



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

“Respuesta demográfica de *Asplanchna sieboldii*
(depredador) alimentado con el rotífero *Brachionus*
havanaensis crecido en cianobacteria y microalga”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

JOSÉ ANTONIO HERNÁNDEZ LUCERO

Director de tesis:

Dr. Sri Subrahmanya Sarma Singaraju

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. Méx.

Abril, 2019





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a:

Mi madre Imelda Lucero Moreno y padre Antonio Hernández Martínez, quienes siempre confiaron en mí y me dieron la libertad de hacer lo que amo, siempre se esforzaron por darme lo mejor y me apoyaron en todos mis proyectos, tanto académicos como deportivos. Este trabajo es el resultado de nuestro esfuerzo, tiempo y dedicación. Papá, para mí eres un claro ejemplo de que haciendo lo que te gusta por quienes amas todo lo demás es poco. Mamá, siempre estás, encuentras y si no, buscas por y para nosotros.

Mi hermano Eduardo Armando Hernández Lucero, con quien tengo la fortuna de compartir el gusto y la pasión por la natación y los videojuegos.

Mi abuela María Teresa Moreno García, que sigue y no para a pesar de todo lo se ha presentado en su vida.

Siempre estaré agradecido por todo lo que puedo aprender con ustedes, los amo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala que me ofrecieron todo lo que pudieron académicamente dándome la mejor formación profesional posible, por el crecimiento personal y las enseñanzas otorgadas por los académicos y laboratoristas que conocí en el campus.

Al Dr. Sarma, por tenerme la confianza y aceptarme en su laboratorio sin siquiera tener algún antecedente de mi desempeño. Sin duda alguna se ha convertido en mi padre académico, le estoy agradecido por el tiempo, la atención, los comentarios, observaciones y chistes que en su conjunto me han ayudado a ser el investigador que soy ahora. De igual forma, muchas gracias por abrirme las puertas de su casa y por confiar en nosotros, sus alumnos, más de lo que algunas veces lo hacemos de nosotros mismos.

A los miembros del jurado: Dra. Nandini Sarma, Dr. Pedro Ramírez García, Dr. José Luis Gama Flores y M. en C. Teresa Ramírez Pérez gracias por sus observaciones y tiempo dedicado para que esta tesis quedara como debe de ser.

A mis compañeros del Laboratorio de Zoología Acuática, Uriel, César, Nayeli, Carlos, Paulo, Andrea, Evelyn, Karina, Mich, Toño, Rosa, Brenda, Toño naupli, José Luis, Lety, Mayra, Selene, Chris, Salma, Meetzli, Denise y Alejandro por siempre hacer más divertido estar y aprender en el laboratorio, así como por compartir sus conocimientos conmigo. A César y Uriel les agradezco principalmente por ser quienes me enseñaron lo básico y fundamental en cuanto entré al laboratorio, y a Nayeli y Carlos por ayudarme con mis cultivos, teniendo presas cuando no tenía como mantener a mis *Asplanchna* y por hacer los fines de semana de experimento más amenos.

A mis amigos que estuvieron y están en el equipo de natación (PEC), Roberto (Robbie), Erick, Ángel (carita), Arturo (Furby), Iván, Christopher (Tupper), Carlos (Charly), Fernando (bala), Diego (repoio), Karla, Erica, Melanie, Abraham, Jareck, Israel, Alejandro e Isis por ser como parte de mi familia, y apoyar dentro y fuera de la alberca compartiendo éxitos y fracasos como equipo, juntos.

A mis amigos que conocí durante la carrera con los que crecí como persona y académicamente, Vero, Moni, Armando (Army), Christopher (Tupper), Alejandra (Almeja), Pao, Karla, Luis Ángel y Paul gracias por las gratas y divertidas experiencias dentro y fuera de la facultad, siempre con alguno o varios de ustedes hubieron risas a pesar de los momentos estresantes y difíciles durante la carrera.

A mi mejor amiga Michelle (paqui), por estar y acompañarme en esta última etapa de la carrera desde que la conocí, por compartir su más sincero silencio así como las historias inimaginables que tanto le gustan, te quiero mucho.

A PAPIIT – IN214618 por la beca otorgada para realizar este trabajo.

ÍNDICE

Resumen	5
Introducción	6
Antecedentes	10
Hipótesis	16
Justificación	17
Objetivo general	18
Objetivos particulares	18
Materiales y método	19
<i>Aislamiento y cultivo de organismos</i>	19
<i>Dietas</i>	19
<i>Crecimiento poblacional</i>	20
<i>Análisis estadístico</i>	21
Resultados	22
Discusión	28
Conclusiones	33
Referencias.....	34

RESUMEN

Los florecimientos de cianobacterias en los sistemas acuáticos epicontinentales han aumentado debido a las actividades antropogénicas. La especie de cianobacteria que predomina principalmente en estos también conocidos *blooms* es *Microcystis aeruginosa* que es un alimento que afecta a los rotíferos herbívoros por su baja calidad nutricional y por los metabolitos secundarios que pueden producir conocidos como cianotoxinas. Estos dos factores afectan el flujo de energía y otras interacciones ecológicas en los sistemas acuáticos como es la depredación. Se ha demostrado que *M. aeruginosa* afecta la dinámica poblacional de varios taxones herbívoros. Sin embargo, hay poca información respecto al efecto de las cianobacterias sobre niveles tróficos superiores. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta demográfica del rotífero depredador *Asplanchna sieboldii* alimentado con *Brachionus havanaensis* cultivado con dietas mixtas de cianobacteria-alga. Se utilizaron cuatro densidades de presa (1, 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹) que fueron cultivadas en 3 dietas seleccionadas (100% *Chlorella vulgaris*, 50% *C. vulgaris*: 50% *Microcystis aeruginosa* y 100% *M. aeruginosa*). Los resultados muestran una tasa de crecimiento poblacional de *A. sieboldii* de 0.234±0.04 – 0.592±0.01 en la dieta de *B. havanaensis* + *C. vulgaris*, 0.224±0.03 – 0.422±0.02 en la dieta de *B. havanaensis* + *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* y 0.102±0.02 – 0.311±0.02 en la dieta de *B. havanaensis* + *M. aeruginosa*. En el crecimiento poblacional, la tasa de crecimiento poblacional del depredador *A. sieboldii* fue afectada por la proporción de *M. aeruginosa* en la dieta de su presa *B. havanaensis*; eso fue más evidente a mayor densidad de presa disponible.

INTRODUCCIÓN

Todas aquellas aguas superficiales que se distribuyen en los continentes son ecosistemas acuáticos epicontinentales, los cuales se clasifican de manera general en sistemas lóticos que es un término relativo al agua corriente, es decir, que tiene algún flujo como lo son los ríos y arroyos, y en sistemas lénticos que se caracterizan por tener agua sin flujo, dicho concepto es aplicado a estanques, lagos y humedales entre otros (Rosset *et al.* 2017). La creciente cantidad de contaminantes consecuencia del vertimiento de desechos industriales, urbanos, así como las actividades agrícola, minera y portuaria, representan un peligro para el hombre que ha eutrofizado los sistemas acuáticos (Gómez *et al.* 2001). Dichas actividades humanas que son una fuente de nutrientes pueden estimular el aumento de fitoplancton, incluida la deposición atmosférica y el flujo de aguas subterráneas, así como la escorrentía agrícola y de otros fertilizantes. Siendo la industria acuícola que ha ido en aumento otra fuente de nutrientes en estos ecosistemas (Anderson *et al.* 2002).

El término eutrofización que deriva de la palabra griega “eutrophos” que significa bien alimentado, se usaba principalmente en referencia al envejecimiento natural de los ecosistemas acuáticos donde un lago grande, profundo y pobre en nutrientes con el tiempo se vuelve más rico en nutrientes, más productivo con la vida animal y vegetal, y lentamente se convierte en un estanque, finalmente en un pantano (Wetzel 1983). Más recientemente, el término se ha utilizado para referirse a la eutrofización acelerada de lagos, ríos, estuarios y aguas marinas, donde el proceso de eutrofización natural avanza cientos o miles de años por actividades humanas que agregan nutrientes (Burkholder 2000). Nixon (1995) definió la eutrofización como el proceso de mayor enriquecimiento orgánico de un ecosistema, generalmente a través de un mayor aporte de nutrientes.

Dos nutrientes derivados de las actividades antropogénicas, fósforo (P) y nitrógeno (N), son de mayor preocupación en la eutrofización. Dependiendo del sistema es la importancia que puedan tener estos nutrientes; por ejemplo, en

sistemas dulceacuícolas el P es el menos abundante entre los macronutrientes requeridos por los organismos fotosintéticos, por lo que es un nutriente primario que limita su crecimiento (Schindler 1997). En aguas templadas y marinas costeras, el N es el nutriente más importante que limita la producción primaria (Dugdale y Goering 1967, Glibert 1988). Para el caso de los estuarios tanto el N como el P colimitan la producción primaria (Rudek *et al.* 1991; Fisher *et al.* 1992).

A diferencia de los sistemas acuáticos eutróficos que se caracterizan por tener una alta concentración de nutrientes y productividad (biomasa algal), los sistemas oligotróficos son aguas con pocos nutrientes y baja productividad, mientras que los sistemas con las condiciones intermedias se les conoce como mesotróficos. Los impactos de la eutrofización varían de acuerdo con el nivel de enriquecimiento: un aumento en la biomasa de algas, cianobacterias y micrófitos es seguido por cambios en la estructura de la comunidad (Karydis 2009). El desarrollo de las cianobacterias provoca opacidad, que impide que la luz penetre hasta regiones profundas de la columna de agua. Las consecuencias directas son la imposibilidad de llevarse a cabo la fotosíntesis en lugares cada vez más profundos de la columna de agua y por lo tanto, disminución, en la producción de oxígeno libre; simultáneamente aumenta la actividad metabólica consumidora de los organismos descomponedores, que empiezan a recibir excedentes de materia orgánica generados en la superficie llegando a la hipoxia e incluso la anoxia, que es la última etapa de la eutrofización (Gray 1992, Moreno *et al.* 2010); esta fase a menudo se caracteriza como distrófica.

