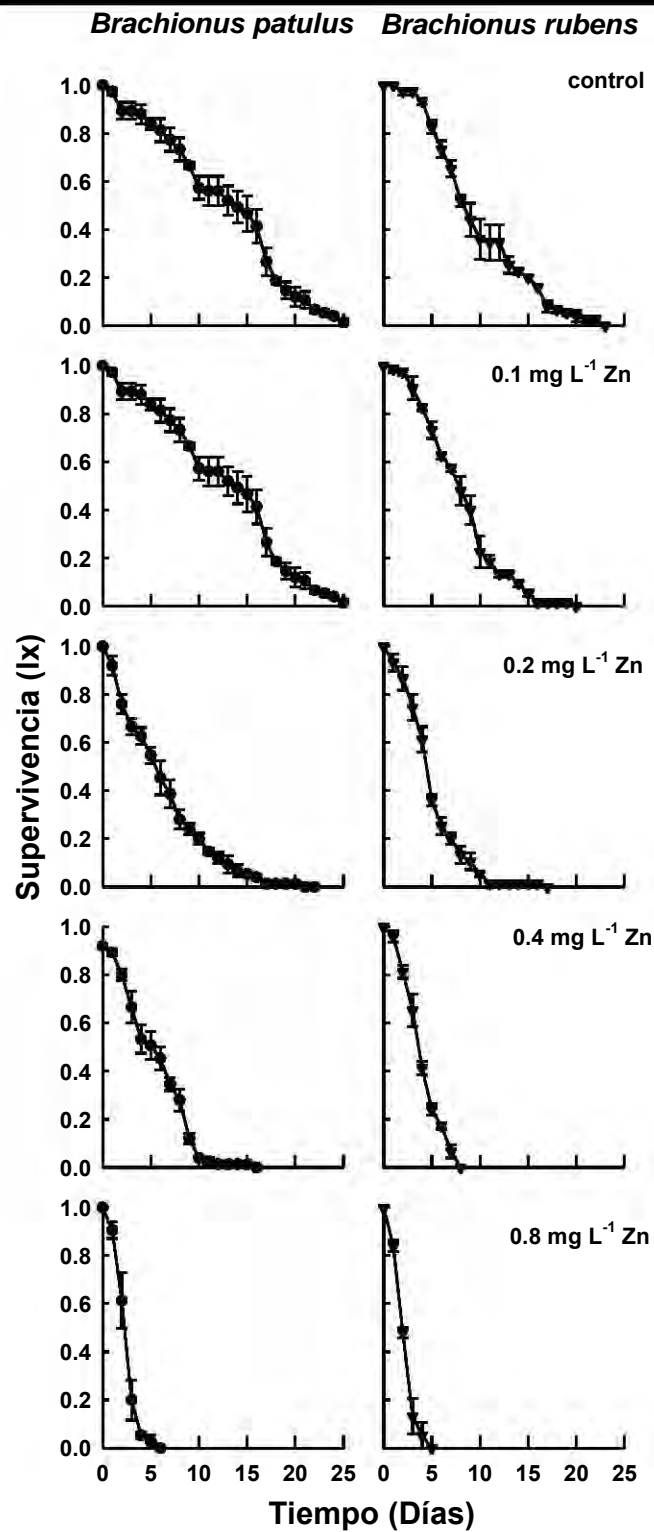


Figura 11: Supervivencia de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus*, expuestas a diferentes concentraciones de zinc.

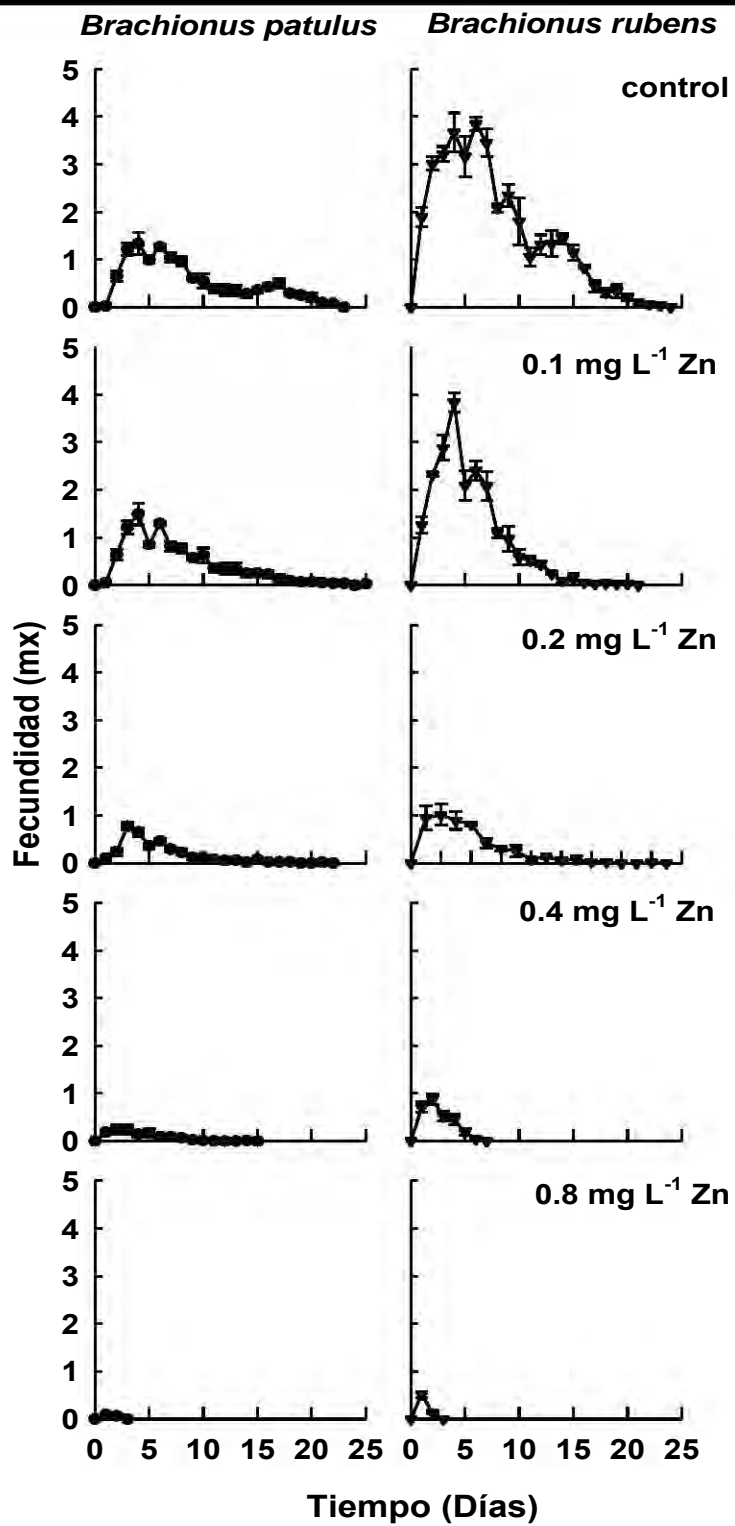


Figura 12: Fecundidad de *Brachionus rubens* y *Brachionus patulus*, expuestas a diferentes concentraciones de zinc.

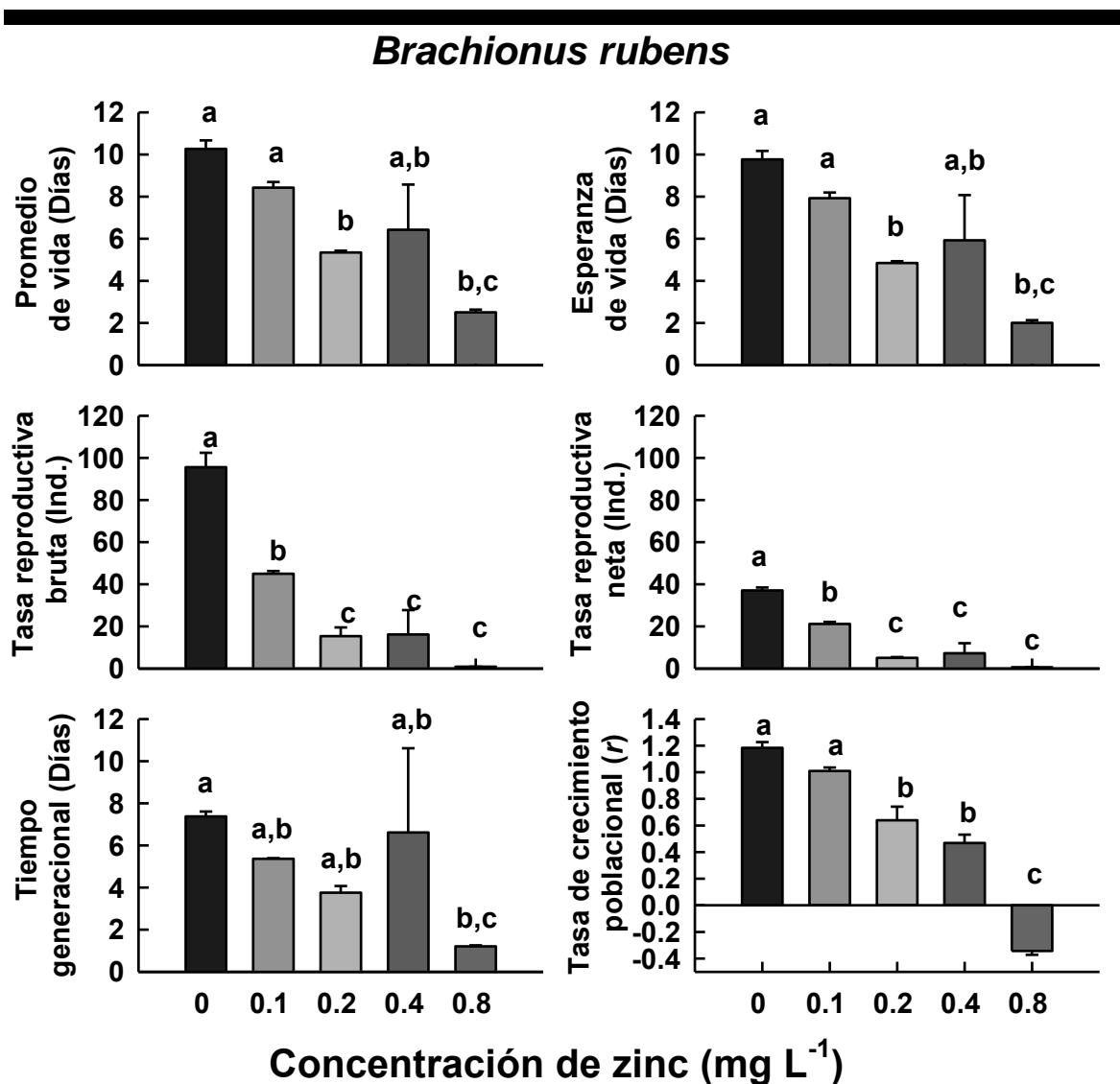


Figura 13: Variables de la tabla de vida de *Brachionus rubens* expuesta a diferentes concentraciones de zinc, las letras indican diferencia significativa entre cada tratamiento las barras que comparten letra no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de tukey $p < 0.050$).

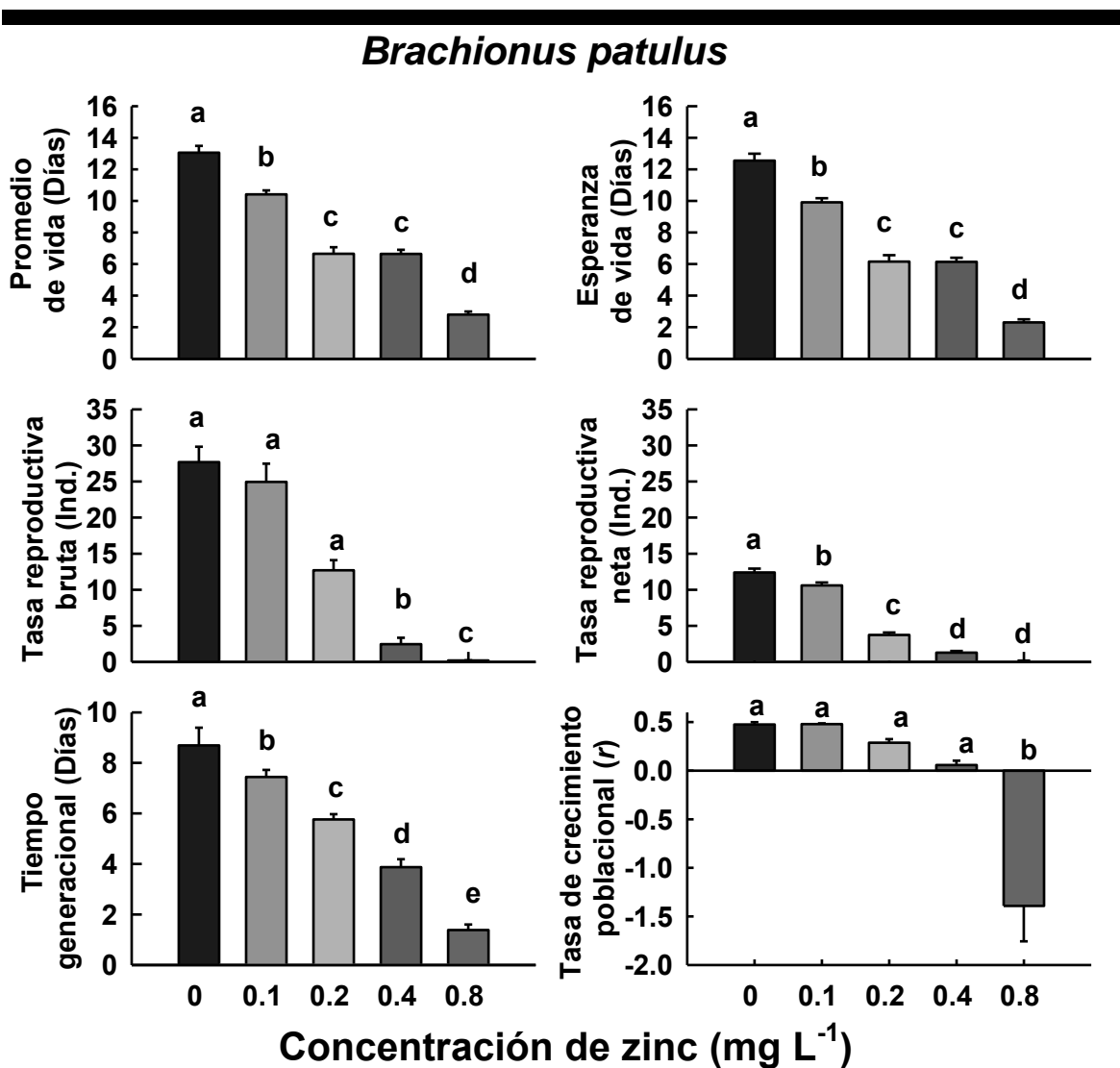


Figura 14: Variables de la tabla de vida de *Brachionus patulus* expuesta a diferentes concentraciones de zinc, las letras indican diferencia significativa entre cada tratamiento las barras que comparten letra no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de tukey $p \leq 0.050$).