Las cianobacterias (algas verdeazules o cianofitas) son organismos antiguos y cosmopolitas de aguas dulces, salobres y marinas, así como de ambientes terrestres (Whitton y Potts 2000). Mundialmente la proliferación y ocurrencia de florecimientos de cianobacterias, a los que también se les denomina *blooms* es un fenómeno bien documentado (Codd *et al.* 2005). En México debido a las actividades antropogénicas, la mayoría de los lagos urbanos se han eutrofizado y como consecuencia la ocurrencia de *blooms* ha ido en aumento (Ramírez-García *et al.* 2002, Alcocer y Brooks 2010).

Los florecimientos de cianobacterias están constituidos principalmente por 6 géneros: *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Cylindrospermopsis* y *Microcystis* que tienen varias adaptaciones como la capacidad de fijar N-atmosférico a través de estructuras especializadas llamadas acinetos, tolerar la exposición a rayos UV, bajos niveles de oxígeno y un amplio rango de temperaturas; además de tener la capacidad de regular su posición en la columna de agua debido a su flotabilidad mediante vesículas de gas o aerotopos, estos organismos son capaces de formar estructuras coloniales y metabolitos secundarios llamados cianotoxinas (Lampert 1981, Whitton y Potts 2000, Codd *et al.* 2004). *Microcystis aeruginosa* (Kutzing) Lemmerman es la especie dominante y principal productora de microcistina, una hepatotoxina de la cual se han registrado hasta 80 variantes, siendo la microcistina-LR (MC-LR) la más frecuente y abundante en los sistemas acuáticos (Ibelings *et al.* 2005, Chen *et al.* 2005, Barrios *et al.* 2015).

Los florecimientos de *M. aeruginosa* se han relacionado con la mortalidad masiva de animales vertebrados e invertebrados, y la desestabilización de la red trófica acuática principalmente (Martínez-Romero *et al.* 2002, Black *et al.* 2011). Afectando al zooplancton que está constituido por rotíferos, cladóceros, copépodos, ostrácodos y estadios larvales de insectos, siendo los primeros tres los más comunes en los reservorios de agua en México (Ramírez-García *et al.* 2002). Los rotíferos son organismos importantes en la comunidad zooplanctónica al ser determinantes en el flujo de energía hacia niveles tróficos superiores, ya sea en lagos o estanques (Guo 2012).

La baja calidad nutricional de las cianobacterias como alimento y las microcistinas que generan, ya sea de forma individual o sinérgica, afectan al zooplancton en su comportamiento alimentario, actividades fisiológicas, disminuye su crecimiento poblacional y reproducción; alterando la interacción directa de depredador-presa que es muy sensible a tóxicos (Nogrady *et al.* 1993, Preston 2002, Martin-Creuzburg y Von Elert 2009, Liang *et al.* 2017).

Actualmente, con respecto al efecto negativo de *M. aeruginosa* como alimento y sus microcistinas, se hacen bioensayos utilizando al zooplancton por su

relevancia ecológica, alto y rápido crecimiento poblacional, y su sensibilidad ante condiciones estresantes (Sarma y Nandini 2006). Se han realizado diversos estudios en laboratorio donde se utilizó como alimento cianobacteria (Soares *et al.* 2010, Lyang *et al.* 2017, Xiang-Ling *et al.* 2017) y directamente extractos crudos (Huang *et al.* 2012, Barrios *et al.* 2015) demostrándose la acumulación de cianotoxinas en consumidores primarios. Sin embargo, se han realizado pocas investigaciones en las cuales se evidencie la transferencia de cianotoxinas a niveles tróficos superiores (Laurén-Määttä *et al.* 1995, Papadimitriou *et al.* 2012) o como es la respuesta demográfica de los depredadores ante una presa cultivada y alimentada con dieta a base de cianobacteria.

Por lo tanto, un estudio del efecto de *M. aeruginosa* en las interacciones depredador-presa revelaría información adicional sobre la respuesta demográfica de un depredador, así como la posible bioacumulación y transferencia de cianotoxina que no se puede obtener al analizar por separado a las especies presa o depredador (Gama-Flores *et al.* 2007). Las especies del género *Asplanchna* son principalmente depredadores de rotíferos, algunos ciliados y muy pocas veces de cladóceros y copépodos (Sarma *et al.* 1998).

Asplanchna sieboldii (Leydig), uno de los rotíferos depredadores más voraces es capaz de alimentarse de casi todos los braquiiónidos (Gilbert 2016). Por su corto ciclo de vida y el fácil manejo de esta especie, se puede utilizar como un organismo para bioensayos, en los que se pueda valorar la calidad de la dieta en el comportamiento poblacional del depredador. Por ejemplo, *Brachionus havanaensis* (presa) enriquecido por una dieta mixta de cianobacteria y alga.

ANTECEDENTES

Nandini (2000) evaluó la respuesta a *Microcystis aeruginosa*, ofrecida como colonias y células individuales a dos temperaturas 20 y 30° C, en la tabla de vida de ciertos rotíferos (*Brachionus calyciflorus* y *Hexarthra mira*) y cladóceros (*Simocephalus vetulus*, *Daphnia carinata*, *Moina macrocopa*, *Scapholebris kingi* y *Ceriodaphnia cornuta*). La densidad de alimento de 2×10^6 cel. mL⁻¹ de *Chlorella* o *Microcystis* como células individuales para cladóceros y 1×10^6 cel. mL⁻¹ para rotíferos, para el caso de las colonias utilizó 50 – 70 colonias que equivalen a 1.5×10^6 cel. mL⁻¹. En el caso de los rotíferos, *B. calyciflorus* en los tratamientos con *M. aeruginosa* como colonias y a 20° C tuvo una supervivencia de 4 días y de 3 días a 30°C y con células individuales en ambas temperaturas fue de 3 días, en comparación con el control de microalga que fue de hasta 13 días a 30° C y 8 a 20°C. *Hexarthra mira* se vio menos afectada en presencia de colonias de *Microcystis* a 30°C teniendo 12 días de supervivencia, un día menos que el control. Sin embargo, a la misma temperatura con células individuales sólo tuvo una supervivencia de 5 días.

Alva-Martínez et al. (2007) evaluaron la dinámica poblacional de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis* crecidos separadamente y alimentados con *Microcystis aeruginosa* junto con una de dos especies de microalga, *Scenedesmus acutus* o *Chlorella vulgaris*. Ofrecieron tres dietas a los braquiúridos en diferentes combinaciones 100% microalga; 75% microalga + 25% *M. aeruginosa*; 50% microalga + 50% *M. aeruginosa*; 25% microalga + 75% *M. aeruginosa*; 100% *M. aeruginosa*. Ambos braquiúridos tuvieron un mayor crecimiento poblacional con una dieta de solo microalga, presentándose una mayor densidad con *C. vulgaris*. En cuanto a los tratamientos mientras mayor fue la proporción de *M. aeruginosa* menor fue el crecimiento poblacional de las especies, muriendo en menos de dos semanas cuando la dieta era exclusivamente de *M. aeruginosa*. Independientemente del rotífero utilizado, el tipo de dieta y su composición, la tasa

de crecimiento poblacional (r) tuvo una relación inversamente proporcional con *M. aeruginosa* en la dieta.

Alva-Martínez et al. (2009) evaluaron el crecimiento poblacional y la tasa de crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis* (cepas diferentes a las utilizadas por Alva-Martínez et al. (2007)) cultivados por separado y juntos con dietas mixtas de *Microcystis aeruginosa* y *Chlorella vulgaris* en diferentes proporciones (0, 25, 50, 75 y 100% *Microcystis* o *Chlorella*). *Microcystis aeruginosa* fue colectada de la pista de canotaje Virgilio Uribe (México, CDMX) filtrando directamente con una red de 500 μm de apertura de malla, después fue filtrada por una malla de 50 μm para eliminar zooplancton, protozoos y ciliados. Posteriormente la muestra fue sonicada para romper las colonias evitando la lisis celular y dejar únicamente células individuales. En los tratamientos con ambas especies cultivadas de forma individual o juntas, se mostró una tendencia en la que a mayor concentración de *M. aeruginosa* en la dieta, la densidad poblacional y tasa de crecimiento fueron menores, e independientemente de la dieta *B. havanaensis* tuvo un mayor crecimiento comparado con *B. calyciflorus*.

Soares et al. (2010) evaluaron la respuesta de *Brachionus calyciflorus* expuesta a *Microcystis aeruginosa* o *Cylindrospermopsis raciborskii*, ambas tóxicas, investigando la posible insuficiencia nutricional y la influencia de la morfología en ensayos de tasas de aclaramiento, realizando también crecimiento poblacional con ambas cianobacterias separadamente en combinación con *Scenedesmus obliquus*. Los resultados mostraron que *B. calyciflorus* es capaz de ingerir tanto *C. raciborskii* como *M. aeruginosa* con tasas de ingestión similares. En los experimentos de crecimiento poblacional, las dietas mixtas de *S. obliquus* con cualquiera de las dos especies de cianobacteria permitieron el crecimiento de *B. calyciflorus* a pesar de las toxinas, viéndose su crecimiento disminuido con solo *C. raciborskii* mientras que la dieta pura de *M. aeruginosa* fue letal, demostrándose que *C. raciborskii* es menos dañina a *B. calyciflorus* que *M. aeruginosa*.

Zhao et al. (2014) evaluaron el efecto de cepas tóxicas y no tóxicas de *Microcystis aeruginosa* separada o junto con *Scenedesmus obliquus* en diferentes

concentraciones (50, 100 y 400 $\mu\text{g C}\cdot\text{L}^{-1}$) sobre el crecimiento de *Brachionus calyciflorus*. La muerte de los individuos se observó en las tres concentraciones de alimento con la cepa tóxica y con la no tóxica a 400 $\mu\text{g C}\cdot\text{L}^{-1}$. Los rotíferos alimentados solo con la cepa no tóxica exhibieron una viabilidad reducida a concentraciones bajas de alimento. En general, la tasa de crecimiento poblacional disminuyó cuando la proporción de *M. aeruginosa* aumentó; en cuanto al efecto de la dieta mixta, los rotíferos mostraron una mayor tolerancia aumentando su densidad con la cepa tóxica y no tóxica. Las dietas en donde se ha utilizado como alimento *M. aeruginosa* unicelular para los herbívoros (cultivada o tomada de la naturaleza), se ha asociado con baja calidad nutrimental y agravada por la presencia de sustancias tóxicas inhibidoras.