Tabla 5: ANDEVA's de las características demográficas de la tabla de vida de *Brachionus rubens* bajo diferentes niveles de Zn. *** = $p < 0.001$

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Promedio de vida				
Entre niveles Zn	4	105.41	26.35	9.01***
Error	10	29.22	2.92	
Esperanza de vida				
Entre niveles Zn	4	105.41	26.35	9.018***
Error	10	29.22	2.92	
Tasa reproductiva bruta				
Entre niveles Zn	4	17011.87	4252.96	35.42***
Error	10	1200.52	120.05	
Tasa reproductiva neta				
Entre niveles Zn	4	2658.39	664.59	42.91***
Error	10	154.85	15.48	
Tiempo generacional				
Entre niveles Zn	4	72.63	18.16	1.87***
Error	10	97.02	9.70	
Tasa de crecimiento poblacional r				
Entre niveles Zn	4	2.60	0.65	63.87***
Error	10	0.10	0.01	

Tabla 6: ANDEVA's de las características demográficas de la tabla de vida de *Brachionus patulus* bajo diferentes niveles de Zn. *** = $p < 0.001$

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Promedio de vida				
Entre niveles Zn	4	186.07	46.51	146.54***
Error	10	3.17	0.31	
Esperanza de vida				
Entre niveles Zn	4	186.07	46.51	146.54***
Error	10	3.17	0.31	
Reproducción bruta				
Entre niveles Zn	4	1895.68	473.92	58.05***
Error	10	81.63	8.16	
Reproducción neta				
Entre niveles Zn	4	368.57	92.14	243.88***
Error	10	3.77	0.37	
Tiempo generacional				
Entre niveles Zn	4	100.82	25.20	55.38***
Error	10	4.55	0.45	
Tasa de crecimiento poblacional r				
Entre niveles Zn	4	7.42	1.85	22.59***
Error	10	0.82	0.08	

DISCUSIÓN

Las curvas de supervivencia para las especies de seleccionadas normalmente aparecen en forma rectangular bajo condiciones óptimas en donde se observa poca mortalidad durante la mayor parte de la historia de vida y después un aumento drástico en la mortalidad por la senescencia, esta tendencia se puede observar en las Fig.7 y Fig. 11; sin embargo, con el aumento en la concentración del zinc en el medio las curvas de supervivencia se muestran diferentes a la del testigo, en donde, a partir de la primera semana y en adelante empieza la mortalidad; cuando la concentración de zinc fue más alta (0.8 mg L^{-1}), la sobrevivencia se vio reducida drásticamente, la población no sobrevivió más de tres días. Varias especies de rotíferos, tanto como cladóceros, han mostrado una disminución significativa en la sobrevivencia con el aumento del tóxico en el medio (Gama-Flores *et al.*, 2007).

Las curvas de fecundidad de cladóceros y rotíferos bajo condiciones óptimas y en ausencia de estrés normalmente muestran una tendencia de distribución normal, en donde los primeros días después de la maduración sexual y en la fase cerca de la post-reproducción tienen baja tasa reproductiva y en la edad media el número de descendientes por hembra es alto, esta tendencia se puede ver en el testigo de *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) y *Brachionus rubens*, *Brachionus patulus* (Rotifera); sin embargo, con el aumento en la concentración de zinc en el medio podemos observar la disminución no solo en la amplitud, sino también en la magnitud, esto quiere decir que con el aumento de la concentración del zinc en el medio la cantidad de neonatos y el tiempo que las hembras pueden reproducirse disminuye considerablemente. Cuando la concentración de zinc fue mayor de 0.8 mg L^{-1} ambos, cladóceros y rotíferos, sufrieron efectos adversos en la reproducción, lo que resultó en la reproducción casi nula. Estas observaciones coinciden con varios trabajos publicados sobre rotíferos y cladóceros utilizando distintos tóxicos incluyendo metales potencialmente tóxicos, como cadmio y zinc (Juárez-Franco *et al.*, 2007); por otro lado debido a que zinc es un metal esencial,

en baja concentración puede promover un incremento en la reproducción lo cual se conoce como hormesis (Calabrese y Baldwin, 1998).

En este trabajo podemos observar hormesis en dos especies (*Daphnia pulex* y *Brachionus rubens*) de acuerdo a Calabrese y Baldwin (1998) la hormesis está presente en algunos casos de estrés, asociado a metales potencialmente tóxicos; los resultados del presente estudio están de acuerdo con esta observación en donde solo 50 % de las especies seleccionadas mostraron hormesis, el número de descendientes por hembra el cual puede variar entre 1 y 4 individuos; sin embargo, para la mayoría de los casos de especies zooplanctónicas seleccionadas, la densidad no llegó a 1 descendiente por hembra debido a varios factores y características biológicas de las especies, por ejemplo, los rotíferos no tienen un periodo de maduración reproductiva estrictamente definido y cada doce horas se reproducen, por otro lado, los cladóceros muestran periodos de maduración distintos y dejan sus neonatos en distintas camadas, los cuales pueden variar entre una y dos semanas (Sarma *et al.*, 2005). En este trabajo, las especies de cladóceros muestran una duración del periodo de maduración alrededor de 7 días, el estrés puede prolongar la duración del periodo de maduración, tanto el número de individuos del mismo, algunas veces en los cladóceros el número de la camada y el tiempo entre una y otra camada puede no resultar afectada necesariamente, sin embargo, los descendientes nacen muertos lo cual no contribuye a la población, por lo tanto no podemos incluirlos para obtener las variables reproductivas (por ejemplo, tasa de crecimiento poblacional).

La esperanza de vida y promedio de vida normalmente se observan semejantes bajo condiciones óptimas, sin embargo, dependiendo del patrón de mortalidad en los neonatos, estas variables se puede ver afectadas independientemente de las especies zooplanctónicas. El aumento en la concentración del zinc muestra una disminución en el promedio y esperanza de vida, esto se puede observar en las Figs. 9, 10, 13 y 14. Generalmente, los cladóceros del género *Ceriodaphnia* y *Daphnia* tienen un promedio de vida más largo que los rotíferos del género

Brachionus en el testigo. En este trabajo, el promedio de vida de los cladóceros fue mayor (15 – 25 días) que los rotíferos (10 - 15 días).

El número total de descendientes en la vida de un organismo se le denomina tasa reproductiva bruta, cuando la tasa reproductiva bruta está evaluada junto con la supervivencia de las hembras se llama tasa reproductiva neta lo cual normalmente es menor que la tasa reproductiva bruta. La información sobre la tasa reproductiva bruta y neta en la especies de cladóceros tanto templados como tropicales fue revisada recientemente (Sarma *et al.*, 2005). En los rotíferos del género *Brachionus* generalmente la tasa reproductiva bruta puede variar entre 15 y 30 descendientes por hembra en la totalidad de su historia de vida. Generalmente las especies zooplanctónicas son más sensibles en las variables reproductivas que en las variables de supervivencia, ya que aunque sobreviven un par de días en la concentración más alta no pueden reproducirse y por eso es que resultan más sensibles al tóxico en las variables reproductivas que en las de supervivencia, en este trabajo se puede observar que aunque los rotíferos y cladóceros sobrevivieron un par de días en la concentración más alta de zinc, la reproducción se inhibió totalmente. En el testigo la tasa reproductiva bruta de *Brachionus patulus* y *Brachionus rubens* fueron 13.72 días y 10.96 días respectivamente, por otro lado en condiciones de estrés se vio adversamente afectado hasta 2.48 días para *Brachionus patulus* y de 2.32 días para *Brachionus rubens*, la tasa reproductiva neta mostró una tendencia semejante.

El tiempo generacional de los cladóceros generalmente es mayor que el de los rotíferos, en comparación las especies de cladóceros del género *Moina*, *Ceriodaphnia* y *Daphnia* el tiempo generacional es más largo alrededor de 20 días. Los rotíferos generalmente tienen corto tiempo generacional y puede variar alrededor de 7 y 10 días, algunas especies carnívoras como *Asplanchna* tiene tiempo generacional muy corto, cerca de 4 días. El Tiempo generacional no necesariamente es una variable sensible a los exposición de elementos potencialmente tóxicos, varios trabajos previamente publicados muestran que esta

variable no es consistentemente sensible a los tóxicos como pesticidas y metales potencialmente tóxicos, sin embargo, en este trabajo el tiempo generacional fue afectado con la presencia de zinc en el medio, tanto a cladóceros como a rotíferos.