Lin et al. (2014) evaluaron el efecto de células individuales de *Anabaena planctonica* y *Chlorella vulgaris* en tres tratamientos con diferentes proporciones de algas-cianobacteria (0, 50 y 100% de *A. planctonica* y *C. vulgaris*) a 1×10^6 cel. mL^{-1} para todas las dietas. Independientemente de la dieta, la densidad poblacional de *B. havanaensis* fue mayor que la de *Platyonus patulus*. La tasa de crecimiento poblacional (r) de *P. patulus* alimentada con *C. vulgaris* fue significativamente menor ($0,12 \text{ d}^{-1}$; $p < 0.001$) que la de *B. havanaensis* (0.19 d^{-1}) cultivada en condiciones similares. Al ser alimentados con *A. planctonica* (sola o junto con *C. vulgaris*) las tasas de crecimiento poblacional así como la densidad poblacional, se volvieron significativamente más bajos que cuando se alimentaron únicamente con *C. vulgaris*. Por lo tanto, se muestra en los resultados que ambas especies de rotíferos, *P. patulus* y *B. havanaensis* son sensibles a *A. planctonica* al no crecer cuando esta cianobacteria se incluyó en la dieta.

Liang et al. (2017) evaluaron el efecto de dos cepas de *Microcystis aeruginosa* una productora de microcistinas (PCC7806) y otra no productora de microcistinas (FACHB927). El efecto se evaluó sobre la actividad enzimática y contenido nutricional en *Brachionus calyciflorus*, los cuales fueron alimentados con *Chlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus obliquus*, y solo con *M. aeruginosa* productora y no productora de microcistinas, y con dietas mixtas de algas y cianobacteria tóxica y

no tóxica respectivamente. Las actividades enzimáticas de la amilasa, tripsina, celulasa, superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPs) se evaluaron tras exponerse a la cianobacteria. Los nutrientes que analizaron fueron glucógeno (carbohidratos), proteína y triglicéridos (TG). Las dietas de pura cianobacteria y las dietas mixtas con *M. aeruginosa* tóxica inhibieron la actividad de SOD, mientras que los rotíferos alimentados con mezcla de *Chlorella* y cianobacterias tóxicas aumentaron significativamente la actividad de GAT y GPx. El glucógeno y las proteínas disminuyeron en las mezclas de *Microcystis*, mientras que el contenido de TG aumentó. Por lo que la presencia de *M. aeruginosa* en la dieta de *B. calyciflorus* afectó la actividad enzimática y el contenido de nutrientes modificando su rendimiento fisiológico.

Wacker y Martin-Creuzburg (2012) evaluaron los requerimientos nutricionales de *Brachionus calyciflorus* utilizando *Synechococcus elongatus* como una dieta deficiente, a la cual se le agregaron sustancias que pudiesen limitar la tasa de crecimiento poblacional de este rotífero (esteroles, ácidos grasos y amino ácidos) y *Chlamydomonas reinhardtii* como control. Los resultados de los experimentos de suplementación corroboraron las limitaciones de nutrientes al evaluar los desequilibrios entre la dieta y el consumo, proporcionando información más detallada sobre los nutrientes co-limitantes. Mientras que la deficiencia de ácidos grasos de la cianobacteria parece ser de menor importancia, la adición de colesterol y ciertos aminoácidos (leucina e isoleucina) mejoró las tasas de crecimiento poblacional, lo que indica una limitación simultánea de esteroles y aminoácidos.

Nandini et al. (2003) evaluaron el efecto de la densidad (cuatro densidades 1, 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹) y la morfología de las presas sobre el comportamiento alimentario y crecimiento poblacional de *Asplanchna sieboldii* ofreciendo 5 especies de braquiópidos (*P. patulus*, *B. havanaensis*, *B. macracanthus*, *B. rubens* y *B. calyciflorus*) como alimento. Independientemente de la presa, el crecimiento poblacional y la tasa de crecimiento de *Asplanchna* se incrementaron proporcionalmente a la cantidad de alimento inoculado; el efecto de la morfología de la presa sobre *A. sieboldii* se observó en las densidades de 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹,

siendo la longitud de las espinas las que tuvieron un efecto significativo a diferencia del tamaño del braquiónimo; hecho que permite la coexistencia de varias especies de *Brachionus* alternando las interacciones competitivas entre ellos en la naturaleza. A pesar de que el crecimiento poblacional de *A sieboldii* fue aumentado proporcionalmente a la cantidad de presa inoculada, en términos de biomasa su crecimiento no tuvo una correlación entre las presas seleccionadas considerándose que la digestibilidad de las presas es lo que influyó sobre el crecimiento poblacional del depredador.

Sarma et al. (2007) evaluaron el crecimiento poblacional del depredador *Asplanchna brightwellii* alimentado con 5 braquiónidos ofrecidos como presa (*Brachionus angularis*, *P. patulus*, *B. rubens*, *B. havanaensis* y *B. macracanthus*), de forma individual o combinando dos especies en proporción 1:1 a dos densidades diferentes (1 y 5 ind. mL⁻¹). El crecimiento del depredador *A. brightwellii* difirió dependiendo de las características morfológicas de la presa, obteniendo un menor crecimiento poblacional con la mezcla de *B. macracanthus* y *B. havanaensis* que tienen espinas largas posteriores y/o postero-laterales. Sin embargo, *A. brightwellii* creció bien con *B. havanaensis* y *P. patulus* ofrecidos de forma individual. Independientemente de la densidad, morfología o combinación de las presas, el pico de abundancia máxima del depredador varió de 0.2 a 1.7 ind. mL⁻¹, mientras que la tasa de crecimiento poblacional (*r*) presentó datos que van de 0.025 a 0.25 por día, dependiendo del tratamiento.

Gama-Flores et al. (2007) evaluaron el efecto combinado de dos metales pesados (CuSO₄ y CdCl₂ separadamente, a 0.1, 0.2 y 0.4 mg L⁻¹) y tiempo de exposición sobre el rotífero depredador *Asplanchna brightwellii* a través de sus presas (*B. havanaensis* y *B. calyciflorus*). A bajas concentraciones de Cu, estimuló el crecimiento de *A. brightwellii* comparado con los controles. Sin embargo, bajo una mayor concentración de Cd y un mayor tiempo de exposición, *B. calyciflorus* provocó un menor crecimiento del depredador. *B. havanaensis* previamente expuesta a Cu condujo a una reducción en el crecimiento de *A. brightwellii*, especialmente bajo una alta concentración de metales. Independientemente del

tiempo de exposición, *B. calyciflorus* expuesto a Cu y *B. havanaensis* expuesto a Cd estimuló la tasa de crecimiento de *A. brightwellii*. Mostrando la acción indirecta de los tóxicos sobre *A. brightwellii* que nunca fue expuesto a los metales pesados.

HIPÓTESIS

Si el crecimiento poblacional de los rotíferos herbívoros se ve influido directamente por la calidad nutricional de su alimento, es decir, mejor calidad nutricional del alimento equivale a un mayor crecimiento poblacional y viceversa. Entonces, se esperaría que de igual forma, para *Asplanchna sieboldii* (depredador) haya un mejor crecimiento bajo una dieta con mejor calidad nutricional (*Brachionus havanaensis* + *Chlorella vulgaris*) a diferencia de las demás dietas que incluyen a *Microcystis aeruginosa*.

JUSTIFICACIÓN

Mundialmente se han realizado investigaciones en las cuales se demuestra el efecto de las cianobacterias sobre los rotíferos herbívoros. En dichos trabajos utilizan principalmente *Microcystis aeruginosa* ofreciéndola en dietas que contienen cepas tóxicas o no tóxicas, ya sea de forma colonial o en células individuales principalmente, reportándose que tanto las cepas tóxicas como las no tóxicas afectan negativamente la actividad metabólica, así como la dinámica poblacional de dichos organismos (Nandini 2000, Alva-Martínez *et al.* 2007, 2009, Soares *et al.* 2010, Wacker y Martin-Creuzburg 2012, Liang *et al.* 2017). Asimismo, en estas investigaciones se explica como la calidad nutricional y quizá algunos metabolitos secundarios producidos por las cianobacterias, influyen sobre estos consumidores primarios. Sin embargo, hay pocos trabajos en los cuales se muestre la dinámica poblacional de un depredador ante una presa que es alimentada con *M. aeruginosa*. Por lo que tomar un depredador del género *Asplanchna* como *A. sieboldii* del cual se tienen estudios previos de su dinámica poblacional cuando es alimentado con diferentes presas que fueron crecidas con microalga, expuestas a alguna sustancia o crecidas con dietas mixtas (Sarma *et al.* 1998, 2002, 2007, Nandini *et al.* 2003, Gama-Flores *et al.* 2007), nos permitirá conocer la respuesta demográfica de *A. sieboldii* cuando su presa (*B. havanaensis*) es alimentada con *M. aeruginosa* pura o mixta con alga verde (*Chlorella vulgaris*).