Una de las pocas variables de la historia de vida de consistentemente sensible es la tasa de crecimiento poblacional, algunos trabajos han mostrado que esta variable es la más sensible de la historia de vida de rotíferos como de cladóceros. En el testigo de las especies de el r varió entre 0.25 y 1.2 dependiendo de la especie el r fue negativo a partir de 0.4 mg L^{-1} en los rotíferos y de 0.5 mg L^{-1} en el caso de los cladóceros, estadísticamente las mayoría de las variables que fueron evaluadas en los cladóceros así como en los rotíferos estuvo significativamente influenciado por la presencia de zinc lo cual muestra la toxicidad del elemento en altas concentraciones, en otros organismos zooplanctónicos niveles de zinc arriba de 1 mg L^{-1} resultó en una disminución en la tasa de crecimiento poblacional en comparación del testigo, los resultados del presente estudio están de acuerdo con esto.

CONCLUSIONES

El zinc es un metal esencial, pero en altas concentraciones puede ser tóxico, a partir de 0.2 y 0.25 mg L⁻¹, es tóxico para las especies seleccionadas. *Brachionus rubens* y *Daphnia pulex* en la concentración de 0.1 y 0.125 mg L⁻¹ respectivamente mostró un efecto de hormesis.

De acuerdo a la norma oficial mexicana 001-ECOL-1996 la concentración máxima permisible de zinc es de 10 mg L⁻¹, este trabajo muestra que para organismos zooplanctónicos seleccionados una concentración superior 0.1 mg L⁻¹, mostró un efecto adverso para el crecimiento poblacional y la historia de vida de las especies seleccionadas.

Cuando fueron alimentados con *Chlorella vulgaris* a una densidad de alimento de 1 X10⁶ células, los rotíferos alcanzaron densidades de 150 ind. ml⁻¹ para *Brachionus rubens* y de 30 ind. ml⁻¹ para *Brachionus patulus*.

Cuando fueron alimentados con *Scenedesmus acutus* a una densidad de alimento de 0.5 X10⁶ células, los cladóceros alcanzaron densidades de *Ceriodaphnia dubia* 5 ind. ml⁻¹ y *Daphnia pulex* 2 ind. ml⁻¹.

La supervivencia y la fecundidad, la relación fue inversamente proporcional a la concentración de zinc en el medio.

Literatura Consultada

Alloway, B.J. 1995. Heavy metals in soils. Blackie Academic and Professional. Glasgow, UK. 368 pp.

Azuara-García, R.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2006. The combined effects of zinc and alga on the life table demography of *Anuraeopsis fissa* and *Brachionus rubens* (Rotifera). Journal of Environmental Science and Health. Part A 41(4): 559-572

Borowitzka, M. A. & Borowitzka, L. J. 1998. Micro-algal biotechnology. Cambridge University Press, United Kingdom.

Calabrese E.J. & Baldwin, L.A. 1998. as a biological hypothesis. Environmental Health Perspectives 106. (Supple. 1.): 357-362.

Cervantes, C. & Moreno-Sánchez R. (eds), 1999. Contaminación ambiental por metales pesados. Impacto en los seres vivos. AGT Publishers, Mexico City, Mexico.

Dodson, S.I. & Frey, D.G. 2001. Cladocera and other Branchiopoda. In Thorp, J.H. & Covich, A.P. (eds) Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. Second edition. Academic Press, San Diego, San Francisco: 849-913.

Downing, J.A. & Rigler, F.H. (Eds.) 1984. "A manual for the methods of assessment of secondary productivity in fresh waters." 2nd ed. IBP Handbook 17. Blackwell Scientific Publ. London, pp. 501.

Dumont, H. & Negrea, S. 2002. Introduction to the Class Branchiopoda. Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World, Backhuys Publishers, The Netherlands.

Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3 rd Ed. Cambridge University Press London

Gama-Flores, J.L.; Castellanos-Paez, M.E.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2007. Life table demography of *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) exposed to copper at different levels and periods. *Journal of Environmental Biology* 28(3): 691-696

Gama-Flores, J. L.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2006. Effect of cadmium level and exposure time on the competition between zooplankton species *Moina macrocopa* (Cladocera) and *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Journal of Environmental Science and Health. Part A. Toxic/ Hazardous Substance & Environmental Engineering*. 41: 1057-1070.

García-García, G.; Nandini, S. & Sarma, S.S.S. 2006. Turbidity migrates lead toxicity to cladocerans (Cladocera). *Ecotoxicology*. 15(5): 425-436.

Gliwicz, Z.M. 1990. Why do cladocerans fail to control algal blooms? *Hydrobiologia*. 200/2001: 83-97.

Hutchinson, G.E. 1967. *A Treatise on Limnology*. Vol. 2. John Wiley, New York. 1115 pp.

Juárez-Franco, M.F.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2007. Effect of cadmium and zinc on the population growth of *Brachionus havanaensis* (Rotifera: Brachionidae). *Journal of Environmental Science and Health Part A*. 42(10): 1489-1493

Kirk, K. L. 1997. Life-history responses to variable environments: starvation and reproduction in planktonic rotifers. *Ecology* 78(2): 434-441.

Klerks, L.P. & Lentz, A.S. 1998, Resistance to lead and zinc in the western mosquitofish *Gambusia affinis* inhabiting contaminated Bayou Trepagnier. *Ecotoxicology*. 7: 11-17.

Koste, W. 1978. *Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas*. Borntraeger, Berlin, Stuttgart. 2 vols.

Krebs, C.J. 1985. *Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance*. 3rd ed. Harper & row, New York. 800.

Lampert, W. & Sommer, U. 1997. Limnoecology. The ecology of lakes and streams. Oxford University Press, New York, 382 pp.

Lapinsky, J. & Tunnacliffe, A. 2003. Anhydrobiosis without trehalose in bdelloid rotifers. FEBS (Federation of European Biochemical Societies) by Elsevier. 553: 387-390.

Mangas-Ramírez, E.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2001. Acute and chronic toxicity of ammonium chloride to the cladoceran *Daphnia pulex* in relation to algal food density. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 67(6): 834-840 (USA).

Montúfar-Meléndez, A.I.; Sánchez-Ortíz, J.R.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2007. Combined effects of temperature and lead concentration on the competition between the rotifers *Brachionus havanaensis* and *Brachionus rubens* (Rotifera: Brachionidae). Journal of Environmental Science and Health Part A 42(3): 393-398

Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996. Que Establece los Límites Máximos Permisibles de Contaminantes en la Descargas de Aguas Residuales en Aguas y Bienes Nacionales. Publicada En El Diario Oficial De La Federación el 24 de Junio de 1996.

Pavón-Meza, E. L.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 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.

Pérez-Legaspi, I.A. & Rico-Martínez, R. 2001. Acute toxicity test on three species of the genus *Lecane* (Rotifera: Monogononta). Hydrobiologia. 446/447: 375-381.

Preston, B. L.; Cecchine, G. & Snell, T. W. 1999. Effects of pentachlorophenol on predator avoidance behavior of the rotifer *Brachionus calyciflorus*. Aquatic Toxicology. 44(3): 201-212.

Ruppert, E. E. & Barnes, R. D. 1996. Zoología de los invertebrados. 6^a ed. Edit. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 1114 p.

Sarma, S.S.S.; Martínez-Jerónimo, F.; Ramírez-Pérez, T. & Nandini, S. 2006. Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). Journal of Environmental Science and Health Part A 41(4): 543-558.

Sarma, S.S.S.; Núñez-Cruz, H.F. & Nandini, S. 2005. Effects on the population dynamics of *Brachionus rubens* (Rotifera) caused by mercury and cadmium administered through medium and algal food (*Chlorella vulgaris*). Acta Zoologica Sinica. 51(1): 46-52.

Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2001. Life table demography and population growth of *Brachionus variabilis* Hampel, 1896 in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) density. Hydrobiologia 446/447: 75-83.

Snell, T. W. & Janssen, C.R. 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. Hydrobiology. 313/314: 231-247.

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. Biometry. 3rd Ed. W.H. Freeman and Company, USA. 451-554p.

Supuran, C. T. & Winum, J.Y. (Ed) 2009. Drug design of zinc-Enzyme inhibitors. John Wiley & Sons, Inc. USA 1005 pp.

Vallee, B. W. & Falchuk, K. H. 1993. The biochemical basis of zinc physiology. Physiol. Rev. 73, 79–118.

Wallace, R.L. Snell T. W. Ricci, C. & Nogrady, T. 2006 Rotifera Part 1: Biology, Ecology and Systematics. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Kenobi Productions Gent/ Backhuys. The Netherlands. 299 pp.

Weber, C.I. 1993. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organism. 4th ed. United States Environmental Protection Agency. Cincinnati. Ohio. EPA/600/4-90/027F. XV+293pp.

Williams, L.G. & Mount, D.I. 1965. Influence of Zinc on Periphytic Communities. American Journal of Botany. 52(1): 26-34.

Zar, JH. 1984. Biostatistical Analysis. 2^d Ed. Prentice-Hall Inc. New Jersey.

Zou, E. 1997. Effects of Sublethal Exposure to Zinc chloride on the reproduction of the water flea, *Moina irrasa* (Cladocera). Bulletin of Environmental Contamination. Toxicology. 58:437-441.

ANEXO I**TRABAJOS DERIVADOS**

III Congreso de Ecotoxicología y Química Ambiental con el trabajo: “Efecto del zinc sobre competencia entre *Brachionus calyciflorus* & *Brachionus macracanthus*” Facultad de Ciencias, UNAM; México D.F., del 7 al 12 de Abril del 2008.

XII Rotifera. Con el trabajo: “Effect of zinc on the competition among three brachionid rotifers (*B. calyciflorus*, *B. macracanthus* and *B. patulus*) (Rotifera: Brachionidae)” Berlin, Alemania, del 16 al 21 de Agosto del 2009

ANEXO II

Artículo publicado

Comparative population growth of *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia pulex* (Cladocera) exposed to zinc toxicity

JONATHAN RAÚL SÁNCHEZ-ORTÍZ¹, S.S.S. SARMA¹ and S. NANDINI²

¹Laboratory of Aquatic Zoology, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, Mexico

²UIICSE, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, Mexico

Population growth of two cladocerans (*Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia pulex*) exposed to 4 different concentrations of ZnCl₂ (0.125, 0.25, 0.5 and 1.0 mg L⁻¹, plus controls) at one algal food (*Scenedesmus acutus*) density (0.5X10⁶ cells mL⁻¹) was quantified for 30 days. Population densities of *C. dubia* and *D. pulex* decreased with increasing concentration of Zn in the medium. At a concentration of 1 mg L⁻¹ of ZnCl₂, both *C. dubia* and *D. pulex* did not reproduce and died within a week. The peak population densities of *C. dubia* ranged from 0.2 to 6.0 ind. mL⁻¹, depending on the Zn level in the medium, whereas this range was lower for *D. pulex* (0.2 to 4.1 ind. mL⁻¹). The peak population density was inversely related to the Zn concentration. The rate of population increase (*r*) varied from -0.12 to +0.14 and -0.02 to +0.23 per day for *C. dubia* and *D. pulex*, respectively, depending on the Zn level in the medium. Statistically, both the peak population density and the *r* were significantly affected by the heavy metal concentration in the medium. Multiple comparison tests showed that the rate of population increase (*r*) of *D. pulex* in the lowest ZnCl₂ level (0.125 mg L⁻¹) was significantly higher than controls. However, under similar conditions, the *r* of *C. dubia* was significantly lower than controls. With a further increase in Zn level, the growth rates of both the cladoceran species were significantly reduced as compared to controls. The results are discussed in relation to published data on the toxicity of zinc to freshwater zooplankton.

Keywords: Heavy metal, zooplankton, population dynamics, chronic toxicity.

Introduction

Zinc is among the few heavy metals that are abundant in nature and essential for all organisms. However, in recent times the increased production, consumption and release of zinc into aquatic ecosystems have greatly influenced zooplankton production and dynamics.^[1,2] In freshwater bodies, zooplankton is mainly composed of rotifers, cladocerans and copepods. In terms of biomass, cladocerans often are dominant and because they lack naupliar stages (unlike copepods), they mature rapidly and occupy all the available microhabitats (e.g., limnetic, benthic and periphytic regions) in ponds and lakes.^[3] Compared to the vast number of littoral and benthic cladocerans, planktonic species are few.^[4] However, in contaminated waterbodies, dissolved heavy metals including Zn more likely affect the planktonic genera such as *Moina*, *Ceriodaphnia*, *Daphnia* and *Diaphanosoma*.

Compared to *Moina* and *Diaphanosoma*, *Ceriodaphnia* and *Daphnia* have been routinely employed for both acute and chronic toxicity tests.^[5] *Daphnia* are predominantly temperate, and many of its species are not found in tropical waters.^[6] However, *D. magna*, a typical temperate species, has been considered as the standard bioassay organism even in some tropical nations (e.g., Mexico).^[7] Search for alternative cladoceran species has revealed that *Ceriodaphnia* is equally sensitive as *Daphnia* to stress. Published works show that most studies on ecotoxicology have considered either *Ceriodaphnia* or *Daphnia*, but rarely both.^[5] Therefore, comparative study involving both these genera would enable us to understand the relative sensitivities to a given toxicant.

Although short-term toxicity tests involve the derivation of median lethal concentrations, chronic evaluations consider various experimental procedures including quantification of population growth responses and life table demographic variables.^[8] It is generally believed that population dynamics act as a magnifying glass to facilitate detection of small changes in the survival and/or reproduction of a given zooplankton species under stressful conditions.^[9] Indeed, when *Ceriodaphnia dubia* was exposed to CuSO₄ at 0.2 mg L⁻¹ there was no detectable change in the rate of population increase (*r*) assessed through life table

Address correspondence to S.S.S. Sarma, Laboratory of Aquatic Zoology, Building U.M.F., Division of Research and Postgraduate Studies, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, A. P. 314, C. P. 54000, Los Reyes, Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico. E-mail: sarma@servidor.unam.mx

demography study.^[10] Under the same concentration of Cu, the same cladoceran species showed significantly reduced growth rates when evaluated using population dynamics.^[11] Thus, population dynamics methods detect the adverse effects of toxicants, which may be not easily quantifiable using other approaches such as a life table study. The aim of this work was, therefore, to study the patterns of population growth of *C. dubia* and *D. pulex* under different concentrations of Zn.

Materials and methods

Two species of cladocera (*Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia pulex*) were isolated from the Iturbide Dam in the town of Isidro Fabela (state of Mexico) and Lake Xochimilco (Mexico City), respectively. Clonal cultures of both the cladocerans were separately established starting from a single parthenogenetic female from each species. Reconstituted, moderately hard water (EPA medium) was used for maintaining the stock cultures and experimentation.^[12] The EPA medium was prepared by dissolving 96 mg of NaHCO₃, 96 mg, 60 mg of CaSO₄, 60 mg of MgSO₄ and 4 mg of KCL in 1 liter of distilled water. Both cladocerans were fed on the single-celled microalga *Scenedesmus acutus*, which was batch-cultured in 2 L transparent bottles using Bold's Basal medium.^[13]

The algae were harvested during the exponential phase, centrifuged at 4000 rpm, rinsed and resuspended in distilled water. The algal density was estimated using a hemocytometer. For evaluating the chronic toxic effects of the heavy metal, analytical grade zinc chloride was used. A stock solution of 100 mg L⁻¹ of ZnCl₂ in distilled water was prepared. Based on a preliminary range finding test, four final concentrations (0.125, 0.25, 0.50 and 1.0 mg L⁻¹) were selected. In order to feed the test species during toxicity tests, food density was used at a concentration of 0.5×10^6 cells mL⁻¹. For each concentration there were three replicates. Thus, in total there were 30 jars (2 cladoceran species X 5 heavy metal levels including controls X 3 replicates), each containing 25 ml medium with the specified level of Zn. Into each of the test jars, 5 individuals from one of the two species of cladocerans were introduced using a Pasteur pipette under stereomicroscope (Nikon SMZ 645, Japan) at a magnification of 20X. All experiments were conducted at $22 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 7.0 to 7.3 and under continuous but diffused fluorescent illumination. Following the initiation of the population growth experiment, the total number of living individuals from each replicate were quantified daily and then transferred to new jars containing fresh algal food and zinc at the chosen concentration. The experiments were discontinued after 30 days, by which time populations in most replicates began to decline.