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la respuesta demográfica del depredador *Asplanchna sieboldii* alimentado con *Brachionus havanaensis* (presa) cultivada con *Microcystis aeruginosa* y/o *Chlorella vulgaris*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Estimar la densidad máxima del depredador, *Asplanchna sieboldii* y el tiempo en el que se alcanzan dichos parámetros, alimentado con *Brachionus havanaensis* crecida en dietas con cianobacteria *Microcystis aeruginosa* y/o microalga *Chlorella vulgaris*.
- Derivar la tasa de crecimiento poblacional del depredador, *Asplanchna sieboldii* alimentado con *Brachionus havanaensis* crecida en dietas con la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* y/o microalga *Chlorella vulgaris*.
- Establecer el efecto de la densidad y dieta de la presa alimentada con la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* y/o microalga *Chlorella vulgaris*, en las variables poblacionales señaladas de *Asplanchna sieboldii*.
- Comparar las curvas de crecimiento poblacional del depredador, *Asplanchna sieboldii* alimentado con *Brachionus havanaensis* crecida en dietas con *Microcystis aeruginosa* y/o *Chlorella vulgaris*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento y cultivo de organismos

Brachionus havanaensis fue aislado originalmente del Lago de Xochimilco, México. El cultivo monoclonal, se estableció a partir de una hembra partenogenética usando el alga unicelular *Chlorella vulgaris* como alimento a una densidad de 1×10^6 cel. mL⁻¹ y agua moderadamente dura como medio (medio EPA). El medio EPA se preparó disolviendo 1.9 g de NaHCO₃, 1.2 g de CaSO₄, 1.2 de MgSO₄ y 0.04 g de KCl en 20L de agua destilada (Weber 1993). *Chlorella vulgaris* fue cultivada en reactores transparentes de 2 L usando medio basal Bold (Borowitzka y Borowitzka 1988) suplementado con 0.5 g L⁻¹ de NaHCO₃ cada tres días (Barrios *et al.* 2017). Cuando el alga estaba en fase logarítmica (7 días después de haber sido cultivada) se cosechó, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y posteriormente fue re-suspendida en agua destilada. Para mantener las condiciones favorables de los cultivos se cambiaron cada 2 días, pH 7 – 7.5, temperatura 25±1°C e iluminación continua y difusa. El rotífero depredador *Asplanchna sieboldii* fue aislado originalmente del lago del Bosque de Aragón, México (19°27'38.8" N, 99°04'20.5" W) y se estableció un cultivo monoclonal iniciando con una hembra partenogenética usando una dieta mixta de rotíferos braquionidos como alimento. Para evitar la reproducción sexual de *A. sieboldii* se mantuvo a bajas densidades en medio EPA que se cambió cada dos días, a 25±1°C y pH 7 – 7.5.

Dietas

La cianobacteria *M. aeruginosa* se recolectó del Parque de Tezozomoc, Ciudad de México (19°29'54.5"N, 99°12'38.8"W) filtrando con una red cónica de zooplancton con apertura de malla de 50 µm 100 L de muestra, para eliminar de la muestra el zooplancton se filtró con una red de 130 y posteriormente con una de 90 µm. Se procedió a observar la muestra en el microscopio para verificar que estuviera libre de zooplancton; entonces, se sonicó a 20 kHz 50 watts por 45 s para romper las colonias sin permitir la lisis celular. Posteriormente, se filtró con una malla de 50 µm y luego por una de 20 µm para remover para remover ciliados y colonias

sobrantes (Pérez-Morales *et al.* 2014). Para la eliminación de los demás protozoos se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos, la pastilla se recuperó con agua destilada y se le agregó agua mineral, se agitó y dejó reposar 24 h. Al siguiente día se agregó una solución de NaCl (2g L^{-1}) e igual se agitó dejando la muestra con la solución 10 min para después centrifugarla a 4000 rpm durante 10 min. Por último, se recuperó la pastilla con agua destilada. Las dietas seleccionadas para la presa (*B. havanaensis*) fueron tres: 100% *C. vulgaris*, 50% *C. vulgaris* + 50% *M. aeruginosa* y 100% *M. aeruginosa* a 1×10^6 cel. mL^{-1} .

La densidad de *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* a 1×10^6 cel. mL^{-1} se estimó utilizando un hematocitometro de Neubauer agregando medio EPA. La presa *B. havanaensis*, se mantuvo separada en recipientes de 1,200 mL con 1000 mL de medio EPA con la dieta seleccionada de *Chlorella vulgaris* (Cv) y/o *Microcystis aeruginosa* (Ma): 100% Cv, 50% Cv+50% Ma y 100% Ma, cada recipiente tuvo la mayor cantidad de presa posible con la dieta seleccionada.

Crecimiento poblacional

La respuesta demográfica de *A. sieboldii* se llevó a cabo usando 4 densidades (1, 2, 4 y 8 ind. mL^{-1}) de *B. havanaensis* y tres dietas (100% Cv, 50% Cv+50% Ma y 100% Ma), la presa fue colocada en un recipiente con su respectiva dieta mínimo 2 días antes de iniciar el crecimiento poblacional y fueron renovadas cada 5 días. En total, fueron 60 vasos transparentes de 60 mL de capacidad (3 dietas x 4 densidades x 5 réplicas). Cada vaso contenía 25 mL de medio EPA con las presas en números de 1, 2, 4 y 8 ind. mL^{-1} y cultivada en alguna dieta pura o mixta (y 0.25×10^6 cel. mL^{-1} de *C. vulgaris* para mantener a la presa activa) y un adulto con huevo de *A. sieboldii*. Los vasos fueron colocados en una incubadora a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con iluminación continua y difusa. Los experimentos duraron 14 días, tiempo en que la población de *A. sieboldii* en la mayoría de las repeticiones empezaba a disminuir. De los datos obtenidos, se derivó la tasa de crecimiento poblacional (r) usando diferentes grupos de datos a lo largo de la curva de crecimiento de *A. sieboldii* para calcular la media por réplica, tomándose de 3 – 5 grupos de datos en

la fase exponencial como lo realizó Dumont *et al.* (1995) a partir de la siguiente fórmula (Krebs 1985):

$$r = \frac{(\ln Nt - \ln No)}{t}$$

En donde r : tasa de crecimiento poblacional por día, Nt : número de individuos después de cierto tiempo, No : población inicial y t : tiempo en días.

Análisis estadístico

Para cuantificar las diferencias de las tasas de crecimiento poblacional, abundancia máxima, y día de abundancia máxima entre los tratamientos, los datos fueron analizados utilizando ANDEVA de dos vías y una prueba *post-hoc* de Tukey con el programa Sigma Plot 11.

RESULTADOS

Las curvas de crecimiento poblacional de *A. sieboldii* alimentado con *B. havanaensis* (presa) a 4 densidades diferentes (1, 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹) que fue crecido en dietas mixtas y puras de *C. vulgaris* (Cv) con *M. aeruginosa* (Ma) (100% Cv, 50% Cv: 50% Ma y 100% Ma) se presentan en la Figura 1, en donde se puede observar que el crecimiento poblacional de *A. sieboldii* mostró diferencias con respecto a la densidad del alimento y la dieta en que la presa fue crecida. En general, los tratamientos y el control no presentaron fase lag, mientras que la fase log fue predominante llegando a durar hasta 13 días en la dieta de 100% *Chlorella vulgaris* con una densidad de presa de 8 ind. mL⁻¹ y únicamente 4 días en la dieta de 100% *Microcystis aeruginosa* con una densidad de presa de 4 y 8 ind. mL⁻¹.

Al aumentar la densidad de presa, ya sea que fuese cultivada en cualquiera de las dietas seleccionadas, *Asplanchna* incrementó su crecimiento poblacional alcanzando una densidad máxima de hasta 0.96, 0.65 y 0.39 ind. mL⁻¹ (= 24, 16, y 10 ind. 25 mL⁻¹) con mayor cantidad de presa (8 ind. mL⁻¹) en la dieta de 100% Cv, 50% Cv: 50% Ma y 100% Ma, respectivamente (Figura 2), observándose un efecto significativo de la densidad de presa sobre el depredador ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías), exceptuando entre las densidades de 1 y 2 ind. mL⁻¹ en los tratamientos de 100% Ma y 50% Cv: 50% Ma.

Con respecto a las dietas utilizadas, tomando como referencia la abundancia máxima, las diferencias ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías) se presentaron en su mayoría entre la dieta que mostró un mayor crecimiento que fue 100% *C. vulgaris* y su contraparte, la dieta de 100% *M. aeruginosa*, esto en todas las densidades de presa utilizadas exceptuando la menor que fue de 1 ind. mL⁻¹, mostrándose una interacción significativa entre la dieta y la densidad de presa sobre la abundancia máxima de *Asplanchna sieboldii* (Tabla 1).

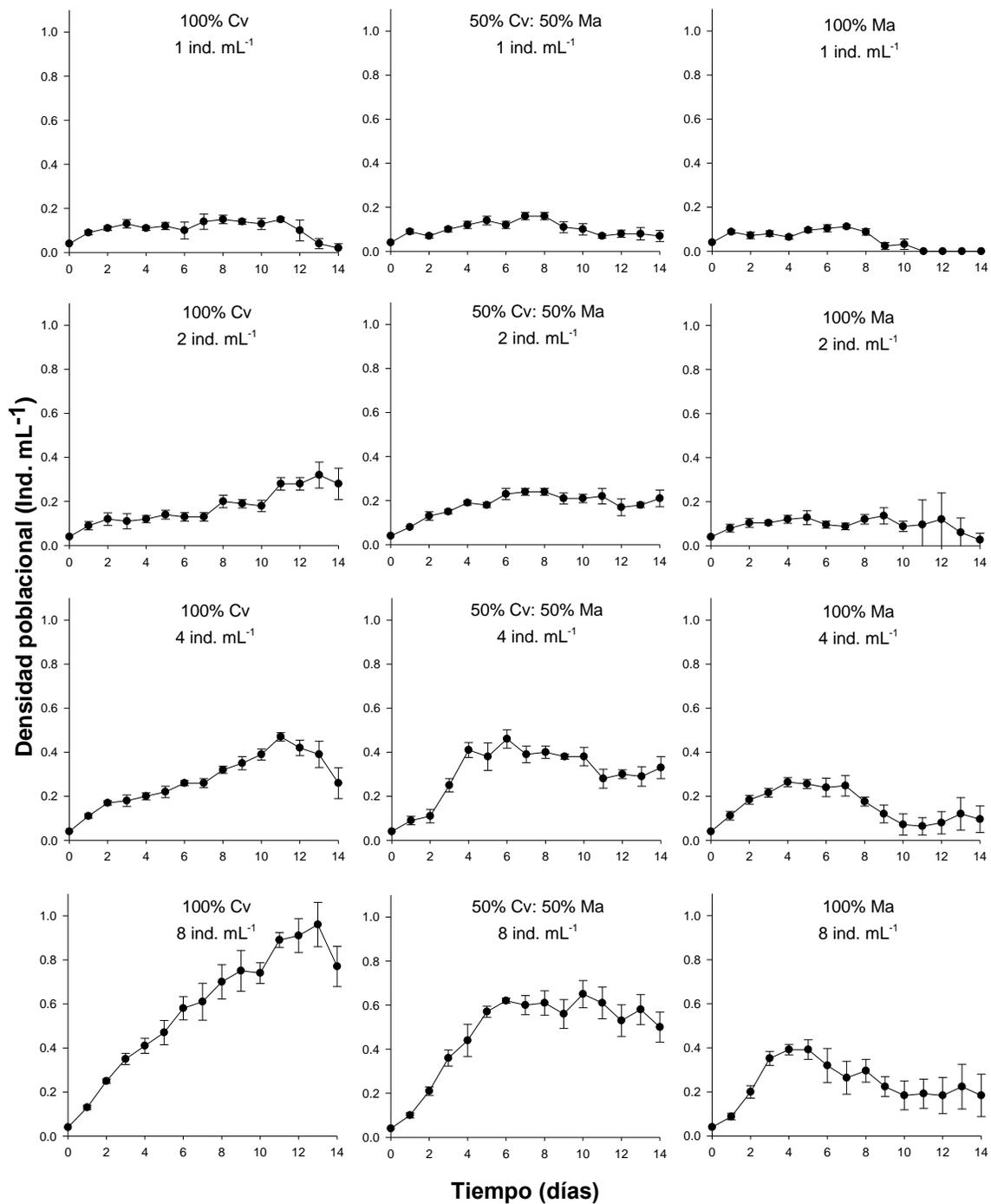


Figura 1. Curvas de crecimiento poblacional de *A. sieboldii* alimentado con *B. havanaensis* a 1, 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹ crecida en diferentes dietas; 100% *Chlorella vulgaris* (100% Cv), 50% *C. vulgaris*: 50% *Microcystis aeruginosa* (50% Cv: 50% Ma) y 100% *M. aeruginosa* (100% Ma). Los valores representan el promedio y error estándar de 4 réplicas.

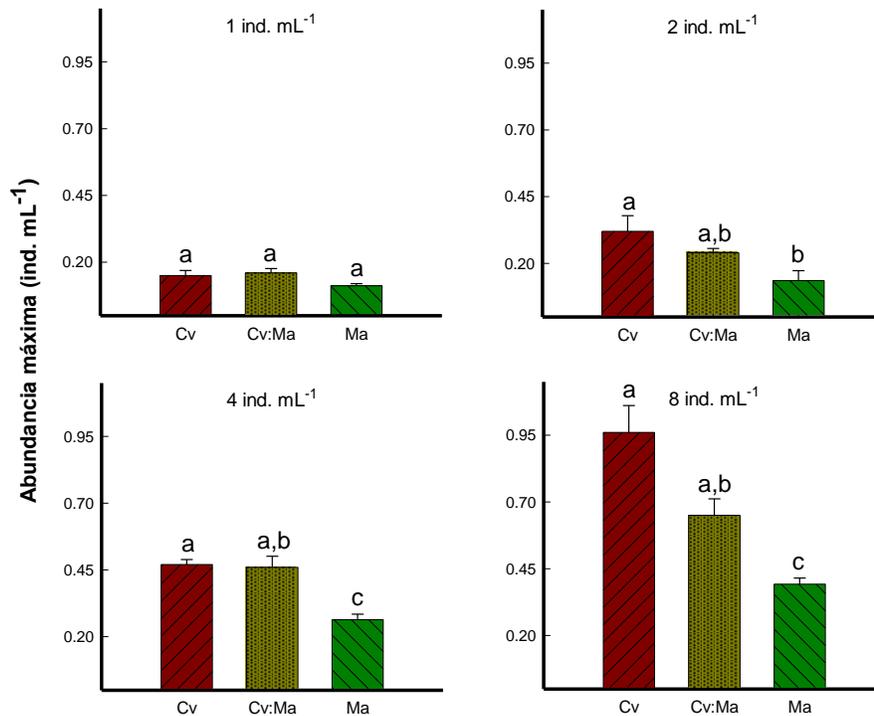


Figura 2. Abundancia máxima de *A. sieboldii* alimentado con *B. havanaensis* a 1, 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹ crecida en diferentes dietas; 100% *Chlorella vulgaris* (100% Cv), 50% *C. vulgaris*: 50% *Microcystis aeruginosa* (50% Cv: 50% Ma) y 100% *M. aeruginosa* (100% Ma). Los valores representan el promedio y error estándar de 4 réplicas. Las barras que no tienen la misma letra presentan diferencias significativas ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías).

Tabla 1. Resultado del análisis estadístico ANDEVA de dos vías para la abundancia máxima de *A. sieboldii* alimentado con *B. havanaensis* crecida en distintas dietas y ofrecida en diferentes densidades. GL: Grados de Libertad; SC: Suma de Cuadrados; MC: Media de Cuadrados ($\alpha = 0.05$). Tratamientos con asterisco (*) representa diferencias significativas.

Fuente de variación	GL	SC	MC	F	P
Densidad (A)	3	846.36	282.12	85.75	<0.001*
Dieta (B)	2	207.63	103.82	31.55	<0.001*
Interacción de A X B	6	54.31	9.05	2.75	<0.025*
Error	40	131.60	3.29		

La tasa de crecimiento poblacional por día (r) de *A. sieboldii* como se observa en la Figura 3, en la mayor densidad de presa inoculada (8 ind. mL⁻¹) la dieta tiene un efecto sobre esta variable al igual que en la curva de crecimiento poblacional, las diferencias se observan únicamente entre la dieta de 100% *C. vulgaris* y 100% *M.*

aeruginosa ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías). A pesar de no haber una interacción entre el factor dieta y densidad de presa utilizada como se observa en la Tabla 2, estos valores variaron de 0.234 ± 0.04 – 0.592 ± 0.01 en la dieta de *B. havanaensis* + *C. vulgaris*, 0.224 ± 0.03 – 0.422 ± 0.02 en la dieta de *B. havanaensis* + *C. vulgaris* y *M. aeruginosa* y 0.102 ± 0.02 – 0.311 ± 0.02 en la dieta de *B. havanaensis* + *M. aeruginosa*.

Comparando r considerando las densidades, únicamente las tasas de crecimiento de 8 vs 1 y 2 ind. mL^{-1} de la dieta de 100% *C. vulgaris* son estadísticamente ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías) diferentes.

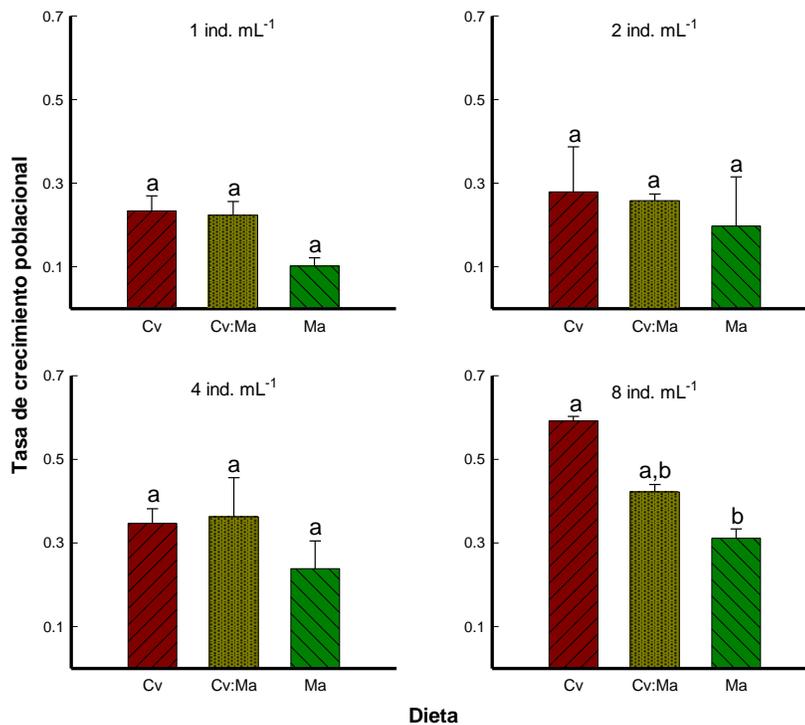


Figura 3. Tasa de crecimiento poblacional (r) de *A. sieboldii* comparando las dietas utilizadas cuando el depredador fue alimentado con *B. havanaensis* a 1, 2, 4 y 8 ind. mL^{-1} crecida en las dietas seleccionadas; 100% *Chlorella vulgaris* (Cv), 50% *C. vulgaris*: 50% *Microcystis aeruginosa* (Cv:Ma) y 100% *M. aeruginosa* (Ma). Los valores representan el promedio y error estándar de 4 réplicas. Las barras que no tienen la misma letra presentan diferencias significativas ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías).

Tabla 2. Resultado del análisis estadístico ANDEVA de dos vías para la tasa de crecimiento poblacional (r) de *A. sieboldii* alimentado con *B. havanaensis* crecida en distintas dietas y ofrecida en diferentes densidades. Otros detalles en Tabla 1.

Fuente de variación	GL	SC	MC	F	P
Densidad (A)	3	0.39	0.13	8.13	<0.001*
Dieta (B)	2	0.17	0.09	5.34	0.01*
Interacción A X B	6	0.05	0.01	0.56	0.76
Error	32	0.51	0.02		

En cuanto al día de abundancia máxima que se muestra en la Figura 4, *A. sieboldii* presentó diferencias significativas ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías) en las dietas y densidades establecidas sin haber una relación entre ambos factores. Analizando las dietas, en tres de cuatro densidades seleccionadas (2, 4 y 8 ind. mL⁻¹) se adelantó el día de abundancia máxima hasta 7 días con la dieta de 100% de *M. aeruginosa* habiendo diferencias significativas como se observa en la Tabla 3 ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías) comparado con la dieta de 100% de *C. vulgaris*.

Sobre las densidades seleccionadas, los días de abundancia máxima de *A. sieboldii* únicamente variaron significativamente ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías) entre la densidad de 1 vs 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹ con 100% de *C. vulgaris*, ya que en la densidad más baja el día de abundancia máxima se adelantó 4 días.