Based on the data collected, the growth rate (r) was derived using the following Equation:^[14]

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t \quad (1)$$

where, N_0 = initial population density, N_t = density of population after time t (days). To determine whether there were significant differences among treatments on the r of given cladoceran species, the data were statistically tested using analysis of variance (ANOVA) and for multiple comparisons Tukey tests (Statistica version 5).

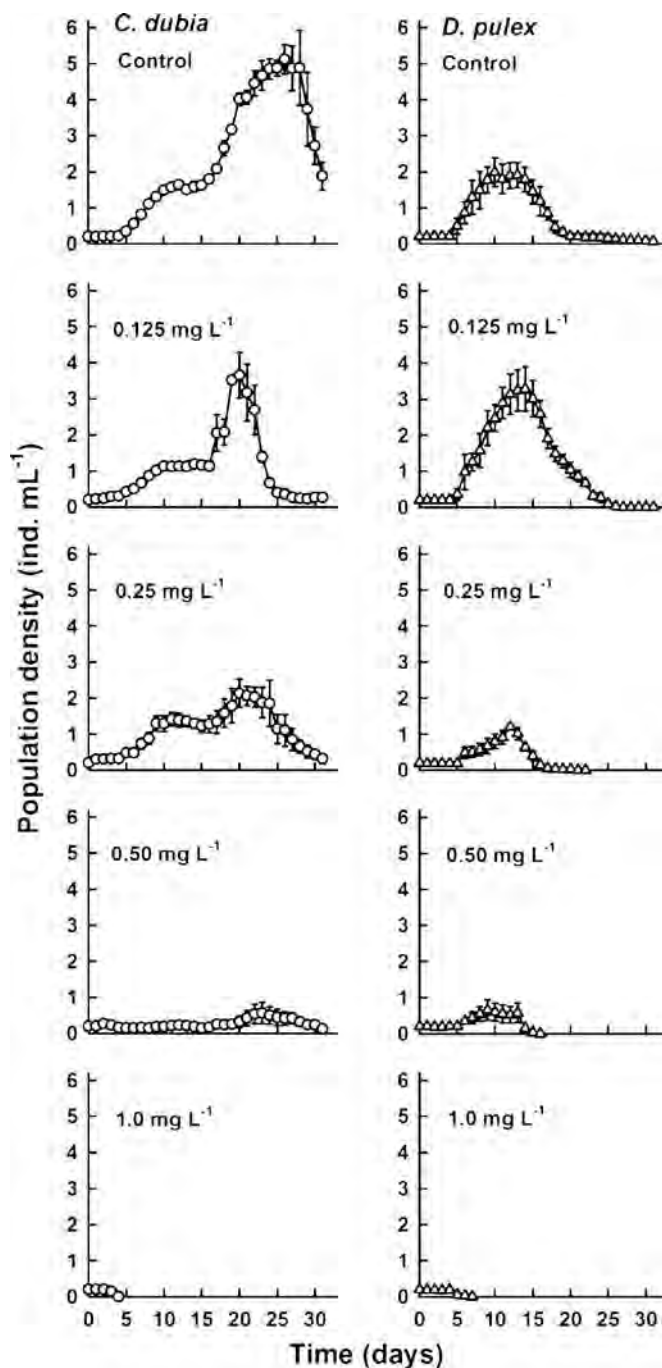


Fig. 1. Population growth curves of *Ceriodaphnia dubia* (circles) and *Daphnia pulex* (triangles) (daily fed on a food density of 0.5×10^6 cells mL⁻¹ of *Scenedesmus acutus*) subjected to different concentrations of ZnCl₂. Values represent mean \pm standard error based on three replicates.

Results

Population growth curves of *C. dubia* and *D. pulex* grown under different concentrations of Zn are presented in Figure 1. In general, the population densities of both the cladoceran species decreased with increasing concentration of Zn in the medium. At a ZnCl_2 concentration of 1 mg L^{-1} , both *C. dubia* and *D. pulex* did not reproduce and died within a week following exposure to the heavy metal. When compared to controls, ZnCl_2 at the lowest level (0.125 mg L^{-1}) reduced population growth of *C. dubia*, whereas for *D. pulex* there was an enhanced population density.

Peak population densities of *C. dubia* ranged from 0.2 to 6.0 ind. mL^{-1} depending on the Zn level in the medium, whereas this range was lower for *D. pulex* (0.2 to 4.1 ind. mL^{-1}). There was an inverse relationship between peak population density and the concentration of Zn in the medium for both the cladoceran species tested (Fig. 2). Depending on the Zn level in the medium, the rate of population increase (r) varied from -0.12 to $+0.14$ and -0.02 to $+0.23$ per day for *C. dubia* and *D. pulex*, respectively (Fig. 3). Statistically, both the peak population density and the r were significantly affected by the Zn concentration in the medium ($P < 0.001$, one-way ANOVA, Table 1). Multiple comparison tests (Tukey) showed that the rate of population increase of *D. pulex* in the lowest ZnCl_2 level (0.125 mg L^{-1}) was significantly higher than controls. However, under similar conditions, the r of *C. dubia* was significantly lower than controls. With further increase in Zn level, the growth rates of both the cladoceran species were significantly reduced as compared to controls.

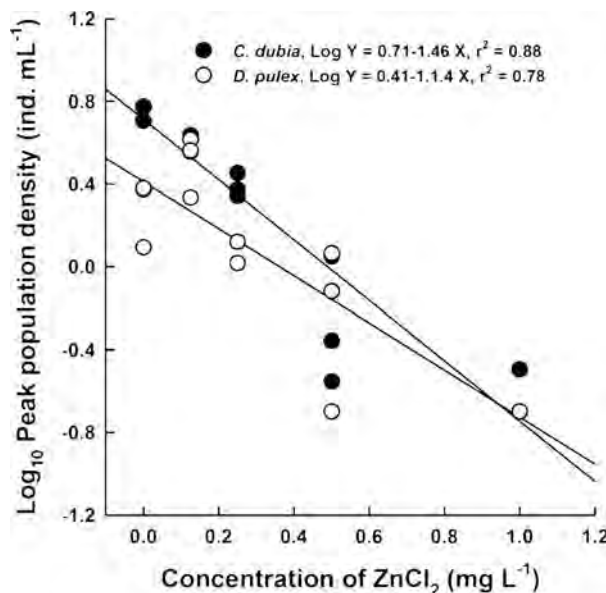


Fig. 2. Relationship between ZnCl_2 concentration (mg L^{-1}) and (\log_{10}) peak population density (ind. mL^{-1}) of *Ceriodaphnia dubia* (closed circles) and *Daphnia pulex* (open circles), daily fed on a food density of 0.5×10^6 cells mL^{-1} of *Scenedesmus acutus*. Plotted are the replicate data for each treatment.

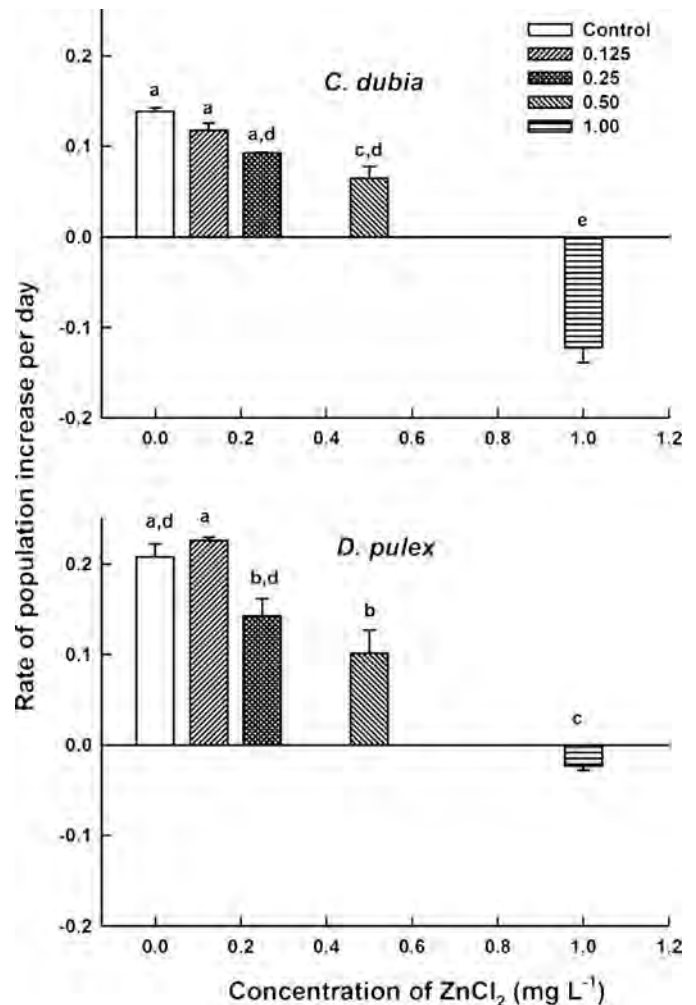


Fig. 3. Rate of population increase (r) per day of *Ceriodaphnia dubia* (circles) and *Daphnia pulex* (triangles) (daily fed on a food density of 0.5×10^6 cells mL^{-1} of *Scenedesmus acutus*) subjected to different concentrations of ZnCl_2 . Values represent mean \pm standard error based on three replicates. For each species data bars carrying similar alphabets are not statistically significant ($P > 0.05$, Tukey test).

Discussion

Although Zn is an essential heavy metal, it is required only in low concentrations for zooplankton. Thus, the cuticular structure and life span of cladocerans are affected if Zn is not available in sufficient quantity. For example, when the availability of Zn is $< 25 \mu\text{g}$ per daphnid, reduced survival and reproduction has been reported for *Daphnia magna* and *Daphnia pulex*.^[15] However, Zn is also toxic to a variety of aquatic organisms including both phyto- and zooplankton.^[16,17] For example, Zn at a concentration as low as $50 \mu\text{g/L}$ has adverse effects on the zooplankton of Lake Michigan.^[18]

In nature, cladocerans (particularly *Ceriodaphnia* and *Daphnia*) are exposed to Zn mainly through industrial effluents. National permissible levels suggest that zinc, relative to cadmium and mercury, is safe even up to 5 mg per liter in

Table 1. Peak population density and the rate of population increase per day (r) of *Daphnia pulex* and *Ceriodaphnia dubia* exposed to different concentrations of Zn*.

Source of variation	DF	SS	MS	F
Peak population density				
<i>C. dubia</i>				
Among Zn levels	4	15.72	3.93	109.62***
Error	10	0.36	0.036	
<i>D. pulex</i>				
Among Zn levels	4	17.72	4.43	12.76***
Error	10	3.47	0.347	
Rate of population increase				
<i>C. dubia</i>				
Among Zn levels	4	0.132	0.033	108.63***
Error	10	0.003	0.0003	
<i>D. pulex</i>				
Among Zn levels	4	0.119	0.029	40.01***
Error	10	0.007	0.0007	

*Analysis of variance (ANOVA); DF: degrees of freedom, SS: sum of squares; MS: mean square; F: F-ratio, *** = $P < 0.001$.

drinking water.^[19] Our results indicate that less than $1/10^{\text{th}}$ this concentration is not safe for the two cladocerans tested here. Published information based on 48 h acute toxicity indicates that cladocerans experience 50% immobilization (EC_{50}) to Zn at levels from 0.4 to 4.0 mg L⁻¹.^[20] Considering that the presumed safe concentration is $1/10^{\text{th}}$ EC_{50} ,^[21] Zn at concentrations higher than 0.04 mg L⁻¹ can exert adverse effects (such as reduced abundances and rate of population increase) to cladocerans under conditions of chronic exposure. Our present study showed that the chosen Zn levels are within this range affecting both the cladoceran species.

The growth curves of both the species of cladocerans showed a short lag phase of about 5 days, followed by a long exponential phase of 2 weeks by which time most populations in the replicates began to decline. Population growth of most species of *Ceriodaphnia* (e.g. *C. rigaudi*^[22]; *C. quadrangular*^[23]) and *Daphnia* (*D. laevis*^[24], *D. ambigua*^[25]) under laboratory conditions is similar to that observed in this study. Normally, at an optimal food density, cladocerans reach peak abundances within 2 to 3 weeks.^[26] In controls in our study, *C. dubia* and *D. pulex* peaked during the 3rd and 2nd weeks, respectively. The density to which a given cladoceran species reaches is dependent on temperature, food level and body size. Since the experiments were conducted at fixed temperature and food density, the only factor that could influence the peak densities was the relative body size of the test species.

Under similar test conditions, large-bodied species have lower peak densities than the smaller species.^[27] Thus, compared to *C. dubia*, *D. pulex* is a large species and hence its peak abundances were lower. The inverse relation between the peak density and Zn levels in the medium is due to the toxic effects of heavy metal. The effect of Zn on both the cladoceran species may be through different means: direct

absorption by the cladocerans from the medium and/or via ingestion of algae.^[28] These could not be separately evaluated in this study. However, there is some indication that algae take significant (up to 35%) Zn from the medium within 24 h via biosorption.^[29] Thus, the cladocerans were possibly exposed to Zn via algal consumption and exposure through the medium.

In *D. pulex* at the lowest Zn concentration (0.125 mg L), there was an elevated offspring production compared to controls. Certain heavy metals such as Zn and Cu are known to stimulate higher reproductive output in many zooplankton species including *Daphnia* under low concentrations. This is known as hormesis and has been shown to occur, particularly under the influence of trace nutrients such as copper in *Moina macrocopa*. Hormetic response in zooplankton possibly occurs at the cost of an organism's body size or duration of life.^[30] These were not quantified in this study. However, while estimating the density of *D. pulex* in treatments containing Zn, we observed predominantly smaller sized gravid females, indicating the possible reduction in the adult body size.

The rate of population increase has been considered as one of the most important life history variables of zooplankton. Many ecologists and evolutionary biologists consider r as the measure of fitness because it sums up the natality and mortality of a population.^[31,32] Under toxicant-free conditions, the growth rates of a majority of tested cladoceran species vary from 0.01 to 0.70.^[26] In controls, the growth rates of *C. dubia* and *D. pulex* are within the range reported in literature. The r is also a sensitive variable to stress.^[8]

Small changes in the survival and/or reproduction are eventually reflected in the r . Thus if a heavy metal causes reduction in the duration of survival and rate of egg output, then the r would be expected to be lower compared to controls.^[33] This is evident in the present work. For example, Zn at the concentrations of 0.5 mg L⁻¹ for *C. dubia* and *D. pulex* had significantly reduced lower r compared to controls. Further, increases in Zn level resulted in negative growth rates for both the cladoceran species. For the freshwater harpacticoid copepod *Bryocamptus zschokkei*, the lowest-observed-effect concentration of Zn affecting reproduction is 0.48 mg L⁻¹,^[34] which suggests that both the tested cladocerans are comparably more sensitive than copepods, a finding that was also confirmed from field conditions.^[35]

Conclusion

Our study showed that the population growth of *C. dubia* and *D. pulex* was adversely affected by ZnCl₂ at a concentration (or higher) of 0.25 mg L⁻¹. ZnCl₂ at a concentration of 1 mg L⁻¹ caused total inhibition of reproduction in both the cladoceran species. The maximum permissible level of Zn, based on the current national laws, is 20 times higher than the concentration that caused significant reduction in

the peak abundances and the rates of population increase of both the cladocerans. Thus, the national water quality laws currently in place in Mexico may not protect cladocerans from industrial effluents carrying the maximum permissible levels of zinc.