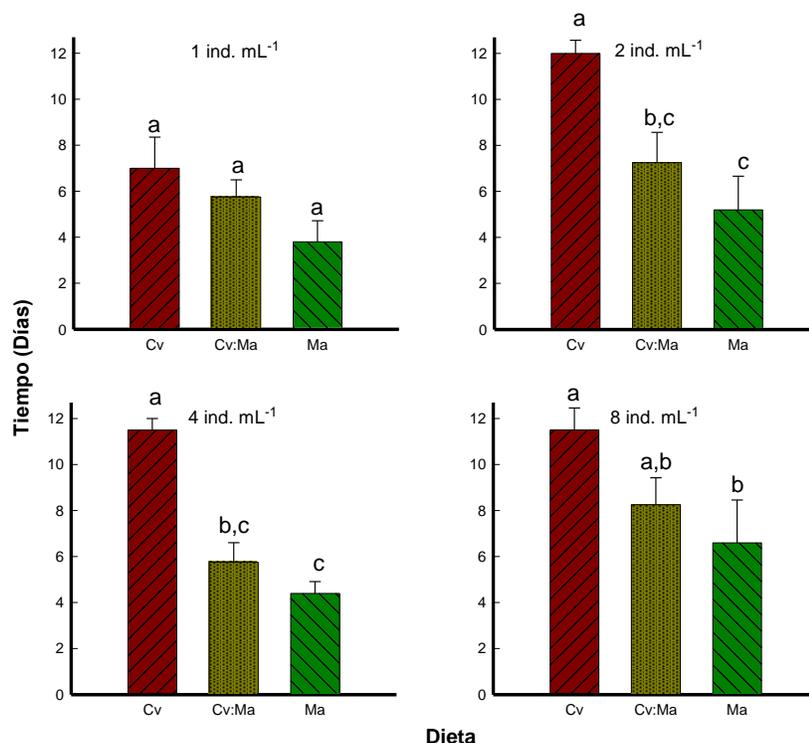


Figura 4. Día de abundancia máxima de *A. sieboldii* alimentado con *B. havanaensis* a 1, 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹ crecida en diferentes dietas; 100% *Chlorella vulgaris* (Cv), 50% *C. vulgaris*: 50% *Microcystis aeruginosa* (Cv:Ma) y 100% *M. aeruginosa* (Ma). Los valores representan el promedio y error estándar de 4 réplicas. Las barras que no tienen la misma letra presentan diferencias significativas ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías).

Tabla 3. Resultado del análisis estadístico ANDEVA de dos vías para el día de abundancia máxima de *A. sieboldii* alimentado con *B. havanaensis* crecida en distintas dietas y ofrecida en diferentes densidades. Otros detalles en Tabla 1.

Fuente de variación	GL	SC	MC	F	P
Dieta (A)	2	252.667	126.333	29.061	<0.001*
Densidad (B)	3	57.167	19.056	4.383	0.010*
Interacción A X B	6	33.333	5.556	1.278	0.292
Error	36	156.500	4.347		

DISCUSIÓN

En los sistemas acuáticos, los rotíferos herbívoros son más abundantes en comparación con los rotíferos depredadores como *Asplanchna sieboldii* (José de Paggi 2002). Éstos organismos depredadores, algunas veces caníbales, son capaces de alimentarse de otros rotíferos, ciliados y algunos crustáceos como cladóceros y copépodos (Koste 1978, Williamson 1983). Al ser cosmopolitas coexisten con una gran variedad de presas en sistemas acuáticos naturales como con el braquiónido *Brachionus havanaensis* que mide 135 – 350 µm de largo incluyendo espinas y 73 – 118 µm de ancho (Sarma y Elías-Gutiérrez 1999, Sarma *et al.* 2003), que no es colonial, nada relativamente lento y tiene un tamaño apropiado lo que lo hace una buena presa para *A. sieboldii* (Salt 1977, Nogrady *et al.* 1993, Gilbert 1999).

Considerando que las actividades antropogénicas han ido incrementando y cambiando la carga y cantidad de nutrientes como el nitrógeno y fósforo, en sistemas acuáticos (Stolte *et al.* 1994, NRC 2000, Anderson *et al.* 2002). Esto puede estimular la proliferación de cianobacterias en el medio, cambiar la composición de las especies productoras primarias y consecuentemente la proporción de algas verdes comestibles y de cianobacteria disponibles para los rotíferos (Nandini *et al.* 2000, Lüring y Beekman 2006) lo que altera las interacciones fitoplancton-zooplancton, así como otras en la cadena trófica como depredador-presa dentro de la comunidad zooplanctónica (Roelke *et al.* 1999, Murrell y Lores 2004, Davis *et al.* 2010). En esta investigación observamos que el depredador alimentado con rotíferos que tuvieron una dieta que presentó cianobacteria tenía una baja calidad nutricional en comparación con aquellos que se alimentaron con presas crecidas con *Chlorella*; esto se reflejó en las tasas de crecimiento de *A. sieboldii* más bajas en el primero (con *M. aeruginosa*) comparado con el segundo (con *C. vulgaris*).

Para entender la respuesta demográfica de un depredador como *A. sieboldii* expuesto a presas crecidas con dietas con diferente proporción de *M. aeruginosa*, es necesario obtener información de las interacciones inter e intraespecíficas,

pudiéndose utilizar dos especies como mínimo en el caso de depredación (Preston 2002). Generalmente, los estudios de ecotoxicología para conocer el efecto de cierto tóxico sobre las interacciones depredador-presa se agrega el tóxico directamente al medio, cuando se hace por este método, tanto la presa como el depredador se encuentran expuestos (Sarma *et al.* 1998). En esta investigación, únicamente se expuso a la presa *B. havanaensis* (presa) a la cianobacteria, como resultado de esto, cualquier cambio obtenido en el crecimiento poblacional de *A. sieboldii* (depredador) es atribuido únicamente a la dieta en que se cultivó la presa.

En esta investigación, las curvas de crecimiento poblacional de *A. sieboldii* presentaron una fase logarítmica y no la fase lag o de adaptación como en los trabajos realizados por Nandini *et al.* (2003), Sarma *et al.* (2007) y Gama-Flores *et al.* (2007). La dieta de *B. havanaensis* con 8 ind. mL⁻¹ + alga indujo la mayor densidad poblacional (0.96 ind. mL⁻¹), esto difiere con lo reportado por Nandini *et al.* (2003) y Sarma *et al.* (2007) en donde se alcanzó una densidad de aproximadamente 0.52 ind. mL⁻¹ en ambos trabajos para esta misma especie y otra del mismo género respectivamente. Ahora bien, comparando el pico de abundancia máxima y la curva de crecimiento poblacional de *A. sieboldii* con los dos trabajos mencionados anteriormente, y otros organismos del mismo género como son *A. intermedia* (Iyer y Rao, 1996) y *A. brightwellii* (Sarma *et al.* 1998), se observa que al igual que sus congéneres, *A. sieboldii* requiere una gran cantidad de presa para tener un crecimiento óptimo, esto cuando la dieta de la presa es un alga verde.

Comparando la abundancia máxima de *A. sieboldii* entre las dietas seleccionadas se observa que en todas las densidades (excepto 1 ind. mL⁻¹) hubo una disminución significativa comparando la dieta de solo *C. vulgaris* y *M. aeruginosa*, habiendo un efecto del 57.5%, 43.8% y 59.2% a 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹ respectivamente. Entre la dieta mixta y la pura de cianobacteria hubo una disminución significativa del 43.3%, 42.6% y 39.7% a 2, 4 y 8 ind. mL⁻¹ respectivamente, esto a diferencia a lo obtenido por Sarma *et al.* (2002) en donde la abundancia máxima de *A. sieboldii* aumentó tras haber cultivado a las presas con

dieta mixta de alga verde y levadura, y solo levadura comparado con la dieta de solo alga verde.

La tasa de crecimiento poblacional que está relacionada directamente con la densidad de presa inoculada, en general, para rotíferos carnívoros como *Asplanchna* es mayor comparado con rotíferos herbívoros (Nandini *et al.* 2003), y varía de 0.14 – 0.37 por día, estos valores son cercanos en todas las densidades de presa y dietas utilizadas en esta investigación excepto en la densidad de 8 ind. mL⁻¹ + *C. vulgaris* que fue casi tres veces superior que la reportada por diversos estudios en donde utilizan alguna especie de *Asplanchna* (Sarma *et al.* 1998; Nandini *et al.* 2003, Sarma *et al.* 2007). En esta densidad (8 ind. mL⁻¹) hubo una disminución del 47.5% entre la dieta de solo cianobacteria y de solo microalga.

Actualmente, es bien sabido que la calidad nutricional y composición bioquímica de los rotíferos braquiúridos está determinada por el alimento en el que se cultivan (Ferreria *et al.* 2011, Jeeja *et al.* 2011), esto presumiblemente afectó el crecimiento del depredador (*Asplanchna sieboldii*) ya que *M. aeruginosa* como alimento comparado con un alga verde es muy deficiente (Levich 1996). Liang *et al.* (2017) reportaron que al alimentar *B. calyciflorus* con dietas mixtas de *M. aeruginosa* tóxica o no tóxica con microalga hay una disminución en el contenido de glicógeno (carbohidratos) y proteínas, mientras que los triglicéridos (lípidos) aumentaron; además, Wacker y Martin-Crezburg (2012) encontraron que al suplementar una dieta de cianobacteria para *B. calyciflorus*, no sólo los HUFA son indispensables para el crecimiento poblacional (Demott 1997) sino que hay una co-limitación con el colesterol y aminoácidos específicos, leucina e isoleucina.

Cuando hay presencia de *M. aeruginosa* en la dieta de *B. havanaensis*, la abundancia máxima de *A. sieboldii* con tres densidades de presa (2, 4 y 8 ind.mL⁻¹) se ve afectada, así como la tasa de crecimiento poblacional, esto es más evidente con 8 ind. mL⁻¹ ($P < 0.05$, ANDEVA dos vías, Tabla 1 y 2). Estas diferencias en la población de *A. sieboldii* están en relación con la dieta suministrada a *B. havanaensis* y su calidad nutricional. Por ejemplo, Sarma *et al.* (1998) mostraron que el crecimiento poblacional de *A. sieboldii* alimentado con *B. calyciflorus*

cultivado en agua de nejayote fue significativamente más alta que cuando fue alimentado con la presa cultivada con alga o con alga y nejayote. Sarma *et al.* (2002) reportaron que *A. sieboldii* alimentado con dos braquionidos cultivados en alga, levadura o ambas, no influyeron sobre el crecimiento poblacional de este depredador; asimismo, en ambos proyectos mencionados anteriormente y en este, la densidad del depredador aumentó proporcionalmente a la cantidad de presa inoculada, siendo más evidente el efecto de la dieta cuando se inoculó mayor cantidad de *B. havanaensis*.