Acknowledgments

The first author is grateful to the Mexican National Council for Science and Technology (CONACyT) for a scholarship and to PCMyL (UNAM) for encouragement. This study was supported by a project PAPIIT-201907 (UNAM).

References

- [1] Chapman, P.M.; Wang, F.Y.; Janssen, C.R.; Goulet, R.R.; Kamunde, C.N. Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: Current status. *Human and Ecological Risk Assessment*, **2003**, *9*, 641–697.
- [2] Landner, L.; Reuther, R. *Metals in Society and in the Environment: A critical review of current knowledge on fluxes, speciation, bioavailability and risk for adverse effects of copper, chromium, nickel and zinc*. Kluwer: The Netherlands, 2004.
- [3] Dodson, S.I.; Frey, D.G. Cladocera and other Branchiopoda. In *Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates*; Thorp, J.H.; Covich, A.P., Eds.; Academic Press: London, 2001; 850–914.
- [4] Smirnov, N.N. *Fauna of the U.S.S.R. Crustacea*. Keter Publishing House: Jerusalem, 1974.
- [5] Sarma, S.S.S.; Nandini, S. Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **2006**, *41*, 1417–1430.
- [6] Kořinek, V. Cladocera. In *Guide to Tropical Freshwater Zooplankton. Identification, Ecology and Impacts on Fisheries*. Fernando, C.H., Ed.; Backhuys Publishers: The Netherlands; 2002; 69–97.
- [7] Mendoza-Cantú, A., Ramírez-Romero, P.; Pica-Granados, Y. Environmental legislation and aquatic ecotoxicology in Mexico: Past, present and future scenarios. *Journal of Environ. Sci. Health Pt. A* **2007**, *42*, 1343–1348.
- [8] Calow, P., Ed. *Handbook of ecotoxicology*. Blackwell Sci. Publ. London, 1993.
- [9] Halbach, U.; Siebert, M.; Westermayer, M.; and Wissel, C. Population dynamics of rotifers as a bioassay tool for ecotoxicological tests in aquatic environments. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **1983**, *7*, 484–513.
- [10] Gama-Flores, J.L.; Castellanos-Paez, M.E.; Sarma, S.S.S.; Nandini, S. Life table demography of *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) exposed to copper at different levels and periods. *J. Environ. Biol.* **2007**, *28*, 691–696.
- [11] Gama-Flores, J.L. *Patrones de impacto y recuperación de especies zooplanctónicas seleccionadas expuestas a metales pesados (Cu y Cd): Estudio de laboratorio y campo a nivel poblacional y comunidad*. Doctoral Thesis, Universidad Autónoma Metropolitana, Mexico City, Mexico, 2007.
- [12] Weber, C.I. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 4th ed. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-90/027F, 1993.
- [13] Borowitzka, M.A.; Borowitzka, L.J. *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press: United Kingdom, 1988.
- [14] Krebs, C.J. *Ecology; the experimental analysis of distribution and abundance*. 3rd ed. Harper & Row: New York. 1985.
- [15] Keating, K.I.; Caffrey, P.B. *Selenium deficiency induced by zinc deprivation in a crustacean*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 6436–6440.
- [16] Farkas, A.; Salanki, J.; Varanka, I. Crustaceans as biological indicators of heavy metal pollution in Lake Balaton (Hungary). *Hydrobiologia* **2003**, *506/509*: 359–364.
- [17] Duttagupta, S.; Gupta, S.; Gupta, A. Euglenoid blooms in the floodplain wetlands of Barak Valley, Assam, North eastern India. *J. Environ. Biol.* **2004**, *25*, 369–373.
- [18] Marshall, J.S.; Mellinger, D.L.; Parker, J.I. Combined effects of cadmium and zinc on a Lake Michigan zooplankton community. *J. Great Lakes Res.* **1981**, *7*, 215–223.
- [19] Anonymous. *Informe de la situación general en materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente 1989–1990*. Comisión Nacional de Ecología (CONADE), Mexico City, Mexico. 1991.
- [20] Muysen, B.T.A.; Bossuyt, B.T.A.; Janssen, C.R. Inter- and intra-species variation in acute zinc tolerance of field-collected cladoceran populations. *Chemosphere*, **2005**, *61*, 1159–1167.
- [21] Rand, G.M., Ed. *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, environmental fate and risk assessment*, 2nd edition. CRC Press: Boca Raton, FL, 1995.
- [22] Iyer, N.; Rao, T. R. Effect of the epizoic rotifer *Brachionus rubens* on the population growth of three cladoceran species. *Hydrobiologia* **2003**, *255/256*, 325–332.
- [23] Savaş, S.; Erdoğan, Ö. The effect of food (*Scenedesmus acuminatus* (von Lagerheim) R. H. Chodat) densities and temperature on the population growth of the cladoceran *Ceriodaphnia quadrangula* (O. F. Müller, 1785). *E.U. J. Fish. Aqua. Sci.* **2006**, *23*, 113–116.
- [24] Nandini, S.; Sarma, S.S.S.; Ramírez-García, P. Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana* **2000**, *73*, 1273–1286.
- [25] Sarma, S.S.S.; Tavera-Briseño, K.; Nandini, S. Effect of type and concentration of algal food (*Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus*) on the population dynamics of *Daphnia ambigua* Scourfield, 1947 (Cladocera, Daphniidae). *Crustaceana* **2000**, *82*, 357–366.
- [26] Sarma, S.S.S.; Nandini, S.; Gulati, R.D. Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. *Hydrobiologia* **2005**, *542*, 315–333.
- [27] Nandini, S.; Sarma, S.S.S. Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Hydrobiologia* **2003**, *491*, 211–219.
- [28] Yu, R.Q.; Wang, W.X. Trace metal assimilation and release budget in *Daphnia magna*. *Limnol. Oceanogr.* **2002**, *47*, 495–504.
- [29] Azuara-García, R.; Sarma, S.S.S.; Nandini, S. The combined effects of zinc and alga on the life table demography of *Anuraeopsis fissa* and *Brachionus rubens* (Rotifera). *J. Environ. Sci. Health Pt A* **2006**, *41*, 559–572.
- [30] Calabrese, E.J.; Baldwin, L.A. Inorganics and hormesis. *Crit. Rev. Toxicol.* **2003**, *33*, 215–304.
- [31] Stearns, S. *The evolution of life histories*. Oxford University Press: New York, 1992.
- [32] Godfray, H.C.J.; Rees, M. Population growth rates: issues and an application. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **2002**, 1307–1319.
- [33] Forbes, V.E.; Calow, P. Population growth rate as a basis for ecological risk assessment of toxic chemicals. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **2002**, *357*, 1299–1306.
- [34] Brown, R.J.; Rundle, S.D.; Hutchinson, T.H.; Williams, T.D.; Jones, M.B. A microplate freshwater copepod bioassay for evaluating acute and chronic effects of chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* **2005**, *24*: 1528–1531.
- [35] Jak, R.G.; Maas, J.L.; Scholten, M.C.T. Evaluation of laboratory derived toxic effect concentrations of a mixture of metals by testing fresh water plankton communities in enclosures. *Water Res.* **1996**, *30*, 1215–1227.