Además de la diferencia en la calidad nutricional que hay entre *M. aeruginosa* y *C. vulgaris*, hay cepas de la cianobacteria que producen metabolitos secundarios conocidos como cianotoxinas, específicamente microcistinas para este género (Carmichael 1992). Estas cianotoxinas capaces de bioacumularse y transferirse a niveles tróficos superiores (Mohamed 2001, Ferrão-Filho *et al.* 2014, Shams *et al.* 2014), afectan la absorción de nutrientes en rotíferos herbívoros (Zhao *et al.* 2014). Anteriormente se ha reportado la bioacumulación y transferencia de metales pesados como Cu y Cd (Gama-Flores *et al.* 2007), y plaguicida como metil paratión (Sarma *et al.* 1998) de rotíferos herbívoros hacia *Asplanchna*, afectando las variables demográficas de este depredador que no estuvo expuesto directamente a los tratamientos de las presas. Entonces, la baja calidad nutricional que aporta *B. havanaensis* cultivado en dieta mixta y pura de cianobacteria, y la posible cianotoxinas presente en *M. aeruginosa* afectaron el crecimiento poblacional de *A. sieboldii*.

Considerando el hecho de que las actividades antropogénicas y el cambio climático han ido cambiando a los ecosistemas acuáticos por el aumento en la proliferación de florecimientos de cianobacterias, entre otros problemas. Las consecuencias de este problema deben investigarse no solo desde la perspectiva de la calidad del agua para consumo y uso para recreación hacia los humanos, sino también desde la perspectiva ecológica en donde a partir de bioensayos utilizando rotíferos se obtiene una evidencia preliminar de que los *blooms* de cianobacterias tienen un efecto, en su mayoría adverso, que cambia la estructura de estos

ecosistemas. En esta investigación, se observó el efecto adverso que hay sobre un depredador cuando su presa está creciendo en un medio con cianobacteria, evidenciando que hay cambios en la red trófica particularmente en la comunidad zooplanctónica tomando como referencia al depredador *A. sieboldii*, por la mala calidad nutricional de las cianobacterias y/o las toxinas que pueden producir algunas especies.

Las interacciones entre el depredador y la presa documentadas en este trabajo son directas ya que el depredador estaba físicamente en contacto con la presa. Dado que el depredador fue capaz de consumir casi todos los individuos de la presa ofrecidos en los experimentos, las presas no tuvieron la posibilidad de desarrollar defensas morfológicas, como el alargamiento de las espinas, aumentar el tamaño del cuerpo, etc. Cuando se consideran estos aspectos, las interacciones entre el depredador y la presa puede ser más complejo. Por ejemplo, Sarma *et al.* (2010) demostraron que *Asplanchna*, aunque está en contacto directo con su presa (*B. calyciflorus*), no pudo exterminar completamente a las presas porque ésta desarrolló espinas posteriores más largas, lo cual minimizó el consumo del depredador. Además, los aleloquímicos de la presa también pueden tener efectos inhibitorios sobre el depredador. En presencia de microcistinas, las tasas de reproducción del zooplancton se reducen significativamente a pesar de que la disponibilidad de alga verde no fue limitada (Nandini *et al.* 2017). Estos aspectos no han sido evaluados aquí. Ya que en la naturaleza, las interacciones entre depredador y presa son definitivamente más complejas que las demostradas en este trabajo. Por lo tanto, para una mejor comprensión de estos aspectos, los diseños experimentales deben incorporar tantas variables como sea posible.

CONCLUSIONES

- Los rotíferos herbívoros cultivados en una dieta mixta y pura, a base de cianobacteria tienen un efecto adverso sobre niveles tróficos superiores, particularmente sobre el rotífero depredador *Asplanchna sieboldii*.
- En el crecimiento poblacional, la tasa de crecimiento del depredador *A. sieboldii* fue afectada por la proporción de *M. aeruginosa* en la dieta de su presa *B. havanaensis*; eso fue más evidente a mayor densidad de presa disponible.
- Independientemente de la densidad de presa y la dieta en que fue criada, las curvas de crecimiento poblacional de *A. sieboldii* iniciaron a partir de la fase logarítmica sin pasar por la fase de acoplamiento (fase lag).
- La abundancia máxima de *A. sieboldii* sin presentar una interacción directa entre densidad y dieta de la presa, a mayor densidad de *B. havanaensis* y menor proporción de *M. aeruginosa* en la dieta se vio favorecida.

REFERENCIAS

Alcocer J. y Bernal-Brooks F. W. 2010 Limnology in Mexico. *Hydrobiologia* 644: 15 – 68.

Alva-Martínez A. F., Fernández R., Sarma S. S. S. y Nandini S. 2009 Effect of mixed toxic diets (*Microcystis* and *Chlorella*) on the rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* cultured alone and together. *Limnologica* 39: 302 – 305.

Alva-Martínez A. F., Sarma S. S. S. y Nandini S. 2007 Population dynamics of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* (Rotifera) on mixed diets with *Microcystis aeruginosa* and green algae. *Hidrobiologica* 17: 59 – 67.

Anderson D. M., Gilbert P. M. y Burkholder J. M. 2002 Harmful algal blooms and eutrophication: Nutrient sources, composition and consequences. *Estuaries* 25 (4b): 562 – 584.

Barrios C. A. Z., Nandini S. y Sarma S. S. S. 2017 Effect of crude extracts from cyanobacterial blooms in Lake Texcoco (Mexico) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Toxicon* 139: 45-53.

Borowitzka M. y Borowitzka L. 1988 *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press. London.

Burkholder J. M. 2000 Eutrophication and oligotrophication. In S. Levin (ed.), *Encyclopedia of Biodiversity*, Volume 2. Academic Press, New York 649–670.

Carmichael W. W. 1992 Cyanobacteria secondary metabolites - the cyanotoxins. *J. Appl. Bact.* 72: 445 – 459.

Chen W., Song L., Ou D. y Gan N. 2005 Chronic toxicity and responses of several important enzymes in *Daphnia magna* on exposure to sublethal microcystin-LR. *Environmental Toxicology* 20: 323 – 330.

Codd G. A., Morrison L. F. y Metcalf J. S. 2005 Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology* 203: 264 – 272.

Davis J. M., Rosemond A. D., Eggert S. L., Cross W. F. y Wallace J. B. 2010 Long-term nutrient enrichment decouples predator and prey production. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 107: 121–126.

Dugdale R. C. y Goering J. J. 1967 Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnology and Oceanography* 12: 196 – 206.

Dumont H. J., Sarma S. S. S. y Ali A. J. 1995 Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (Rotifera) in relation to food density. *Freshwater Biology* 33: 39 – 46.

Ettoumi A., El Khalloufi F., El Ghazali I., Oudra B., Amrani A., Nasri H. y Bouaïcha N. 2011 Bioaccumulation of cyanobacterial toxins in aquatic organisms and its consequences for public health. In: *Zooplankton and Phytoplankton*. Ed: Kattel, G. Nova Science NY 201: 1 – 34.

Ferrão-Filho A. S., Herrera N. A. y Echeverri L. F 2014. Microcystin accumulation in cladocerans: First evidence of MC uptake from aqueous extracts of a natural bloom simple. *Toxicon* 87: 26 – 31.

Ferreira M., Seixas P., Coutinho P., Fábregas J. y Otero A. 2011 Effect of the nutritional status of semi-continuous microalgal cultures on the productivity and biochemical composition of *Brachionus plicatilis*. *Mar Biotechnol* 13: 1074 – 1085.

Fisher T. R., Peele E. R., Ammerman J. W., y Harding L. W. 1992 Nutrient limitation of phytoplankton in Chesapeake Bay. *Marine Ecology Progress Series* 82:51 – 63.

Frazão B., Martins R. y Vasconcelos V. 2010 Are known cyanotoxins involved in toxicity of picoplanktonic and filamentous North Atlantic marine cyanobacteria? *Marine Drugs* 8: 1908 – 1919.

Gama-Flores J. L., Ferrara-Guerrero M. J., Sarma S. S. S. y Nandini S. 2007 Prey (*Brachionus calicyflorus* and *Brachionus havanaensis*) exposed to heavy metals (Cu and Cd) for different durations and concentrations affect predator's (*Asplanchna*

brightwellii) population growth. Journal of Environmental Science and Health Part A 42(10): 1483 – 1488.

Garza-Mouriño G., Silva-Briano M., Nanidini S., Sarma S. S. S. y Castellanos-Páez M. E. 2005 Morphological and morphometrical variations of selected species of Brachionidae: a seasonal study from Lake Xochimilco (Mexico). Hydrobiologia 546: 169 – 179.

Geng H., Xie P. y Xu J. 2006 Effect of toxic *Microcystis aeruginosa* PCC7820 in combination with Green alga on the experimental population of *Brachionus calyciflorus* and *B. rubens*. Bull. Environ. Contam. Toxicol 76: 963 – 969.

Gilbert J. J. 1999 Kairomone-induced morphological defenses in rotifers. In: Tollrian, R. y Harvell, C. D. (Eds). The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton University Press, Princeton, NJ: 127 – 141. *

Gilbert J. J. 2016 Non-genetic polymorphisms in rotifers: environmental and endogenous controls, development, and features for predictable or unpredictable environments. Biological Reviews 92(2): 964 – 992.

Gilbert P. M. 1988 Primary productivity and pelagic nitrogen cycling, p. 3–31. In T. H. Blackburn and J. Sorensen (eds.), Nitrogen Cycling in Coastal Marine Environments. John Wiley and Sons, Inc., Chichester, U.K.*

Gómez L., Larduet Y. y Abrahantes N. 2001 Contaminación y biodiversidad en ecosistemas acuáticos. El fitoplancton de la Bahía de Santiago de Cuba. Rev. Invest. Mar 22: 191 – 197.

Gray S. J. 1992 Eutrophication in the sea. In Colombo, G. y Viviani, R. Eds. Marine eutrophication and pollution dynamics, Olsen y Olsen, Fredenborg 394 pp.

Guo R., Ren X. y Ren H. 2012 Assessment the toxic effects of dimethoate to rotifer using swimming behavior. Bull Environ Contam Toxicol 89: 568 – 571.

Huang L., Xi Y. L., Xu X. P. y Wen X. L. 2012 Responses in population growth and reproduction of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to microcystin-LR at different temperatures. Annales de Limnologie-International Journal of Limnology 48(4): 383 – 390.

Ibelings B. W., Bruning K., de Jonge J., Wolfstein K., Dionisio P. L. M., Postma J. y Burger T. 2005 Distribution of microcystins in a lake foodweb: No evidence for biomagnification. *Microbial Ecology* 49: 487 – 500.

Ingrid G., Andersen T. y Vadstein O. 1996 Pelagic food webs and eutrophication of coastal waters: impact of grazers on algal communities. *Mar. Pollut. Bull.* 33: 22 – 35.

Jeeja P. K., Imelda-Joseph y Raj R. P. 2011 Nutritional composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller) cultured using selected natural diets. *Indian J. Fish* 58 (2): 59 – 62.

José de Paggi S. 2002 Rotifera, family Asplanchnidae. In: Guides to the identification of microinvertebrates of the continental waters of the world. Backhuys Publishers (Eds. Nogrady, T. y Segers, H.), The Hague 6: 1 – 27.

Karydis M. 2009 Eutrophication assessment of coastal waters based on indicators: a literature review. *Global NEST Journal* 11 (4): 373 – 390.

Koste W. 1978 Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Ein Bestimmungswerk begründet von Max Voigt. Bornträger, Stuttgart, Vol. 1: Textband 673 pp., Vol. 2: Tafelband 234 pp.

Krebs C. J. 1985 Ecology; the experimental analysis of distribution and abundance. 3rd Ed. Harper & Row, New York, 592 pp

Laurén-Määttä C., Hietala J., Reinikainen M. y Walls M. 1995 Do *Microcystis aeruginosa* toxins accumulate in the food web: a laboratory study. *Hydrobiologia* 304: 23 – 27.

Liang Y., Yuqi S., Ouyang K., Chen X. y Yuang J. 2017 Effects of microcystin-producing and microcystin-free *Microcystis aeruginosa* on enzyme activity and nutrient content in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environ Sci Pollut Res* 24: 10430–10442.

Lürling M. y Beekman W. 2006 Influence of food-type on the population growth rate of the rotifer *Brachionus calyciflorus* in short-chronic assays. *Acta Zool. Sinica* 52: 70 – 78.

Martin-Creuzburg D. y Von Elert E. 2009 Ecological significance of sterols in aquatic food webs. In: *Lipids In Aquatic Ecosystems*. Ed: Arts, M. T., Brett, M. T. y Kainz, M. NY 43 – 64.

Mohamed Z. A. 2001 Accumulation of cyanobacterial hepatotoxins by *Daphnia* in some Egyptian irrigation canals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 50(1): 4 – 8.

Moreno F. D. P., Quintero M. J. y López C. A. 2010 Métodos para identificar, diagnosticar y evaluar el grado de eutrofia. *ContactoS* 78: 25 – 33.

Murrell M. C. y Lores E. M. 2004 Phytoplankton and zooplankton seasonal dynamics in a subtropical estuary: importance of cyanobacteria. *Journal of Plankton Research* 26 (3): 371 – 382.

Nandini S. 2000 Responses of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae): A demographic study. *Aquatic Ecology* 34: 227 – 242.

Nandini S., Pérez-Chávez R. y Sarma S. S. S. 2003 The effect of prey morphology on the feeding behavior and population growth of the predatory rotifer *Asplanchna sieboldi*: a case study using five species of *Brachionus* (Rotifera). *Freshwater Biology* 48: 2131 – 2140.

Nandini S., Miracle MR., Vicente E., Sarma S.S.S. y Gulati, R.D. 2017 *Microcystis* extracts and single cells have differential impacts on the demography of cladocerans: a case study on *Moina* cf. *micrura* isolated from the Mediterranean coastal shallow lake (L'Albufera, Spain). *Hydrobiologia* 798 (1): 127-139.

Nixon S. W. 1995 Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41:199–219.

Nogrady T., Wallace R. L. y Snell T. W. 1993 Rotifera. Vol 1: biology, ecology and systematics. Guides to identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. SPB Academic Publishing, The Hague.

NRC. 2000 Clean Coastal Waters: Understanding the Effects of Nutrient Pollution. National Academy Press, Washington, DC.

Papadimitriou T., Kagalou I., Stalikas C., Pilidis G. y Leonardos I. D. 2012 Assessment of microcystin distribution and biomagnification in tissues of aquatic food web compartments from a shallow lake and evaluation of potential risks to public health. *Ecotoxicology* 21: 1155 – 1166.

Preston B. L. 2002 Indirect effects in aquatic ecotoxicology: Implications for ecological risk assessment. *Environmental Management* 29(3): 311 – 323.

Ramírez-García P., Nandini S., Sarma S. S. S., Robles-Valderrama E., Cuesta I. y Hurtado-Maria D. 2002 Seasonal variations of zooplankton abundance in the freshwater reservoir Valle de Bravo (Mexico). *Hydrobiologia* 467: 99 – 108.

Roelke D. L., Eldridge P. M. y Cifuentes L. A. 1999 A model of phytoplankton competition for limiting and nonlimiting nutrients: implications for development of estuarine and nearshore management schemes. *Estuaries* 22: 92 – 104.

Rosset V., Ruhi A., Bogan M. T. y Datry T. 2017 Do lentic and lotic communities respond similarly to drying? *Ecosphere* 8(7): 1 – 14.

Rudek J., Paerl H. W., Mallin M. A. y Bates P. W. 1991 Seasonal and hydrological control of phytoplankton nutrient limitation in the lower Neuse River estuary, North Carolina. *Marine Ecology Progress Series* 75:133 – 142.

Salt G. W. 1977 An analysis of the diets of five sympatric species of *Asplanchna*. *Archiv für Hydrobiologie Beiheft Ergebnisse Limnologie* 8: 123 – 125.

Sarma S. S. S. y Nandini S. 2006 Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *J Environ Sci Health B* 41:1417–1430.

Sarma S. S. S. y Elías-Gutiérrez M. 1999 A survey on the rotifer (Rotifera) fauna of the Yucatán Peninsula (Mexico). *Revista de Biología Tropical* 47(Suppl. 1): 187 – 196.

Sarma S. S. S., García-Martínez G. y Nandini S. 2007 Population growth of *Asplanchna brightwellii* (Rotifera) fed prey species having different morphological defenses. *Journal of Freshwater Ecology* 22(4): 667 – 676.

Sarma S.S.S., Sagrario M.H. y Nandini S. 2010 Allelopathic interactions between the predator (*Asplanchna brightwellii*) and prey (*Brachionus calyciflorus*) for coexistence. *Allelopathy Journal* 26(1): 131-138

Sarma S. S. S., González-Pérez B. K., Moreno-Gutiérrez R. M. y Nandini S. 2014 Effect of paracetamol and diclofenac on population growth of *Plationus patulus* and *Moina macrocopa*. *Journal of Environmental Biology* 35: 119 – 126.

Sarma S. S. S., Larios-Jurado P. S. y Nandini S. 2002 Population growth of *Asplanchna sieboldii* fed two *Brachionus* spp. (Rotifera) raised on green alga and baker's yeast. *Hydrobiologia* 467: 63 – 69.

Sarma S. S. S., Larios-Jurado P. S. y Nandini S. 2002 Population growth of *Asplanchna sieboldii* fed two *Brachionus* spp. (Rotifera) raised on green alga and baker's yeast. *Hydrobiologia* 467: 63 – 69.

Sarma S. S. S., Nandini S. y Fernández-Araiza M. A. 1998 Effect of methyl parathion-treated prey (*Brachionus calyciflorus*) on the population growth of the predator *Asplanchna sieboldii* (Rotifera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61: 135 – 142.

Sarma S. S. S., Nandini S. y Stevenson R. A. A. 1998 Nutritional quality of prey (*Brachionus calyciflorus*) affects the population growth of predatory rotifers (*Asplanchna sieboldii*) (Rotifera). *Hidrobiologica* 8: 73-80.

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

Sarma S. S. S., Pavón-Meza E. L. y Nandini S. 2003 Comparative population growth and life table demography of the rotifer *Asplanchna girodi* at different prey (*Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis*) (Rotifera) densities. *Hydrobiologia* 491: 309 – 320.

- Schindler D. W. 1977 Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science* 196: 407 – 415.
- Shams S., Cerasino L., Salmaso N. y Dietrich D. R. 2014 Experimental models of microcystin accumulation in *Daphnia magna* grazing on *Planktothrix rubescens*: Implications for water management. *Aquatic Toxicology* 148: 9 – 15.
- Snell T. W. y Janssen C. R. 1995 Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia* 313/314: 231 – 247.
- Soares M. C. L., Lürling M. y Huszar V. L. 2010 Responses of the rotifer *Brachionus calyciflorus* to two tropical toxic cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa*) in pure and mixed diets with green algae. *Journal of plankton research* 32(7): 999 – 1008.
- Stolte W., McCollin T., Noordeloos A. A. M. y Riegman R. 1994 Effect of nitrogen source on the size distribution within marine phytoplankton populations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 184: 83 – 97.
- Van Donk E., Iannora A. y Vos M. 2011 Induced defenses in marine and freshwater phytoplankton: a review. *Hydrobiologia* 668: 3 – 19.
- Vézic C., Rapala J., Vaitomaa J., Seitsonen J. y Sivonen K. 2002 Effect of nitrogen and phosphorus on growth of toxic and nontoxic *Microcystis* strains and on intracellular microcystin concentrations. *Microbial Ecology* 43: 443 – 454.
- Weber C. I. 1993 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/600/4-90/027.
- Wetzel R. G. 1983 *Limnology*. Saunders College Publishing, Philadelphia, Pennsylvania.
- Williamson C. E. 1983 Invertebrate predation on planktonic rotifers. *Hydrobiologia* 104: 385 – 396.
- Xian-Ling X., Ying-Ying C., Qiu-Lei X., Ling-Yun Z., Xin-Li W. y Yi-Long X. 2017 Combined effects of temperature and the microcystin MC-LR on the feeding

behavior of the rotifer *Brachionus calyciflorus*. Bull Environ Contam Toxicol 493 – 499.

Zhao S., Wang Y. y Li D. 2014 Effects of toxic and non-toxic *Microcystis aeruginosa* in different mixtures with *Scenedesmus obliquus* on growth of *Brachionus calyciflorus*. Journal of Freshwater Ecology 29(3): 377 – 386.